

بررسی تغییرات غلظت پروتئین متالوتیونین بعنوان یک نشانگر زیستی (بیومارکر) در کرم پرتار گونه *Glycinde bonhourei* تحت تأثیر پدیده مانسون و برخی فلزات سنگین (مس،



روی و کادمیوم) در پهنه زیر جزر و مدی خلیج چابهار

مهران لقمانی^{۱*}، احمد سواری^۲، بابک دوست‌شناس^۲، بیتا ارچنگی^۲ و کیوان کبیری^۳

^۱ چابهار، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، دانشکده علوم دریایی، گروه زیست‌شناسی دریا

^۲ خرمشهر، پژوهشگاه ملی اقیانوس‌شناسی و علوم جوی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، دانشکده علوم دریایی، گروه زیست‌شناسی دریا

^۳ تهران، پژوهشگاه ملی اقیانوس‌شناسی و علوم جوی

تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۱۷

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۵

چکیده

در میان اکثر بیومارکرهایی بیوشیمیایی که برای ارزیابی آلودگی‌های محیط‌های دریایی استفاده می‌شوند، پروتئین متالوتیونین به‌عنوان یکی از ابزارهای بسیار مهم و مفید در رابطه با شاخص‌های بیوشیمیایی فلزات به شمار می‌رود. تغییرات بیومارکر متالوتیونین در شرایط طبیعی در پرتار *Glycinde bonhourei* در ۹ ایستگاه در خلیج چابهار با در نظر گرفتن فصول پیش از مانسون، مانسون و پس مانسون و غلظت فلزات مس، روی و کادمیوم در بافت در سال ۱۳۹۲-۹۳ در منطقه زیر جزرومدی بررسی گردید. میانگین کل غلظت فلزات مس و روی و کادمیوم در پیش از مانسون به ترتیب $۶/۳۹ \pm ۲/۰۴$ ، $۲۰/۹۵ \pm ۴/۵۱$ ، $۰/۱۳۶ \pm ۰/۰۴$ میکروگرم برگرم وزن خشک بوده و در فصل مانسون $۳/۵۱ \pm ۱/۴۶$ ، $۱۱/۸۴ \pm ۲/۶۵$ ، $۰/۰۵۹ \pm ۰/۰۱$ میکروگرم برگرم وزن خشک بدست آمد و در پس مانسون $۴/۹۸ \pm ۱/۴۴$ ، $۱۶/۵۱ \pm ۳/۵۸$ ، $۰/۱۵۲ \pm ۰/۰۱$ محاسبه گردید که آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه میان ایستگاه‌ها و نیز بین فصول اختلافات معنی‌داری را نشان داد ($P < ۰/۰۵$). مقادیر میانگین کل پروتئین متالوتیونین در پیش از مانسون $۲۸/۳۳ \pm ۵/۲$ ، مانسون $۴/۹ \pm ۱۵/۵۰$ و پس مانسون $۲۱/۳۹ \pm ۴/۳۷$ میکروگرم برگرم بدست آمد که میان ایستگاه‌ها و فصول اختلافات معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P < ۰/۰۵$). در بررسی ارتباط فلزات با نوسانات بیومارکر با کمک آزمون پیرسون، در هیچیک از فصول و ایستگاه‌ها همبستگی معنی‌داری مشاهده نگردید. این بررسی نشان می‌دهد که تغییرات بیومارکر متالوتیونین بیش از آنکه متأثر از تغییرات غلظت فلزات سنگین باشد، می‌تواند بیشتر به دلیل شرایط زیست‌محیطی خاص این منطقه و تغییراتی است که در اثر مانسون در خلیج ایجاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: متالوتیونین، خلیج چابهار، مانسون، فلزات سنگین، *Glycinde bonhourei*

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۵۱۸۸۹۵۴۴، پست الکترونیکی: Loghmani_mehran@yahoo.com

مقدمه

آنها در انتقال آلودگی در شبکه‌های غذایی بوده است (۲۹). پرتاران در داخل بستر یا نزدیک بستر زیست می‌کنند و دریافت‌کننده نهایی انواع آلاینده‌های آلی و غیرآلی‌اند و این موجودات به دلیل رفتار تغذیه‌ای خود (تغذیه از میان رسوبات بستر) نقش مهمی در شبکه غذایی محیط دریایی

در سال ۱۹۶۰ برای اولین بار از پرتاران (گروهی از کرم‌های حلقوی) به‌عنوان شاخص برای بررسی اثرات آلودگی در اجتماعات بسترهای نرم استفاده گردید (۱۳). به دلیل قدرت تحمل بالا و توانایی تجمع آلاینده در بدن، بیشتر مطالعات بوم‌سمیت‌شناسی پرتاران در مورد نقش

خشکی و دریا از هر دو منبع، آلاینده دریافت می‌کند، همواره دو عامل مهم بر جوامع ماکروبتیک در خلیج چابهار تأثیرگذار هستند، پدیده مانسون که تحت تأثیر تغییرات دمایی بخش مرکزی قاره‌ی آسیا و اقیانوس هند به وجود آمده و منطقه‌ی هند تا بخشهایی از دریای عمان و تنگه‌ی هرمز را تحت تأثیر خود قرار می‌دهد. این پدیده سالانه در یک دوره زمانی خاص (خرداد تا شهریور) به‌عنوان یک عامل محیطی طبیعی تغییرات شدیدی را در اکوسیستم خلیج ایجاد می‌کند و دوم که تأثیر عامل انسانی بر زیستگاه‌های آبزیان خلیج با واردکردن انواع آلاینده‌ها (برای مثال: تردد شناورها در محیط دریایی منطقه و آلودگی‌های نفتی ناشی از آنها، تأسیسات بندری و ضایعات آنها، آلودگی‌های ناشی از تخلیه و بارگیری کالا) می‌باشد. از آنجاکه اغلب مطالعات در ارتباط با بیومارکرها، تغییرات یک فاکتور در شرایط آزمایشگاهی تحت کنترل دنبال شده در حالیکه در شرایط محیط طبیعی عوامل تأثیرگذار دیگری ممکن است باعث تغییرات بیومارکرها شوند و لذا هدف از این تحقیق بررسی اثرگذاری شرایط محیطی بر تغییرات سطوح متالوتیونین (به‌عنوان بیومارکر فلزات در سطح بیوشیمیایی) در سه دوره زمانی پیش‌مانسون، مانسون و پس‌مانسون در پرتار *Glycinde bonhourei* بوده است. فرضیه تحقیق بالا رفتن غلظت بیومارکر متالوتیونین در زمان مانسون است.

دارند که این امر سبب به‌گرددش درآمدن مجدد آلاینده‌های تهنشین شده در میان رسوبات می‌گردد (۱۴). به همین خاطر تعداد زیادی از نشانگرهای زیستی (بیومارکرها) به‌صورت بیوشیمیایی، فیزیولوژیک و پاسخ‌های رفتاری در پرتاران مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۰). متالوتیونین یک خانواده از پروتئین‌های غنی از سیستئین و مقاوم به گرما با وزن مولکولی پایین (بین ۳۵۰۰ تا ۱۴۰۰۰ دالتون) و فاقد ریشه‌های آروماتیک است. این پروتئین توانایی اتصال به هر دو نوع فلزات ضروری (مثل روی، مس و سلنیوم) و غیرضروری (مثل کادمیوم، نقره، جیوه و آرسنیک) را داراست. در حقیقت با اندازه‌گیری میزان متالوتیونین به‌عنوان بیومارکر شاخص می‌توان اطلاعاتی را در ارتباط با آلوده شدن موجود به فلزات و عملکرد بیولوژیک آن به دست آورد (۲۰). در میان اکثر بیومارکری بیوشیمیایی که برای ارزیابی آلودگی‌های محیط‌های دریایی استفاده می‌شوند، متالوتیونین‌ها (MTs) ابزارهای بسیار مهم و مفیدی به‌عنوان شاخص‌های بیوشیمیایی ویژه برای فلزات به‌شمار می‌روند (۱۵) ولی از سویی دیگر گاهی نوسانات بالا در میزان دما، اکسیژن و شوری در محیط‌زیست موجودات آبری می‌تواند سبب افزایش غلظت متالوتیونین سلولی می‌گردد که می‌بایست در مطالعات بوم‌شناسی مدنظر قرار گیرد (۳۴). اکوسیستم آبی خلیج چابهار به‌عنوان منطقه حساس ساحلی، به دلیل قرارگرفتن در حدفاصل بین دو بوم‌سازگان

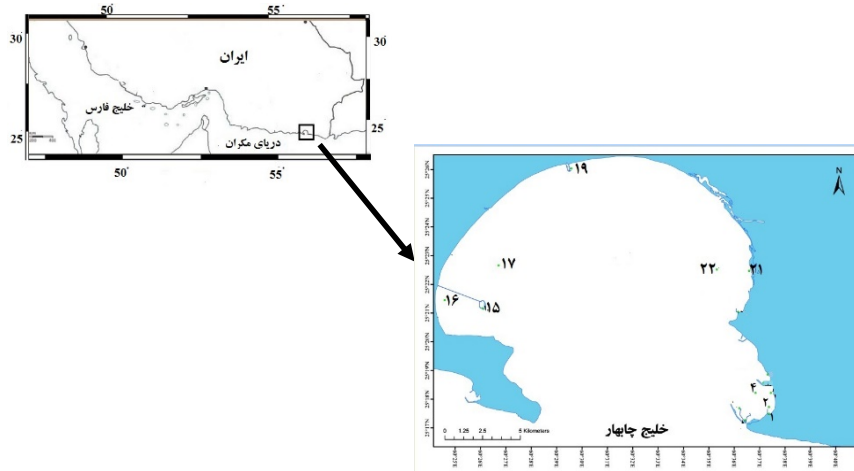
جدول ۱- نام و موقعیت جغرافیایی ایستگاه‌های نمونه‌برداری در خلیج چابهار

ایستگاه	نام ایستگاه	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
۱	اسکله هفت‌تیر (a نزدیک ساحل)	۲۵° ۱۷' ۴۳/۰۸"	۶۰° ۳۷' ۲۰/۷۱"
۲	اسکله هفت‌تیر (b دور از ساحل)	۲۵° ۱۷' ۵۶/۹۶"	۶۰° ۳۷' ۲۰/۵۴"
۴	ساحل دانشگاه	۲۵° ۱۸' ۲۴/۱۰"	۶۰° ۳۷' ۴/۳۴"
۱۵	اسکله کنارک (a)	۲۵° ۲۱' ۱۱/۷۷"	۶۰° ۲۵' ۵۹/۳۰"
۱۶	اسکله کنارک (b)	۲۵° ۲۱' ۲۷/۴۴"	۶۰° ۲۴' ۲۹/۰۸"
۱۷	لنج سازی	۲۵° ۲۳' ۲۴/۰۴"	۶۰° ۲۴' ۱۴/۳۱"
۱۹	آب‌شیرین‌کن کنارک	۲۵° ۲۶' ۷/۹۳"	۶۰° ۲۹' ۲۳/۰۵"
۲۱	کشتی‌سازی (a)	۲۵° ۲۲' ۴۰/۹۳"	۶۰° ۳۶' ۲۸/۰۵"
۲۲	کشتی‌سازی (b)	۲۵° ۲۲' ۴۱/۸۰"	۶۰° ۳۵' ۳۳/۳۱"

مواد و روشها

نمونه‌برداری از رسوبات بستر به وسیله گرب ون-وین با مساحت ۰/۰۲۵ مترمربع (۱۶) در طول سه فصل پیش-مانسون در اواخر اسفند ۱۳۹۲، مانسون مرداد ۱۳۹۳ و پس-

مانسون در آبان ۱۳۹۳ از نقاط مختلف با تعیین ۹ ایستگاه در منطقه زیر جزرومدی خلیج چابهار انجام گرفت (شکل ۱).



شکل ۱- موقعیت ایستگاه‌های نمونه‌برداری در خلیج چابهار

$M =$ غلظت فلز موجود در نمونه برحسب میکروگرم برگرم

$C =$ مقدار فلز موردنظر (ثبت شده توسط دستگاه) برحسب میلی‌گرم برلیتر

$V =$ حجم نهایی نمونه برحسب میلی‌لیتر

$D =$ ضریب رقیق‌سازی

$W =$ وزن نمونه خشک‌شده جهت هضم برحسب گرم

سنجش میزان متالوتیونین: اندازه‌گیری میزان متالوتیونین براساس روش تغییر یافته اسپکتروفتومتری و یارگنو و همکاران (۱۹۹۹) انجام شد (۳۵ و ۷). نمونه‌های پرتار (*G.bonhourii*) جداسازی شده در آزمایشگاه بلافاصله در داخل منبع نیتروژن مایع ۸۰- قرار داده شده و به فریزر ۸۰- درجه تا زمان آنالیز انتقال داده شد.

طبق پروتکل، به نمونه‌های پرتار هموزن شده با نسبت ثابت یک گرم بافت، ۳ میلی‌لیتر بافری که شامل ساکاروز ۰/۵ مولار، ۲۰ میلی‌مول اسیدکلریدریک تریس (۶/۸ pH)،

سنجش فلزات سنگین (مس و روی) در پرتار *Glycinde bonhourii*: هضم نمونه‌های بافتی گونه پرتار *G.bonhourii* طبق روش سان و ژو (۲۰۰۷) انجام پذیرفت. نمونه‌ها را بعد از جداسازی با آب دو بار تقطیر شسته، سپس در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرارداده تا خشک شوند نمونه‌های خشک‌شده را به دقت وزن نموده و با توجه به نسبت وزنی (یک گرم بافت، ۱۰ سی‌سی اسید) به آن اسید نیتریک غلیظ (HNO_3) اضافه گردید و در هات پلیت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۲ ساعت قرارداده شدند. پس از هضم کامل نمونه‌ها به اندازه دو برابر حجم نمونه به آن آب مقطر دو بار تقطیر اضافه کرده و از کاغذ فیلتر واتمن ۴۲ عبور داده و محلول فیلتر شده را برای سنجش فلزات به دستگاه جذب اتمی شعله‌ای منتقل شد.

محاسبه غلظت نهایی فلزات با استفاده از معادله زیر برحسب میکروگرم برگرم وزن خشک محاسبه گردید (۲):

$$M=(C.V.D)W$$

تهیه گردید. به هرکدام از استانداردها ولوله شاهد مقادیر مختلفی از کلرید سدیم ۰/۲۵ نرمال، مخلوط اسیدکلریدریک ۱ نرمال و EDTA، محلول DTNB طبق روش کار ویارگو و همکاران اضافه گردید. در محاسبه نهایی میزان متالوتیونین با فرض ۳۰ درصد سیستمین صورت گرفت (۳۵).

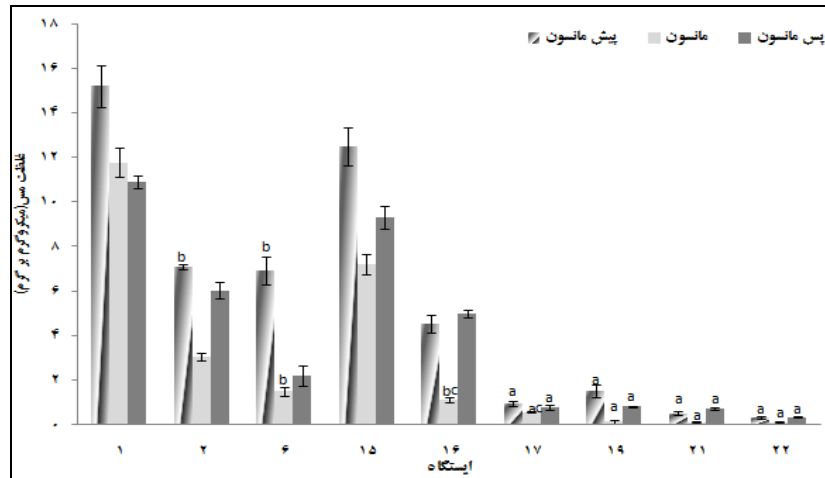
نتایج

تغییرات غلظت فلزات در بافت پرتار *G.bonhourii*: مس: در فصل پیش مانسون، میانگین تغییرات غلظت فلز مس $6/39 \pm 2/04$ میکروگرم بر گرم وزن خشک بوده که بیشترین مقدار در ایستگاه ۱ با ۱۵/۱ و کمترین مقادیر در ایستگاه‌های ۲۱ و ۲۲ بترتیب ۰/۵ و ۰/۳۲ میکروگرم بر گرم وزن خشک به دست آمد. آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه اختلاف آماری معنی‌داری را بین ایستگاه‌ها نشان داد ($P < 0/05$) (شکل ۲). در دوره مانسون با توجه به میانگین کل $3/51 \pm 1/46$ میکروگرم بر گرم وزن خشک نسبت به میانگین کل دوره قبل، تجمع فلز مس در بافت کاهش داشته است و ایستگاه‌های ۲۱ و ۲۲ کمترین مقادیر و ایستگاه ۱ با $11/78$ میکروگرم بر گرم بیشترین میزان تجمع را دارا بودند. آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه اختلاف آماری معنی‌داری را بین ایستگاه‌ها نشان داد ($P < 0/05$) (شکل ۲). در دوره پس‌مانسون در اغلب ایستگاه‌ها افزایش میزان فلز مس در بافت ثبت گردید و میانگین کل در این فصل $4/98 \pm 1/44$ میکروگرم بر گرم وزن خشک بود که نسبت به دوره مانسون افزایش داشته ولی از دوره پیش مانسون کمتر بوده است. ایستگاه ۱ با ۱۰/۸۹ بیشترین و ایستگاه ۲۲ با ۰/۳۴ میکروگرم بر گرم کمترین مقادیر فلز مس را دارا بودند. آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه اختلاف معنی‌داری را بین ایستگاه‌ها نشان داد ($P < 0/05$) (شکل ۲).

روی: دامنه تغییرات این فلز در پرتار از ۷/۷ تا ۴۳/۲ میکروگرم بر گرم وزن خشک متغیر بوده است.

۰/۰۰۶ میلی مول لئوپتین (سیگما)، ۰/۵ میلی مول PMSF (سیگما) به عنوان عوامل جلوگیری کننده از تجزیه پروتئین و بتا-مرکاپتوتانول (سیگما) ۰/۰۱ درصد به عنوان یک عامل احیاء کننده اضافه شد. محلول هموژن شده در دور ۶۰۰۰ برای ۲۰ دقیقه به سانتریوفیوژ یخچال دار منتقل شد. محلولی با دو فاز تشکیل می‌شود که مایع بالایی حاوی پروتئین متالوتیونین است. به ازای ۱ میلی‌لیتر مایع حاوی پروتئین متالوتیونین در هر لوله ۱/۰۵ میلی‌لیتر اتانول سرد (۲۰- درجه) و ۸۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه گردید. نمونه‌ها برای ۱۰ دقیقه در دمای ۴-۰ درجه سانتی‌گراد در دور ۶۰۰۰ سانتریوفیوژ شدند. به فاز بالایی محلول سانتریوفیوژ شده ۴۰ میکرولیتر اسیدکلریدریک ۳۷ درصد اضافه شد و در دمای ۲۰- درجه برای یک ساعت ذخیره و سپس برای ۱۰ دقیقه با دور ۶۰۰۰g سانتریوفیوژ شد. رسوب باقی‌مانده حاوی پروتئین متالوتیونین با بافر هموژن کننده شامل اتانول ۸۷ درصد، کلروفرم ۱ درصد، شسته شدند که این امر سبب خارج ساختن تیولهای سولفید می‌گردد، سپس مجدداً سانتریوفیوژ شدند (۱).

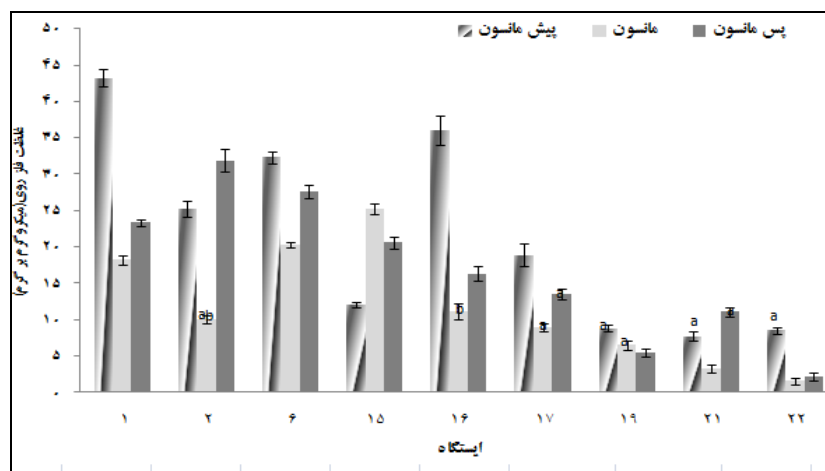
به رسوب مقدار ۱۵۰ میکرولیتر محلول ۰/۲۵ مولار کلرید سدیم و ۱۵۰ میکرولیتر از محلول یک نرمال اسیدکلریدریک - ۴ میلی مول EDTA اضافه گردید. قبل از آنالیز با دستگاه، ۰/۴۳ میلی مول از DTNB را در بافر فسفات ۰/۲ مول (pH ۸) و کلرید سدیم ۲ مول حل شده و به نمونه‌ها اضافه گردید، محلول در دمای اتاق و در محل تاریک نگهداری شد. در مرحله پایانی نمونه‌ها در دمای اتاق برای مدت ۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰g سانتریوفیوژ شده و سپس توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV-2100 در طول موج ۴۱۲ نانومتر سنجیده شدند. برای تعیین غلظت متالوتیونین از منحنی استاندارد و مرجع گلو تاتیون (GSH) استفاده شد محلول مادر را به صورت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در کلرید سدیم ۰/۲۵ نرمال آماده کرده و حداقل ۳ استاندارد مرجع ۲۰، ۴۰، ۸۰ میکرولیتر و یک شاهد از آن



شکل ۲- مقایسه میانگین (میانگین \pm انحراف معیار) تغییرات غلظت فلز مس در بافت پرتار *G. bonhouri* در ایستگاه‌ها و فصول مختلف. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری با یکدیگر است ($P > 0.05$).

ایستگاه‌ها $11/84 \pm 2/65$ میکروگرم برگرم ثبت شد که نسبت به دوره پیش مانسون کاهش داشته است. آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه اختلاف آماری معنی‌داری را در سطح اطمینان ۹۵ درصد، بین ایستگاه‌ها نشان داد (شکل ۳). در فصل پس‌مانسون در میانگین کل در ایستگاه‌ها $16/51 \pm 3/58$ میکروگرم برگرم وزن خشک ثبت و دامنه تغییرات از $2/21$ تا $31/92$ میکروگرم برگرم متغیر بود که در ایستگاه‌های ۲ و ۲۲ مشاهده گردید. آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه اختلاف آماری معنی‌داری بین ایستگاه‌ها نشان داد ($P < 0.05$) (شکل ۳).

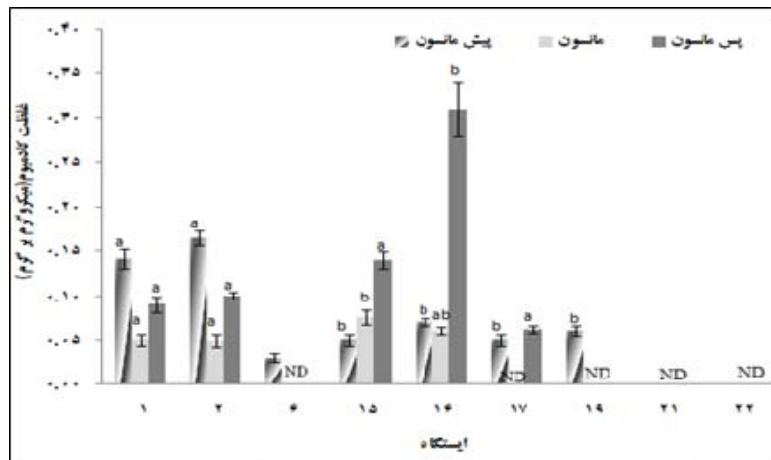
میانگین فلز در کل ایستگاه‌ها برابر با $20/95 \pm 4/51$ میکروگرم برگرم وزن خشک به‌دست آمد. آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه اختلاف آماری معنی‌داری را بین ایستگاه‌ها نشان داد و پس‌آزمون توکی مشخص نمود که به‌جز ایستگاه‌های ۲۱ و ۲۰، ۲۱ که باهم اختلاف آماری معنی‌داری ندارند ($P > 0.05$) در سایر موارد ایستگاه‌ها اختلاف آماری معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$) (شکل ۳). در دوره مانسون دامنه تغییرات در این فصل از $25/24$ در ایستگاه ۱۵ تا $1/57$ میکروگرم برگرم وزن خشک در ایستگاه ۲۲ متغیر بود و میانگین غلظت فلز در کل



شکل ۳- مقایسه میانگین (میانگین \pm انحراف معیار) تغییرات غلظت فلز روی در بافت پرتار *G. bonhouri* در ایستگاه‌ها فصول مختلف. حروف مشابه در ستون‌های هر فصل عدم معنی‌داری با یکدیگر را نشان می‌دهد ($P > 0.05$).

کادمیوم: در این فصل غلظت کادمیوم در بافت کرم پرتار برخی از ایستگاه‌ها بسیار پایین بود و توسط دستگاه جذب اتمی شعله‌ای قابل‌سنجش نبودند (ND). میانگین کل در این دوره برای ایستگاه‌هایی که دارای مقادیر قابل‌سنجش بودند 0.136 ± 0.04 میکروگرم بر گرم وزن خشک بود که بیشترین مقدار در ایستگاه ۲ با 0.165 میکروگرم بر گرم به‌دست آمد و ایستگاه‌های ۲۰، ۲۱ و ۲۲ مقادیر بسیار پایینی را دارا بودند. آنالیز واریانس یک‌طرفه بین ایستگاه‌ها اختلاف آماری معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$) (شکل ۴). در دوره مانسون تعداد ایستگاه‌هایی که مقادیر بسیار پایینی از کادمیوم را که توسط دستگاه در بافت کل پرتار قابل‌سنجش نبود (ND) به نسبت دوره پیش مانسون بیشتر بوده و از نظر میانگین کل 0.059 ± 0.01

میکروگرم بر گرم پایین‌تر بوده است. ایستگاه ۱۵ با 0.07 میکروگرم بر گرم وزن خشک غلظت کادمیوم بالاتری داشته است. آزمون آماری اختلاف معنی‌داری بین ایستگاه‌ها نشان داد ($P < 0.05$) (شکل ۴). در فصل پس مانسون اندازه‌گیری‌ها نشان داد که میانگین غلظت کادمیوم در بافت پرتار نسبت به دوره مانسون و نیز دوره پیش مانسون افزایش داشته است (0.152 ± 0.01 میکروگرم بر گرم). ایستگاه ۱۶ با 0.31 میکروگرم بر گرم بیشترین مقدار فلز داشته و در ۴ ایستگاه مقادیر بسیار پایین بود. بطوریکه توسط دستگاه جذب اتمی قابل‌سنجش نبود. آزمون آماری اختلاف معنی‌داری را بین ایستگاه‌ها نشان داد ($P < 0.05$) (شکل ۴).



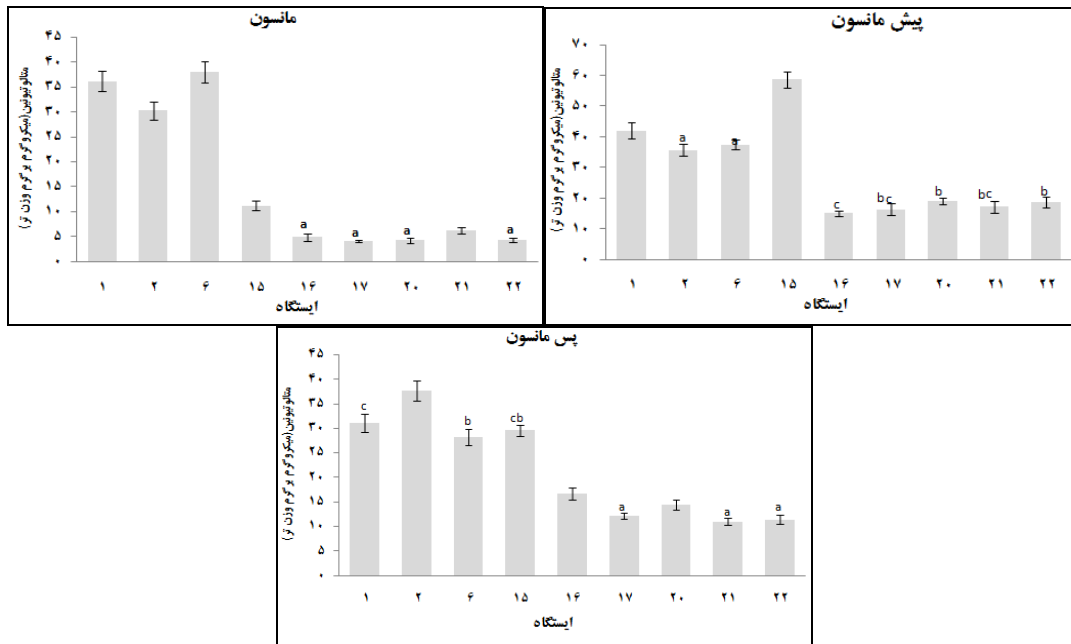
شکل ۴- مقایسه میانگین (میانگین \pm انحراف معیار) تغییرات غلظت فلز کادمیوم در بافت پرتار *G. bonhourii* در ایستگاه‌ها و فصول مختلف در هر فصل ستون‌های دارای حروف متفاوت متفاوت اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهند ($P < 0.05$).

ایستگاه ۱۷ با $4/12$ میکروگرم بر گرم وزن‌تر کمترین میزان غلظت متالوتیونین را دارا بودند. میانگین غلظت این پروتئین در این منطقه در این دوره $4/9 \pm 15/50$ میکروگرم بر گرم بوده که در مقایسه با دوره قبل از میانگین کمتری برخوردار بوده است. آنالیز واریانس یک‌طرفه تفاوت معنی‌داری را میان ایستگاه‌ها نشان داد ($P < 0.05$) (شکل ۵). در دوره پس مانسون که تغییرات زیست‌محیطی کاهش یافته و اصطلاحاً دوره آرامش محسوب می‌گردد، با توجه به تغییرات ایجادشده که بر ارگان‌های آن نیز مؤثر است، نتایج

تغییرات بیومارکر پروتئین متالوتیونین: در فصل پیش مانسون دامنه تغییرات غلظت پروتئین متالوتیونین از $13/3$ تا $58/63$ میکروگرم بر گرم وزن‌تر گزارش گردید که بیشترین و کمترین مقدار به ترتیب در ایستگاه‌های ۱۵ و ۱۷ ثبت شد. میانگین کل غلظت متالوتیونین پرتار *G. bonhourii* $28/33 \pm 5/2$ میکروگرم بر گرم وزن‌تر بوده و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه در تفاوت آماری معنی‌داری در ایستگاه‌ها نشان داد (شکل ۵). در دوره مانسون ایستگاه ۶ با $38/14$ میکروگرم بر گرم وزن‌تر بیشترین میزان و

تعیین معنی‌داری تفاوت‌ها بین ایستگاه‌ها، اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/05$) (شکل ۵). در مقایسه میانگین کل در سه فصل مختلف با آزمون آنالیز واریانس تفاوت معنی‌داری بدست آمد ($P < 0/05$) که پس‌آزمون توکی این اختلاف را بین فصل مانسون و پیش مانسون نشان داد.

نشان می‌دهد که در اغلب ایستگاه‌ها غلظت این پروتئین افزایش یافته است، به‌طوری‌که دامنه تغییرات آن با میانگین کل این دوره با $21/39 \pm 4/37$ میکروگرم بر گرم در این دوره از $37/7$ میکروگرم بر گرم در ایستگاه ۲ تا $11/01$ میکروگرم بر گرم که کمترین مقدار محسوب می‌شود در ایستگاه ۲۱ متغیر بوده است. آزمون آنالیز واریانس برای



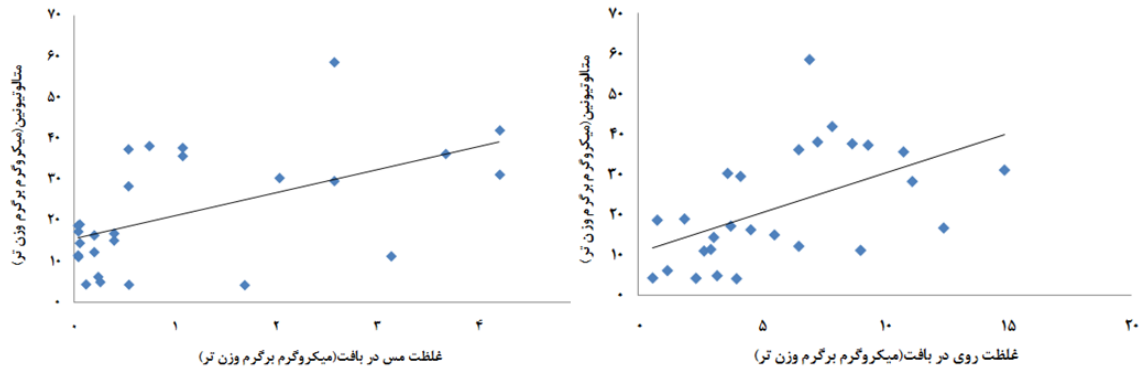
شکل ۵- تغییرات غلظت (میانگین \pm انحراف معیار) پروتئین متالوتیونین پرتار *G. bonhourii* در ایستگاه‌ها و فصول مختلف خلیج چابهار. حروف همانم عدم معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P > 0/05$).

را در دو فصل دیگر مانسون و پس‌مانسون ما شاهد هستیم (جدول ۲) و تغییرات مقادیر فلزات در بافت پرتار در ایستگاه‌ها و فصول مختلف ارتباط مثبت با منفی معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P > 0/05$). در شکل ۶ نمودار همبستگی میان غلظت‌های فلزات سنگین در کل فصول با غلظت‌های متالوتیونین قابل ملاحظه است.

همبستگی غلظت فلزات کادمیوم- روی و مس در بافت پرتار *G. bonhourii* با میزان بیوستز متالوتیونین: در فصل پیش‌مانسون همبستگی معنی‌داری میان غلظت فلزات در بافت با سطوح متالوتیونین به دست نیامد ($P > 0/05$) ولی فلزات روی و مس بافت در این فصل همبستگی مثبت متوسطی را با غلظت متالوتیونین نشان دادند که این روند

جدول ۲- همبستگی پیرسون غلظت فلزات مس و روی و کادمیوم در بافت پرتار *G. bonhourii* با غلظت متالوتیونین در سه دوره زمانی

	پیش مانسون			مانسون			پس مانسون		
	Cu	Zn	Cd	Cu	Zn	Cd	Cu	Zn	Cd
بافت	$r = 0/48$	$r = 0/40$	$r = -0/29$	$r = 0/33$	$r = 0/55$	$r = -0/26$	$r = 0/45$	$r = 0/41$	$r = 0/257$
	$p = 0/165$	$p = 0/286$	$p = 0/532$	$p = 0/067$	$p = 0/125$	$p = 0/156$	$p = 0/119$	$p = 0/212$	$p = 0/657$



شکل ۶- نمودار رگرسیونی غلظت فلز مس و روی در بافت با مقادیر متالوتیونین پرتار *G. bonhourii* در کل فصول

بحث

نشان‌دهنده عدم تأثیرپذیری محیط از آلاینده است. میانگین‌ها در فصول برای این فلز به صورت پس-مانسون < پیش‌مانسون > مانسون بوده است که فصل پس-مانسون با ۰/۱۴ میکروگرم برگرم بیشترین مقدار را دارا بود. در این فصل ثبت مقدار ۰/۳۱ میکروگرم برگرم از ایستگاه ۱۶ که بالاترین مقدار ثبت‌شده در کل دوره‌ها بوده، سبب فاصله گرفتن میانگین این فصل از دو فصل دیگر شده است و سبب شده تا آزمون آماری تفاوت معنی‌داری را نشان دهد ($P < 0/05$). تجمع فلزات مس و روی نیز در نمونه‌های آنالیز شده در ایستگاه‌های ۲۱ و ۲۲ کمترین مقادیر را دارا بوده است و با توجه به نتایج آنالیز فلزات رسوبات در این نقاط می‌توان گفت این ایستگاه‌ها از تجمع آلاینده‌های کمتری نسبت به سایر ایستگاه‌ها برخوردارند. جنس بستر (شنی ریز) و عدم ریزش پساب‌ها در این ایستگاه‌ها می‌تواند دلیل این مسأله باشد. از طرفی دیگر تفاوت در میان ایستگاه‌ها به میزان تغذیه پرتار ارتباط دارد. در بسترهایی که تجمع رسوب کمتری داشته باشند فلزات کمتری وارد بدن پرتار می‌شود. پرتار *G. bonhourei* رژیم غذایی کف‌خواری و همه چیزخواری دارد. همچنین تجمع در بدن پرتار به فاکتورهای مختلفی مثل متابولیسم، شرایط محیطی آلاینده‌ها و فاکتورهای غیرزیستی دیگر ارتباط دارد (۲۷). در مطالعه بوداکومار و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی فلزات مس، کادمیوم و روی در پرتار *Glycer longipinis* غلظت برای هر سه فلز در فصول به صورت پیش-

بسیاری از مطالعاتی که برای استفاده از متالوتیونین‌ها به عنوان بیومارکر فلزات انجام پذیرفته در شرایط آزمایشگاهی و بکار بردن غلظت فلزات در مقادیر بالا و غیرمعمول بوده است که با مقادیر فلزات در شرایط محیط طبیعی فاصله بسیاری دارد (۳۰). اگرچه بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که القاء بیومارکر متالوتیونین در مهره‌داران و بی‌مهرگان بوسیله فلزات صورت می‌گیرد، ولی فاکتورهای زیستی و غیرزیستی محیطی دیگری غیر از فلزات مثل جابجایی، گرسنگی، کمبود اکسیژن، دما و شوری، چرخه تولیدمثلی، اندازه و وزن در سنتز متالوتیونین مؤثر می‌باشند (۳ و ۲۳).

بررسی نتایج، الگوی تغییرات میزان غلظت فلز مس در کل دوره و در فصول مختلف را به صورت پیش‌مانسون < پس-مانسون > مانسون نشان داد. فصل پیش‌مانسون با ۵/۴۹ میکروگرم برگرم بیشترین مقدار را در خلیج دارا بوده است. درحالی‌که مقادیر فلز روی در بافت پرتار نتایج مشابهی داشته و به صورت پیش‌مانسون < پس‌مانسون > مانسون بوده است. در فصل پیش‌مانسون میانگینی برابر ۲۱/۴۰ میکروگرم برگرم برای فلز روی به دست آمد، اما برای فلز کادمیوم نتایج متفاوت بوده و مقادیر پایینی ثبت شد. بطوریکه در برخی ایستگاه‌ها (۲۲ و ۲۳) مقادیر از حد تشخیص دستگاه در هر سه دوره پایین‌تر بوده است که

است. این محققین علت تجمع بالای فلزات در پرتار و رسوبات منطقه را ورود حجم زیادی از پساب‌های خانگی و کارخانجات صنعتی و پالایشگاه‌های اطراف سواحل ذکر کرده‌اند. دورا و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی غلظت فلزات سنگین مس و کادمیوم در پرتار *Hediste diversicolor* میانگین ۰/۰۵ میکروگرم بر گرم وزن‌تر برای کادمیوم و ۱۰/۱۵ برای مس به دست آوردند که مقادیر آنها در رسوب به ترتیب ۰/۲۷ و ۲۷/۷۰ میکروگرم بر گرم بوده در جدول ۳ مقادیر فلزات سنگین در پرتار *G.bonhourei* خلیج چابهار با پرتاران سایر نقاط دنیا مقایسه شده است.

جدول ۳- مقایسه مقادیر فلزات سنگین ($\mu\text{g.g}^{-1}$) در پرتار *G.bonhourei* خلیج چابهار با پرتاران سایر نقاط دنیا

منطقه	Cd	Zn	Cu	منبع
پیش مانسون	۰/۰۸	۲۱/۴۱	۵/۴۱	مطالعه حاضر
مانسون	۰/۰۴	۱۱/۶۹	۲/۸۳	مطالعه حاضر
پس مانسون	۰/۱۵	۱۶/۹۰	۴	مطالعه حاضر
خوریات انگلیس	۰/۰۳-۱۰	۹۱-۵۱۰	۱۰-۱۴۳۰	Bryan <i>et al.</i> , 1985
خور Urdaibai	۰/۱-۱/۷	۲۵-۳۰۰	۶/۳-۳۹	Diez <i>et al.</i> , 2000
دریای Barents	۰/۳۴	۴۷	۶/۸	Zauke <i>et al.</i> , 2003
خلیج Hugli هند	-	۱۸/۲۸-۱۰۲/۲۵	۸/۱۵-۳۰/۶۶	Saha <i>et al.</i> , 2006
خور Bidasoa	۰/۱	۱۷۲	۲۱	Miron <i>et al.</i> , 1994
خلیج Plentzia	۰/۱	۱۳۶	۱۲	Saiz-Salinas, 1997
خلیج Nirbioi	۰/۱-۰/۲	۱۰۰-۲۰۰	۱۲-۲۵	Saiz-Salinas, 1997

تغییر برای آنها به ترتیب برای مس (۱۲/۶(۱۰/۸۹-۱۵/۲) و (۷/۲-۱۲/۵) ۹/۶۶ میکروگرم بر گرم و برای فلز روی (۴۳/۲-۱۸/۲) ۲۸/۲۴ و (۱۲-۲۵/۲۴) ۱۹/۶۵ بوده است. مقادیر فلز مس از میانگین به دست آمده در دریای Barents و Plentzia بالاتر بوده که با توجه به بالا بودن مقادیر فلزات سنگین در رسوبات اسکله‌ها می‌توان دسترسی زیستی را عامل مؤثرتری در خلیج چابهار دانست. میانگین ثبت شده برای فلز کادمیوم در فصول پیش مانسون و مانسون پایین‌تر از مقادیر بدست آمده در سایر نقاط می‌باشد و فقط در فصل پس مانسون دارای میانگین بالاتری نسبت به خورهای Bidasoa بوده است. در این فصل ایستگاه ۱۶ دارای میانگین ثبت شده ۰/۳۱ بوده که اختلاف

مانسون پس مانسون مانسون بوده است که مشابه تحقیق حاضر در مورد فلز مس و روی می‌باشد. در این تحقیق برای فلز مس دامنه ۲۷/۰۸-۲/۲۱ و فلز روی ۸۲/۳۰-۸۴-۴۲ و کادمیوم ۰/۰۴-۱/۳۸ میکروگرم بر گرم گزارش نمودند که بالاتر از میانگین غلظت‌ها در مطالعه حاضر (مس ۰/۱-۱۵/۲ و روی ۱/۵۷-۴۳/۲ و کادمیوم ۰/۳۱-۰/۰۳ میکروگرم بر گرم) مقادیر قابل تشخیص دستگاه) بوده است. تجمع فلز در پرتار به مقدار فلز تجمع یافته در رسوب و میزان تغذیه کرم بستگی دارد که در مطالعه یوداکومار و همکاران (۲۰۱۱) نیز به این نکته اشاره شده

در مقایسه با سایر نقاط، مقادیر میانگین غلظت‌های فلزات مس و روی در مطالعه حاضر در هر سه دوره پایین‌تر از مقادیر ثبت شده از پرتاران مناطق دیگر دنیا بوده است که می‌تواند با توجه به نتایج ذکر شده عوامل مؤثری همچون متفاوت بودن گونه، رژیم تغذیه‌ای، اثرات فصل و میزان دسترسی زیستی آلاینده‌ها را برای آن ذکر نمود. تغییرات فصلی-زمانی بر شکل جریان، دما و ایجاد آشوب در محیط دریایی اثر گذاشته که سبب تفاوت‌ها در تجمع فلزات و اثر بر چرخه حیات و تولیدمثل اجتماعات بتیک می‌شود (۵)، در بررسی ایستگاهی مشخص شد که ایستگاه‌های ۱ و ۱۵ (اسکله‌های هفت تیر و کلانتری) بیشترین میزان غلظت فلزات را در هر سه دوره داشته و میانگین کلی و دامنه

دیگر نشان داد. طبق نتایج به‌ترتیب مقادیر متالوتیونین در فصول پیش‌مانسون <پس‌مانسون>مانسون بیشتر بوده که میانگین‌های آنها شامل: پیش‌مانسون $28/87 \pm 5/08$ ، مانسون $21/39 \pm 3/41$ میکروگرم بر گرم وزن تر بوده است. مقدار خطای استاندارد در فصل مانسون نشان‌دهنده پراکنده بودن مقادیر ثبت‌شده در این دوره است. محققین زیادی تغییرات فصلی غلظت‌های متالوتیونین را در بی‌مهرگان دریایی گزارش داده‌اند از جمله: بادوریمونت و همکاران (۱۹۹۷)، حمزه-چافای و همکاران (۱۹۹۹)، سرا و همکاران (۱۹۹۹)، بیبانو و همکاران (۲۰۰۰)، راسپور و همکاران (۲۰۰۴)، جفارد و همکاران (۲۰۰۵) و نهایتاً تغییرات فیزیولوژیک و محیطی را دارای بیشترین تأثیر در نوسانات MT گزارش نموده‌اند. در بررسی ایستگاه‌ها در فصل پیش‌مانسون اختلاف معنی‌داری میان ایستگاه‌ها مشاهده گردید و ایستگاه‌های ۱ و ۱۵ با مقادیر $41/97$ و $58/63$ میکروگرم بر گرم وزن تر با سایر ایستگاه‌ها اختلاف معنی‌داری داشته‌اند. به‌طورکلی ایستگاه‌هایی که در بخش شمالی خلیج قرار داشتند، از سطوح متالوتیونین پایین‌تری برخوردار بودند. در فصل مانسون که فاکتور غالب آن آشفتنگی زیست‌محیطی است، ایستگاه ۱ و ۶ با $36/21$ و $38/14$ میکروگرم بر گرم بیشترین مقادیر غلظت متالوتیونین را دارا بودند. در این فصل نیز ایستگاه‌های بخش‌های شمالی و جنوب‌غربی تفاوت معنی‌داری را با ایستگاه‌های جنوب‌شرقی داشتند و هرچقدر از سمت جنوب‌شرق خلیج به سمت جنوب‌غربی پیش‌روی شد، از مقدار متالوتیونین کاسته شد. در دوره پس‌مانسون نسبت به فصل قبل، مقادیر متالوتیونین در اغلب ایستگاه‌ها افزایش داشته و ایستگاه‌ها با یکدیگر اختلافات معنی‌داری نشان دادند که تفاوت زیاد در دامنه تغییرات مقادیر غلظت‌های پروتئین در ایستگاه‌ها را نشان می‌دهد. ایستگاه‌های ۲ و ۱ با $37/7$ و $31/15$ بیشترین غلظت پروتئین را در این فصل دارا بودند و همانند دو فصل قبل ایستگاه‌های بخش‌های شمالی خلیج چابهار از

معنی‌دار و فاصله عددی زیادی با ایستگاه‌های دیگر داشته است. با توجه به اینکه ایستگاه مذکور در خارج از اسکله کنارک بوده و مقادیر فلزات رسوبات در آن کمتر بوده و منبع آلاینده شدیدی ندارد، احتمالاً خطای نمونه‌برداری و سنجش بی‌تأثیر نبوده است. به‌طوریکه با حذف این مقدار از داده‌ها علاوه بر نزدیک شدن نرمال شدن داده‌ها، میانگین کل این فصل $0/09$ میکروگرم بر گرم خواهد بود که پایین‌تر از مقادیر ثبت شده سایر نقاط دنیا است. چرخه زیستی، وزن و استراتژی تغذیه در میزان جذب فلز کادمیوم توسط پرتار نیز اثرگذار است (۲۸) و سبب تغییرات در میزان فلزات رسوب و بدن موجود می‌گردد.

تغییرات سطوح بیومارکر پروتئین متالوتیونین (MT) در پرتار *G. bonhourei*: در استفاده از بیومارکرها همواره تفاوت‌های اساسی در نتایج بدست آمده از اثرات کوتاه مدت آزمایشگاهی تا اثرات بلندمدت در شرایط محیطی در موجودات وجود دارد (۸). بیومارکرها معمولاً برای یک نوع آلاینده در زمانی خاص قابل استناد هستند در حالیکه در شرایط محیطی ممکن است موجود همزمان تحت اثر چندین استرس باشد (۱۷). برای مثال کاسون در سال ۲۰۰۰ در مطالعه‌ای آزمایشگاهی گونه دوکفه‌ای *Crassostera gigas* را در معرض چند فلز (کادمیوم، مس، روی، جیوه و نقره) قرارداد و در تمام فلزات همبستگی معنی‌داری بین فلز و متالوتیونین بدست آمد. در حالیکه در مطالعه میدانی توسط پلرین و آمیارد (۲۰۰۹) در بررسی اثرات فلزات جیوه، کادمیوم، مس و روی بر میزان القاء متالوتیونین در دوکفه‌ای *Mya arenaria* در دو منطقه آلوده و غیرآلوده، تنها فلز کادمیوم در منطقه آلوده همبستگی معنی‌دار مثبت را نشان داد. بنابراین در چنین مواقعی که احتمال تأثیر چندین نوع استرس وجود دارد، استفاده از پایشگرهای زیستی پیشنهاد می‌گردد (۱۹). نتایج بدست آمده از بررسی سطوح غلظت‌های پروتئین متالوتیونین در بافت پرتار *G. bonhourei* در فصول مختلف در خلیج چابهار تفاوت‌های معنی‌داری بین فصل مانسون و دو فصل

پرتار *Nereis diversicolor* درخور بدست نیاوردند، لذا متالوتیونین را بیومارکر مناسب نداشتند. همچنین لیو و وانگ (۲۰۱۱) در مطالعه خود در دوکفه‌ای اسکالوپ به دلیل نوسانات غلظت‌های متالوتیونین در غلظت‌های مختلف کادمیوم این بیومارکر را در دوکفه‌ای فوق‌الذکر برای پایش محیطی مناسب ندانسته و اثرات دما، تغذیه و اندازه را تأثیرگذار دانسته‌اند. لازم به ذکر است مقادیر دو فلز مس و روی در بافت در دو فصل پیش‌مانسون و پس-مانسون با پروتئین همبستگی متوسطی ($0.2 < r < 0.4$) را نشان دادند ولی فاقد معنی‌داری بوده‌اند. بررسی ایستگاه‌ها در فصل پیش‌مانسون برای فلز روی نشان می‌دهد، میزان تجمع این فلز در بافت پرتار *G. bonhourei* در ایستگاه ۱۵ کمتر از ایستگاه ۱ بوده ولی از نظر مقادیر غلظت متالوتیونین مقادیر آن در ایستگاه ۱۵، $58/63$ میکروگرم برگرم و در ایستگاه ۱، $41/97$ میکروگرم برگرم بوده و یا در ایستگاه ۱۶ مقدار غلظت فلز در این ایستگاه از ایستگاه‌های ۲ و ۶ و ۱۷ و ۲۰ و ۲۲ بالاتر بوده اما غلظت متالوتیونین کمتری ثبت شده است. همچنین در مورد فلز مس در این فصل ایستگاه ۱ و ۱۵ از نظر مقادیر غلظت‌های مس و متالوتیونین برخلاف یکدیگر بودند. در برخی از ایستگاه‌های دیگر مثل ۲۱ و ۲۲ که کمترین میزان تجمع فلز مس را داشته‌اند، مقادیر غلظت‌های پروتئین القاء شده در آنها بیشتر از ایستگاه‌های ۱۶ و ۱۷ است. این در حالیست که ایستگاه‌های ۲۱ و ۲۲ از نظر مقادیر غلظت‌های فلز در بافت کمترین مقادیر را دارا بودند. در این دوره میانگین غلظت‌های متالوتیونین نسبت به فصول دیگر اختلاف معنی‌داری داشت و علی‌رغم ثبت کاهش غلظت‌های هر دو پارامتر فلزات و پروتئین متالوتیونین نسبت به فصل قبل، همبستگی معنی‌داری بین آنها مشاهده نگردید. در این فصل هم تغییرات نامنظم بین مقادیر پروتئین و غلظت فلزات در ایستگاه‌ها مشاهده گردید. مثلاً ایستگاه‌های ۲۱ و ۲۲ کمترین میزان فلز روی را در بافت داشتند ولی مقادیر پروتئین در آنها بالاتر از ایستگاه‌ها ۱۶،

مقادیر پایین‌تری برخوردار بودند. تنها مطالعه‌ای که در ایران در مورد این بیومارکر در بی‌مهرگان آبی صورت گرفته مربوط به مطالعه عظیمی و همکاران (۱۳۹۱) در مورد استفاده از متالوتیونین به‌عنوان نشانگر زیستی فلزات سنگین (جیوه، مس، سرب و کادمیوم) در دوکفه‌ای *Crassostra gigas* در بندر امام خمینی بوده که در این مطالعه مقادیر متالوتیونین از $141/67 \pm 7/49$ تا $184/75 \pm 7/34$ میکروگرم برگرم متغیر بوده است. در این مطالعه مقادیر مس و سرب برخلاف کادمیوم در بافت از حد استاندارد بالاتر بوده است (به ترتیب 550 و 440 میکروگرم برگرم)، اما همبستگی معنی‌دار با متالوتیونین نداشته‌اند. این پروتئین در نهایت به‌عنوان بیومارکر کادمیوم در این منطقه برای این دوکفه‌ای معرفی شد. طبق نتایج مطالعات لادهار-چابونی و همکاران (۲۰۱۲) و آمیارد و همکاران (۲۰۰۸) فاکتورهای زیستی و غیرزیستی در برخی موجودات اثرات قابل‌توجهی بر سطوح غلظت‌های متالوتیونین می‌گذارند که ممکن است باعث سردرگمی در تحلیل نتایج سم‌شناسی غلظت‌های این پروتئین در محیط طبیعی گردد و به همین دلیل نتایج بدست آمده در یک‌گونه یا در یک منطقه برای بیومارکر قابل‌تعمیم به همه مناطق نیست. ارتباط تغییرات سطوح متالوتیونین *G. bonhourei* با فلزات کادمیوم، مس و روی از جمله فلزاتی بوده که سبب القاء بیوستز پروتئین متالوتیونین در بدن بی‌مهرگان و مهره‌داران می‌شوند (۲۶). در بررسی نتایج همبستگی اسپیرمن در فصول مختلف در هیچ‌یک از فصل‌های پیش-مانسون، مانسون و پس‌مانسون همبستگی معنی‌داری میان غلظت‌های فلزات مس، روی و کادمیوم در بافت و رسوب با نوسانات مشاهده‌شده در غلظت‌های متالوتیونین بدست نیامد. این امر می‌تواند بیانگر تأثیر برخی دیگر از فاکتورهای زیست‌محیطی (مثل دما، شوری و وزن) بر تغییرات سطوح متالوتیونین باشد. پویریر و همکاران (۲۰۰۶) در مطالعه خود ارتباط معنی‌داری میان پروتئین متالوتیونین و فلزات سنگین (Cd, Zn, Pb, Ag) در کرم

ایستگاه‌های ۲۱ و ۲۲ کمترین مقادیر فلزات روی، مس و کادمیوم و متالوتیونین را در این فصل داشتند. پلارین و آمیارد (۲۰۰۹) اثر تغییرات فصلی را در میزان القاء متالوتیونین در دوکفه‌ای *Mytilus galloprovincialis* در سواحل ایتالیا مطالعه کرده که طبق نتایج فصول اختلاف معنی‌داری گزارش شد. نتایج این مطالعه همانند مطالعه حاضر است. این محققین تغییرات بین فصول را ناشی از تغییرات فیزیولوژیکی موجود مثل کاهش دسترسی به غذا دانسته‌اند. در مطالعه حاضر در فصل مانسون به دلیل شرایط نامساعد محیطی و ناپایداری بستر و استرس شدید محیطی احتمالاً بر روند تغذیه پرتار اثرگذار بوده است. این امر می‌تواند یکی از دلایل کاهش معنی‌دار غلظت‌های متالوتیونین در مانسون باشد. مویانا و همکاران (۲۰۰۵)، آمیارد و همکاران (۱۹۹۶)، وانگ و همکاران (۱۹۹۹) نیز به نتایج مشابهی اشاره کرده‌اند. جدول ۴ نتیجه بررسی برخی از مطالعات میدانی پرتارانی که فلزات مس، روی و کادمیوم در آنها القاکنده پروتئین متالوتیونین بوده یا نبوده را نشان می‌دهد. طبق این جدول در اکثر گونه‌ها همانند مطالعه حاضر، فلزات در شرایط محیطی القاء کننده متالوتیونین و در نتیجه برای آن فلزات بیومارکر محسوب نمی‌گردند.

۱۷ و ۲۰ بوده است. یا ایستگاه ۱۵ که بیشترین مقدار فلز روی را در بافت نشان داد، غلظت متالوتیونین کمتری از ایستگاه‌های ۱ و ۶ داشته است. در مورد فلز مس و کادمیوم هم این شرایط وجود داشته است، برای مثال در مورد فلز مس مقادیر غلظت فلز در دو ایستگاه ۲ و ۶ کمتر از ایستگاه ۱۵ بوده ولی نسبت به آن مقادیر بسیار بالا و معنی‌داری از متالوتیونین در بافت ثبت گردید که تغییرات مشابهی برای فلز کادمیوم نیز بدست آمد. بنابراین در این فصل هم تغییرات پروتئین در ایستگاه‌ها نمی‌تواند تنها متأثر از فلزات سنگین باشد. در دوره پس‌مانسون باوجود همبستگی مثبت متوسط میان دو فلز روی و مس در بافت با متالوتیونین، اما آزمون همبستگی معنی‌دار نبوده است که نشان‌دهنده وجود ایستگاه‌هایی است که تغییرات متفاوتی همانند فصول قبل داشته‌اند. فلز مس در ایستگاه ۲ دارای بیشترین مقدار متالوتیونین در بافت می‌باشد (۳۷/۷ میکروگرم بر گرم) ولی از نظر مقدار غلظت فلز از ایستگاه‌های ۱ و ۱۵ کمتر است در مورد ایستگاه‌های ۶ و ۱۶ نیز شرایط مشابهی وجود دارد. فلز روی و کادمیوم در این فصل مانند مس تغییرات متفاوت بین ایستگاهی را نشان می‌دهند، ایستگاه ۱ مقدار متالوتیونین بالاتری نسبت به ایستگاه ۶ داشته ولی از نظر غلظت فلز روی در بافت ایستگاه ۶ مقادیر بالاتری نسبت به ایستگاه ۱ دارا بود.

جدول ۴- نتایج بررسی پرتاران در شرایط محیطی برای القاء پروتئین متالوتیونین

گونه	فلزات القاء کننده			منبع
	Cd	Cu	Zn	
<i>Chaetozone setosa</i>	+	+		Eriksen <i>et al.</i> , (1990)
<i>Goniada maculata</i>	+	+		Eriksen <i>et al.</i> , (1990)
<i>Goniada maculata</i>		+		Eriksen <i>et al.</i> , (1989)
<i>Lumbrineris fragilis</i>	+	+	No	Geracitano <i>et al.</i> , (2004)
<i>Melinna cristata</i>		No	No	Eriksen <i>et al.</i> , (1989)
<i>Nereis (Hediste) diversicolor</i>	No	No	No	Berthet <i>et al.</i> , (2003)
<i>Orbinia norvegica</i>		No	No	Eriksen <i>et al.</i> , (1989)
<i>Pectinaria belgica</i>		No	No	Eriksen <i>et al.</i> , (1989)
<i>Glycinde bonhourei</i>	No	No	No	مطالعه حاضر

نقش اصلی را در القاء دارد و نیز عملکردهای فیزیولوژیک پرتار در دفع فلز و عدم تأثیرگذاری آن بر القاء ژن سنتز کننده پروتئین، می‌تواند سبب این امر گردد. اگرچه بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که القاء متالوتیونین در مهره‌داران و بی‌مهرگان بوسیله فلزات صورت می‌گیرد، ولی فاکتورهای دیگری غیر از فلزات آلاینده مثل جابجایی، گرسنگی، کمبود اکسیژن، یخ‌زدگی و وجود آنتی بیوتیک‌ها، ویتامین‌ها یا حشره‌کش‌ها می‌توانند سبب تغییرات سطوح متالوتیونین گردند (۲۳).

شرط اصلی برای مناسب دانستن یک بیومارکر در پایش‌های زیست‌محیطی یک منطقه، داشتن ارتباط همبستگی خطی معنی‌دار مستقیم بین غلظت فلزات سنگین و بیومارکر در بدن موجود است (۴). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد بین غلظت‌های فلزات در بافت و متالوتیونین همبستگی وجود ندارد که می‌تواند به دلیل ناپایدار بودن شرایط محیطی و غالب بودن فاکتورهای زیستی و غیرزیستی بر تأثیر فلزات در القاء متالوتیونین باشد. از طرفی پایین بودن مقادیر برخی از فلزات مثل کادمیوم که

منابع

- ۱- عظیمی، ع.، صفاهیه، ع.ر.، دادالهی‌سهراب، ع.، ذوالقرنین، ح.، صفار، ب.، و سواری، الف.، ۱۳۹۱. ارزیابی استفاده از متالوتیونین به‌عنوان نشانگر زیستی فلزات سنگین جیوه، کادمیوم، سرب و مس در دوکف‌های *Crassostrea gigas* در منطقه بندر امام خمینی. اقیانوس‌شناسی. ۹(۱۳)، صفحات ۲۷-۳۹.
- ۲- محمودیان شوشتری، ع.، صفاهیه، ع.ر.، نیک پوری، رونق.م.ت.، و سالاری علی‌آبادی، م.ع.، ۱۳۹۴. سنجش غلظت فلزات سنگین روی، مس، کادمیوم و سرب در نرم‌تن کیتون
- 4- Amiard, J. C., Journel, R., and Bacheley, H., 2008. Influence of field and experimental exposure of mussels (*Mytilus* sp.) to nickel and vanadium on metallothionein concentration, *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C, 147, PP: 378-385.
- 5- Beche, L. A., Mcelravy, E. P., and Resh, V. H., 2006. Long term seasonal variation in the biological traits of benthic-macroinvertebrates in two Mediterranean climate streams in California, USA, *Freshwater Biology*, 51(1), PP: 56-75.
- 6- Baudrimont, M., Lemaire-Gony, S., Ribeyre, F., Metivaud, J., and Boudou, A., 1997. Seasonal variations of metallothionein concentration in the Asiatic clam (*Corbicula flaminea*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 118, PP: 361-367.
- 7- Calisi, A., Lionetto, M. G., De Lorenzis, E., Leomanni, A., and Schettino, T., 2014. Metallothionein Induction in the Coelomic Fluid of the Earthworm *Lumbricus terrestris* following Heavy Metal Exposure: A Short Report. *BioMed Research International*, Article ID 109386, 6 p.
- 8- Cairns, J. Jr. and Mount, D. I., 1990. Aquatic toxicology, Part 2, *Environmental Science and Technology*, 24(2), PP: 154-161.
- 9- Cosson, R. P., 2000. Bivalve metallothionein as a biomarker of aquatic ecosystem pollution by trace metals: limits and perspectives. *Cellular and Molecular Biology*, 46, PP: 295-309.
- 10- Dean, H., 2008. The use of polychaetes (Annelida) as indicator species of marine pollution: a review. *Journal of Tropical Biology*, 56, PP: 11-38.
- 11- Dora, E. C., Sunlu, U., and Ergen, Z., 2007. Heavy metal concentrations in Hediste diversicolor (Polychaeta) and sediments from Homa Lagoon (Izmir Bay-Turkey), 38, CIESM Congress, 38, 253 p.
- 12- Geffard, A., Smith, B. D., Amiard-triquet, C., Jeantet, A. Y., and Rainbow, P. S., 2005. Kinetics of trace metal accumulation and excretion in the polychaete *Nereis diversicolor*, *Marine Biology*, 147, PP: 1291-1304.
- 13- Gomez Gesteira, J. L., and Dauvin, J. C., 2000. Amphipods are good bioindicators of the impact of oil spills on soft-bottom macrobenthic

- communities. *Marine Pollution Bulletin*, 40(11), PP: 1017-1027.
- 14- Gillet, P., Mouloud, M., Durou, C., and Deutsch, B., 2008. Response of *Nereis diversicolor* population (Polychaeta, Nereididae) to the pollution impact e Authie and Seine estuaries (France), *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 76, PP: 201-210.
 - 15- Hamza-Chaffai, A., Amiard, J. C., Pellerin, J., Joux, L., and Berthet, B., 2000. The potential use of metallothionein in the clam *Ruditapes decussatus* as a biomarker of in situ metal exposure, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 127, PP: 185-197.
 - 16- Holme, N. A., and McIntyre, D. A., 1984. *Methods for the Study of Marine Benthos*, 2nd Ed, ISP Handbook 16, Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK, 387 p.
 - 17- Hanson, N., and Stark, J. D., 2012. A comparison of population level and individual level endpoints to evaluate ecological risk of chemicals, *Environmental Science and Technology*, 46, PP: 5590-5598.
 - 18- Hamza-Chaffai, A., Amiard, J. C., and Cosson, R. P., 1999. Relationship between metallothionein and metals in a natural population of the clam *Ruditapes decussatus* from Sfax coast: a non-linear model using Box-Cox transformation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 123, PP: 153-163.
 - 19- Ingole, B., Sivadas, S., Goltekar, R., Clemente, S., Nanajkar, M., Sawant, R., DSilva, C., Sarkar, A., and Ansari, Z., 2006. Ecotoxicological effect of grounded MV River Princess on the intertidal benthic organisms off Goa, *Environment International*, 32(2), PP: 284-291.
 - 20- Kenneth, M. Y., Morgan, I. M., Wu, R. R. S., Lau, T. C., and Furness, R. W., 2001. Growth rate as a factor confounding the use of the dogwhelk *Nucella lapillus* as biomonitor of heavy metal contamination, *Marine Ecology Progress series*, 221, PP: 145-159.
 - 21- Ladhar-Chaabouni, R., Machreki-Ajmi, M., and Hamza-Chaffai, A., 2012. Use of metallothioneins as biomarkers for environmental quality assessment in the Gulf of Gabès (Tunisia), *Environmental Monitoring and Assessment*, 184, PP: 2177-2192.
 - 22- Liu, F., and Wang, W. X., 2011. Metallothionein-like proteins turnover, Cd and Zn biokinetics in the dietary Cd-exposed scallop *Chlamys nobilis*, *Aquatic Toxicology*, 105, PP: 361-368.
 - 23- Mosleh, Y. Y., Paris-Palacios, S., Arnoult, F., Couderchet, M., Biagianti Risbourg, S., and Vernet, G., 2004. Metallothionein induction in aquatic oligochaete *Tubifex tubifex* exposed to herbicide isoproturon. *Environmental Toxicology*, 19, PP: 88-93.
 - 24- Mubiana, V. K., Qadah, D., Meys, J., and Blust, R., 2005. Temporal and spatial trends in heavy metal concentrations in the marine mussel *Mytilus edulis* from the Western Scheldt Estuary (The Netherlands), *Hydrobiologia*, 540, PP: 169-180.
 - 25- Pellerin, J., and Amiard, J. C., 2009. Comparison of bioaccumulation of metals and induction of metallothioneins in two marine bivalves (*Mytilus edulis* and *Mya arenaria*), *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 150, PP: 186-195.
 - 26- Poirier, L., Berthet, B., Amiard, J. C., Jeantet, A. Y., and Amiard-Triquet, C., 2006. A suitable model for the biomonitoring of trace metal bioavailabilities in estuarine sediments: the annelid polychaete *Nereis diversicolor*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 86(1), PP: 71-82.
 - 27- Roesijadi, G., and Robinson, W. E., 1994. Metal regulation in aquatic animals: mechanism of uptake, accumulation and release. In: Malins, D. C. and Ostrander, G.K. (Eds), *Molecular, Biochemical and Cellular Perspectives, Aquatic Toxicology*, Lewis Publishers, London, PP: 237-539.
 - 28- Rainbow, P. S., 1995. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment, *Marine Pollution Bulletin*, 31, PP: 183-192.
 - 29- Ruus, A., Schaanning, M., Oxnevad, S., and Hylland, K., 2005. Experimental results on bioaccumulation of metals and organic contaminants from marine sediments, *Aquatic Toxicology*, 72, PP: 273-292.
 - 30- Suriya, J., Bharathiraja, S., Sekar, V., and Rajasekaran, R., 2012. Metallothionein induction and antioxidative responses in the estuarine polychaete *Capitella capitata* (Capitellidae), *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), PP: S1052-S1059
 - 31- Sun, F. H., and Zhou, Q. X., 2007. Metal accumulation in the polychaete *Hediste japonica* with emphasis on interaction between heavy metals and petroleum hydrocarbons, *Environmental Pollution*, 149, PP: 92-98.

- 32- Serra, R., Isani, G., Tramontano, G., and Carpena, E., 1999. Seasonal dependence of cadmium accumulation and Cd-binding proteins in *Mytilus galloprovincialis* exposed to cadmium. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 123, PP: 165-174.
- 33- Udayakumar, P., Chandran, A., Jean Jose, J., Prasanthan, V., Deepak, M. P., and Narendra Babu, K., 2011. Heavy metals in the polychaete *Glycera longipinnis* from the southwest of India, *Chemistry and Ecology*, 4(27), PP: 327-336.
- 34- Viarengo, A., Burlando, B., Dondero, F., Marro, A., and Fabbri, R., 1999. Metallothionein as a tool in biomonitoring programmes. *Biomarkers*, 4, PP: 455-466.
- 35- Won, E. J., Raisuddin, S., and Shin, K. H., 2008. Evaluation of induction of metallothionein-like proteins (MTLPs) in the polychaetes for biomonitoring of heavy metal pollution in marine sediments, *Marine Pollution Bulletin*, 57(6-12), PP: 544-551.
- 36- Wang, G. W., Schuschke, D. A., and Kang, Y. J., 1999. Metallothionein overexpressing neonatal mouse cardiomyocytes are resistant to hydrogen peroxide toxicity, *American Journal of Physiology*, 276, PP: H167-H175.

Changes of Metallothionein biomarker in polychaete *Glycinde bonhourei* with effects Monsoon and heavy metals in Chabahar Bay subtidal area

Loghmani M.¹, Savari A.², Doustshenas B.², Archangi B.² and Kabiri K.³

¹ Cahabahar Maritime University, Cahabahar, I.R. of Iran

² Khoramshahr University of Marine Science and Technology Iran

³ Iranian National Institute for Oceanography and Atmospheric Science, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

Among the many biochemical biomarkers used to assess contamination of the marine environment, metallothionein protein is considered as one of the very important and useful tool in related to biochemical markers metals. The aim of this study was to evaluate Metallothionein changes in natural condition in polychaete *Glycinde bonhourei* of 9 stations Chabahar Bay sub-tidal area from 2014 to 2015 with consideration before the monsoon season, monsoon, post-monsoon and concentrations of copper, zinc, cadmium in the polychaete tissue. Total average concentrations of copper and zinc and cadmium respectively recorded in the monsoon 6.39 ± 2.04 , 20.95 ± 4.51 , 0.136 ± 0.04 micrograms per gram dry weight of the monsoon season 3.51 ± 1.46 , 11.84 ± 2.65 , 0.059 ± 0.01 and in the post-Monsoon 4.98 ± 1.44 , 16.51 ± 3.58 , 0.152 ± 0.01 microgram per gram of dry weight that one-way analysis of variance showed significant difference between the station and seasons ($P < 0.05$). The total average of protein Metallothionein was calculated in pre- monsoon 28.33 ± 5.2 , Monsoon 15.50 ± 4.9 and after Monsoon 21.39 ± 4.37 mcg/g that one-way analysis of variance showed significant difference between the station and seasons ($P < 0.05$). Pearson correlation test showed no significant differences between metals and biomarker changes that observed in any of the seasons and stations. This study showed that changes in biomarker metallothionein more than being under the influence of the concentration of heavy metals, can be caused due to environmental conditions of the sampling area and changes in the Gulf by Monsoon.

Key words: Metallothionein - Chabahar Bay-Monsoon-Heavy metals- *Glycinde bonhourei*