مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴

DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

تغییر سطح آنزیم استیل کولین استراز در بارنکل(*Tetraclita rufotincta*) به عنوان نشانگر زیستی آلودگی نفت خام و پراکنده ساز آن در حوزه نفتی بهرگان

ساره علینقی[۱]، مژگان امتیازجو [۱]،سحر جلیلی[۲*]

[۱] گروه بیولوژی دریا، واحد تهران شمال ، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

[۲] گروه شیلات ، واحد بین الملل اروند، دانشگاه آزاد اسلامی، آبادان ، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۸/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۸/۱۷

چکیده:

ورود ترکیبات نفتی و پراکنده‌سازها به آب‌های خلیج فارس می‌تواند پیامدهای قابل‌توجهی برای سلامت اکولوژیکی این اکوسیستم داشته باشد. پایش سرنوشت و اثرات زیستی این آلاینده‌ها برای ارزیابی وضعیت محیط‌های دریایی ضروری است. یکی از شاخص‌های زیستی مورد استفاده در این زمینه، فعالیت آنزیم استیل‌کولین‌استراز (AChE) است که مهار آن می‌تواند نشانگر مواجهه با آلاینده‌ها باشد. هدف این مطالعه بررسی تغییرات فعالیت استیل‌کولین‌استراز و میزان مرگ‌ومیر بارناکل (*Tetraclita rufotincta*) پس از مواجهه کوتاه‌مدت با نفت خام بهرگان در شش غلظت و دو پراکنده‌ساز گملن و اسلیک‌گان در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت بود. نتایج نشان داد که فعالیت ویژه استیل‌کولین‌استراز در تیمارهای نفت خام در هر دو زمان مواجهه تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت($p = ۰/۵$). همچنین مواجهه با پراکنده‌ساز گملن ($p = ۰/۹$) و اسلیک‌گان در ۲۴ ساعت ($p = ۱/۰$) و ۴۸ ساعت (۰/۷۲۷ = p) تغییر معنی‌داری در فعالیت آنزیم ایجاد نکرد. الگوی مرگ‌ومیر نیز وابستگی مشخصی به غلظت نفت خام یا پراکنده‌سازها نشان نداد، هرچند بیشترین تلفات در تیمارهای حاوی اسلیک‌گان به‌تنهایی یا در ترکیب با نفت مشاهده شد و افزایش مدت مواجهه از ۲۴ به ۴۸ ساعت موجب افزایش مرگ‌ومیر گردید. به‌طور کلی، نتایج نشان می‌دهد که فعالیت استیل‌کولین‌استراز در مواجهه حاد با نفت خام و پراکنده‌سازها در این گونه پاسخ معنی‌داری نشان نمی‌دهد و استفاده از آن به‌تنهایی ممکن است برای ارزیابی اثرات کوتاه‌مدت این آلاینده‌ها کافی نباشد. بنابراین، به‌کارگیری مجموعه‌ای از بیومارکرهای مکمل و مطالعات با دوره‌های مواجهه طولانی‌تر می‌تواند در تفسیر دقیق‌تر اثرات اکولوژیکی این ترکیبات مؤثر باشد.

واژگان کلیدی: استیل کولین استراز، نشانگر زیستی، *Tetraclita rufotincta* ، نفت خام، دیسپرسنت.

*نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیک: Sahar.jalili2024@iau.ac.ir

مقدمه

نشانگرهای زیستی، ابزارهایی حساس و قابل اعتماد در ارزیابی تأثیرات اولیه آلاینده‌های شیمیایی بر موجودات دریایی هستند و امکان شناسایی اختلالات مولکولی را پیش از بروز تغییرات فیزیولوژیک و جمعیتی فراهم می‌کنند[۵۷ ، ۴۵] . در میان این نشانگرها، آنزیم استیل‌کولین‌استراز (AChE) یکی از شاخص‌ترین بیومارکرهای اختلالات عصبی است که با نقش اساسی در هیدرولیز استیل‌کولین، روند انتقال پیام عصبی را تنظیم می‌کند[۱،۴۰،۴۲] . مهار فعالیت استیل کولین

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

استراز می‌تواند نتیجه مواجهه با طیف وسیعی از آلاینده‌ها از جمله هیدروکربن‌های نفتی، پراکنده‌سازها، آفت‌کش‌ها و فلزات سنگین باشد و به همین دلیل، تغییرات فعالیت این آنزیم معیار شناخته‌شده‌ای برای پایش آلودگی‌های دریایی محسوب می‌شود[۷،۱۲] . نشت نفت خام به دریا یکی از مهم‌ترین تهدیدهای زیست‌محیطی در پهنه‌های ساحلی و نیمه‌بسته نظیر خلیج فارس است، به‌ویژه در منطقه بهرگان، فعالیت‌های گسترده اکتشاف، استخراج و انتقال نفت، احتمال وقوع رخدادهای نشت را افزایش داده است. در چنین رویدادهایی، استفاده از پراکنده‌سازها از روش‌های مرسوم برای کاهش گسترش لکه نفتی و افزایش زیست‌فراهمی تجزیه نفت است. با این حال، ترکیب نفت و پراکنده‌ساز می‌تواند به ایجاد مخلوط‌های پیچیده و زیست‌فعال منجر شود که اثرات زیستی آن‌ها به‌طور کامل شناخته نشده است [۳۸] . از این رو، شناسایی پاسخ‌های مولکولی گونه‌های بومی در برابر این ترکیبات برای درک بهتر مخاطرات اکولوژیک ضروری است.

بارناکل(*Tetraclita rufotincta*)به دلیل زیست‌چسبندگی، فراوانی بالا، توزیع گسترده در نواحی جزرومدی و توان تحمل شرایط متغیر محیطی، گونه‌ای مناسب برای استفاده در پایش بوم‌شناختی به شمار می‌رود[۱۹،۶] . با وجود اهمیت این گونه در سواحل خلیج فارس،اطلاعات کمی درباره حساسیت بیوشیمیایی آن، خصوصاً در سطوح عصبی–مولکولی و در مواجهه با نفت خام و پراکنده‌سازهای رایج منطقه‌ای وجود دارد. یکی از چالش‌های اساسی در ارزیابی سمیت نفت خام و دیسپرسنت‌ها، شبیه‌سازی غلظت‌هایی است که بازتاب‌دهنده شرایط واقعی نشت در محیط‌های دریایی باشند.غلظت هیدروکربن‌های نفتی کل در آب‌های خلیج فارس در شرایط عادی معمولاً در محدوده ۵-۰/۵ میکروگرم بر لیتر گزارش شده است [۹ ،۳۷،۸ ،۴] . با این حال، در ساعات اولیه نشت‌های بزرگ نفت و به‌ویژه هنگام کاربرد پراکنده‌سازها، غلظت نفت پراکنده‌شده در ستون آب می‌تواند به ۱۰–۵۰ میلی گرم در لیتر(ppm) برسد [۳۲،۳۵] . همچنین، دستورالعمل‌های عملیاتی آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا نسبت بهینه دیسپرسنت:نفت برابر ۱:۱۰ تا ۱:۲۰ را توصیه می‌کنند [۵۰]. بنابراین، دامنه غلظت‌های استفاده‌شده در این پژوهش (۱۶۸–۵۳۷۶ ppm) بازتاب‌دهنده بدترین سناریوی مواجهه کوتاه‌مدت در ساعات نخست پس از وقوع نشت حاد است و امکان ارزیابی آستانه‌های مهار استیل کولین استراز را با دقت بیشتری فراهم می‌سازد.

مطالعات پیشین درباره شاخص‌های زیستی در بی‌مهرگان دریایی نتایج متفاوتی نشان داده‌اند. نیک‌بین و همکاران (۱۳۸۸) در بارناکل (*Balanus Amphitrite*)رابطه معنی‌داری میان غلظت PAHs و فعالیت کاتالاز مشاهده نکردند، هرچند سوپراکسید دیسموتاز را به‌عنوان شاخصی بالقوه مطرح کردند[۳۳]. همچنین قاسم‌پور ملکی (۱۳۸۸) در گونه (*Tetraclita rufotincta*) ارتباط معناداری میان فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز با تغییرات PAHsنیافت و این آنزیم‌ها را بیومارکرهای مؤثری در این گونه ندانست[۲۳]. در مقابل، راحتی جعفرآباد (۱۳۹۱) با بررسی تغییرات آنزیم استیل‌کولین‌استراز در دوکفه‌ای (*Mytilaster lineatus*) و گونه غالب *Gammarus*در مواجهه با TBT و دیازینون، پس از ۹۶ ساعت با تعیین LC50 و مقایسه فعالیت آنزیمی،

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

نشان داد که (*Mytilaster lineatus*) می‌تواند بیواندیکاتور مناسبی برای ارزیابی آلودگی‌های دریای خزر باشد[۳۸].

مطالعه راموس و همکاران (۲۰۱۴) بر روی بارنکل(*Pollicipes pollicipes*) نشان داد که آنزیم استیل‌کولین‌استراز می‌تواند به‌عنوان یک بیومارکر حساس برای ارزیابی مواجهه با آلاینده‌های شیمیایی مورد استفاده قرار گیرد. نتایج این پژوهش حاکی از آن بود که نوسانات استیل کولین استراز علاوه بر تأثیرپذیری از تغییرات فصلی، تحت نفوذ آلاینده‌های ناشی از فعالیت‌های انسانی ـ به‌ویژه انتشار ترکیبات نفتی از پالایشگاه‌ها ـ نیز قرار می‌گیرد. نمونه‌هایی که از ایستگاه‌های آلوده جمع‌آوری شده بودند، سطوح بالاتری از فعالیت آنزیم‌های متابولیک را نشان دادند که این تغییرات در فصل تابستان شدت بیشتری داشت [۴۰] . همچنین، شن و همکاران (۲۰۲۰) با بررسی ۱۶ ترکیب هیدروکربن آروماتیک حلقوی (PAHs) در(*Mytilus galloprovincialis*)در منطقه ساحلی پورت فیلیپ استرالیا گزارش کردند که این نرم‌تنان قادرند به‌طور مؤثر حضور و شدت آلودگی‌های شیمیایی را در محیط‌های دریایی نمایان کنند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که استفاده از گونه‌های دریایی به‌عنوان نشانگرهای زیستی، ابزار قدرتمندی برای شناسایی و ردیابی آلاینده‌های نفتی و ترکیبات آلی سمی است،[۱۳،۴۷،۴۸]. با وجود آنکه فعالیت استیل‌کولین‌استراز به‌عنوان یکی از شاخص‌های مهم در پایش استرس شیمیایی بی‌مهرگان دریایی شناخته می‌شود، اطلاعات موجود درباره الگوی پاسخ این آنزیم در بارناکل(*Tetraclita rufotincta*) در مواجهه با آلاینده‌های نفتی همچنان محدود است [۲۰،۲۱]. این کمبود داده به‌ویژه در منطقه بهرگان خلیج فارس یکی از مهم‌ترین نواحی استخراج و انتقال نفت اهمیت بیشتری می‌یابد، زیرا ترکیبات نفت خام و مخلوط‌های نفت–پراکنده‌ساز از آلاینده‌های اصلی این زیست‌بوم محسوب می‌شوند و شناخت حساسیت گونه‌های بومی برای پایش زیستی ضروری است [۲۴] . با وجود گزارش‌هایی در مورد اثر آلاینده‌ها بر فعالیت استیل کولین استراز در سایر بی‌مهرگان، تاکنون مطالعه‌ای نظام‌مند که طیف غلظت‌های نفت خام بهرگان را همراه با دو پراکنده‌ساز رایج (گملن و اسلیک‌گان) بر فعالیتاستیل کولین استراز در(*Tetraclita rufotincta*) طی بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت بررسی کرده باشد، انجام نشده است. این خلأ پژوهشی مانع از ارزیابی دقیق قابلیت این گونه به‌عنوان یک نشانگر زیستی برای شناسایی آلودگی‌های نفتی در خلیج فارس می‌شود.

بر این اساس، مطالعه حاضر با طرح این پرسش اصلی انجام شد که مواجهه(*Tetraclita rufotincta*) با غلظت‌های مختلف نفت خام بهرگان و پراکنده‌سازهای مرتبط چه تأثیری بر فعالیت آنزیم استیل کولین استراز ایجاد می‌کند. بدین منظور، شش غلظت از نفت خام (۱۶۸، ۳۳۶، ۶۷۲، ۱۳۴۴، ۲۶۸۸ و ۵۳۷۶) ppm و دو پراکنده‌ساز گملن و اسلیک‌گان در دوره‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت بررسی شدند. فرض بر این است که تماس با آلاینده‌ها موجب تغییر معنی‌دار در فعالیت استیل کولین استراز می‌شود، این تغییرات الگویی وابسته به دوز دارند و پاسخ آنزیمی میان دو دوره زمانی متفاوت خواهد بود.

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

این رویکرد زمینه‌ای علمی برای ارزیابی حساسیت زیست‌مولکولی (*Tetraclita rufotincta*)و کاربست آن در پایش زیستی مناطق نفت‌خیز خلیج فارس فراهم می‌سازد.

مواد و روش ها

جمع آوری و انتقال نمونه ها

مطالعه حاضر بر روی بارناکل(*Tetraclita rufotincta*)انجام شد. نمونه‌برداری از پایه‌های سکوی نفتی نوروز واقع در حوزه نفتی بهرگان، در زمان پایین‌ترین جزر و طی ۲۴ ساعت انجام گرفت. بارناکل‌ها با استفاده از قلم و چکش از سازه جدا شده و در کیسه‌های نایلونی که کف آن‌ها با ابر اسفنجی ۱۰ سانتی‌متری پوشانده شده بود قرار گرفتند. نمونه‌ها در جعبه‌های یونولیتی و در شرایط مرطوب به آزمایشگاه شرکت نفت فلات قاره (جزیره خارگ) منتقل شدند [۴۰].

آماده‌سازی ظروف آزمایش، تنظیم شوری و انتقال نمونه‌ها

برای انجام آزمایش، تعداد ۳۶ ظرف پلاستیکی با ابعاد ۲۰×۳۳×۴۰ سانتی‌متر در محیط آزمایشگاه مستقر شد. هر ظرف با ۱۵ لیتر آب پر گردید. با توجه به اینکه شوری آب دریای منطقه خارک حدود ۳۵ ppt گزارش شده است [۱۷]، مقدار نمک مورد نیاز برای رساندن شوری آب در هر ظرف به این مقدار به‌صورت جداگانه محاسبه و اضافه شد. برای تهیه آب شور از نمک مخصوص آب‌های دریایی (Tropic Marin Sea Salt) استفاده شد. به‌منظور اطمینان از تنظیم دقیق شوری، میزان شوری هر ظرف با دستگاه شوری‌سنج YSI (30Conductivity/Salinity/Temperature Meter اندازه‌گیری و با استانداردهای ارائه‌شده در دستورالعمل MOOPAM (۱۹۹۹) تطبیق داده شد [۳۱] . پس از ایجاد شرایط یکسان در تمام ظروف، تعداد ۳۰ عدد از بارناکل(*Tetraclita rufotincta*) به‌صورت مساوی در هر ظرف قرار داده شد؛ به‌گونه‌ای که هر ظرف دارای ۱۵ لیتر آب با شوری استاندارد ۳۵ ppt و شرایط محیطی یکسان بود [۴۰] . سپس نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت تحت شرایط آزمایشگاهی برای سازگاری با محیط جدید نگهداری شدند. انتخاب این دوره زمانی مطابق با پروتکل‌های مطالعات مشابه در زمینه سازگاری بی‌مهرگان دریایی انجام شد [۱۱] .

شرایط آزمایشگاه

تمام مراحل آزمایش در شرایط کنترل‌شده آزمایشگاهی انجام شد. پارامترهای محیطی به‌گونه‌ای تنظیم شدند که شرایط تا حد امکان مشابه محیط طبیعی و در عین حال ثابت در طول دوره آزمایش حفظ شود. دمای محیط آزمایشگاه در ۲۰ درجه سلسیوس نگهداری شد، pH آب برابر ۷.۱ تنظیم گردید و شوری آب در سطح ۳۵ ppt تثبیت شد. همچنین برای شبیه‌سازی چرخه طبیعی نور، نسبت روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در نظر گرفته شد. تمامی این شرایط در طول دوره آزمایش به‌طور منظم پایش و کنترل شدند تا از پایداری شرایط محیطی اطمینان حاصل شود [۴۳] .

معرض‌گذاری نمونه‌ها

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

پس از اتمام دوره آداپتاسیون ۴۸ ساعته، ۳۶ ظرف حاوی بارناکل‌ها به شش گروه تیماری تقسیم و بر اساس نوع تیمار، غلظت و زمان مواجهه کدگذاری شدند. طرح تیماری مطابق جدول ۱ شامل عوامل زیر بود: زمان مواجهه (۲۴ و ۴۸ ساعت)، غلظت‌های مختلف نفت خام، نوع پراکنده‌ساز (گملن و اسلیک‌گان نسل سوم) و سطوح غلظتی پراکنده‌ساز. برای تهیه تیمارهای نفتی، از نفت خام منطقه بهرگان استفاده شد [۵۶] . مخلوط‌های نفت–پراکنده‌ساز با نسبت اختلاط پراکنده‌ساز به نفت ۱:۲۰ تهیه شدند، سپس مخلوط‌ها تا دستیابی به غلظت‌های هدف مطابق جدول ۱ رقیق و به ظروف تیماری افزوده گردیدند. در تیمارهای نفت خالص، تنها نفت خام تا غلظت‌های هدف افزوده شد و در تیمارهای پراکنده‌ساز خالص، فقط پراکنده‌سازها در غلظت‌های تعیین‌شده به آب اضافه شدند تا اثرات اصلی و تعاملی عوامل به‌طور مستقل قابل آزمون باشند.پس از شروع مواجهه، نمونه‌برداری در دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت انجام شد. در هر زمان، تعداد ۱۵ عدد از هر تیمار برداشت گردید. بافت نرم بارناکل‌ها بلافاصله پس از برداشت جدا، بر اساس کد ظرف/تیمار و زمان نمونه‌برداری برچسب‌گذاری شد و برای حفظ فعالیت‌های آنزیمی فوراً در فریزر ۷۰ ° – درجه سلسیوس نگهداری شد [۱۷،۴۰]. تمامی مراحل مطابق دستورالعمل‌های ایمنی و با حداقل دست‌کاری انجام شد تا از ایجاد تنش‌های غیرمرتبط جلوگیری شود.

جدول ۱: مشخصات تیمارهای آزمایشی شامل نوع ماده، غلظت و زمان مواجهه

کد تیمار	تیمار	زمان(ساعت)	غلظت(ppm)
C1-6(24) C1--6(48)	شاهد	۲۴-۴۸	-
O1-6(24) O1-6(48)	نفت	۲۴-۴۸	۳۳۶-۶۷۲-۱۳۴۴-۲۶۸۸-۵۳۷۷-۱۶۸
G1-6(24) G1-6(48)	پراکنده ساز گلمن	۲۴-۴۸	۰/۱۶۲ ۰/۲۵۲ ۰/۵۰۴ ۱/۰۰۸ ۲/۰۱۶ ۴/۳۲۰

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

GO1-6(24) GO1-6(48)	نفت +پراکنده ساز گلمن	۲۴-۴۸	۱۶۸+۰/۱۶۲ ۵۳۷۷+۰/۲۵۲ ۲۶۸۸+۰/۵۰۴ ۱۳۴۴+۱/۰۰۸ ۶۷۲+۲/۰۱۶ ۳۳۶+۴/۳۲۰
S1-6(24) S1-6(48)	پراکنده‌ساز اسلیک‌گان	۲۴-۴۸	۰/۱۶۲ ۰/۲۵۲ ۰/۵۰۴ ۱/۰۰۸ ۲/۰۱۶ ۴/۳۲۰
SO1-6(24) SO1-6(48)	نفت+پراکنده‌ساز اسلیک‌گان	۲۴-۴۸	۱۶۸+۰/۱۶۲ ۵۳۷۷+۰/۲۵۲ ۲۶۸۸+۰/۵۰۴ ۱۳۴۴+۱/۰۰۸ ۶۷۲+۲/۰۱۶ ۳۳۶+۴/۳۲۰

کد نمونه ها: شاهد: C ،نفت : O ، پراکنده ساز گلمن:G ،پراکنده ساز اسلیک گان:S، نفت و گلمن:OG، نفت و اسلیک گان:OS

سنجش آنزیم استیل کولین استراز

فعالیت آنزیم استیل‌کولین‌استراز بر اساس روش رنگ‌سنجی الیمن[۱۵] با اصلاحات جزئی انجام شد. ابتدا معرف الیمن (DTNB)تهیه گردید؛ بدین منظور ۳۹/۶ میلی‌گرم از -5,5' dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (Sigma, D8130) در ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH =۷حل شد و سپس ۱۵ میلی‌گرم بی‌کربنات سدیم به آن افزوده گردید. برای آماده‌سازی نمونه، حدود ۲۰ میلی‌گرم از بافت در ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات سرد(pH=8, 0.1M)در حمام یخ با استفاده از هموژنایزر شیشه‌ای همگن شد. برای انجام واکنش، ۴ میلی‌لیتر از هموژنیزه بافت به همراه ۲/۶ میلی‌لیتر بافر فسفات(pH=8, 0.1M)در کووت اسپکتروفوتومتر ریخته شد و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از معرف DTNB به آن افزوده گردید. جذب محلول در طول موج ۴۱۲ نانومتر هر یک دقیقه اندازه‌گیری شد تا زمانی که مقدار جذب به حالت پایدار برسد و دستگاه با این محلول به‌عنوان بلانک تنظیم گردد. پس از آن، ۲۰ میکرولیتر از سوبسترای یدید استیل‌تیوکولین (Acetylthiocholine iodide; Sigma, A5751)به کووت افزوده شد تا واکنش آنزیمی آغاز گردد. تغییرات جذب در طول موج ۴۱۲ نانومتر به مدت ۱۵ دقیقه و در فواصل زمانی یک دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیم استیل کولین استراز بر اساس سرعت افزایش جذب ناشی از تشکیل ۵-تیو-۲-نیتروبنزوات (TNB) محاسبه و بر اساس فرمول استاندارد الیمن گزارش گردید[۴۱،۴۰،۳۴،۲۷،۲۲،۱۵،۱۱]

$$R = \frac{\Delta A}{1.36(10)^4} \times \frac{1}{(400.3120)C_0} = 5.74(10)^{-4}\frac{\Delta A}{C0}$$

R= میزان سوبسترای همگن شده به مول بر دقیقه بر هر گرم از بافت

ΔA= تغییرات در جذب بر دقیقه C_0 = غلظت اصلی بافت (mg/ml)

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

سنجش میزان پروتئین

سنجش میزان پروتئین نمونه‌ها با استفاده از روش برادفورد انجام شد[۱۰،۱۱،۱۹،۱۸،۲۲،۴۰] . برای تهیه معرف، مقدار ۱۰ میلی‌گرم کوماسی بلو G-250 در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد حل شده و سپس ۱۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد به آن افزوده شد و حجم نهایی محلول با آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد، از محلول ۱ mg/ml آلبومین سرم گاوی (BSA) استفاده گردید و مقادیر ۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول استاندارد در لوله‌های جداگانه منتقل شد؛ سپس به هر لوله ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد افزوده شد. پس از مخلوط‌سازی، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت و در نهایت منحنی استاندارد براساس مقادیر جذب و غلظت‌های مربوطه ترسیم شد.

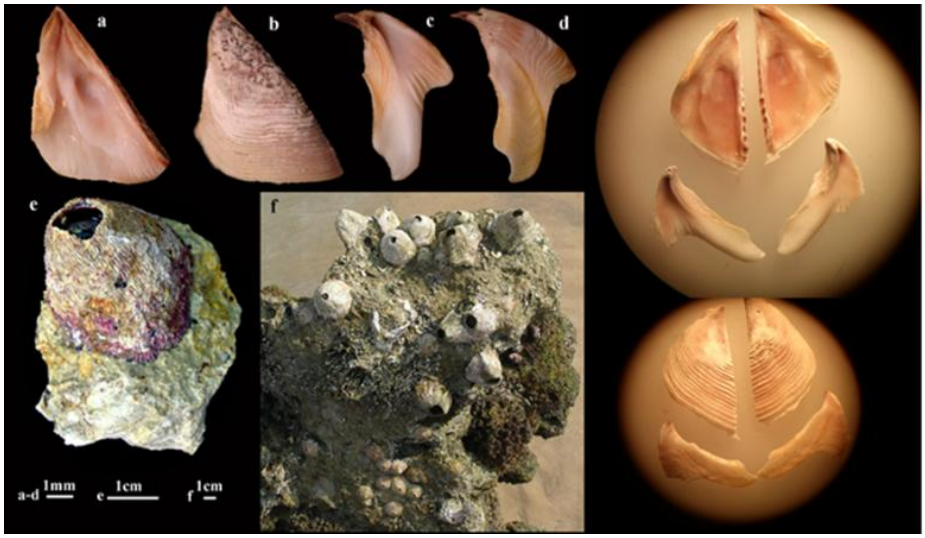
آنالیز آماری

داده‌های مربوط به تغییرات فعالیت آنزیم استیل‌کولین‌استراز (AChE) در مواجهه با غلظت‌های مختلف نفت خام، پراکنده‌سازها و مخلوط نفت–پراکنده‌ساز در زمان‌های متفاوت، با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه (Two-Way ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. این تحلیل برای ارزیابی اثرات اصلی غلظت و زمان مواجهه و همچنین اثر متقابل آن‌ها بر فعالیت آنزیم انجام شد. در موارد مشاهده تفاوت معنی‌دار، الگوی تغییرات و شدت ارتباط میان متغیرها با استفاده از ضریب همبستگی بررسی گردید.همچنین به‌منظور ارزیابی معنی‌داری تفاوت میان فراوانی پاسخ‌های مشاهده‌شده و مقادیر مورد انتظار در تیمارهای مختلف، از آزمون کای‌دو (Chi-square test) استفاده شد. تمامی تحلیل‌های آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد و ترسیم نمودارها با استفاده از Microsoft Excel صورت گرفت. سطح معنی‌داری در تمام آزمون‌ها $p < 0.05$ در نظر گرفته شد[۱۸،۴۰] .

نتایج

شناسایی بارناکل

بارناکل‌های جمع‌آوری‌شده بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیک خارجی مورد شناسایی قرار گرفتند. الگوی آرایش و تعداد صفحات آهکی دیواره‌ای، شکل و موقعیت صفحات Scutum، Tergum و همچنین سایر شاخصه‌های تشخیصی ذکرشده در کلید شناسایی بارناکل‌های خلیج فارس [۴۴] برای تعیین گونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نمونه‌ها با ویژگی‌های مورفولوژیکی گزارش‌شده برای گونه‌های معرفی‌شده در این کلید مطابقت دارند (تصویر ۱).



مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

تصویر۱ a. نمای داخلی scutum- b. نمای خارجی scutum- c. نمای داخلی tergum- d. نمای خارجی tergum- e. نمای جانبی از پوسته- f. نمونه در صخره‌های سواحل خلیج فارس- g. نمای داخلی tergum و scutum مورد آزمایش- h. نمای خارجی tergum و scutum مورد آزمایش.

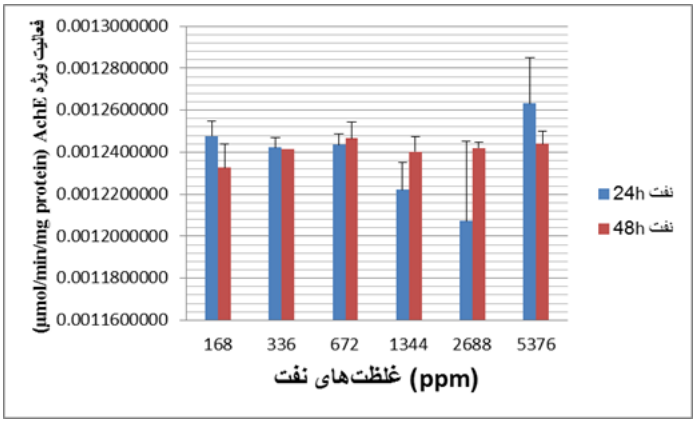
فعالیت ویژه استیل کولین استراز در بارناکل طی مواجهه با نفت خام بهرگان

در نتایج حاصل از بررسی آماری فعالیت ویژه آنزیم استیل‌کولین‌استراز در بارناکل تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نفت خام بهرگان طی بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت، تغییری معنی‌دار در پاسخ آنزیمی مشاهده نشد(جدول ۲). به‌طوری‌که در تیمارهای مختلف غلظتی نفت در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت، مقادیر فعالیت ویژه آنزیم در محدوده بسیار نزدیک به هم قرار داشته و سطح معنی‌داری مربوط به اثر فاکتور (زمان)، غلظت و برهم‌کنش زمان*غلظت به‌ترتیب(P= ۰/۷۷۴، P= ۰/۵۵۹ و P= ۰/۵) در بازه ۲۴ و۴۸ ساعته نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت آماری معنی‌دار بین تیمارها است. میانگین فعالیت ویژه آنزیم در تیمارهای نفت طی ۲۴ ساعت برابر با۰.۰۰۰۰۶±۰.۰۰۱۲ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین و در ۴۸ ساعت برابر با ۰.۰۰۰۰۲±۰.۰۰۱۲ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بود که نزدیکی این مقادیر نیز مؤید عدم حساسیت بارز استیل‌کولین‌استراز به غلظت‌های به‌کاررفته نفت در این بازه‌های زمانی است(نمودار۱). بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، تغییرات فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در تیمارهای مختلف نفت خام از نظر آماری معنی‌دار نبود. ازاین‌رو، الگوی مشخص یا وابسته به غلظت در پاسخ این آنزیم قابل استنتاج نیست. هرچند نوساناتی در برخی تیمارها مشاهده شد، اما با توجه به عدم معناداری آماری، این تغییرات را نمی‌توان به‌عنوان نشانه‌ای از حساسیت زیستی یا پاسخ فیزیولوژیک قطعی به آلودگی نفتی تفسیر کرد. در چنین شرایطی، ارائه توضیحاتی درخصوص مکانیسم‌هایی مانند سازگاری فیزیولوژیک، تحریک مسیرهای جبرانی یا بروز استرس اکسیداتیو بدون پشتوانه آماری کافی، می‌تواند به برداشت‌هایی فراتر از داده‌های موجود منجر شود. بنابراین بحث مربوط به استیل کولین استراز در این مطالعه به نتایج واقعی و قابل استناد محدود می‌شود و امکان نتیجه‌گیری درباره نقش این آنزیم به‌عنوان شاخص زیستی در غلظت‌های بررسی‌شده وجود ندارد.گرچه پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند که برخی بی‌مهرگان دریایی ممکن است در مواجهه با آلاینده‌ها دچار تغییرات قابل توجه در فعالیت آنزیم‌های نوروتوکسیک یا آنتی‌اکسیدانی شوند [۵]، اما تعمیم این الگوها به مطالعه حاضر بدون وجود شواهد آماری هم‌راستا امکان‌پذیر نیست. در نتیجه، یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که استیل کولین استراز تحت شرایط آزمایشی فعلی، پاسخ معناداری به غلظت‌های مختلف نفت خام نشان نداده است. برای درک دقیق‌تر سازوکارهای فیزیولوژیکی این گونه در برابر آلودگی‌های نفتی، انجام مطالعات تکمیلی با نمونه‌های بیشتر، دوره‌های زمانی طولانی‌تر و بررسی هم‌زمان چندین شاخص بیوشیمیایی توصیه می‌شود. چنین رویکردی می‌تواند امکان مقایسه بهتر با مطالعات قبلی[۲۹،۲۸، ۴۰،۴۲،۴۵،۴۶] و ارائه تفسیرهای مکانیکی دقیق‌تر را فراهم کند.

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

جدول ۲- میزان تغییرات فعالیت ویژه آنزیم استیل کولین استراز در بارناکل طی مواجه با نفت خام بهرگان (۲۴ و ۴۸)ساعت

تیمار	غلظت (ppm)	فعالیت ویژه آنزیم استیل کولین استراز(میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین)	تیمارها	سطح معنی داری غلظت‌ها	تیمار*غلظت
نفت ۲۴(ساعت) O1-6(24)	۱۶۸ ۳۳۶ ۶۷۲ ۱۳۴۴ ۲۶۸۸ ۵۳۷۶	۰.۰۰۱۲±۰.۰۰۰۰۶	p =۰/۷۷۴	p =۰/۵۵۹	p =۰/۵۰۰
نفت ۴۸(ساعت) O1-6 (48)	۱۶۸ ۳۳۶ ۶۷۲ ۱۳۴۴ ۲۶۸۸ ۵۳۷۶	۰.۰۰۱۲±۰.۰۰۰۰۲			



نمودار :۱ فعالیت ویژه آنزیم استیل کولین استراز در بارناکل *Tetraclita rufotincta*، در مواجهه با نفت خام بهرگان در دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت (آنتنک‌ها برای نشان دادن خطای استاندارد است)

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

فعالیت ویژه آنزیم استیل کولین استرازدر بارناکل در مواجهه با نفت خام بهرگان و پراکنده‌ساز گملن

بر اساس داده‌های جدول ۳، فعالیت ویژه آنزیم استیل‌کولین‌استراز در بارناکل تحت تیمارهای مختلف (شاهد، پراکنده‌ساز گملن، نفت و ترکیب نفت+پراکنده‌ساز گملن) طی ۲۴ و ۴۸ ساعت دچار تغییرات آماری معنی‌دار نشد(جدول۳). میانگین فعالیت آنزیم در گروه شاهد در ۲۴ و ۴۸ ساعت تقریباً ثابت و به‌ترتیب ۰/۰۰۰۰۶±۰/۰۰۱۲ و ۰/۰۰۰۰۵±۰/۰۰۱۲ میکرومول در دقیقه بر گرم پروتئین بود و در تیمارهای نفت، پراکنده‌ساز و ترکیبی نیز مقادیر در همین حدود باقی ماند؛ به‌طوری‌که در ۲۴ ساعت برای پراکنده‌ساز گملن ۰/۰۰۰۰۶±۰/۰۰۱۲ میکرومول در دقیقه بر گرم پروتئین ، برای نفت۰/۰۰۰۰۶±۰/۰۰۱۲ میکرومول در دقیقه بر گرم پروتئین و برای ترکیب نفت+پراکنده‌ساز ۰/۰۰۰۰۹±۰/۰۰۱۲ ۰میکرومول در دقیقه بر گرم پروتئین و در ۴۸ ساعت برای پراکنده‌ساز گملن،نفت و نفت و پراکنده ساز گلمن به‌ترتیب ۰/۰۰۰۰۴±۰/۰۰۱۲ و ۰/۰۰۰۰۲±۰/۰۰۱۲ میکرومول در دقیقه بر گرم پروتئین گزارش شده است. سطح معنی داری برای اثر اصلی تیمار، غلظت و برهم‌کنش تیمار*غلظت در هر دو بازه زمانی برای ۲۴ ساعت به‌ترتیب۰/۶۴۸ =P، ۰/۹۶۸ =P ، ۰/۶۷۴ =Pو برای ۴۸ ساعت P=۰/۷۱۴ ، ۰/۹۴۱ =P و ۰/۹۱۰=P همگی بسیار بالاتر ازسطح معنی داری ۰/۰۵ بوده و نشان می‌دهد که نه نوع تیمار، نه افزایش غلظت، و نه ترکیب آن‌ها اثری معنی‌دار بر فعالیت استیل‌کولین‌استراز نداشته است. به بیان دیگر، در شرایط آزمایش حاضر، آنزیم استیل‌کولین‌استراز بارناکل نسبت به مواجهه حاد ۲۴ و ۴۸ ساعته با گستره غلظتی به‌کار رفته از نفت، پراکنده‌ساز گملن و ترکیب آن‌ها، پاسخ مهاری یا تحریکی قابل‌توجهی نشان نداده و این پارامتر بیوشیمیایی در این بازه زمانی به‌عنوان یک شاخص حساس برای آشکارسازی اثرات زیرکشنده این آلاینده‌ها ظاهر نشده است.

این الگو با نتایج برخی مطالعات پیشین که به‌وجود نوسانات غیرمعنی‌دار استیل کولین استراز در مواجهه کوتاه‌مدت با ترکیبات نفتی اشاره کرده‌اند نیز هم‌راستا است[۴۵،۵] . به‌منظور ارزیابی اثرات زیستی پراکنده‌سازهای نفتی، سمیت دو پراکنده‌ساز Gl۱۴۲۵VecomB- و ۵۷۰Norchem OSD- در ترکیب با گازوئیل بر حیات و رفتار ناپلی مرحله دوم *Amphitrite* در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت بررسی شد. نتایج نشان داد که پراکنده‌سازهای نسل اول می‌توانند سبب افزایش زیست‌دسترس‌پذیری ترکیبات نفتی شده و در نتیجه شدت سمیت آن‌ها را در موجودات آبزی افزایش دهند. این یافته‌ها بیانگر آن است که استفاده از برخی پراکنده‌سازها ممکن است به جای کاهش اثرات زیست‌محیطی، موجب تشدید پیامدهای سمی نفت در مراحل حساس رشدی آبزیان شود. در این زمینه گزارش شده است که پراکنده‌سازها می‌توانند با تأثیر بر بافت آبشش، موجب اختلال در تعادل اسمزی و کاهش عملکرد مژه‌های آبششی شوند که این امر در نهایت کارایی تنفسی و تنظیم یونی موجودات آبزی را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۵۴]. علاوه بر مطالعات آزمایشگاهی، شواهد میدانی نیز نقش آلودگی‌های نفتی را در تجمع فلزات سنگین در دوکفه‌ای‌ها تأیید کرده‌اند. در مطالعه‌ای که توسط

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

مرتضوی و همکاران (۱۳۸۴) در جزایر هرمز و هندورابی (خلیج فارس) بر روی صدف خوراکی (*Pinctada radiata*) و صدف مرواریدساز (*Saccosterea cucullata*) انجام شد، مشخص گردید که صدف‌های ساکن در ایستگاه‌های نزدیک‌تر به ساحل نسبت به ایستگاه‌های دورتر، مقادیر بیشتری از نیکل و وانادیوم را در بافت‌های خود تجمع داده‌اند. همچنین میزان این عناصر وابسته به نوع نفت خام غالب در هر منطقه گزارش شد. نتایج نشان داد که غلظت نیکل و وانادیوم در پوسته و عضله صدف با شاخص‌های بیومتریک نظیر اندازه و وزن همبستگی معنی‌داری ندارد، در حالی‌که بین میزان ولنادیوم در پوسته و عضله همبستگی معنی‌داری مشاهده شد [۳۱] . مجموع این یافته‌ها نشان می‌دهد که هم در شرایط آزمایشگاهی و هم در مطالعات میدانی، آلودگی‌های نفتی و ترکیبات مرتبط با آن‌ها می‌توانند پیامدهای زیستی قابل‌توجهی در مراحل مختلف زندگی آبزیان و نیز در گونه‌های دوکفه‌ای ایجاد کنند[۵۴،۵۵] .

جدول ۳: میزان تغییرات فعالیت ویژه آنزیم استیل کولین استرازدر بارناکل بین گروه‌های شاهد، پراکنده‌ساز گملن، نفت و پراکنده‌ساز گملن و نفت طی ۲۴ , ۴۸ساعت

کد تیمار	تیمار	غلظت (ppm)	فعالیت ویژه آنزیم استیل کولین استراز (۲۴ ساعته) (میکرومول در دقیقه بر گرم پروتئین)	فعالیت ویژه آنزیم استیل کولین استراز (۴۸ ساعته) (میکرومول در دقیقه بر گرم پروتئین)
C1-6(24) C1-6(48)	شاهد	-	۰/۰۰۱۲±۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۰۱۲±۰/۰۰۰۰۵
G1-6(24) G1-6(48)	پراکنده ساز گلمن	۰/۱۶۲-۰/۲۵۲-۰/۵۰۴- ۱/۰۰۸-۲/۰۱۶-۴/۳۲۰	۰/۰۰۰۱۲±۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۰۱۲±۰/۰۰۰۰۴
O1-6(24) O1-6(48)	نفت	۱۶۸ -۱۳۴۴-۶۷۲-۳۳۶ ۲۶۸۸-۵۳۷۶	±۰/۰۰۰۰۶ ۰/۰۰۱۲	۰/۰۰۱۲±۰/۰۰۰۰۲

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

OG1-6(24) OG 1-6(48)	پراکنده ساز گلمن+نفت	۱۶۸+۰/۱۶۲- ۵۳۷۷+۰/۲۵۲- ۲۶۸۸+۰/۵۰۴ ۱۳۴۴+۱/۰۰۸- ۶۷۲+۲/۰۱۶-۴+۳۳۶/۳۲۰	۰/۰۰۱۲±۰/۰۰۰۰۹	۰/۰۰۱۲±۰/۰۰۰۰۲
	سطح معنی داری	تیمار غلظت‌ها تیمار*غلظت	p =۰/۶۴۸ p =۰/۹۶۸ p =۰/۶۷۴	p =۰/۷۱۴ p =۰/۹۴۱ p =۰/۹۱۰

فعالیت ویژه آنزیم استیل کولین استراز در بارناکل در برابر نفت و پراکنده‌ساز اسلیک‌گان

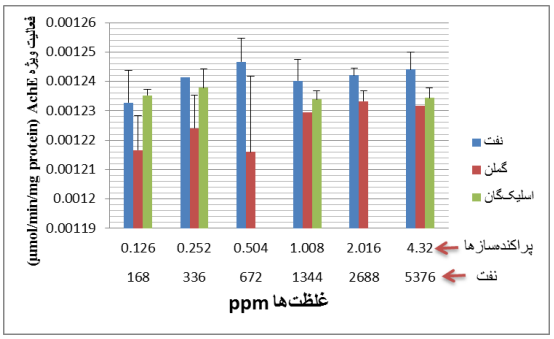
فعالیت ویژه آنزیم استیل‌کولین‌استراز در بارناکل‌ها در معرض چهار تیمار شامل شاهد، نفت، پراکنده‌ساز اسلیک‌گان و ترکیب نفت به همراه پراکنده‌ساز در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت اندازه‌گیری شد. مقادیر فعالیت آنزیمی در تیمارهای مختلف در جدول ۴ ارائه شده است. بررسی میانگین‌ها نشان داد که مقادیر فعالیت استیل کولین استرازدر تمامی تیمارها در محدوده‌ای نزدیک به گروه شاهد قرار داشت و الگوی مشخصی از تغییر وابسته به نوع تیمار یا غلظت مشاهده نشد. نتایج نشان داد که در بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ در بین سطوح فعالیت ویژه آنزیم استیل کولین استراز با غلظت‌ها و فاکتورهای موجود اختلاف معنی‌دار آنزیمی مشاهده نشد ،طی ۲۴ ساعت p=۱ و طی ۴۸ ساعت p=۰/۷۲۷ به دست آمد. از آنجا که تمامی مقادیر به‌دست‌آمده بزرگ‌تر از سطح معنی‌داری۰/۰۵ بودند، نتایج نشان می‌دهد که نه نوع تیمار، نه سطح غلظت و نه اثر متقابل آن‌ها در هیچ‌یک از بازه‌های زمانی مورد بررسی تأثیر معنی‌داری بر فعالیت ویژه استیل کولین استراز نداشته‌اند. به‌طور کلی، داده‌های این مطالعه نشان می‌دهد که در شرایط آزمایش حاضر، مواجهه کوتاه‌مدت با نفت، پراکنده‌ساز اسلیک‌گان و ترکیب آن‌ها منجر به تغییر آماری معنی‌دار در فعالیت استیل کولین استراز در بارناکل‌ها نشده است. همچنین برخی مطالعات نشان داده‌اند که پاسخ این آنزیم می‌تواند بسته به نوع آلاینده متفاوت باشد و در همه شرایط به‌عنوان یک شاخص یکنواخت تغییر نکند [۲، ۴۹]. بنابر این بعضی از محققین با استیل کولین استرازبه عنوان نشانگر زیستی عمومی موافق نیستند، زیرا فعالیت آنزیم بسته به نوع آلاینده ممکن است که تعدیل شود[۲] .

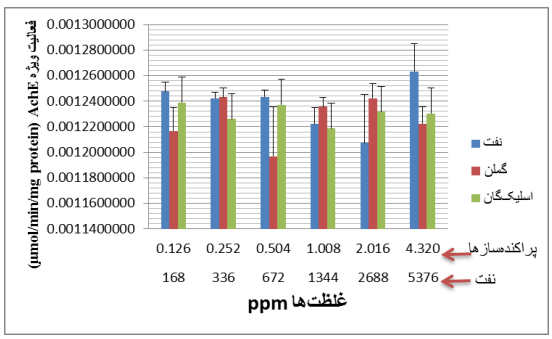
جدول :۴ بررسی آماری میزان تغییرات فعالیت ویژه آنزیم استیل کولین استراز ر بارناکل بین گروه‌های شاهد، پراکنده‌ساز اسلیک‌گان، نفت و پراکنده‌ساز اسلیک‌گان و نفت در طی و ۴۸و۲۴ ساعت

کد تیمار	تیمار	غلظت (ppm)	فعالیت ویژه آنزیم استیل کولین استراز (۲۴ ساعته) (میکرومول در دقیقه بر گرم پروتئین)	فعالیت ویژه آنزیم استیل کولین استراز (۴۸ ساعته) (میکرومول در دقیقه بر گرم پروتئین)

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

C1-6(24) C1-6(48)	شاهد	-	۰/۰۰۰۶ ±۰/۰۰۱۲	۰/۰۰۰۵ ±۰/۰۰۱۲
S1-6(24) S1-6(48)	پراکنده سازاسلیک گان	۰/۱۶۲-۰/۲۵۲-۰/۵۰۴- ۱/۰۰۸-۲/۰۱۶-۴/۳۲۰	۰/۰۰۰۲ ±۰/۰۰۱۲	۰/۰۰۰۱۲±/۰۰۰۰۱
O1-6(24) O1-6(48)	نفت	۱۶۸ -- ۳۳۶-۶۷۲ ۱۳۴۴ ۲۶۸۸-۵۳۷۶	۰/۰۰۰۱۲±/۰۰۰۶	۰/۰۰۰۱۲±/۰۰۰۲
OS1-6(24) OS1-6(48)	پراکنده ساز اسلیک گان+نفت	۱۶۸+۰/۱۶۲- ۵۳۷۷+۰/۲۵۲- ۲۶۸۸+۰/۵۰۴- ۱۳۴۴+۱/۰۰۸- ۶۷۲+۲/۰۱۶- ۴+۳۳۶/۳۲۰	۰/۰۰۰۰۹±/۰۰۱۲	۰/۰۰۰۱۲±/۰۰۰۵
	سطح معنی داری	فاکتورها غلظت‌ها فاکتور*غلظت	p =۰/۹۰۷ p = ۰/۹۲۰ p =۱/۰	p =۰/۷۷۸ p =۰ /۷۷۴ p =۰/۷۲۴





نمودار ۲: فعالیت ویژه آنزیم استیل کولین استراز در بارناکل *Tetraclita rufotincta*، در مواجهه با نفت، پراکنده‌ساز گملن و پراکنده‌ساز اسلیک‌گان. A: ۲۴ ساعت. B: ۴۸ ساعت. (آنتنک‌ها برای نشان دادن خطای استاندارد است).

در نمودار۲ مقایسه‌ای میزان فعالیت ویژه آنزیم استیل کولین استراز بین نفت، پراکنده‌ساز گملن و پراکنده‌ساز اسلیک‌گان طی ۲۴ و ۴۸ ساعت نشان داده شده است. فعالیت آنزیم استیل‌کولین‌استراز در بارناکل (*Tetraclita rufotincta*) طی مواجهه ۲۴ و ۴۸ ساعته با غلظت‌های مختلف پراکنده‌سازهای گملن و اسلیک‌گان هیچ تغییر معناداری نشان نداد($P \geq ۰/۰۵$) .در تیمار گملن، میانگین فعالیت آنزیم پس از ۲۴ ساعت افزایش بسیار خفیفی نسبت به شاهد داشت و در ۴۸ ساعت مقدار آن اندکی کمتر از گروه کنترل بود، اما این تغییرات از نظر آماری قابل اتکا نبودند. در تیمار

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

اسلیک‌گان نیز میانگین فعالیت استیل کولین استراز در هر دو بازه زمانی نسبت به شاهد کمی بالاتر بود، ولی آزمون‌های آماری اختلاف را تأیید نکردند. بررسی کلی الگوهای تغییرات نشان می‌دهد که در واکنش به پراکنده‌سازها روند مشخصی وابسته به غلظت وجود ندارد و هیچ سطحی را نمی‌توان به‌عنوان دوز حساس یا اثرگذار معرفی کرد. علاوه‌براین، فعالیت استیل کولین استراز در مواجهه با نفت خام، نفت همراه با گملن و نفت همراه با اسلیک‌گان نیز طی ۲۴ و ۴۸ ساعت تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد نداشت و نوسانات خفیف میانگین‌ها فاقد ارتباط سیستماتیک با غلظت بودند. در مجموع، نتایج نشان می‌دهد که استیل‌کولین‌استراز در بارناکل تحت شرایط مواجهه کوتاه‌مدت نسبت به ترکیبات نفتی و پراکنده‌سازهای به‌کاررفته پاسخ زیستی قابل استنادی ارائه نمی‌دهد

مرگ و میر بارناکل‌ها

نتایج نشـان داد که مرگ‌ومیر(*Tetraclita rufotincta*) پس از ۴۸ سـاعت مواجهه با نفت خام در غلظت‌های مختلف متفاوت بود و از ۰ تا ۶۰ درصـد تغییر داشـت. بیشـترین مرگ‌ومیر در غلظت ۳۲۶ ppm با ۶۰ درصد مشاهده شد و پس از آن غلظت ۶۷۲ppm با ۵۶/۷ درصد قرار داشت. در مقابل، در غلظت‌های (۱۶۸، ۱۳۴۴، ۲۶۸۸ و ۵۳۷۶) ppm هیچ مرگ‌ومیری ثبت نشد(جدول ۵).

جدول۵:مرگ ومیر *Tetraclita rufotincta* پس از ۴۸ ساعت مواجهه با نفت خام

غلظت(ppm)	تعداد مرده	تعداد زنده	مرگ و میر(٪)
۱۶۸	۰	۳۰	۰.۰٪
۳۲۶	۱۸	۱۲	۶۰٪
۶۷۲	۱۷	۱۳	۵۶.۷٪
۱۳۴۴	۰	۳۰	۰٪
۲۶۸۸	۰	۳۰	۰٪
۵۳۷۶	۰	۳۰	۰٪

$(df = 5)$،$(\chi^2 = 87.00)$ $(n=30)$

آزمون کای‌دو نشـان داد که اختلاف مرگ‌ومیر بین غلظت‌های مختلف معنی‌دار اسـت($p < 0.001$). همچنین مرگ‌ومیر در ۲۴ ساعت در تمام تیمارها صفر بود.

جدول۶:مرگ ومیر *Tetraclita rufotincta* پس از ۴۸ ساعت مواجهه با پراکنده ساز گلمن

غلظت(ppm)	تعداد مرده	تعداد زنده	مرگ و میر(٪)
۰/۱۶۲	۰	۳۰	۰.۰٪

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

۰/۲۵۲	۰	۳۰	۰.۰٪
۰/۵۰۴	۰	۳۰	۰.۰٪
۱/۰۰۸	۱۹	۱۱	٪ ۶۳/۳
۲/۰۱۶	۰	۳۰	۰٪
۴/۳۲۰	۱۹	۱۱	٪ ۶۳/۳

(df = 5)، (n=30) (χ^2 = 78.20)

آزمون کای‌دو نشان داد که اختلاف مرگ‌ومیر بین غلظت‌های مختلف معنی‌دار است ($p < 0.001$). همچنین مرگ‌ومیر در ۲۴ ساعت در تمام تیمارها صفر بود.

نتایج نشان داد که مرگ‌ومیر(*Tetraclita rufotincta*) پس از ۴۸ ساعت مواجهه با پراکنده‌ساز گلمن در غلظت‌های مختلف الگوی ناهمگنی داشت و بین ۰ تا ۶۳.۳ درصد متغیر بود. در غلظت‌های(۱/۰۰۸ و ۴/۳۲۰) ppm بیشترین میزان مرگ‌ومیر با ۶۳/۳ درصد ثبت شد، در حالی‌که در غلظت‌های ۰/۱۶۲، ۰/۲۵۲، ۰/۵۰۴ و ۲/۰۱۶) ppm هیچ مرگ‌ومیری مشاهده نشد(جدول۶).

جدول۷:مرگ ومیر *Tetraclita rufotincta* پس از ۴۸ ساعت مواجهه با پراکنده ساز اسلیک گان

غلظت(ppm)	تعداد مرده	تعداد زنده	مرگ و میر(٪)
۰/۱۶۲	۶	۲۴	۲۰٪
۰/۲۵۲	۱۰	۲۰	٪ ۳۳/۳
۰/۵۰۴	۲۰	۱۰	٪ ۶۶/۷
۱/۰۰۸	۰	۳۰	۰٪
۲/۰۱۶	۲۰	۱۰	٪ ۶۶/۷
۴/۳۲۰	۶	۲۴	۲۰٪

(df = 5) (χ^2 = 92.45) (n=30)

آزمون کای‌دو نشان داد که اختلاف مرگ‌ومیر بین غلظت‌های مختلف معنی‌دار است ($p < 0.001$). همچنین مرگ‌ومیر در ۲۴ ساعت در تمام تیمارها صفر بود.

نتایج نشان داد که مرگ‌ومیر (*Tetraclita rufotincta*)پس از ۴۸ ساعت مواجهه با پراکنده‌ساز اسلیک‌گان در غلظت‌های مختلف متفاوت بود و بین ۰ تا ۶۶.۷ درصد تغییر داشت. بیشترین میزان مرگ‌ومیر در غلظت‌های(۰/۵۰۴و ۲/۰۱۶) ppmبا ۶۶/۷ درصد مشاهده شد، در حالی‌که در غلظت ۱/۰۰۸ppm هیچ مرگ‌ومیری ثبت نشد.

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

در غلظت‌های(۰/۱۶۲ و ۴/۳۲۰)ppm نیز مرگ‌ومیر برابر با ۲۰ درصد و در غلظت ۰/۲۵۲ ppm برابر با ۳۳/۳ درصد بود (جدول ۷).

جدول۸:مرگ ومیر *Tetraclita rufotincta* پس از ۴۸ ساعت مواجهه با نفت و پراکنده ساز اسلیک گان

غلظت(ppm)	تعداد مرده	تعداد زنده	مرگ و میر(٪)
۱۶۸+۰/۱۶۲	۱۸	۱۲	۶۰٪
۳۳۶+۰/۲۵۲	۷	۲۳	۲۳/۳٪
۰/۵۰۴ +۶۷۲	۰	۳۰	۰٪
+۱۳۴۴ ۱/۰۰۸	۱۴	۱۶	۴۶/۷٪
۲۶۸۸ ۲/۰۱۶+	۰	۳۰	۰٪
+۵۳۷۶ ۴/۳۲۰	۰	۳۰	۰٪

$(df = 5)$ $(\chi^2 = 61.94)$ $(n=30)$

آزمون کای‌دو نشان داد که اختلاف مرگ‌ومیر بین غلظت‌های مختلف معنی‌دار است $(p < 0.001)$.

همچنین نتایج نشـــان داد که مرگ‌ومیر (*Tetraclita rufotincta*) پس از ۴۸ ساعت مواجهه با ترکیب نفت و پراکنده‌ساز اسلیک‌گان در غلظت‌های مختلف متفاوت بود و از ۰ تا ۶۰ درصد تغییر داشت. بیشترین مرگ‌ومیر در غلظت(۱۶۸+۰/۱۶۲)ppm با ۶۰ درصـد مشـاهده شـــد، در حالی‌که در غلظت‌های(۶۷۲+ ۰/۵۰۴، ۲۶۸۸+ ۲/۰۱۶ ، ۵۳۷۶+ ۴/۳۲۰) هیچ مرگ‌ومیری ثبت نشـدین مرگ‌ومیر در ۲۴ سـاعت در تمام تیمارها صـفر بود (جدول ۸).

جدول۹:مرگ ومیر *Tetraclita rufotincta* پس از ۴۸ ساعت مواجهه با نفت و پراکنده ساز گلمن

غلظت(ppm)	تعداد مرده	تعداد زنده	مرگ و میر(٪)
۱۶۸+۰/۱۶۲	۱۸	۱۲	۶۰٪
۳۳۶+۰/۲۵۲	۷	۲۳	٪ ۲۳/۳
۰/۵۰۴ +۶۷۲	۰	۳۰	۰٪
۱/۰۰۸/+۱۳۴۴	۱۴	۱۶	٪ ۴۶/۷
۲۶۸۸ ۲/۰۱۶+	۰	۳۰	۰٪

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

+۵۳۷۶ ۴/۳۲۰	۰	۳۰	۰٪

(n=30) ($\chi^2 = 61.98$) (df = 5)

آزمون کای‌دو نشـان داد که اختلاف مرگ‌ومیر بین غلظت‌های مختلف معنی‌دار اسـت ($p < 0.001$) .همچنین مرگ‌ومیر در ۲۴ سـاعت در تمام تیمارها صفر بود.

بررسی مرگ‌ومیر (*Tetraclita rufotincta*) پس از ۴۸ ساعت مواجهه با ترکیب نفت و پراکنده‌ساز گلمن نشان داد که درصد تلفات در غلظت‌های مختلف الگوی یکنواختی نداشت و بین ۰ تا ۶۰ درصد متغیر بود. بیشترین مرگ‌ومیر در غلظت(۱۶۸+۰/۱۶۲)ppm با ۶۰ درصد و کمترین میزان در غلظت‌های(۶۷۲+ ۲۶۸۸،۰/۵۰۴ +۵۳۷۶،۲/۰۱۶+ ۴/۳۲۰) ppm مشاهده شد که همگی بدون تلفات بودند(جدول ۹). بارناکل‌ها به دلیل زیست چسبیده، پراکنش وسیع و توانایی انباشت آلاینده‌ها در بافت بدن، به‌عنوان شاخص‌های زیستی مؤثر در پایش وضعیت آلودگی‌های ساحلی شناخته می‌شوند. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که گونه‌های گوناگون بارناکل می‌توانند الگوهای مکانی آلودگی‌های نفتی، فلزات کمیاب و ترکیبات آلی را منعکس کنند [۵۱،۵۳،۲۷،۲۵] . این ویژگی‌ها، استفاده از بارناکل‌ها را در ارزیابی اثرات زیستی آلاینده‌ها در اکوسیستم‌های بین‌جزرومدی توجیه‌پذیر و کارآمد می‌سازد.در خلیج فارس نیز بررسی‌های متعددی به‌منظور ارزیابی وضعیت آلودگی با استفاده از شاخص‌های بیوشیمیایی در بارناکل‌ها انجام شده است. برای نمونه، Emtyazjoo و همکاران (۲۰۰۹) ارتباطی میان فعالیت آنزیم SOD و غلظت PAHs در (*Balanus amphitrite*)گزارش کرده‌اند، در حالی که چنین الگویی برای CAT مشاهده نشده است. مطالعه دیگری بر روی(*Tetraclita rufotincta*)نشان داد که فعالیت CAT پس از مواجهه با نفت خام دچار تغییراتی می‌شود[۱۶،۱۷] .در دیگر پژوهش‌ها نیز رابطه‌هایی میان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و غلظت فلزات سنگین مطرح شده است، اما این رابطه‌ها همواره در همه شرایط محیطی یا دوره‌های مواجهه پایدار نبوده‌اند [۳،۱۹،۱۴] . این مجموعه یافته‌ها بیانگر آن است که واکنش‌های بیوشیمیایی در بارناکل‌ها می‌توانند تحت تأثیر نوع آلاینده، شرایط محیطی و زمان مواجهه متغیر باشند.

در مطالعه حاضر، فعالیت آنزیم استیل‌کولین‌استراز طی مواجهه حاد با نفت خام، پراکنه‌ساز و ترکیب آن‌ها تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نشان نداد. استیل کولین استراز اغلب به‌عنوان شاخصی مرتبط با اثرات نوروتوکسیسیتی مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما پاسخ آن در موجودات دریایی می‌تواند بسته به ماهیت آلاینده و شدت و مدت مواجهه متفاوت باشد. یافته‌های مشابهی در بی‌مهرگان دریایی گزارش شده است؛ به‌گونه‌ای که در برخی پژوهش‌ها، استیل کولین استراز در زمان‌های کوتاه مواجهه با آلاینده‌های نفتی واکنش قابل توجهی نشان نداده است [۵۲،۳۵،۲۲] . بنابراین می‌توان گفت که فعالیت استیل کولین استراز در(*Tetraclita rufotincta*) تحت شرایط مواجهه کوتاه‌مدت ممکن است حساسیت کافی برای آشکارسازی تغییرات ناشی از

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

آلاینده‌های مرتبط با نفت را نداشته باشد.از سوی دیگر، نتایج مرگ‌ومیر نشان داد که اگرچه تفاوت‌هایی میان تیمارها مشاهده شد، اما الگوی وابسته به غلظت طی دوره ۴۸ ساعته مشخص نبود. چنین الگوهایی پیش‌تر نیز در مطالعات سمیت حاد با آلاینده‌های نفتی برای برخی بی‌مهرگان دریایی گزارش شده است [۵۳،۳۴،۲۲]. این موضوع می‌تواند ناشی از پیچیدگی ترکیبات نفت خام، تأثیرات هم‌افزایی یا تخریبی میان اجزای مخلوط، ویژگی‌های فیزیولوژیک گونه و نیز محدودیت‌های بازه زمانی آزمایش باشد.به‌طور کلی، الگوهای مشاهده‌شده در این پژوهش نشان می‌دهد که(*Tetraclita rufotincta*)در دوره کوتاه‌مدت مواجهه با نفت خام و پراکنه‌ساز، واکنش‌های بیوشیمیایی و سمیت حاد با حساسیت بالا بروز نداد. این مسئله اهمیت توجه به چندین شاخص زیستی در کنار بررسی دوره‌های طولانی‌تر مواجهه را نشان می‌دهد، زیرا اتکا به یک بیومارکر منفرد ممکن است برای ارزیابی دقیق اثرات زیستی آلاینده‌های نفتی کافی نباشد. استفاده از مجموعه‌ای از شاخص‌های مکمل می‌تواند تصویر جامع‌تری از سازوکارهای پاسخ‌دهی این گونه و دیگر بی‌مهرگان بین‌جزرومدی ارائه دهد.

نتیجه گیری:

این مطالعه اثرات مواجهه کوتاه‌مدت بارناکل(*Tetraclita rufotincta*)با نفت خام، دو پراکنده‌ساز شیمیایی (گملن و اسلیک‌گان) و ترکیب آن‌ها را با تمرکز بر فعالیت استیل کولین استراز و مرگ‌ومیر بررسی کرد. نتایج نشان داد که فعالیت استیل کولین استراز در بازه‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت بین تیمارها اختلاف آماری معنی‌داری نداشت؛ بنابراین، در شرایط این آزمایش و برای پنجره زمانی کوتاهِ ارزیابی‌شده، استیل کولین استراز به‌تنهایی شاخص مناسبی برای تفکیک اثرات این آلاینده‌ها و مواد پاسخ به نشت نفت نبود و تفسیر آن به‌عنوان بیومارکر حاد باید با احتیاط انجام شود. در مقابل، داده‌های مرگ‌ومیر نشان دادند که پاسخ‌ها یکنواخت و کاملاً وابسته به غلظت نیستند. با وجود مشاهده اختلاف کلی مرگ‌ومیر در مواجهه با نفت خام و نیز در ترکیب نفت با اسلیک‌گان، در بسیاری از تیمارها روند غلظتی مشخصی مشاهده نشد؛ امری که بر پیچیدگی پاسخ‌های زیستی این گونه در مواجهه کوتاه‌مدت و احتمال نقش عوامل مداخله‌گر (از جمله نوع ماده، زمان مواجهه، و ناهمگنی پاسخ فردی) دلالت دارد. در مجموع، یافته‌های این پژوهش از تعمیم‌های گسترده درباره اهمیت اکولوژیک یا کارآمدی استیل کولین استراز فراتر از داده‌های تجربی حاضر پشتیبانی نمی‌کند. برای بهبود قدرت استنباط در مطالعات آینده، پیشنهاد می‌شود :بیومارکرهای مکمل (مانند شاخص‌های استرس اکسیداتیو، سم‌زدایی و آسیب غشایی/ژنتیکی) همزمان با استیل کولین استراز به‌کار گرفته شوند، طراحی آزمون‌ها شامل بازه‌های زمانی طولانی‌تر و نقاط نمونه‌برداری متعدد باشد، و چارچوب‌های آماری مناسب برای مدل‌سازی پاسخ‌های غیرخطی و اثرات متقابل به‌ویژه در تیمارهای ترکیبی استفاده شود.

تضاد منافع:

نویسندگان اعلام می کنند که هیچ تضاد منافعی ندارند.

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

فهرست منابع:

1. Aldred N. Nelson A (2019). Microbiome acquisition during larval settlement of the barnacle *Semibalanus blanoides*. Marine biology letters. 15:20180763. https://doi.org/10.1098/rsbl.2018.0763
2. Al-Fanharwi A A. Rabaa A M. Al-Mamoori A M J (2018). Biochemical and molecular alterations in freshwater mollusks as biomarkers for petroleum product, domestic heating oil. 158:69-77.
3. AliAsgari E. Mashinchian Moradi A. Ehteshami F. Jamili Sh. Rabani M (2017). Seasonal variation of glutathions S-transferase and heavy metals pollution (Pb, Cd and Ni) Pinctada radiata. Animal Biology Quarterly .9(3):77-93.
4. Altenburger R. Segner H. Van dar Oost R (2003) . Biomarkers and PAHs prospects for the assessment of exposure and effects in aquatic systems. In: Douben, P.E.T. (Ed.), PAHs: An Ecotoxicological Perspective. Wiley, Chichester, England, pp.147–171.
5. Ansaldo M. Najle R. Luguet C M (2005) . Oxidative stress generated by diesel seawater contamination in the digestive gland of the Antarctic limpet Nacella concinna. Marine Environmental Research,59(4):381-390.
6. Alyomov S V (2021). Seasonal and interannual dynamics of macrozoobenthos communities in Sevastopol bay (the Black sea) at the beginning of the XXI century in areas with different pollution levels. Proceedings of the T.I. Vyazemsky Karadag scientific station - Nature Reserve of the Russian Academy of Sciences, 1(17); 3-16. (In Russ.)
7. Annibaldi A. Truzzi C. Carnevali O. Pignalosa P. Api M. Scarponi G. Illuminati S (2019). Determination of Hg in farmed and wild atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus L.*) muscle. Molecules 2, 24, 1273. [CrossRef] 14.
8. Banni M. Negri A. Dagnino A. Jebali J. Ameur S. Boussetta H (2010) . Acute effects of benzo[a]pyrene on digestive gland enzymatic biomarkers and DNA damage on mussel Mytilus galloprovincialis. Ecotoxicol. Environ. Saf. 73, 842–848.
9. Bebianno M J. Barreira L A (2009). Polycyclic aromatic hydrocarbons concentrations and biomarker responses in the clam Ruditapes decussates transplanted in the Ria Formosa lagoon. Ecotoxicol. Environ. Saf. 72, 1849–1860.
10. Bradford M M (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, Analytical biochemistry 72(1-2):248-254.
11. Boonthai C. Scott R R. Chapman R B (2000). Acetylcholinesterase as a biomarker to assess the effect of chlorpyrifos and atrazine on some New Zealand aquatic invertebrates, Australasian Journal of Ecotoxicology 6(1):59-64.
12. Cammilleri G. Galluzzo P. Pulvirenti A. Giangrosso I E. Lo Dico G M. Montana G. Lampisi N. Mobilia M A. Lastra A. Vazzana M. et al.(2020). Toxic mineral elements in Mytilus galloprovincialis from Sicilian coasts (Southern Italy). Nat. Prod. Res. 2020, 34, 177–182. [CrossRef] [PubMed]
13. Chen B K K. Wong Y H. Robinson N J. Lin J CH. Yu S Y. Dreyer N. Cheng j. Hoeg T J. Zardus J D (2023). Five hundred million years to mobility directed locomotion and its ecological function in a turtle barnacle .The Royal Society Publishing. Proc.R.Soc.B 280.202111620.
14. Dazy M. Masfaraud J F. Ferad F (2008) . Induction of oxidative stress biomarkers

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

associated with heavy metal stress in Fontinalis antipyretica. Chemosphere.75:297-302.
15. Ellman G L. Courtney K D. Andres V. Featherstone R M (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, Biochemical pharmacology 7(2):88-95.
16. Emtyazjoo E. Sadatipour A H T. Shahabi B (2009) .Investigating the possibility of introducing superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) enzymes as biomarkers of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in barnacle (*Balanus Amphitrite*) of Bahregan Persian Gulf region. Iranian Journal of Biological Sciences4(1)41-54.(in persian)
17. Emtyiazjoo M. Soheli L. Zeinali M. Shahabi B. Ghasempour M (2015). Relationship laboratory expousure to crude oil and antioxidant responses of (*Tetraclita rofotincta*) barnacles. Journal of Environmental Science and Technology Quarterly.17(1)63-76.(In Persian)
18. Faimali M. Falugi C. Gallus L. Piazza V. Tagliafierro G (2003). Involvement of acetyl choline in settlement of *Balanus amphitrite*, Biofouling 19 Suppl:213-220.
19. Faslebahar Sh. Emtyazjoo M. Monavari M. Eghtesadi eraghi P. Shahabi B (2009).Superoxide dismutase enzyme as a biomarker of heavy metals (Nickle, Vanadium and Cobalt) in Bahregan area. Iranian Journal Of Biological Sciences,4(2):1-10.(In Persian)
20. Falfushynska H I. Stolyar O B (2009). Responses of biochemical markers in carp Cyprinus carpio from two field sites in Western Ukraine, Ecotoxicology and Environmental Safety 72(3):729-736.
21. Freije A M (2015). Heavy metal, trace element and petroleum hydrocarbon pollution in the Arabian Gulf: Review. Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences, 17, 90-100.
22. Guilhermino L. Lacerda M. Nogueira A. Soares A (2000). In vitro and in vivo inhibition of Daphnia magna acetylcholinesterase by surfactant agents: possible implications for contamination biomonitoring, Science of the total environment 247(2):137-141.
23. Ghassempour Maleki M (2009). Investigation of the effects of oil pollution on antioxidant responses (superoxide dismutase and catalase) in Bahregan barnacles under laboratory conditions. M.Sc. Thesis in Marine Biology (Marine Animals), Islamic Azad University, North Tehran Branch.
24. Hatami E. Sadatipour S H T & Shahabi B (2009). Assessment of total petroleum hydrocarbons in Persian Gulfs water and sediment, Baregan, coastal area. Journal of Marine Science and Technology Resaerch. 4(3):84-93.(In Persian)
25. Jupp B. Fowler S W. Dobretsov S. Wiele H V. Al-Ghafri A (2017). Assessment of heavy metal and petroleum hydrocarbon contamination in the sultanate of Oman with emphasis on harbours marinas, terminals and ports. Mrine Pollution Bulltion,xxx(xxxx)xxx-xxx.
26. Lee K. Nedwed T. Prince R C & Palandro D (2013). Lab tests on the biodegradation of chemically dispersed oil should consider the rapid dilution that occurs at sea. Marine Pollution Bulletin, 73(1), 314-318
27. Lozano-Bilbao E. Gonzalez-Delgado S. Alcazar-Trvino J (2020). Enviromental Science and Pollution Research.1-7. 10.1007/s11356-020-11550-0
28. Latino M V. Fernandez-Gimenez A V (2016).Are mussels always the best bioandicators?comparative study on biochemical responses of three marine invertebrate species to chronic port

DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

pollution. Bull Environ Contam Toxicol. DOI 10.1007/s00128-016-1839-y

29. Lüchmanna K. Mattos J. Siebert M N. Granucci N. Dorringtona T S. Bícego M S. Taniguchi S. Sasaki S T. Daura-Jorgec F G. Bainya AC D (2011). Biochemical biomarkers and hydrocarbons concentrations in the mangrove oyster Crassostrea brasiliana following exposure to diesel fuel water-accommodated fraction. Aquatic Toxilogy,105(3-40:652-660.
30. MOOPAM (1999). Manual of oceanographic observations and pollutant analyses methods (MOOPAM): Regional Organization for the Protection of the Marine Environment.
31. Mortazavi S. Esmailli A S. Riyahi Bakhtiari A R (2005). Determination and ratio vanadium from oil pollution in Pinctada radiata and Saccosterea cucullate in coastal of Hormozgan province. Journal of Natural Resource Iran,58(1):1-14.(In Persian)
32. NRC (National Research Council) (2005). Oil Spill Dispersants: Efficacy and Effects. Washington, DC: The National Academies Press. https://doi.org/10.17226/11283
33. Nikbin N (2009). Assessment of antioxidant enzyme levels in Bahregan barnacles and their relationship with oil pollution. M.Sc. Thesis in Marine Biology, Islamic Azad University, North Tehran Branch.
34. Nunes B (2011). The use of cholinesterase in ecotoxicology. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology.212:29-59.
35. Osse M T (2017) Indicators of Petroleum Product Exposure in Benthic Cold-Water Marine Invertebrates. A thesis submitted to the School of Graduate Studies in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Marine Biology Department of Ocean Sciences Memorial University St. John's, Newfoundland and Labrador, Canada.
36. Pilote M. André C. Turcotte P. Gagné F. Gagnon C (2018) . Metal bioaccumulation and biomarkers of effects in caged mussels exposed in the Athabasca oil sands area. Science of the total Enviroment.610-611,377-390.
37. ROPME (1999). Regional Report of the State of the Marine Environment. Regional Organization for the Protection of the Marine Environment, Kuwait.
38. Ramachandran S D. Hodson P V. Khan C W. Lee K (2004). Oil dispersant increases PAH uptake by_ shexposedto crude oil. Ecotoxicology and Environmental Safety 59 , 300-308.
39. Rahati Jafarabad H (2012). Comparison of acetylcholinesterase activity levels in the bivalve Mytilus lineatus and the dominant species Gammarus following exposure to TBT and the pesticide Diazinon. M.Sc. Thesis in Marine Biology, Islamic Azad University, North Tehran Branch.
40. Ramos A. Antunes S. Gonçalves F. Nunes B (2014). The gooseneck barnacle (*Pollicipes pollicipes*) as a candidate sentinel species for coastal contamination, Archives of environmental contamination and toxicology 66(3):317-326.
41. Rickwood C J. Galloway T S (2004) . Acetylcholinesterase inhibition as a biomarker of adverse effect. A study of Mytilus edulis exposed to the priority pollutant chlorfenvinphos, Aquatic toxicology 67(1):45-56.
42. Roveta C, Annibaldi A. Afghan A. Calcinai B . Di Camillo C G . Gregorin C. Illuminati S. Mantas T P. Truzzi T. Puce S (2021).Biomonitoring of the heavy metals: the unexplored role of marine sessile taxa. Applied sciences, 11(550):1-15. 0. https://doi.org/10.3390/app11020580

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴
DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

43. Reid D J. Macfarlane G R (2003). Potential biomarkers of crude oil exposure in the gastropod mollusc, Austrocochlea poecata: Laboratory and manipulative field studies. Environmental pollution 12. Pp. 147-155
44. Shahdadi A. Sari A. Naderloo R (2014) . A checklist of the barnacles (Crustacea: Cirripedia: Thoracica) of the Persian Gulf and Gulf of Oman with nine new records, Zootaxa 3784:201-223.
45. Souri A. Niyogi S. Najafi A (2019). Distribution, source apportionment, bioavailability and ecological risks of metals in reef sediments and corals of the Persian Gulf (Iran): Khark Island, Chirouyeh, and Hendorabi Island Marine Pollution Bulletin 149 (2019) 110654.
46. Shuratovskaya E. Dorosenko Y (2022) .Complex application of microbiological characteristics in bottom sediments and biochemical parameters of mussel *Mytilitus golloprovincialis* (lam) for assessing the ecological state of marine costal areas. Pollution,8(3): 1038-1048.
47. Shen H. Grist S. Nugegoda D (2020). The PAHs body burdens and biomarkers of wild mussels in Port Philip Bay, Australia and their food safety implications. Environmental Research, 188,109827.
48. Shen H. Kibria G. Wu R S. Morrison P. Nugegoda D (2020). Spatial and temporal variation of trace metal body burdens of live mussels Mytilus galloprovincialis and field validation of the artificial mussels in… .Chemosphere,248,126004.
49. Tim-Tim A. Morgardo F. Moreira S. Rangel R. Nogueira A. Soares A M (2009). Chlinesterase and glutathione S-Transferase activities of three mollusc species from the NW Portuguese coast in relation on the prestige oil spill. Chemosphere ,77(11):1465-1475.
50. US EPA (2015). National Contingency Plan Product Schedule. U.S. Environmental Protection Agency. Washington, DC.
51. Vaezzadeh V. William T M. Kunisue T. Min T N. Zhang G. Pauzi Z M. Amiri A Y. Choy Y F . Lee C L. Weng L C. Wei B. C (2021). Examination of barnacles potential to be used as bioandicators of persistent organic pollution in coastal ecosystem: A Malaysia case study. Chemosphere,263(2021)12872:1-12. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128272
52. Vieira1 M & Nunes B (2021). Cholinesterases of marine fish: characterization and sensitivity towards specific chemicals . Environmental Science and Pollution Research. 28, 48595–48609.
53. Willems D J. Reeves J M. Morrison P D. Trestrail C. Nugegoda D (2019). Trace metal biomonitoring in the east Gippsland Lakes estuary using the barnacle *Amphibalanus variegatus* and *Mytillus edulis*. Enviromental Science and Pollution Research.
54. Wu R S S. Lam P K S & Zhou B S (1997). Effects of two oil dispersants of phototaxis and swimming behaviour of barnacle larvae. Hydrobiologia, 352:9-16.
55. Zanette J. Monservat J M. Bianchini A (2015). Biochemical biomarkers in barnacles *Balanus improvises*: pollution and seasonal effect. Marine Environmental Research.103:74-79.
56. Zolfaghari-Baghbaderani A. Emtyazjoo M. Poursafa P. Mehrabian S. Bijani S. Farkhani D. Mirmoghtadaee P(2012). Effects of three types of oil dispersants on biodegradation of dispersed crude oil in water surrounding two Persian gulf provinces, Journal of environmental and public health:981365(In Persian)
57. Zolkefli N. Ramli N. Mohamad-Zainal N S L. Mustapha N A. Yusoff M Z M. Hassan M A & Toshinari M (2020). Alcaligenaceae and Chromatiaceaeas pollution bacterial bioindicators in palm oil mill effluent (POME) final discharge polluted rivers. Ecological Indicators, 111; 106048.(In Persian)

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۱۲-۳۳۴

DOI :10.22034/jar.2026.8691.2005

Changes in Acetylcholinesterase Activity in the Barnacle (*Tetraclita rufotincta)* as a Biomarker of Crude Oil and Dispersant Pollution in the Bahregan Oil Field

Sareh Alinaghi[1], Mozhgan Emtyazjoo[1], Sahar Jalili[2]*

[1.] Department of Marine Biology, NT.C, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[2-] Department of Fisheries, Arv.C. Islamic Azad University, Abadan, Iran.

*Corresponding Author Email: Sahar.jalili2024@iau.ac.ir

Abstract

The release of petroleum compounds and chemical dispersants into the Persian Gulf can have considerable ecological consequences for this sensitive marine environment. Monitoring the fate and biological effects of these contaminants is therefore essential for assessing ecosystem health. One commonly used biomarker in this context is acetylcholinesterase (AChE) activity, whose inhibition may indicate exposure to environmental pollutants. This study aimed to evaluate changes in AChE activity and mortality rates in the barnacle *Tetraclita rufotincta* following short-term exposure to Behregan crude oil at six concentrations, as well as to the dispersants Gomlen and Slickgone, during 24- and 48-hour exposure periods. The results showed that specific AChE activity in crude-oil treatments did not differ significantly from the control at either exposure duration ($p = 0.5$). Similarly, exposure to Gomlen ($p = 0.9$) and to Slickgone at 24 hours ($p = 1.0$) and 48 hours ($p = 0.727$) did not induce significant changes in enzyme activity. Mortality patterns also showed no clear concentration-dependent trends for crude oil or the dispersants, although the highest mortality occurred in treatments containing Slickgone alone or in combination with oil. Furthermore, extending exposure from 24 to 48 hours increased mortality rates. Overall, the findings indicate that AChE activity in *T. rufotincta* does not exhibit a strong acute response to crude oil or dispersant exposure, suggesting that this biomarker alone may be insufficient for short-term ecological assessment. Integrating complementary biomarkers and longer-term exposure designs may provide a more comprehensive understanding of the ecological impacts of these contaminants.

Key words: Acetyl Choline Esterase (AChE), Biomarker, *Tetraclita rufotincta*, Crude Oil, Dispersant.