

استفاده از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کیتون (*Acanthopleura vaillantii*) به‌عنوان نشانگر



آلودگی فلزات سنگین در مناطق بین جزر و مدی دریای عمان

فهیمة قائمی احمدآباد، پروین صادقی* و حسن زادعباس شاه‌آبادی

ایران، چابهار، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، دانشکده علوم دریایی، گروه زیست‌شناسی دریا

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۹/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۱۶

چکیده

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بخش مهمی از سیستم دفاعی بدن موجودات است که در مقابل آلاینده‌ها واکنش‌پذیری بالایی نشان می‌دهد. در این تحقیق تغییرات سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) در نرم‌تن کیتون (*Acanthopleura vaillantii*) در پاسخ به آلودگی فلزات سنگین مس، روی و کروم در سواحل دریای عمان مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ۱۸ نمونه رسوب و ۱۸۰ عدد کیتون از ایستگاه‌های رمین، دریا بزرگ، ساحل دانشگاه دریانوردی، تیس، کنارک و آب‌شیرین‌کن جمع‌آوری شد. پس از زیست‌سنجی نمونه‌ها و جداسازی بافت نرم، میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی توسط کیت‌های سنجش آنزیمی اندازه‌گیری شد. میزان تجمع زیستی فلزات سنگین در بافت نرم کیتون و رسوب پس از هضم اسیدی با استفاده از دستگاه جذب اتمی قرائت شد. غلظت فلزات سنگین (میکروگرم بر گرم وزن خشک) در بافت نرم کیتون بترتیب مس (1.8 ± 0.7)، روی (1.3 ± 0.6) و در رسوب بترتیب مس (0.1 ± 0.7)، روی (0.28 ± 0.17) و کروم (0.18 ± 0.23) ثبت گردید. میزان آنزیم کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز بترتیب 20.75 ± 4.85 و 16.27 ± 6.05 نانومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین در بافت نرم کیتون به دست آمد. الگوی تجمع فلزات سنگین در بافت نرم کیتون به صورت کروم > مس > روی و در رسوب به صورت مس > روی > کروم ثبت شد. تجمع فلزات سنگین در رسوب ایستگاه‌های مورد مطالعه به صورت ساحل دانشگاه دریانوردی < کنارک < دریا بزرگ < تیس < آب‌شیرین‌کن کاهش یافت. میزان آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در بافت نرم کیتون در پاسخ به افزایش غلظت فلزات سنگین افزایش نشان داد. همبستگی قوی مثبت و معنی‌داری بین فلزات سنگین و آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در بافت نرم کیتون نشان‌دهنده اثر تحریکی آلاینده‌ها بر ترشح آنزیم‌ها می‌باشد. بررسی آلودگی رسوبات با استانداردهای کیفیت رسوب نشان دهنده بی‌خطر بودن رسوبات از نظر فلزات مورد مطالعه در سواحل دریای عمان بود.

واژه‌های کلیدی: کیتون، فلزات سنگین، کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز، دریای عمان

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۴۳۱۲۷۲۲۵۲، پست الکترونیکی: parvin.sadeghi@gmail.com

مقدمه

غیرمستقیم بر جمعیت و اکوسیستم‌های مختلف تأثیر بگذارد (۲۵). آلودگی محیط‌های آبی توسط فلزات سنگین هم به صورت محلول و هم به صورت مواد معلق می‌باشد که سرانجام در بستر رسوب کرده و توسط آبزیان جذب می‌شوند (۴۵). تجمع زیستی و به دنبال آن بزرگنمایی زیستی سبب بالاتر بودن میزان این آلاینده‌ها در

آب‌های ساحلی یکی از حساس‌ترین زیستگاه‌های دریایی محسوب می‌شوند که امروزه به علت افزایش شهرنشینی و پیشرفت صنایع، بیشتر در معرض خطر آلودگی هستند (۱۶). دخالت انسان‌ها موجب تغییر در غلظت برخی از آلاینده‌ها با منشأ طبیعی می‌شوند. تأثیر این مواد در محیط‌زیست پیچیده است و می‌تواند به‌طور مستقیم یا

سنگین را دارند. همچنین در تمام فصول سال به فراوانی یافت می‌شوند و از این جهت نیز به‌عنوان شاخص‌های زیستی مناسبی شناخته شده‌اند (۱۴). نرم‌تنان به‌دلایل مختلفی چون تحرک کم، پراکنش وسیع در سواحل و دریا، تحمل دامنه وسیع نوسانات شوری و درجه حرارت، در دسترس بودن در تمام فصول و نوع تغذیه یکی از بهترین موجودات جهت نشان دادن وضعیت آلودگی محیط‌های آبی هستند. بنابراین به‌صورت گسترده به‌عنوان شاخص‌های زیستی برای ارزیابی آلودگی محیط به‌کار برده می‌شوند (۲۸). نرم‌تنان از طریق فیلترخواری و همچنین بلعیدن ذرات غیرآلی قادر به جذب پتانسیل بالایی از آلاینده‌ها از جمله فلزات سنگین هستند (۲۸). کیتون‌ها در رده چندکفه‌ای‌ها (Polyplicaphora) از شاخه نرم‌تنان قرار دارند (۵۴). کیتون‌ها از نظر بوم‌شناختی دارای اهمیت زیادی هستند. جزء نرم‌تنانی هستند که زندگی کاملاً دریایی دارند. انسان‌ها و بعضی موجودات مانند پرندگان دریایی، خرچنگ و لابستراها، ستاره‌های دریایی و ماهیان از این نرم‌تنان استفاده می‌کنند (۵۵). کیتون جنس *Acanthopleura* به خانواده Chitonidae تعلق دارد. این جنس دارای ۸ گونه است که گونه *Acanthopleura vaillantii* اولین بار در سال ۲۰۱۰ در سواحل خلیج چابهار گزارش شد (۴۴). این گونه دارای فراوانی بسیاری در سواحل صخره‌ای خلیج چابهار و دریای عمان است.

دریای عمان به‌عنوان تنها دریای اقیانوسی ایران در جنوب استان سیستان و بلوچستان واقع شده است و سبب ارتباط خلیج فارس با آب‌های اقیانوسی می‌شود. لذا مسیر اصلی کشتیرانی محسوب می‌شود. همچنین در سواحل ایرانی دریای عمان خلیج‌های مهمی چون چابهار، پزم و گواتر وجود دارند که محل زیست بسیاری از موجودات آبی می‌باشند. از سوی دیگر به دلیل وجود کارخانه‌های متعدد کنسروسازی، مزارع پرورش میگو، صنایع کشتی‌سازی، آب شیرین‌کن و اسکله‌های ماهیگیری ورود انواع آلاینده‌ها به این دریا در سالهای اخیر افزایش یافته است (۴۷).

بدن موجودات آبی نسبت به محیط اطراف آن‌ها می‌شود (۴۳). اثر فلزات سنگین با توجه به فرم توزیع آن به‌صورت محلول یا غیرمحلول، گونه، سن، جنس و وضعیت اکولوژیکی متفاوت است (۵۱). آلاینده‌ها از طریق تجمع زیستی در زنجیره غذایی به آبزیان و در نهایت انسان منتقل شده و وضعیت سلامت انسان را در سال‌های اخیر با خطر مواجه کرده است (۱۹). موجودات دریایی از استراتژی‌های مختلف دفاعی مانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌کنند تا اثرات مضر آلاینده‌های فلزات سنگین را به حداقل برسانند (۳۱). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بخش مهمی از سیستم دفاعی بدن موجودات است که در مقابل آلاینده‌ها واکنش‌پذیری بالایی نشان می‌دهند و رادیکال‌های آزاد تولید شده را حذف می‌کنند. از سوی دیگر این آنزیم‌ها باعث حفظ هموستازی سلول‌ها شده و در برابر آلاینده‌های محیطی واکنش نشان می‌دهند (۲۲، ۴۲). بنابراین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جزء نشانگرهای زیستی مهم برای ردیابی آلاینده‌های محیطی هستند. آنتی‌اکسیدان‌ها به دو دسته آنزیمی و غیر آنزیمی طبقه‌بندی می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPx) و آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی ویتامین E، ویتامین C، ویتامین A، سلنیوم (Se)، ترانسفرین و لاکتوفرین هستند (۴۸). تغییرات فعالیت‌های آنزیمی دو آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) به‌صورت گسترده‌ای در اکثر نقاط جهان به‌عنوان نشانگرهای زیستی برای آلاینده‌های محیط‌زیست مورد بررسی قرار گرفته‌اند. این دو آنزیم جزء اولین سری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هستند که به‌سرعت در برابر آلاینده‌ها واکنش نشان می‌دهند (۱۵).

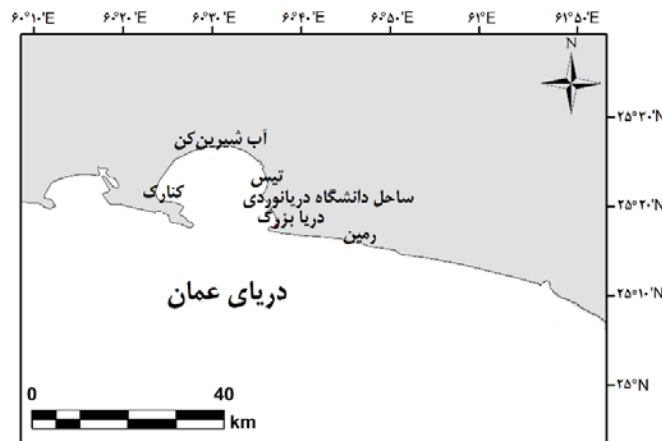
بی‌مهرگان کف‌زی در قسمت‌های بین جزرومدی سواحل به‌وفور پراکنش دارند که جزء مناسب‌ترین آبزیان شاخص برای مطالعات آلودگی اکوسیستم‌های دریایی می‌باشند. بسیاری از آن‌ها دارای تغذیه فیلترکنندگی هستند به همین دلیل توانایی جذب بالایی از آلاینده‌ها بخصوص فلزات

آب‌شیرین‌کن، کنارک، تیس، ساحل دانشگاه دریانوردی، دریا بزرگ، رمین که جزء پرکاربردترین مناطق خلیج چابهار و دریای عمان هستند و امکان آلودگی آن‌ها در مطالعات پیشین گزارش شده است (۳۵، ۴۵ و ۴۶) و همچنین با توجه به اینکه گونه مورد مطالعه در این سواحل به‌فراوانی یافت می‌شود، برای پژوهش حاضر انتخاب گردید. ایستگاه‌های مورد بررسی در طول جغرافیایی ۶۰ درجه و ۲۴ دقیقه و ۱۵ ثانیه تا ۶۱ درجه و ۳۰ دقیقه و ۲۱ ثانیه و عرض جغرافیایی ۲۵ درجه و ۱۲ دقیقه و ۳۲ ثانیه تا ۲۵ درجه و ۲۶ دقیقه و ۱۲ ثانیه قرار گرفته است (شکل ۱). موقعیت جغرافیایی ایستگاه‌ها با استفاده از دستگاه GPS مدل GPSMAP 64S ثبت گردید.

لذا هدف از مطالعه حاضر اندازه‌گیری میزان تجمع فلزات سنگین (مس، روی و کروم) در رسوب و بافت نرم کیتون *A. vaillantii*، همچنین بررسی میزان سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز) در بافت نرم کیتون و بررسی ارتباط بین میزان سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با میزان تجمع فلزات سنگین در بافت نرم کیتون در سواحل دریای عمان بود. همچنین جهت ارزیابی وضعیت آلودگی در منطقه مورد مطالعه، میزان تجمع فلزات سنگین با استانداردهای کیفیت رسوب مقایسه گردید.

مواد و روشها

منطقه مورد مطالعه: مطالعه حاضر در آب‌های ایران دریای عمان و سواحل خلیج چابهار انجام شد. ۶ ایستگاه



شکل ۱- موقعیت ایستگاه‌های نمونه‌برداری از رسوب و کیتون- پائیز ۱۳۹۷

آزمایش، تمام وسایل مورد نیاز به مدت ۴۸ ساعت در اسید نیتریک رقیق (۱۰ درصد) قرار داده شدند و سپس توسط آب دوبار تقطیر شستشو و در آون خشک شدند. سطوح خارجی بدن کیتون توسط آب دو بار تقطیر برای زدودن آلودگی‌های احتمالی شستشو داده و زیست‌سنجی (طول کل توسط کولیس با دقت ۱ میلی‌متر و وزن کل توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم) آن‌ها انجام شد. سپس بافت نرم کیتون خارج و تا قبل از انجام آزمایش درون کیسه‌های پلاستیکی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد جهت

جمع‌آوری نمونه‌ها: نمونه‌برداری کیتون و رسوبات از ۶ ایستگاه مورد مطالعه در پائیز ۱۳۹۷ صورت گرفت. در زمان جزر کامل، در سواحل صخره‌ای از هر ایستگاه ۳۰ نمونه کیتون *A. vaillantii* با استفاده از کاردک‌های فولادی ضدزنگ، از صخره‌ها جدا شد. ۱۸ نمونه رسوب (۵ سانتی‌متر بالای رسوب) با سه تکرار توسط بیلچه برداشت شد. سپس نمونه‌ها داخل کیسه پلاستیکی پلی‌اتیلنی جهت جلوگیری از تماس با محیط اطراف و درون یخدان حاوی پودر یخ به آزمایشگاه انتقال داده شدند. قبل از شروع

سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: نیم گرم از بافت نرم کیتون درون بشر قرار داده شد و ۵۰ سی‌سی محلول بافر به آن اضافه گردید و به مدت ۵۰ ثانیه با دستگاه هموژنایزر مدل D500 همزده شدند. برای تهیه محلول بافر ۹/۰۴ گرم Na_2HPO_4 را با یک لیتر آب دیونیزه مخلوط کرده و با مگنت محلول مورد نظر را هم زده تا یکنواخت گردد. سپس همزمان ۲/۹۱ گرم NaH_2PO_4 و ۲۴/۳۷ گرم EDTA به آن اضافه و در نهایت pH آن به ۷ رسانده شد. سپس با سمپلر ۱۰۰۰، ۱ سی‌سی از نمونه حاضر درون میکروتیوب ریخته شد و به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد. پس از یکنواخت شدن محلول، فاز بالایی محلول با سمپلر برداشت گردید و درون میکروتیوب جدید ریخته شد و تا زمان اندازه‌گیری آنزیم‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۲۱). میزان آنزیم سوپراکسیددسموتاز با استفاده از کیت اندازه‌گیری SOD شرکت کیازیست با کد KSOD96 و میزان آنزیم کاتالاز با استفاده از کیت اندازه‌گیری CAT شرکت کیازیست با کد KCAT96 و براساس دستورالعمل دقیق کیت‌های مذکور توسط دستگاه میکروپلیت ریدر (Biochrom Anthos 2020) ساخت کشور پرتغال) با طول موج ۵۷۰ نانومتر، اندازه‌گیری گردید. مقادیر اندازه‌گیری شده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بر حسب نانومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین گزارش شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ تجزیه و تحلیل داده‌ها انجام شد. در گام نخست، نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. سپس مقایسه میانگین غلظت فلزات سنگین و آنزیم‌ها در ایستگاه‌های مختلف با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA و پس‌آزمون توکی بررسی شد. همچنین از آزمون پیرسون برای بررسی همبستگی بین داده‌ها استفاده شد. در پایان نمودارها با استفاده از Excel 2016 رسم شدند.

اندازه‌گیری غلظت فلزات سنگین و دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد جهت سنجش میزان آنزیم‌ها قرار داده شدند (۳۹، ۴۹). **سنجش آلاینده‌ها:** بمنظور اندازه‌گیری غلظت فلزات سنگین در بافت نرم کیتون، بافت‌های جداشده به مدت ۲۴ ساعت درون آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. نمونه‌های خشک شده درون هاون چینی پودر و ۱ گرم از هر نمونه پودر شده وزن و به آن اسیدنیتریک غلیظ (۶۵ درصد) و اسید پرکلریدریک ۶۰ درصد به نسبت ۱ به ۴ اضافه شد (۹). ظروف حاوی نمونه برای هضم کامل بر روی هات‌پلیت در دمای ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳+۱ ساعت قرار داده شدند. نمونه‌های هضم شده بعد از خنک شدن با استفاده از آب دو بار تقطیر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شدند و از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور داده شدند (۹). بمنظور سنجش میزان فلزات سنگین در رسوب ایستگاه‌های مورد مطالعه، نمونه‌های رسوب به مدت ۲۴ ساعت درون آون در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس نمونه‌های خشک شده در هاون چینی پودر شدند. نمونه‌های پودر شده از الک ۶۳ میکرون جهت جدا شدن پوسته‌های صدف در آن‌ها عبور داده شدند. یک گرم از هر نمونه پودر شده درون بشر ریخته شد و به آن به نسبت ۱ به ۴ اسیدنیتریک (۶۵ درصد) و اسیدکلریدریک (۳۵ درصد) اضافه گردید. عمل هضم نمونه‌ها درون هات‌پلیت در دمای ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت صورت گرفت، پس از آن جهت کامل شده مراحل هضم، اسیدپرکلریدریک ۷۰ درصد به نمونه‌ها اضافه شد و به مدت ۲ ساعت دیگر حرارت داده شد. بعد از هضم با استفاده از آب دو بار تقطیر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد و سپس از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور داده شدند (۳۷). در نهایت نمونه‌های هضم شده بافت و رسوب به دستگاه جذب اتمی (مدل GBC-۹۳۲، ساخت کشور استرالیا) تزریق و غلظت فلزات سنگین مس، روی و کروم بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک اندازه‌گیری شد.

نتایج

طول کل بر حسب سانتی‌متر و وزن کل بر حسب گرم می‌باشد، در جدول ۱ ارائه شده است.

نتایج زیست‌سنجی کیتون (*A. vaillantii*)، جمع‌آوری شده از سواحل دریای عمان، که شامل میانگین و انحراف معیار

جدول ۱- طول کل و وزن کل (میانگین \pm انحراف معیار) کیتون *A. vaillantii* در سواحل دریای عمان

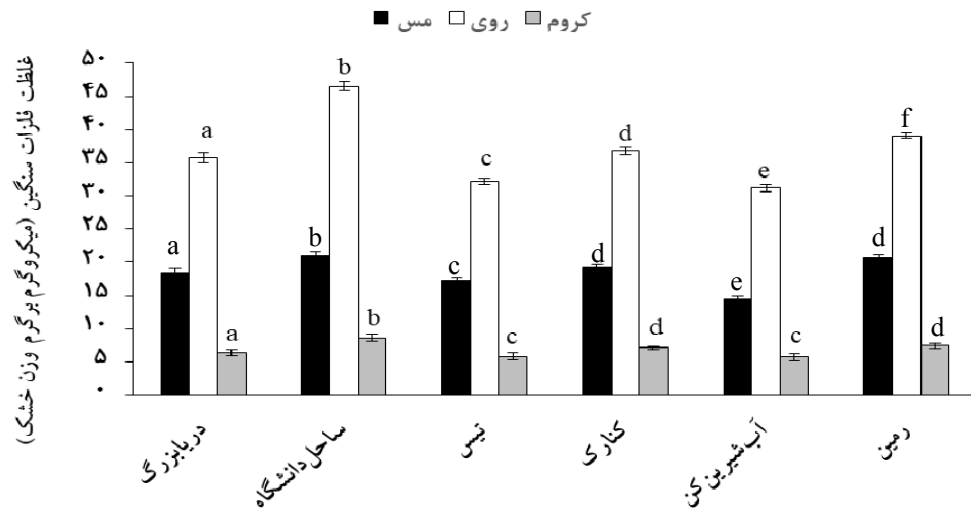
دریابزرگ	ساحل دانشگاه دریانوردی	تیس	کنارک	آب‌شیرین‌کن	رمین
۶/۸۵ \pm ۰/۳۱	۶/۲۵ \pm ۰/۴۱	۶/۹۵ \pm ۰/۵۹	۶ \pm ۰/۵۳	۷/۵۵ \pm ۰/۷۲	۷ \pm ۰/۳۴
۲۷/۶۵ \pm ۳/۹۳	۲۵/۹۵ \pm ۸/۴۸	۳۴/۳۱ \pm ۸/۳۶	۲۵/۰۵ \pm ۶/۲۸	۳۸/۳۸ \pm ۱۱/۷۲	۳۴/۲۱ \pm ۸/۰۷

زیستی کروم در کیتون ایستگاه ساحل دانشگاه دریانوردی با میانگین $۸/۶ \pm ۰/۵$ میکروگرم بر گرم وزن خشک و کمترین میزان آن در کیتون ایستگاه آب‌شیرین‌کن با میانگین $۵/۷ \pm ۰/۵$ میکروگرم بر گرم وزن خشک ثبت شد (شکل ۲). مقایسه غلظت فلز کروم در ایستگاه‌های مختلف با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که غلظت این فلز در بافت نرم کیتون در تمام ایستگاه‌ها با یکدیگر دارای اختلاف آماری معنی‌دار است ($p < ۰/۰۵$). پس‌آزمون توکی نشان داد ایستگاه رمین با کنارک و ایستگاه آب‌شیرین‌کن با تیس فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بود ($p > ۰/۰۵$).

نتایج میانگین و انحراف معیار غلظت فلزات سنگین مس، روی و کروم در رسوب ایستگاه‌های مورد مطالعه در سواحل دریای عمان در جدول ۲ ارائه شده است. بیشترین میزان تجمع مس برابر با $۹ \pm ۰/۶$ میکروگرم بر گرم وزن خشک در ایستگاه ساحل دانشگاه دریانوردی و کمترین غلظت آن برابر با $۵/۹ \pm ۰/۵$ میکروگرم بر گرم وزن خشک در ایستگاه آب‌شیرین‌کن ثبت گردید. مقایسه غلظت مس از طریق آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه در ایستگاه‌های مختلف اختلاف آماری معنی‌دار را بین ایستگاه‌ها نشان داد ($p < ۰/۰۵$)، اما پس‌آزمون توکی نشان داد که بین ایستگاه دریا بزرگ با تیس، کنارک و آب‌شیرین‌کن؛ ساحل دانشگاه دریانوردی و رمین؛ تیس با کنارک، آب‌شیرین‌کن و رمین

مطابق با شکل ۲، نتایج میانگین غلظت فلز مس نشان داد که بیشترین میزان تجمع زیستی این فلز در بافت نرم کیتون (*A. vaillantii*)، در نمونه جمع‌آوری شده از ایستگاه ساحل دانشگاه دریانوردی ($۲۱ \pm ۰/۶$) و کمترین میزان آن در ایستگاه آب‌شیرین‌کن ($۱۴/۵ \pm ۰/۵$) بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک بوده است (شکل ۲). مقایسه غلظت فلز مس در ایستگاه‌های مختلف با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که غلظت این فلز در ۶ ایستگاه با یکدیگر دارای اختلاف آماری معنی‌دار بودند ($p < ۰/۰۵$). برای انجام مقایسه دقیق‌تر معنی‌داری فلز مس در ایستگاه‌های مختلف، از پس‌آزمون توکی استفاده شده که نشان داد ایستگاه‌های کنارک و رمین با یکدیگر فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند ($p > ۰/۰۵$). بر اساس شکل ۲، بیشترین میزان تجمع زیستی فلز روی ($۴۶/۵ \pm ۰/۷$) در کیتون ایستگاه ساحل دانشگاه دریانوردی و کمترین آن در ایستگاه آب‌شیرین‌کن ($۳۱/۲ \pm ۰/۵$) بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک ثبت شد. مقایسه غلظت فلز روی در ایستگاه‌های مختلف با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی نشان داد که غلظت این فلز در ۶ ایستگاه مورد مطالعه با یکدیگر دارای اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($p < ۰/۰۵$) بررسی میانگین و انحراف معیار غلظت فلز کروم در بافت نرم کیتون (*A. vaillantii*) در ایستگاه‌های مختلف نشان داد که بیشترین میزان این تجمع

اختلاف آماری معنی‌دار وجود ندارد ($p > 0.05$).



شکل ۲- میزان تجمع زیستی فلزات سنگین در بافت نرم کیتون (*A. vaillantii*) در ایستگاه‌های مختلف *حروف انگلیسی غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$)

فلز کروم در رسوبات ایستگاه‌های مورد مطالعه بررسی شد و نتایج حاصل نشان داد که بیشترین و کمترین میزان تجمع کروم به ترتیب در ایستگاه رمین با میانگین $24/4 \pm 0/7$ و ایستگاه آب شیرین کن با میانگین $18/8 \pm 0/7$ میکروگرم بر گرم وزن خشک ثبت گردید. مقایسه غلظت کروم از طریق آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه در ایستگاه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری را بین ایستگاه‌ها نشان داد ($p < 0.05$)، اما پس از آزمون توکی نشان داد که ایستگاه دریا بزرگ با دو ایستگاه تیس و کنارک؛ ایستگاه تیس با آب شیرین کن؛ کنارک و رمین، فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بودند ($p > 0.05$).

میانگین و انحراف معیار غلظت فلز روی در رسوب ایستگاه‌های مورد مطالعه بیانگر بالاترین میزان تجمع فلز، بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک، در ایستگاه ساحل دانشگاه دریانوردی ($22/6 \pm 1$) و کمترین میزان در ایستگاه آب شیرین کن ($14/2 \pm 0/3$) بود (جدول ۲). تجزیه و تحلیل آماری نشان داد بین میزان تجمع فلز روی در ایستگاه‌های مختلف اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد ($p < 0.05$). پس از آزمون توکی جهت بررسی دقیق‌تر نشان داد که ایستگاه دریا بزرگ با دو ایستگاه تیس و کنارک؛ ایستگاه تیس با آب شیرین کن و دریا بزرگ فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بودند ($p > 0.05$). میانگین و انحراف معیار غلظت

جدول ۲- غلظت فلزات سنگین (میانگین \pm انحراف معیار) بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک در رسوب ایستگاه‌های مورد مطالعه

فلزات ایستگاه	دریا بزرگ دریانوردی	ساحل دانشگاه	تیس	کنارک	آب شیرین کن	رمین
مس	$6/6 \pm 0/4^a$	$9 \pm 0/6^b$	$6/5 \pm 0/5^{ac}$	$7/2 \pm 0/3^{ac}$	$5/9 \pm 0/5^{ac}$	$8/5 \pm 0/4^{bc}$
روی	$16/1 \pm 0/6^a$	$22/6 \pm 1^b$	$14/7 \pm 0/7^{ac}$	$17/2 \pm 0/3^a$	$14/2 \pm 0/3^c$	$18/9 \pm 0/3^d$
کروم	$22/1 \pm 1^a$	$31/3 \pm 0/8^b$	$20/5 \pm 0/5^{ac}$	$23/7 \pm 0/5^{ad}$	$18/8 \pm 0/7^c$	$24/4 \pm 0/7^d$

حروف انگلیسی غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد ($p < 0.05$)

یکدیگر اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد ($p < 0/05$). بررسی میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بافت نرم کیتون ایستگاه‌های مورد مطالعه نشان داد که بیشترین و کمترین میزان این آنزیم بترتیب در ایستگاه‌های ساحل دانشگاه دریانوردی و آب شیرین‌کن با میانگین $25/6 \pm 0/3$ و $8/3 \pm 0/3$ نانومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین ثبت شد (جدول ۳). نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد بین میزان سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ایستگاه‌های مختلف اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد ($p < 0/05$).

نتایج اندازه‌گیری سطح آنزیم کاتالاز در بافت نرم کیتون در ایستگاه‌های مورد مطالعه نشان داد که بیشترین میزان این آنزیم در ایستگاه ساحل دانشگاه دریانوردی ($27/03 \pm 0/5$) و کمترین سطح آن در ایستگاه آب شیرین‌کن ($14/05 \pm 0/3$) بر حسب نانومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین ثبت شد (جدول ۳). مقایسه غلظت کاتالاز از طریق آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه در ایستگاه‌های مختلف اختلاف آماری معنی‌دار را بین ایستگاه‌ها نشان داد ($p < 0/05$)، پس آزمون توکی که بررسی دقیق‌تر به کار برده شد نیز نشان داد بین تمامی ایستگاه‌ها با

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت نرم کیتون (*A. vaillantii*) در ایستگاه‌های مورد مطالعه

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (nmol/min/mgprotein)	دریا بزرگ	ساحل دانشگاه دریانوردی	نیس	کنارک	آب شیرین‌کن	رمین
کاتالاز	$20/6 \pm 0/4^a$	$27/03 \pm 0/5^b$	$15/2 \pm 0/4^c$	$22/1 \pm 0/4^d$	$14/05 \pm 0/3^e$	$25/4 \pm 0/9^f$
سوپراکسید دیسموتاز	$14/2 \pm 0/3^a$	$25/6 \pm 0/3^b$	$10/5 \pm 0/2^c$	$17/3 \pm 0/2^d$	$8/3 \pm 0/3^e$	$21/6 \pm 0/3^f$

حروف انگلیسی غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد ($p < 0/05$)

(*A. vaillantii*) و رسوبات در ایستگاه‌های مورد مطالعه نشان‌دهنده همبستگی قوی مثبت و معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ بود (جدول ۵).

نتایج آزمون پیرسون نشان دهنده همبستگی قوی مثبت و معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ بین فلزات سنگین و آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز بود (جدول ۴). بررسی همبستگی بین فلزات سنگین در بافت نرم کیتون

جدول ۴- همبستگی بین فلزات سنگین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت نرم کیتون (*A. vaillantii*)

سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	کروم	مس	روی	ضریب همبستگی	روى
					۱	روى
					معنى دارى	
				۰/۹۱**	ضریب همبستگی	مس
				۰/۰۰	معنى دارى	
			۰/۸۷**	۰/۹۰**	ضریب همبستگی	کروم
		۱	۰/۰۰	۰/۰۰	معنى دارى	
			۰/۸۵**	۰/۹۱**	ضریب همبستگی	کاتالاز
	۱		۰/۰۰	۰/۰۰	معنى دارى	
			۰/۹۳**	۰/۹۵**	ضریب همبستگی	سوپراکسید دیسموتاز
۱	۰/۹۳**	۰/۸۸**	۰/۹۳**	۰/۹۵**	ضریب همبستگی	
		۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	معنى دارى	

** همبستگی معنی‌دار در سطح ۰/۰۱

جدول ۵- همبستگی بین فلزات سنگین بافت نرم کیتون (*A. vaillanti*) و رسوب ایستگاه‌های مورد مطالعه

رومی (رسوب)	مس (رسوب)	کروم (رسوب)		
۰/۹۶**	۰/۹۱**	۰/۹۶**	ضریب همبستگی	روی (بافت نرم)
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	معنی‌داری	
۰/۸۶**	۰/۷۶**	۰/۸۱**	ضریب همبستگی	مس (بافت نرم)
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	معنی‌داری	
۰/۹۱**	۰/۸۵**	۰/۸۶**	ضریب همبستگی	کروم (بافت نرم)
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	معنی‌داری	

** همبستگی معنی‌دار در سطح ۰/۰۱

بحث و نتیجه‌گیری

آلودگی فلزات سنگین یک مشکل بزرگ مزمن زیست‌محیطی در اکوسیستم‌های دریایی ساحلی است (۱۳). تأثیر فلزات سنگین به‌عنوان یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های شناخته شده که توسط فعالیت‌های انسانی تولید می‌شود، مناطق ساحلی و ساکنین آن را به شدت تحت تأثیر قرار داده و بر ارگانیسم‌ها و فرآیندهای اکوسیستم تأثیر می‌گذارد. این طبقه از آلاینده‌ها به‌طور مستقیم بر ارگانیسم‌های آبی تأثیر می‌گذارد و مسیرهای متابولیکی را تغییر می‌دهد و می‌تواند منجر به مرگ‌ومیر بیشتر در بین جمعیت شود و ساختار و تنوع جامعه را تغییر دهد (۱۰). بر اساس نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر الگوی تجمع فلزات سنگین در بافت نرم کیتون *A. vaillanti* در تمام ایستگاه‌ها به صورت کروم > مس > روی بود. در این مطالعه در بافت نرم کیتون میزان تجمع فلز روی بیشتر از مس و کروم در تمام ایستگاه‌ها ثبت شد. مقایسه مطالعات نشان داد که اطلاعات بسیار کمی در رابطه با کیتون به‌عنوان شاخص زیستی آلاینده وجود دارد. در مطالعه صادقی و دربازی (۱۳۹۵) که بر روی تجمع فلزات در کیتون *A. vaillanti* سواحل چابهار بود، میزان فلز روی همانند مطالعه حاضر بیشتر از فلز مس به‌دست آمد و تجمع زیستی فلزات در کیتون ایستگاه‌های مختلف مشابه مطالعه حاضر دارای اختلاف آماری معنی‌داری بودند (۱). صادقی و دربازی (۱۳۹۵) گزارش نمودند که کیتون‌های جمع‌آوری

شده از ساحل دانشگاه دریانوردی دارای کمترین آلودگی نسبت به ایستگاه تیس و آب‌شیرین‌کن است (۱) که نتایج آن مطالعه با پژوهش حاضر مغایرت دارد. این اختلاف ممکن است به دلیل افزایش فعالیت در جهت توسعه بنادر شهید کالنتری و هفت تیر در سالهای اخیر باشد که بار آلودگی در ایستگاه ساحل دانشگاه دریانوردی را افزایش داده است. ضیاءالدینی و همکاران (۱۳۹۴) میزان تجمع زیستی فلزات سنگین (مس، آرسنیک، جیوه و کادمیوم) در بافت نرم کیتون پوست ماری (*Chiton lammy*) در سواحل خلیج چابهار را بررسی نمودند (۲). مقایسه میزان فلز مس نشان‌دهنده پایین‌تر بودن تجمع زیستی این فلز در مطالعه حاضر است. علت این اختلاف می‌تواند تفاوت در زمان نمونه‌برداری، گونه، سن و اندازه کیتون باشد. بر اساس مطالعات صورت گرفته نرم‌تن کیتون فلز مس را به میزان زیادی به‌صورت طبیعی بدون آنکه برای این موجود خطرناک باشد در خود ذخیره می‌کند و مس جزء فلزات ضروری برای ساخت هموسیانین جهت تنفس در کیتون‌ها است (۲۷). در پژوهش حاضر میزان تجمع زیستی فلزات روی و مس در بافت نرم کیتون بیشتر از کادمیوم بود که این امر می‌تواند به دلیل نیاز بدن به فلزات ضروری چون روی و مس باشد، نیازهای فیزیولوژیکی و متابولیکی کیتون به فلز مس و روی جهت ساخت آنزیم‌ها و پروتئین‌های فلزدار در مطالعات پیشین (۶) نیز بیان شده است و با تحقیق حاضر همخوانی دارد. همچنین همخوانی نتایج

بسیار بالاتر و میزان کروم و مس در بافت نرم دوکفه‌ای بسیار پایین‌تر از مطالعه حاضر بود که علت این اختلاف می‌تواند به دلیل فصل مختلف نمونه‌برداری و یا میزان غذای در دسترس برای موجود باشد (۳۲).

مطالعات صورت گرفته در زمینه تجمع فلزات سنگین در نرم‌تنان نقاط مختلف جهان نشان می‌دهد که غلظت فلزات سنگین در بافت نرم‌تنان با یکدیگر متفاوت است که علت این تفاوت می‌تواند مربوط به منشأ تولید فلزات و وضعیت آلودگی منطقه باشد. حتی تجمع فلزات در گونه‌های مشابه مناطق متفاوت با یکدیگر تفاوت دارد. مطالعات متعدد علت تفاوت در تجمع زیستی فلزات را عوامل مختلفی چون موقعیت جغرافیایی، نوع گونه و اثرات متفاوت فعالیت‌های انسانی بیان کردند (۸، ۵۳).

الگوی تجمع فلزات سنگین در رسوبات منطقه مطالعاتی حاضر به صورت مس > روی > کروم بود. همچنین نتایج نشان داد که تجمع فلزات سنگین هم در بافت نرم کیتون و هم در رسوب در ایستگاه ساحل دانشگاه دریانوردی بیشتر از ایستگاه‌های دیگر بود. تجمع فلزات سنگین در رسوب ایستگاه‌های مورد مطالعه به صورت ساحل دانشگاه دریانوردی < رمین < کنارک < دریابزرگ < تیس < آب‌شیرین‌کن کاهش یافت. نتایج حاصل نشان داد که آلوده‌ترین ایستگاه ساحل دانشگاه دریانوردی است و ایستگاه آب‌شیرین‌کن دارای کمترین آلودگی از نظر تجمع فلزات سنگین می‌باشد. در این مطالعه فلزات سنگین در رسوبات ایستگاه‌های مختلف اختلاف آماری معنی‌داری را نشان دادند ($p < 0.05$). مقایسه غلظت فلزات سنگین رسوبات در منطقه مورد مطالعه با مطالعات دیگر که در جدول ۶ آمده است، نشان‌دهنده تفاوت در مقادیر فلزات نقاط مختلف به دلیل وجود منابع متفاوت آلاینده‌ها، ساختار متفاوت رسوب، جنس رسوبات و بافت آن، میزان رسوب‌گذاری فلزات از آب به رسوبات، است. آلاینده‌های موجود در محیط‌های آبی به صورت فاز جامد، جذب سطحی در

پژوهش فعلی در بالاتر بودن میزان تجمع زیستی فلز روی، با مطالعه Swaleh و همکاران (۲۰۱۶) که میزان تجمع زیستی فلزات سنگین روی، کادمیوم، کروم و منگنز در بافت تازه کیتون *A. gemmate* در جزیره Mombasa در کشور کنیا را بررسی کردند، می‌تواند نشان‌دهنده نقش فلز روی در فرآیندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی کیتون باشد (۵۲). مطالعات اندکی در داخل و خارج از کشور به بررسی میزان تجمع زیستی فلزات سنگین در بافت نرم کیتون به‌عنوان یکی از مهمترین نرم‌تنان پرداخته‌اند، که بدانها اشاره شد. در ادامه مقایسه نتایج مطالعه حاضر با گونه‌های دیگر نرم‌تنان فیلترکننده ارائه می‌شود. در مطالعه علی‌عسگری و همکاران (۱۳۹۷) تجمع زیستی فلزات سنگین در بافت نرم صدف مرواریدساز محار (*Pinctada radiata*) همانند مطالعه حاضر در ایستگاه‌های مختلف دارای اختلاف آماری معنی‌دار بود که علت آن را تفاوت در تجمع زیستی برخی عناصر در ایستگاه‌های نمونه‌برداری و یا تفاوت احتمالی در مکانیسم جذب عنصر موردنظر بیان شد (۳). Hamed و Emara (۲۰۰۶) میزان تجمع زیستی فلزات سنگین را در بافت نرم شکم‌پا *Patella caerulea* و دوکفه‌ای *Barbatus barbatus* خلیج سوئز بررسی کردند. نتایج نشان داد که فلز روی به‌همراه فلزات آهن و منگنز بیشترین میزان تجمع زیستی را در بافت نرم‌تنان مورد مطالعه داشته‌اند (۲۷). مقایسه فلزات در بافت نرم دوکفه‌ای این مطالعه نشان داد که میزان فلز مس در مطالعه حاضر بیشتر ولی فلز روی بالاتر از مطالعه حاضر بود و مقدار کروم با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت. همچنین الگوی تجمع هر سه فلز در هر دو نرم‌تن همانند مطالعه حاضر به صورت کروم > مس > روی بود. تجمع زیستی فلزات سنگین در بافت نرم دوکفه‌ای (*Atrina maura*) در سواحل جنوب شرقی خلیج کالیفرنیا همانند مطالعه حاضر، نشان‌دهنده بالا بودن میزان تجمع زیستی فلز روی نسبت به سایر فلزات بود (۲۶). الگوی تجمع فلزات مشابه مطالعه حاضر بود، اما میزان فلز روی در این مطالعه

امواج به سواحل منتقل می‌شوند. همچنین، در اثر فعالیت امواج و باران‌های موسمی باعث انتقال آلاینده‌های بستر دریا به نقاط ساحلی شده و سبب افزایش آلودگی رسوبات ساحلی می‌گردند (۴، ۳۵ و ۴۶). بررسی تجمع فلزات سنگین رسوبات با استانداردهای کیفیت رسوب آمریکا (National Oceanic and Atmospheric Administration) (NOAA) و کانادا (Canadian Council of Ministers of the Environment) (CCME) نشان داد که غلظت رسوبات در مطالعه حاضر بسیار پایین‌تر از حد استانداردهای کیفیت رسوب آمریکا و کانادا می‌باشند (جدول ۷). بنابراین، فلزات مورد مطالعه در رسوبات مناطق مورد مطالعه تهدیدی برای موجودات آن مناطق نیستند.

رسوبات و یا به صورت بقایای مواد آلی در رسوبات تجمع می‌یابند (۴۰). تجمع فلزات سنگین در رسوبات ساحلی باعث انتقال مستقیم آلاینده‌ها در بی‌مهرگانی که دارای تغذیه فیلترفیدی هستند شده و از این موجودات به سطوح تغذیه بالاتر منتقل می‌شوند (۲۹). فلز روی به صورت طبیعی در اثر فعالیت زمین‌شناسی به میزان زیادی در خاک وجود دارد. همچنین فلزات روی و مس کاربرد بالایی در صنایع رنگ‌آمیزی دارند و یکی از عوامل بالا بودن غلظت این دو عنصر در رسوبات به دلیل رنگ‌آمیزی صنایع کشتی‌سازی در منطقه مورد مطالعه است (۴۷). از مهمترین منابع آلودگی رسوبات خلیج چابهار عواملی چون سوخت‌گیری، تعمیرات لنج‌ها و قایق‌ها و تخلیه فاضلاب‌های شهری و صنعتی بوده که در آب دریا توسط

جدول ۶- مقایسه غلظت فلزات سنگین در رسوبات مطالعه حاضر با سایر مطالعات دیگر برحسب میکروگرم برگرم وزن خشک

منطقه	مس	روی	کروم	منبع
سواحل چابهار	۵/۹۸	---	---	(۷)
خلیج چابهار (پیش مانسون)	۱۹/۸۸	۷۳/۴۲	---	(۵)
خلیج چابهار (مانسون)	۱۴/۸۷	۶۶/۴۹	---	(۵)
خلیج چابهار (پس مانسون)	۱۲/۸۹	۶۱/۷۲	---	(۵)
سواحل چابهار (زمستان)	۳۳/۳۶	۲۶/۵۷	۳۰/۶۴	(۳۳)
سواحل چابهار (تابستان)	۲۶/۲۲	۲۵/۰۷	۲۳/۴۴	(۳۳)
جزیره خارک (تابستان)	۲۸/۸	۷۲/۵	---	(۵۸)
جزیره خارک (زمستان)	۳۶/۳	۶۵/۷	---	(۵۸)
خلیج Liaodong، چین	۱۹/۶۶	۷۰/۲	۶۱/۵۳	(۵۷)
دریای مدیترانه، مصر	۵/۳۶	۲۴/۶	---	(۳۰)
خلیج Jiuzhen، چین	۸/۶	۵۷	---	(۵۰)
سواحل دریای عمان	۷/۳۰	۱۷/۳۱	۲۳/۵	مطالعه حاضر

جدول ۷- مقایسه غلظت فلزات سنگین در رسوبات مطالعه حاضر با استانداردهای کیفیت رسوب برحسب میکروگرم برگرم وزن خشک

مطالعه حاضر	کیفیت رسوب کانادا (CCME)		کیفیت رسوب آمریکا (NOAA)		
	TEL(Threshold Effects Level)	PEL(Probable Effect Level)	ERL(Effects Range-Low)	ERM (Effects Range-Median)	
۲۳/۵	۵۲/۳	۱۶۰	۸۱	۳۷۰	کروم
۱۷/۳۱	۱۲۴	۲۷۱	۱۵۰	۴۱۰	روی
۷/۳۰	۱۸۷	۱۰۸	۳۴	۲۷۰	مس

بررسی قراردادند. مطالعه آن‌ها نشان داد که بالا بودن میزان کلریدجیوه سبب افزایش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود، بطوریکه همانند مطالعه حاضر افزایش آلودگی سبب افزایش پاسخ‌های آنزیم کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز شد. همچنین مشخص شد که صدف *L. marginalis* از مناسب‌ترین شاخص‌های زیستی برای سنجش آلودگی سیستم‌های آبی است (۳۸). در مطالعه پژوهشگران دیگر بر روی گونه‌هایی از صدف‌های دوکفه‌ای (۳۴) افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل گلوتاتیون-S- ترانسفراز (GST)، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در اثر افزایش آلودگی به فلز مس و همچنین شوک دمایی ثبت شده است که علت آن می‌تواند افزایش استرس اکسیداتیو در نظر گرفته شود. پاسخ‌های مختلفی از سیستم آنتی‌اکسیدانی بر اساس میزان آلودگی که مزمن یا حاد باشد ایجاد می‌شود. تغییرات ساختاری و عملکردی پروتئین‌ها و تغییر در فعالیت‌های آنزیمی نیز از دیگر اثرات مرتبط با استرس است. بنابراین، تغییرات شیمیایی در لیپیدها و تغییرات در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجودات ممکن است وجود استرس اکسیداتیو ناشی از فلز در موجودات را تأیید کند (۲۳). فلزات سنگین ممکن است از طریق مکانیسم‌های مختلف سمیت خود را نشان دهند بسیاری از گزارش‌ها حاکی از آن است که قرار گرفتن در معرض فلزات با تولید استرس اکسیداتیو با افزایش گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در موجودات زنده مرتبط است (۱۱). فعالیت آنزیمی ممکن است با فاکتورهای زیادی از جمله پارامترهای محیطی، میزان موادغذایی موجود در محیط، سن و چرخه تولیدمثل و همچنین غلظت بالای آلاینده‌ها در محیط مرتبط باشد (۱۸، ۵۶). بر اساس مطالعات صورت گرفته بر روی تجمع فلزات سنگین و میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بر روی نرم‌تنان متنوع علت تفاوت در میزان تجمع فلزات و میزان آنزیم‌ها معمولاً به دلایل فصول مختلف، میزان غذای در دسترس، تغییرات فیزیولوژیکی موجودات و تغییرات در

نتایج حاصل از اندازه‌گیری سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در مطالعه حاضر نشان داد که میزان آنزیم کاتالاز بیشتر از آنزیم سوپراکسیددیسموتاز بود و تغییرات سطوح آنزیم‌ها در ایستگاه ساحل دانشگاه دریانوردی بسیار بیشتر از سایر ایستگاه‌های مطالعاتی بود. کمترین میزان سطح آنزیم‌های مذکور در ایستگاه آب‌شیرین‌کن ثبت شد. از آنجا که تجمع فلزات سنگین باعث افزایش استرس اکسیداتیو در موجودات می‌شود، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌توانند نشانگر استرس اکسیداتیو به واسطه وجود آلاینده باشند (۴۱). بنابراین، سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی یک پتانسیل دفع عالی در برابر رادیکالهای آزاد ناشی از استرس اکسیداتیو را فراهم می‌کند (۳۶). با توجه به بالابودن میزان آلودگی در رسوب و بافت نرم کیتون در ایستگاه ساحل دانشگاه دریانوردی، میتوان بالا بودن سطوح آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در این ایستگاه را استراتژی کیتون جهت مقابله با استرس آلودگی محیطی دانست. کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز به‌عنوان آنزیم‌هایی در نظر گرفته می‌شوند که یک واکنش واضح و زود هنگام در برابر آلودگی شدید فلز را نشان می‌دهند (۳۶). همبستگی مثبت بین سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان تجمع زیستی فلزات سنگین در بافت نرم صدف محار (*Pinctada radiata*) نیز گزارش شده است (۳). بر اساس نتایج موجود، افزایش سطح آلودگی در رسوب و بافت نرم کیتون، سبب افزایش سطح آنزیم کاتالاز شده است که علت این موضوع در صدف دوکفه‌ای *Mytilus coruscus*، افزایش میزان بیان ژن آنزیم کاتالاز در پاسخ به انواع مختلفی از آلاینده‌ها بیان شده است (۱۲). Cho و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی مطالعات خود پی بردند که سوپراکسیددیسموتاز نشانگر مهمی در جهت ارزیابی آلودگی مواد شیمیایی سمی و فلزات سنگین و از بین بردن اثرات مخرب آن‌ها در آبزیان دارد (۲۰). Pandey و همکاران (۲۰۱۸) پاسخ آنزیمی و آنتی‌اکسیدانی صدف *Lamellidens marginalis* در معرض کلرید جیوه را مورد

ساحل دانشگاه دریانوردی و رمین به دلیل افزایش بیشتر تردد کشتی‌ها، لنج‌ها و قایق‌های صیادی، تعویض و تعمیر روغن‌موتور آن‌ها نشت سوخت و روغن آن‌ها، افزایش ضایعات صیادی و همچنین، توسعه بنادر شهید کلانتری و هفت تیر در این منطقه بود. همچنین، بررسی آلودگی رسوبات با استانداردهای کیفیت رسوب نشان دهنده بی‌خطر بودن رسوبات از نظر فلزات مورد مطالعه برای موجودات بود. از آنجا که کیتون خاصیت فیلترکنندگی داشته و توانایی بالایی در جذب آلاینده‌ها دارد، پیشنهاد می‌شود در پایش‌های زیست‌محیطی ساحلی در کنار سایر پارامترها مورد ارزیابی قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار برای فراهم کردن شرایط انجام مطالعه حاضر در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد و همچنین از کارشناسان آزمایشگاه مرکزی دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار تشکر و قدرانی می‌شود.

اندام‌های جنسی می‌باشد (۳۲). بعضی از مطالعات، اختلاف در نشانگرهای زیستی بین گونه‌های مختلف را مربوط به توانایی گونه‌ها در مقابله با آلودگی‌های زیست‌محیطی دانسته‌اند (۳۲).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که غلظت فلز روی در بافت نرم کیتون (*Acanthopleura vaillantii*) که به فراوانی در سواحل صخره‌ای دریای عمان یافت می‌شود، بالاتر از فلز مس و کروم بود. اما در رسوبات، میزان فلز کروم بیشتر از دو فلز دیگر بود. همچنین مقدار فلزات کروم، مس و روی در حد مجاز استانداردهای جهانی ثبت شد. تغییرات سطوح آنزیم کاتالاز بسیار بیشتر از آنزیم سوپراکسیددیسموتاز بود ولی هر دو آنزیم در اثر افزایش آلودگی فلزات سنگین در هر ایستگاه برای جلوگیری از آسیب ایجادشده توسط آلاینده افزایش یافتند. در این مطالعه ایستگاه ساحل دانشگاه دریانوردی و رمین آلوده‌ترین ایستگاه و ایستگاه آب‌شیرین‌کن سالم‌ترین ایستگاه از نظر تجمع فلزات سنگین بود. مطالعات صورت گرفته در مورد تجمع فلزات در خلیج چابهار نشان داده است که افزایش آلاینده‌ها در سال‌های اخیر بیشتر شده است. علت آلودگی

منابع

- صادقی، پ. و دربازی، م.، ۱۳۹۵. بررسی غلظت فلزات سنگین مس، نیکل و روی در *Acanthopleura vaillantii* سواحل خلیج چابهار، نشریه بوم‌شناسی آریان، دوره ۶، شماره ۳، صفحات ۱۱۵-۱۲۳.
- ضیاءالدینی، م.، مهدی‌نیا، ع. و یوسفیان‌پور، ز.، ۱۳۹۴. بررسی نرم تن *Chiton lamyi* از نظر شاخص زیستی آلودگی عناصر سمی کادمیم، مس، آرسنیک و جیوه در سواحل خلیج چابهار، مجله علوم و فنون دریایی، دوره ۱۴، شماره ۲، صفحات ۵۶-۶۶.
- علی‌عسگری، ا.، ماشینیان‌مرادی، ع.، احتشامی، ف.، جمیلی، ش. و ربانی، م.، ۱۳۹۷. بررسی تغییرات فصلی آنزیم گلوکوتاتیون اس ترانسفراز کاتالاز و استیل کولین استراز در اندازه‌های مختلف صدف دوکفه‌ای مروریدساز *Pinctada radiata*، فصلنامه علمی پژوهشی زیست‌شناسی جانوری، دوره ۱۰، شماره ۲، صفحات ۳۱۹-۳۳۰.
- کشاورزی، ب.، ابراهیمی، پ.، مر، ف. و حمزه، ع. م.، ۱۳۹۲. شناسایی و توزیع فلزات سنگین در رسوبات ساحلی و دریایی خلیج چابهار، مجله‌ی زمین‌شناسی کاربردی پیشرفته، دوره ۳، شماره ۷، صفحات ۷۴-۸۱.
- لقمانی، م.، ۱۳۹۵. بررسی تغییر تراکم پرتاران زیرجزرومدی با تاکید بر نقش فلزات سنگین (مس و روی)، مجله بوم‌شناسی آریان، دوره ۶، شماره ۳، صفحات ۱۰-۲۱.
- محمودیان‌شوشتری، ع.، صفاهیه، ع.، نیکپورقنوتی، ی.، رونق، م. و سالاری‌علی‌آبادی، م. ع.، ۱۳۹۴. سنجش غلظت فلزات سنگین روی، مس، کادمیم و سرب در کیتون پوست ماری (*Chiton lamyi*, Dupuis, 1918) و رسوبات سطحی مناطق بین جزر و مدی استان بوشهر، نشریه پژوهش‌های جانوری، دوره ۲۸، شماره ۲، صفحات ۲۱۰-۲۲۲.

- مجله اقیانوس‌شناسی، دوره ۸، شماره ۳۱، صفحات ۱ تا ۹.
8. Al-Saad, H.T., 2016. Mollusca as ABioindicator of Heavy Metals Pollution in Shatt AL-Arab Estuary. *Journal of Biological Pharmaceutical and Chemical Research*, 3(4): 1-6.
 9. AOAC, 2005. Official Methods of Analysis, 18th edn. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.
 10. Bae, J., and Lim, S., 2012. Heavy metals and biochemical composition of four sea bream species (*Acanthopagrus schlegelii* Bleeker, *Pagrus major* Temminck & Schlegel, *Oplegnathus fasciatus* Krøyer and *Girella punctata* Gray). *Philippine Agricultural Scientist*, 95(2): 185-191.
 11. Banni, M., Hajer, A., Sforzini, S., Oliveri, C., Boussetta, H. and Viarengo, A., 2014. Transcriptional expression levels and biochemical markers of oxidative stress in *Mytilus galloprovincialis* exposed to nickel and heat stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 160: 23-29.
 12. Bao, M., Huo, L., Wu, J., Ge, D., Lv, Z., Chi, C. ... and Liu, H., 2018. A novel biomarker for marine environmental pollution of CAT from *Mytilus coruscus*. *Marine pollution bulletin*, 127: 717-725.
 13. Batista, D., Muricy, G., Chavez Rocha, R. and Miekeley, N.F., 2014. Marine sponges with contrasting life histories can be complementary biomonitors of heavy metal pollution in coastal ecosystems. *Environ. Sci. Pollut. Control Ser*, 21: 5785-5794.
 14. Bolognesi, C., and Cirillo, S., 2014. Genotoxicity biomarkers in aquatic bioindicators. *Current zoology*, 60(2): 273-284.
 15. Box, A., Sureda, A., Galgani, F., Pons, A. and Deuderi, S., 2007. Assessment of environmental pollution at Balearic Islands applying oxidative stress biomarkers in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 146(4): 531-539.
 16. Cao, Z., Wang, L., Yanga, L., Yu, J., Lv, J., Meng, M., Li, G., 2020. Heavy metal pollution and the risk from tidal flat reclamation in coastal areas of Jiangsu, China. *Marine Pollution Bulletin*, 158, 111427.
 17. CCME, 1999. Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life. میرزا، ر. و معین‌الدوله، م.، ۱۳۹۶. آلودگی و ارزیابی اثرات بوم‌سنگین شناختی برخی فلزات در رسوبات سطحی خلیج چابهار، Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg, Canada (Accessed 20, April 2021). http://www.ccme.ca/en/resources/canadian_environmental_quality_guidelines/.
 18. Chan, C.Y. and Wang, W.X., 2018. Seasonal and spatial variations of biomarker responses of rock oysters in a coastal environment influenced by large estuary input. *Environmental Pollution*, 242, 1253-1265.
 19. Chen, Y.C. and Chen, M.H., 2001. Heavy metal concentrations in nine species of fishes caught in coastal waters off Ann-Ping, SW Taiwan, *Journal of Food and Drug Analysis*, 9: 107-114.
 20. Cho, Y.S., Choi, B.N., Kim, K.H., Kim, S.K., Kim, D.S., Bang, I.C. and Nam, Y.K., 2006. Differential expression of Cu/Zn superoxide dismutase mRNA during exposures to heavy metals in rockbream (*Oplegnathus fasciatus*). *Aquaculture*, 253: 667-679.
 21. Cong, M., Wu, H., Liu, X., Zhao, J., Wang, X., Lv, J. and Hou, L., 2012. Effects of heavy metals on the expression of a zinc-inducible metallothionein-III gene and antioxidant enzyme activities in *Crassostrea gigas*. *Ecotoxicology*, 21(7): 1928-1936.
 22. Dong, W.A.N.G., Wei, T.A.N.G., Guang-Ming, Y.A.N.G. and Bao-Chang, C.A.I., 2010. Anti-inflammatory, antioxidant and cytotoxic activities of flavonoids from *Oxytropis falcata* Bunge, *Chinese Journal of Natural Medicines*, 8(6), 461-465.
 23. Faverney, C.R.D., Lafaurie, M., Girard, J.P. and Rahmani, R., 2000. Effects of heavy metals and 3-methylcholanthrene on expression and induction of CYP1A1 and metallothionein levels in trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocyte cultures. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 19(9): 2239-2248.
 24. Fowler, W.S., Villeneuve, J., Wyse, E., Jupp, B. and De Mora, B.S., 2007. Temporal survey of petroleum hydrocarbons, organochlorinated compounds and heavy metals in benthic marine organisms from Dhofar, southern Oman. *Marine Pollution Bulletin*, 54: 339-367.
 25. Gillis, P.L., McInnis, R., Salerno, J., de Solla, S.R., Servos, M.R. and Leonard, E.M., 2017. Freshwater mussels in an urban watershed: impacts of anthropogenic inputs and habitat

- alterations on populations. *Science of the Total Environment*, 574: 671-679.
26. Góngora-Gómez, A.M., Domínguez-Orozco, A.L., Villanueva-Fonseca, B.P., Muñoz-Sevilla, N.P., and García-Ulloa, M., 2018. Seasonal levels of heavy metals in soft tissue and muscle of the pen shell *Atrina maura* (sowerby, 1835) (bivalvia: Pinnidae) from a farm in the southeastern coast of the Gulf of California, Mexico. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34(1): 57-68.
 27. Hamed, M.A., and Emara, A.M., 2006. Marine molluscs as biomonitors for heavy metal levels in the Gulf of Suez, Red Sea. *Journal of Marine Systems*, 60(3-4): 220-234.
 28. Hedge, L.H., Knott, N.A. and Johnston, E.L., 2009. Dredging related metal bioaccumulation in oysters. *Marine Pollution Bulletin*, 58: 832-840.
 29. Ibrahim, N.K., and Abu El-Regal, M.A., 2014. Heavy metals accumulation in marine edible molluscs, Timsah Lake, Suez Canal, Egypt. *ARPN Journal of Science and Technology*, 4(4): 282-288.
 30. Khaled, A., Abdel-Halim, A., El-Sherif, Z. and Mohamed, L.A., 2017. Health risk assessment of some heavy metals in water and sediment at Marsa-Matrouh, Mediterranean Sea, Egypt. *Journal of Environmental Protection*, 8(01): 74.
 31. Kim, S.H., Jung, M.Y. and Lee, Y.M., 2011. Effect of heavy metals on the antioxidant enzymes in the marine ciliate *Euplotes Crassus*. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 3(4): 213-219.
 32. Lima, I., and Moreira, S.M., 2007. Biochemical responses of the marine mussel *Mytilus galloprovincialis* to petrochemical environmental contamination along the North western coast of Portugal. *Chemosphere*, 66: 1230- 1242.
 33. Mirzaei, M.R., Azini, M.R. and Rad, T.A., 2016. Seasonal variation of heavy metal in seawater, sediment and hooded oyster, *Saccostre acucullata*, in Iranian southern waters (Chabahar coast). *Research in marine sciences*, 1(1), 3-12.
 34. Mlouka, R., Cachot, J., Boukadida, K., Clerandau, C., Gourves, P.Y. and Banni, M., 2019. Compared responses to copper and increased temperatures of hybrid and pure offspring of two mussel species. *Science of the Total Environment*. 685: 795-805.
 35. Molamohyeddin, N.; Ghafourian, H. and Sadatipour, S.M., 2017. Contamination assessment of mercury, lead, cadmium and arsenic in surface sediments of Chabahar Bay. *Marine Pollution Bulletin*. Vol 124, No. 1, pp: 521–525.
 36. Moniruzzaman, M., Middy, P., Dhara, A., Das, D., Ghosal, I., Mukherjee, D. and Chakraborty, S.B., 2017. Change in redox state and heat shock protein expression in an Indian major carp *Cirrhinus cirrhosus* exposed to zinc and lead. *Japanese Society of Toxicology*, 42: 731–740.
 37. Moopam, 1999. *Manual of Oceanographic Observations and Pollutant Analyses Methods*. ROPME, Kuwait. 483 p.
 38. Pandey, A., Singh, A., Holeyappa, S.A. and Kaur, H., 2018. Enzymatic and antioxidant response of *Lamellidens marginalis* exposed to mercuric chloride. *Indian Journal of Animal Research*, 52: 658-663.
 39. 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: Toxicology and Pharmacology*, 150(2):186-195.
 40. Pourang, N., Nikouyan, A. and Dennis, J.H., 2005. Trace element concentrations in fish, surficial sediments and water from northern part of the Persian Gulf. *Environmental Monitoring and Assessment*, 109: 293- 316.
 41. Regoli, F., Nigro, M. and Orlando, E., 1998. Lysosomal and antioxidant responses to metals in the antarctic scallop *Adamussium colbecki*. *Aquat Toxicology*, 40: 375–392.
 42. Rosa, C.E., Iurman, M.G., Abreu, P.C., Geracitano, L.A. and Monserrat, J.M., 2005. Antioxidant mechanisms of the nereidid *Laeonereis acuta* (Annelida: Polychaeta) to cope with environmental hydrogen peroxide. *Physiological and Biochemical Zoology*, 78: 641–649.
 43. Ruelas-Inzunza, J. R., and Pa' ezOsuna, F., 2000. Comparative bioavailability of trace metals using three filter-feeder organisms in a subtropical coastal environment (Southeast Gulf of California). *Environmental Pollution*, 107: 437–444.
 44. Sadeghi, P., and Loghmani, M., 2010. First record of *Acanthopleura vaillantii* (Mollusca: Polyplacophora) from Iran-Chabahar Bay in the Oman Sea. *Marine Biodiversity Records*, 3.
 45. Sadeghi, P., Loghmani, M., Afsa, E., 2019. Trace element concentrations, ecological and health risk assessment in sediment and marine fish *Otolithes ruber* in Oman Sea, Iran. *Marine pollution bulletin*, 140: 248-254.

46. Sadeghi, P., Loghmani, M., Frokhzad, S., 2020. Human health risk assessment of heavy metals via consumption of commercial marine fish (*Thunnus albacares*, *Euthynnus affinis*, and *Katsuwonus pelamis*) in Oman Sea. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(13):14944-14952
47. Sadeghi, P., Loghmani, M., Yousuf, D.J., and Abadi, Z. T. R., 2021. Ecological and human health risk assessment of trace element pollution in sediments and five important commercial fishes of the Oman Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 173, 112962.
48. Sarikaya, E., and Doğan, S., 2020. Glutathione Peroxidase in Health and Diseases. *Glutathione System and Oxidative Stress in Health and Disease*, 49.
49. Staniskiėne, B., Matusėvicius, P., Budreckiėne, R. and Skibniewska, K.A., 2006. Distribution of Heavy Metals in Tissues of Freshwater Fish in Lithuania. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(4): 585-591.
50. Sun, X., Li, B. S., Liu, X. L. and Li, C.X., 2020. Spatial Variations and Potential Risks of Heavy Metals in Seawater, Sediments, and Living Organisms in Jiuzhen Bay, China. *Journal of Chemistry*, 2020.
51. Suprapti, N.H., Bambang, A.N. and Swastawati, F., 2014. Chromium (Cr) Content in Green Mussels (*Pernaviridis Linnaeus*): Case Study at 10 Markets in Semarang City, Central Java, Indonesia. In *International Conference on Biotechnology and Environment Management*, 75: 62-65.
52. Swaleh, M.M., Ruwa, R., Wainaina, M.N., Ojwang, L.M., Samuel L. Shikuku, S.L., Justin K. and Maghanga, J.K., 2016. Heavy Metals Bioaccumulation Assessment in *Acanthopleura gemmata* from Fort Jesus Mombasa. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology Volume 10(7)*: 39-45
53. Tapia, J., Villagra, F., Bertrán, C., Espinoza, J., Focardi, S., Fierro, P., ... and Vargas-Chacoff, L., 2019. Effect of the earthquake-tsunami (Chile, 2010) on toxic metal content in the Chilean abalone mollusc *Concholepas concholepas*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 169: 418-424.
54. Tompson, K.C., 2005. *Environmental toxicity testing*. Blackwell publishing, 388p.
55. Treves, K., Traub, W., Weiner, S. and Addadi, L., 2003. Aragonite Formation in the Chiton (Mollusca) Girdle. *Helvetica Chimica Acta*, 86 (4): 1101-1112.
56. Uluturhan, E., Darilmaz, E., Kontas, A., Bilgin, M., Alyuruk, H., Altay, O., Sevgi, S., 2019. Seasonal variations of multi-biomarker responses to metals and pesticides pollution in *M. galloprovincialis* and *T. decussatus* from Homa Lagoon, Eastern Aegean Sea. *Marine pollution bulletin*, 141: 176-186.
57. Wang, J., Ye, S., Laws, E. A., Yuan, H., Ding, X. and Zhao, G., 2017. Surface sediment properties and heavy metal pollution assessment in the Shallow Sea Wetland of the Liaodong Bay, China. *Marine pollution bulletin*, 120(1-2): 347-354.
58. Yazdan Panah, D., Safahieh, A., Salari Aliabadi, A. and Kamal, G., 2017. Comparison of Heavy Metals (Zn, Cu, Ni, Pb and Cd) Concentration in the Intertidal Sediments of the Kharg Island during summer and winter. *Journal of Oceanography*, 8(30): 1-9.

Use of chiton antioxidant enzymes (*Acanthopleura vaillantii*) as an indicator of heavy metals contamination in the inter-tidal areas of the Oman Sea

Ghaemi Ahmad Abad F., Sadeghi P. * and Zadabas Shah Abadi H.

Dept. of Marine Biology, Marine Science Faculty, Chabahar Maritime University, Chabahar, I.R. of Iran

Abstract

Antioxidant enzymes are an essential part of the body's immune system that is highly reactive to contaminants. In this study, changes in the levels of antioxidant enzymes, superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in chiton (*Acanthopleura vaillantii*) were investigated in response to heavy metal contamination of copper, zinc and chromium on the coast of the Oman Sea. For this purpose, 18 sediment and 180 chiton samples were collected from Ramin, Daryabzorg, Maritime University coast, Tis, Konarak and desalination stations. After samples biometry and separating the soft tissue, the amount of antioxidant enzymes were measured by enzyme assay kits. The bioaccumulation of heavy metals in the soft tissue of chitons and sediments after acid digestion was read using an atomic absorption spectrometer. Concentration of heavy metals ($\mu\text{g/g}$ dry weight) in soft tissue of chiton was recorded copper (18.44 ± 0.07), zinc (37 ± 0.12) and chromium (6.8 ± 0.13), respectively, and in sediment copper (7.3 ± 0.1), zinc (17.3 ± 0.28) and chromium (23.5 ± 0.18). The levels of catalase and superoxide dismutase were 20.75 ± 4.85 and 16.27 ± 6.05 nmol/mg protein in chiton soft tissue, respectively. The pattern of accumulation of heavy metals in the soft tissue of chitons was recorded as chromium <copper <zinc and in sediment as copper <zinc <chromium. Accumulation of heavy metals in the sediment of the studied stations were decreased as the coast of the Maritime University coast > Ramin > Konarak > Daryabozorg > Tis > Desalination. The levels of catalase and superoxide dismutase enzymes in the soft tissue of chitons increased in response to increasing concentrations of heavy metals. A strong positive and significant correlation was between heavy metals and catalase and superoxide dismutase enzymes in chiton soft tissue indicating the stimulatory effect of contaminants on enzyme secretion. Examination of sediment contamination with sediment quality standards showed that sediments were safe in terms of metals studied on the coasts of the Oman Sea.

Key words: Chiton, heavy metals, catalase, superoxide dismutase, Oman Sea.