

بررسی امکان معرفی آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) به‌عنوان بیومارکر هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs) در بارناکل‌های (*Balanus amphitrite*) منطقه بهرگان - خلیج فارس

مژگان امتیازجو^۱، مجید زینلی^۲، لیدا سلیمی^۳، نیلوفر نیک بین^{۴*}

۱. استادیار بیولوژی دریا، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

۲. استادیار شیمی، پژوهشکده صنعت نفت

۳. استادیار گروه آلودگی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

۴. دانشجوی کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

مکان انجام تحقیق: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال و پژوهشکده صنعت نفت
***مسئول مکاتبات:** نیلوفر نیک بین، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، صندوق پستی: ۱۴۱۷-۱۴۱۵۵، پست الکترونیکی: d-far86@hotmail.com
تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۸/۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۰/۷

چکیده

آلودگی‌های محیط‌های دریایی نه تنها بر حیات موجودات آبی تاثیر می‌گذارد، بلکه تهدیدی جدی برای تمامی حیات موجود در کره زمین به‌شمار می‌آید. خلیج فارس به‌دلیل وجود صنعت پالایش نفت، تولیدات نفتی فراساحلی و بنادر دریایی، در معرض آلودگی نفتی قرار دارد. هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک (PAHs) سمی‌ترین ترکیبات در بین فرآورده‌های نفتی هستند. هیدروکربن‌ها و متابولیت‌هایشان پس از جذب توسط جانداران دریایی، تولید گونه‌های ROS را توسط چند مکانیسم افزایش می‌دهند که خود باعث ایجاد آسیب سلولی از طریق اکسیدکردن پروتئین، پراکسید شدن چربی و صدمه DNA می‌شوند. برای جلوگیری از چنین صدمه‌هایی، آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیرآنزیمی برای حذف و برطرف‌نمودن تحریکات ROS فعال می‌شود و به موجود اجازه می‌دهد که استرس‌های اکسیداسیونی در محیط‌های آلوده را تحمل و بر آن‌ها غلبه کند. همچنین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، نقشی اساسی در هموستازی سلول بازی می‌کنند. هدف از این مطالعه همانا بررسی اثر PAHs در تغییرات آنزیم CAT و SOD، در بافت بارناکل‌ها بود. بدین منظور بارناکل‌ها از ۸ ایستگاه با درجات مختلف آلودگی جمع‌آوری شدند. برای اندازه‌گیری میزان PAHs در بافت بارناکل‌ها از GC.MS استفاده شد. همچنین از کیت سنجش آنزیم cayman برای اندازه‌گیری سطح آنزیم در بافت استفاده شد (superoxidase dismutase assay kit (no.706002) از کیت سنجش آنزیم cayman (catalase assay kit (catalog no. 707002)) برای اندازه‌گیری سطح آنزیم در بافت استفاده شد. پارامترهای محیطی در هر ایستگاه نیز مورد سنجش قرار گرفت. بالاترین میزان غلظت PAHs متعلق به سکوی نفتی سروش (۷۰/۳ ppb) و پایین‌ترین آن متعلق به ایستگاه دیلم (۷/۶ ppb) بود. بیشترین فعالیت ویژه SOD مربوط به سکوی نفتی نروروز قدیم (۵۱۲ U/ml/mg protein) با غلظت PAHs برابر با ۵۹/۱ ppb و پایین‌ترین آن در اسکله بهرگان (۴/۹۵ U/ml/mg protein) با غلظت PAHs برابر با ۱۲/۴ ppb بود. نتایج نشان دادند که همبستگی مثبتی بین SOD و غلظت PAHs کل تجمع یافته در بافت دیده وجود دارد (۰/۳ =) بیشترین فعالیت ویژه کاتالاز در ایستگاه دیلم (۴۱/۹۲ U/ml/mg protein) و پایین‌ترین آن در سکوی نفتی نروروز قدیم (U/ml/mg protein) (۱۱/۹۶) مشاهده شد. فعالیت ویژه کاتالاز در سکوی سروش برابر ۱۸/۷۱ U/ml/mg protein بوده است. نتایج نشان داد که همبستگی معنی‌دار مثبتی بین کاتالاز و غلظت PAHs کل تجمع یافته در بافت وجود ندارد (0.5 =). همچنین، مشخص شد که SOD می‌تواند بیومارکر PAHs در بارناکل‌های منطقه بهرگان محسوب گردد.

واژه‌های کلیدی: هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، بارناکل، خلیج فارس.

مقدمه

اثر فعالیت‌های انسانی بر محیط‌های دریایی از مشکلات همیشگی و روزافزون است. مواد شیمیایی PAHs به‌طور مداوم به آب‌های ساحلی وارد می‌شوند. این آلاینده‌ها توسط موجودات ساکن، جذب‌شده و سرانجام حیات آن‌ها را با خطر رو به رو می‌سازد. تشخیص اثرات زیر حد کشندگی چنین آلاینده‌هایی اغلب با مشکلاتی روبرو است. این مساله منجر به ارائه این نظریه می‌شود که ممکن است تغییرات در پارامترهای مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گونه‌های خاص موجودات زنده حساس، برای شناسایی و توصیف اثر آلاینده‌ها مفید باشد. به موجب این نظریه، مفهوم نشانگرهای زیستی توسعه یافته است (۱۲-۱۰).

معمولاً هنگامی که موجودات در معرض آلاینده‌ها قرار می‌گیرند، شروع به فعالیت‌هایی به منظور متابولیز و تصفیه مستقیم و به حداقل رساندن هر گونه آسیب‌های سلولی ناشی از آلاینده‌ها می‌نمایند. چنین مکانیزم‌های محافظت‌کننده‌ای اغلب شامل تغییرات فعالیت‌های آنزیمی است که می‌تواند به‌عنوان نشانگرهای زیستی در معرض آلاینده قرار گرفتن و یا اثرات ناشی از آن مورد توجه قرار گیرد (۱۳). مطالعات دانشمندان نشان می‌دهد که حضور، وضعیت و تعداد انواع گیاهان یا جانوران آبرزی اطلاعات دقیقی را در باره سلامت یا آلودگی یک محیط آبی خاص فراهم می‌آورد (۱). یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های زیست محیطی، هیدروکربن‌های نفتی، به‌ویژه PAHs است که اثرات زیست محیطی آن به وضوح به اثبات رسیده است. PAHs به دسته‌ای از مواد شیمیایی اطلاق می‌شود که دارای چند حلقه بنزنی به هم متصل شده‌اند. این مواد بر اثر سوخت ناقص مواد آلی و یا پیرولیز (تجزیه حرارتی) آن‌ها به وجود می‌آیند (۵) که به علت پتانسیل بالای سرطان‌زایی و ایجاد جهش‌های ژنی از اهمیت ویژه‌ای در مطالعات زیست محیطی برخوردارند. ترکیبات PAHs به سرعت جذب مواد معلق و موجود در آب دریا می‌شوند و نهایتاً در کف دریا ته‌نشین می‌شوند (۱۳).

تمایل آن‌ها به انحلال در آب، کم بوده و با افزایش وزن مولکولی، انحلال پذیری‌شان کمتر می‌شود. تمایل به جذب با جایگاه‌های فسفولیپیدی را دارند و توسط جانداران، جذب می‌شوند و در بافت چربی تجمع می‌یابند. گونه‌های بازفعال اکسیژن (ROS) در بدن موجودات زنده طی متابولیسم PAHs تولید می‌شوند (۱۴، ۱۲). تولید بیشتر ROS منجر به استرس اکسیداتیو و امکان ایجاد آسیب‌هایی مانند جهش‌زایی، سرطان‌زایی، اکسیدشدن و تخریب پروتئین، تخریب کربوهیدرات‌ها و پراکسیدشدن چربی‌ها می‌گردد (۱۸، ۱۲).

از آن جایی که آسیب‌های اکسایشی می‌توانند تهدیدکننده زندگی باشند، بدن، مکانیزم‌های دفاعی جهت مقابله در مقابل اکسیداسیون به کار گرفته است و کارآمدترین مسیر برای حذف رادیکال‌های سمی نامطلوب، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است (۲۰، ۱۹). تغییرات در فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی چون CAT و SOD به‌طور وسیعی برای بررسی امکان استفاده از آن‌ها به عنوان شاخص زیستی آلودگی ناشی از مواد آلی مورد مطالعه قرار گرفته است (۲۱). سوپراکسید دیسموتاز (SOD) آنزیمی است که تبدیل آنیون سوپراکسید را به اکسیژن مولکولی و پروکسید هیدروژن تسریع کرده و بنابراین، بخشی حیاتی را در مکانیزم سلولی و دفاع آنتی‌اکسیدانی تشکیل می‌دهد.

سه نوع SOD بر طبق محتوای فلزی آن‌ها مشخص شده است: مس/روی سیتوزولی، SOD منگنز میتوکندری و SOD خارج سلولی که خارج سلولی در فضاهای میانی بافت‌ها و همچنین در مایعات خارج سلولی یافت می‌شود (۲۱، ۳، ۲). کاتالاز آنزیمی معمولی است که در سلول‌های موجودات هوازی و موجودات غیرهوازی موجود است (۴). عملکرد آن شامل تجزیه پراکسیژن هیدروژن به آب و اکسیژن است. این آنزیم دارای فعالیت نسبتاً بالایی است. در بدن موجودات زنده هوازی و بی-هوازی اختیاری دیده شده و فقط موجودات بی‌هوازی اختیاری فاقد آن هستند. بالاترین غلظت این آنزیم در کبد و کمترین آن در بافت پیوندی وجود دارد. در درجه اول یک آنزیم درون سلولی است، در

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

مناطق نمونه‌برداری شامل سکوه‌های نفتی نوروز قدیم، نوروز جدید، سروش و بهرگانسر و اسکله‌های دیلم، گناوه و بهرگان و خور ماهی‌گیری در بهرگان بوده است. انتخاب ایستگاه‌ها بر اساس سنجش بار آلودگی و حضور بارناکل‌ها صورت گرفت. مختصات جغرافیایی مناطق نمونه‌برداری در جدول ۱ آورده شده است. بارناکل‌ها با استفاده از قلم و چکش، از بستر، جدا و درون فویل‌های آلومینیومی بسته‌بندی شدند. نمونه‌ها درون یونولیت‌های حاوی یخ، جاسازی و به سرعت (با هلیکوپتر) به منطقه انتقال داده شدند. در آزمایشگاه در دمای منهای ۸۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان شروع آزمایش‌ها نگهداری شدند (۱۱،۲۲). بارناکل‌های جمع‌آوری شده از روی کلید شناسایی *An Updated Classification of the Recent Crustacea* شناسایی گردیدند (۲۳). در هر ایستگاه، از آب دریا جهت سنجش پارامترهای فیزیکوشیمیایی نیز نمونه‌برداری گردید. نمونه‌ها در بطری‌های شیشه‌ای یک و نیم‌لیتری ریخته شدند. این ظروف قبلاً "با اسید نیتریک غلیظ شسته و در آن ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت قرار داده شدند. پس از نمونه‌برداری، شیشه‌ها درون یونولیت-های حاوی یخ قرار داده شدند تا به آزمایشگاه انتقال یابند (۲۴).

پراکسی‌زوم‌ها متمرکز است، میتوکندری‌ها نیز واجد آن هستند (۴،۵،۱۹). تحریک آنزیم‌های آنتی-اکسیدان در پاسخ به تولید اکسی‌رادیکال‌های واسطه که توسط برخی آلاینده‌ها شدت می‌پذیرد، اغلب به عنوان نشانگر زیستی آلودگی‌های آلی در محیط‌های آبی مورد نظر بوده است (۱۷،۲۱). کفزیانی چون بارناکل‌ها اغلب به‌عنوان موجودات مورد استفاده و مفید حساس برای مطالعات آلودگی شیمیایی در محیط‌های آبی مورد توجه قرار گرفته‌اند. این موجودات، ساکن که دارای دامنه تحمل شوری بالایی هستند، فیلترکننده بوده و به فراوانی در خورها که بیشتر انسان‌ها در مجاورت آن واقع شده‌اند، یافت شده و دارای توانایی عمومی برای تجمع‌دادن زیستی آلاینده‌ها هستند (۲۲). خلیج فارس و دریای عمان، در محاصره کشورهای مختلف هستند و از همه مهم-تر در منطقه‌ای با ذخایر عظیم نفتی واقع شده‌اند که موجب آلودگی آب می‌شود به نحوی که موجودات زنده آبی یا بیوسنوز این اکوسیستم و نیز ساکنان این مناطق را مورد تهدید قرار می‌دهند (۶). منطقه بهرگان در حاشیه خلیج فارس، در کنار بندر امام حسن از توابع استان بوشهر در حد فاصل بندر دیلم (۴۰ کیلومتری شمال غربی گناوه و ۲۸ کیلومتری بندر دیلم) واقع شده است. این منطقه دارای کوه‌های کم‌ارتفاع و تپه‌های ساحلی است. چهار میدان نفتی به نام‌های بهرگانسر، هندیجان، سروش و نوروز در این منطقه وجود دارد (۷،۸).

جدول ۱- مختصات جغرافیایی ایستگاه‌های نمونه برداری شده در منطقه بهرگان - خلیج فارس.

شماره ایستگاه	نام	مختصات جغرافیایی
۱	سکوی نوروز جدید	۲۸°۲۹' N ۴۰°
۲	سکوی نوروز قدیم	۲۳°۴۹' E ۴۰°
۳	گناوه	۲۸°۲۹' N ۳۸°
۴	اسکله بهرگان سر	۲۳°۴۹' E ۳۱°
۵	خور ماهی‌گیری	۴۹°۲۹' N ۳۵° E ۵۰ ۱۸' ۱۰"
۶	سکوی سروش	۱۰°۲۹' N ۷/۶۹° ۲۷°۴۹' E ۲۲/۱۵°

۳۰۳' N۱''	دیلم	۷
۹۰۵' E۳''		
۵۶۳۰' N۲۳''	سکوی بهرگان سر	۸
۵۰۴۹' E۵۸''		

شامل یک میلی‌مول EDTA روی یخ هموژنیزه شد. در ۱۰۰۰۰×g برای مدت ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. مواد شناور روی سطح برای سنجش، جمع‌آوری و روی یخ نگهداری شد. سایر مراحل کار دقیقاً منطبق با روش مندرج در راهنمای سنجش آنزیمی کیت Catalase assay kit (catalog no. 707002) انجام گرفت و جذب نهایی در ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا مدل DG380 خوانده شد.

سنجش پارامترهای فیزیکوشیمیایی

سنجش کلراید با روش تیتراسیون نیترات نقره (۲۵) و سنجش نیترات با روش احیا کادمیوم (۲۵) صورت گرفت. سنجش نیتريت با استفاده از معرف سولفونیل‌لیک انجام شد و جذب نهایی در ۵۰۲ nm توسط دستگاه فوتومتر مدل DR 2800 خوانده شد (۲۵). در سنجش فسفات، معرف اسید آسکوربیک به کار برده شد و جذب در ۸۸۰ nm با فوتومتر مدل DR 2800 اندازه‌گیری شد (۲۵). هدایت الکتریکی با دستگاه هدایت سنج، مدل (کد CON-01)، مدل ND/Sension 156 (51975-00) سنجیده شد (۲۵). دمای آب و هوا در حین نمونه‌برداری توسط دماسنج جیوه‌ای اندازه‌گیری و ثبت گردید (۲۵).

تحلیل آماری

برای تحلیل‌های آماری، از بسته نرم‌افزاری SPSS استفاده شد. بررسی معنی‌دار بودن اختلاف بین گروه‌های در معرض آلودگی و شاهد با استفاده از آنالیزهای واریانس یک‌طرفه صورت گرفت (۱۱،۲۲)

نتایج

طی آنالیز نمونه‌های مربوط به بافت بارناکل از نظر وجود هیدروکربن‌های چندحلقه‌ای آروماتیک، مقدار و نوع آنها اندازه‌گیری شد. نتایج مربوط به

سنجش غلظت PAHs تجمع یافته در بافت بارناکل‌ها

به دنبال جمع‌آوری بارناکل‌ها از منطقه و انتقال آن‌ها، نمونه‌ها از حالت یخ‌زدگی بتدریج خارج و آماده استخراج گردیدند. استخراج هیدروکربن‌ها توسط نرمال هگزان و دی‌کلرومتان انجام شد. پس از پاک‌سازی جهت جداسازی نمونه‌ها، هیدروکربن‌های نفتی و بافت از ستون سیلیکاژل و آلومینا استفاده گردید و در نهایت به دستگاه (GC.MS Agillant) داده شد (Single Kuadroploe ۶۸۹۰ مدل GC.MS) (۲۴).

بررسی سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بافت بارناکل‌ها

ابتدا بافت بارناکل از داخل پوسته آهکی آن جدا می‌شد. بافت‌های آماده شده، با بافر نمک سولفات pH= ۷/۴ شستشو داده شدند. هموژنایزر بافت در ۱۰-۵ میلی‌لیتر از بافر HEPES سرد با pH=۷/۲ شامل EGTA mM انجام شد. ۲۱۰ mM مانیتول و ۷۰ میلی‌مول ساکروز نیز برای هر گرم بافت استفاده گردید. سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۵۰۰ x g صورت گرفت. سایر مراحل کار دقیقاً منطبق با روش مندرج در راهنمای سنجش آنزیمی کیت super oxide dismutase assay kit (catalog no. 706002) انجام گرفت و جذب نهایی در ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا مدل DG380 خوانده شد (۱۴،۱۵).

بررسی سطح آنزیم کاتالاز در بافت بارناکل‌ها

ابتدا بافت از پوسته آهکی خارج شد. پیش از تشریح، بافت با یک محلول نمک بافر شده فسفات با pH= ۷/۴ شستشو داده شد تا سلول‌های خونی قرمز و لخته‌های خون از بین بروند. به‌وسیله ۱۰-۵ میلی-لیتر از بافر سرد ۵۰ mM فسفات پتاسیم، pH=۷

آزمون one-sample KOLMOGROV-SMIRNOV در مورد تمامی داده‌ها انجام شد و نتیجه نشان داد که داده‌ها همگی نرمال هستند و می‌توان از آزمون پارامتریک پیرسون جهت بررسی میزان همبستگی داده‌ها استفاده کرد. محاسبه نتایج به این شکل بود که sig اگر کوچک‌تر از ۰/۰۵ بود، پذیرفته می‌شد که همبستگی معنی‌داری بین عوامل وجود دارد و اگر بزرگ‌تر از ۰/۰۵ بود پذیرفته می‌شد که بین دو متغیر با اطمینان ۹۵ درصد همبستگی معنی‌داری وجود ندارد.

غلظت PAHs اندازه‌گیری شده در بافت بارناکل‌ها در جدول ۲ آورده شده است. همچنین نتایج مربوط به سنجش فعالیت و فعالیت ویژه CAT و SOD در بافت بارناکل‌ها در جدول ۳ آورده شده است. نتایج مربوط به سنجش پارامترهای محیطی، شامل هدایت الکتریکی، کلراید، نیتريت، نترات، فسفات و دمای آب و هوا در جدول ۴ ارائه شده است.

تحلیل آماری نتایج

جدول ۲- غلظت هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای موجود در بافت بارناکل‌های منطقه بهرگان - خلیج فارس بر

حسب PAHS

ماهگیری	اسکله بهرگان	گناوه	دیلیم (شاهد)*	نوروز قدیم	نوروز جدید	سروش	سکوی بهرگان	
۳/۱/۲	۴	۲/۷	۰/۱۶	۴۶/۴	۳/۱۶	۵۳/۱۶	۳/۱۶	Naphthalene(N)
۱/۱۸	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۲/۱۶	۰/۳	۲/۱۸	۰/۳	1-Methyle Naphthalene
۰/۱۸	۱/۱۸	۰/۳	۰/۳	۱/۲	۵/۱۶	۱/۳	۲	1-Ethyl Naphthalene
۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	Acenaphthylene (Acl)
۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	Acenaphthene (Acl)
۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۴	۰/۳	Fluorene(F)
۰/۱۹	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۱/۵	۰/۳	۱/۵	۰/۳	Phenanthrene(P)
۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۱۸	۳/۱۲	۴	۰/۳	Methyle Phenanthrene
۰/۱۶	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۱	۰/۳	۱	۰/۳	Anthracene(An)
۰/۱۵	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۱۴	۰/۳	۰/۱۸	۰/۳	Fluoranthene(FI)
۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	Pyrene(Py)
۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	Benzo [a] Anthracene(BaA)
۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	Chrysene(C)
۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	Benzo [b] Fluoranthene (BbF)
۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	Benzo [k] Fluoranthene (BkF)
۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	Benzo [a] Pyrene(BaP)
۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	Indeno [1.2.3-cd] Pyrene(ID)
۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	Dibenzo [a.h] Anthracene(DA)
۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	Benzo [ghi] Perylene(BgP)
۴/۱/۳	۱۲/۴	۹/۷	۷/۱۶	۵۹/۱	۱۸/۱۸	۷۰/۳	۱۲/۳	کل PAH

جدول ۳- مقدار فعالیت و فعالیت ویژه آنزیم های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز دریافت بارناکل های منطقه بهرگان- خلیج فارس

نام ایستگاه	فعالیت ویژه SOD (U/ml/mg protein)	فعالیت ویژه CAT (U/ml/mg protein)	فعالیت SOD (U/ml)	فعالیت CAT (U/ml)
سکوی بهرگان	۱۱۵/۷	۳۱/۹۳	۱۹۹	۵۴/۹۱
سروش	۱۹۰	۱۸/۷۱	۴۵۵/۸۴	۴۴/۶۵
نوروز جدید	۱۱۷	۱۲/۲۴	۲۵۹/۲۶	۲۷/۰۱
نوروز قدیم	۵۱۲	۱۱/۹۶	۹۹۲/۲۹۰	۲۳/۱۹
دیلم	۴۲۷	۴۱/۹۲	۲۴۹	۲۴/۴۴
گناوه	۲۰۴/۵	۲۶/۸۸	۲۷۱/۵	۳۵/۶۷
اسکله بهرگان	۴/۹۵	۲۱/۹۰	۵/۱۹۸	۲۳/۰۰
خورماهیگیری	۷۹	۳۳/۴۷	۱۱۷	۵۱/۵۵

جدول ۴- پارامترهای فیزیکی شیمیایی آب در منطقه بهرگان - خلیج فارس.

نام ایستگاه	فعالیت ویژه SOD (U/ml/mg protein)	فعالیت ویژه CAT (U/ml/mg protein)	فعالیت SOD (U/ml)	فعالیت CAT (U/ml)
سکوی بهرگان	۱۱۵/۷	۳۱/۹۳	۱۹۹	۵۴/۹۱
سروش	۱۹۰	۱۸/۷۱	۴۵۵/۸۴	۴۴/۶۵
نوروز جدید	۱۱۷	۱۲/۲۴	۲۵۹/۲۶	۲۷/۰۱
نوروز قدیم	۵۱۲	۱۱/۹۶	۹۹۲/۲۹۰	۲۳/۱۹
دیلم	۴۲۷	۴۱/۹۲	۲۴۹	۲۴/۴۴
گناوه	۲۰۴/۵	۲۶/۸۸	۲۷۱/۵	۳۵/۶۷
اسکله بهرگان	۴/۹۵	۲۱/۹۰	۵/۱۹۸	۲۳/۰۰
خورماهیگیری	۷۹	۳۳/۴۷	۱۱۷	۵۱/۵۵

ایستگاه وجود دارد. در مورد Fluorene (۰.۹۰۴) و Anthracene (Sig=۰.۳۶۷) و (P>۰/۰۵) و Sig=۰/۰۵، اختلاف معنی داری بین میزان به دام افتادن این ترکیبات دریافت بارناکل های جمع آوری شده ۸ ایستگاه، مشاهده نشد. در سایر موارد، مقدار، PAHs در بافت بارناکل در کلیه ایستگاه ها برابر بوده است. در مورد PAHs کل به لحاظ این که sig=0 و

نتایج آماری نشان داد که از بین PAHs ، نفتالین (sig=0 و P<۰/۰۵)، ۱- متیل نفتالین (sig=0 و P<۰/۰۵) و اتیلن نفتالین (sig=0 و P<۰/۰۵)، فنانترون (۰.۲۷) / Sig=۰/۰۵ و P<۰/۰۵، متیل فنانترون (sig=0 و P<۰/۰۵) و فلورانتن (sig=0 و P<۰/۰۵) اختلاف معنی داری بین میزان به دام افتادن این ترکیبات دریافت بارناکل های جمع آوری شده ۸

دریافت بارناکل‌های جمع آوری شده در ۸ ایستگاه وجود دارد (جدول ۵).

می‌توان اظهار داشت که اختلاف معنی‌داری بین میزان به دام افتادن PAHs کل

جدول ۵- بررسی معنی‌دار بودن تفاوت بین غلظت بافتی PAHs در ایستگاه‌های ۸ گانه در بررسی آماری با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه.

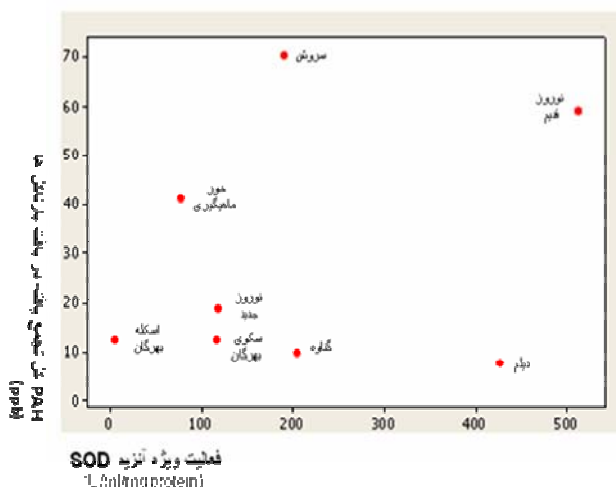
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12755.696	7	1822.242	1822.242	.000
Within Groups	16.000	16	1.000	42	
Total	12771.696	23			

مقدار PAHs کل در بافت و سطح فعالیت ویژه سوپراکسید دیسموتاز ملاحظه شد که ضریب همبستگی برابر با ۰/۳ است؛ یعنی این دو همبستگی مثبت دارند (نمودار ۱).

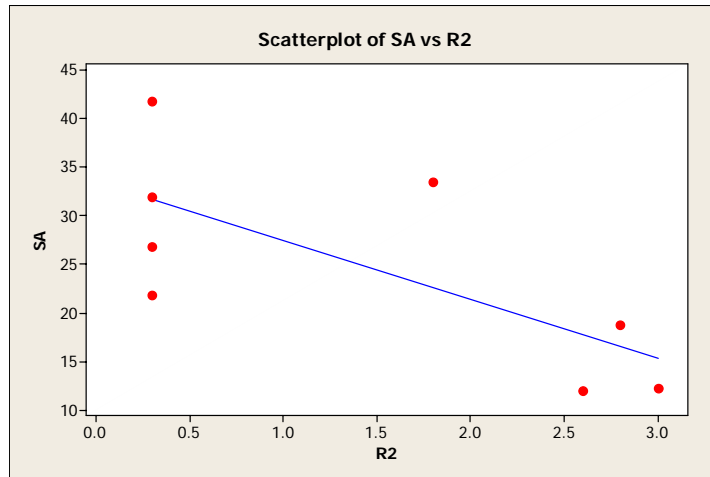
در خصوص همبستگی بین فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز و ۱۹ ترکیب PAH سنجش شده نیز فقط در یک مورد بین ۱- متیل نفتالین همبستگی معنی‌داری به دست آمد. مدل رگرسیون در این خصوص $R = 0.6 - 0.33 SA$ است. ملاحظه می‌شود که با افزایش ۱ واحد ۱- متیل نفتالین، فعالیت ویژه کاتالاز معادل ۰/۶ واحد کاهش می‌یابد. همچنین بر اساس سطح معنی‌داری ۰/۰۴۷ در جدول بالا، نتیجه می‌گیریم که مدل ارائه داده شده، الگوی مناسبی برای بررسی ارتباط بین این دو متغیر است (نمودار ۲).

بررسی معنی‌دار بودن تفاوت بین سطح فعالیت ویژه سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در ۸ ایستگاه نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین سطح فعالیت ویژه این آنزیم‌ها در ایستگاه‌های ۸ گانه وجود دارد ($P < 0.05$ و $sig = 0$). تفاوت معنی‌داری بین فعالیت آنزیم‌ها در بین ایستگاه‌های ۸ گانه دیده شد.

در خصوص همبستگی بین فعالیت ویژه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و ۱۹ ترکیب PAH سنجش شده، با افزایش یک واحد نفتالین، فعالیت ویژه آنزیم معادل ۲/۳۴ ، ۱- متیل نفتالین مقدار ۲۰/۹ ، فنانترن مقدار ۱۲۸ افزایش می‌یابد. با افزایش یک واحد اتیل نفتالین مقدار ۳۴/۸، فلورین ۱۸۲، متیل فنانترن مقدار ۱۰/۲، آنتراسن مقدار ۲۳۲، فلورانترن مقدار ۱۵ واحد کاهش می‌یابد. همان گونه که مشاهده می‌شود هیچ یک از موارد مذکور در دامنه معنی‌داری وجود ندارد. در بررسی همبستگی بین



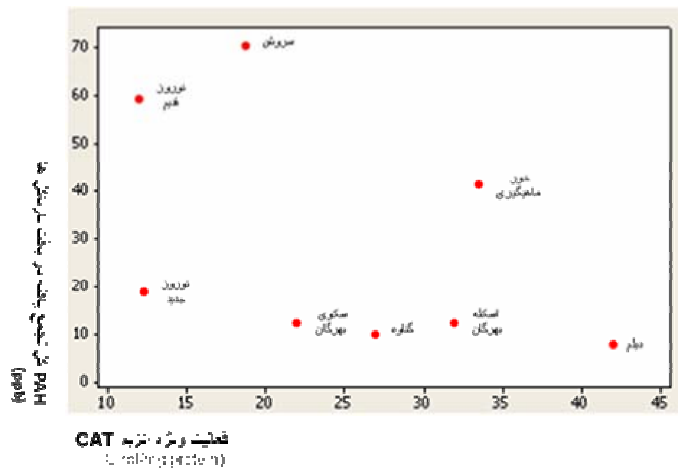
نمودار ۱- همبستگی بین فعالیت ویژه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و میزان کل هیدروکربن‌های پلی آروماتیک در بارناکل بهرگان- خلیج فارس



نمودار ۲- همبستگی بین فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز و ۱- متیل نفتالین در بارناکل بهرگان - خلیج فارس

افزایش می‌یابد. همان گونه که مشاهده می‌شود هیچ یک از موارد مذکور در دامنه معنی‌داری قرار ندارند. در بررسی همبستگی بین مقدار PAHs کل در بافت و سطح فعالیت ویژه کاتالاز، هیچ ارتباط معنی‌داری دیده نشد. مقدار محاسبه شده برابر ۰/۵- بود (نمودار ۳).

در خصوص سایر ترکیبات، با افزایش ۱ واحد نفتالین، فعالیت ویژه کاتالاز معادل ۰/۱۹۹ ، ۱- اتیل فنانتین مقدار ۳/۵۶ ، فلورین مقدار ۷۰ ، فنانتین مقدار ۸/۳۹ ، متیل فنانتین مقدار ۴/۱۱ ، فلورانترین مقدار ۱۲/۱ کاهش می‌یابد. با افزایش ۱ واحد آنتراسن، فعالیت ویژه کاتالاز معادل ۱۵/۲ واحد



نمودار ۳- همبستگی بین فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز و میزان کل هیدروکربن‌های پلی آروماتیک در بارناکل بهرگان - خلیج فارس

الکتریکی ۲/۷۵ ، نیتريت ۴/۱۸ ، نیترات ۸/۶۱ ، فسفات ۷/۹۱ ، دمای آب ۵/۹۲ است. بنابراین، بین پارامترهای محیطی سنجش شده و فعالیت ویژه این آنزیم ها همبستگی معنی‌داری مشاهده نگردید.

ضریب همبستگی بین فعالیت ویژه سوپراکسید دیسموتاز و کلراید ۲/۰۹ ، هدایت الکتریکی ۵/۰۹ ، نیتريت ۴/۱۲ ، نیترات ۱/۷۳ ، فسفات ۵/۸۱ ، دمای آب ۹/۷۲ است. ضریب همبستگی بین فعالیت ویژه کاتالاز و کلراید ۳/۹۴ ، هدایت

بحث

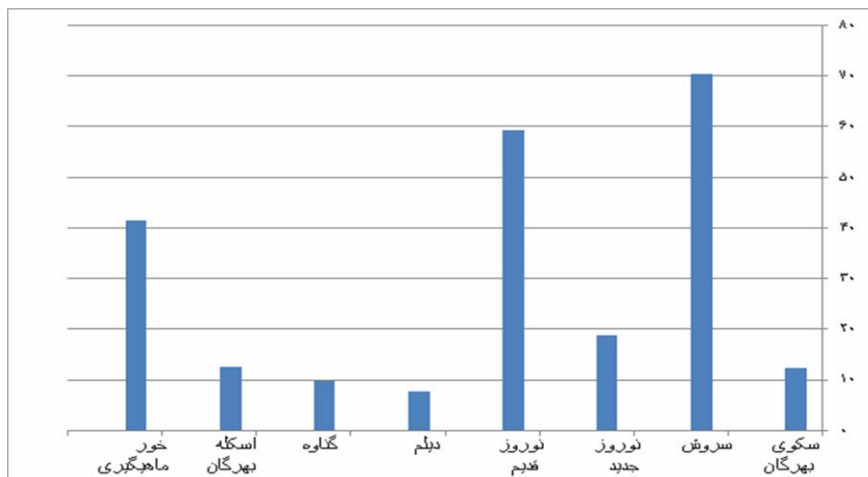
شده از ایستگاه‌های مختلف، باید اشاره کرد که PAH های سبک تر (با وزن مولکولی کمتر) از تراکم بافتی بیشتری برخوردار بودند. در مطالعه حاضر، حجم PAHs سبک تر نفتالین و ۱- متیل نفتالین و ۱- اتیل نفتالین در بافت، نسبت به سایر انواع PAHs، در تمامی ایستگاه‌ها بالاتر بوده است. هرچه وزن مولکولی کمتر باشد، قابلیت انحلال در آب نیز بیشتر می‌شود، در نتیجه، قابلیت دسترسی زیستی بیشتر می‌شود. همچنین ورود و جذب این مواد به بدن موجود زنده و تجمعش در آن نیز بیشتر می‌شود. ترکیبات سنگین‌تر، بیشتر و سریع‌تر رسوب می‌کنند (۱،۹). از سایر عوامل موثر در نوع و میزان PAHs تراکم یافته در بافت بارناکل‌های جمع‌آوری شده از سایر ایستگاه‌ها می‌توان به این موارد اشاره نمود: (۱) منطقه‌ای که نمونه‌ها از آن جمع شدند؛ (۲) منبع آلاینده؛ (۳) فاصله منطقه نمونه‌برداری شده از منبع آلاینده؛ (۴) نوع آلاینده‌های موجود در محیط و قابلیت حل‌الیت و یا سرعت تجزیه‌پذیری در آب یا بافت. این عوامل، توسط سایر محققین نیز به عنوان عوامل موثر بیان شده‌اند (۱۲،۱۳،۲۶) Orbea و همکارانش در سال ۲۰۰۷ روی دو گونه از ماسل‌ها و اویسترها مطالعه کردند (۲۱).

Luce-Abbott در ۲۰۰۵ مطالعه‌ای بر روی *Perna viridis* و *Ruditapes philippinarum* انجام دادند (۲). Barreira و Bebianno در ۲۰۰۹، بر روی *Ruditapes decussates* مطالعه‌ای را انجام دادند (۲۷).

در تمامی موارد مذکور، غلظت بافتی PAHs سبک‌تر، در مقایسه با غلظت بافتی PAHs سنگین‌تر، بالاتر بوده است. نتایج گزارش شده توسط این محققین، با نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر مشابهت دارد.

تحلیل مقدار PAHs در بافت بارناکل‌ها: میزان

غلظت PAHs تراکم یافته در بافت بارناکل‌ها در ایستگاه‌های مختلف، در نمودار ۴ آورده شده است. سکوی نفتی سروش به دلیل فعالیت زیاد و حجم بالای تولید و استخراج نفت، از بالاترین سطح آلودگی برخوردار است. سکوی نفتی نوروز قدیم نیز با وجود آسیب دیدگی شدید در زمان جنگ، هنوز فعال است. غلظت PAHs کل تجمع یافته در بافت بارناکل‌های جمع‌آوری شده از سکوی نفتی نوروز قدیم نیز زیاد بوده است (به دلیل فعال بودن و همچنین آسیب دیدگی در زمان جنگ). این ایستگاه بعد از سروش، آلوده‌ترین منطقه است. سکوی نوروز جدید، هم که از سکوهایی فعال منطقه است، در فاصله کمی از سکوی نوروز قدیم واقع شده است (۱۰ کیلومتری). ایستگاه خور ماهی‌گیری، علاوه به نزدیک بودنش به مرکز مسکونی، در معرض رفت و آمد لنج‌های صیادی است. نزدیکی این ایستگاه به منطقه عملیات خشکی بهرگان، حضور تاسیسات ساحلی، مراکز صنعتی و مانند آن و فاضلاب‌های صنعتی و شهری از عوامل منابع آلودگی این منطقه-اند. در نتیجه، میزان غلظت PAHs کل تجمع یافته در بافت بارناکل‌های جمع‌آوری شده از این منطقه نیز بالاست. اسکله بهرگان تقریباً، دارای سطح آلودگی متوسطی است. علاوه بر تردد کشتی‌ها، نزدیکی آن به منطقه عملیاتی خشکی بهرگان، از عوامل ایجاد آلودگی در این ناحیه است. سکوی نفتی بهرگان سر به دلیل عدم فعالیت زیاد، دارای آلودگی کمتری است. مناطق ساحلی دیلم و گناوه به دلیل دور بودنشان از منابع اصلی آلاینده (منطقه عملیاتی بهرگان سر و سکوهایی نفتی) دارای آلودگی نفتی کمتری هستند (جدول ۲ و نمودار ۴). در مورد انواع PAHs تجمع یافته در بافت بارناکل‌های جمع‌آوری



نام ایستگاه

نمودار ۴- میزان غلظت PAHs تراکم یافته در بافت بارناکل ها در ایستگاه های مختلف.

که بعضاً اثر منفی بر سیستم دفاعی می گذارند. در چنین مواقعی، فعالیت آنتی اکسیدان ها می تواند روند کاهشی یابد (۲۲،۳۰). در مطالعه حاضر نیز میزان آلودگی در سرروش، بیشتر از تمامی ایستگاه ها بود. بارناکل های این منطقه، به طور مداوم در معرض حجم بالایی از آلاینده ها قرار دارند. مطلب بیان شده خود دلیلی بر پایین بودن فعالیت SOD در این ایستگاه و در مقایسه با برخی ایستگاه ها است که دارای آلودگی پایین تر، اما سطح فعالیت آنزیمی بیشتری هستند. فعالیت ویژه SOD در خور ماهی-گیری بسیار پایین است. با توجه به حجم بالای آلودگی در این منطقه، حضور حجم زیادی از انواع آلاینده ها و اثر منفی آنها بر آنزیم SOD، نوع آلاینده های موجود در منطقه و مدت زمان در معرض قرارگیری، از عوامل موثر در نتیجه به دست آمده اند. غلظت PAHs کل تراکم یافته در بافت بارناکل ها در ایستگاه سکوی بهرگان و اسکله بهرگان نسبتاً پایین است. سطح فعالیت آنزیمی کمتری نیز در این ایستگاه ها مشاهده شد. از جمله مطالعاتی که نتایج آنها با نتایج تحقیق حاضر مشابهت داشته و طی آن سطح فعالیت SOD افزایش یافته است، می توان به تحقیق Box و Porte اشاره کرد (۲۲،۳۱). به طور کل نوسانات زیادی در تغییر سطح فعالیت ویژه آنزیم

تحلیل تغییرات سطح آنزیم های CAT و

SOD و میزان PAHs بافت در بارناکل: بالاترین فعالیت ویژه SOD در نوروژ قدیم مشاهده شد که ایستگاهی با میزان آلودگی بالا است. سپس دو ایستگاه دیلم و گناوه، به ترتیب دارای بالاترین فعالیت هستند. به طور معمول، سطح فعالیت آنزیم در حضور ROS ها و آلاینده هایی نظیر PAH ها که خود عامل تولید ROS هستند بالا می رود. با توجه به پایین بودن غلظت PAHs در این مناطق، باید اشاره داشت که حضور سایر آلاینده های زیست محیطی در این مناطق می تواند یکی از عوامل موثر بر نتیجه به دست آمده باشد. مطالعات ثابت کرده است، فلزات سنگین می توانند در فعالیت اکسایشی شرکت کرده و در کاتالیز عمومی ROS نقش داشته باشند (۲۸،۲۹) این مناطق (دیلم و گناوه) با توجه به نزدیک بودنشان به مراکز مسکونی و وجود فعالیت های صیادی، از سایر انواع آلودگی رنج می برند. سطح فعالیت آنزیم ها با افزایش غلظت آلاینده ها افزایش می یابند، تا جایی که اثر سمی حجم بالای آلاینده ها سبب توقف و کاهش فعالیت شود (۲۲،۳۰). با تجمع آلاینده ها، بدن شروع به تجزیه و دفع آن و کاهش تراکم بافتی آن ها می کند، مگر این که جاندار در معرض مداوم و حجم زیادی از انواع آلاینده ها باشد

کاتالاز در ایستگاه‌ها وجود دارد. در مجموع، فعالیت ویژه کاتالاز، روندی معکوس را با آلودگی از خود نشان داد. در ایستگاه‌های پاکیزه‌تر، سطح فعالیت آن بالا بود. بالاترین فعالیت ویژه CAT در ایستگاه دیلم، پایین‌ترین آن در سروش، نوروز جدید و نوروز قدیم بود.

Dama'sio و همکارانش طی تحقیقی بیان کردند تولید بیش از حد آنیون سوپر اکسید O_2^- که نتواند به H_2O_2 تبدیل شود، اثر منفی بر فعالیت ویژه CAT دارد. حضور O_2^- از فعالیت CAT جلوگیری می‌کند (۳۰). در مطالعه حاضر، بالاتر بودن فعالیت ویژه SOD در تمامی ایستگاه‌ها (غیراسکله بهرگان)، نسبت به CAT که خود در حضور O_2^- تحریک می‌شود، می‌تواند دلیلی بر نتیجه به دست آمده باشد. حضور سایر آلاینده‌های زیست محیطی که در تحریک کاتالاز نقش دارند نیز باید مد نظر قرار گیرد؛ به خصوص در ایستگاه دیلم، که با وجود پایین بودن غلظت PAHs تراکم یافته در بافت بارناکل‌های این ایستگاه، فعالیت ویژه هر ۲ آنزیم در آن بالا بوده است. ایستگاه نوروز قدیم که دارای بالاترین فعالیت ویژه SOD است، دارای پایین‌ترین فعالیت ویژه CAT است. در مورد سروش و نوروز جدید، شرایط تقریباً به همین صورت است. خور ماهی‌گیری بالاترین فعالیت ویژه CAT را بعد از دیلم دارد. حجم آلودگی در این ناحیه، نوع آلاینده‌ها و مدت زمان در معرض قرارگیری و پایین بودن فعالیت ویژه SOD در این ایستگاه، از عوامل موثر در نتیجه به دست آمده‌اند. اسکله بهرگان از آلودگی نسبتاً پایینی برخوردار است که خود عامل کم بودن فعالیت ویژه ۲ آنزیم در این ایستگاه است. lima و همکارانش نیز در تحقیق خود، همبستگی معنی‌داری بین فعالیت‌های CAT و هیدروکربن‌های نفتی، در آبشش ماسل‌های مورد بررسی شان پیدا نکردند (۱۲). در مطالعه‌ای که Dama'sio و همکارانش بر روی ماهی‌های جمع‌آوری شده از مناطق آلوده انجام دادند، نتایج آزمایش‌ها کاهش سطح فعالیت آنزیم CAT را نشان دادند (۳۰). نتیجه این آزمایشات (کاهش از فعالیت کاتالاز و تحریک فعالیت SOD) مشابه نتیجه تحقیق حاضر است.

تحلیل روابط بین سطح آنزیم‌ها و پارامترهای فیزیکی شیمیایی آب:

دامنه تغییرات این پارامترها در ایستگاه‌های مختلف تا حدود زیادی نزدیک به هم بود. مقدار مواد مغذی اندازه‌گیره شده در ایستگاه‌ها بسیار پایین بود. آب مورد استفاده برای بررسی این پارامترها از لایه سطحی برداشت شد. غلظت مواد مغذی در لایه‌های سطحی، به علت مصرف توسط مصرف‌کنندگان، دارای کاهش نسبی است (۸). از سویی، هنگام نمونه‌برداری از منطقه، شکوفایی پلانکتونی در منطقه دیده شد. پلانکتون‌های شکوفایی یافته به مصرف سریع این مواد مغذی پرداخته و سبب کاهش مقدار این ترکیبات در آب می‌شوند. همبستگی معنی‌داری بین این فاکتورها و فعالیت آنزیم‌های مزبور دیده نشد. تغییرات دوره‌ای و سالانه نیز مورد توجه قرار دارند، چرا که همگام با این تغییرات، جاندار رشد می‌نماید.

چرخه فیزیولوژیک بدن، تغییر در سایز بدن، تغییر در مقدار بافت چربی بدن، رشد و توسعه اندام‌هایی چون گنادها و حساسیت بیشتر جاندار در برخی دوره‌های سنی، در یک سال، اثر عمده‌تری بر فعالیت آنزیم‌ها می‌گذارد تا تغییر خود پارامترهای محیطی (۱۲، ۱۷، ۳۲).

تحقیق حاضر، در یک فصل سال صورت گرفته و سعی شد بارناکل‌ها در اندازه‌های یکسان و سن یکسان جمع‌آوری گردند تا اثر موارد فوق کاهش یابد. از یک نشانگر زیستی مناسب و ایده‌آل انتظار می‌رود که کمترین تغییر را نسبت به پارامترهای زیست محیطی از خود نشان دهد و فقط بیشترین پاسخ را به در معرض قرارگرفتن آلاینده‌ها نشان دهد (۱۳). بارناکل‌ها نیز موجوداتی مقاوم به تغییرات دما و شوری هستند (۲۳). خود این مطلب می‌تواند اثر پذیری کم آن‌ها را نسبت به تغییرات پارامترهای زیست محیطی، آن‌هم در مقیاس‌های پایین نشان دهد. این امر آن‌ها را به موجوداتی مناسب برای استفاده در پایش‌های زیست محیطی تبدیل می‌کند و می‌تواند عاملی اثرگذار در نتیجه به دست آمده باشد. در برخی مطالعات بیان شده فعالیت کاتالاز

PAHهای تجمع یافته در بارناکل‌های منطقه بهرگان، به دلیل حجم بالای آلودگی در منطقه، وجود ندارد. نمی‌توان از این آنزیم به عنوان بیومارکری برای آلودگی PAHs در بارناکل‌های این منطقه استفاده نمود. بر اساس نتایج به دست آمده، SOD می‌تواند به عنوان بیومارکر خوبی برای آلودگی PAHs، در بارناکل‌های منطقه بهرگان باشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی و اجرایی شرکت نفت فلات قاره انجام شده است. بدین وسیله از همکاری و پشتیبانی حوزه پژوهش و توسعه شرکت نفت فلات قاره، پرسنل محترم منطقه بهرگان، به ویژه ریاست محترم مرکز، HSE و آزمایشگاه همچنین پژوهشگرده صنعت نفت و آزمایشگاه آراین فن آزما، تشکر و قدردانی می‌گردد.

تابع تغییرات فصلی است و در فصل سرد کاهش می‌یابد (۳۲،۳۳). این می‌تواند عاملی دیگر برای پایین بودن فعالیت ویژه CAT، نسبت به فعالیت ویژه SOD، در ایستگاه‌های مورد بررسی باشد. نتایج به دست آمده نشان دهنده حضور و گسترش درون بافتی رادیکال‌های آزاد است (PAHها خود یکی از عوامل تولید آن‌ها هستند). بررسی آماری نشان داد همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فعالیت ویژه SOD و غلظت PAHs کل تراکم یافته در بافت بارناکل‌ها وجود دارد.

SOD، اصلی‌ترین نقش را در دفاع‌های آنتی-اکسیدانی بازی می‌کند (۲۷). فعالیت SOD در بیشتر موارد به عنوان یک نشانگر زیستی خوب آلودگی مورد توجه است. این آنزیم در مدت زمان کوتاهی نسبت به استرس‌های محیطی پاسخ می‌دهد (۲۲). در تحقیق حاضر، میزان آلودگی موجود در منطقه مورد بررسی، سبب تحریک این آنزیم شده است. نتایج تحقیق نشان داد که همبستگی معنی‌دار مثبتی بین سطح فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز و

منابع مورد استفاده

۱. اسماعیل ساری، ع. ۱۳۸۱، آلاینده‌ها بهداشت و استاندارد در محیط زیست. انتشارات نقش ۳۵۲-۳۶۳، ۵۸۹-۵۹۲.
۲. دهقان، ع. ۱۳۸۵، بررسی فیتوشیمیایی: اثرات آنتی‌اکسیدان و ضد سرطان عصاره و برخی از ترکیبات خالص شده گیاه *Ferula Szovitsiana D.C.* بر روی چند رده از سلول‌های سرطانی انسان، پایان‌نامه دکتری بیوشیمی دانشگاه تهران IBB
۳. خاوری نژاد، س. ۱۳۸۵، اثر داروی آوریبا مایسین بر زنجیره تنفسی و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در باکتری سالمونلا تیفی موریوم، پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیوشیمی بیوشیمی دانشگاه تهران، IBB
۴. سلیمانی، ه. ۱۳۷۶، سنیتیک مهار آنزیم کاتالاز خالص شده از کبد خوکچه هندی با کلرید جیوه و فعال‌سازی مجدد آن
۵. قادری مرزی، م. ۱۳۷۶، بررسی سینتیکی غیرفعال شدن انتحاری کاتالاز توسط آب اکسیژنه تاثیر عوامل فیزیکیوشیمیایی بر آن و مقایسه یک سیستم انتحاری دوسوبسترای. پایان‌نامه دکترا بیوشیمی دانشگاه تهران
۶. کردوانی، پ. ۱۳۷۴، اکوسیستم‌های آبی ایران (خلیج فارس و دریای عمان)، نشر قومس.
۷. جاوید، ا.ج. ۱۳۸۷، شناسایی و اندازه‌گیری آلاینده‌های آلی نفت (BTEX) (PAHs و فلزات سنگین Ni, V, Hg) در هوا، آب، رسوبات و موجودات زنده در مناطق چهارگانه عملیاتی، امور پژوهش و توسعه شرکت ملی نفت ایران، شرکت نفت فلات قاره ایران.

نفتی PAHs در بافت های چرب فک دریای خزر و تعیین شاخص های آن نیکل و وانادیم. پایان نامه کارشناسی ارشد آلودگی و حفاظت محیط زیست، دانشگاه آزاد واحد تهران شمال دانشکده علوم و فنون دریایی.

۸. مشعل خزر دریا، ۱۳۸۱، پروژه طرح مطالعات محیط زیست مناطق عملیاتی سیری، لاوان، بهرگان و خارک (فاز ۱)، شرکت نفت فلات قاره ایران، مدیریت مهندسی و ساختمان

۹. اسماعیلی، ل.، ۱۳۸۰. بررسی آلودگی

- manipulative field studies. Environmental pollution 12: 147-155.
10. Niyogi, S., Biswas, S., Sarker, S., Datta, A. G., 2001. Seasonal variation of antioxidant and biotransformation enzymes in barnacle, *Balanus balanoides*, and their relation with polyaromatic hydrocarbons. Marine Environmental research 25: 13-26.
11. Luca-Abbott, S. B., Richardson, B. J., McClellaw, K. E., Zheng, G. J., Mrtin, M., Lam, P. K. S., 2005. Field validation of antioxidant enzyme biomarkers in mussels *perna riridis* and clams *Ruditapes philippinarum* transplanted in Hong Kong coastal waters. Marine Pollution Bulletin 51: 694-707
12. Lima, I., Moreira, S. M., 2007. Biochemical responses of the marine mussel *Mytilus galloprovincialis* to petrochemical environmental contamination along the North-Western cost of Portugal. Chemosphere 66: 1230-1242.
13. Cheung, C. C. C., Zheng, G. S., Lig, A. M. Y., Richardson, B. J., Lam, P. K. S., 2001. Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *perna riridis*. Aquatic Toxicology 52: 189-203.
14. Catalase Assay Kit, Catalog No 707002.
15. SUPEROXIDE DISMUTASE ASSY KIT, Catalog No 706002
16. Neff, J.M., 1979. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Aquatic Environment: Source, Fates, and Biological Effects, Applied Science London.
17. Niyogi, S., Biswas, S., Sarker, S., Atta, A. G., 2001. Antioxidant enzymes in brackish water oyster, *Saccostrea cucullata* as potential biomarkers of polyaromatic hydrocarbon pollution in Hooghly Estuary (India): seasonality and its consequences. The Science of the Total Environment. 281: 237-246
18. Reid, D. J., MacFarlane, G. R., 2003. Potential biomarkers of crude oil exposure in the gastropod mollusc, *Austrocochlea poecata*: Laboratory and
19. Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. Method. Enzymol. 105, 121-130.
20. Demeler, B., Behlke, J., Ristau, O., 2000. Methods in Enzymology 321: 38-66, 318: 438-446. 01
21. Orbea, A., Cajaraville M. P., 2007. Peroxisome proliferation and antioxidant enzymes in transplanted mussels of four basque estuaries with different levels of polycyclic aromatic hydrocarbon and polychlorinated biphenyl pollution. Environ Toxicol Chem 25: 1616-1626.
22. Box, A., Sureda, A., Galgani, F., Pons, A., Deuderi, S., 2007. Assessment of environmental pollution at Bleairic Islands applying oxidative stress biomarkers in mussel *Mytilus galloprovincialis*. Comparative Biochemistry and physiology part c 146: 531-539.
23. Joel, W., George E., (2001). An Updated Classification of the Recent Crustacea. Natural History Museum of Los Angeles County
24. MOOPAN, Manual of oceano graphic observations and analyses methods. Kuwait, 1999. p: I19-22, III 21-28, III 97, V20, V 38-45, VI 20-21, VI 35-36
25. Franson, M. A. H., 1995. Standard method: For the examination of water and wastewater. Washington. American Public Health Association. Xxxiv, varias paginaciones. Edición; 19 a ed.
26. Yu-qiong, W. U., Chong-gang, W., Yun, G., 2007. Antioxidant responses to benzo[a] pyrene, tributyltin and their mixture in the spleen of *Sebasticus marmoratus*. Journal of Environmental Sciences 19: 1129-1135
27. 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. Ecotoxicology and Environmental Safety

28. Regoli, F., Humme, H., Amiard-Triquet, C., Larroux, C., Sukhotin, A., 1998. Trace Metals and Variations of Antioxidant Enzymes in Arctic Bivalve Populations, Arch. Environ. Contam. Toxicol. 35: 594–601.
29. Giessing, A. M. B., and Mayer, L. M., 2004. Oxidative coupling during gut passage in marine deposit-feeding invertebrates. Anders, M. B., Giessing and Lawrence M., Mayer, The American Society of Limnology and Oceanography, Inc. Darling Marine Center, University of Maine, Walpole, Maine 04. p:573
30. Dama'sio, J. B., Barata, C., Munne', A., Ginebreda, A., Guasch, H., Sabater, S., Caixach, J., Porte, C., 2007. Comparing the response of biochemical indicators (biomarkers) and biological indices to diagnose the ecological impact of an oil spillage in a Mediterranean river (NE Catalunya, Spain). Chemosphere 66: 1206–1216
31. Porte, C., Sole, M., Albaiges, J., Livingstone, D. R., 1991. Responses of mixed-function oxygen and antioxidase enzyme system of *Mytilus* sp. to organic pollution. Comp. Biochem. Phys. C 100: 183-186
32. Slavica, S., Borkovic', a., Jelena, S. S., aponjic', a., Sladjan, Z., Pavlovic', a., Duxko, P., Blagojevic', a., Slavixa, M., Miloxevic', a., Tijana, B., Kovaevic', a., Ratko, M., Radojic', b., Mihajlo, B., Spasic', a., Radoslav, V., Z., ikic', c., Zorica, S., Saiic', a., 2005. The activity of antioxidant defence enzymes in the mussel *Mytilus galloprovincialis* from the Adriatic Sea Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 141: 366 – 374
33. Frouin, H., Pellerin, J., Fournier, M., Pelletier, E., Richard, P., Pichaud, N., Rouleau, C., Garnerot, F., 2007. Physiological effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on soft-shell clam *Mya arenaria*. Aquatic Toxicology 82: 120–134.