

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه آزاد اسلامی
واحد علوم و تحقیقات

رساله دکتری رشته بیولوژی دریا (Ph.D)

موضوع:

پایش زیستی هیدروکربنهای چند حلقه ای آروماتیک (PAH) و فلزات سنگین نیکل و وانادیوم در رسوبات و دو کفه ای آنودونت (Anodont) تالاب انزلی و تعیین کاربرد بیومارکر

Neutral Red retention assay(NRR) بعنوان شاخص زیستی این آلاینده ها

استادان راهنما

دکتر پیمان اقتصادی

دکتر شهلا جمیلی

استادان مشاور

عباسعلی مطلبی

محمد ربانی

نگارنده

لیدا سلیمی

سال تحصیلی ۱۳۸۸-۱۳۸۷

تقدیم به پدر عزیزم که اولین معلم ام بود و مرا با کتاب این ودیعه الهی آشنا کرد

و

تقدیم به مادر مهربانم که همواره شرمنده صفا و از خود گذشتگی هایش هستم

و

تقدیم به برادران خوبم

سپاسگزاری:

سپاس پروردگارم را که به قلم سوگند یاد کرد و اگر لطف همیشگی و بی منتهای او نبود هرگز قدمی برداشته نمی شد و نه موفقیت این تحقیق، که زندگی ام امکان نداشت. قطعاً هنگامی که هدفی علمی به تحقق برسد مدیون زحمات بیشمار افراد است که مهمترین آنان استادان عالم و آگاه هستند.

بر خود لازم می دانم از استاد ارجمند جناب آقای دکتر پیمان اقتصادی عراقی بخاطر راهنمایی های مفید و دقت نظرشان در اجرای این پروژه تشکر نمایم.

همچنین از استاد گرانقدر سرکار خانم دکتر شهلا جمیلی استاد محترمی که همواره و قدم به قدم در اجرای این پروژه در کنارم بودند و با راهنمایی های ارزنده شان راهگشای مشکلات، صمیمانه قدردانی کنم.

از استاد بزرگوار جناب آقای دکتر عباسعلی مطلبی که در تمامی مراحل اجرای پروژه از حمایت های بیدریغ ایشان برخوردار بوده ام و با احساس مسئولیتی ستودنی در پیشبرد این طرح یاریم کردند سپاسگزارم.

از استاد ارجمند جناب آقای دکتر ربانی که نه فقط در این طرح تحقیقاتی که همیشه از مشاوره عالمانه ایشان بهره جسته ام، تشکر می نمایم.

همچنین از استادان محترم داور پروژه سرکار خانم دکتر معصومه ملک، جناب آقای دکتر علی ماشین چیان و جناب آقای دکتر نیما پور رنگ که بزرگوارانه و خالصانه در انجام بهتر این پروژه با ارشادات لازم یاریم کردند، بسیار سپاسگزارم.

از جناب آقای دکتر محمد رضا فاطمی مدیر محترم گروه بیولوژی دریا که با دقت، نظارت بر این رساله را عهده دار بوده اند کمال تشکر را دارم.

خود را مدیون زحمات آقای دکتر محمد صدیق مرتضوی رئیس محترم مرکز تحقیقات اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان (بندر عباس) و پرسنل محترم این مرکز بخصوص سرکار خانم مهندس لیلی محبی می دانم که بدین طریق از همکاری آنان در امور آزمایشگاهی، و از زحمات کلیه پرسنل محترم مرکز تحقیقات اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان از جمله خانمها شاه محمدی و بهمن زاده و آقایان مهندس آقا جری، مهندس ابراهیمی و مهندس جوکار تشکر می نمایم.

از جناب آقای دکتر خانی پور رئیس محترم وقت پژوهشکده آبی پروری (بندر انزلی) و پرسنل محترم این پژوهشکده بخصوص آقایان مهندس قانع، صیاد رحیم و مهندس بابایی بخاطر همکاری بیدریغ شان در امر نمونه برداری قدردانی می کنم.

همچنین از کلیه پرسنل محترم مرکز ملی اقیانوس شناسی بخصوص آقای دکتر رضایی و خانم جلیلی خانم مهندس هشترودی و خانم فرزادنیا بخاطر مساعدت های که داشتند تشکر می نمایم.

در خاتمه از درگاه خداوند متعال توفیق روز افزون همه این استادان و سروران گرانمایه و تمامی افرادی که مرا در این تحقیق یاری نموده اند خواستارم و امیدوارم به یاری پروردگار یکتا انجام این پروژه تحقیقاتی، گامی هر چند کوچک در جهت اعتلای علمی ایران اسلامی و سرفرازی مردمان پاک نهاد آن بردارد.

فهرست مطالب

صفحه	عناوین
۱	چکیده
۳	مقدمه

فصل اول: کلیات

۶	۱-۱ تالاب انزلی
۷	۲-۱ حوضه آبریز تالاب انزلی
۹	۳-۱ موجودات تالاب انزلی
۹	۱-۳-۱ گیاهان
۹	۲-۳-۱ جانوران
۱۱	۴-۱ رده بندی آنودونت
۱۱	۵-۱ ساختمان آنودونت
۱۴	۶-۱ دستگاه گوارش آنودونت
۱۵	۷-۱ گردش خون آنودونت
۱۶	۸-۱ دستگاه تنفس آنودونت
۱۷	۹-۱ دستگاه دفع آنودونت
۱۷	۱۰-۱ دستگاه عصبی آنودونت
۱۸	۱۱-۱ وضعیت و نوع حرکت آنودونت
۱۸	۱۲-۱ تغذیه آنودونت
۱۸	۱۳-۱ پراکنش آنودونت
۲۰	۱۴-۱ آلودگیهای تالاب انزلی
۲۱	۱۵-۱ منابع آلودگی کننده های محیط های آبی و اثرات آنها
۲۲	۱۶-۱ آلودگی ناشی از مواد نفتی و اثرات آن
۲۳	۱-۱۶-۱ اثرات آلودگی نفتی بر باکتریهای دریایی
۲۳	۲-۱۶-۱ اثرات آلودگی نفتی بر پلانکتون ها
۲۳	۳-۱۶-۱ اثرات آلودگی نفتی بر موجودات ناحیه بتتیک

۲۴	۱۶-۱-۴ اثرات آلودگی نفتی بر فعالیت های ماهیگیری
۲۴	۱۶-۱-۵ اثرات آلودگی نفتی بر اکو سیستم آبی
۲۵	۱۷-۱ خواص شیمیایی نفت خام
۲۶	۱۸-۱ سمی بودن نفت خام و ترکیبات نفتی
۲۶	۱۹-۱ ترکیبات PAH
۲۹	۲۰-۱ منابع ورود PAH ها به محیط زیست آبی
۳۰	۲۱-۱ PAH ها در آب
۳۲	۲۲-۱ PAH ها در رسوبات
۳۵	۲۳-۱ بررسی سطوح PAH ها در زنجیره غذایی
۳۷	۲۴-۱ اثرات سرطان زایی PAH ها
۳۹	۲۵-۱ فلزات سنگین
۳۹	۱-۲۵-۱ نیکل
۴۰	۱-۲۵-۱ اثرات نیکل
۴۱	۲-۱-۲۵-۱ راههای ورود نیکل به محیط زیست
۴۱	۲-۲۵-۱ وانادیوم
۴۲	۱-۲-۲۵-۱ اثرات وانادیوم
۴۳	۲-۲-۲۵-۱ راههای ورود وانادیوم به محیط زیست
۴۳	۲۶-۱ بیومارکرها
۴۴	۲۷-۱ تعاریف مختلف بیومارکرها
۴۵	۲۸-۱ مشکلات آنالیز نمونه های آب
۴۶	۲۹-۱ مشکلات آنالیز نمونه های رسوب
۴۶	۳۰-۱ آنالیز جانداران
۴۷	۳۱-۱ تاریخچه استفاده از بیومارکرها
۴۸	۱-۳۱-۱ تاریخچه تحقیق در مورد بیومارکرها در ایران

فصل دوم : مواد و روشها

۵۰	۱-۲ نمونه برداری
۵۲	۲-۲ آزمایشات زیستی Neutral Red Retention assay

۵۳	۱-۲-۲ استخراج همولنف آنودونت
۵۵	۲-۲-۲ شناسایی سلولهای همولنف آنودونت
۵۶	۳-۲ آزمایشات شیمیایی
۵۶	۱-۳-۲ آماده سازی نمونه های آنودونت برای سنجش مقادیر PAHs
۵۸	۲-۳-۲ آماده سازی نمونه های رسوب برای سنجش مقادیر PAHs
۶۰	۱-۲-۳-۲ روش تهیه مس اکتیو
۶۱	۳-۳-۲ آماده سازی نمونه های آنودونت برای سنجش مقادیر نیکل و وانادیوم
۶۱	۴-۳-۲ آماده سازی نمونه های رسوب برای سنجش مقادیر نیکل و وانادیوم
۶۲	۴-۲ آنالیزهای آماری

فصل سوم : نتایج

۶۵	۱-۳ نتایج شناسایی سلولهای همولنف آنودونت
۶۵	۱-۱-۳ آگرانولوسیتها
۶۶	۲-۱-۳ گرانولوسیتها
۶۸	۲-۳ نتایج آزمایشات NRR و تغییرات سلولی مشاهده شده در نمونه های همولنف آنودونت
۸۲	۳-۳ نتایج اندازه گیری PAH ها
۸۲	۱-۳-۳ ایستگاه ماهروزه / خرداد
۸۴	۲-۳-۳ ایستگاه سلکه / خرداد
۸۷	۳-۳-۳ ایستگاه ماهروزه / شهرپور
۸۹	۴-۳-۳ ایستگاه سلکه / شهرپور
۹۲	۵-۳-۳ ایستگاه Cage
۹۵	۴-۳ نتایج تعیین BSAF (تجمع زیستی - رسوبی) PAH ها بین رسوب و دوکفه ای <i>A. cygnea</i>
۹۶	۱-۴-۳ نتایج تعیین BSAF برای هر یک از 16 PAH اولویت EPA جداگانه و به تفکیک
۹۶	۱-۱-۴-۳ تعیین BSAF برای 16 PAH در ایستگاه ماهروزه / خرداد
۹۸	۲-۱-۴-۳ تعیین BSAF برای 16 PAH در ایستگاه سلکه / خرداد
۹۹	۳-۱-۴-۳ تعیین BSAF برای 16 PAH در ایستگاه ماهروزه / شهرپور
۱۰۱	۴-۱-۴-۳ تعیین BSAF برای 16 PAH در ایستگاه سلکه / شهرپور
۱۰۲	۵-۱-۴-۳ تعیین BSAF برای 16 PAH در ایستگاه Cage

- ۳-۵ نتایج اندازه گیری نیکل و وانادیوم ۱۰۴
- ۳-۵-۱ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتها و رسوبات ایستگاه ماهروزه / خرداد ۱۰۴
- ۳-۵-۲ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتها و رسوبات ایستگاه سلکه / خرداد ۱۰۵
- ۳-۵-۳ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتها و رسوبات ایستگاه ماهروزه / شهرپور ۱۰۷
- ۳-۵-۴ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتها و رسوبات ایستگاه سلکه / شهرپور ۱۰۹
- ۳-۵-۵ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتها و رسوبات ایستگاه Cage ۱۱۰
- ۳-۶ نتایج تعیین تجمع زیستی - رسوبی نیکل و وانادیوم بین رسوب و دوکفه ای *A. cygnea* ۱۱۲
- ۳-۷ نتایج آنالیزهای آماری ۱۱۳
- ۳-۷-۱ نتایج مقایسه مقادیر آلاینده ها در ایستگاهها و فصلهای مختلف نمونه برداری ۱۱۳
- ۳-۷-۱-۱ مقایسه مقادیر PAH، Ni، V بین دو ایستگاه ماهروزه و سلکه در خرداد ۱۱۳
- ۳-۷-۱-۲ مقایسه مقادیر PAH، Ni، V بین دو ایستگاه ماهروزه و سلکه در شهرپور ۱۱۷
- ۳-۷-۱-۳ بررسی آلاینده های PAH، Ni، V بین رسوبات و آنودونتهای ایستگاه ماهروزه / خرداد ۱۱۸
- ۳-۷-۱-۴ بررسی آلاینده های PAH، Ni، V بین رسوبات و آنودونتهای ایستگاه ماهروزه / شهرپور ۱۲۰
- ۳-۷-۱-۵ بررسی آلاینده های PAH، Ni، V بین رسوبات و آنودونتهای ایستگاه سلکه / خرداد ۱۲۰
- ۳-۷-۱-۶ بررسی آلاینده های PAH، Ni، V بین رسوبات و آنودونتهای ایستگاه سلکه / شهرپور ۱۲۱
- ۳-۷-۱-۷ مقایسه مقادیر آلاینده های PAH، Ni، V بین رسوبات ایستگاه Cage ۱۲۲
- ۳-۷-۱-۸ مقایسه مقادیر آلاینده های PAH، Ni، V بین رسوبات ایستگاه های سلکه و ماهروزه با رسوبات ایستگاه Cage ۱۲۳
- ۳-۷-۱-۹ مقایسه مقادیر آلاینده های PAH، Ni، V بین آنودونتهای ایستگاه سلکه و ماهروزه با آنودونتهای ایستگاه Cage ۱۲۳
- ۳-۷-۲ نتایج تعیین میانگین و خطای استاندارد آلاینده های PAH، Ni، V در نمونه ها ۱۲۳
- ۳-۷-۲-۱ تعیین میانگین و خطای استاندارد PAH ها ۱۲۳
- ۳-۷-۲-۲ تعیین میانگین و خطای استاندارد Ni ۱۲۵
- ۳-۷-۲-۳ تعیین میانگین و خطای استاندارد V ۱۲۶
- ۳-۷-۳ بررسی همبستگی ۱۲۸
- ۳-۷-۳-۱ بررسی همبستگی بین آلاینده های نیکل و وانادیوم در نمونه های رسوب و آنودونت ۱۲۸
- ۳-۷-۳-۲ بررسی همبستگی بین آلاینده های PAH، Ni، V و روش NRR ۱۲۸
- ۳-۷-۳-۳ بررسی همبستگی بین آلاینده PAH و روش NRR ۱۲۹

۲-۲-۳-۷-۳ بررسی همبستگی بین آلاینده های نیکل و وانادیوم و روش NRR ۱۳۰

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

- ۱-۴ فرضیه و اهداف طرح ۱۳۲
- ۲-۴ بررسی میزان PAH ها در نمونه های رسوبات و آنودونت تالاب انزلی ۱۳۳
- ۳-۴ بررسی نتایج آماری مقادیر PAH ها ۱۳۵
- ۴-۴ بررسی منشا PAH ها در نمونه های رسوبات و آنودونت ۱۴۰
- ۵-۴ بررسی فاکتور تجمع زیستی - رسوبی PAH ها ۱۴۲
- ۱-۵-۴ بررسی فاکتور تجمع زیستی PAH های اولویت بندی شده EPA به تفکیک: ۱۴۴
- ۶-۴ بررسی میزان نیکل و وانادیوم در نمونه های رسوبات و آنودونت تالاب انزلی ۱۴۸
- ۷-۴ بررسی نتایج آماری مقادیر نیکل و وانادیوم ۱۵۰
- ۸-۴ بررسی فاکتور تجمع زیستی - رسوبی نیکل و وانادیوم ۱۵۵
- ۹-۴ بررسی نتایج آزمایشات Neutral Red Retention assay (NRR) ۱۵۶
- ۱-۹-۴ بررسی ارتباط بین مقادیر PAH و نتایج آزمایشات NRR ۱۵۷
- ۲-۹-۴ بررسی ارتباط بین مقادیر Ni و V و نتایج آزمایشات NRR ۱۶۲

فصل پنجم: نتیجه گیری نهایی و پیشنهادات

- ۱-۵ نتیجه گیری نهایی ۱۶۶
- ۲-۵ پیشنهادات ۱۷۰
- منابع فارسی ۱۷۲
- منابع انگلیسی ۱۷۳
- پیوست الف ۱۸۲
- پیوست ب ۱۸۸
- چکیده انگلیسی ۱۹۵

فهرست جداول

عناوین	صفحه
جدول ۱-۱ معرفی رده بندی و سیستماتیک <i>Anodonta Cygnea</i>	۱۱
جدول ۲-۱ پراکنش آنودونت در جهان	۱۹
جدول ۳-۱ خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و میزان سمیت PAH های اولویت EPA	۲۸
جدول ۴-۱ مقایسه مقادیر مختلف PAH ها در آبهای چند نقطه جهان	۳۱
جدول ۵-۱ مقادیر PAH های کل در رسوبات دریایی امریکای شمالی، اروپا، افریقا و آسیا	۳۴
جدول ۱-۲ مشخصات دستگاه GC-Mass	۵۹
جدول ۲-۲ مشخصات محلولهای استاندارد مورد استفاده در دستگاه GC-Mass	۶۰
جدول ۱-۳ نتایج آزمایشات NRR در آنودونتهای ایستگاه ماهروزه- خرداد ۸۶	۶۸
جدول ۲-۳ نتایج آزمایشات NRR در آنودونتهای ایستگاه سلکه- خرداد ۸۶	۷۰
جدول ۳-۳ نتایج آزمایشات NRR در آنودونتهای ایستگاه ماهروزه- شهریور ۸۶	۷۳
جدول ۴-۳ نتایج آزمایشات NRR در آنودونتهای ایستگاه سلکه- شهریور ۸۶	۷۵
جدول ۵-۳ نتایج آزمایشات NRR در آنودونتهای ایستگاه Cage	۷۸
جدول ۶-۳ مقادیر PAH در نمونه آنودونت های ایستگاه ماهروزه- خرداد ۸۶	۸۲
جدول ۷-۳ مقادیر PAH در نمونه رسوبات ایستگاه ماهروزه- خرداد ۸۶	۸۳
جدول ۸-۳ بررسی نسبت فلورانتین / پایرن و نسبت فناترن / آنتراسن در نمونه آنودونتهای ایستگاه ماهروزه خرداد- ۸۶	۸۴
جدول ۹-۳ بررسی نسبت فلورانتین / پایرن و نسبت فناترن / آنتراسن در نمونه رسوبات ایستگاه ماهروزه خرداد- ۸۶	۸۴
جدول ۱۰-۳ مقادیر PAH در نمونه آنودونتهای ایستگاه سلکه- خرداد ۸۶	۸۵
جدول ۱۱-۳ مقادیر PAH در نمونه رسوبات ایستگاه سلکه- خرداد ۸۶	۸۵
جدول ۱۲-۳ بررسی نسبت فلورانتین / پایرن و نسبت فناترن / آنتراسن در نمونه رسوبات ایستگاه سلکه خرداد- ۸۶	۸۶
جدول ۱۳-۳ بررسی نسبت فلورانتین / پایرن و نسبت فناترن/ در نمونه رسوبات ایستگاه سلکه خرداد- ۸۶	۸۶
جدول ۱۴-۳ مقادیر PAH در نمونه آنودونتهای ایستگاه ماهروزه- شهریور ۸۶	۸۷
جدول ۱۵-۳ مقادیر PAH در نمونه رسوبات ایستگاه ماهروزه- شهریور ۸۶	۸۸

- جدول ۳-۱۶ بررسی نسبت فلورانتین / پیرن و نسبت فناترن / آنتراسن در نمونه آنودونتهای ایستگاه
 ماهروزه- شهریور ۸۶..... ۸۹
- جدول ۳-۱۷ بررسی نسبت فلورانتین / پیرن و نسبت فناترن / آنتراسن در نمونه رسوبات ایستگاه
 ماهروزه- شهریور ۸۶..... ۸۹
- جدول ۳-۱۸ مقادیر PAH در نمونه آنودونتهای ایستگاه سلکه- شهریور ۸۶..... ۹۰
- جدول ۳-۱۹ مقادیر PAH در نمونه رسوبات ایستگاه سلکه- شهریور ۸۶..... ۹۰
- جدول ۳-۲۰ بررسی نسبت فلورانتین / پیرن و نسبت فناترن / آنتراسن در نمونه آنودونتهای ایستگاه
 سلکه- شهریور ۸۶..... ۹۱
- جدول ۳-۲۱ بررسی نسبت فلورانتین / پیرن و نسبت فناترن / آنتراسن در نمونه رسوبات ایستگاه
 سلکه- شهریور ۸۶..... ۹۱
- جدول ۳-۲۲ مقادیر PAH در نمونه آنودونتهای ایستگاه Cage..... ۹۲
- جدول ۳-۲۳ مقادیر PAH در نمونه رسوبات ایستگاه Cage - (در روز ۱)..... ۹۳
- جدول ۳-۲۴ مقادیر PAH در نمونه رسوبات ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)..... ۹۳
- جدول ۳-۲۵ بررسی نسبت فلورانتین / پیرن و نسبت فناترن / آنتراسن در نمونه آنودونتهای ایستگاه
 Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)..... ۹۴
- جدول ۳-۲۶ بررسی نسبت فلورانتین / پیرن و نسبت فناترن / آنتراسن در نمونه رسوبات ایستگاه
 Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)..... ۹۴
- جدول ۳-۲۷ میانگین PAH 16 در نمونه آنودونت و رسوبات ایستگاه ماهروزه و مقادیر فاکتور تجمع
 زیستی- رسوبی آنها (خرداد ۸۶)..... ۹۷
- جدول ۳-۲۸ میانگین PAH 16 در نمونه آنودونت و رسوبات ایستگاه سلکه و مقادیر فاکتور تجمع
 زیستی- رسوبی آنها (خرداد ۸۶)..... ۹۸
- جدول ۳-۲۹ میانگین PAH 16 در نمونه آنودونت و رسوبات ایستگاه ماهروزه و مقادیر فاکتور تجمع
 زیستی- رسوبی آنها (شهریور ۸۶)..... ۱۰۰
- جدول ۳-۳۰ میانگین PAH 16 در نمونه آنودونت و رسوبات ایستگاه سلکه و مقادیر فاکتور تجمع
 زیستی- رسوبی آنها (شهریور ۸۶)..... ۱۰۱
- جدول ۳-۳۱ میانگین PAH 16 در نمونه آنودونت و رسوبات ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان
 ۲۸ روز) و مقادیر فاکتور تجمع زیستی- رسوبی آنها..... ۱۰۳
- جدول ۳-۳۲ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه ماهروزه- خرداد ۸۶..... ۱۰۴

- جدول ۳-۳۳ مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه ماهروزه- خرداد ۸۶ ۱۰۵
- جدول ۳-۳۴ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه سلکه- خرداد ۸۶ ۱۰۶
- جدول ۳-۳۵ مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه سلکه- خرداد ۸۶ ۱۰۷
- جدول ۳-۳۶ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه ماهروزه- شهریور ۸۶ ۱۰۷
- جدول ۳-۳۷ مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه ماهروزه- شهریور ۸۶ ۱۰۸
- جدول ۳-۳۸ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه سلکه- شهریور ۸۶ ۱۰۹
- جدول ۳-۳۹ مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه سلکه- شهریور ۸۶ ۱۱۰
- جدول ۳-۴۰ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز) ۱۱۰
- جدول ۳-۴۱ مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه Cage (در روز ۱) ۱۱۱
- جدول ۳-۴۲ مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز) ۱۱۱
- جدول ۳-۴۳ بررسی میانگین و خطای استاندارد آلاینده PAH در ایستگاه های ماهروزه و سلکه (خرداد و شهریور ۸۶) ۱۲۴
- جدول ۳-۴۴ بررسی میانگین و خطای استاندارد آلاینده نیکل در ایستگاه های ماهروزه و سلکه (خرداد و شهریور ۸۶) ۱۲۵
- جدول ۳-۴۵ بررسی میانگین و خطای استاندارد آلاینده وانادیوم در ایستگاه های ماهروزه و سلکه (خرداد و شهریور ۸۶) ۱۲۷
- جدول ۳-۴۶ بررسی همبستگی بین مقادیر PAH در آنودونت و روش NRR ۱۲۹
- جدول ۳-۴۷ بررسی همبستگی بین مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونت و روش NRR ۱۳۰
- جدول ۴-۱ مشخصات PAH هایی که بیشترین تجمع زیستی - رسوبی را در ایستگاه ماهروزه (خرداد ۸۶) داشته اند ۱۴۴
- جدول ۴-۲ مشخصات PAH هایی که بیشترین تجمع زیستی - رسوبی را در ایستگاه سلکه (خرداد ۸۶) داشته اند ۱۴۵
- جدول ۴-۳ مشخصات PAH هایی که بیشترین تجمع زیستی - رسوبی را در ایستگاه ماهروزه (شهریور ۸۶) داشته اند ۱۴۶
- جدول ۴-۴ مشخصات PAH هایی که بیشترین تجمع زیستی - رسوبی را در ایستگاه سلکه (شهریور ۸۶) داشته اند ۱۴۷
- جدول ۴-۵ مشخصات PAH هایی که بیشترین تجمع زیستی - رسوبی را در ایستگاه Cage داشته اند ۱۴۷

فهرست نمودارها

صفحه	عناوین
۹۷.....	نمودار ۱-۳ نمایش تجمع زیستی- رسوبی برای PAH 16 در ایستگاه ماهروزه- خرداد ۸۶
۹۹.....	نمودار ۲-۳ نمایش تجمع زیستی- رسوبی برای PAH 16 در ایستگاه سلکه- خرداد ۸۶
۱۰۰.....	نمودار ۳-۳ نمایش تجمع زیستی- رسوبی برای PAH 16 در ایستگاه ماهروزه- شهریور ۸۶
۱۰۲.....	نمودار ۴-۳ نمایش تجمع زیستی- رسوبی برای PAH 16 در ایستگاه سلکه- شهریور ۸۶
	نمودار ۵-۳ نمایش تجمع زیستی- رسوبی برای PAH 16 در ایستگاه Cage (بعد از گذشت
۱۰۳.....	زمان ۲۸ روز)
۱۰۴.....	نمودار ۶-۳ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه ماهروزه- خرداد ۸۶
۱۰۵.....	نمودار ۷-۳ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه ماهروزه- خرداد ۸۶
۱۰۶.....	نمودار ۸-۳ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه سلکه- خرداد ۸۶
۱۰۷.....	نمودار ۹-۳ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه سلکه- خرداد ۸۶
۱۰۸.....	نمودار ۱۰-۳ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه ماهروزه- شهریور ۸۶
۱۰۸.....	نمودار ۱۱-۳ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه ماهروزه- شهریور ۸۶
۱۰۹.....	نمودار ۱۲-۳ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه سلکه- شهریور ۸۶
۱۱۰.....	نمودار ۱۳-۳ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه سلکه- شهریور ۸۶
	نمودار ۱۴-۳ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه Cage (بعد از گذشت
۱۱۱.....	زمان ۲۸ روز)
	نمودار ۱۵-۳ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه Cage (بعد از گذشت
۱۱۲.....	زمان ۲۸ روز)
	نمودار ۱۶-۳ مقایسه مقادیر PAH در رسوبات ایستگاه های ماهروزه و سلکه در دو فصل گرم
۱۱۴.....	و بارندگی
	نمودار ۱۷-۳ مقایسه مقادیر نیکل در رسوبات ایستگاه های ماهروزه و سلکه در دو فصل گرم
۱۱۴.....	و بارندگی
	نمودار ۱۸-۳ مقایسه مقادیر وانادیوم در رسوبات ایستگاه های ماهروزه و سلکه در دو فصل گرم
۱۱۵.....	و بارندگی
	نمودار ۱۹-۳ مقایسه مقادیر PAH در آنودونتهای ایستگاه های ماهروزه و سلکه در دو فصل گرم
۱۱۶.....	و بارندگی

- نمودار ۳-۲۰ مقایسه مقادیر نیکل در آنودونتهای ایستگاه های ماهروزه و سلکه در دو فصل گرم و بارندگی ۱۱۶
- نمودار ۳-۲۱ مقایسه مقادیر وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه های ماهروزه و سلکه در دو فصل گرم و بارندگی ۱۱۷
- نمودار ۳-۲۲ مقایسه مقادیر PAH بین رسوبات و آنودونتهای دو ایستگاه ماهروزه و سلکه در خرداد ۸۶ ۱۱۸
- نمودار ۳-۲۳ مقایسه مقادیر نیکل بین رسوبات و آنودونتهای ایستگاه ماهروزه در دو فصل نمونه برداری ۱۱۹
- نمودار ۳-۲۴ مقایسه مقادیر وانادیوم بین رسوبات و آنودونتهای ایستگاه ماهروزه در دو فصل نمونه برداری ... ۱۱۹
- نمودار ۳-۲۵ مقایسه مقادیر PAH بین رسوبات و آنودونتهای دو ایستگاه ماهروزه و سلکه در شهریور ۸۶ ۱۲۰
- نمودار ۳-۲۶ مقایسه مقادیر نیکل بین رسوبات و آنودونتهای ایستگاه سلکه در دو فصل نمونه برداری ۱۲۱
- نمودار ۳-۲۷ مقایسه مقادیر وانادیوم بین رسوبات و آنودونتهای ایستگاه سلکه در دو فصل نمونه برداری ۱۲۲
- نمودار ۴-۱ نمایش همبستگی منفی بین مقادیر PAH و زمان بروز عوارض و پاسخ دهی سلولهای همولنف در روش NRR- ایستگاه های ماهروزه و سلکه (خرداد ۸۶) ۱۵۸
- نمودار ۴-۲ نمایش همبستگی منفی بین مقادیر PAH و زمان بروز عوارض و پاسخ دهی سلولهای همولنف در روش NRR - ایستگاه های ماهروزه و سلکه (شهریور ۸۶) ۱۵۹
- نمودار ۴-۳ نمایش همبستگی منفی مقادیر PAH و زمان بروز عوارض و پاسخ دهی سلولهای همولنف در روش NRR - ایستگاه Cage ۱۶۰

فهرست اشکال

صفحه	عناوین
۷	شکل ۱-۱ موقعیت و حوضه آبخیز تالاب انزلی
۱۱	شکل ۲-۱ دوکفه ای <i>Anodonta Cygnea</i> تالاب انزلی
۱۲	شکل ۳-۱ نمایش سطح خارجی آنودونت
۱۳	شکل ۴-۱ نمایش بخشهای داخلی دوکفه ای
۱۴	شکل ۵-۱ نمایش محل اتصالات عضلات و خط روپوشی آنودونت
۱۵	شکل ۶-۱ نمایش دستگاه گوارش آنودونت
۱۶	شکل ۷-۱ نمایش مقطع آنودونت از ناحیه قلب
۳۸	شکل ۸-۱ روند تشکیل سوبسترای سرطانزا توسط PAH ها در بدن
۵۱	شکل ۱-۲ موقعیت جغرافیایی ایستگاههای نمونه برداری
۵۳	شکل ۲-۲ خون (همولنف) گیری از آنودونت
۵۷	شکل ۳-۲ قرار دادن نمونه ها در دستگاه میکرو ویو
۶۵	شکل ۱-۳ سلول Vesicular در همولنف <i>A. cygnea</i>
۶۶	شکل ۲-۳ سلولهای Blast like در همولنف <i>A. cygnea</i>
۶۶	شکل ۳-۳ سلولهای Basophilic در همولنف <i>A. cygnea</i>
۶۷	شکل ۴-۳ (a) سلولهای Eosinophilic بزرگ در همولنف <i>A. cygnea</i>
۶۷	(b) سلولهای Eosinophilic کوچک در همولنف <i>A. cygnea</i>
۶۹	شکل ۵-۳ تجمع های پراکنده و اندک سلولی در نمونه های آنودونت ایستگاه ماهروزه - خرداد ۸۶
۶۹	شکل ۶-۳ تورم سلولی و از دست دادن رنگ در سلولهای همولنف آنودونت ایستگاه ماهروزه - خرداد ۸۶
۷۱	شکل ۷-۳ نمونه ای از سلولهای رنگ آمیزی شده همولنف آنودونت با روش Neutral Red Retention ایستگاه سلکه - خرداد ۸۶
۷۱	شکل ۸-۳ از دست دادن رنگ در سلولهای رنگ آمیزی شده همولنف نمونه آنودونت ایستگاه سلکه - خرداد ۸۶
۷۲	شکل ۹-۳ نمونه ای از تخریب سلول در همولنف آنودونت ایستگاه سلکه - خرداد ۸۶
۷۲	شکل ۱۰-۳ نمونه ای از تجمعات اندک و پراکنده سلولهای همولنف آنودونت ایستگاه سلکه - خرداد ۸۶

- شکل ۳-۱۱ نمونه مشهودی از تخریب سلولی در نمونه آنودونت ایستگاه ماهروزه - شهریور ۸۶..... ۷۴
- شکل ۳-۱۲ از دست دادن رنگ سلولهای همولنف آنودونت ایستگاه سلکه - شهریور ۸۶..... ۷۶
- شکل ۳-۱۳ نمونه ای از تورم سلولهای همولنف آنودونت ایستگاه سلکه - شهریور ۸۶..... ۷۶
- شکل ۳-۱۴ نمونه ای از تخریب سلولهای همولنف در آنودونتهای ایستگاه سلکه - شهریور ۸۶..... ۷۷
- شکل ۳-۱۵ تجمعات گسترده سلولی در همولنف آنودونتهای ایستگاه سلکه - شهریور ۸۶..... ۷۷
- شکل ۳-۱۶ (a) نمونه ای از تجمع سلولی در همولنف آنودونت..... ۷۹
- (b) افزایش فزاینده تجمعات سلولی در همولنف آنودونت های ایستگاه Cage..... ۷۹
- شکل ۳-۱۷ (a) ملحق شدن تجمعات سلولی پراکنده به یکدیگر ۸۰
- (b) ایجاد تجمعات سلولی بزرگتر و از دست دادن رنگ در سلولهای رنگ آمیزی شده
همولنف آنودونت ایستگاه Cage..... ۸۰
- شکل ۳-۱۸ (a) نمونه گیری از تجمع سلولی و از دست دادن رنگ در سلولهای همولنف آنودونت..... ۸۱
- (b) تخریب کامل سلولها در همولنف آنودونت ایستگاه Cage..... ۸۱

چکیده:

علم سم‌شناسی بیوشیمیایی محیط زیست (Biochemical Ecotoxicology) و بکارگیری بیومارکرها، علوم جوانی هستند که شکوفایی آن از دهه ۹۰ میلادی شروع شده و سبب گردیده اند بسیاری از سنجش‌های زیست محیطی امروزی بخصوص در محیط‌های آبی، نسبت به روش‌های شیمیایی معنی‌دارتر، ارزاتر و بهتر از گذشته انجام شوند و نیازی به مراحل نسبتاً طولانی و پیچیده آماده سازی‌های شیمیایی نباشد اما برخلاف کاربرد وسیع این علم در کشورهای پیشرفته جهان، استفاده از آن در ایران بسیار محدود بوده است.

در تحقیق حاضر هدف تعیین مقدار PAH ها و همچنین نیکل و وانادیوم در رسوبات سطحی و بافت دوکفه ای (*Anodonta cygnea*) و تاثیر این آلاینده ها بر روی سلولهای همولنف آنودونت در دو ایستگاه (ماهروزه و سلکه در تالاب انزلی در شمال ایران) و تعیین و معرفی این دوکفه ای به عنوان بیو مارکری برای آلاینده های مذکور است. نمونه برداری در دو دوره زمانی متفاوت در سال ۱۳۸۶، یعنی فصل گرم و خشک، و فصل بارندگی (اواخر خرداد و اواخر شهریور) صورت گرفته است. جهت مقایسه نتایج اولیه در ایستگاههای مذکور، در یک ایستگاه آلوده هم Cage گذاشته شده و نتایج نمونه های آن نیز بررسی گردید. تعیین صدمات غشایی سلولهای همولنف دوکفه ای مذکور نیز با استفاده از روش Lowe و بکارگیری NRR (Neutral Red Retention assay) صورت گرفته است.

میزان تجمع و مقادیر PAH ها در بافت دوکفه ای و رسوبات ایستگاههای مورد نظر توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی طیف سنجی جرمی (GC-Mass) تعیین شده است. میانگین تجمع PAH ها در بافت دوکفه ای آنودونت $373/781 \text{ ng/g dw}$ - 115 و میانگین مقادیر PAH ها در رسوبات $1339/835 \text{ ng/g dw}$ - $34/839$ می باشد.

مقادیر فلزات سنگین نیکل و وانادیوم با استفاده از دستگاه جذب اتمی در دوکفه ای آنودونت و رسوبات سطحی اندازه گیری شده است. میزان تجمع وانادیوم در بافت آنودونتها از مقادیر غیر قابل تشخیص دستگاه تا $2/2211 \text{ } \mu\text{g/g dw}$ و مقادیر وانادیوم در رسوبات $306/9603 \text{ } \mu\text{g/g dw}$ - $1/4381$ بوده است. میزان تجمع نیکل در آنودونتهای مورد بررسی $1/3351 \text{ } \mu\text{g/g dw}$ - $0/0231$ و مقادیر نیکل در رسوبات نیز $19/3561 \text{ } \mu\text{g/g dw}$ - $0/4024$ گزارش شده است.

فاکتور تجمع زیستی - رسوبی در مورد PAH ها بیشتر از یک و در مورد فلزات سنگین مذکور کمتر از یک گزارش می شود.

علائم تخریب سلولی بر طبق روش Lowe (نظیر مرگ سلولها، از دست دادن رنگ سلولهای رنگ آمیزی شده و کاهش پایداری غشا و) مشاهده شده است.

آنالیزهای آماری انجام شده و همبستگی قوی و معنی داری بین مقادیر PAH ها و روش NRR گزارش می شود ($P < 0/0005$) اما همبستگی مناسبی بین مقادیر نیکل و وانادیوم و روش NRR در تمام موارد دیده نشد.

نتایج این پروژه تحقیقاتی حاکی از مفید بودن روش بیومارکری پایداری غشای زیستی (NRR) همولنف آنودونت در تشخیص محیط های آلوده آبی است و برای اولین بار سلولهای همولنف آنودونت (*A. cygnea*) بعنوان بیومارکری کارآمد در تعیین آلودگی PAH ها در آبهای شیرین معرفی می شود.

همچنین سلولهای همولنف آنودونت مذکور هم بررسی و شناسایی گردید و برای اولین بار انواعی از سلولهای آگرانولوسیت و گرانولوسیت در همولنف این گونه تشخیص داده شد.

کلمات کلیدی: تالاب انزلی، بیو مارکر، دو کفه ای، آنودونت (*Anodonta cygnea*)، PAH، نیکل،

وانادیوم

مقدمه:

با توجه به اهمیت تالاب انزلی بعنوان یک تالاب بین المللی، همچنین برخورداری شرایط اکوسیستمی این تالاب برای پرورش و رشد آبزیان در حاشیه جنوبی دریای خزر از یک سو و وجود جایگاه ویژه نرمتنان از سوی دیگر (پروانه، ۱۳۷۴) پایش زیستی این تالاب از اهمیت ویژه ای برخوردار است. در طول قرن اخیر وجود سفره‌های غنی نفت در بستر و حاشیه دریای خزر و بهره برداری‌های گسترده از این حوزه‌ها، آلودگی‌های نفتی زیادی را در منطقه به وجود آورده که براساس گزارش دفتر محیط زیست دریای خزر (CEP) به دلیل ویژگی‌های طبیعی این دریا، بیشتر این آلودگی‌ها به سمت جنوب دریای خزر بوده که این امر بیشترین مخاطرات را برای سواحل ایران به همراه می‌آورد^۱. متأسفانه تالاب ارزشمند انزلی نیز به دلیل ارتباط با دریای خزر و نوسانات این دریا، همواره در معرض تهدید آلاینده‌های نفتی همانند هیدروکربنهای چند حلقه ای آروماتیک یا PAHها و فلزات سنگین معمول در ترکیبات نفت خام (نظیر نیکل و وانادیم) می باشد. علاوه بر آن ورود پسابهای صنعتی و شهری که از طریق رود خانه های آلوده وارد تالاب می شوند نیز در آلودگی تالاب انزلی نقش عمده ای ایفا می کنند. این تالاب سالانه با ورود میلیونها تن فاضلاب شهری، پساب صنعتی حدود ۵۰ کارخانه و آلودگی‌های نفتی مناطق اطراف مواجه است^۲. از سوی دیگر در سالهای اخیر، توجه به آلاینده هایی نظیر PAHها و فلزات سنگینی همانند نیکل و وانادیوم بواسطه خصوصیات سرطانزایی^۳ و جهشزایی^۴ این ترکیبات، افزایش یافته است. تقریباً بسیاری از مواد دفع شده در محیط زیست بواسطه آلودگی ترکیبات نفتی یا پسابهای صنعتی، حاوی این آلاینده ها می باشند.

PAH ها به دلیل دارا بودن ماهیت چربی دوستی^۵ براحتی می‌توانند پس از ورود به زنجیره غذایی و بدن موجودات زنده، در بافت‌های چربی ذخیره و علاوه بر تجمع زیستی^۶ در بدن موجودات به دلیل سرطانزایی، خطرات جبران ناپذیری را به بار آورند. فلزات سنگین مذکور هم به دلیل خصوصیت سرطانزایی و جهشزایی می‌توانند برای موجودات زنده حتی در نسل بعدی بسیار خطرناک باشند. با توجه به موارد مذکور، لزوم تعیین مقادیر اینگونه آلاینده‌ها در محیط زیست و محیط‌های آبی بسیار حائز اهمیت بوده و علاوه بر اینکه سبب مشخص شدن وضعیت فعلی آلودگی محیط زیست نسبت به این آلاینده‌ها و انجام اقدامات مناسب مدیریتی برای رفع آنها می‌شود، همچنین می‌تواند مبنایی برای پایشهای زیست محیطی در سال‌های آتی و بررسی روند افزایش احتمالی آنها هم باشد.

¹ - <http://www.nafttimes.com/articles/1386/11/27/25>

² - <http://www.waresh.org/blog/?p=3299>

³ - Carcinogenic

⁴ - Mutagenic

⁵ - Lipophilic

⁶ - Bioaccumulation

در دهه‌های اخیر بکارگیری بیومارکرها¹ یا نشانگرهای زیستی به عنوان روشی جدید برای برنامه‌های پایش زیستی معرفی شده‌اند (Lam & Gray, 2003). یکی از بیومارکرهای مناسب بررسی پایداری غشاهای زیستی است (Lowe et al, 1995) که در این روش با استفاده از موجودات زنده مناسب (نظیر دو کفه ای‌ها)، میزان آلاینده‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرد.

در این پروژه دوکفه‌ای Anodont که بومی تالاب انزلی است مورد بررسی قرار گرفته و وجود آلاینده‌هایی نظیر PAH و فلزات سنگین همچون نیکل (Ni) و وانادیوم (V) با استفاده از تغییرات غشاهای زیستی در سلول‌های همولنف دوکفه‌ای مذکور تعیین می‌شود. البته به طور همزمان از رسوبات ایستگاه‌های مورد نظر در تالاب انزلی (که احتمال وجود آلاینده‌های فوق‌الذکر در آن‌ها بیشتر است) نیز نمونه‌برداری صورت گرفته و پس از انتقال به آزمایشگاه و آماده‌سازی آنها و انجام آنالیزهای شیمیایی با استفاده از روش‌های گاز کروماتوگرافی جرمی (GC-Mass) و جذب اتمی (Atomic Absorbption) مقادیر PAHها و فلزات سنگین Ni و V در این رسوبات و البته بافت آنودونتها تعیین شد و نتایج حاصل از روش‌های شیمیایی فوق‌الذکر (که روشهایی تایید شده هستند) با نتایج بدست آمده از روش بیومارکری مذکور (که در مورد آنودونت برای اولین بار انجام می‌شود)، مقایسه گردید.

بنابراین بطور خلاصه اهداف مورد نظر در انجام این پروژه تحقیقاتی عبارت بوده اند از:

- ۱- تعیین مقادیر PAHها در رسوبات تالاب انزلی (در ایستگاههای مورد نظر)
- ۲- تعیین مقادیر PAHها در آنودونتهای تالاب انزلی (در ایستگاههای مورد نظر)
- ۳- تعیین میزان تجمع زیستی _ رسوبی PAHها بین رسوبات و آنودونتها (Bio- sediment Accumulation Factor) در نقاط نمونه برداری شده
- ۴- تعیین مقادیر فلزات سنگین نیکل و وانادیوم در رسوبات تالاب انزلی (در ایستگاه های مورد نظر)
- ۵- تعیین مقادیر فلزات سنگین نیکل و وانادیوم در آنودونتهای تالاب انزلی (در ایستگاههای مورد نظر)
- ۶- تعیین میزان تجمع زیستی _ رسوبی فلزات سنگین نیکل و وانادیوم بین رسوبات و آنودونتها (Bio- sediment Accumulation Factor) در نقاط نمونه برداری شده
- ۷- تعیین پایداری غشایی سلولهای همولنف آنودونت با استفاده از تکنیک (NRR) یا Neutral Red Retention Assay
- ۸- بررسی ارتباط بین مقادیر شیمیایی آلاینده های PAH و فلزات سنگین Ni ، V و پاسخ بیولوژیک سلولهای همولنف آنودونت به این آلاینده ها

¹ - Biomarkers

فصل اول

کلیات

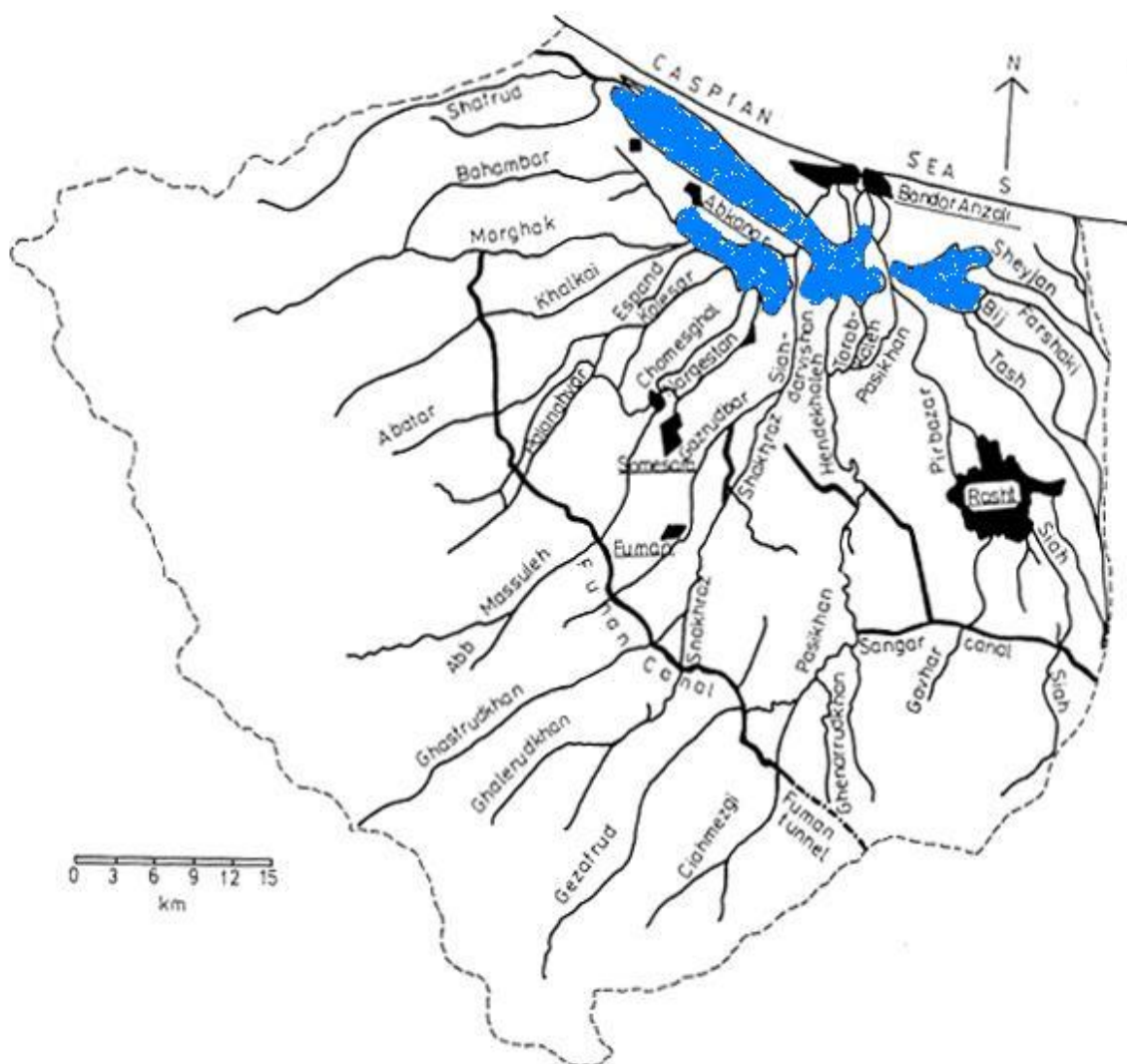
۱-۱ تالاب انزلی

تالاب انزلی منطقه وسیعی با شرایط متفاوت زیست محیطی است که وسعتی بین ۲۰۲ - ۱۹۳ کیلومتر مربع را دربرمی گیرد و از گستره آب شیرین با بستری از نیزار و مناطق کم عمق و چمنزارهایی که به صورت فصلی غرقاب می شوند، تشکیل گردیده است. تالاب انزلی بستر و محل مناسبی برای تخم گذاری و پرورش ماهیان و زمستان گذرانی گروه کثیری از پرندگان مهاجر است که از مناطق سردسیر سیبری یا دیگر مناطق جهان به این ناحیه مهاجرت می کنند. تالاب انزلی توسط یک مرز شنی (خشکی) یعنی شهر بندر انزلی با جمعیت حدود ۱۲ هزار) از دریای خزر جدا شده است^۱. این تالاب یکی از تالابهای ساحلی مهم است که در شمال ایران در استان گیلان و در موقعیت جغرافیایی ۳۷ درجه و ۲۸ دقیقه عرض شمالی و ۴۹ درجه و ۲۵ دقیقه طول شرقی در جنوب دریای خزر واقع شده و از شمال به دریای خزر، از شرق به پیربازار، از غرب به کپورچال و آبکنار و از جنوب به صومعه سرا و قسمتی از شهرستان رشت محدود می گردد (جمالزاده فلاح، ۱۳۷۷).

در مورد تکوین تالاب انزلی نظرات متفاوتی است که قابل قبول ترین نظریه این است که تالاب انزلی در آغاز قرن پانزدهم بر اثر تشکیل دو زبانه خشکی باریک و شنی به پهنای ۹ تا ۲۷۰ کیلومتر و کاهش ارتفاع سطح آب دریا شکل گرفته بنابراین تالاب انزلی از نظر زمین شناسی بسیار جوان تشخیص داده شده و اعتقاد بر این است که در چند مرحله شکل گرفته است (جلیلی، ۱۳۷۵)

بیشتر نواحی شرقی تالاب و منطقه حفاظت شده سیاه کشیم به طور گسترده ای پوشیده از نیزار است. اما غرب و نواحی مرکزی دارای سطح باز آبی است. این تالاب در خرداد ماه سال ۱۳۵۴ (ژوئن ۱۹۷۵) در کنوانسیون رامسر به ثبت رسید. نوسانات سطح آب دریای خزر و پدیده یوتریفیکاسیون (غنی سازی آب توسط مواد مغذی)، که در اثر ورود فاضلاب تصفیه نشده ایجاد می شود، باعث شد که اکوسیستم تالاب رو به زوال نهد و با توجه به این موضوع کنوانسیون رامسر تصمیم گرفت که تالاب انزلی را در فهرست مونترو به ثبت برساند و متذکر شود که اقدامات احیای تالاب باید بدون فوت وقت صورت گیرد^۱.

^۱ - http://anzali.irandoe.org/condition_wetland_farsi.htm



شکل ۱-۱ موقعیت و حوضه آبخیز تالاب انزلی

[http:// www.fao.org/docrep/006/AD192E/AD192E03...](http://www.fao.org/docrep/006/AD192E/AD192E03...)

۱-۲ حوضه آبریز تالاب انزلی:

حوضه آبریز تالاب انزلی مساحتی برابر ۳۷۴۰۰۰ هکتار دارد که از این مساحت ۵۳/۹٪ را جنگل و مرتع و ۲۳/۲٪ را زمین های کشاورزی و ۸/۷٪ را تالاب، آب بندان ها و استخرها تشکیل می دهد و مناطق انسان ساخت ۳/۷٪ استفاده از زمین را به خود اختصاص داده اند. حوضه تالاب انزلی از نظر آب و هوایی معتدل و نزدیک به حد مناطق سرد شمالی است. بارندگی متوسط سالیانه حوضه آبخیز حدود ۱۵۰۰ تا ۲۰۰۰ میلی متر که در منطقه تالاب ۱۷۵۳ میلی متر در سال می باشد. نزولات جوی به صورت آبهای جاری از حوضچه های آبریز کاسه ای شکل دامنه های شمالی البرز در محدوده ای از دره رودخانه سفارود تا دره سفید رود از طریق حدود ۲۵ رودخانه کوچک و بزرگ وارد تالاب می گردد. آب تالاب به وسیله ۵ رشته

رودخانه به ترتیب از شرق به غرب سوسرروگا، پیربازارروگا، راسته خاله و نهنگ روگا، شنبه بازارروگا به دریای خزر می ریزد (جمالزاده فلاح، ۱۳۷۷).

حوضه آبریز تالاب انزلی به سه محدوده زیر تقسیم می شود:

- ۱- بخش ساحلی محدود به خط تراز ۲۵ متر
- ۲- دشتهای حوضه آبریز که تقریباً محدود به خط تراز صفر است.
- ۳- دامنه های حوضه آبریز که تقریباً از غرب به سفارود، از شرق به سفید رود و از جنوب به کوههای البرز محدود می شود (جمالزاده فلاح، ۱۳۷۷).

تالاب انزلی از چهار بخش زیر تشکیل می شود:

۱- بخش غربی: این بخش تالاب بطور کلی ژرف ترین و پرآب ترین قسمت است. طی چند سال اخیر بر اثر بالا آمدن سطح آب دریای خزر، از مدت زمان شکوفایی گیاهان شناور و غوطه ور کاسته شده و بسیاری از توده های نی از میان رفته اند و اثر کمتری از گیاهان درون آبی بر جای مانده است (جمالزاده فلاح، ۱۳۷۷). بخش غربی تالاب (آبکنار) که سابقاً به نام خلیج کپورچال نامیده می شد طبق نظر کارشناسان در حال حاضر در مقایسه با سایر مناطق تالاب زنده تر و فعال تر است. این قسمت بزرگ ترین قسمت آبی تالاب را تشکیل می دهد و به دلیل عمق و سطح نسبتاً زیاد به دریاچه ای می ماند و عمق آن گاهی به ۳ متر می رسد (جلیلی، ۱۳۸۵).

۲- سیاه کشیم: این منطقه جنوبی ترین بخش تالاب انزلی است. تالاب سیاه کشیم توسط شبه جزیره آبکنار (ماهروزه) و نیز رسوب گذاری و دلتاسازی رودخانه سیاه درویشان از دیگر قسمت های تالاب انزلی جدا شده و از طریق تنگه باریکی که در شمال شرقی آن قرار دارد به بخش مرکزی تالاب انزلی وارد می شود و جنوبی ترین قسمت تالاب را تشکیل می دهد. بین دو طول شرقی ۴۹ درجه و ۱۷ دقیقه و ۴۹ درجه و ۲۵ دقیقه و عرض های شمالی ۳۷ درجه و ۲۲ دقیقه و ۳۷ درجه و ۲۷ دقیقه قرار دارد و مهم ترین زیستگاه پرندگان مهاجر تالاب است. عمق متوسط منطقه سیاه کشیم حدود ۱ متر است و دارای چهار پهنه آبی بوده و از طریق بهمبرروگاه به رودخانه سیاه درویشان متصل شده و از آن به بعد مسیر غربی تالاب را در پیش می گیرد تا به دریای خزر متصل گردد (جلیلی، ۱۳۸۵).

۳- بخش شرقی: این بخش دارای عمق کمتری بوده و حوضچه شرقی تالاب شیجان هم نامیده می شود و رودخانه چوگام به آن می ریزد. رشد گیاهان آبی در این ناحیه بسیار زیاد بوده و دارای گونه های گیاهی فراوانی است (جلیلی، ۱۳۸۵).

۴- بخش مرکزی: تهاجم وسیع گیاهان شناور و گیاهان پایاب به ویژه گیاه نی باعث خشک شدن قسمت های وسیعی از آن گردیده است. بخش مرکزی مقابل کانال انزلی و محل الحاق آب قسمت های

مختلف تالاب و هدایت آن به سمت دریای خزر می باشد. رودخانه مهمی که به این بخش وارد می شود سیاه درویشان است (جلیلی، ۱۳۸۵).

۱-۳ موجودات تالاب انزلی

شرایط ویژه اکوسیستم تالاب و وضعیت اقلیمی مناسب، زیستگاه مساعدی را برای بسیاری از گیاهان و جانوران فراهم آورده بطوری که حتی برخی از جانوران در زمانهای خاصی از سال (فصل زمستان یا زمان تخم ریزی) برای رسیدن به شرایط مناسب آن به این تالاب مهاجرت می نمایند. اما بطور خلاصه می توان گیاهان و جانوران را به شرح زیر بیان نمود:

۱-۳-۱ گیاهان

گیاهان موجود در تالاب انزلی به طور کلی در چهار گروه طبقه بندی شده اند: ۱- گیاهان غوطه ور ۲- گیاهان شناور ۳- گیاهان بن در آب و ۴- گیاهان خشکزی. ۹ گونه از گیاهان غوطه ور (نظیر زارم واش در وسعت بالا)، ۱۱ گونه از گیاهان شناور (همانند سه کوله خیز، عدسک آبی و سله باقلا یا لاله مردابی)، ۱۱ گونه از گیاهان بن در آب (نظیر نی - لویی) و ۶ گونه از گیاهان خشکزی را می توان در تالاب انزلی مشاهده نمود (http://anzali.irandoe.org/condition_wetland_farsi.htm).

۱-۳-۲ جانوران

همچنین مهره داران و بی مهرگان مختلفی هم در تالاب وجود دارند که به مهمترین آنها اشاره می شود:

الف) پرندگان

۱۴۵ گونه پرنده مهاجر در ایران شناخته شده اند. ۷۷ گونه (۵۳ درصد) از این پرندگان را می توان در تالاب انزلی مشاهده نمود. در سال ۱۳۸۱ حدود ۷۰۰ هزار پرنده مهاجر از قبیل اردک، غاز، قو و چنگر در تالاب مشاهده شده اند که از سیبری یا دیگر مناطق جهان به این ناحیه مهاجرت کرده اند. تالاب انزلی یکی از مهمترین زیستگاهها برای زمستان گذرانی پرندگانی نظیر باکلان کوچک است که در اواسط زمستان به طور منظم پذیرای بیش از ۵۰۰ پرنده می باشد. پلیکان سفید، پلیکان پا خاکستری، و غاز پیشانی سفید کوچک از پرندگانی محسوب می شوند که بسته به شرایط آب و هوایی در این مکان زمستان گذرانی می کند. این منطقه به عنوان گذرگاه پرندگانی نظیر اردک سر سفید، سلیم سینه بلوطی، خروس کولی شکم سیاه و پاشلک کوچک به ثبت رسیده است. از گونه های ارزشمند دیگر پرندگانی شامل قوی کوچک، اردک

بلوطی، عروس غاز و اردک سر سیاه را می توان نام برد که در ایران در معرض خطر انقراض می باشند (http://anzali.irandoe.org/condition_wetland_farsi.htm).

ب) پستانداران

از بین پستانداران این نواحی می توان به گربه جنگلی، گراز وحشی و شنگ (سمور آبی) اشاره نمود (http://anzali.irandoe.org/condition_wetland_farsi.htm).

ج) آبزیان

تالاب انزلی یک مخزن آب لب شور با عمقی کم به شمار می رود. خروجی تالاب انزلی به دریای خزر می ریزد. این امر باعث شده که تالاب به عنوان مکان مناسبی برای تخم گذاری گونه های ماهیان به شمار آید. ۳۹ گونه از ۴۹ گونه ماهیان تالاب انزلی منحصراً فقط در تالاب زندگی می کنند و بقیه مهاجرت هم دارند. زالون، رفتگر سنگی، گاوماهی مرمری، سیم، سس ماهی، ماهی ریز نقره ای، سوف هشرخان، و کولی از گونه های رایج ماهیان تالاب می باشند. سفید و سوف که از ماهیان مهاجر هستند برای تخم ریزی و زاد و ولد به تالاب آمده و پس از تخم ریزی مجدداً به دریا باز می گردند. کپور ماهیان و اردک ماهی از ماهیان بومی تالاب هستند که به طور دائم در تالاب زیست می کنند. به نظر می رسد تغییرات درجه حرارت دریا و شرایط محیطی تالاب به گونه ای است که این زیستگاه را مساعدترین محل برای تخم گذاری ماهیان و پرورش طبیعی بچه ماهیها ساخته است. همچنین تالاب انزلی با داشتن آب شیرین و انواع گیاهان و حیوانات آبی از نظر تغذیه زیستگاه مناسبی برای ماهیان به شمار می رود. جریان و آرامش نسبی آب در تالاب امکان آمیزش اسپرم ماهی نر با تخم ماهی ماده را در شرایط مطلوب فراهم می سازد و ریشه گیاهان مکان مناسبی را برای تخم ماهیان و گذراندن مراحل لاروی آنان بوجود می آورد (http://anzali.irandoe.org/condition_wetland_farsi.htm).

از دیگر سو انواعی از شکم پایان و دو کفه ای ها هم در تالاب انزلی وجود دارند. یکی از مهمترین دوکفه ای ها موجود در این تالاب، دوکفه ای مردابی یا آنودونت (*Anodonta Cygnea*) می باشد.



شکل ۱-۲ دو کفه ای *Anodonta cygnea* تالاب انزلی (عکس از نگارنده)

۱-۴ رده بندی آنودونت: همانطور که اشاره شده *A. cygnea* از دو کفه ای های مهم تالاب انزلی می باشد. آنودونت از شاخه نرم تنان و رده تیرپایان یا دو کفه ای هاست. رده بندی سیستماتیک آنودونت به طور خلاصه به شرح زیر می باشد:

جدول ۱-۱ معرفی رده بندی و سیستماتیک *Anodonta cygnea*

Mollusca	Phylum
Pelecypoda – Bivalves	Class
Eulamellibranchia	Order
Schizodonta	Sub order
Unionidae	Family
Anodonta	Genus
Cyanea	Speicies

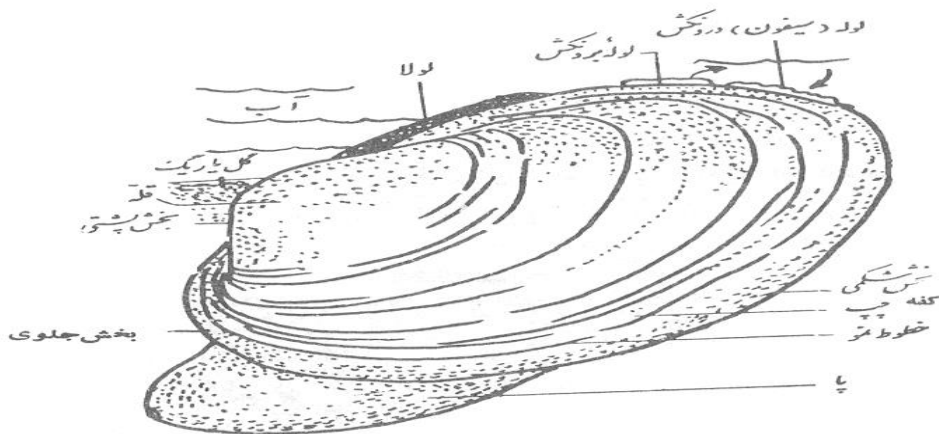
۱-۵ ساختمان آنودونت (*A. cygnea*)

صدف این جانور تا اندازه ای تخم مرغی شکل و عبارت از اسکلت خارجی محکمی است که بدن را محافظت می کند و بکار اتصالات عضلانی می آید. کفه های (Valves) راست و چپ متقارن است. حاشیه های نازکتر صدف شکمی و حاشیه های کلفت تر آن پشتی می باشد. در ناحیه پشتی قسمتهای زیر دیده می شود:

۱- دندانهای لولایی (در *Anodonta* دندان وجود ندارد) که کفه ها را به یکدیگر سوار می کنند و هنگامیکه صدف باز و بسته می شود مانند یک محور یا پاشنه عمل می نماید.

۲- یک رباط لولایی الاستیک میان کفه ها واقع است که به کشیدن و نزدیک کردن آنها از پشت به طرف یکدیگر و جدا کردن حاشیه های شکمی شان کمک می کند و به عبارت دیگر دو کفه را در حاشیه های شکمی از هم دور می کند.

۳- یک برآمدگی (قوز Umbo) متورم در هر کفه وجود دارد که معرف قدیمی ترین (کهنه ترین) قسمت آن است. به دور برآمدگی صدف تعداد زیادی خطوط رشد و نمو نزدیک هم وجود دارد که نشانه مراحل متوالی و متناوب رشد و نمود می باشد. خطوط سالیانه مشخص تر و واضح تر است (حبیبی، ۱۳۸۴). صدف از چند طبقه تشکیل یافته است:



شکل ۱-۳ نمایش سطح خارجی آنودونت (حبیبی، ۱۳۸۴)

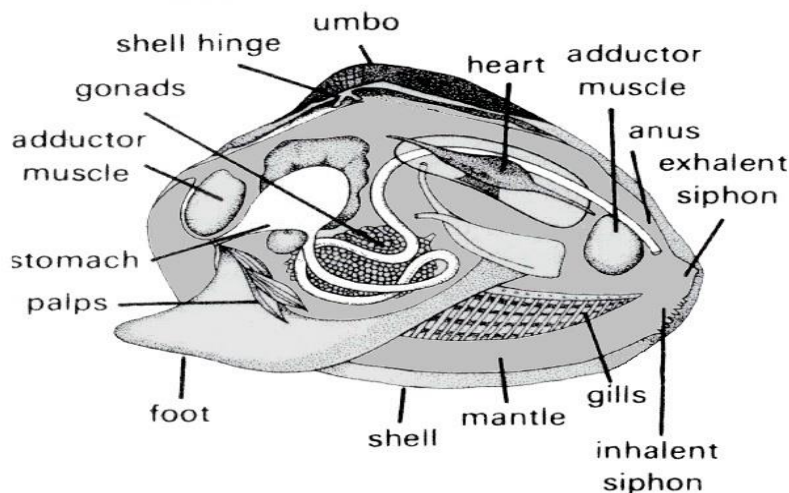
۱- روصدف (ضریع) در خارج که یک پوشش نازک، رنگین و شاخی است و در نمونه های مختلف رنگهای خاصی دارد و قسمتهای زیر را که در آب اسید کربنیک دار حل می شود محافظت می کند. روصدف را کوتیکول یا پوستک نیز می نامند. برآمدگی یا قوز موجود در صدف های کهنه دو کفه ای ها غالباً در موردی که این لایه فرسوده و ساییده می شود، فاسد و خراب می گردد.

۲- یک لایه (طبقه) منشوری در وسط که از جنس کربنات کلسیم متبلور می باشد.

۳- قسمت داخلی صدف از ورقه های نازکی بوجود آمده است که جنس آن متناوباً از ترکیبات آهکی و یک جسم آلی بنام کنکیولین (Conchioline) می باشد و تابش و انعکاس نور تالالو خاصی به آن می بخشد که باعث جلای داخلی صدف می باشد. این لایه در دو کفه ای ها لایه مرورایدساز نامیده می شود. صدف نرم تنان از چین خوردگی پوست بدن بوجود می آید. دو لایه خارجی توسط لبه روپوش و قسمت داخلی صدف به وسیله تمام سطح روپوش بوجود می آید. به این جهت هر گاه قسمتی از صدف شکسته شود به وسیله لایه داخلی ترمیم می گردد. صدف از طریق افزایش پیرامون حاشیه و ضخیم شدن به وسیله رسوبات

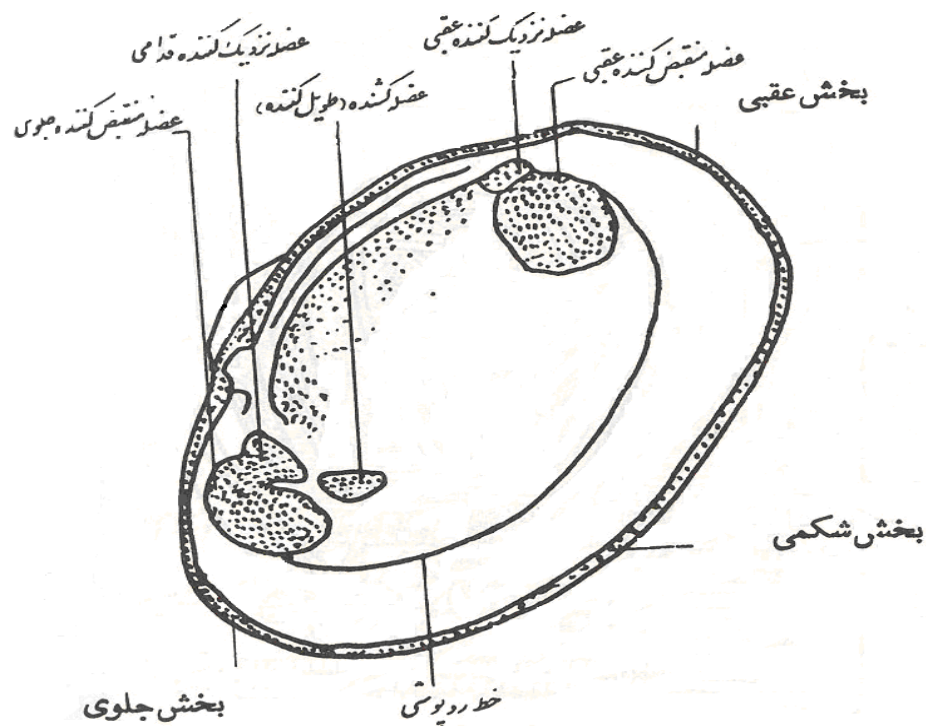
متوالی صدف داخلی، در سطح و ضخامت رشد و نمو پیدا می کند و در زیر برآمدگی یا قوز از همه جا ضخیم تر است (حبیبی، ۱۳۸۴).

بدن نرم آنودونت هم که درون صدف جای دارد از قسمتهای زیر تشکیل می گردد:
 توده احشایی متورم در وسط که از پشت چسبیده و محتوی اندامهای گوناگون است. قسمت قدامی شکمی آن پای عضلانی را می سازد. در هر طرف اندامهای مزبور یک جفت آبشش نازک آویزان است و در خارج آب شش ها یک قطعه روپوش وجود دارد. هر قطعه روپوش عبارت از ورقه نازک بافتی است که به سطح داخلی یک کفه می چسبد (شکل ۱-۴).



شکل ۱-۴ نمایش بخشهای داخلی دوکفه ای (<http://www.manandmollusc.net>)

حاشیه های آزاد روپوش عضلانی است و به منظور بستن حفره روپوش از داخل به همدیگر می رسد. حاشیه های روپوش دو لوله کوتاه می سازد یکی لوله شکمی یا درونکش (سیفون ورودی) و دیگری لوله پشتی یا برونکش (سیفون خروجی) در نتیجه عمل مژکهای که سطوح داخل حفره روپوش را می پوشاند آب از سوراخها داخل و خارج می شود. به عبارت دیگر در آنودونت روپوش در سمت جلو کاملاً متصل و با دو منفذ به خارج مربوط است. حفره روپوشی بین روپوش و بدن واقع شده است و آبشش ها در داخل آن قرار دارد. منفذ تناسلی در حفره روپوشی باز می شود. اغلب محل روپوش، در داخل صدف به شکل خط پیوسته ای نمایان است که به اسم خط روپوشی (خط پائثال) نامیده می شود. علاوه بر آن آثاری در سطح داخلی هر کفه وجود دارد که محل اتصال عضلات است (شکل ۱-۵).



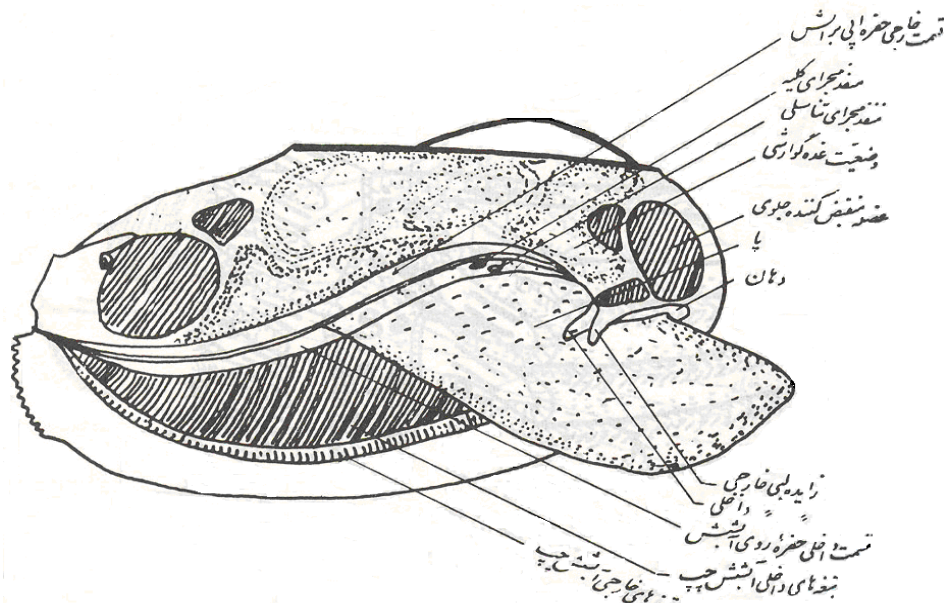
شکل ۱-۵ نمایش محل اتصالات عضلات و خط روپوشی آنودونت (حبیبی، ۱۳۸۴)

این عضلات عبارتست از: نزدیک کننده های قدامی و خلفی بزرگ که هر دو عرضی می باشد و انقباض آنها دو کفه صدف را به هم نزدیک می نماید و نیز در بدن آنها عضلاتی وجود دارد که باعث انقباض و جمع شدن پا به داخل صدف و یا عضله ای که باعث طویل شدن پا و خارج شدن آن از صدف می باشد (حبیبی، ۱۳۸۴).

۱-۶ دستگاه گوارش آنودونت

دستگاه گوارش در آنودونت شامل دهان کوچکی است که در میان دو زایده حساس لبی گوشتی و نازک به نام شاخکهای حساس لبی (Labial palps) واقع شده است. مری آنها کوتاه بوده و معده مدور می باشد و در عقب توده احشایی قرار دارد و به وسیله مجاری خاصی به غده گوارش زوج (کید) متصل می گردد. روده باریک بوده در توده احشایی بالای پا پیچ خورده است. روده راست از قلب احاطه شده است. مخرج داخل لوله پشتی باز می شود. در خارج معده کیسه ایست به نام روده کور باب المعده ای (Pyloric caecum) که معمولاً محتوی یک میله شفاف و قابل انحناء به نام میله بلوری می باشد و آنزیم مخصوص مواد نشاسته ای را که در گوارش پلانکتون مفید است تهیه می کند (حبیبی، ۱۳۸۴). در روده

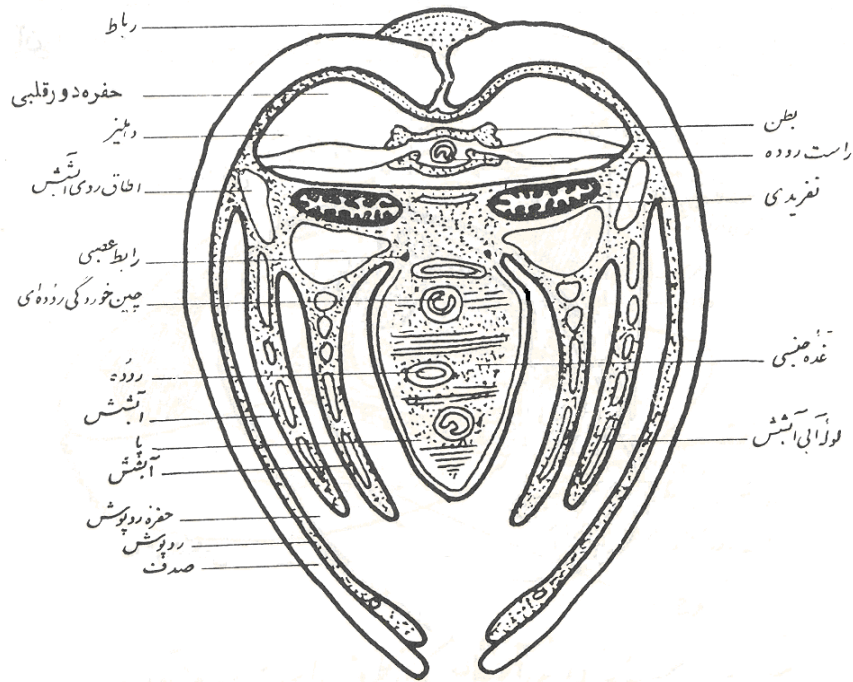
راست یک چین طولی با لوله کور وجود دارد که سطح داخلی آن را افزایش می دهد (مانند کرمهای خاکی) دهان فاقد سوهانک است (شکل ۶-۱).



شکل ۶-۱ نمایش دستگاه گوارش آنودونت (حبیبی، ۱۳۸۴)

۷-۱ گردش خون آنودونت

دستگاه گوارش خون (همولنف) از یک قلب پشتی که دارای دو دهلیز و یک بطن است تشکیل می گردد و دهلیزها با بطن ارتباط دارد. بطن به دور روده راست (رکتوم) واقع شده و درون حفره دور قلبی جای دارد. بطن خون را به طرف جلو در یک آنورت قدامی وارد می کند و بدین ترتیب پا و احشاء را به استثنای کلیه ها و آبشش ها مشروب می سازد. (شکل ۷-۱).



شکل ۱-۷ نمایش مقطع آنودونت از ناحیه قلب (حبیبی، ۱۳۸۴)

همچنین در نتیجه عمل تلمبه ای بطن، خون به طرف عقب در آنورت خلفی رفته به روده راست و روپوش می رسد. خونی که در روپوش اکسیژن دار شده است، مستقیماً به طرف دهلیزها باز می گردد. ولی خونی که در سایر اندامها جریان دارد در سیاهرگی که به طرف کلیه ها می رود جمع شده، از آنجا برای اکسیژن گیری به سوی آبشش ها جریان می یابد و سپس به قلب بازمی گردد. مقداری از خون سرخرگی داخل رگهایی می شود که از اپتلیوم آستر شده است، مقداری نیز به داخل سینوسهایی می ریزد که آستر سلولی ندارد مثلاً در پا این کیفیت دیده می شود. قسمتی از خون هم به فضاهای داخل سلولی منتشر می شود. همولنف، اکسیژن و مواد مغذی محلول را به تمام قسمت های بدن حمل می کند. همچنین انیدرید کربنیک را در آبششها و روپوش و فضولات آلی را در کلیه ها از دست می دهد (حبیبی، ۱۳۸۴).

۱-۸ دستگاه تنفس آنودونت

اندامهای تنفسی عمده حیوان عبارتست از دو جفت آبشش (کتیئیدیا) که هر آبشش از دو تیغه (دو ورقه) نازک درست می شود و دو تیغه مزبور از حاشیه های شکمی به هم اتصال دارد. هر تیغه از تعداد زیادی میله های عمودی تشکیل می گردد. میله های مذکور به وسیله محورهای کیتینی تقویت شده است و توسط میله های افقی به همدیگر متصل می باشد و در میان خود سوراخهای کوچکی دارد. بین دو تیغه

دیواره های عرضی یا پیوندگاههای بین تیغه ای داخل یک آبشش را به تعداد زیادی لوله های آبی عمودی تقسیم می کند.

لوله های آبی هر آبشش از پشت به یک اطاق (حجره، محفظه) فوق آبششی مشترک متصل می شود. اطاق فوق آبششی نیز در عقب تا لوله برونکش امتداد می یابد. از حفره روپوشی به اطاق فوق آبششی هر آبشش داخلی، یک معبر (راه) شکاف مانند وجود دارد. خون قبل از بازگشت به قلب، به منظور هواگیری، از سیاهرگهای کلیه به طرف رگهای آویزان و ویران پیوند گاههای بین تیغه ای جریان می یابد. زیر حفره دور قلبی دو کلیه وجود دارد که فضولات آلی را از خون و مایع حفره دور قلبی خارج می سازد. هوای محلول در آب اکسیژن لازم را جهت انجام عمل تنفسی در آبششها فراهم می سازد. آب از منافذ و لوله های آبی در بالا به طرف اطاقهای فوق آبششی عبور کرده از لوله برونکش خارج می گردد و در این هنگام انیدرید کربنیک، مواد دفعی و فرآورده های جنسی فصل را با خود بیرون می برد (حبیبی، ۱۳۸۴).

۹-۱ دستگاه دفع آنودونت

هر کلیه عبارت است از لوله ای که به شکل (U) می باشد و در آن یک شکاف مژکدار وجود دارد که به حفره دور قلبی مربوط است، یک ناحیه غده ای مجاور سیاهرگ و یک مثانه که از سوراخ مژکداری به داخل اطاق فوق آبششی واقع در آبشش داخلی تخلیه می گردد، هم دیده می شود. در ضمن جنس های نر و ماده از هم مجزا هستند (ولی از خارج به هم شباهت دارند) و در هر جنس غده های تناسلی بسیار منشعب و نزدیک پیچ های روده ای در توده احشایی وجود دارد که هر یک به وسیله مجرای کوتاهی در نزدیک شکاف کلیه تخلیه می شود (حبیبی، ۱۳۸۴)

۱۰-۱ دستگاه عصبی آنودونت

دستگاه عصبی شامل سه جفت عقده عصبی است. عقده مغزی در زیر مری، عقده پایی در زیر پا و عقده احشایی زیر عضله نزدیک کننده عقبی واقع است. هر جفت از عقده ها به وسیله رابطی به یکدیگر اتصال دارد. علاوه بر اعصابی که به اندامهای مختلف می رود رابط های مغزی - پایی و مغزی - احشایی نیز وجود دارد.

ساختمان های حسی عبارتست از قسمت های حساس به نور در حاشیه های لوله ها، اندامهای لمسی در لبه روپوش، یک جفت استاتوسیست (برای تعادل) در پا و یک اوسفرادیوم (Osphradium) در بالای هر عقده احشایی. درباره اوسفرادیومها، حدس زده می شود که به منزله گیرندگان شیمیایی (Chemoreceptors) جهت آزمایش آب وارده (داخل شونده) می باشند (حبیبی، ۱۳۸۴).

۱-۱۱ وضعیت و نوع حرکت آنودونت

دو کفه ایهای آب شیرین نظیر آنودونت در دریاچه ها، و نهرها زندگی می کنند. بعضی در آبهای راکد و بقیه در آبهای جاری (روان) به سر می برند. این جانوران ممکن است شبها به جاهای کم عمق و روزها به جاهای عمیق تر بروند و مسکن خود را بر حسب فصل تغییر دهند. اینها معمولاً تا اندازه ای در شن یا گل فرو رفته و یا میان صخره ها جای گرفته اند. در این حالت کفه ها منحصراً گسترده، حاشیه های روپوشی بسته و لوله ها آشکار و روباز می باشد. این جانوران با گستردن پا، میان کفه ها، به منظور پهن کردن یا قلاب کردن آن به داخل مواد کف آب و سپس با کشیدن بدن در مسیر به وسیله انقباض عضلات پا حرکت و گردش می کنند. پر شدن و خالی شدن سینوسهای خونی پا در عمل حرکت مؤثر است (حبیبی، ۱۳۸۴)

۱-۱۲ تغذیه آنودونت

در نتیجه عمل مژکهای پوشاننده روپوش و آبشش ها آب از لوله درونکش به داخل حفره روپوشی کشیده می شود.

ترکیبات ریز مواد آلی و موجودات زنده کوچک (دیاتمه ها Diatoms، تک یاخته ایها و غیره) که در آب وجود دارند، غذای این جانوران را تشکیل می دهند. ماده غذایی در مخاط آبششها یا روپوش به دام افتاده، به وسیله مژکهای زنده این اندامها به طرف شاخکهای حساس لبی و دهان کشانیده می شود. غذا در معده گوارش می یابد، ترشحات «کبد» در این امر کمک می کند و جذب غذای گوارش یافته در روده صورت می گیرد. بقایای غذاهای گوارش نیافته از مخرج خارج می شود (حبیبی، ۱۳۸۴)

با توجه به توضیحات فوق مشخص می گردد که نوع تغذیه در دوکفه ایها از جمله آنودونت از طریق فیلتره کردن^۱ آب بوده و بر همین بنا آلاینده های مختلف موجود در محیط (نظیر فلزات سنگین و PAHها) می توانند وارد بدن این دو کفه ای شده و حتی در برخی موارد در بافتهای بدن جانور تجمع زیستی یابند.

۱-۱۳ پراکنش آنودونت

دو کفه ای آنودونت دارای پراکنش بالایی در گستره آبهای شیرین در قاره های آفریقا، آسیا، اروپا و آمریکا بوده و گونه های مختلفی از این جنس در این مناطق مشاهده می شوند.

^۱ - Filter Feeder

جدول ۱-۲ پراکنش آنودونت در جهان (خوشخو، ۱۳۸۴)

نام گونه / پراکنش	قاره آسیا	قاره اروپا	قاره آفریقا	قاره آمریکا
<i>A. anatina</i>	غرب آسیا	سیبری، شمال ایتالیا تا سوئد، فرانسه و آلمان	بخش کوچکی از افریقای شمالی	امریکای شمالی
<i>A. arcaeformis</i>	چین و آسیای مرکزی	شوروی سابق	-	-
<i>A. beringiana</i>	شرق آسیا در حاشیه اقیانوس آرام	شوروی سابق	-	امریکای شمالی
<i>A. cellensis</i>	برخی کشورهای حاشیه دریای خزر	کل اروپا، رودولگا	-	آمریکای شمالی در حاشیه اقیانوس منجمد شمالی
<i>A. cygnea</i>	ایران، کشورهای حاشیه دریای خزر	غرب سیبری، اروپای شمالی و مرکزی	بخش کوچکی از افریقای شمالی	آمریکای شمالی
<i>A. cyrea</i>	آسیای میانه و غربی	شوروی سابق	-	-
<i>A. euscaphys</i>	چین و آسیای مرکزی	شوروی سابق	-	-
<i>A. gibbosa</i>	-	-	-	آمریکای مرکزی و شمالی و اطلس جنوبی
<i>A. kenneerlyi</i>	شمال اقیانوس آرام	-	-	-
<i>A. muttalliana</i>	-	-	-	رودخانه های نزدیک پورتلند
<i>A. piscianalis</i>	برخی کشورهای اطراف دریای خزر	مرکز و شمال اروپا و غرب سیبری	-	آمریکای شمالی
<i>A. rossmaessleri</i>	-	دانوب و دنی استر	-	آمریکای شمالی
<i>A. sedakovi</i>	-	غرب و شرق سیبری	-	آمریکای شمالی
<i>A. suborbiculata</i>	-	-	-	آمریکا
<i>A. woodiana</i>	نواحی جنوبی چین، کامبوج، تایلند، ژاپن و حوضه آمو	شوروی سابق، اروپای شمالی	-	-

۱-۱۴ آلودگیهای تالاب انزلی

همانطور که اشاره شد تالاب انزلی به دلیل شرایط بحرانی آن در لیست مونتر و^۱ قرار گرفته و در صورتی که به وضعیت آن رسیدگی نشود در آینده ای نه چندان دور یکی از زیستگاه های مهم حیات وحش ایران دچار مشکلات جبران ناپذیری می شود.

از معضلات مهم تالاب انزلی، آلودگیهای آن است که در بسیاری موارد به واسطه رودخانه های مختلفی که به این تالاب می ریزد وارد آن می شود. در واقع ارتباط این تالاب با حوضه آبخیزش به وسیله شبکه های رودخانه ای پیچیده ای تحقق می یابد که از این طریق بارهای حوضه آبخیز به تالاب حمل می شود. آلودگیهای وارده به تالاب به دو گروه اورگانیک (آلی) و غیراورگانیک (نظیر پسابهای صنعتی کارخانجات مرتبط) تقسیم می شود که آلودگیهای اورگانیک وارده عبارتند از:

۱- ۴۳/۲٪ از کل حوضه آبخیز از جنگل تشکیل شده است، خزان رویشهای جنگلی در قسمت بالای رودخانه و انتقال برگ های پوسیده کف جنگل توسط باران های منطقه ای به رودخانه و حمل آنها به تالاب اولین بار مواد آلی اورگانیک برون زای تالاب است.

۲- دومین بار اورگانیک نتیجه فعالیت دامداری می باشد که این بخش اورگانیک سهم کمی از مواد آلی هدایت شده به سوی تالاب را به خود اختصاص می دهد.

۳- سومین بار اورگانیک مربوط به صنایع غذایی بوده که سبب آلودگی بسیار متمرکزی می باشد.

۴- مهمترین بار آلودگی اورگانیک ناشی از فاضلاب های خانگی (شهری) است، تقریباً ۵۰٪ کل جمعیت حوضه آبخیز در دو شهر رشت و انزلی که دارای کانال حمل فاضلاب شهری می باشند اسکان یافته اند. فاضلابهای خانگی این شهرها در بسیاری موارد تصفیه نشده و مستقیماً به رودخانه های ورودی و خروجی های تالاب می ریزند (جمالزاده فلاح، ۱۳۷۷).

۵- همچنین فعالیتهای کشاورزی هم در اطراف تالاب سهم مهمی در افزایش بار آلودگی آلی تالاب به عهده دارند. استفاده از آفت کش ها و سموم آلی و کودهای شیمیایی در این بخش حائز اهمیت هستند. بنابر موارد فوق، رسیدگی به وضعیت آلودگی تالاب از اقدامات مهم زیست محیطی است که در این راستا می بایست ضمن بررسی دقیق نوع آلاینده ها و مقادیر آنها با پایش های سالانه روند گسترش آلودگیهای تالاب را مدیریت و کنترل نمود.

در این میان وضعیت توریستی منطقه هم می تواند بخش دیگری از آلودگیها را به تالاب انزلی تحمیل نماید. بازدید سالانه بیش از یک میلیون نفر توریست از این منطقه و تردد قایق های موتوری و نشت سوخت آنها قطعاً در محیط آبی این منطقه تأثیر گذار است. علاوه بر آن اکتشافات نفتی و روند رو به رشد

^۱ - فهرست مونتر و، فهرستی از تالابهای ثبت شده در کنوانسیون رامسر است که هم اکنون آسیب دیده اند یا در معرض آسیب قرار گرفته اند. اکنون ۷ مجموعه تالابی از ۲۲ مجموعه تالاب ایران در این فهرست قرمز قرار گرفته است! (<http://aftab.ir/news/2008/feb/17>).

بهره برداری از ذخایر نفتی در دریای خزر که سبب بروز آلودگی نفتی در دریای خزر گردیده هم بی تأثیر نخواهد بود. با توجه به جهت حرکت جریان آب در حوضه جنوبی دریای خزر (که عکس جهت عقربه های ساعت می باشد) و تولید سالانه بالای نفت در برخی کشورهای حوضه دریای خزر (نظیر آذربایجان) به سمت ایران از یک سو و نوسانات سطح آب در دریای خزر و وابستگی سطح آب تالاب به این دریا از دیگر سو، احتمال افزایش آلودگی ترکیبات نفتی نظیر PAHها در تالاب انزلی دور از تصور نیست.

۱-۱۵ منابع آلوده کننده محیط های آبی و اثرات آنها

بطور کلی مواد زائد به روشهای مختلف موجبات آلودگی محیط های آبی را فراهم می سازند. برخی از مهمترین منابع آلودگی محیط های آبی عبارتند از:

۱- فاضلابها و پسابهای محلی: شامل عوامل بیماریزا، باقیمانده مواد غذایی (که به دلیل افزایش رشد بی رویه گیاهان سبب کاهش DO آب و مرگ آبزیان می گردد) و مواد جامد معلق که می تواند سبب خفگی موجودات اعماق و گرفتگی آبشش ماهیان و اختلال در سیستم تغذیه موجوداتی که از طریق فیلتر کردن آب تغذیه می کنند، گردد.

۲- لجن و گل و لای اضافی: اینگونه مواد زائد نیز معمولاً از مناطق مسکونی مجاور دریاها و محیط های آبی، وارد آنها گردیده و همان مشکلات و معضلات مربوط به فاضلابها را البته با غلظت بالاتر دارند.

۳- مواد زائد جامد: این مواد آلوده کننده توسط شهرنشینان و ساحل نشینان حومه محیط های آبی به اکوسیستم دریاها و رودخانه ها و غیره وارد می شود.

۴- رنگهای ضد رشد ارگانیزم ها: این رنگها به منظور جلوگیری از رشد ارگانیزمهای دریایی بر بدنه کشتی، بکار برده می شوند. جدا شدن این رنگها از بدنه کشتی ها و ورود آنها به داخل آب به دلیل همراه داشتن موادی چون مس، سرب، قلع، روی یا جیوه آلودگی شدیدی ایجاد می نمایند.

۵- سموم دفع آفات: این مواد شامل ترکیباتی نظیر D.D.T و ترکیبات کلره آلی مانند دی الدرین و اندرین و ترکیبات پلی کلراید بی فنیل بوده که می توانند در لکه های سطحی یا ارگانیزم های دریایی تجمع زیستی نمایند. این مواد از راههای مختلف نظیر آبهای گذرا از مناطق سمپاشی شده و یا مستقیماً از طریق هوا، بعد از سمپاشی وارد محیط های آبی می گردند.

۶- ضایعات ناشی از لایروبی: مواد زائد لایروبی به شدت آلوده بوده و شامل مواد آلی نفت، مواد غذایی و فلزات سنگین می باشند. به علاوه وجود فلزات معلق در آنها، باعث تشکیل لجن و محل مناسبی جهت رشد و تکثیر انواع باکتریهای بیماری زا می گردد.

- ۷- زباله های مواد رادیو اکتیو: ورود مواد زائد از نیروگاههای هسته ای به داخل محیط های آبی بر حیات آبزیان و در نتیجه زندگی انسان آثار سوء بجا گذشته و می تواند سبب بروز عوارض ژنتیکی گردد.
- ۸- آلودگی حرارتی: استفاده از محیط های آبی و دریاها، به منظور خنک کردن نیروگاهها، موجب افزایش دمای آب در حدود ۱۱ الی ۲۲ درجه سانتیگراد می گردد و این افزایش دما، اثرات سوء و مخربی بر زندگی موجودات آبی می گذارد نظیر تولید مثل زودرس، مهاجرت نابهنگام ماهیان، کاهش مقدار اکسیژن محلول در آب و در نهایت مرگ برخی از جانداران آبی حساس به دما می گردد.
- ۹- رسوبات ناشی از سرازیر شدن آبهای زمینی به سمت دریا: رسوبات زمین های اطراف رودخانه ها، با جاری شدن آب، وارد اکوسیستم های آبی می شوند. این مواد موجب دفن موجودات آبی و یا گرفتگی آبشش یا عضو تصفیه کننده آنان می گردد.
- ۱۰- مواد زائد کشتی ها: این مواد شامل فاضلاب و گنداب، آشغال و مواد زائد نفتی ناشی از موتورها و قسمت های زیرین قایق ها و کشتی ها بوده که موجب آلودگی آب را فراهم می سازند.
- ۱۱- فاضلابها و پسابهای صنعتی: زباله های صنعتی از مراکز تولیدی و صنعتی متنوعی نظیر مراکز تصفیه نفت، پرداخت و نورد فلزات، تولید فولاد، کارخانجات کاغذ سازی و مواد سلولزی، تولید مواد شیمیایی آلی و غیر آلی و... سرچشمه می گیرند (عباسپور، ۱۳۸۲).
- اکثر این زباله ها به شدت سمی بوده و ممکن است حاوی اسیدها و بازهای قوی و بخصوص فلزات سنگین و... باشند که با توجه به اثرات بسیار شدید و زیانبار فلزات سنگین بر روی موجودات زنده در بخشهای آبی بیشتر به آنها پرداخته خواهد شد.
- ۱۲- آلودگی مواد نفتی: که با توجه به اهمیت موضوع در ادامه این بحث بطور مفصل به آن پرداخته می شود.

۱-۱۶ آلودگی ناشی از مواد نفتی و اثرات آن

از میان تمام آلوده کننده ها، نفت و هیدروکربورهای نفتی از اهمیت بین المللی خاصی از نظر سیاسی، اقتصادی و علمی برخوردار است. حفاری و استخراج نفت و گاز در آبهای نزدیک سواحل و گل و لای ناشی از عملیات حفاری (که شامل براده های فلز و دیگر مواد سمی می باشند) موجبات آلودگی آبها را فراهم می سازند. همچنین نشت نفت در آبها شامل تخلیه مواد نفتی به داخل اقیانوس ها، دریاها و محیط های آبی به هنگام شستشوی تانکرهای نفت کش، شن ریزی مجدد، تخلیه آب توازن کشتی ها، عملیات نقل و انتقال نفت توسط کشتی های نفتکش، سوانح دریایی و غیره می باشد.

وجود نفت در محیط های آبی، نه تنها محیط زیست آبی، بلکه محیط زیست انسان را نیز دچار لطمات جدی می نماید.

از جمله اثرات آلودگی ترکیبات نفتی می توان به موارد زیر اشاره کرد:

- ۱- خطرات ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده به مواد نفتی توسط انسان
- ۲- مرگ و میر آبزیان، پرندگان دریایی و از بین رفتن گیاهان آبی
- ۳- لطمه جدی به سیستم گردش غذایی موجودات آبی به وسیله حذف یا کاهش جمعیت گونه ای خاص

۴- آلوده نمودن بنادر و استراحت گاههای ساحلی

۵- از آنجائی که منابع مواد نفتی از تنوع زیادی برخوردارند و به دلیل آنکه سرنوشت این مواد در دریا تحت تأثیر عوامل فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی ویژه، هر یک مسیر خاصی را طی می کنند، مطالعه اثر آلودگی ناشی از نفت در دریاها و اکوسیستم های آبی امری پیچیده و تا اندازه ای دشوار است.

۱-۱۶-۱ اثرات آلودگی نفتی بر باکتریهای دریایی

به هنگام نشت نفت، ابتدا موجودات و گونه های کم مقاومت آسیب می بینند. ترکیبات نفتی عموماً بر رشد باکتریها اثر می گذارند. آبهای نمک دار و شوری که تحت تأثیر هیدروکربن های نفتی قرار می گیرند، با کاهش تعداد میکروارگانیسم ها مواجه می شوند.

اما در برخی موارد نیز افزایش هیدروکربن ها موجب افزایش برخی گونه ها و در نتیجه افزایش جمعیت میکروارگانیسم ها می گردد و در هر حال این امر بر رشد باکتریها تاثیرگذار است (عباسپور، ۱۳۸۲).

۱-۱۶-۲ اثرات آلودگی نفتی بر پلانکتون ها

نشت نفت در آبها ممکن است منجر به کاهش جمعیت جلبکها و تک یاخته ها گردد. مجموعه های لاروی ماهیها، سخت پوستان و نرم تنان که به صورت توده های پلانکتونی می باشند، به شدت تحت تأثیر قرار گرفته و بازیابی آنها به زمان زیادی نیاز دارد (عباسپور، ۱۳۸۲).

۱-۱۶-۳ اثرات آلودگی نفتی بر موجودات ناحیه بنتیک

بیشترین اثرات آلودگی نفتی، در مورد موجودات بنتیک می باشد. زیرا بخشی از نفت به صورت لایه ای در کف اکوسیستم های آبی قرار می گیرد. ستون آب در فاصله کوتاهی پس از نشت، عاری از نفت خواهد

شد و در نتیجه ارگانیزم های پوشش دار از اثرات آلودگی نفتی تا حدی مصون خواهند بود. اما موجودات ساکن کف و ناحیه بنتیک، ناگزیرند محیط نفتی را سالها تحمل کنند (عباسپور، ۱۳۸۲).

۱-۱۶-۴ اثرات آلودگی نفتی بر فعالیت های ماهیگیری

بسیاری از ماهیان می توانند از منطقه آلوده شده به مواد نفتی دور شوند، اما بیشترین تأثیر مربوط به ماهیانی است که در نزدیکی بستر دریا بسر می برند و یا در مناطق تخم ریزی ماهیان می باشد. اگرچه مرگ و میر ماهیان توسط نفت وسیع نیست، اما وجود لکه ها یا تجمع مواد سرطان زا در اندام ماهیان، از مسائل جدی و مهمی است که ناشی از آلودگی نفتی می باشد. این مواد بر اثر برخورد ماهیان با مقادیر کمتر از ۱ میلی گرم نفت محلول در آب در بدن آنها ذخیره شده و سپس با مصرف ماهیها، مقدار ۵ تا ۲۰ جزء در میلیون (ppm) از این مواد هیدروکربنی وارد بدن انسان می گردد (عباسپور، ۱۳۸۲).

۱-۱۶-۵ اثرات آلودگی نفتی بر اکوسیستم های آبی

جبران اثرات آلودگی در اکوسیستم های مختلف آبی متفاوت است. به عنوان مثال، کوشش هایی که به منظور جبران اثرات آلودگی در اقیانوسها صورت می گیرد، در مدت زمان کوتاهی به نتیجه می رسد و تأثیرات کمتری بر موجودات آبی دارد. در صورتیکه اثرات آلودگی نفتی در بنادر یا زمین های مرطوب بسیار شدید بوده و تا مدت های مدیدی باقی خواهند ماند.

در نواحی فلات قاره هم اثرات آلودگی نفتی در حد اندک تا متوسط گزارش شده و از بین رفتن آلودگی نفتی تقریباً سریع تا متوسط است، اما در مصب ها، خورها و بنادر آلودگی نفتی تأثیرات متوسط تا سنگین را بر روی موجودات به جا می گذارد و حذف آن با توجه به خصوصیات جریانات آبی می تواند سریع تا متوسط باشد.

تحقیقات نشان داده که بخشی از شدیدترین تأثیر آلودگی نفتی بر موجودات آبی، در مناطق مردابی و زمین های مرطوب رخ می دهد و مدت زمان رفع آلودگی در اینگونه مناطق به کندی صورت می گیرد و بازیابی مناطق مردابی تا چندین سال طول می کشد (عباسپور، ۱۳۸۲). بنابراین در مناطقی که جریانات شدید آبی وجود ندارد نظیر مردابها و تالابها شدت تأثیرات آلودگی نفتی بسیار عمیق تر بوده و می بایست بطور مداوم اینگونه مناطق تحت کنترل بوده و پایش های زیستی بطور مداوم صورت پذیرد.

در این راستا تالاب انزلی که جزو لیست مونتره هم قرار گرفته از این قاعده مستثنی نیست. بنابراین در

ادامه با توجه به اثرات خطرناک و جبران ناپذیر PAH ها و فلزات سنگینی نظیر نیکل (Ni) و وانادیوم (V)

که در ترکیبات نفت خام وجود دارند، به بررسی این آلاینده های مهم و اندازه گیری آنها در تالاب بین المللی انزلی پرداخته خواهد شد.

۱-۱۷ خواص شیمیایی نفت خام

نفت خام، ترکیب پیچیده ای از هیدروکربورهای با وزن مولکولی ۱۶ (متان) الی ۱۰۰۰۰۰۰ بوده و علاوه بر کربن و هیدروژن، شامل مقادیر اندکی اکسیژن، گوگرد، نیتروژن و فلزات می باشد. تعداد ترکیبات نفت خام به حدود صدها هزار می رسد که نقطه ذوب و تبخیر آنها در محدوده ای از مواد فرار تا باقیمانده های قیری شکل متفاوت است.

علت تنوع هیدروکربورهای نفت خام، به واسطه تعداد اتم های هیدروژن و کربن موجود در آن می باشد. در نفت خام از موادی با یک اتم کربن (C_1) تا شصت اتم کربن (C_{60}) شناسایی شده است. بطور کلی چهار گروه هیدروکربن در نفت خام موجود است که عبارتند از:

۱- آلکان ها (پارافین ها)

۲- سیکلوآلکانها (نفتن ها)

۳- اولفینها (الکینها)

۴- آروماتیکها (بنزن)

از میان اینها خانواده اولفین ها با فرمول کلی (C_nH_{2n}) که ترکیبات زنجیره ای ناپایدار و غیراشباع می باشند، به مقدار جزئی در نفت خام یافت می شوند. این نوع هیدروکربور، غالباً در محصولات تصفیه شده موجود است.

آلکانها، هیدروکربورهایی با ساختمان مولکولی زنجیره ای اشباع به فرمول کلی (C_nH_{2n+2}) می باشند. این ترکیبات از بیشترین نسبت هیدروژن به کربن ($\frac{H}{C}$) برخوردار بوده و لذا دارای دانسیته کم و ارزش حرارتی جرمی بالا می باشند. این نوع هیدروکربور، ۲۵ درصد وزنی نفت خام را تشکیل می دهد.

سیکلوآلکانها (نفتن ها)، ترکیباتی با ساختمان مولکولی حلقوی و فرمول کلی (C_nH_{2n}) می باشند. این مواد اشباع بوده و مولکول آنها هیچگونه اتصال دوگانه ای ندارد. ۵۰ درصد نفت خام شامل این نوع هیدروکربور می باشد.

آروماتیکها، ترکیباتی شامل یک حلقه بنزن هستند. ساختمان مولکولی آنها حلقوی با فرمول کلی (C_nH_{2n-6}) می باشد.

آروماتیک ها در بین خانواده های هیدروکربوری، دارای بیشترین دانسیته و ماکزیمم ارزش حرارتی حجمی می باشند. این مواد، از نظر ذخیره سازی پایدار بوده، از قدرت حلالیت زیادی برخوردارند و به

هنگام سوختن تولید دود می کنند. ۲۰ درصد نفت خام را آروماتیک ها تشکیل می دهند. نشت آنها در دریا مشکلات زیادی ایجاد می نماید، زیرا برای محیط های گیاهی و جانوری به شدت سمی و خطرناک می باشند.

ترکیبات مختلف تشکیل دهنده نفت خام، در نقاط مختلف، با یکدیگر متفاوتند. ترکیباتی با وزن مولکولی بالا که به صورت کلوئیدی در نفت خام موجودند، بنام اسفالتن نامیده می شوند. این مواد صفر تا ۲۰ درصد نفت خام را تشکیل داده و دارای ساختمانی نامعلوم می باشند. بسیاری از ترکیبات گوگردی، نیتروژنی، اکسیژنی و ترکیبات آلی پیچیده شامل نیکل و وانادیم در اسفالتن موجودند (عباسپور، ۱۳۸۲).

۱-۱۸ سمی بودن نفت خام و ترکیبات نفتی

تمامی محصولات و ترکیبات نفت خام برای ارگانیزم های آبی سمی می باشند. برای ارگانیزم های بالغ مقدار ۱ تا ۱۵ میلی گرم در لیتر ترکیبات نفتی محلول و برای ارگانیزم های جوان تر، مقدار ۰/۱ تا ۱ میلی گرم در لیتر این ترکیبات اثرات مهلک و کشنده دارد.

مواد نفتی غیرمحلول نیز می توانند برای موجودات زنده مرگ آور باشند. این مواد، موجب گرفتگی سیستم تنفسی موجودات آبی و خفگی آنها می گردند.

آروماتیک ها با نقطه ذوب پایین دارای بیشترین درجه سمیت بوده و شامل ترکیبات PAH (همانند بنزن، نفتالین و فنانترون و ...) و تولوئن، اکسیلن می باشند. اجزاء نفت با درجه حلالیت بالاتر نظیر ۳ و ۴ بنزوپایرین و ترکیبات چند حلقه ای آروماتیک، سرطان زا تشخیص داده شده اند.

میزان حساسیت جانداران محیط های آبی نسبت به آلودگی ناشی از نفت متفاوت است. مثلاً برخی از ماهیها می توانند در صورت آلوده شدن آب، محل زندگی خود را تغییر دهند. همچنین پستانداران دریایی به علت برخورداری از تحرک زیاد و احتمال کم برخورد با آلودگی نفتی کمتر صدمه می بینند؛ اما گونه های کوچکتر جانداران آبی دچار مشکلات بیشتری خواهند بود (عباسپور، ۱۳۸۲).

۱-۱۹ ترکیبات PAH^۱

هیدروکربنهای چند حلقه ای آروماتیک یا PAHها، گروه ویژه ای از آلاینده های آلی هستند که توسط صدها نوع از محصولات صنعتی و صنایع مختلف ایجاد می گردند. این ترکیبات از دو یا تعداد بیشتری از حلقه های آروماتیک متصل به هم همراه با اتم های کربن و هیدروژن ساخته شده اند.

^۱ - Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

PAH ها می توانند بطور طبیعی و در شرایط دمای پایین و فشار بالا از واکنش بین مواد آلی طبیعی ایجاد شوند مانند آنچه که در تشکیل بخشهایی از هیدروکربنهای نفتی اتفاق می افتد. احتراق ناقص چوب و محصولات نفتی هم نقش عمده ای در تشکیل PAH ها بازی می کنند (Douben, 2003).

همچنین PAH ها می توانند از منابع طبیعی و پتروژنیک هم آزاد شوند (Eisler 1987) بیشترین نشر و ورود PAH ها به محیط ناشی از فرآیندهای صنعتی و فعالیتهای بشر است (WHO 1998).

منابع متمرکز در ورود PAH ها به محیط زیست، منابع پتروژنیک، پتروژنیک و منشاء های طبیعی بوده که خوشبختانه با اقدامات مناسب و پیشگیرانه در دهه های گذشته، کاهش موفقیت آمیزی در ورود PAH ها به محیط از طریق منابع متمرکز و یا نقطه ای صورت گرفته است و در واقع امروزه منابع غیرمتمرکز نظیر رسوبات اتمسفری و پسابهای سطحی نقش بیشتری را در ورود PHA ها به محیط زیست بر عهده دارند.

PAH ها در دمای محیط جامد هستند. از خصوصیات عمومی آنها نقطه ذوب و جوش بالا، فشار بخار پایین و قابلیت انحلال بسیار پایین در آب است که با افزایش جرم ملکولی PAH ها، این مورد (انحلال در آب) کاهش می یابد.

برخی از ترکیبات PAH از نظر زیست محیطی بسیار حائز اهمیت هستند زیرا می توانند عواملی سرطانزا یا جهش زا تلقی شوند. (Latimer & Zheng, 2003) آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا (EPA)¹، ۱۶ PAH شاخص را به عنوان عواملی بسیار مهم که در مسمومیت پستانداران و ارگانیزمهایی آبی دخیل هستند مشخص کرده است (EPA 1987). این ۱۶ آلاینده PAH عبارتند از:

Naphthalene , Acenaphthylene , Acenaphthene, Fluorene, Phenanthrene, Anthracene, Fluoranthene, Pyrene, Benzo (a) anthracene, Chrysene, Benzo (b) fluoranthene, Benzo (k) fluoranthene, Benzo (a) Pyrene, Indeno (1,2,3 – cd) pyrene, Dibenzo(ah)anthracene, Benzo(ghi)perylene.

این ترکیبات دارای ۶ – ۲ حلقه متصل به هم هستند و وزن ملکولی بین ۲۷۸ – ۱۲۸ گرم برمول دارند. حالیت (S) و فشار بخار (Vp) PAH ها از جمله عوامل مهم در کنترل و انتشار PAH ها در محیط زیست (اتمفر، هیدروسفر و بیوسفر) هستند. خصوصیات مهم PAH ها در جدول (۱-۳) آمده است.

¹ - Environmental Protection Agency

جدول ۱-۳ خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و میزان سمیت PAH های اولویت EPA (Latimer et al, 2003)

Abbr.PAH	No.of rings	MW	MP (°C)	BP (°C)	S (g/m ³ or mg/l)	V _p (Pa,solid)	Log (K _{ow})	FCV (µg/L)	C _{oc,PAHi,FCVI} (µg/g _{oc})	ERL (ng/gdw)	ERM (ng/gdw)
NAP	2	128	80.5	218	31	10.4	3.37	193.5	385	160	2100
ACPY	3	150	92	270	16.1	0.9	4.00	306.9	452	44	640
ACP	3	154	96.2	277	3.8	0.3	3.92	55.85	491	16	500
FLU	3	166	116	295	1.9	0.09	4.18	39.30	538	19	540
PHE	3	178	101	339	1.1	0.02	4.57	19.13	596	240	1500
ANT	3	178	216	340	0.045	0.001	4.54	20.73	594	85.3	1100
FLR	4	202	111	375	0.26	0.00123	5.22	7.109	707	600	5100
PYR	4	202	156	360	0.132	0.0006	5.18	10.11	697	665	2600
BAA	4	228	160	435	0.011	2.80E-05	5.91	2.227	841	261	1600
CHR	4	228	255	448		5.70E-07	5.86	2.042	844	384	2800
BBF	5	252	168	481	0.0015		5.80	0.6774	979		
BKF	5	252	217	481	0.0008	5.20E-08	6.00	0.6415	981		
BAP	5	252	175	495	0.0038	7.00E-07	6.04	0.9573	965	430	1600
INP	6	278						0.2750	1115		
DBA	5	278	267	524	0.0006	3.70E-10	6.75	0.2825	1123	63.4	260
BPR	6	268	277		0.00026		6.50	0.4391	1095		
ΣPAHs										4022	44792

PAH abbreviations: Naphthalene (NAP), Acenaphthylene (ACL or ACPY), Acenaphthene (ACN or ACP), Fluorene (FLU or FL), Phenanthrene (PHE), Anthracene (ANT), Fluoranthene (FLR or FLUR), Pyrene (PYR), Benzo (a) anthracene (BAA), Chrysene (CHR), Benzo (b) fluoranthene (BBF), Benzo (k) fluoranthene (BKF), Benzo(a)Pyrene (BAP), Indeno (1,2,3 - cd) pyrene (INP), Dibenzo (ah) anthracene (DBA), Benzo(ghi)perylene (BPR).

S = حلالیت در آب = ERL = حد اثرات پایین

V = فشار بخار = ERM = حد اثرات متوسط

Kow = ضریب تفکیک آب به اکتانول = dw = وزن خشک

BCF = فاکتور غلظت زیستی = FCV = مقدار کرونیکی نهایی PAH های اولویت دار (EPA, 2000)

C_{oc,PAHi,FCVI} = غلظت موثر یک PAH در رسوب (EPA 2000)

PAH ها اکثراً به صورت مخلوط با هم هستند و بنابراین امکان اینکه همه ترکیبات آنها در یک مخلوط

باشد وجود دارد.

واکنش‌هایی، که سرنوشت PAH ها در محیط را کنترل می‌کند شامل نقل و انتقال آنها به اتمسفر، واکنش‌های تجزیه‌ای وابسته به نور^۱، واکنش با اکسیدهای نیتروژن، اسید نیتریک، اکسیدهای گوگرد، اسید سولفوریک، ازن و رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) است. بنابراین ورود PAH ها به محیط زیست می‌تواند از طریق اتمسفری که این ذرات را جذب کرده، هیدروسفر (کره آبی) و ژئوسفر (کره خاکی) تحت تأثیر رسوب گذاری تر و خشک از اتمسفر باشد (Douben, 2003).

از دیگر منابع آزاد سازی PAH ها به محیط، می‌توان به کریوزوت^۲ که به عنوان نگهدارنده چوب استفاده می‌شود اشاره کرد. همچنین رسوب پسماند‌های آلوده که می‌توانند هیدروسفر و ژئوسفر را آلوده نمایند و تجزیه و تفکیک شدن بین آب و هوا، آب و رسوب، و آب و موجودات زنده از پروسه‌های مهم در این میان هستند.

از آنجائیکه PAH ها به فاز آلی بیشتر از فاز آبی تمایل دارند، ضریب جدا سازی در بین حلال‌های آلی (نظیر اکتانول) و آب بالاست و به همین ترتیب، تمایل و وابستگی آنها بین بخش‌های آلی در رسوبات، خاک و موجودات زنده هم بالا بوده و این مسئله در تجمع زیستی آنها مؤثر است. PAH ها می‌توانند به وسیله نور تجزیه شوند یا توسط میکروارگانیسم‌ها تجزیه زیستی شوند و یا در موجودات زنده‌های بالاتر متابولیت‌ها شوند.

۱-۲۰ منابع ورود PAH ها به محیط زیست آبی

با توجه به گسترش آلودگی‌های antropogenic نظیر PAH ها و خصوصیات پتانسیلی آنها، بررسی و تخمین PAH ها در رسوبات مناطقی نظیر مردابها، لنگرگاهها، بنادر و خلیج‌ها بسیار با اهمیت می‌باشد (De Luca et al, 2004). این ترکیبات آلی حلقوی و تجمع آنها سبب افزایش اثرات سمی و خطرناکی نظیر اثرات یبولوژیک، اثرات بیوشیمیایی، سرطان‌زایی، اثرات سوء بر روی رشد، ایمونولوژی، فیزیولوژی و تولید مثلی خواهند شد (Delistrary, 1997 & Swartz et al, 1995).

PAH ها بطور مستقیم و قابل توجه از طریق لوله‌های خروجی و یا پساب‌های حاوی PAH ها وارد محیط‌های آبی و دریایی می‌شوند. پساب‌های شهری و خروجی‌های صنایع دو منبع قابل توجه برای آلودگی خورها و مصب‌هاست. در بررسی‌های به عمل آمده مقادیر PAH های کل، در پساب‌های شهری در آمریکای شمالی و اروپا در محدوده ۱-۶۲۵ $\mu\text{g/L}$ بوده است (Latimer & Zheng, 2003).

بطور کلی ورود PAH ها به محیط‌های دریایی و آبی عمدتاً به طروق زیر می‌باشد:

¹ - Photo Decomposition

² - Creosote

الف) حرکت آبهای آلوده به ذرات محلول PAH ها به سمت مصب رودخانه و دریاها، معمولاً PAH ها با غلظت های بالایی در خورها و محیط های ساحلی در نزدیک شهرها مشاهده می گردند که به واسطه خروج پسابهای شهری و جریان پسابهای حاوی آنها، ورود پسابهای صنعتی، رسوبهای اتمسفری و نشست های ناشی از حمل و نقل و بالاخره احتراق سوختهای فسیلی می باشد.

ب) رسوب ناشی از هوای آلوده^۱ در اطراف محیط های آبی که به واسطه رسوب خشک^۲ وارد محیط های آبی می شوند (Latimer & Zheng, 2003).

طی یک بررسی انجام شده مقدار بالایی از PAH ها یعنی $216/5 \mu\text{g/L}$ در سیستم تخلیه فاضلاب شهر لوس آنجلس آمریکا گزارش شده که برخلاف اکثر پسابهای جاری، حاوی مقادیر زیادی از پساب پالایشگاههای نفت خام است (Egahouse & Cossett 1991). این جریان آلوده بیشتر شامل بخش های ۲ یا ۳ حلقه ای از PAH ها (نظیر نفتالن، فنانترن و...) است که به شدت از نفت خام یا جریان مشتقات پالایشگاهها یا از طریق روان آبهای شهری ناشی می شود (Hoffman, 1984).

ج) عملیات پالایشگاههای ساحلی و کشتی های نفتکش هم در ورود PAH ها به محیط آبی مؤثر است. غلظت های بالایی از PAH ها (مقادیر $625\mu\text{g/L}$) به واسطه کشتی های نفتکش و عملیات پالایشگاهی در جریان دریایی مدیترانه گزارش شده است (Yilmez et al 1998).

لازم به ذکر است که محدوده غلظتی PAH ها در پسابهایی که پس از تصفیه برای آبیاری و برای گیاهان که به عنوان زنجیره اولیه غذایی استفاده می شود، عموماً باید کمتر از $5\mu\text{g/L}$ باشد.

۱-۲۱ PAH ها در آب

بر طبق بررسی های انجام شده مقادیر PAH کل، در آبهای دریایی متغیر بوده و از محدوده غیرقابل تشخیص تا $11 \mu\text{g/L}$ را نشان داده است.

بطور کلی یک شیب در مقادیر PAH ها وجود دارد به این ترتیب که در آبهای دو از ساحل معمولاً کمترین مقدار PAH ها مشاهده می شود. پس از آن مناطق ساحلی و در نهایت لایه نازک و سطحی آب (SSM)^۳ قرار می گیرند. در یک تحقیق، برای نمونه های جمع آوری شده در یک مکان و زمان مشخص مقادیر PAH در SSM، حدود ده تعیین شده که به اندازه مقدار آن در یک توده آبی در دریا بوده است (Cincinelli et al, 2001). البته بخشی از PAH ها می توانند در آب ها حل شوند که این امر وابسته به شرایط مناسب و بخصوص قابلیت انحلال آنها و توانایی پیوند PAH ها با سایر ذرات است.

¹ - Atmospheric Deposition

² - Dry Deposition

³ - Sea Surface Microlayer

جدول ۱-۴ مقایسه مقادیر مختلف PAH (ng/L) ها در آبهای چند نقطه جهان، (Latimer et al, 2003)

PAH Abbr.	خلیج نارآگانت ^۱		انگلستان و ولز ^۲	دریای مدیترانه شرقی ^۳	دریای مدیترانه مرکزی	دریای مدیترانه مرکزی ^۴	هونگ کونگ	
	Mean	SD					Mean	SD
NAP*	0.50	0.81	<6-6850	nr	nr	nr	199.3	164.8
ACL	0.06	0.30	nr	nr	nr	nr	23.3	26.6
ACN	0.22	0.40	<1-1740	nr	nr	nr	128.6	103.9
FLU	0.29	0.63	<1-1400	nr	nr	nr	48.9	33.6
PHE	3.30	3.76	<3-1170	nr	nr	nr	66.5	54.6
ANT	0.46	1.15	<1-157	nr	nr	nr	28.0	24.0
FLR	6.14	7.92	<1-940	nr	nr	nr	30.2	28.4
PYR	5.95	7.23	<1-1090	nr	nr	nr	54.1	65.5
BAA	2.04	3.61	<1-609	nr	nr	nr	nr	nr
CHR	5.37	8.64	<1-726	nr	nr	nr	24.9	30.4
BBF	6.99	9.71	<1-621	nr	nr	nr	18.9	17.1
BKF			<1-250	nr	nr	nr	17.0	15.9
BAP	2.70	4.30	<1-909	nr	nr	nr	70.4	69.5
INP	1.96	3.12	nr	nr	nr	nr	17.2	16.8
DBA	0.48	1.17	<1-126	nr	nr	nr	29.8	36.1
BPR	2.60	5.37	<1-627	nr	nr	nr	15.3	16.2
∑ PAHs	39.05	58.13	Nd-10724	10-4140	3400+2780	47510+56100	769.4	596.9
References	Quinn et al. (1988)		Law et al. (1997)	Yilmaz et al. (1998)	Cincinelli et al. (2001) (9 stations)	Cincinelli et al. (2001) (9 stations)	Zheng (unpublished data)	

nr= not reported

nd= none detected

SD= Standard Deviation

۱- فقط در بخش ذرات ۲- در آبهای فیلتر نشده خورها و سواحل ۳- در سطح ۴- در لایه سطحی آب

* قابل ذکر است برای مشاهده نام کامل PAH ها که مشابه جدول ۱-۳ است می توانید به انتهای جدول مذکور مراجعه کنید.

۱-۲۲ PAH ها در رسوبات

انتشار PAH ها در محیط زیست بطور عمده ای توسط انحلال در آب و یا آب گریزی PAH ها کنترل می گردد و رسوبات اولین انبار آنها در محیط آبی هستند (Latimer & Zheng, 2003). بنابراین تعیین PAH ها در رسوبات می تواند بسیار حائز اهمیت تلقی گردد و در واقع می توان گفت بررسی رسوبات یک ابزار ارزیابی است که کیفیت آن بیان کننده و راهنمایی برای تخمین کیفیت محیط زیست یک منطقه است (MacDonald et al, 1996 & Swartz, 1999). طی تحقیقات محققین در بخشهای مختلف جهان (جدول ۵-۱)، مقادیر متفاوتی از PAH ها در رسوبات محیط های آبی کشورهای مختلف بشرح زیر گزارش شده است:

الف) در قاره امریکا:

در امریکای شمالی (سواحل ایالات متحده) تحقیقاتی بر روی میزان PAH ها صورت گرفته و بر طبق اعلام EPA میزان PAH ها در این رسوبات بین $40453 - 13/4$ نانو گرم بر گرم وزن خشک می باشد. در بخش فلات قاره Pales verdes (منطقه ای بین امریکا و کانادا) میزان Σ PAH بین $7037 - 1252$ ng/g dw (Egnanhouse & Gossett, 1991) و میزان Σ PAH در رسوبات مصب کارولینای جنوبی هم بین $33 - 9630$ ng/g dw گزارش شده است (Kucklick et al, 1997). در تحقیقات دیگری در رسوبات خلیج سانفرانسیسکو میزان Σ PAH مقداری بین $6300 - 40$ ng/g dw داشته و منشا آن پیروژنیک گزارش شده است (Pereira et al, 1999). در رسوبات تنگه جورجیا در کانادا میزان Σ PAH مقداری بین $300 - 8470$ ng/g dw با منشا احتراقی گزارش شده است (Yanker et al, 1999). همچنین Oros & Ross (2004) مقادیر Σ PAH را در رسوبات خلیج سانفرانسیسکو بین $316 - 31$ mg/kg اعلام کرده اند.

ب) در قاره اروپا:

در رسوبات بخش شرقی دریای مدیترانه میزان Σ PAH بین $18700 - 20$ ng/g dw گزارش شده است (Yilmaz, 1998). در سواحل نزدیک اسپانیا و فرانسه مقدار Σ PAH در رسوبات دریای مدیترانه بین $8400 - 0/32$ نانوگرم بر گرم وزن خشک اعلام شده است (Baumard et al, 1998). در دریای بالتیک محققین (Baumard et al, 1999) مقدار Σ PAH را $30100 - 3/16$ ng/g dw گزارش کرده اند.

ج) در افریقا: طی تحقیقات انجام شده میزان Σ PAH در سواحل Cotonou (منطقه Benin) بین $1411 - 80$ ng/g dw است (Soclo, 2000).

(د) در آسیا:

در رسوبات سطحی آبهای هنگ کنگ مقدار آن dw $7/25-4420 \text{ ng/g}$ (zheng & Richardson, 1999) اعلام شده و در خلیج Bohai مقدار $\sum \text{PAH}$ بین $31-2513 \text{ ng/g dw}$ می باشد (Ma, 2001).

علاوه بر موارد فوق سایر تحقیقات نشان می دهد که میزان $\sum \text{PAH}$ در رسوبات دریای سفید (روسیه) بین $13-208 \text{ ng/g dw}$ بوده است (Savinov, 2000). Tolosa et al. هم در سال 2005 طی تحقیقی بر روی رسوبات کشورهای حوزه خلیج فارس میزان $\sum \text{PAH}$ را بشرح ذیل اعلام کرده است:
در رسوبات امارات متحده عربی $\sum \text{PAH} = 0/39-9/4 \text{ ng/gdw}$ ، در کشور قطر مقدار آن برابر $0/55-92 \text{ ng/g dw}$ ، در بحرین $\sum \text{PAH} = 13-6600 \text{ ng/g dw}$ و در رسوبات عمان $\sum \text{PAH} = 1/6-30 \text{ ng/g dw}$ می باشد.

اما نزدیک ترین تحقیق از نظر موقعیت جغرافیایی را نسبت به تحقیق حاضر می توان مربوط به تعیین $\sum \text{PAH}$ در رسوبات دریای خزر دانست.

در کشورهای شمالی دریای خزر (قزاقستان) $\sum \text{PAH} = 6-294 \text{ ng/g}$ ، در روسیه $6-345 \text{ ng/g}$ ، در کشورهای جنوبی دریای خزر (آذربایجان) $\sum \text{PAH} = 338-2988 \text{ ng/g}$ و در سواحل ایران $84-1789 \text{ ng/g}$ می باشد (Tolosa, Mora et al, 2004).

جدول ۱-۵ مقادیر PAH های کل در رسوبات دریایی امریکای شمالی، اروپا، افریقا و آسیا (ng/g وزن خشک)

مکان	مقادیر	مرجع
North America		
Entire US coast	13.4-40453	EPA EMAP Program ¹
Entire US coast	4.87-30674	NOAA Status and Trends program ²
Pales Verdes Shelf, CA, USA	1252-7037	Eganhouse and Gossett (1991)
Alaska stations	2.17-733	Valette- silver et al. (1999)
Gulf of Alaska (Pre- Exxon valdez)	1096	Bence et al.(1996)
West Beaufort Sea (Polar Star sediments)	159-1092	Valette- Silver et al. (1999)
Fraser Estuary (BC, Canada)	180-620(combustion) 220-660 (petroleum)	Yunker et al. (1999)
Burrard Inlet (BC, Canada)	430-91800(combustion) 70-39500(petroleum)	Yunker et al. (1999)
Strait of Georgia (BC, Canada)	300-8470(combustion) 560-4300 (petroleum)	Yunker et al. (1999)
San Francisco Bay	40-6300(pyrogenic)	Pereira et al. (1999)
South Carolina estuaries	33-9630	Kucklick et al. (1997)
Narragansett Bay, RI	100-29300	Quinn et al.(1992)
New Bedford Harbor, MA	14000-170000	Pruell et al.(1990)
Europe		
Eastern Mediterranean Sea	20-18700	Yilmaz et al. (1998)
Baltic Sea	3.16-30100	Baumard et al. (1999)
Irish estuaries	83-22960	Guinan et al. (2001)
Gironde Estuary (France)	3.5-853	Soclo et al. (2000)
Arcachon Bay (France)	293	Soclo et al. (2000)
Cretan Sea (Eastern Mediterranean)	14.6-158.5 (73% combustion derived)	Gogou et al. (2000)
Lazaret Bya (central Mediterranean)	86.5-48060	Benlahcen et al.(1997)
Near- coastal spain and france (Mediterranean Sea)	0.32-8400	Baumard et al.(1998)
Africa		
Cotonou coast (Benin)	80-1411	Soclo et al.(2000)
Asia		
White Sea (Russia, Arctic Ocean)	13-208	Savinov et al.(2000)
Kyeonggi Ba (Korea)	9.1-1400	Kim et al.(1999)
Hong Kong (surtace)	7.25-4420	Zheng and Richardson (1999)
South china Sea	24.7-275.4	Yang (2000)
Yangtze River Estuary (core)	122-11740	Liu et al.(2000)
Bohai Bay	31-2513	MA et al.(2001)
Yellow Sea	20.5734	Cheng et al.(1998)

1: <http://www.epa.gov/emap/nca/html/data>

2: <http://ccmaserver.nos.noaa.gov/nsandtdata/NSandtdatasets/benthicsurveillance/welcome.html>

بطور کلی تحقیقات نشان می دهد که بالاترین مقادیر PAH در بنادر نزدیک شهرها است که بطور کاملاً مشخصی با افزایش فاصله از این مراکز شهری کاهش می یابد.

(Pruell and Quinn 1985; Baumard et al. 1998; Kim et al 1999; Zheng and Richardson 1999 Soclo et al 2000).

۱-۲۳ بررسی سطوح PAH ها در زنجیره غذایی

همانطور که قبلاً هم اشاره شد PAH ها یک گروه گسترده از آلاینده های آلی هستند که منشاء پتروژنیک، پیروژنیک و یا منشاء طبیعی دارند که با کنترل موفقیت آمیز این سه منشاء متمرکز، منابع غیرمتمرکزی نظیر رسوبات اتمسفری و پسابهای سطحی در حال حاضر مهمترین راههای ورود این آلاینده ها به محیط زیست هستند و به دلیل خواص جهش زاوی و سرطان زاوی چند ترکیب متابولیت شده از PAH ها، برنامه های مونیتورینگ آنها در محیط زیست در بسیاری از کشورهای پیشرفته انجام می شود (Neff 1979; Meador et al 1995; Neilson and Hutzinger 1998).

با توجه به رفتار PAH ها و وزن آنها، رسوبات و ذرات در سیستم محیط های آبی، بخش های اصلی هستند که PAH ها می توانند در آنجا یافت شوند. ترکیبات آلی حلقوی نظیر PAH ها ترجیحاً در ذرات زنده^۱ و غیر زنده^۲ غنی از چربیها و لیپیدها تجمع می یابند و به همین دلیل این نوع ترکیبات در رسوبات، یعنی جایی که همانند انباری از آلاینده های مختلف لیپوفیل (چربی دوست) است، رفته و جذب رسوبات می شوند (Hellou et al, 2002).

آلودگی PAH ها می تواند توسط ریزش های نفتی، احتراق ناقص سوخته های فسیلی، آلودگی ناشی از خودروها و Fall out ذرات اتمسفری و منابع غیر متمرکزی نظیر آبهای آلوده حمل شده توسط رودخانه ها و Run off های شهری، پسابهای کشاورزی و صنعتی انتقال یابد (Hoffman et al, 1986 & Latimer et al 1990 & Simak et al, 1996 & De Luca et al, 2004) و قابل انتظار است که در رسوبات مناطق آلوده به PAH ها، موجودات کفزی هم در معرض خطرات این دسته از آلاینده ها قرار گیرند (Den Besten et al, 2003).

تحقیقات انجام شده در مورد دوکفه ای های کشورهای حوضه خلیج فارس (Toolsa et al, 2005) و ماسل های خلیج سانفرانسیسکو حاکی از آن است که در دوکفه ای های Pearl oyster امارات متحده میزان PAH = ۸۵/۷ - ۲۵۱ ng/g dw و در Pen shells امارات PAH = ۶۵/۳ ng/g dw و در Rock scallops ، PAH = ۶۳/۴ ng/g dw و در Rock oyster امارات، میزان PAH ها ۸۴۶ ng/g dw می باشد و در clam های قطر میزان PAH ها برابر ۱۰۵ ng/g dw، در Pearl oyster آبهای بحرین مقدار PAH ها ۵۸/۳ ng/g dw و

¹ - Biotic

² - Abiotic

در Rock oyster عمان میزان PAH ها برابر $17-173 \text{ ng/g dw}$ بوده است. همچنین طی تحقیق Oros & Ross (2005) میانگین PAH ها در ماسل های خلیج سانفرانسیسکو 175 ng/g dw اعلام شده است. در واقع در محیط هایی همچون مصب رودخانه های بزرگ و بنادر که رسوب گذاری اتفاق می افتد، موجودات بنتیک بیشتر در معرض PAH ها هستند. به عنوان نمونه طی تحقیقی در دلتای رودخانه های راین و میوس، تجمع PAH ها در زنجیره غذایی بررسی شده است (Den Besten et al, 2003). مقادیر بدست آمده حاکی از این است که بیشترین مقادیر PAH ها در نزدیک سواحل یا نزدیک رودخانه های اصلی، مجاری خروجی آب و زمین های دفن زباله در مناطق ساحلی و یا در مناطق لایروبی شده بنادر دیده است. همچنین در سالهای ۱۹۹۲ - ۱۹۸۶ افزایش مقادیر PAH در آبهای دور از ساحل در بخش های شمالی دیده شده که به دلیل منابع دیگری نظیر کشتیرانی و فعالیت های مربوط به حوزه های نفت و گاز بوده است (Laone et al, 1999).

علاوه بر آن بطور نسبی افزایش سطوح PAH در رسوبات و موجودات بنتیک در بخشهای شمالی دیده شده (Den Besten et al, 2003) و بنابراین به عنوان یک نتیجه انتقال زیستی PAH ها در مهره داران و بی مهرگان، در زنجیره غذایی انتقال همراه با بزرگنمایی زیستی^۱ در خصوص PAH ها در محیط زیست خاکی و آبی ظاهر نشد. (Neff, 1979; Broman et al 1990; Clements et al 1994)، اگر چه در برخی از مصرف کنندگان اولیه ممکن است تجمع سطوح بالایی از PAH ها وجود داشته باشد (Southworth et al, 1978; Dobroski and Epifanio 1980; Van Straalen et al 1993; Van Hattum et al 1998; Thomann and Komolos 1999).

و در موجودات شکارچی هم معمولاً سطوح پایین از PAH ها مشاهده شده است.

(Nimi and Dookran 1989; Hellou et al 1991; Lemaire et al 1993; Clenents et al 1994).

بر مبنای یک تحقیق بیومونیتورینگ در سالهای ۹۶ - ۱۹۹۰ بر روی مصب رودخانه راین - میرس مشخص گردیده در حالیکه عدم بزرگ نمایی های زیستی PAH ها در شبکه غذایی به وضوح وجود دارد آلاینده هایی نظیر PCB ها به شدت با سطوح تغذیه ای^۲ می توانند افزایش یابند .

مقایسه کیفی بر مبنای غلظت های پایه چربی نشان می دهد که بالاترین غلظت PAH ها در گیاهان آبی (نظیر Pond weed, Potonogeton, Pectinatus, Water weed و Elodea spp) و اولیگوکیت ها، جورپایان و در کلامهای آبهای شیرین مثل *Anodonta cygnea* مشاهده شده است (Den Besten et al, 2003) و غلظت های پایین در PAH در نرم تنان (نظیر *Dreissen a Polymorpha*، *Corbieula spp*) و شیرونومیدها مشاهده شده است. همچنین غلظت هایی زیر حد تشخیص PAH ها در بررسی بافت های هموزن شده ماهی قنات (*Rutilus rutilus*) گزارش شده است. به عبارت دیگر در سطوح پایین هرم غذایی غلظت های

¹ - Biomagnification

² - Trophic

بالاتری از PAH ها نسبت به سطوح بالای هرم غذایی وجود دارد و می توان گفت در شرایط یکسان بین غلظت هر PAH و سطوح هرم غذایی رابطه معکوس وجود دارد.

همچنین مشاهده شده با توجه به تغییر در محتوای ارگانیزم های چرب، یک تفاوت منظم و اساسی در وزن تر، وجود دارد (Den Bensten et al, 2003). یعنی غلظت PAH در وزن تر موجودات مختلف بدین صورت کاهش می یابد:

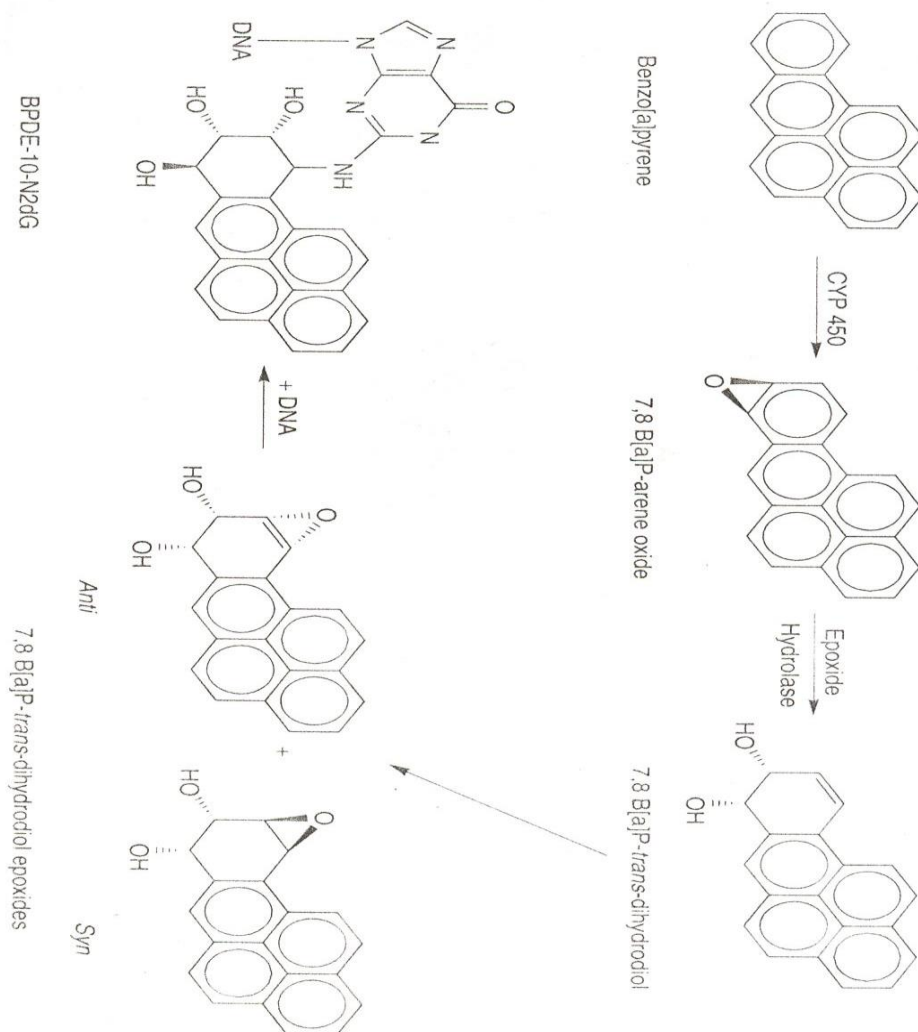
ماهیان > سایر نرم تنان و شیرونومیدها > آنودونت > گیاهان دریایی > الیگوکیت ها > جورپایان
و این روند کاهش غلظت PAH همراه با افزایش سطوح تروفیک برای فلزات کم مقدار^۱ هم گزارش شده که از آن تحت عنوان Biominification یاد می شود (Campbell et al 1988; Besten et al 2003). بنابراین قابل توجه است که در رده های پایین تر تروفیک و در بی مهرگان (نظیر دوکفه ای ها) تجمع زیستی PAH ها و عدم متابولیت شدن آنها مشاهده می شود که این امر می تواند خطرناک باشد.

۱-۲۴ اثرات سرطان زایی PAH ها

در میان آلاینده های زیست محیطی، هیدروکربن های آروماتیک حلقوی یا (PAHs) به عنوان یک پیش فعال کننده^۲ سرطان عمل می کنند که در بدن موجودات جذب شده و بطور متابولیکی توسط ارگانیزم ها فعال می شوند و بطور مستقیم تأثیر آن بر روی گروههای نوکلئوفیل در ماکرو ملکولهای سلولی است (Akcha & et al 2003). فعالیت متابولیکی PAH بر روی DNA یعنی پیوند کووالانسی بین عامل سرطان زای شیمیایی و DNA به عنوان یک رخداد وخیم در سرطان زایی شیمیایی قابل توجه است (Miller and Miller 1981). در واقع متابولیسم PAH ها در بدن موجودات همراه با اکسیداسیون آنهاست که توسط آنزیم سیتوکروم P450 آغاز می گردد. در بسیاری از واکنش هایی که در بدن موجودات بر روی ترکیبات PAH ها انجام می شود P450 در فعال سازی یک ترکیب سرطان زا نظیر Benzo (a) Pyren مؤثر است و با حمله اکسایشی توسط آنزیم P450، اتم های اکسیژن می توانند در موقعیتی در ترکیب قرار گیرند که پایدار شده و در صورت اتصال به DNA خطرناک بوده و سبب بروز سرطان گردند.
در مطالعات کارسینوژنیک به صورت یک مدل مسیرهای متفاوت فعالیت متابولیک DNA و Benzo (a) Pyrene (B(a) P) پیشنهاد شده است. در شکل ۱-۸ مسیر خطرناکی که تولید سوبسترای سرطان زا می نماید نشان داده شده است (Akcha, 2003).

¹ - Trace Metals

² - Procarcinogens



شکل ۱-۸ روند تشکیل سوبسترای سرطانزا توسط PAH ها در بدن (Akcha et al, 2003)

مشاهده می شود که Benzo (a) Pyrene یک القا کننده P450 است و افزایش این آنزیم به واسطه ورود PAH ها در بدن موجودات، در صورت تشکیل محصول 7, 8 B (a) p- trans- dihydrodiol epoxides و اتصال به ملکول DNA، خطرناک بوده و به همین دلیل PAH ها به عنوان یک ماده سرطان زا شناخته شده اند.

لازم به ذکر است که معمولاً ورود PAH ها به بدن موجودات رده های بالا نظیر ماهی ها با تولید محصولات بی خطرتر و متابولیته شدن این ترکیبات همراه بوده و مشکلات کمتری ایجاد می کند اما در بی مهرگان به دلیل عدم متابولیسم PAH احتمال تجمع زیستی در ایجاد محصولات خطرناک بیشتر است.

۱- ۲۵ فلزات سنگین:

در دهه های اخیر با پیشرفت صنایع و گسترش کاربردهای فلزات سنگین و با افزایش ورود پسابهای آلوده به این فلزات در محیط های آبی، بشر با دسته ای دیگر از آلاینده ها روبروست که از طریق زنجیره غذایی می توانند عوارض خطرناکی را برای او به همراه داشته باشند.

در محیط های آبی رسوبات منبعی مهم از فلزات برای موجودات فیلتر کننده هستند (Schlekat et al, 1992) و با توجه به عدم حرکت این جانوران استفاده از آنان برای پایش و تعیین تغییرات غلظتی این فلزات بسیار مفید خواهد بود (Rojas de Astudillo, 2005).

تعیین مقادیر فلزات سنگین در بدن موجودات آبی نظیر دو کفه ای ها اغلب به منظور بررسی خطرات اکولوژیکی و اثرات کشنده این فلزات مهم بوده و مورد استفاده قرار می گیرد (Phillips, 1985 & Rainbow, 1995).

طبق تعاریف شیمیایی فلزات سنگین گروهی از فلزات هستند که دارای وزن مخصوص بیشتر از ۴ بوده و در نیمه پایینی جدول تناوبی قرار می گیرند دارای طیف های پیچیده و نمکهای رنگی و پتانسیل الکترودی پایینی هستند، کاملاً آمفوتر بوده و عوامل کاهنده یا اکسنده محسوب می شوند (Grant, 1988) و تجمع فلزات سنگین در بافتهای مختلف نظیر کبد، کلیه و... می تواند خطرآفرین باشد و در واقع آلودگی نسبت به فلزات سنگین بسیار جدی است. (Nangia, 1992).

از جمله فلزات سنگین می توان به نیکل و وانادیوم اشاره کرد که از ظروف مختلف (از جمله ورود نفت خام به محیط) می توانند وارد محیط زیست شده و آن را آلوده نمایند.

۱- ۲۵-۱ نیکل:

عنصری است فلزی با عدد اتمی ۲۸ و عدد جرمی ۵۸/۶۹ و در گروه عناصر واسطه قرار می گیرد و دارای ظرفیت های II و III می باشد. فلزی است با جلای نقره ای، چکش خواری بالا و غیرقابل انحلال در آب و در برابر خوردگی بسیار مقاوم است (Grant, 1988).

از آنجایی که از نظر ظاهری، کانی آن شبیه مس است در قدیم برای معدن داران آلمانی بسیار معروف بود. کانی های آن با گوگرد و آرسنیک یا مس دیده می شود و برای سبز کردن شیشه بکار گرفته می شد اما چون کوشش های مداوم برای جدا کردن آن از مس ناموفق بود گمان می رفت که شیطان این کانی را رنگ کرده تا معدن داران را فریب دهد بنابراین به آلمانی به آن Kupfer nickel یا «شیطان پست» گفته می شد. در ۱۷۵۱ کرونشته سوئدی از سنگ معدن نیکولیت اکسید فلزی سبز رنگ آن را تهیه و از احیای آن توانست اکسید فلزی سفید رنگ تهیه نماید که آن را نیکل نامید. نیکل بیستمین عنصر فراوان در پوسته زمین است و

فراوانی نیکل که در پوسته زمین ۰/۰۲۰٪ است^۱. نیکل به صورت گرد یا بخار قابل اشتعال و سمی است و جزو عناصر سرطانزا شناخته شده است. بیشترین مقادیر نیکل در استخوان، ریه، کلیه و کبد دیده می شود (Merian, 1992).

۱- ۲۵-۱-۱ اثرات نیکل

سمیت و خطرات نیکل و ترکیبات آن عملاً در چهار بخش قابل بررسی است:

الف) آلرژی زایی

ب) سرطان زایی

ج) اختلالات تنفسی

که در این سه مورد، اغلب فعالیت های صنعتی بشر سبب ورود ترکیبات نیکل به محیط زیست می شود مسمومیت ایاتروژنیک، که برای بیمارانی که تحت دیالیز قرار می گیرند یا به مصرف داروهای آلوده به نیکل مبادرت می کنند رخ می دهد.

سازمان بهداشت جهانی (WHO)^۲ مقدار جذب قابل تحمل نیکل را مشخص نکرده است. اما EPA^۳ حداکثر مقدار مجاز را 20 ng/kg در روز و حداکثر میزان قابل تحمل روزانه را برای یک انسان ۶۰ کیلوگرمی ۱/۲ mg پیشنهاد کرده است. هر چند که حتی این مقدار هم در افرادی که آلرژی شدید به نیکل دارند می توانند منجر به بروز التهابات پوستی گردد (EPA, 1994).

گرچه طی تحقیقات باکتریایی، ترکیبات نیکل (نظیر کلرید نیکل) جهش زا نبوده، اما نیکل موجب بروز ناهنجاری های کروموزومی در سلولهای پستانداران گردیده است. همچنین انحرافات در تبادل کروماتیدهای خواهری در سلولهای کشت داده شده پستانداران و لنفوسیت های انسان ایجاد کرده است. (اسماعیلی، ۱۳۸۱).

^۱ - <http://www.ngdir.ir/GeoportalInfo/psubjectInfoDetail.asp?PID=227&index=4>

^۲ - World Health organization

۱- ۲۵-۱-۲ راههای ورود نیکل به محیط زیست

استفاده از ترکیبات و آلیاژهای نیکل به ۳۵۰۰ سال قبل از میلاد مسیح باز می گردد. خواص مهم نیکل که قبلاً به آنها اشاره شد باعث گردیده تا این فلز و ترکیبات آن امروزه هم یکی از کاربردی ترین عناصر باشد. در واقع نیکل در حال حاضر بطور گسترده ای در محیط زیست پراکنده شده و مقادیر آن در محیط تابعی از احتراق سوخت های فسیلی، استخراج از معادن، ورود پسابهای صنایع مختلف نظیر آبکاری، باطری سازی (باطریهای نیکل - کادمیرم) رنگسازی و اکتشافات نفتی و ورود نفت خام به محیط زیست و محیط های آبی است. همچنین منابع ایاتروژنیک، شامل اعضای مصنوعی حاوی نیکل، داروها و مواد حاصل از دیالیز خون هم از راههای دیگر ورود نیکل به محیط است. (اسماعیلی، ۱۳۸۱).

۱- ۲۵-۲ وانادیوم

وانادیوم عنصری است با عدد اتمی ۲۳ و عدد جرمی ۵۰/۹۴ که در گروه عناصر واسطه در جدول تناوبی قرار می گیرد. در خون جانوران دریایی (نظیر آسیانیده ها) یافت می شود. دارای رنگ خاکستری روشن است و غیرقابل انحلال در آب می باشد قابل حل در اسیدها و دارای ظرفیت های V و IV و III و II می باشد. دارای خاصیت آمفوتری و به عنوان کاتالیست در شیمی کاربرد دارد (Grant, 1988).

نام وانادیوم از وانادیس^۱، الهه زیبایی و باروری در اسکاندیناوی گرفته شده است. این عنصر عملاً در سال ۱۸۳۰ به وسیله یک شیمیدان سوئدی یعنی سفستروم^۲ کشف شد. او با حرارت سنگ معدن آهن در دهه های بالاتر به وجود عنصر وانادیوم گردید.

یکی از اولین کسانی که برای اولین بار به فواید وانادیوم پی برد هنری فورد بود که متوجه شد در یک اتومبیل مسابقه که در اثر تصادف درهم شکسته بود، تنها میل لنگ اتومبیل که از فولاد سوئدی حاوی وانادیوم ساخته شده بود آسیب ندیده و در مقابل شکستن مقاومت کرده است و از آن به بعد او در مشهورترین مدل های اتومبیل در کمپانی فورد از فولاد وانادیوم استفاده کرد.

وانادیوم دارای ۱۵۲ ترکیب معدنی مختلف است که برخی از مهمترین آنها عبارتند از کارنوتیت^۳، رسکولیت^۴ و وانادینیت^۵. وانادیوم دارای دو ایزوتوپ ۵۰ و ۵۱ است که وانادیوم ۵۰ کمی رادیواکتیو بوده و نیمه عمری برابر ۱۰۱۷ × ۳/۹ سال دارد. علاوه بر آن ۹ ایزوتوپ ناپایدار دیگر از وانادیوم های شناسایی

¹ - Vanadis

² - Sefestrom, Nils

³ - Carnotite

⁴ - Roscolite

⁵ - Vanadinite

شده است (EPA, 1977). وانادیوم بطور طبیعی به مقدار ۰/۰۱۵ درصد در پوسته زمین وجود دارد (اسماعیلی ۱۳۸۱).

۱-۲۵-۲-۱ اثرات وانادیوم

در اواخر قرن بیستم حدس زده شده که وانادیوم که یک عنصر معدنی اصلی کمیاب است در درمان بسیاری از بیماریها مفید باشد اما مشخص گردیده که مصرف آن در مقادیر زیاد، باعث مسمومیت می شود. وانادیوم برای ایجاد و رشد استخوانها و دندان ضروری است (رزم پا، ۱۳۸۷)^۱. تحقیقات در مورد وانادیوم بر مبنای فرضیاتی است که این عنصر و ترکیبات آن، در کنترل میزان قندخون، جلوگیری از افزایش کلسترول و تری گلیسریدها و فعالیتهای ضد سرطان زایی مؤثرند. کمبود عنصر وانادیوم در کاهش زادآوری و افزایش مرگ و میر کودکان هم تأثیرگذار است و این نقص حتی در چهار نسل بعد هم می تواند بروز کند.

همچنین مشاهده شده شیوع بیماری قلبی در نواحی از دنیا که خاک آن محتوی مقدار وانادیوم بالایی است (نظیر آمریکای جنوبی)، کمتر مشاهده شده گرچه هنوز بطور قطعی هیچ علتی بین ارتباط این مطلب به اثبات نرسیده است.

از دیگر سو وانادیوم و ترکیبات وانادیوم همچون شمشیر دو لبه ای عمل می کنند که در صورت بالا رفتن غلظت می توانند بسیار خطرناک باشند. به عنوان مثال مقدار 0.1 mg/m^3 پنتا اکسید وانادیوم بعد از گذشت هشت ساعت بر روی پوست و غشاء موکوسی ایجاد خراش و سوزش می کند. پنتا اکسید وانادیوم همچنین از فعالیت آنزیم ها، سنتز اسید اسکوربیک و اسیدهای چرب هم جلوگیری می کند (Galloway, 1980).

از دیگر عوارض وانادیوم برونشیت، آنمی و آسیب رسانی به کلیه هاست. حداقل دوز مجاز برای وانادیوم در بزرگسالان بین $0.3 \text{ mg} - 1 \text{ mg}$ در روز توصیه شده است و مقادیر ۱۰۰-۵۰ میلی گرم در روز ممکن است سبب مسمومیت شده و با علائمی نظیر کم خونی، التهاب چشم، التهاب ریه ها، آب مروارید، کاهش حافظه، اسهال، کاهش اشتها و حتی مرگ همراه باشد.

حد مجاز پنتا اکسید وانادیوم در محیط کار برای هشت ساعت ۵ درصد میلی گرم به متر مکعب تعیین شده است و شاخص تأثیر وانادیوم بر بدن انسان سبز شدن قسمت تحتانی زبان است (اسماعیلی، ۱۳۸۱).

¹ - <http://www.razmpa.com/pe/medicalinformation/50.aspx>

۱-۲۵-۲ راههای ورود وانادیوم به محیط زیست

وانادیوم به عنوان فلزی مقاوم و با ارزش در صنعت کاربردهای فراوانی دارد (طباطبایی، ۱۳۸۷) این عنصر در تولید آلیاژهای فولاد، کاربرد عمده ای داشته و از طریق این صنعت و صنایع دیگر نظیر باطری سازی (ساخت باطری های لیتیم دار)، صنایع پتروشیمی و تولید اسیدسولفوریک (به عنوان کاتالیست می تواند وارد محیط زیست شود. مقدار وانادیوم در زغال سنگ و نفت خام در محدود $1000 - 1 \text{ mg/kg}$ گزارش شده است. همچنین برآوردها نشان می دهد که سالانه حدود ۶۵ هزار تن وانادیوم به وسیله عوامل طبیعی نظیر آتشفشانها در محیط زیست رها می شود. (اسماعیلی، ۱۳۸۱). همچنین اکتشافات نفتی و ورود نفت خام به محیط زیست و محیط های آبی از دیگر راههای ورود وانادیوم به محیط زیست می باشد.

۱-۲۶ بیومارکرها

بیومارکرها ملکولهای کلیدی یا رخدادهایی سلولی هستند که بواسطه قرارگرفتن در معرض ترکیبات شیمیایی موجود در محیط، می توانند نقش مهمی را در درک ارتباط بین این ترکیبات و سلامتی و بیماریهای مزمن ایفا کنند^۱. بعبارت دیگر بیومارکرها روشهایی برای پایش های زیستی بوده و پاسخ های بیوشیمیایی یا ملکولی هستند که موجودات زنده در شرایط خاص از خود نشان می دهند، در واقع بیومارکرها یک رخداد طبیعی ملکولی هستند که به راحتی با استفاده از دیدگاه های فیزیولوژیکی یا بیوشیمیایی مورد شناسایی و استفاده قرار می گیرند.

اخیرا مونتورینگ و نظارت بر اثرات بیولوژیکی یک جزء جدایی ناپذیر برنامه پایش های زیست محیطی شده و بطور معمول بعنوان یک بخش تکمیل کننده در بررسی آلودگیها، مورد استفاده قرار می گیرد (Lam & Gray, 2003). امروزه در بسیاری از مطالعات و تحقیقات اخیر، به جای آنالیز مستقیم بافتهای موجودات جهت تعیین آلودگی استفاده از بیومارکرها کاربرد یافته است. به عنوان مثال بررسی تغییر در میزان هورمونها، بررسی تغییرات در میزان برخی آنزیم ها، سایر و تغییرات سلولی نظیر تغییرات غشاء سلولی و... به عنوان شاخص های آلودگی اهمیت به سزایی یافته است.

بیومارکرها شواهد عمومی تأثیرپذیری یا تغییر را فراهم می نمایند (Huggett et al., 1992).

سرعت استفاده از بیومارکرها در حال افزایش است و به همین دلیل تحقیق در مورد یافتن انواع جدید آنها از اهمیت شایانی برخوردار است زیرا استفاده صحیح از آنها منافع بسیاری در بردارد. از جمله اینکه معمولاً مقادیر بعضی از آلاینده ها در محیط بسیار پایین و حتی پایین تر از حد تشخیص^۲ ابزارهای سنجش

^۱ - <http://www.niehs.nih.gov/index.cfm>

^۲ - Detection Limit

آزمایشگاهی موجود می باشد. لذا بدون دیده شدن آلودگی در منطقه، اثرات این مواد بر اجزای زنده قابل تشخیص است زیرا پاسخ های توکسیکولوژیک^۱ به یک ماده شیمیایی از اندر کنش بین آن ماده و رسپتور بیوشیمیایی آن حاصل می شود و در نتیجه پاسخ های بیوشیمیایی فوری ترین پاسخ ممکنه است. علاوه بر آن ارگانسیم ها معمولاً در محیط واقعی تحت تأثیر چندین نوع آلاینده فیزیکی و شیمیایی قرار می گیرند. بیومارکرها دارای این توانایی هستند که اثرات تجمعی این عوامل استرس زا^۲ را در سطح زیر ارگانسیمی نشان دهند (اقتصادی، ۱۳۸۱).

۱-۲۷ تعاریف مختلف بیومارکرها

در تعریف بیومارکرها (نشانگرهای زیستی آلاینده ها) خصوصیات متنوعی بیان شده که این امر به دلیل جدید بودن زمینه مورد مطالعه است. در زیر به پاره ای از آنها اشاره می شود:

- هر گونه تغییر یک اندیکاتور بیوشیمیایی، ژنتیک یا ایمنی که بتواند در یک نمونه بیولوژیک سنجیده شود (Phillips and Rainbow, 1993).

- پاسخ های بیوشیمیایی یا ملکولی به موادی که به یک ارگانسیم وارد شده اند و به مکان های عملیات سمی خود رسیده اند و در حال اثرگذاری روی یک ارگانسیم هستند (Wells et al., 1997)

- یک بیومارکر در محدوده وسیعی استفاده می شود که باید شامل تقریباً هر گونه اندازه گیری که نشان دهنده اندرکنش بین سیستم بیولوژیک و یک عامل محیطی (اعم از شیمیایی، فیزیکی یا بیولوژیک) است (Henderson et al., 1989).

- بیومارکر پارامتری است که بتواند به طور کمی، نیمه کمی یا کیفی سنجیده شود و اطلاعاتی در مورد در معرض قرار گرفتن و تاثیر پذیری^۳ از یک ماده ضد حیات^۴ یا در مورد اثرات عملی یا پتانسیل آن تاثیر پذیری، در یک فرد از گونه ای یا در آن گروه را در اختیار ما قرار دهد (WHO, 1993).

اما بطور دقیق برای اینکه بیومارکری به عنوان یک ابزار نظارتی مفید باشد باید حداقل حائز یکی از شرایط زیر باشد:

۱- اختصاصی بودن^۵: آیا تغییر حاصله اثر مستقیمی از قرار گرفتن تحت تأثیر آلاینده باشد،

۲- حساسیت^۶: تغییر حاصله جزو اولین تغییرات ایجاد شده توسط آلاینده باشد،

۳- عملی بودن^۱: راههای ارزاتر برای گرفتن همین پاسخ وجود نداشته باشد (اقتصادی، ۱۳۸۱).

1 - Toxicological Respons

2 - Stressors

3 - Exposure

4 - Xenobiotic

5 - Speciflcity

6 - Sensistivity

۴- داشتن پراکنش مناسب و بومی بودن: علاوه بر موارد فوق بنظر می رسد در صورتی که قرار باشد یک گونه خاص به عنوان بیومارکر مطرح باشد باید با شرایط محلی هم سازگار بوده و بومی باشد. همچنین در سطح جهانی هم از پراکنش بالا برخوردار باشد تا بتوان آن را در شرایط مشابه در سایر نقاط جهان هم برای سنجش آلودگی به عنوان بیومارکر بکار برد.

بیشترین تمرکز در تحقیقات بیومارکرها، در سطح بیوشیمیایی آن است زیرا مارکرها بیوشیمیایی بیشتر از بقیه انواع آن می توانند حائز شرایط فوق باشند و به همین دلایل زمینه مذکور به سرعت در حال رشد است (Wells et al., 1997).

بیومارکرها ابزارهایی مهم در تشخیص انواع مختلف استرس ها در گونه های آبی هستند. استرس ها ممکن است شامل مواد شیمیایی، فلزات و دیگر آلاینده های محیطی مانند تغییرات دمایی و تغییرات دیگر در محیط باشند. بیومارکرها اندیکاتورهایی هستند که می توانند برای قضاوت در مورد اثرات این مزاحمت ها مورد استفاده قرار گیرند. در ادامه برای روشن تر شدن اهمیت استفاده از نشانگرهای زیستی در مطالعه آلودگی محیط های آبی و دریایی به دیگر ابزارهای مطالعه در مورد آلاینده های محیط های آبی و نقاط ضعف هر یک اشاره شده و در نهایت به مقایسه این ابزارها با بیومارکرها پرداخته می شود.

۱-۲۸ مشکلات آنالیز نمونه های آب

مسلماً یکی از محیط های سنجش آلاینده ها در اکوسیستم های دریایی سنجش میزان آلوده کننده در آب است. اما چندین مشکل عمده در راه سنجش های مذکور که بطور سنتی انجام می شوند وجود دارد:

۱) مشکل اصلی در مواقعی است که مقادیر آلاینده ها کم است و این امر باعث می شود:

اولاً احتمال آلودگی نمونه به مقادیر بالاتر از حد آلاینده در حین انجام عملیات آنالیز بالا رود. بطور مثال اگر مقادیر آلاینده در حدود چند قسمت در میلیون^۲ باشد بسیار احتمال دارد که ورود یک آلاینده از اطراف باعث تغییر قابل توجه در میزان اصل غلظت آلاینده باشد.

ثانیاً افزایش احتمال از دست دادن کل نمونه در حین انجام عملیات نیز مطرح است. مقادیر کم نمونه در حال آنالیز احتمال از دست رفتن کل نمونه یا غلظت قابل توجهی از آن را در حین انجام عملیات بالاتر می برد. مثال روشن این قضیه به آزمایشات پترسن و سیتل در سال ۱۹۷۹ باز می گردد (Pattersen & Settle 1979) که غلظت سرب اندازه گیری شده توسط آنان چندین برابر از مقدار واقعی سرب در آب (که فقط در حدود ۱۰ تا ۵۰ نانوگرم بر لیتر آب بود) کمتر اعلام شده بود که این واقعه در

¹ - Practicality

² - part per billion (ppb)

نتیجه از دست رفتن مقادیر قابل توجهی از سرب نمونه آنالیز شده در حین انجام عملیات آنالیز بود (Kennish, 1997).

۲) مشکل بعدی در آنالیز نمونه های آب، عدم وجود ارتباطی مناسب بین غلظت آلاینده مورد آزمایش و فراهمی زیستی^۱ است. بنابراین اگر اثرات آلاینده ها بر موجودات زنده اکوسیستم آبی (Biota) مورد نظر باشد این فراهمی زیستی حائز حداکثر اهمیت و توجه خواهد بود که اطلاعات مفیدی راجع به آن قابل دسترس نمی باشد. از آنجا که فراهمی زیستی آلوده کننده ها از آنالیز آب بدست نمی آید می توان نتیجه گرفت که خود ارگانسیم ها باید برای عملیات نظارت زیستی مورد استفاده قرار گیرند (O'Connor and Paul, 2000).

۱-۲۹ مشکلات آنالیز نمونه های رسوب

۱- غلظت آلاینده تابعی پیچیده از جریانهای مختلف و سرعت رسوب گذاری است.

۲- غلظت آلاینده بطور قابل توجهی تحت تأثیر دانه بندی رسوب^۲ و نیز محتوای کربن آلی^۳ است.

(Kennish, 1997).

۳- باز هم مانند آنچه در مورد نمونه های آب ذکر شد هیچگونه رابطه ای بین فراهمی زیستی آلاینده

و غلظت آن در رسوب وجود ندارد (O'Connor and Paul, 2000).

۱-۳۰ آنالیز جانداران^۴

مدتها است که مشخص شده آبریان مقادیر بالای آلاینده ها را در بافت های خود جمع آوری می نمایند. در مورد جذب آلاینده های آب گریز^۵ (مانند نمونه های آلوده به حشره کش های ارگانوکلره^۶ و بیشتر هیدروکربنها) توسط موجود زنده^۷، بنظر می رسد این جذب از نوع غیرفعال^۸ و تحت کنترل فرایندهای فیزیوشیمیایی^۹ بین آب و چربی باشد. به این درجه ترتیب در درجه اول تجمع^{۱۰} و نگهداری^{۱۱} چنین آلاینده هایی به محتوای کلی^{۱۲} و تقسیم چربیها در موجودات مورد نظر، بستگی خواهد داشت. این

¹ - Bioavailability

² - Grain size

³ - Organic carbon content

⁴ - Organism

⁵ - Hydrophobic

⁶ - Organochloride pesticides

⁷ - Biota

⁸ - Passive

⁹ - Physico chemical process

¹⁰ - Accumulation

¹¹ - Retention

¹² - Overall content

تجمع و عکس العمل آلاینده ها در موجود زنده، فرصتی را برای میان بردن روشهای مرسوم نظارت بر مقادیر آلاینده ها در محیط های آبی، از طریق آنالیز خود این جانداران بجای نمونه های آب فراهم می سازد (اقتصادی، ۱۳۸۱).

۱-۳۱ تاریخچه استفاده از بيو مارکرها

۱۹۵۰ و قبل از آن- با ظهور انقلاب صنعتی مشکلات زیست محیطی آغاز شد ولی به دلیل کم بودن مواد آلاینده پاسخهای قابل توجهی از سیستم های زنده موجود نبوده و روشهای قضاوتی نیز در این مورد عملاً وجود نداشت.

دهه ۱۹۶۰- سنجش های زیستی در ماهی ها، حاکی از صدمه دیدن موجود زنده توسط مواد ضد حیات بود.

دهه ۱۹۷۰- داده های تجزیه- تحلیلی های زیستی^۱ ظهور کردند و سازمانهای حفظ محیط زیست در کشورهای پیشرفته بوجود آمدند.

دهه ۱۹۸۰- سازماندهی استراتژی های سم شناسی محیط زیست توسط روشهای شیمیایی / بیولوژیکی که همان سم شناسی بیوشیمیایی محیط زیست^۲ صورت گرفت.

دهه ۱۹۹۰- رشد قابل توجه کاربرد سم شناسی بیوشیمیایی ریز مقیاس^۳ و ارزان قیمت، به خاطر قابلیت های شایان این ابزارهای زیستی (نظیر سرعت، پتانسیل اتوماسیون و غیره) شکل گرفت (Wells et al., 1997).

سالهای ۲۰۰۰ به بعد- استفاده از بيو مارکرها در زمینه بررسی آلودگی اکوسیستم های آبی، توسط محققین با توجه به تجمع زیستی آلاینده ها در آبزیان بخصوص دو کفه ای هایی نظیر میتیلوس گسترش یافت و بعنوان مثال می توان به موارد زیر اشاره کرد:

- تحقیقات (Lowe, Fassato(1995 به منظور بررسی اثر آلاینده های PAH, PBC بر روی غشا

لیوزومی *Mytilus galloprovincialis*

- آزمایشات (Fernley, et al (2000 بر روی ماسل های *Mytilus edulis* در بریستول نسبت به ترکیبات

نفی

- آزمایشات (Martins, et al(2005 بر روی کلامهای *Anomalocardia brasiliiana* در سواحل برزیل

(اقیانوس اطلس) نسبت به آلودگی PAHها

¹ - Bioanalytical

² - Biochemical ecotoxicology

³ - Microscale

- تحقیقات Jeony & Cho(2005) و بررسی آلودگی PAH بر روی اویسترهای *Carssostrea gigas*

سواحل پاسفیک

- آزمایشات Francioni et al(2006) برای بررسی پاسخ دهی بیولوژیکی ماسل های *Perna perna* در

سواحل برزیل

- تحقیقات Gomes et al (2008) و تاثیر PAH ها بر روی ماسلهای *Mytilus edulis* در سواحل

مدیترانه، اما تاکنون بر روی سلولهای همولنف دوکفه ای آب شیرین، آنودونت (*Anodonta cygnea*) به

عنوان یک بیو مارکر برای PAH ها و فلزات سنگین کاری صورت نگرفته است و در این پروژه برای اولین

بار این امر صورت می گیرد.

۱-۳۱-۱ تاریخچه تحقیق در مورد بیو مارکرها در ایران

با توجه به بررسیهای انجام شده تحقیقات صورت گرفته در مورد نشانگر های زیستی (بیو مارکرها) در

داخل کشور تا زمان اجرای پروژه حاضر بسیار بسیار اندک بوده و از موارد مرتبط می توان به پروژه آقای

دکتر پیمان اقتصادی(۱۳۸۱) که تغییرات غشای سیناپتوزومها (بواسطه آلودگی هیدروکربنهای چند حلقه ای

آروماتیک) را بعنوان بیومارکر مدنظر قرار داده اند، اشاره کرد.

فصل دوم

مواد و روشها

۲-۱ نمونه برداری

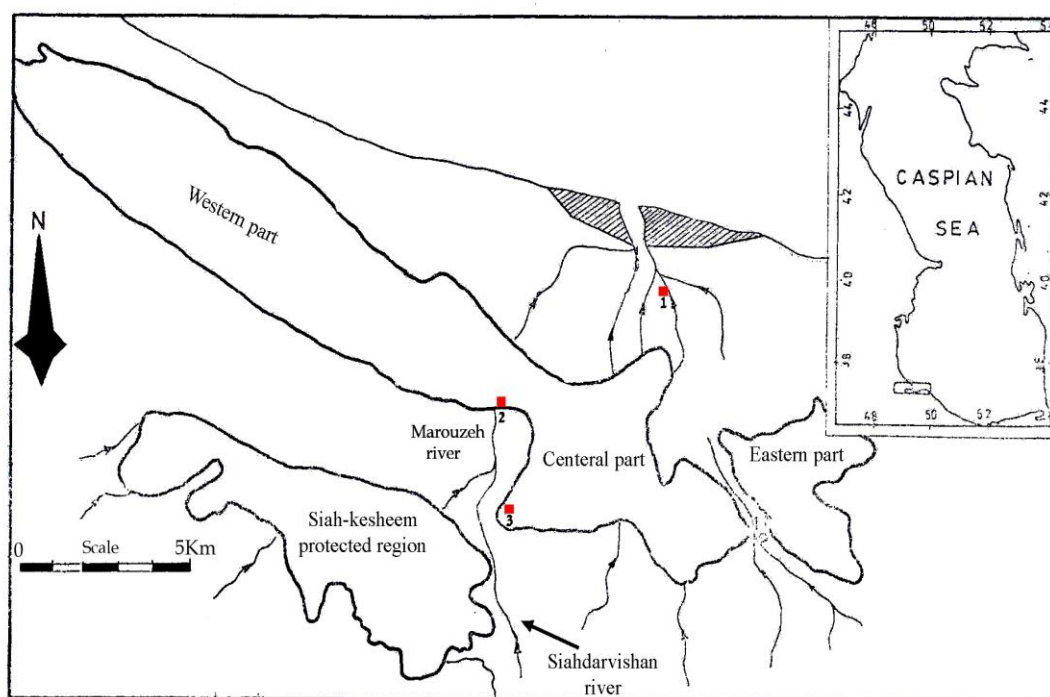
با توجه به اینکه مبنای کار این پروژه بررسی خصوصیات بیومارکری در مورد دوکفه ای آنودونت جهت بررسی آلودگیهای نفتی و فلزات سنگین بوده، بنابراین تعیین محل های نمونه برداری کاملاً به وجود آنودونت وابسته می باشد و در ابتدا می بایست این موقعیت ها در تالاب انزلی مشخص می گردید. لذا ضمن بررسی کتابخانه ای و مذاکره با کارشناسان مرکز تحقیقات آبی پروری آبهای داخلی (انزلی) آبی پروری آبهای داخلی (بندر انزلی) انتظار می رفت در اغلب مناطق در تالاب انزلی به خصوص آبکنار غربی، سیاه درویشان، کانال باقلی کش که به عنوان مکانهای شاخص برای آنودونت معرفی شده بودند (پروانه ۱۳۷۴) به راحتی بتوان به نمونه برداری آنودونت با حجم بالا پرداخت. گرچه کارشناسان شیلات با توجه به گشت های ۱۳۸۳ مقدار آنودونت را نسبت به چند سال گذشته پایینتر تصور می کردند اما پس از عزیمت به محل مشخص شد که آنودونتی در این مکانها یافت نمی شود پس به ناچار در بخش های مختلف تالاب گشت زنی انجام شد و سرانجام در دو مکان ماهروزه و سلکه تعدادی اندک از دو کفه ای آنودونت مشاهده شد و در نهایت این دو مکان به عنوان ایستگاههای مورد نظر انتخاب گردیدند و در هر ایستگاه طولی حدود ۱ کیلومتر برای نمونه برداری در نظر گرفته شد.

با بررسی تحقیقات مشابه (Oros et al, 2007 & Liang et al, 2007) مشاهده شد که در بسیاری موارد با توجه به موقعیت جغرافیایی و اقلیمی مناطق، تنها دو فصل گرم و خشک، و فصل تر و بارندگی برای نمونه برداری و تحقیق انتخاب شده اند. بنابراین با در نظر گرفتن خصوصیات اقلیمی و امکانات نمونه برداری محلی و با هماهنگی با اساتید راهنما، و همچنین با توجه به اینکه تفاوت شدید دمایی در فصول مختلف در انزلی مشاهده نمی شود زمانهای نمونه برداری از ایستگاههای مذکور هم اواخر خرداد- اوایل تیر (ژوئن) و اواخر شهریور (سپتامبر) انتخاب گردید که در واقع اواخر خرداد را می توان فصل گرم و خشک و اواخر شهریور را فصل تر و بارندگی در نظر گرفت.

بنابراین در هر فصل نمونه برداری، از هر دو ایستگاه مذکور با توجه به وجود آنودونت ها و تحقیقات مشابه ۷ عدد دوکفه ای آنودونت برداشت شد (Lowe et al, 1995). همزمان مقادیر مناسب از رسوب هم با Van Veen Grab در هر ایستگاه نمونه برداری شد. قابل ذکر است که در هر فصل نمونه برداری از هر ایستگاه (به طول ۱ کیلومتر)، سه نمونه رسوب و بر روی هر نمونه رسوب ۳ تکرار انجام شده که میانگین سه تکرار برای هر نمونه رسوبی گزارش می گردد.

گرچه در پروپوزال اولیه فقط نمونه برداری از ایستگاه ها قید شده بود، اما چون برای اولین بار تحقیق بر روی سلولهای همولنف آنودونت به عنوان بیومارکر انجام می شد در ادامه کار تصمیم گرفته شد جهت بالا بردن اطمینان از نتایج، در یک منطقه آلوده هم Cage گذاشته شود و نتایج حاصل از آن با نتایج ایستگاههای

مذکور مقایسه گردد. بنابراین در فصل دوم نمونه برداری (اواخر شهریور) تعداد ۱۴ عدد^۱ دوکفه ای آنودونت در یک Cage گذاشته شده و در ایستگاه آلوده یعنی نزدیک مرکز تحقیقات آبی پروری آبهای داخلی (انزلی) - شیلات (که محل توقف و سوخت گیری قایق ها بود) برای یک دوره چهار هفته ای یا ۲۸ روزه (USEPA, 1994 and ASTM, 1997b and Nigro et al, 2006) قرار داده شد. همزمان از رسوبات روز اول و روز بیست و هشتم Cage گذاری هم نمونه برداری صورت گرفته و همراه با آنودونتهای مذکور پس از اتمام چهار هفته به آزمایشگاه انتقال یافت.



شکل ۱-۲ موقعیت جغرافیایی ایستگاههای نمونه برداری:

۱) ایستگاه **cage**: نزدیک مرکز تحقیقات آبی پروری آبهای داخلی (انزلی)، محل سوختگیری و استقرار قایق ها (ایستگاه آلوده)

(39 S 0364944, UTM 4147423)

۲) ایستگاه ماهروزه: (39 S 0359731, UTM 4143193)

۳) ایستگاه سلکه: (39 S 0363473, UTM 4139305)

^۱ - قابل ذکر است که در ایستگاه اخیر (مرکز تحقیقات آبی پروری آبهای داخلی (انزلی) شیلات) به این دلیل تعداد دو برابر ایستگاههای ماهروزه و سلکه آنودونت گذاشته شد تا اگر به دلیل آلوده بودن این ایستگاه تعدادی از نمونه ها تلف شد، تعدادی آنودونت باقیمانده و برای آزمایشات و ادامه تحقیقات وجود داشته باشد.

بنابراین در مجموع از رسوبات و دو کفه ایهای آنودونت از ایستگاه های ۲ و ۳ در دو فصل (اواخر خرداد) و بارندگی (اواخر شهریور) نمونه برداری گردید. همچنین از رسوبات روز اول و روز بیست و هشتم در ایستگاه ۱ به همراه نمونه های آنودونت روز بیست و هشتم در این ایستگاه (ایستگاه Cage) هم نمونه برداری صورت گرفت.

لازم به ذکر است که بخشی از نمونه های رسوب جهت انجام آزمایشات تعیین PAH در پاکتهای آلومینیومی و بخشی از آن جهت تعیین نیکل و وانادیوم در ظروف پلی اتیلنی (که قبلا با اسید نیتریک ۳ مولار شستشو داده شده بود) قرار داده شد و همراه با یخ آماده انتقال به تهران گردید. همچنین نمونه های دو کفه ای هر ایستگاه بطور زنده و با رعایت شرایط لازم یعنی در گالن های بزرگ و مجزا و همراه با آب تالاب قرارداده شد و سریعاً به مرکز ملی اقیانوس شناسی تهران منتقل گردید.

در تهران رسوبات فریز شده و آنودونتها در اکواریمهایی که اکسیژن دهی می شد و حاوی آب تالاب بود قرار گرفت و پس از انجام آزمایشات زیستی بر روی دوکفه ای های زنده، در نهایت رسوبات و دو کفه ای ها مذکور فریز شده و جهت آزمایشات و آنالیزهای شیمیایی برای تعیین PAH ها و نیکل و وانادیوم به پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان (تحقیقات شیلات) در بندر عباس منتقل گردید.

۲-۲ آزمایشات زیستی (NRR) Neutral Red Retention assay

پس از گذشت زمان ۴۸ ساعت و تطابق (آداپته شدن) دو کفه ای های مورد بررسی، آزمایشات Neutral Red Retention assay به شرح زیر آغاز گردید:

تهیه محلولها طی مکاتبه در سال ۲۰۰۷ با مبتکران روش آقای David M. Lowe، مرکز آزمایشگاه دریایی Plymouth، انگلستان) پروسه کامل کار Neutral Red Retention assay دریافت شده و بر طبق آن محلولهای زیر تهیه گردید:

الف) تهیه محلول نمک فیزیولوژیک

۱۳/۰۶ گرم از سولفات منیزم مرک (Art.No.106067) به علاوه ۲۵/۴۸ گرم از کلرید سدیم مرک (Art.No.116224) و ۴/۷۷ گرم از ماده HEPES (Art.No.15230) به علاوه ۰/۷۵ گرم کلرید پتاسیم مرک (Art.No.1.04935.1000) و ۱/۴۷ گرم از کلرید کلسیم (Art.No.102378) مرک به طور دقیق توزین و در ۸۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل گردید و سپس به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر رسیده و پس از آن با نمک تیتروکسید سدیم مرک (Art.No.106462) یک مولار، pH محلول بر روی 7.3 تنظیم شد.

(این محلول پس از تهیه باید در یخچال نگهداری شده و هر بار قبل از استفاده هم می بایست در دمای اتاق pH آن مجدداً تنظیم می گردید.)

(ب) تهیه محلول Neutral Red

۲۸/۸ میلی گرم از پودر Neutral Red (Art.No.1369) توزین و در ۱ میلی لیتر محلول DMSO (دی متیل سولفوکسید) (Art.No.2931) حل شده و در شیشه ضد نور تهیه در یخچال نگهداری شد.

(ج) محلول کار (Working Soutlion)

۱۰ میکرولیتر از محلول Neutral Red با کمک نمک فیزیولوژیک به حجم ۵ میلی لیتر رسیده و آماده استفاده گردید.

این محلول باید هر بار کاملاً تازه تهیه شده و در شیشه های ضد نور برای هر آزمایش بکار رود.

۲-۲-۱ استخراج همولف آنودونت

ابتدا دوکفه ای را از آکواریوم خارج نموده و بر روی سینی استیل آزمایشگاه قرار داده و سپس سعی شد تا به گذاشتن قطعه ای چوب ظریف به آرامی کمی دوکفه از هم باز شوند، البته باید این کار با دقت صورت پذیرد تا لولای بین دو کفه پاره نشود. پس از آن با استفاده از سرنگ انسولین مقدار 0.1 میلی لیتر از همولف دو کفه ای با دقت از عضله پشتی برداشته شد. (لازم به ذکر است که مقدار 0.1 میلی لیتر نمک فیزیولوژیک داخل سرنگ مذکور وجود داشته و با برداشتن 0.1 میلی لیتر از همولف، به سوسیانسیون ۵۰ : ۵۰ از نمک فیزیولوژیک و سلول آماده می گردد).



شکل ۲-۲ خون (همولف)گیری از آنودونت (عکس از نگارنده)

سپس این سوسپانسیون به داخل میکروتیوب های سیلیکونی ریخته شده و بعد با استفاده از میکروپی پت، ۴۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون بر روی مرکز لام، پی پت شد. قابل توجه است که می بایست مرحله گرفتن همولنف سریع بوده و بیشتر از ۲ دقیقه طول نکشد.

حال لام ها به یک Chamber ضد نور انتقال داده شده تا سلولها بتوانند به هم پیوندند. برای تأمین رطوبت لازم در داخل Chamber با قرار دادن یک دستمال کاغذی ضخیم و مرطوب که در کف Chamber قرار داده می شود از خشک شدن همولنف بر روی سطح لام جلوگیری می گردد.

بعد از گذشت زمان ۱۵ دقیقه لام ها از داخل Chamber برداشته شده و به آرامی با زدن ضربه بر روی یک دستمال کاغذی مایع اضافی ریخته شده و بدین ترتیب یک لایه ظریف سلولی^۱ روی لام باقی می ماند. این مرحله باید سریع انجام شود و لام ها سریعاً به درون Chamber مرطوب برگردند تا Neutral Red در مرحله بعد اضافه گردد.

سپس ۴۰ میکرولیتر از محلول Working، ساخته شده از Neutral Red برداشته شده و به هر یک از لام های مذکور که دارای یک لایه ظریف سلولی هستند اضافه شده و سپس یک لامل با دقت روی آن قرار داده می شود. بسیار مهم است توجه شود زمانی که محلول کاری Neutral Red بکار می رود باید این محلول با دقت و با نوک میکروپی پت بر روی لامها ریخته شود تا محلول سلولها سرازیر نگردد.

پس از گذشت زمان ۱۵ دقیقه، لامها با استفاده از میکروسکوپ بررسی شد. (ابتدا با عدسی ۱۰ و بعد با بکارگیری عدسی ۴۰ می توان تغییرات سلولی را در فواصل زمانی مشخص ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ دقیقه بررسی و نتایج را یادداشت کرد). برای اسکن هر لام نباید بیش از ۱ دقیقه وقت صرف شود (Lowe, 1994).

مجدداً پس از ۱۵ دقیقه تغییرات سلولی مشخص می گردد. سپس هر ۳۰ دقیقه این تغییرات بررسی شده و زمان این بررسی ها حداکثر تا ۱۸۰ دقیقه است که تا این مدت تغییرات سلولی با از دست دادن رنگ مشاهده و قابل ثبت می باشد.

مهمترین تغییرات سلولی عبارتند از:

- ۱- تورم و بزرگ شدن سلولها که به واسطه تورم لیزومی است
- ۲- تشکیل حفره (به واسطه واکنش شدن لیزوزوم) سلول
- ۳- شکسته شدن (تخریب) سلولها بر روی لام
- ۴- تجمع سلولی بطور پراکنده بر روی لام
- ۵- برخی اوقات در ترکیب سلولی همولنف، رنگ به بیرون تراوش می کند (Lowe, 1994).

¹ - Monolayer

در هر صورت هر چه جانور در محیط آلوده تر باشد در اولین بررسی های میکروسکوپی از سلولهای همولنف، سریعتر این عوارض را بروز داده و بین در معرض آلاینده بودن دوکفه ای و میزان تخریب سلولی و بروز علائم فوق ارتباط مستقیم وجود داشته و این امر بخوبی در آزمایشات و همکاریان عنوان شده است (Nigro et al, 2005) و جانورانی که در محیط های با آلودگی کمتر باشند دیرتر و در زمان طولانی تر و بر عکس جانورانی که در محیط های با آلودگی بیشتر باشند در زمان کوتاهتر این عوارض را در بررسی میکروسکوپی همولنف نشان می دهند. این بررسی زمانی به پایان میرسد که یا رنگ در زمان گفته شده از بین برود و یا تغییرات سلولی در ۵۰ درصد همو سائتها رخ دهد (Lowe, 1994).

قابل توجه است که برای جلوگیری از تاثیر سوء عوامل استرس زا (نظیر نقل و انتقالات نمونه های آنودونت) بر روی نتایج ۴۸ ساعت پس از نمونه برداری، آزمایشات آغاز گردید.

با توجه به اینکه ترکیباتی نظیر PAH ها آلی بوده انتظار می رود بتواند با غشاء سلولی که دارای ترکیبات لیپوپروتئینی است وارد واکنش شده، عوارض فوق الذکر را بروز داده و آنها را ثبت نمود.

از آنجایی که در این پروژه این روش بیومارکر برای اولین بار بر روی سلولهای همولنف آنودونت مورد بررسی قرار گرفته، لازم بود تا نتایج بدست آمده با نتایج روشهای شیمیایی هم مقایسه شود پس می بایست مقادیر آلودگی های نفتی و فلزات نیکل و وانادیوم از روشهای دقیق شیمیایی نظیر گاز کروماتوگرافی جرمی (GC-Mass) و جذب اتمی (Atomic Absorption) هم تعیین گردد. لذا بر خلاف حالت معمول در روشهای بیومارکری که می توان دوکفه ای را بطور زنده دوباره به دامان طبیعت باز گرداند، اینجا آنودونتها فریز شدند تا در مراحل بعدی آنالیزهای شیمیایی بر روی آنها صورت پذیرد.

۲-۲-۲ شناسایی سلولهای همولنف آنودونت

این بخش جزو اهداف اولیه پروژه نبود، اما پس از استخراج همولنف و انجام آزمایشات Neutral Red، از آنجایی که نوع سلولهای همولنف آنودونت تاکنون شناسایی نشده بود، بر آن شدیم تا این کار را هم برای اولین بار انجام دهیم. بنابراین برای شناسایی سلولهای همولنف آنودونت با استفاده از روش رنگ آمیزی گیمسا (باقری نسب و همکاران، ۱۳۷۵) اقدام گردید:

۰/۱ میلی لیتر همولنف دوکفه ای آنودونت با سرنگ انسولین برداشته شد و یک گسترش نازک و یکنواخت از آن بر روی لام تهیه گردید. سپس در دمای اتاق لامها خشک شده و پس از آن سطح گسترش را با الکل اتیلیک ۹۹٪ پوشانده و بعد از طی زمان ۱۰ دقیقه، لامها مجددا در دمای اتاق خشک شده و پس از آن لامهای خشک شده را بمدت ۲۰ دقیقه در محلول گیمسا قرار داده و پس از در آوردن از محلول مذکور جهت شناسایی سلولهای همولنف می توان لامهای آماده شده را با عدسی ۱۰۰ در زیر میکروسکوپ بررسی

نمود. در طی این بررسی چهار نوع سلول شناسایی و برای اولین بار اعلام گردیده که در فصول آتی نتایج آن آورده خواهد شد.

۲-۳ آزمایشات شیمیایی

همانطور که اشاره شد جهت تعیین دقت و تأیید اینکه آیا می توان آنودونت (*A. Cygnea*) را به عنوان یک بیومارکر برای آلاینده هایی نظیر PAH و فلزات شاخص آلودگی نفتی نظیر نیکل و وانادیوم معرفی نمود، می بایست داده ها با روشهایی دقیق و تأیید شده شیمیایی همانند روشهای GC - Mass و جذب اتمی کنترل شود. لذا با استفاده از دستور العمل (MOOPAM, 1999) مراحل آماده سازی و آنالیزهای شیمیایی صورت پذیرفت.

۲-۳-۱ آماده سازی نمونه های آنودونت برای سنجش مقادیر PAHs

پس از اینکه نمونه ها از فریزر خارج شد با استفاده از دستگاه فریز درایر (مارک ZiRBus مدل VaCo) کاملاً خشک شده و سپس با توجه به بین ۲-۳ گرم از کل بافت^۱ دوکفه ای توزین شده و در ویالهای مخصوص دستگاه مایکرو ویو پیشرفته Digestion system، (مارک Milestone مدل ETHOS1) ریخته شد (لازم به ذکر است با توجه به دستورالعمل دستگاه مایکرو ویو مذکور و حجم ویالهای این دستگاه مقادیر مورد نیاز رسوب و بافت دو کفه ای توزین شده است) و به هر ویال مقدار ۳۰ میلی لیتر متانول مرک (Art.No.1.6008) اضافه گردید و درب آنها کاملاً بسته شده و برای هضم و استخراج اولیه به مدت ۳۰ دقیقه در فشار ۱۵ Bar در دستگاه میکروویو قرار داده می شود. پس از آن ویالهای حاوی نمونه ها از دستگاه خارج شده و به زیر هود منتقل می شود تا پس از خنک شدن بتوان درب آنها را باز نمود. سپس جهت حل شدن چربی ها به هر یک ۲ میلی لیتر محلول هیدروکسید پتاسیم مرک (Art.No.1.05012) ۰/۷ مولار و ۳ میلی لیتر آب مقطر اضافه شده و ویالها کاملاً بسته شده و مجدداً به دستگاه ماکروویو با شرایط قبلی منتقل می گردد تا مرحله هضم کامل شود. پس از گذشت زمان نیم ساعت ویالها از دستگاه ماکروویو خارج شده و پس از سرد شدن محتوی هر ویال به کمک خلا و کیف بوخنر و کاغذ صافی واتمن صاف شده، هر ویال با متانول شسته شده و مجدداً صاف می شود، محلول صاف شده همراه با ۲۵ میلی لیتر هگزان نرمال مرک (Art.No.1.4368) به یک کیف دکانتور منتقل شده و فاز بالایی که حاوی نمونه ها و حلال هگزان نرمال است استخراج می گردد. مرحله استخراج دو بار تکرار می شود تا استخراج کامل گردد.

¹ - Whole tissue



شکل ۲-۳ قرار دادن نمونه ها در دستگاه میکرو ویو

قابل توجه است که جهت حذف آب احتمالی در هنگام صاف کردن نمونه مقداری سولفات سدیم روی کاغذ صافی در قیف بوختر ریخته شده و سپس عملیات صاف کردن نمونه انجام می شود. پس از آن می بایست حلال اضافی از نمونه ها جدا شود بنابراین با کمک Rotary Evaporator حجم کل نمونه به ۱۰ میلی لیتر تقلیل می یابد. برای این کار دمای روتاری روی ۳۰ درجه سانتیگراد و دور آن بر روی 40 rpm تنظیم گردید.

در مرحله بعد باید نمونه استخراج شده فوق (با حجم خود ۱ میلی لیتر) از ستون با قطر ۱ سانتیمتر (MOOPAM, 1999) عبور داده شود.

در این ستون ابتدا حدود ۲ سانتیمتر پشم شیشه قرار داده می شود. سپس مقداری حلال هگزان نرمال با مشخصات مذکور اضافه شده و به ستون به آرامی ضربه زده می شود تا کاملاً حلال به داخل پشم شیشه رفته و هیچگونه حباب هوایی نداشته باشد. سپس باید به آن سیلیکاژل اضافه گردد، اما قبل از آن مقداری سیلیکاژل (Art.No.107719) با اندازه (70 – 230 mesh ASTM) را در داخل یک ظرف ریخته و در دمای ۲۰۰ درجه سانتیگراد در آن قرار داده می شود تا کاملاً خشک گردد. پس از آن مقدار مناسب از سیلیکاژل مذکور را توزین کرده و با کمک آب مقطر سیلیکاژل ۵ درصد ساخته می شود. مشابه همین کار هم برای ساخت آلومینا (Art.No.1076) ۵ درصد هم بکار می رود. این کار برای غیرفعال کردن سیلیکا و آلومینا در ستون است. حال سیلیکاژل و آلومینا آماده شده را می توان به ستون اضافه کرد.

ابتدا سیلیکاژل که روی آن مقداری هگزان نرمال ریخته را به درون ستون ریخته و باید کاملاً دقت کرد تا حباب هوا وارد نشود، مقدار سیلیکاژل ستون باید بطور کاملاً فشرده حدود ۱۰ سانتیمتر باشد و پس از آن

مخلوط آلومینا و هگزان نرمال اضافه می شود و این ماده هم باید حدود ۱۰ سانتیمتر را در ستون بطور کاملاً فشرده اشغال کند. پس از آن و در مرحله بعد مقداری سولفات سدیم مرک (Art.No.822286) هم به اندازه ۱ سانتیمتر به عنوان جاذب آب در ستون ریخته می شود. تا اینجا شیر ستون باز بوده و حلالهای اضافی قطره قطره خارج می شد ولی پس از اضافه کردن سولفات سدیم و خروج حلالهای اضافی شیر ستون بسته شده و فقط کمی حلال هگزان روی سولفات سدیم قرار دارد تا خشک نشود.

حال ستون برای انتقال نمونه روتاری به درون آن آماده شده است و چون دارای سه بخش سیلیکاژل، آلومینا و سولفات سدیم با قطبیت های متفاوت است می توان جدا سازی PAH ها را به خوبی انجام داد. پس از انتقال نمونه به ستون شیر ستون را باز کرده و از روی آن ۲۰ میلی لیتر هگزان نرمال عبور داده شده که قطره قطره از پایین ستون جمع آوری می شود که در واقع فاز F1 و حاوی هیدروکربورهای آلیفاتیک است.

سپس مخلوطی از هگزان نرمال و دی کلرومتان مرک (Art.NO.106054) با نسبت ۱۰ : ۹۰ از ستون عبور داده شده و قطره قطره از پایین ستون جمع آوری می شود که در واقع فاز F2 و حاوی هیدروکربورهای آروماتیک است. نمونه جمع آوری شده F2 آماده تزریق به دستگاه GC – Mass برای سنجش مقادیر PAH هاست.

دستگاه GC – Mass استفاده شده در این پروژه مارک Agilent Technologies 680 N می باشد. همچنین لازم به ذکر است که CRM آبی مورد استفاده دارای کد IAEA-406 و CRM رسوب مورد استفاده دارای کد IAEA-417 می باشد.

۲-۳-۲ آماده سازی نمونه های رسوب برای سنجش مقادیر PAHs

در ابتدا رسوبات از فریز خارج شده و با استفاده از دستگاه فریز درایر (مارک ZiRBus مدل VaCo) کاملاً خشک شده و سپس مقدار ۵ گرم از رسوبات هر ایستگاه توزین شده و به ویالهای مخصوص دستگاه ماکروویو منتقل گردید (لازم به ذکر است با توجه به دستورالعمل دستگاه مایکرو ویو مذکور و حجم ویالهای این دستگاه مقادیر مورد نیاز رسوب و بافت دو کفه ای توزین شده است).

در مرحله بعد ۳۰ میلی لیتر مخلوط ۵۰ : ۵۰ از حلالهای هگزان نرمال مرک (Art.No.1.4371) و استن مرک (Art.No.100013) به آن اضافه و درب ویالها کاملاً بسته شده و برای استخراج مواد نفتی به مدت ۳۰ دقیقه با شرایط دمای ۱۸۰ درجه سانتیگراد به دستگاه ماکرو ویو سپرده شد (این مراحل طبق دستورالعمل دستگاه مایکرو ویو است چون از روش سوکسله برای استخراج استفاده نشد). پس از گذشت زمان مذکور نمونه های آماده شده در زیر هود با کمک کاغذ صافی، صاف شده و به یک

بشر ۵۰ میلی لیتری منتقل گردیده و به کمک گاز نیتروژن حجم نمونه را به حدود ۱ میلی لیتر رسانده و ۰/۱ میلی لیتر محلول هگزان نرمال به نمونه ها اضافه کرده و پس از آن باید با استفاده از کروماتوگرافی ستونی و با کمک محلول حاصل از ۱ گرم پودر مس اکتیو که با ۵ میلی لیتر هگزان نرمال سانتریفیوژ شده و به نمونه های استخراج شده اضافه می شود ترکیبات مزاحم سولفور را از نمونه ها جدا کرده و پس از آنکه نمونه ها با کمک گاز ازت تغلیظ شد و به حجم حدود ۱ میلی لیتر رسید، آنرا از ستونی مشابه آنچه که برای نمونه های دوکفه ای ذکر شد عبور داده و محلول حاصل پس از تغلیظ آماده تزریق به دستگاه GC - Mass است.

مشخصات و شرایط دستگاه GC-Mass بکار رفته در این پروژه در جدول ۱-۲ و مشخصات محلولهای استاندارد استفاده شده در دستگاه GC-Mass هم در جدول ۲-۲ آورده شده است:

جدول ۱-۲ مشخصات دستگاه GC-Mass

Chromatographic Conditions:
Injection port temperature: 270 centigrade Column temperature : 60 centigrade (1min), 100 centigrade -285 centigrade (10 min) Flow rate Rate 1: 10 centigrade/min Flow rate Rate 2: 4 centigrade/min Interface temperature: 280 centigrade
Column: HP-5MS, 25mm x 30m x 25micron Carrier gas: He Flow rate: 1ml/min Injection volume: 1 microlitre, split less
Mass spectrometric Conditions: Ion source temperature: 230 centigrade Ionization mode: Electron impact Electron energy: 70 ev Electron multiplier gain: 2000v
Monitoring mode: SIM (single ion monitoring) Ions monitored: 128,152,153,166,178,202, 228, 252, 276, 278 Quantitation: External standard method

جدول ۲-۲ مشخصات محلولهای استاندارد مورد استفاده در دستگاه GC-Mass

861291 SUPELCO PAH Mix	
concentration	in methylene chloride: methanol (1:1)
Components	
Analyte	
	Acenaphthene 1000 µg/mL
	Acenaphthylene 2000 µg/mL
	Anthracene 100 µg/mL
	Benz[a]anthracene 100 µg/mL
	Benzo[b]fluoranthene 100 µg/mL
	Benzo[k]fluoranthene 100 µg/mL
	Benzo[ghi]perylene 200 µg/mL
	Benzo[a]pyrene 100 µg/mL
	Chrysene 100 µg/mL
	Dibenz[a,h]anthracene 200 µg/mL
	Fluoranthene 100 µg/mL
	Fluorene 200 µg/mL
	Indeno[1,2,3-cd]pyrene 100 µg/mL
	1-Methylnaphthalene 1000 µg/mL
	2-Methylnaphthalene 1000 µg/mL
	Naphthalene 1000 µg/mL
	Phenanthrene 100 µg/mL
	Pyrene 100 µg/mL

۲-۳-۲-۱ روش تهیه مس اکتیو

۱۰ گرم سولفات مس ۵ آبه (Art.No.2787) را در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل کرده و سپس ۴ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال (Art.No.100317) به آن افزوده و محلول حاصل برای ۲۰ دقیقه در حمام آب یخ نگهداری می شود. سپس یک محلول از ۳ گرم پودر روی و ۵ میلی لیتر آب مقطر را ساخته و به آرامی به مخلوط سولفات مس مذکور اضافه می گردد و البته این در حالی است که مخلوط سولفات مس همچنان بر روی حمام یخ قرار دارد. در مرحله بعد ظرف حاوی محلولهای فوق از روی حمام یخ برداشته شده و بمدت یکساعت در دمای اتاق نگهداری می شود. پس از آن با استفاده از استایرین این محلول به آرامی هم زده میشود تا سرانجام رنگ آبی سولفات مس ناپدید شود. در این مرحله رسوب فلوکه ای قرمز رنگ (بواسطه مس) تشکیل می شود که باید ذرات فلوکه را به آرامی جداکرد. برای اینکار به آرامی مایع روی

ذرات فلوکه را با سرازیر کردن خارج کرده و بدین ترتیب ذرات مس جدا می گردند. پس از آن ذرات فلوکه چندین مرتبه با آب مقطر شسته میشود و باید دقت کرد که این ذرات در معرض هوا قرار نگیرند چون سطح آنها می تواند اکسید شود. اکنون مس اکتیو (فعال) برای استفاده آماده است و می توان آن را تا موقع لزوم در فریزر نگهداری کرد.

۲-۳-۳ آماده سازی نمونه های آنودونت برای سنجش مقادیر نیکل و وانادیوم

برای سنجش مقادیر فلزات سنگین نیکل و وانادیوم هم می بایست بر روی نمونه های دوکفه ای آماده سازی صورت پذیرد. بنابراین کل بافت دو کفه ای درون یک بالن تر گرد ریخته شده و به دستگاه فریز درایر (مارک ZiRBus مدل VaCo) منتقل می گردد تا کاملاً خشک شود.

پس از آن، مقدار ۰/۳ گرم از بافت خشک شده برداشته و به ویالهای دستگاه ماکروویو منتقل شده و بر روی آن ۶ میلی لیتر اسید نیتریک ۶۵ درصد مرک (Art.No.100443) به علاوه ۲ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳۰ درصد مرک (Art.No.1.08597) اضافه شده سپس درب ویال ها کاملاً بسته شده و برای مدت نیم ساعت در دمای ۱۸۰ درجه سانتیگراد برای انجام مراحل هضم به دستگاه ماکروویو سپرده می شود (مطابق دستورالعمل دستگاه مایکروویو).

پس از گذشت زمان مذکور، دستگاه خاموش شده و پس از خنک شدن نمونه های هضم شده و صاف کردن محلول حاوی نمونه ها با استفاده از کاغذ صافی Schleicher Schuell (Ref.No. 300311) نمونه هایی که صاف گردیده به دستگاه جذب اتمی (مارک Thermo، مدل M5) سپرده شده و مقادیر فلزات سنگین نیکل و وانادیوم مشخص گردید.

۲-۳-۴ آماده سازی نمونه های رسوب برای سنجش مقادیر نیکل (Ni) و وانادیوم (V)

پس از اینکه رسوبات از فریز خارج گردید ابتدا به صورت صفحات نازک در داخل سینی در دمای اتاق گذاشته شد تا کمی خشک شود پس از آن به آون با دمای ۵۰ درجه سانتیگراد برای مدت زمان ۳۰ دقیقه منتقل شد تا کاملاً خشک شود.

سپس از هر نمونه مقدار مشخصی بطور دقیق توزین شده و پس از آن نمونه های مذکور به ویالهای ماکروویو منتقل شده و به هر یک مقدار ۶ میلی لیتر اسید نیتریک ۶۵ درصد مرک (Art.No.100443) و ۱ میلی لیتر اسید پرکلریک ۶۰ درصد مرک (Art.No.100512) و ۱ میلی لیتر آب اکسیژن مرک ۳۰ درصد جهت انجام مراحل هضم اضافه می شود و نمونه به مدت ۳۰ دقیقه با شرایط مناسب فشار و دما به دستگاه ماکروویو سپرده می شود.

پس از گذشت این زمان نمونه ها از دستگاه خارج شده و پس از خشک شدن و صاف کردن نمونه به کمک کاغذ صافی Schleicher Schuell (Ref.No.300311)، محلول صاف شده با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسیده و آماده سنجش میزان نیکل و وانادیوم در دستگاه جذب اتمی (مارک Thermo) می باشد. لازم به ذکر است که برای سنجش فلزات مذکور از کوره گرافیتی در دستگاه جذب اتمی استفاده گردیده و نوع گاز مصرفی دستگاه آرگون می باشد و برای ساخت استاندارد های نیکل و وانادیوم هم از تیترازول های مرک نیکل و وانادیوم استفاده شده است. غلظت محلولهای استاندارد به کار گرفته شده 1, 2, 4, 8 ppb می باشد.

۲-۴ آنالیزهای آماری

بعد از انجام آزمایشات فوق الذکر، بر روی داده های نهایی آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS (Version 13.0) انجام شد. با توجه به محدود بودن داده ها (به دلیل کم بودن نمونه آنودونت) و از آنجاییکه گروههای مورد مقایسه نیز محدود بوده اند (دو فصل، و بررسی آلاینده ها در دو نوع نمونه یعنی رسوب و بافت آنودونت) و از طرفی توزیع نرمال وجود نداشت برای بررسی نتایج، آزمون های غیر پارامتریک^۱ و تست Mann-Whitney u، مورد استفاده قرار گرفت. در این راستا:

(۱) ابتدا مقادیر آلاینده های PAH، نیکل و وانادیوم بین دو ایستگاه ماهروزه و سلکه در هریک از فصول نمونه برداری (اواخر خرداد و اواخر شهریور) در نمونه های رسوب و بافت آنودونت، مورد مقایسه و آنالیز قرار گرفت.

(۲) پس از آن مقادیر آلاینده های مذکور بین رسوبات و آنودونتها، در هر یک از ایستگاههای فوق و در هر فصل نمونه برداری جداگانه مورد تحلیل قرار گرفت.

(۳) در مرحله بعد مقادیر این آلاینده ها در رسوبات دو نمونه برداری ایستگاه Cage (روز اول و روز بیست و هشتم Cage گذاری) مقایسه و بررسی شد. (یاد آور می شود نمونه های آنودونت در ایستگاه Cage پس از گذشت بیست و هشتم روز قابل جمع آوری و بررسی بوده است).

(۴) سپس مقادیر آلاینده های مورد بررسی در رسوبات و دو کفه ای دو ایستگاه ماهروزه، سلکه با مقادیر این آلاینده ها در ایستگاه Cage که احتمال آلودگی آن بالا بود مقایسه و نتایج مورد تحلیل قرار گرفت.

(۵) در مرحله بعد میانگین و خطای استاندارد هر یک از آلاینده های PAH، نیکل و وانادیوم در نمونه های رسوب و آنودونت هر ایستگاه، در هر فصل نمونه برداری بررسی گردید.

¹ - Non parametric

۶) در ادامه آنالیزهای آماری، با استفاده از ضریب Pearson همبستگی بین آلاینده های مذکور در نمونه های رسوب و آنودونت بررسی شد.

۷) و بالاخره هدف اصلی پروژه یعنی میزان همبستگی بین هر یک از آلاینده های PAH، نیکل و وانادیوم با پاسخهای سلولی بدست آمده از روش NRR بررسی و تجزیه و تحلیل گردید. این نتایج در فصل سوم (بخش ۳-۷ به بعد تا انتهای فصل) ارائه شده و در فصل چهارم مورد بحث قرار گرفته است.

فصل سوم

نتایج

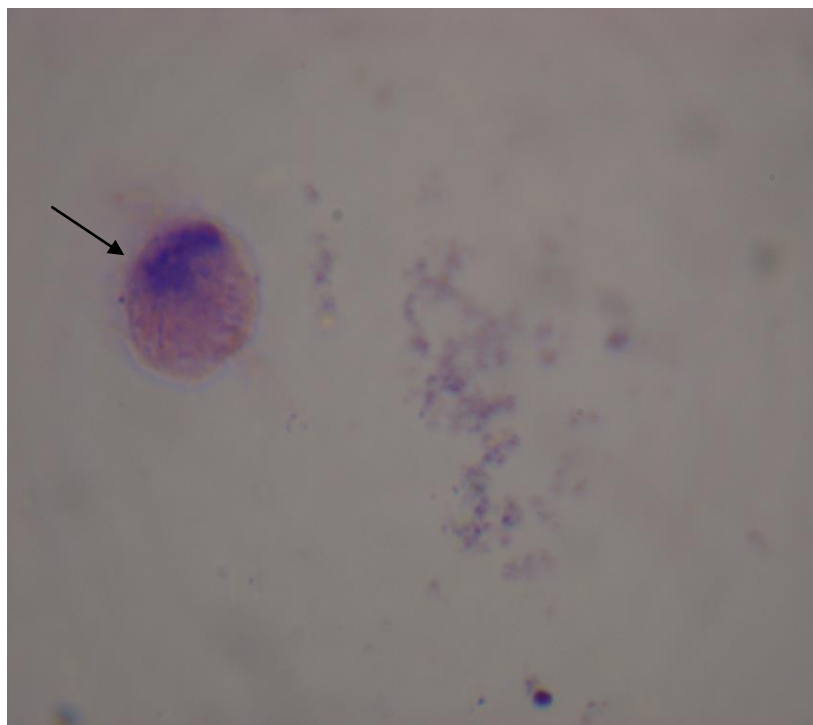
۱-۳ نتایج شناسایی سلولهای همولنف آنودونت

بر طبق آزمایشات انجام شده پس از رنگ آمیزی سلولهای استخراج شده از همولنف و مشاهده آنها با میکروسکوپ نوری و مراجعه به تحقیقات سلولی در خصوص سایر دو کفه ای ها (Cheng 1981, cheng & et al 2005) نتایج زیر در خصوص هموسایت (سلولهای همولنف) *Anodonta. cygnea* حاصل گردید:

بطور کلی دو دسته سلول آگرانولوسیت و گرانولوسیت در همولنف آنودونت شناسایی شده است که تعداد آگرانولوسیتها به مراتب بیشتر از گرانولوسیتها می باشد.

۱-۱-۳ آگرانولوسیتها:

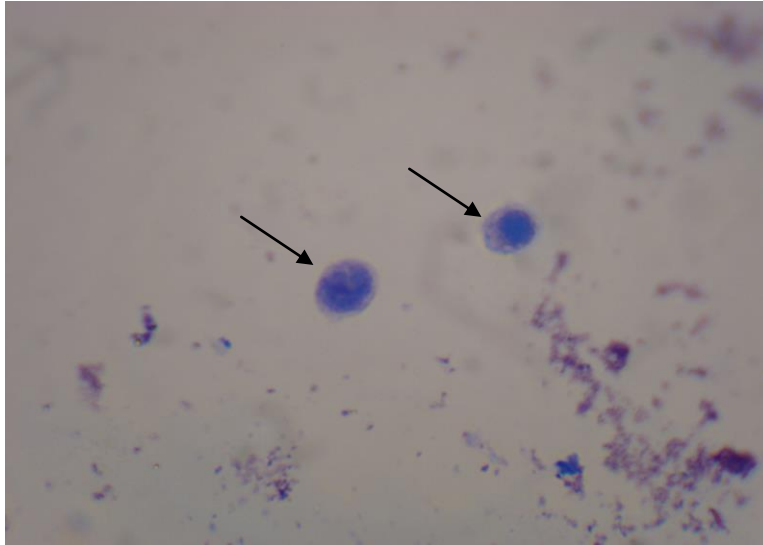
الف) Vesicular cell: این سلولها گرانول نداشته، دارای هسته بزرگ و سیتوپلاسم توری مانند و حبابدار (واکوئله) است (شکل ۳-۱۴) و همچنین اصطلاحاً شفاف^۱ می باشد.



شکل ۱-۳ سلول Vesicular در همولنف *A. cygnea*، (Scale= 100)

ب) Blast like cell: این سلولها در واقع هموسیتهای گردی هستند که یا سیتوپلاسم ندارند یا دارای سیتوپلاسم بسیار کمی می باشند (شکل ۳-۱۵).

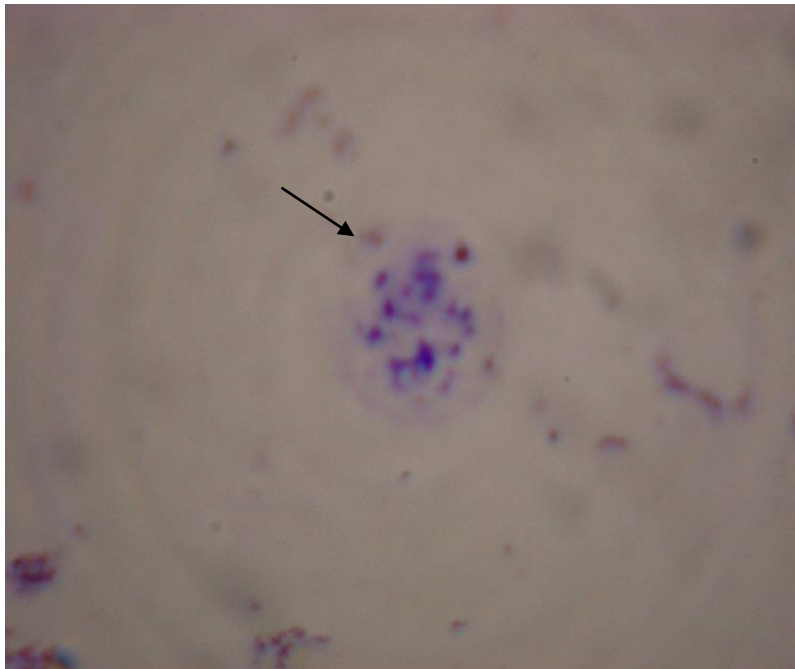
^۱ - Hyalinocyte



شکل ۲-۳ سلولهای Blast like در همولنف *A. cygnea*، (Scale= 100)

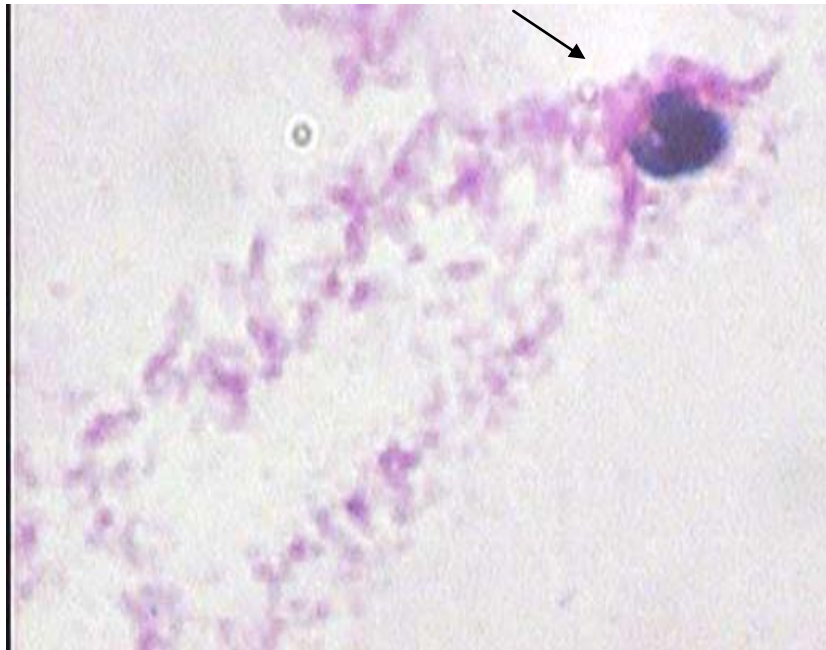
۲-۱-۳ گرانولوسیتها: به تعداد کمتر در سلولهای همولنف وجود دارد و شامل:

الف) **Basophilic cell**: سلولهای هستند که دارای گرانول بسیار در سیتوپلاسم بوده و شکل مشخصی ندارند (شکل ۳-۱۶).

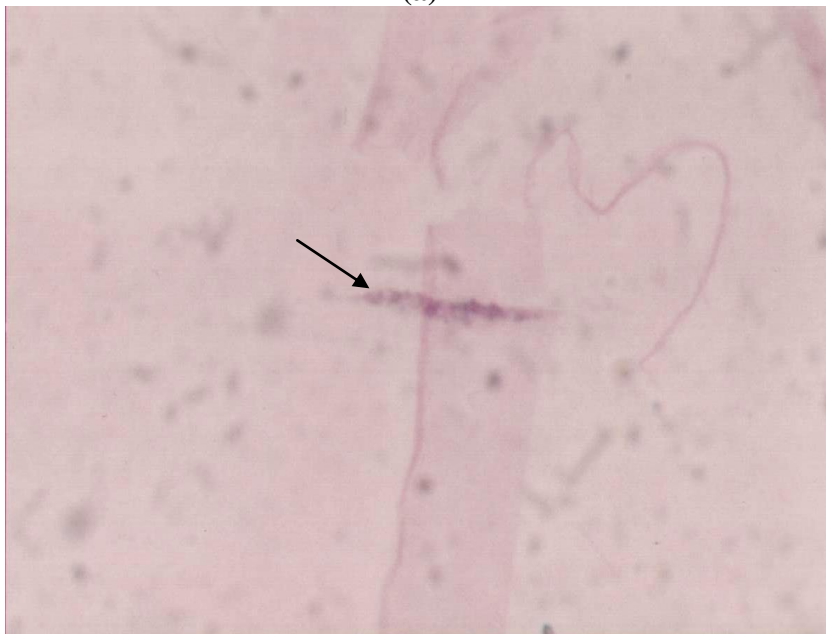


شکل ۳-۳ سلولهای Basophilic در همولنف *A. cygnea*، (Scale= 100)

ب) **Eosinophilic cell**: سلولهای ائوزینوفیلیک دارای گرانول در سیتوپلاسم بوده و می توانند به دو صورت بزرگ (a) و کوچک (b) دیده شوند. ائوزینوفیل کوچک دارای اندازه کوچکتر و گرانول کمتر بوده و تقریباً شکلی دوکی دارد اما ائوزینوفیل بزرگ شکل مشخصی ندارد (شکل ۳-۱۷).



(a)



(b)

شکل ۳-۱۷ (a) **Eosinophilic cell** بزرگ در همولنف *A. cygnea* (Scale= 100)

(b) **Eosinophilic cell** کوچک در همولنف *A. cygnea* (Scale= 100)

۲-۳ نتایج آزمایشات NRR و تغییرات سلولی مشاهده شده در نمونه های همولنف آنودونت:

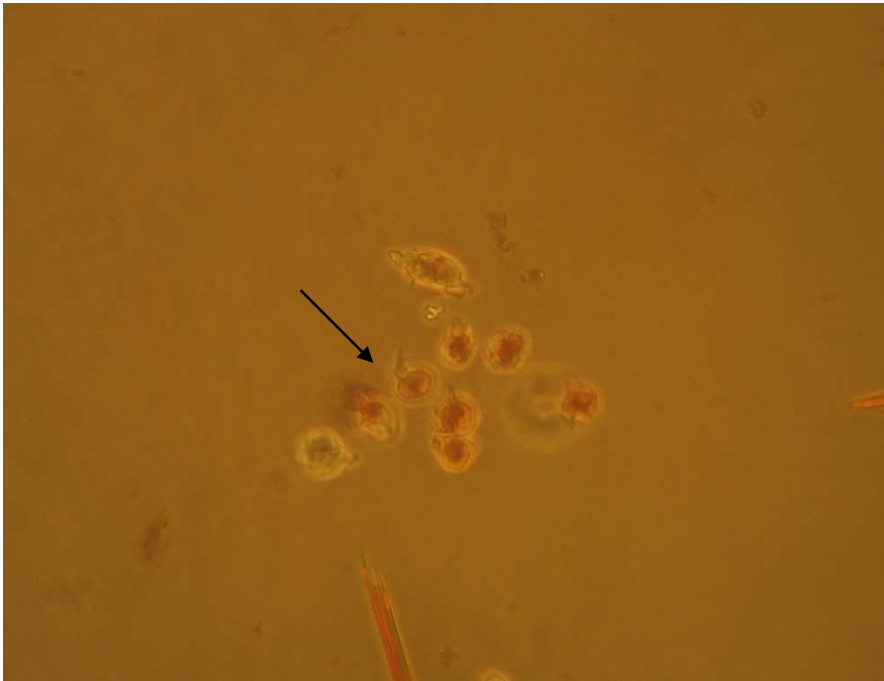
نتایج حاصل از انجام آزمایشات Neutral red retention assay (NRR) بر روی سلولهای همولنف آنودونتهای ایستگاه ماهروزه در فصل گرم و خشک (اواخر خرداد)، نشان میدهد که در محدوده زمانی ۳۰-۱۲۰ عوارض ناشی از وجود آلاینده ها که طبق روش (Lowe (1994) مورد انتظار است^۱ نظیر از دست دادن رنگ سلولهای همولنف، تورم (باد کردگی سلولها) و تجمع های سلولی در مقیاس اندک و پراکنده در بیش از ۵۰٪ سلولها مشاهده می شود (جدول ۳-۲). نمونه ای از این تصاویر در شکلهای ۳-۵ و ۳-۶ نشان داده شده است.

جدول ۳-۱ نتایج آزمایشات (NRR) Neutral Red Retention Assay

در آنودونت های ایستگاه ماهروزه - خرداد ۸۶

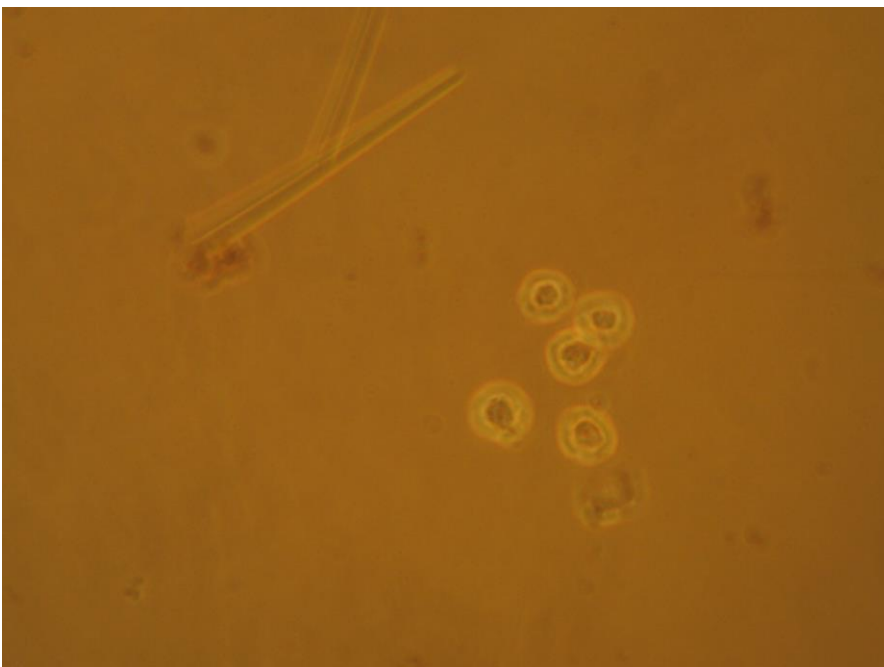
کد دوکفه ای	طول دوکفه ای (cm)	عرض دوکفه ای (cm)	ارتفاع دوکفه ای (mm)	پریود زمانی نشان دادن عوارض (دقیقه)	عوارض مشاهده شده
1	10	5.5	36.51	120	از دست دادن رنگ سلول در بیش از ۵۰٪ موارد
2	11.3	5.6	38.44	90	از دست دادن رنگ سلول در بیش از ۵۰٪ موارد
3	12	5.7	40.44	90	از دست دادن رنگ سلول و تجمع اندک و پراکنده سلولی در بیش از ۵۰٪ موارد
4	12.3	6	43.00	60	از دست دادن رنگ سلول در بیش از ۵۰٪ موارد
5	10	5.5	36.12	60	از دست دادن رنگ سلول، تورم سلول و تجمع اندک و پراکنده سلولی در بیش از ۵۰٪ موارد
6	12	6.2	38.50	60	از دست دادن رنگ سلول در بیش از ۵۰٪ موارد
7	10.7	5.9	36.58	30	از دست دادن رنگ سلول و شکسته شدن سلولها در بیش از ۵۰٪ موارد

^۱ - یادآوری میکند در سال ۲۰۰۷ مستقیماً اصل روش کار NRR با آخرین تغییرات ازایشان اخذ گردید.



شکل ۳-۵ تجمع های پراکنده و اندک سلولی در نمونه آنودونت های ایستگاه ماهروزه - خرداد ۸۶،
(Scale= 40)

همچنین در سلول مشخص شده در پایین، از دادن رنگ و در سلول مشخص شده در بالا تخریب دیواره سلول مشاهده می شود.



شکل ۳-۶ تورم سلولی و از دست دادن رنگ در سلولهای همولنف آنودونت ایستگاه ماهروزه - خرداد ۸۶،
(Scale= 40)

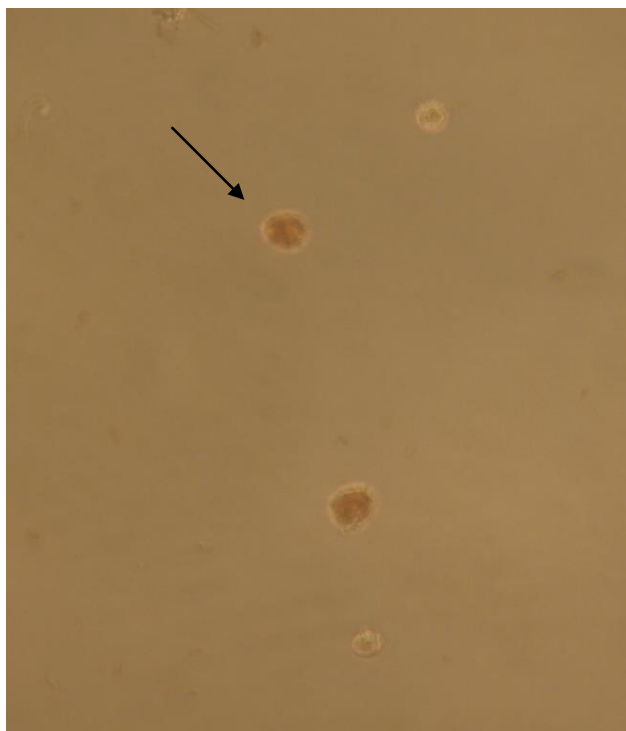
مشابه عوارض مذکور در مورد انجام آزمایشات NRR برای آنودونتهای ایستگاه سلکه در فصل گرم و خشک (جدول ۲-۳) دیده می شود. در این ایستگاه هم عوارض در محدوده زمانی ۱۲۰-۳۰ دقیقه مشاهده شده است.

عوارض مشاهده شده شامل از دست دادن رنگ سلولهای همولنف و یا تخریب سلول و تجمع های سلولی در مقیاس اندک در بیش از ۵۰٪ سلولها می باشد (جدول ۲-۳). نمونه ای از این تصاویر در شکلهای ۳-۷ تا ۳-۱۰ نشان داده شده است.

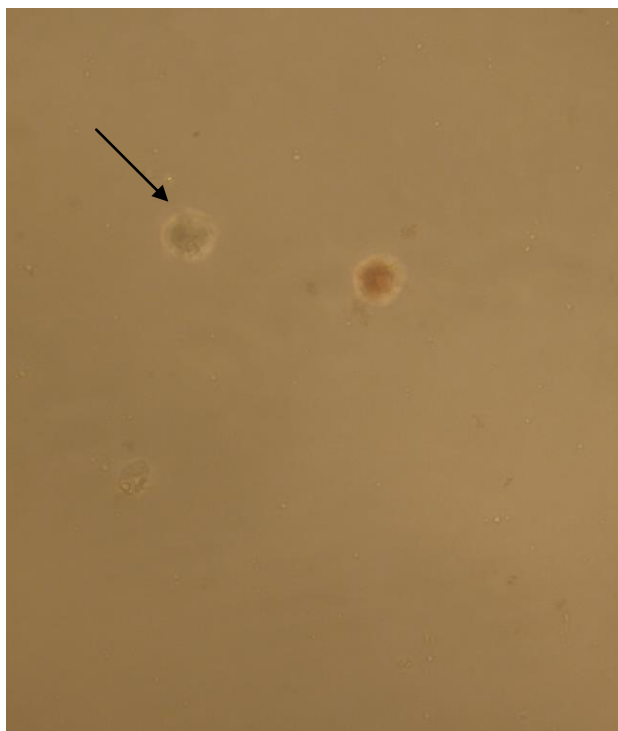
جدول ۲-۳ نتایج آزمایشات Neutral Red Retention Assay (NRR)

در آنودونت های ایستگاه سلکه - خرداد ۸۶

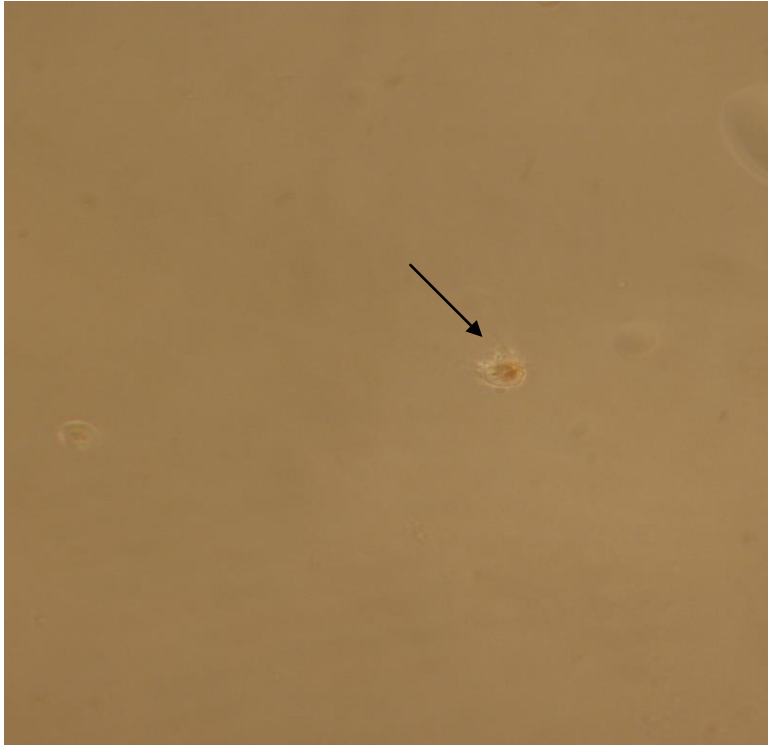
کد دوکفه ای	طول دوکفه ای (cm)	عرض دوکفه ای (cm)	ارتفاع دوکفه ای (mm)	پریود زمانی نشان دادن عوارض (دقیقه)	عوارض مشاهده شده
1	15	7.3	54.08	60	از دست دادن رنگ سلول در بیش از ۵۰٪ موارد
2	13.5	7.0	51.30	60	و شکسته شدن و تخریب سلولها در بیش از ۵۰٪ موارد
3	12.6	6.5	42.06	60	از دست دادن رنگ سلول در بیش از ۵۰٪ موارد
4	13.5	7.0	48.04	60	از دست دادن رنگ همراه با تورم سلولی در بیش از ۵۰٪ موارد
5	-	-	-	-	مرگ آنودونت در آزمایشگاه
6	11.5	6.5	41.88	30	از دست دادن رنگ سلول و تشکیل تجمع های اندک در بیش از ۵۰٪ موارد
7	14.3	8.5	53.72	120	از دست دادن رنگ سلول در بیش از ۵۰٪ موارد



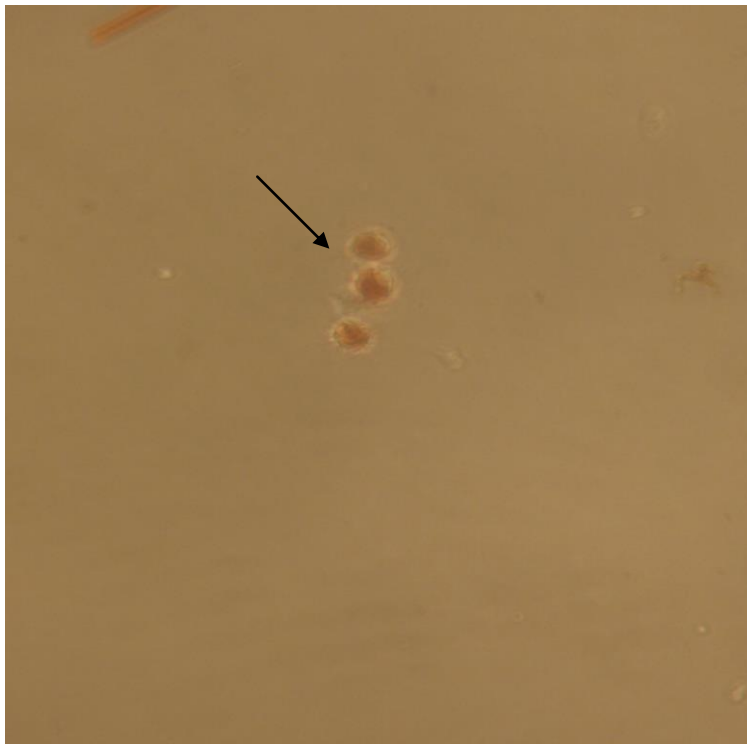
شکل ۳-۷ نمونه ای از سلولهای رنگ آمیزی شده همولنف آنودنت با روش **Neutral Red**،
ایستگاه سلکه - خرداد ۸۶ ، (Scale= 40)



شکل ۳-۸ از دست دادن رنگ در سلولهای رنگ آمیزی شده همولنف نمونه آنودنت
ایستگاه سلکه - خرداد ۸۶ ، (Scale= 40)



شکل ۳-۹ نمونه ای از تخریب سلول همولنف آنودونت ایستگاه سلکه - خرداد ۸۶، (Scale= 40)



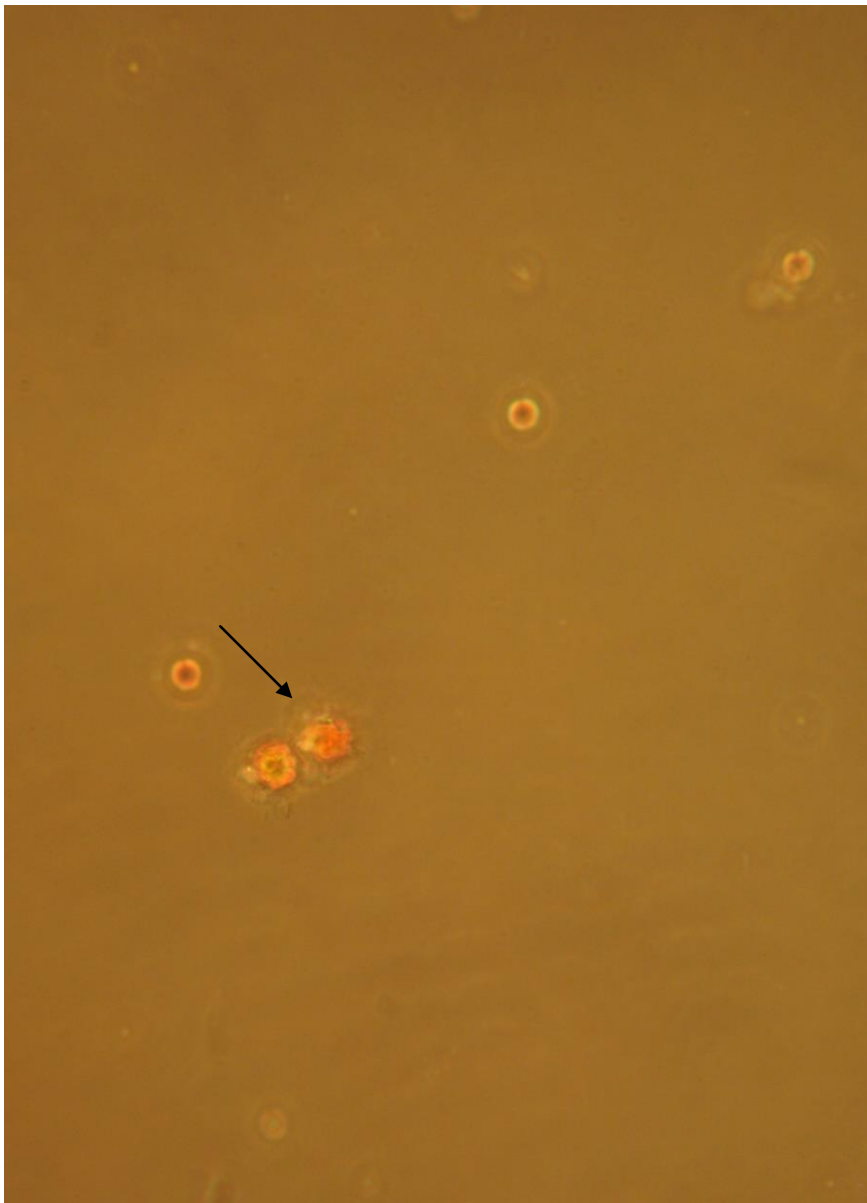
شکل ۳-۱۰ نمونه ای از تجمعات اندک و پراکنده سلولهای همولنف آنودونت ایستگاه سلکه - خرداد ۸۶،
(Scale= 40)

مشابه نتایج نمونه های آنودونت ایستگاه ماهروزه در فصل گرم و خشک برای آنودونتهای ماهروزه در فصل بارندگی هم مشاهده شده با این تفاوت که عوارض در محدوده زمانی کمتر یعنی ۶۰ - ۵ دقیقه دیده شده است (جدول ۳-۳) و شکل شماره ۳-۱۱ نمونه ای از تخریب سلولی را در این ایستگاه نمایش می دهد.

جدول ۳-۳ نتایج آزمایشات (NRR) Neutral Red Retention Assay

در آنودونت های ایستگاه ماهروزه - شهریور ۸۶

کد دوکفه ای	طول دوکفه ای (cm)	عرض دوکفه ای (cm)	ارتفاع دوکفه ای (mm)	پریود زمانی نشان دادن عوارض (دقیقه)	عوارض مشاهده شده
1	12	75	40.18	60	از دست دادن رنگ همراه با تخریب سلول در بیش از ۵۰٪ موارد
2	12.1	6.6	44.60	15	از دست دادن رنگ سلول در بیش از ۵۰٪ موارد
3	12.8	6.7	43.78	<5	از دست دادن رنگ سلول در بیش از ۵۰٪ موارد
4	12.7	7	43.44	60	از دست دادن رنگ سلول و تورم سلولی همراه با تجمع پراکنده و اندک سلولی در بیش از ۵۰٪ موارد
5	13	7	48.60	90	از دست دادن رنگ سلول، همراه با حفره دار شدن و تورم سلولی در بیش از ۵۰٪ موارد
6	9.5	5.00	30.00	15	تخریب سلول و تجمع پراکنده و اندک سلول همراه با از دست دادن رنگ سلولها در بیش از ۵۰٪ موارد
7	12	6.2	42.86	60	از بین رفتن رنگ سلول همراه با تجمع پراکنده و اندک سلولی و تورم سلولها در بیش از ۵۰٪ موارد



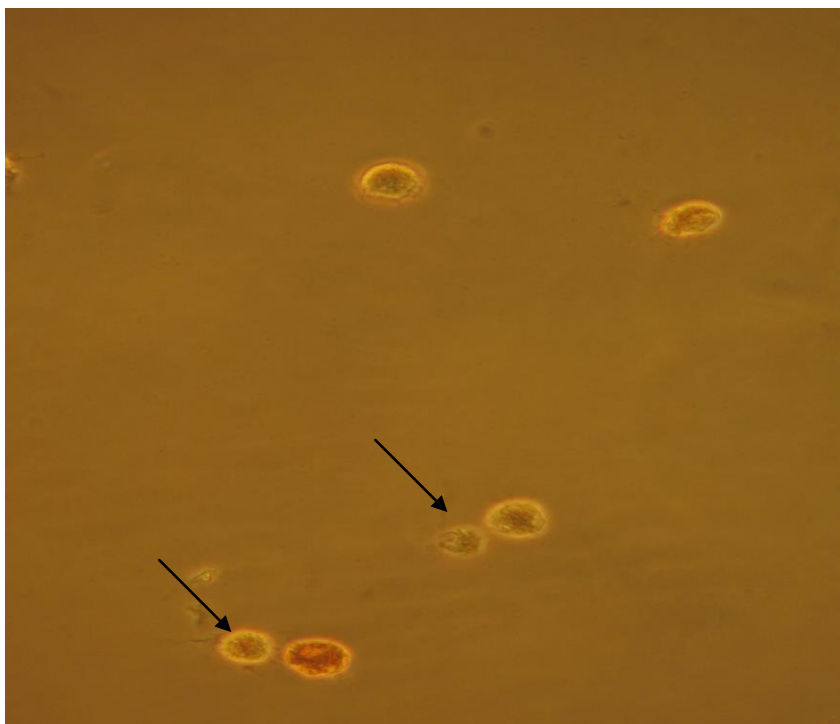
شکل ۳-۱۱ نمونه مشهودی از تخریب سلولی در نمونه آنودونت ایستگاه ماهروزه - شهریور ۸۶،
(Scale= 40)

با بررسی و مشاهده عوارض ناشی از آزمایشات NRR برای آنودونتهای سلکه در فصل بارندگی (اواخر شهریور) از دست دادن رنگ سلولها، تورم سلولی، تخریب سلولی همچنان مشاهده می شود اما تجمع سلولی با گسترش بیشتری دیده می شود (شکلهای ۳-۱۲ تا ۳-۱۵)، ضمن آنکه این تغییرات در محدوده زمانی کمتر (۹۰-۱۵ دقیقه) نسبت به فصل گرم و خشک گزارش میشود (جدول ۳-۴).

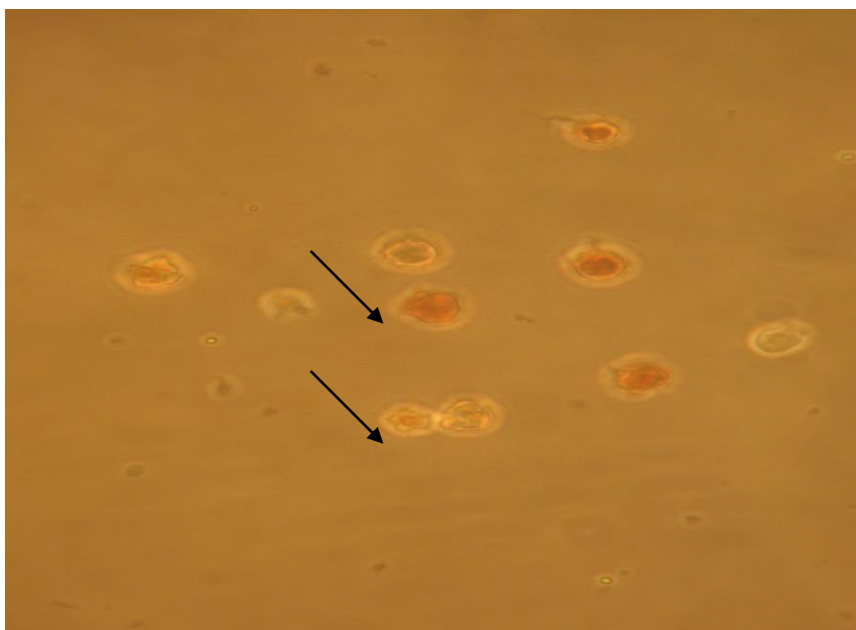
جدول ۳-۴ نتایج آزمایشات (NRR) Neutral Red Retention Assay

در آنودونت های ایستگاه سلکه - شهریور ۸۶

شماره صدف	طول (cm)	عرض (cm)	ارتفاع (mm)	پریود زمانی نشان دادن عوارض (دقیقه)	عوارض مشاهده شده
1	13.3	7.3	50.09	30	از دست دادن رنگ سلول در بیش از ۵۰٪ موارد
2	13.00	7.1	44.46	15	از دست دادن رنگ سلول و تجمع پراکنده سلولی همراه با تورم سلولی در بیش از ۵۰٪ موارد
3	13.00	7.8	53.50	15	از دست دادن رنگ سلول و تجمع پراکنده سلولی همراه با تورم سلولها در بیش از ۵۰٪ موارد
4	14.00	7.5	54.00	30	از دست دادن رنگ سلولی بیش از ۵۰٪ موارد همراه با تجمع پراکنده سلولی
5	14.3	7.5	51.66	30	تجمع سلولی، تخریب سلول همراه با تورم سلول در بیش از ۵۰٪ موارد
6	13.00	7.5	49.32	90	تخریب سلول، تورم سلولی تجمع پراکنده سلولی و کمرنگ شدن سلولها در بیش از ۵۰٪ موارد
7	13.1	7.1	45.00	90	تجمع پراکنده سلولی، کمی تورم سلولی و کمرنگ شدن سلولها در بیش از ۵۰٪ موارد

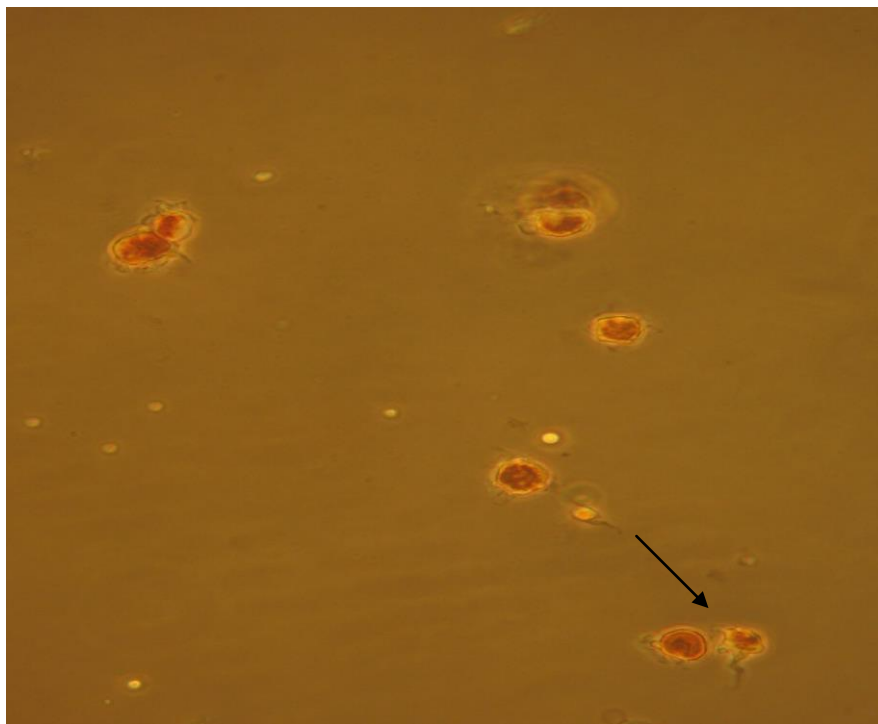


شکل ۳-۱۲ از دست دادن رنگ سلولهای همولنف آنودونت ایستگاه سلکه - شهریور ۸۶، (Scale= 40)

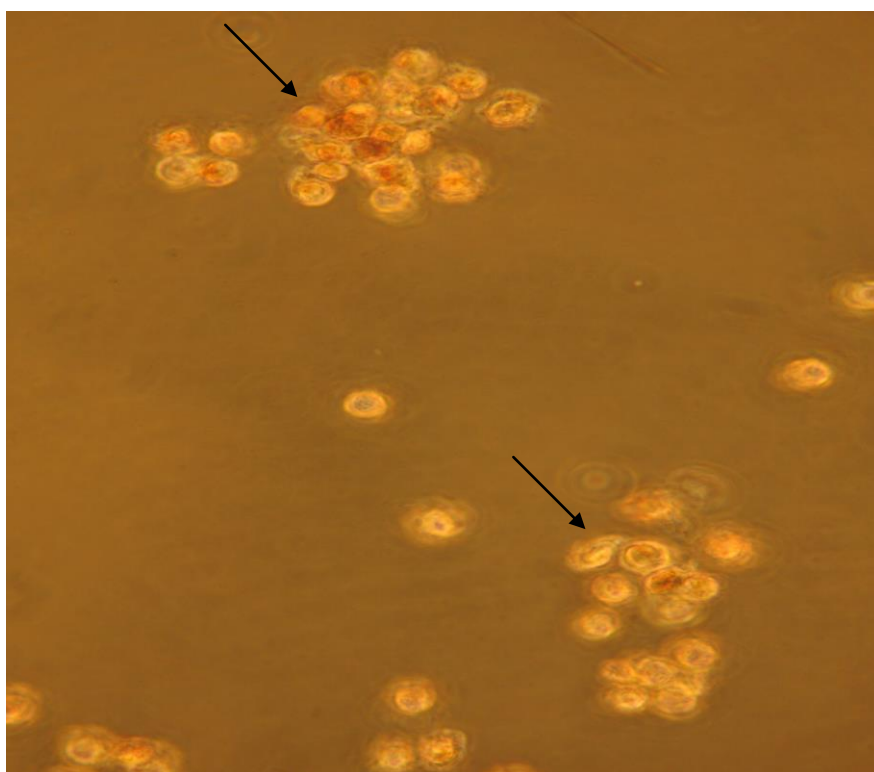


شکل ۳-۱۳ نمونه ای از تورم سلولهای همولنف در آنودونت ایستگاه سلکه - شهریور ۸۶، (Scale= 40)

همچنین نمونه ای از سلولهایی که رنگ خود را از دست داده اند و به یکدیگر برای ایجاد تجمع می پیوندند (در پایین تصویر شکل ۳-۱۳) مشاهده می شود.



شکل ۳-۱۴ نمونه ای از تخریب سلولهای همولنف در آنودونتهای ایستگاه سلکه - شهریور ۸۶، (Scale= 40)



شکل ۳-۱۵ تجمعات سلولی در همولنف آنودونت ایستگاه سلکه - شهریور ۸۶، (Scale= 40)

همانطور که قبلا هم (بخش ۲-۱) اشاره شد در نزدیکی مرکز تحقیقات آبی پروری آبهای داخلی (انزلی) و محل سوختگیری قایقهای موتوری (ایستگاه آلوده) Cage حاوی ۱۴ عدد آنودنت برای چهار هفته (دوره ۲۸ روزه) کار گذاشته شد.

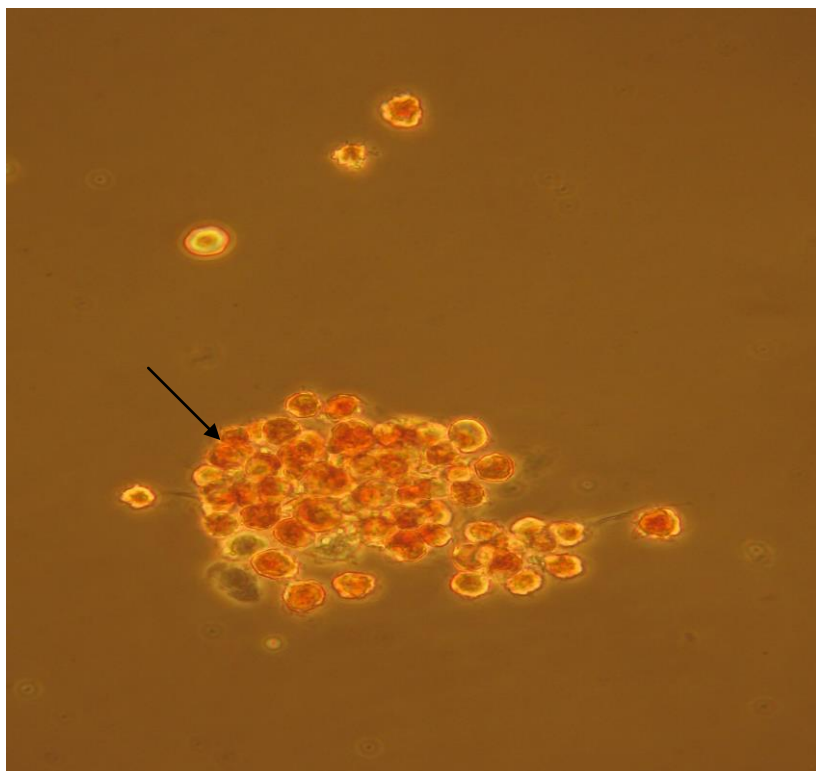
در این مدت ۷ عدد از آنودنت ها تلف شدند (۵۰٪). همچنین آزمایشات NRR در این ایستگاه در زمانی بسیار کوتاهتر (محدوده زمانی ۳۰ - ۰ دقیقه) و با پاسخها و عوارضی بسیار شدیدتر و سریعتر اتفاق افتاد که نسبت به نتایج ایستگاههای ماهروزه و سلکه قابل توجه و تامل می باشد (جدول ۳-۵). علاوه بر آن قابل توجه است که تجمعات بسیار شدید سلولی علاوه بر سایر عراض و در مقیاس بالا در نمونه های آنودنت ایستگاه Cage مشاهده میشود (شکلها ۳-۱۶ تا ۳-۱۸).

جدول ۳-۵ نتایج آزمایشات Neutral Red Retention Assay (NRR)

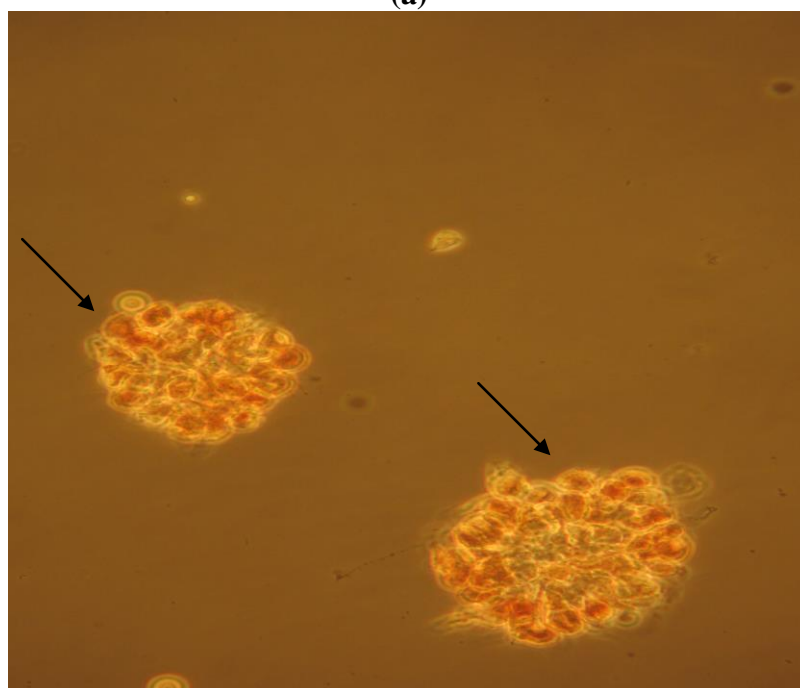
در آنودنت های ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)

شماره صدف	طول (cm)	عرض (cm)	ارتفاع (mm)	پریود زمانی نشان دادن عوارض (دقیقه)	عوارض مشاهده شده
1	13.5	7.5	46.30	30	تجمع شدید سلولی و تورم سلولی در بیش از ۵۰٪ موارد
2	12	6.4	37.76	30	تجمع شدید سلولی و از دست دادن رنگ سلولها در بیش از ۵۰٪ موارد
3	11.5	6	38.40	0	در بدو امر بیشتر از ۵۰٪ سلولها رنگ را از دست دادند
4	12.4	7.1	39.52	15	تجمع شدید سلولی و از دست دادن رنگ سلولها در بیشتر از ۵۰٪ موارد
5	12.00	6.5	38.00	15	تجمع شدید سلولی و از دست دادن رنگ سلولها در بیشتر از ۵۰٪ موارد
6	12.2	7.00	37.13	15	تجمع شدید سلولی و از دست دادن رنگ سلولها در بیشتر از ۵۰٪ موارد
7*	11.7	6.2	37.38	0	در بدو امر بیشتر از ۵۰٪ سلولها رنگ را از دست دادند

* قابل ذکر است ۵۰٪ از کل صدفهای قرار داده شده در Cage پس از ۲۸ روز، به دلیل آلودگی بالا از بین رفته و به مرحله آنالیز نرسیدند.



(a)

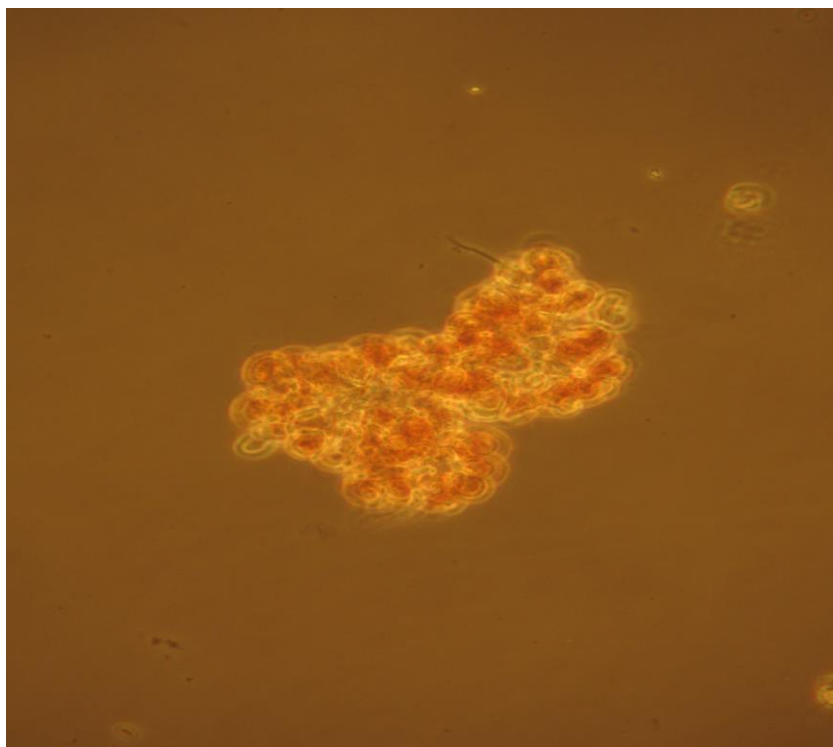


(b)

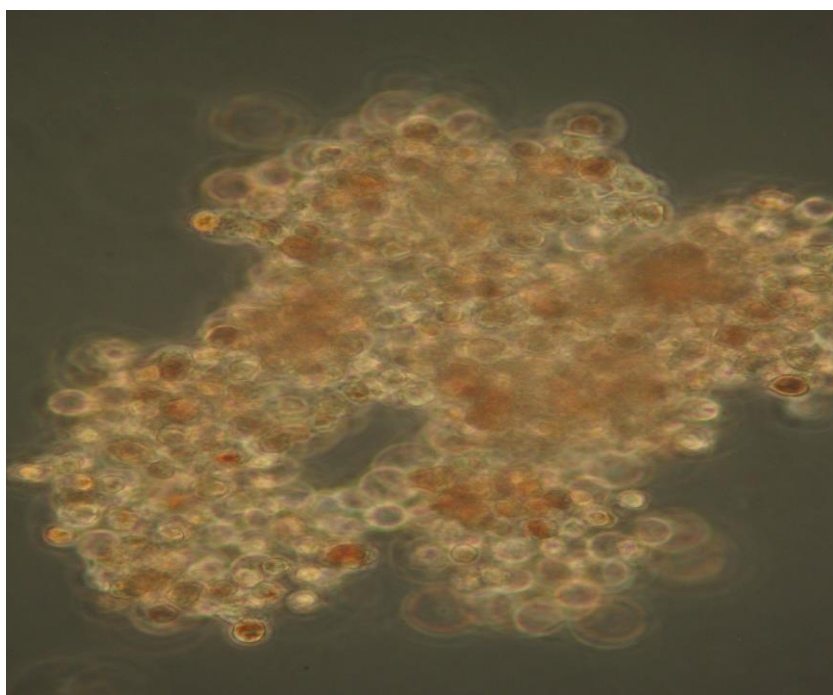
شکل ۳-۱۶ (a) : نمونه ای از تجمع سلولی در همولنف آنودونت

(b) : افزایش فزاینده تجمعات سلولی در همولنف آنودونت ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)، که در

مقایسه با سایر ایستگاهها تجمعات سلولی با گستردگی زیاد مشاهده می شود، (Scale= 40)

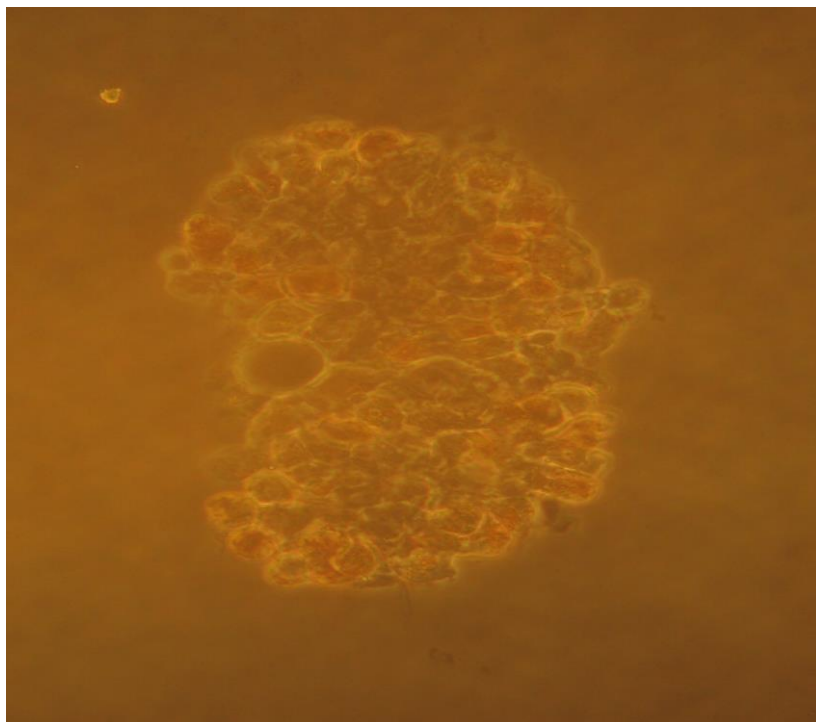


(a)

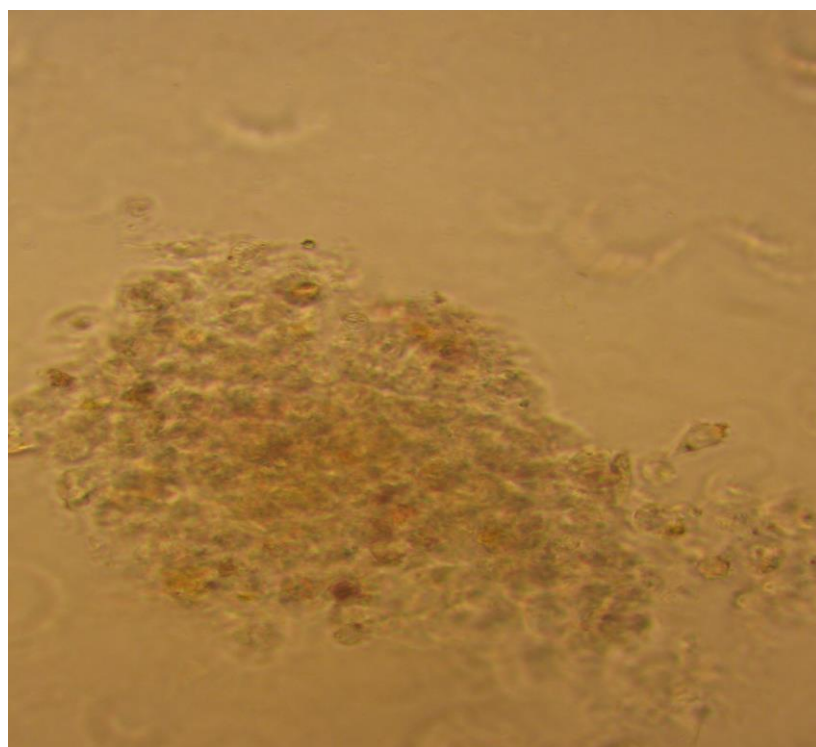


(b)

شکل ۳-۱۷ (a): ملحق شدن تجمعات سلولی پراکنده به یکدیگر
 (b): و ایجاد تجمعات سلولی بزرگتر و از دست دادن رنگ در سلولهای رنگ آمیزی شده همولنف آنودونت
 ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)، که در سایر ایستگاهها وجود نداشت، (Scale= 40)



(a)



(b)

شکل ۳-۱۸ (a): نمونه دیگری از تجمع سلولی و از دست دادن رنگ در سلولهای همولنف آنودونت

(b): و تخریب کامل سلولها همولنف آنودونت، ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز) ،

(Scale= 40)

۳-۳ نتایج اندازه گیری PAHها:

۳-۳-۱ ایستگاه ماهروزه/ خرداد: نتایج حاصل از اندازه گیری PAH ها (۱۶) PAH لیست EPA که خطرناک و سمی هستند) در آنودونتهای ایستگاه ماهروزه - اواخر خرداد در جدول ۳-۶ آورده شده است. مشاهده می شود که مینیمم و ماکزیمم Σ PAH در کل بافت آنودونتهای این ایستگاه بین 68.731 - 278.178 ng/g می باشد.

جدول ۳-۶ مقادیر PAH (ng/g) در نمونه آنودونت های ایستگاه ماهروزه - خرداد ۸۶

Target compound	Bivalve 1	Bivalve 2	Bivalve 3	Bivalve 4	Bivalve 5	Bivalve 6	Bivalve 7	Mean
1) NA	3.588	3.495	3.383	3.516	3.383	3.358	3.441	3.452
2) ACPY	0	0	0	0	0	0	10.228	1.461
3) ACP	4.3	4.116	4.093	4.085	4.098	4.079	4.204	4.139
4) FL	0.854	0.837	0.859	0.838	0.844	0.786	0.87	0.841
5) PHEN	2.903	2.917	14.712	9.692	10.847	1.823	8.25	7.306
6) AN	3.222	3.23	15.613	10.343	11.554	2.083	8.828	7.839
7) FLUR	5.363	3.908	2.659	4.756	1.999	2.906	3.936	3.646
8) PY	9.105	8.226	22.129	5.714	12.444	42.831	11.54	15.998
9) BaA	2.07	1.658	2.188	3.161	2.525	1.783	1.892	2.182
10) CHRY	1.77	1.436	1.634	2.351	1.783	1.554	1.528	1.722
11) BbF	5.336	5.325	5.876	6.666	18.438	20.152	7.32	9.873
12) BkF	11.715	15.522	3.47	10.927	7.394	8.205	9.086	9.474
13) BaP	1.419	0	4.087	1.783	0.689	0.916	0.22	1.302
14) ICdP	6.562	20.469	1.902	4.343	2.129	5.809	124.413	23.661
15) dBan	7.029	19.505	3.981	9.242	3.722	6.307	79.2	18.426
16) BPe	3.495	3.245	3.395	3.952	3.285	5.152	3.222	3.678
Σ PAH =	68.731	93.889	86.981	81.369	85.134	107.744	278.178	115.00

جدول ۳-۷ مقادیر PAH (ng/g) در نمونه رسوبات ایستگاه ماهروزه - خرداد ۸۶

Target compound	Sed.M1/J	Sed.M2/J	Sed.M3/J	Mean
1) NA	0.906	0.785	1.039	0.91
2) ACPY	2.346	2.006	1.707	2.019
3) ACP	0.807	0.744	0.703	0.751
4) FL	0.758	0.666	0.311	0.578
5) PHEN	6.036	5.259	5.367	5.554
6) AN	0.455	5.447	5.663	3.855
7) FLUR	2.163	1.667	1.302	1.710
8) PY	2.378	1.937	1.214	1.843
9) BaA	0.991	0.665	0.298	0.651
10) CHRY	2.925	2.745	1.113	2.261
11) BbF	7.942	6.325	2.182	5.483
12) BkF	3.191	2.57	0.538	2.099
13) BaP	0.528	0.334	0.956	0.606
14) ICdP	2.993	2.659	2.095	2.582
15) dBan	1.289	1.087	1.445	1.273
16) BPe	3.236	2.97	1.786	2.664
$\Sigma PAH =$	38.944	37.893	27.719	34.839

لازم به یادآوری است که از هر ایستگاه (به طول ۱ کیلومتر) ۳ نقطه نمونه برداری شده و از هر نقطه هم ۳ نمونه رسوب برداشت شده و میانگین هر نقطه پس از سه بار تکرار گزارش شده است. همچنین روش کد گذاری رسوبات بدین گونه می باشد که Sed مخفف رسوب، M1 مخفف میانگین سه بار تکرار آزمایشات، مربوط به اولین نقطه برداشت رسوب از ایستگاه ماهروزه، M2 مخفف میانگین سه بار تکرار آزمایشات، مربوط به دومین نقطه برداشت رسوب از ایستگاه ماهروزه و M3 مخفف میانگین سه بار تکرار آزمایشات، مربوط به سومین نقطه برداشت رسوب از ایستگاه ماهروزه می باشد (برای ایستگاه سلکه S1, S2, S3 و برای ایستگاه Cage, C1, C2, C3 استفاده شده) و J مخفف June یا اواخر خرداد است (برای اواخر شهریور Sep مخفف September استفاده شده است).

با توجه به جدول ۳-۷ ملاحظه می شود که مینیمم و ماکزیمم ΣPAH در رسوبات ایستگاه ماهروزه در خرداد ماه بین 27.719 - 38.944 ng/g می باشد.

نسبت فلورانتن به پایرن (PY) / (FLUR) و نسبت فناترن به آنتراسن (AN) / (PHEN) نیز در تمامی نمونه های دوکفه ای و رسوبات این ایستگاه محاسبه شده است (جدول ۳-۸ و ۳-۹).

جدول ۳-۸ بررسی نسبت فلورانتین/ پایرن و نسبت فنانترن / آنتراسن (ng/g)،

در نمونه آنودونت های ایستگاه ماهروزه- خرداد ۸۶

Target compound	Bivalve 1	Bivalve 2	Bivalve 3	Bivalve 4	Bivalve 5	Bivalve 6	Bivalve 7
FLUR	5.363	3.908	2.659	4.756	1.999	2.906	3.936
PY	9.105	8.226	22.129	5.714	12.444	42.831	11.54
FLUR / PY	0.58	0.11	0.12	0.83	0.16	0.06	0.34
PHEN	2.903	2.917	14.712	9.692	10.847	1.823	8.25
AN	3.222	3.23	15.613	10.343	11.554	2.083	8.828
PHEN / AN	0.9	0.9	0.94	0.93	0.93	0.87	0.93
Source	Diffuse	Diffuse	Diffuse	Diffuse	Diffuse	Diffuse	Diffuse

با توجه به مقادیر نسبتهای مذکور نمی توان در دوکفه ای های این ایستگاه منشا PAH ها را معین نمود

(جدول ۳-۸).

جدول ۳-۹ بررسی نسبت فلورانتین/ پایرن و نسبت فنانترن / آنتراسن (ng/g)،

در نمونه رسوبات ایستگاه ماهروزه - خرداد ۸۶

Target compound	Sed.M1/J	Sed.M2/J	Sed.M3/J
FLUR	2.163	1.667	1.302
PY	2.378	1.937	1.214
FLUR / PY	0.9	0.86	1.07
PHEN	6.036	5.259	5.367
AN	0.455	5.447	5.663
PHEN / AN	13.26	0.96	0.94
Source	Petrogenic	Diffuse	Pyrogenic

از ۳ نمونه رسوبات ایستگاه ماهروزه، در رسوبات Sed.M1/J منشا PETROGENIC و در رسوبات

Sed.M3/J منشا PYROGENIC دیده می شود و در رسوبات Sed.M2/J با توجه نسبت فلورانتین/ پایرن و

نسبت فنانترن / آنتراسن، نمی توان منشا مشخصی را ذکر نمود.

۳-۳-۲ ایستگاه سلکه / خرداد: نتایج حاصل از اندازه گیری PAH ها در آنودونتهای ایستگاه

سلکه - اواخر خرداد در جدول ۳-۱۰ آورده شده است. مشاهده می شود که مینیمم و ماکزیمم ΣPAH

در کل بافت آنودونتهای این ایستگاه بین $228.985 - 35.434 ng/g$ می باشد.

جدول ۳-۱۰ مقادیر PAH (ng/g) در نمونه آنودونت های ایستگاه سلکه - خرداد ۸۶

Target compound	Bivalve 1	Bivalve 2	Bivalve 3	Bivalve 4	Bivalve 6	Bivalve 7	Mean
1) NA	3.505	3.401	3.471	3.31	3.437	3.342	3.411
2) ACPY	10.112	10.139	0	10.179	0	10.129	6.759
3) ACP	4.087	4.154	4.079	4.922	4.09	4.101	4.238
4) FL	0.925	0.846	0.856	1.175	0.835	0.832	0.911
5) PHEN	19.204	5.426	2.832	10.011	2.045	3.255	7.128
6) AN	20.331	1.205	1.931	10.677	2.288	3.552	6.664
7) FLUR	6.114	11.665	3.744	6.759	3.444	4.045	5.961
8) PY	10.544	12.435	3.562	9.606	7.636	4.394	8.029
9) BaA	2.454	10.973	2.747	5.586	2.631	3.975	4.727
10)CHRY	1.807	8.501	1.939	4.082	2.021	2.813	3.527
11) BbF	18.154	23.412	7.657	10.893	135.123	7.616	33.809
12) BkF	7.242	46.344	50.643	38.729	55.419	12.788	35.194
13) BaP	3.248	8.403	0.667	2.829	0.663	1.925	2.955
14) ICdP	2.781	21.752	3.245	8.358	2.698	6.204	7.506
15) dBan	4.058	6.1	3.564	3.787	3.342	9.123	4.995
16) BPe	3.528	7.08	3.686	4.468	3.313	4.395	4.411
$\Sigma PAH =$	118.094	81.836	94.623	35.434	228.985	82.471	140.225

جدول ۳-۱۱ مقادیر PAH (ng/g) در نمونه رسوبات ایستگاه سلکه - خرداد ۸۶

Target compound	Sed.S1/J	Sed.S2/J	Sed.S3/J	Mean
1) NA	0.702	0.793	1.046	0.847
2) ACPY	2.505	1.834	1.892	2.077
3) ACP	0.79	0.706	0.714	0.736
4) FL	5.691	0.295	0.309	2.098
5) PHEN	87.732	1.706	4.394	31.277
6) AN	12.805	1.949	0.46	5.071
7) FLUR	21.079	0.912	2.279	8.09
8) PY	26.051	0.801	2.26	9.704
9) BaA	6.01	0.534	1.143	2.562
10) CHRY	7.014	0.746	2.103	3.287
11) BbF	7.56	3.64	5.544	5.581
12) BkF	3.071	1.465	1.656	2.064
13) BaP	2.101	0.702	1.923	1.575
14) ICdP	2.236	2.64	0	1.625
15) dBan	0.883	1.452	3.184	1.839
16) BPe	1.169	2.365	2.451	1.995
$\Sigma PAH =$	187.399	22.54	31.358	80.432

با توجه به جدول ۳-۱۱ ملاحظه می شود که مینیوم و ماکزیمم Σ PAH در رسوبات ایستگاه سلکه در خرداد ماه بین 187.399 ng/g - 22.54 می باشد.

همچنین نسبت فلورانتین به پایرن (PY) / (FLUR) و نسبت فنانترن به آنتراسن (AN) / (PHEN) نیز در تمامی نمونه های دوکفه ای و رسوبات این ایستگاه محاسبه شده است (جدول ۳-۱۲ و ۳-۱۳).

جدول ۳-۱۲ بررسی نسبت فلورانتین/ پایرن و نسبت فنانترن / آنتراسن (ng/g).

در نمونه آنودنت های ایستگاه سلکه - خرداد ۸۶

Target compound	Bivalve 1	Bivalve 2	Bivalve 3	Bivalve 4	Bivalve 6	Bivalve 7
FLUR	6.114	11.665	3.744	6.759	3.444	4.045
PY	10.544	12.435	3.562	9.606	7.636	4.394
FLUR / PY	0.57	0.93	1.05	0.7	0.45	0.92
PHEN	19.204	5.426	2.832	10.011	2.045	3.255
AN	20.331	1.205	1.931	10.677	2.288	3.552
PHEN / AN	0.94	4.5	1.46	0.93	0.89	0.91
Source	Diffuse	Diffuse	Pyrogenic	Diffuse	Diffuse	Diffuse

با توجه به مقادیر نسبتهای مذکور نمی توان در دوکفه ای های این ایستگاه منشا PAH ها را معین نمود و فقط در دوکفه ای شماره ۲ منشا Pyrogenic مشهود است (جدول ۳-۱۲).

جدول ۳-۱۳ بررسی نسبت فلورانتین/ پایرن و نسبت فنانترن / آنتراسن (ng/g).

در نمونه رسوبات ایستگاه سلکه - خرداد ۸۶

Target compound	Sed.S1/J	Sed.S2/J	Sed.S3/J
FLUR	21.079	0.912	2.279
PY	26.051	0.801	2.26
FLUR / PY	0.8	1.13	1
PHEN	87.732	1.706	4.394
AN	12.805	1.949	0.46
PHEN / AN	6.85	0.87	9.55
Source	Diffuse	Pyrogenic	Pyrogenic

با توجه به نسبت فلورانتین/ پایرن و نسبت فنانترن / آنتراسن در ۳ نمونه رسوبات ایستگاه سلکه، در رسوبات Sed.S1/J منشا نامشخص و پراکنده^۱ و در رسوبات Sed.S2/J و Sed.S3/J منشا PYROGENIC دیده می شود.

^۱ - Diffuse

۳-۳-۳ ایستگاه ماهروزه / شهر یور: نتایج حاصل از اندازه گیری PAH ها در آنودونتهای ایستگاه

ماهروزه - اواخر شهر یور در جدول ۳-۱۴ آورده شده است. مشاهده می شود که مینیمم و ماکزیمم ΣPAH در کل بافت آنودونتهای این ایستگاه بین 925.478 - 101.006 ng/g می باشد.

جدول ۳-۱۴ مقادیر PAH (ng/g) در نمونه آنودونت های ایستگاه ماهروزه - شهر یور ۸۶

Target compound	Bivalve 1	Bivalve 2	Bivalve 3	Bivalve 4	Bivalve 5	Bivalve 6	Bivalve 7	Mean
1) NA	4.448	205.209	421.88	24.411	18.496	10.34	4.417	98.457
2) ACPY	14.152	33.203	51.94	15.468	28.267	32.528	12.811	26.909
3) ACP	7.902	26.331	35.314	10.016	25.254	19.98	6.767	18.794
4) FL	11.252	44.148	54.498	8.162	5.804	30.116	1.788	22.252
5) PHEN	43.526	120.815	166.852	27.401	22.804	104.14	8.379	70.559
6) AN	45.92	127.211	11.382	29.015	24.33	109.784	9.003	50.949
7) FLUR	8.344	14.655	15.486	8.683	9.477	17.167	10.351	12.023
8) PY	8.76	11.853	21.97	9.985	16.869	17.916	12.129	14.211
9) BaA	2.522	4.628	6.134	3.654	4.26	6.804	5.128	4.732
10) CHRY	3.134	5.169	6.882	4.974	4.646	8.048	8.051	5.843
11) BbF	6.516	12.69	80.578	8.401	9.603	19.744	8.392	20.846
12) BkF	2.49	4.818	30.05	3.328	3.681	5.52	3.466	8.278
13) BaP	0	0	3.156	0	11.688	0.424	0.855	2.303
14) ICdP	0	2.84	4.648	2.703	0	4.296	1.679	2.309
15) dBan	0	7.058	5.746	5.143	0	9.048	4.002	4.428
16) BPe	4.016	6.576	4.962	4.633	0	8.344	3.788	4.617
$\Sigma PAH =$	162.982	627.204	925.478	165.977	185.181	404.199	101.006	367.432

جدول ۳-۱۵ مقادیر PAH (ng/g) در نمونه رسوبات ایستگاه ماهروزه - شهریور ۸۶

Target compound	Sed.M1/S	Sed.M2/S	Sed.M3/S	Mean
1) NA	3.521	3.964	11.897	6.460
2) ACPY	7.663	8.169	9.915	8.582
3) ACP	2.991	2.93	3.325	3.082
4) FL	1.296	1.236	2.659	1.730
5) PHEN	4.991	5.428	7.57	5.996
6) AN	5.025	5.608	1.521	4.051
7) FLUR	2.515	2.511	2.323	2.449
8) PY	1.292	4.68	2.891	2.954
9) BaA	3.424	1.319	1.856	2.199
10) CHRY	2.402	3.403	4.773	3.526
11) BbF	5.87	5.598	6.557	6.008
12) BkF	2.29	2.174	2.765	2.409
13) BaP	4.914	0.52	1.217	2.217
14) ICdP	2.965	4.308	0	2.424
15) dBan	3.141	3.671	3.06	3.290
16) BPe	3.389	4.372	4.425	4.062
$\Sigma PAH =$	57.689	59.891	66.754	61.439

لازم به ذکر است که از ۳ نمونه رسوبات ایستگاه ماهروزه که در فاصله ای به طول ۱ کیلومتر برداشته شده، میانگین هر نمونه پس از سه بار تکرار گزارش شده است.

با توجه به جدول ۳-۱۵ ملاحظه می شود که مینیمم و ماکزیمم ΣPAH در رسوبات ایستگاه ماهروزه در شهریور ماه بین $57.891 - 66.754 ng/g$ می باشد.

همچنین نسبت فلورانتن به پایرن (PY) / (FLUR) و نسبت فنانترن به آنتراسن (AN) / (PHEN) نیز در تمامی نمونه های دوکفه ای و رسوبات این ایستگاه محاسبه شده است (جدول ۳-۱۶ و ۳-۱۷).

جدول ۳-۱۶ بررسی نسبت فلورانتین/ پایرن و نسبت فناترن / آنتراسن (ng/g)،

در نمونه آنودنت های ایستگاه ماهروزه - شهریور ۸۶

Target compound	Bivalve 1	Bivalve 2	Bivalve 3	Bivalve 4	Bivalve 5	Bivalve 6	Bivalve 7
FLUR	8.344	14.655	15.486	8.683	9.477	17.167	10.351
PY	8.76	11.853	21.97	9.985	16.869	17.916	12.129
FLUR / PY	0.95	1.23	0.7	0.86	0.56	0.95	0.85
PHEN	43.526	120.815	166.852	27.401	22.804	104.14	8.379
AN	45.92	127.211	11.382	29.015	24.33	109.784	9.003
PHEN / AN	0.94	0.94	14.65	0.94	0.93	0.94	0.93
Source	Diffuse	Pyrogenic	Petrogenic	Diffuse	Diffuse	Diffuse	Diffuse

جدول ۳-۱۷ بررسی نسبت فلورانتین/ پایرن و نسبت فناترن / آنتراسن (ng/g)،

در نمونه رسوبات ایستگاه ماهروزه - شهریور ۸۶

Target compound	Sed.M1/S	Sed.M2/S	Sed.M3/S
FLUR	2.515	2.511	2.323
PY	1.292	4.68	2.891
FLUR / PY	1.94	0.53	0.8
PHEN	4.991	5.428	7.57
AN	5.025	5.608	1.521
PHEN / AN	0.99	0.99	4.97
Source	Pyrogenic	Diffuse	Diffuse

با توجه به مقادیر نسبت‌های مذکور نمی‌توان در دوکفه ای‌های این ایستگاه منشا PAH ها را معین نمود و فقط در دوکفه ای شماره ۲ منشا PYROGENIC و در دوکفه ای شماره ۳ منشا PETROGENIC مشهود است (جدول ۳-۱۶).

با توجه به نسبت فلورانتین/ پایرن و نسبت فناترن / آنتراسن در ۳ نمونه رسوبات ایستگاه ماهروزه (به طول ۱ کیلومتر که میانگین هر نمونه پس از سه تکرار گزارش شده است)، در رسوبات Sed.M1/S منشا PYROGENIC و در رسوبات Sed.M2/S منشا پراکنده و Sed. M3/S هم منشا Diffuse دیده می‌شود.

۳-۳-۴ ایستگاه سلکه / شهریور: نتایج حاصل از اندازه‌گیری PAH ها در آنودنت‌های ایستگاه

سلکه - اواخر شهریور در جدول ۳-۱۸ آورده شده است. مشاهده می‌شود که مینیمم و ماکزیمم Σ PAH در کل بافت آنودنت‌های این ایستگاه بین 235.541 - 514.044 ng/g می‌باشد.

جدول ۳-۱۸ مقادیر PAH (ng/g) در نمونه آنودونت های ایستگاه سلکه - شهریور ۸۶

Target compound	Bivalve 1	Bivalve 2	Bivalve 3	Bivalve 4	Bivalve 5	Bivalve 6	Bivalve 7	Mean
1) NA	58.962	150.116	84.236	4.72	11.9	18.222	138.363	66.645
2) ACPY	15.087	32.782	17.918	14.742	16.833	22.047	22.388	20.256
3) ACP	11.021	22.71	12.826	13.382	10.652	15.54	17.595	14.818
4) FL	16.444	34.332	20.782	23.434	16.994	17.735	29.329	22.721
5) PHEN	51.409	94.065	66.702	80.428	58.424	52.85	90.185	70.580
6) AN	54.203	99.174	70.252	84.662	218.34	55.801	94.939	96.767
7) FLUR	11.325	14.618	11.648	11.888	9.729	9.016	12.569	11.541
8) PY	14.137	12.25	14.01	13.974	9.872	9.651	12.758	12.378
9) BaA	3.34	5.834	4.182	3.57	4.083	3.55	5.188	4.249
10) CHRY	4.644	6.859	5.762	5.266	6.423	3.987	7.693	5.804
11) BbF	7.599	15.044	11.772	13.542	9.319	9.391	16.681	11.906
12) BkF	2.523	6.341	4.626	5.294	3.213	3.668	6.594	4.608
13) BaP	0.412	0.777	1.488	0.792	2.067	0	2.571	1.158
14) ICdP	2.471	3.418	2.274	0	2.031	2.433	3.539	2.309
15) dBan	4.348	8.084	4.576	4.28	4.274	6.045	5.722	5.332
16) BPe	3.913	7.64	4.188	4.086	4.21	5.605	5.007	4.949
$\Sigma PAH =$	261.838	514.044	337.242	284.06	388.364	235.541	471.121	356.03

جدول ۳-۱۹ مقادیر PAH (ng/g) در نمونه رسوبات ایستگاه سلکه - شهریور ۸۶

Target compound	Sed.S1/S	Sed.S2/S	Sed.S3/S	Mean
1) NA	3.285	3.711	2.463	3.153
2) ACPY	6.931	11.125	0	6.018
3) ACP	2.808	3.239	0	2.015
4) FL	0.882	0.953	0.522	0.785
5) PHEN	2.139	2.373	0.284	1.598
6) AN	2.254	1.448	0.411	1.371
7) FLUR	1.669	2.15	0.709	1.509
8) PY	2.42	3.858	0.384	2.220
9) BaA	1.6	1.971	0.957	1.509
10) CHRY	2.153	2.708	0.752	1.871
11) BbF	7.442	5.506	2.994	5.314
12) BkF	2.934	2.84	1.064	2.279
13) BaP	0.605	11.943	0.545	4.364
14) ICdP	5.382	6.506	1.013	4.300
15) dBan	4.079	5.009	2.144	3.744
16) BPe	3.635	4.483	2.034	3.384
$\Sigma PAH =$	50.218	69.823	16.276	45.439

با توجه به جدول ۳-۱۹ ملاحظه می شود که مینیمم و ماکزیمم Σ PAH در رسوبات ایستگاه سلکه در شهریور ماه بین 16.276 – 69.823 ng/g می باشد.

همچنین نسبت فلورانتن به پایرن (PY) / (FLUR) و نسبت فنانترن به آنتراسن (AN) / (PHEN) نیز در تمامی نمونه های دوکفه ای و رسوبات این ایستگاه محاسبه شده است (جدول ۳-۲۰ و ۳-۲۱).

جدول ۳-۲۰ بررسی نسبت فلورانتن / پایرن و نسبت فنانترن / آنتراسن (ng/g).

در نمونه آلودنت های ایستگاه سلکه - شهریور ۸۶

Target compound	Bivalve 1	Bivalve 2	Bivalve 3	Bivalve 4	Bivalve 5	Bivalve 6	Bivalve 7
FLUR	11.325	14.618	11.648	11.888	9.729	9.016	12.569
PY	14.137	12.25	14.01	13.974	9.872	9.651	12.758
FLUR / PY	0.8	1.19	0.83	0.85	0.98	0.93	0.98
PHEN	51.409	94.065	66.702	80.428	58.424	52.85	90.185
AN	54.203	99.174	70.252	84.662	218.34	55.801	94.939
PHEN / AN	0.94	0.94	0.94	0.94	0.26	0.94	0.94
Source	Diffuse	Pyrogenic	Diffuse	Diffuse	Diffuse	Diffuse	Diffuse

جدول ۳-۲۱ بررسی نسبت فلورانتن / پایرن و نسبت فنانترن / آنتراسن (ng/g).

در نمونه رسوبات ایستگاه سلکه - شهریور ۸۶

Target compound	Sed.S1/S	Sed.S2/S	Sed.S3/S
FLUR	1.669	2.15	0.709
PY	2.42	3.858	0.384
FLUR / PY	0.68	0.55	1.84
PHEN	2.139	2.373	0.284
AN	2.254	1.448	0.411
PHEN / AN	0.94	1.63	0.69
Source	Diffuse	Diffuse	Pyrogenic

با توجه به مقادیر نسبتهای مذکور نمی توان در دوکفه ای های این ایستگاه منشا PAH ها را معین نمود

و فقط در دوکفه ای شماره ۲ منشا PYROGENIC مشهود است (جدول ۳-۲۰).

با توجه به نسبت فلورانتن / پیرن و نسبت فنانترن / آنتراسن در ۳ نمونه رسوبات ایستگاه ماهروزه (به طول ۱ کیلومتر که میانگین هر نمونه پس از سه تکرار گزارش شده است)، در رسوبات Sed.S1/S و Sed.S2/S منشا پراکنده و در رسوبات Sed. S3/S منشا PAH ها PYROGENIC می باشد.

۳-۳-۵ ایستگاه Cage: نتایج حاصل از اندازه گیری PAH ها در آنودونتهای ایستگاه Cage (در اواخر شهریور Cage گذاشته شد) در جدول ۳-۲۲ آورده شده است. مشاهده می شود که مینیمم و ماکزیمم Σ PAH در کل بافت آنودونتهای این ایستگاه بین 242.098 – 654.873 ng/g می باشد. لازم به یاد آوری است که ۵۰٪ آنودونتهای این ایستگاه در دوره ۲۸ روزه Cage تلف شده اند.

جدول ۳-۲۲ مقادیر PAH (ng/g) در نمونه آنودونت های ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)

Target compound	Bivalve 1	Bivalve 2	Bivalve 3	Bivalve 4	Bivalve 5	Bivalve 6	Bivalve 7	Mean
1) NA	54.436	30.692	252.21	5.552	52.556	12.125	261.852	95.631
2) ACPY	24.274	28.064	37.812	19.106	16.998	22.129	40.801	27.026
3) ACP	13.853	12.584	26.096	15.18	14.16	20.121	30.102	18.870
4) FL	10.817	8.8	34.804	28.236	21.228	35.236	38.814	25.419
5) PHEN	34.834	32.005	110.372	80.352	64.77	85.446	114.38	74.594
6) AN	37.639	33.941	7.484	84.586	4.82	84.326	12.478	37.896
7) FLUR	13.196	17.437	13.456	11.314	11.43	13.203	17.452	13.926
8) PY	14.348	22.166	18.286	12.186	11.688	14.178	22.29	16.448
9) BaA	5.405	7.275	3.868	2.974	4.214	7.847	7.816	5.628
10) CHRY	6.296	10.914	4.5	4.002	5.28	7.015	8.501	6.644
11) BbF	10.352	11.155	43.602	8.674	17.738	10.764	47.61	21.413
12) BkF	6.105	38.184	17.026	3.404	5.498	6.41	21.039	13.952
13) BaP	0	2.488	4.738	0.744	0	0.515	8.728	2.459
14) ICdP	3.715	4.919	2.152	1.658	2.508	2.513	6.157	3.374
15) dBan	7.537	8.033	4.628	0	4.852	2.012	8.633	5.099
16) BPe	6.821	7.151	4.15	4.018	4.358	3.101	8.22	5.402
Σ PAH =	249.628	275.808	585.184	281.986	242.098	326.941	654.873	373.781

جدول ۳-۲۳ مقادیر PAH (ng/g) در نمونه رسوبات ایستگاه Cage (در روز ۱)

Target compound	Sed.C1/S (1)	Sed.C2/S (1)	Sed.C3/S (1)	Mean
1) NA	11.137	11.23	4.268	8.878
2) ACPY	64.385	70.31	25.194	53.296
3) ACP	6.088	7.152	4.013	5.751
4) FL	11.74	33.244	9.11	18.031
5) PHEN	13.064	18.493	75.349	35.635
6) AN	58.157	182.052	25.616	88.608
7) FLUR	24.712	26.884	7.714	19.77
8) PY	7.216	7.47	4.297	6.327
9) BaA	170.588	342.256	170.891	227.911
10) CHRY	123.111	270.585	121.036	171.577
11) BbF	14.469	21.742	16.575	17.595
12) BkF	151.541	258.285	193.163	200.996
13) BaP	180.35	264	136.207	193.519
14) ICdP	122.555	153.102	117.952	131.203
15) dBan	210.536	78.2	178.556	155.764
16) BPe	4.017	7.172	3.734	4.974
$\Sigma PAH =$	1173.666	1752.177	1093.675	1339.835

جدول ۳-۲۴ مقادیر PAH (ng/g) در نمونه رسوبات ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)

Target compound	Sed.C1/S (28)	Sed.C2/S (28)	Sed.C3/S (28)	Mean
1) NA	3.817	4.531	3.035	3.794
2) ACPY	14.724	11.466	14.91	13.7
3) ACP	3.378	4.264	3.087	3.576
4) FL	2.616	5.688	3.135	3.813
5) PHEN	1.58	30.093	94.464	42.045
6) AN	12.523	20.26	27.531	20.104
7) FLUR	5.766	5.861	394.71	135.445
8) PY	609.94	86.53	277.152	324.540
9) BaA	68.476	96.364	341.77	168.87
10) CHRY	54.201	77.448	280.377	137.342
11) BbF	8.095	12.394	24.333	14.940
12) BkF	60.087	122.968	234.176	139.077
13) BaP	65.916	97.103	229.882	130.967
14) ICdP	47.535	72.814	140.244	86.864
15) dBan	18.889	28.413	58.74	35.347
16) BPe	36.247	55.088	91.067	60.800
$\Sigma PAH =$	1016.79	731.285	2218.613	1321.224

با توجه به جدول ۳-۲۳ ملاحظه می شود در ابتدای Cage گذاری (روز اول) مینیمم و ماکزیمم در Σ PAH در رسوبات ایستگاه Cage بین 1093.675 – 1752.177 ng/g است و مینیمم و ماکزیمم در رسوبات ایستگاه Cage، در انتهای دوره (در آخر روز ۲۸) بین 731.285 – 2218.613 ng/g می باشد (جدول ۳-۲۴).

همچنین نسبت فلورانتین به پیرن (PY) / (FLUR) و نسبت فنانترن به آنتراسن (AN) / (PHEN) نیز در تمامی نمونه های دوکفه ای و رسوبات ایستگاه Cage (در آخر دوره ۲۸ روزه) محاسبه شده است (جدول ۳-۲۵ و ۳-۲۶).

جدول ۳-۲۵ بررسی نسبت فلورانتین/ پیرن و نسبت فنانترن / آنتراسن (ng/g)، در نمونه آنودونت های ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)

Target compound	Bivalve 1	Bivalve 2	Bivalve 3	Bivalve 4	Bivalve 5	Bivalve 6	Bivalve 7
FLUR	13.196	17.437	13.456	11.314	11.43	13.203	17.452
PY	14.348	22.166	18.286	12.186	11.688	14.178	22.29
FLUR / PY	0.91	0.78	0.73	0.92	0.97	0.93	0.78
PHEN	34.834	32.005	110.372	80.352	64.77	85.446	114.38
AN	37.639	33.941	7.484	84.586	4.82	84.326	12.478
PHEN / AN	0.92	0.94	14.74	0.94	13.43	1.01	9.16
Source	Diffuse	Diffuse	Petrogenic	Diffuse	Petrogenic	Diffuse	Diffuse

جدول ۳-۲۶ بررسی نسبت فلورانتین/ پیرن و نسبت فنانترن / آنتراسن (ng/g)، در نمونه رسوبات ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)

Target compound	Sed.C1/S (28)	Sed.C2/S (28)	Sed.C3/S (28)
FLUR	5.766	5.861	394.71
PY	609.94	86.53	277.152
FLUR / PY	0.94 X 10⁻³	0.06	1.42
PHEN	1.58	30.093	94.464
AN	12.523	20.26	27.531
PHEN / AN	0.12	1.48	3.43
Source	Diffuse	Diffuse	Pyrogenic

با توجه به مقادیر نسبتهای مذکور در دوکفه ایهای شماره ۳ و ۵ منشا PETROGENIC مشهود است (جدول ۳-۲۵) ولی در مورد مابقی دوکفه ای های این ایستگاه نمی توان منشا PAH ها را معین نمود.

همچنین با توجه به نسبت فلورانتین/ پیرن و نسبت فنانترن / آنتراسن در ۳ نمونه رسوبات ایستگاه **Cage 28** (میانگین هر نمونه پس از سه تکرار گزارش شده است)، در رسوبات **Sed.C1/S (28)** و در رسوبات **Sed.C2/S (28)** منشا PAH ها پراکنده و در رسوبات **Sed.C3/S(28)** منشا PYROGENIC می باشد.

۳-۴ نتایج تعیین BSAF (تجمع زیستی - رسوبی) PAH ها بین رسوب و دوکفه ای *A. cygnea* دوکفه ای ها از نظر تغذیه Filter Feeder بوده و آلاینده ها را همراه با مواد غذایی وارد بدن خود می نمایند و چون موجودات رده های پایین هستند متابولیسم اندکی داشته بنابراین قادرند آلاینده ها را نسبت به محیط اطراف خود (آب یا رسوب)، $10^0 - 10^2$ بار در بدن خود تغلیظ نمایند. لذا می توان تجمع زیستی آلاینده ها را بین رسوبات و بافت بدن دوکفه ای ها (BSAF)¹ بررسی نمود.

برای تعیین تجمع زیستی Σ PAH بین رسوب و دوکفه ای Anodont در نقاط نمونه برداری شده، میبایست نسبت غلظت آلاینده در دو کفه ای را به غلظت آلاینده در رسوب پیدا کرد و البته در اینجا میانگین غلظتها در نظر گرفته شده است:

$$\text{Bio-Sediment Accumulation Factor} = \frac{\pm \text{SD میانگین مقادیر } \Sigma\text{PAH در دوکفه ای}}{\pm \text{SD میانگین مقادیر } \Sigma\text{PAH در رسوب}}$$

بنابراین در ایستگاههای ماهروزه، سلکه در خرداد ماه میزان BSAF در مورد آلاینده PAH به شرح زیر می باشد:

$$\begin{aligned} \text{1) B S A F (ماهروزه/خرداد)} &= \frac{115.00(\pm 27.63)}{34.839 (\pm 3.58)} \\ &= \mathbf{3.3 (\pm 7.71)} \end{aligned}$$

$$\text{2) B S A F (سلکه/خرداد)} = \mathbf{1.74 (\pm 0.42)}$$

همچنین در ایستگاههای ماهروزه، سلکه و Cage میزان BSAF در مورد آلاینده PAH به شرح زیر می باشد:

1 - Bio-Sediment Accumulation Factor

3) B S A F (ماهروزه/شهریور) = 5.98 (\pm 42.55)

4) B S A F (سلکه/شهریور) = 7.83 (\pm 2.58)

5) B S A F (Cage/بعد از گذشت زمان ۲۸ روز) = 0.28 (\pm 0.08)

۳-۴-۱ تعیین BSAF برای هر یک از 16 PAH اولویت EPA جداگانه و به تفکیک

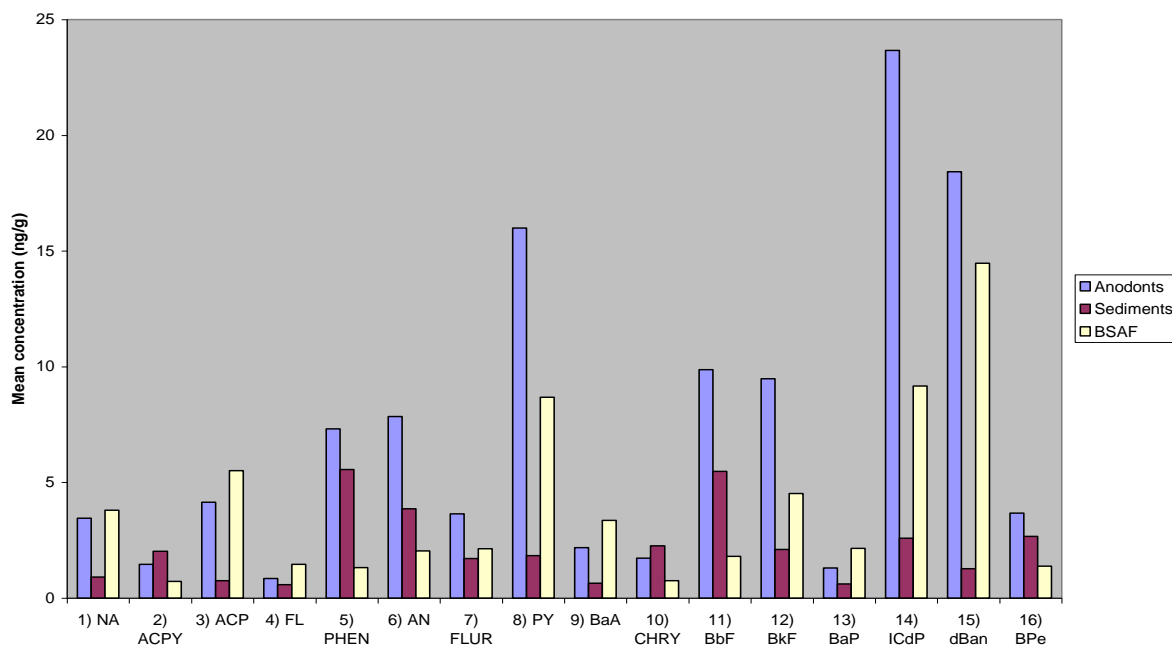
در ادامه این تحقیق میانگین هر کدام از شانزده آلاینده PAH (نفتالن، فلورانتن، پایرن و ...) در بافت آنودونت و در رسوبات هر ایستگاه و در هر فصل جداگانه محاسبه شده و میزان تجمع زیستی برای هر ۱۶ آلاینده خطرناک محاسبه گردید.

۳-۴-۱-۱ تعیین BSAF برای 16 PAH در ایستگاه ماهروزه / خردادماه

در این بخش میانگین هر یک از شانزده PAH در نمونه آنودونتها و رسوبات ایستگاه ماهروزه در خرداد ماه محاسبه شده و سپس مقدار BSAF برای هر یک از PAH ها به تفکیک و بطور جداگانه تعیین گردیده است. با توجه به جدول ۳-۲۷ و نمودار ۳-۱ مشاهده میشود که تجمع زیستی در مورد ترکیباتی نظیر نفتالن (NA)، اسنفتن (ACP)، پایرن (PY)، بنزو (k) فلورانتن یا (BkF)، ایندو (1,2,3,-cd) پایرن یا (ICdP)، دی بنزو (a,h) آنتراسن یا (dBan) بالاتر می باشد.

جدول ۳-۲۷ میانگین 16 PAH (ng/g) در نمونه آنودونت و رسوبات ایستگاه ماهروزه و مقادیر فاکتور تجمع زیستی - رسوبی آنها (خرداد ۸۶)

Target compont	Mean in Anodonts (Ma.June)	Mean in Sediments (Ma. June)	BSAF
1) NA	3.452	0.91	3.793
2) ACPY	1.461	2.019	0.723
3) ACP	4.139	0.751	5.511
4) FL	0.841	0.578	1.455
5) PHEN	7.306	5.554	1.315
6) AN	7.839	3.855	2.033
7) FLUR	3.646	1.71	2.132
8) PY	15.998	1.843	8.68
9) BaA	2.182	0.651	3.351
10) CHRY	1.722	2.261	0.761
11) BbF	9.873	5.483	1.8
12) BkF	9.474	2.099	4.513
13) BaP	1.302	0.606	2.148
14) ICdP	23.661	2.582	9.163
15) dBan	18.426	1.273	14.474
16) BPe	3.678	2.664	1.38



نمودار ۳-۱ نمایش تجمع زیستی - رسوبی (BSAF) برای 16 PAH در ایستگاه ماهروزه - خرداد ۸۶

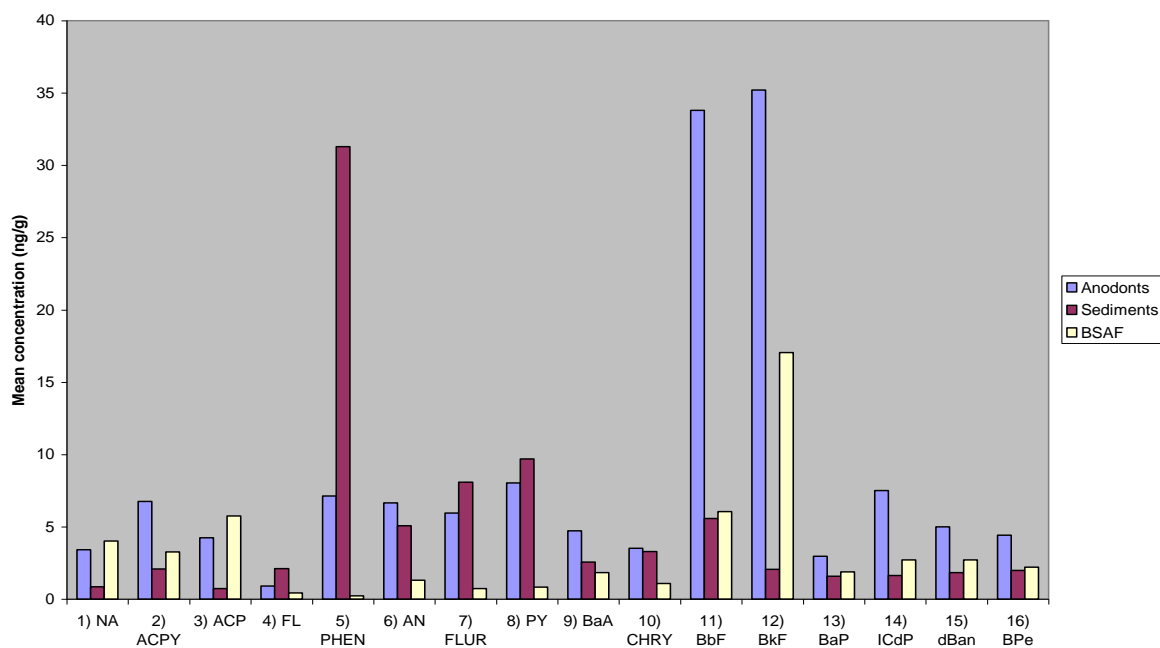
۳-۴-۱-۲ تعیین BSAF برای 16 PAH در ایستگاه سلکه / خردادماه

در ادامه مقدار BSAF برای هریک از PAH های مذکور بطور جداگانه در ایستگاه سلکه تعیین گردیده است. با توجه به جدول ۳-۲۸ و نمودار ۳-۲ مشاهده میشود که تجمع زیستی تقریباً از الگوی مشابهی در مقایسه با ایستگاه ماهروزه تبعیت می کند و ترکیباتی نظیر نفتالن (NA) ، اسنفتن (ACP) ، ایندو (1,2,3,-cd) پایرن یا (ICdP) ، بنزو (b) فلورانتن یا (BbF) و بنزو (k) فلورانتن یا (BkF) بالاتر می باشد.

جدول ۳-۲۸ میانگین ng/g PAH 16 در نمونه آنودونت و رسوبات ایستگاه سلکه

و مقادیر فاکتور تجمع زیستی- رسوبی آنها (خرداد ۸۶)

Target compont	Mean in Anodonts (Sel. June)	Mean in Sediments (Sel. June)	BSAF
1) NA	3.411	0.847	4.027
2) ACPY	6.759	2.077	3.254
3) ACP	4.238	0.736	5.758
4) FL	0.911	2.098	0.434
5) PHEN	7.128	31.277	0.227
6) AN	6.664	5.071	1.314
7) FLUR	5.961	8.09	0.736
8) PY	8.029	9.704	0.827
9) BaA	4.727	2.562	1.845
10) CHRY	3.527	3.287	1.073
11) BbF	33.809	5.581	6.057
12) BkF	35.194	2.064	17.051
13) BaP	2.955	1.575	1.876
14) ICdP	7.506	1.625	2.716
15) dBan	4.995	1.839	2.716
16) BPe	4.411	1.995	2.211



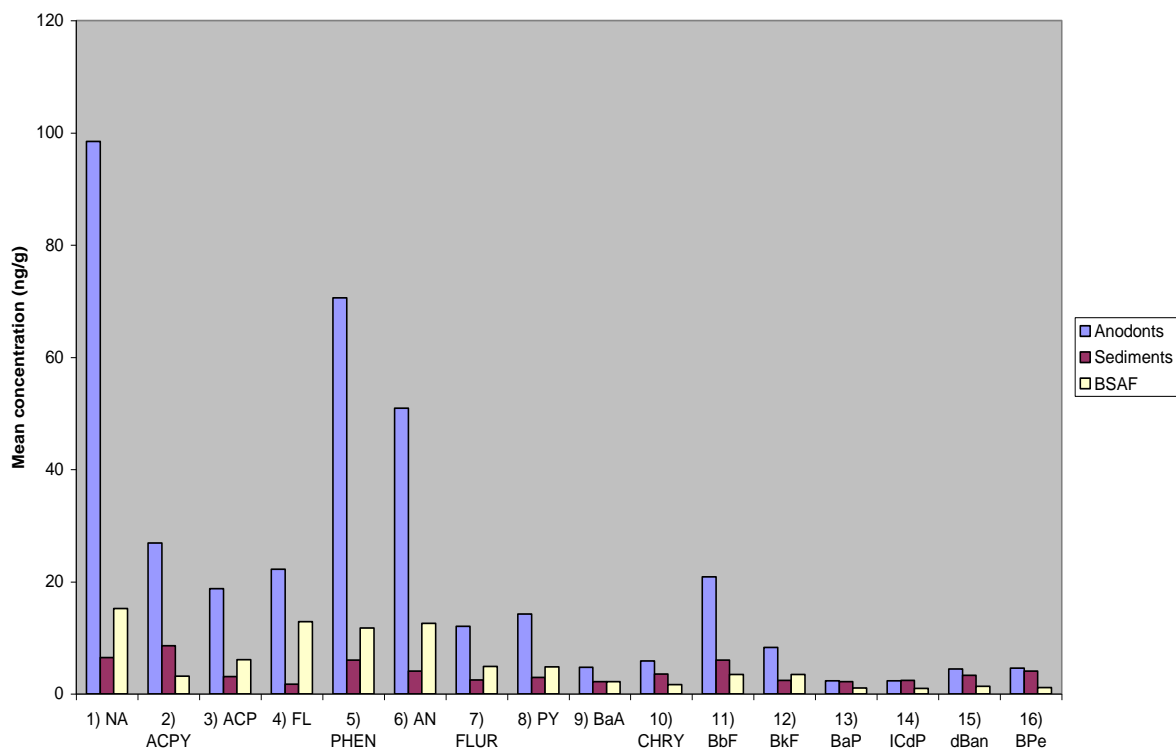
نمودار ۳-۲ نمایش تجمع زیستی- رسوبی (BSAF) برای 16 PAH در ایستگاه سلکه- خرداد ۸۶

۳-۱-۴-۳ تعیین BSAF برای 16 PAH در ایستگاه ماهروزه / شهرپور

پس از تعیین تجمع زیستی رسوبی BSAF در ایستگاه ماهروزه در شهرپور (جدول ۳-۲۹) و با توجه به نمودار ۳-۳ مشاهده می شود که در مورد ترکیباتی نظیر نفتالن (NA)، اسنفتن (ACP)، فلورن (FL)، فنانترن (PHEN)، آنتراسن (AN)، فلورانتن (FLUR) و پایرن (PY) دارای تجمع بالاتری هستند.

جدول ۳-۲۹ میانگین 16 PAH (ng/g) در نمونه آنودونت و رسوبات ایستگاه ماهروزه و مقادیر فاکتور تجمع زیستی - رسوبی آنها (شهریور ۸۶)

Target compont	Mean in Anodonts (Ma. Sep)	Mean in Sediments (Ma. Sep)	BSAF
1) NA	98.457	6.46	15.241
2) ACPY	26.909	8.582	3.135
3) ACP	18.794	3.082	6.097
4) FL	22.252	1.73	12.862
5) PHEN	70.559	5.996	11.767
6) AN	50.949	4.051	12.576
7) FLUR	12.023	2.449	4.909
8) PY	14.211	2.954	4.81
9) BaA	4.732	2.199	2.151
10) CHRY	5.843	3.526	1.657
11) BbF	20.846	6.008	3.469
12) BkF	8.278	2.409	3.436
13) BaP	2.303	2.217	1.038
14) ICdP	2.309	2.424	0.952
15) dBan	4.428	3.29	1.345
16) BPe	4.617	4.062	1.136



نمودار ۳-۳ نمایش تجمع زیستی - رسوبی (BSAF) برای 16 PAH در ایستگاه ماهروزه - شهریور ۸۶

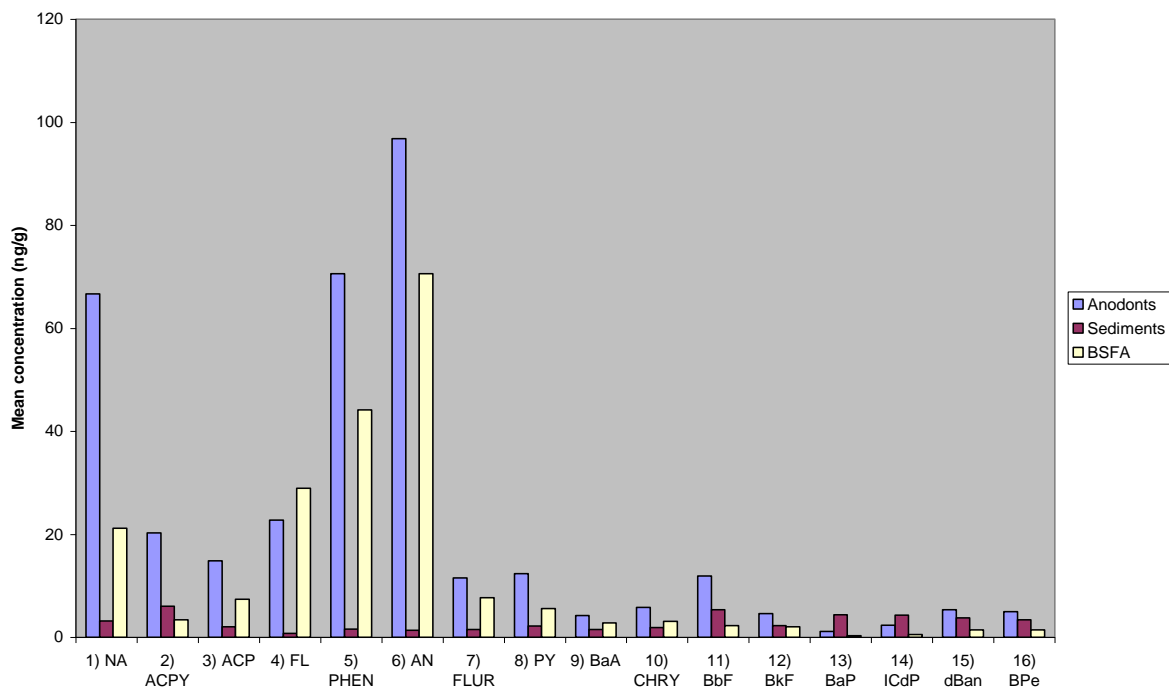
۳-۴-۱-۴ تعیین BSAF برای 16 PAH در ایستگاه سلکه / شهر یور

با بررسی مقادیر تجمع زیستی رسوبی در ایستگاه سلکه و در شهر یور ماه (جدول ۳-۳۰) و با توجه به نمودار ۳-۴ مشاهده می شود که این ایستگاه در فصل بارندگی (شهر یور) دقیقا الگویی مشابه با ایستگاه ماهروزه داشته و ترکیباتی نظیر نفتالن (NA)، اسنفتن (ACP)، فلورن (FL)، فنانترن (PHEN)، آنتراسن (AN)، فلورانتن (FLUR) و پایرن (PY) دارای تجمع بالاتری می باشند.

جدول ۳-۳۰ میانگین 16 PAH در نمونه آنودونت و رسوبات ایستگاه سلکه

و مقادیر فاکتور تجمع زیستی - رسوبی آنها (شهر یور ۸۶)

Target compont	Mean in Anodonts (Sel. Sep)	Mean in Sediments (Sel. Sep)	BSAF
1) NA	66.645	3.153	21.137
2) ACPY	20.256	6.018	3.365
3) ACP	14.818	2.015	7.353
4) FL	22.721	0.785	28.943
5) PHEN	70.58	1.598	44.167
6) AN	96.767	1.371	70.581
7) FLUR	11.541	1.509	7.648
8) PY	12.378	2.22	5.575
9) BaA	4.249	1.509	2.815
10) CHRY	5.804	1.871	3.102
11) BbF	11.906	5.314	2.24
12) BkF	4.608	2.279	2.021
13) BaP	1.158	4.364	0.265
14) ICdP	2.309	4.3	0.536
15) dBan	5.332	3.744	1.424
16) BPe	4.949	3.384	1.462



نمودار ۳-۴ نمایش تجمیع زیستی- رسوبی (BSAF) برای 16 PAH در ایستگاه سلکه- شهریور ۸۶

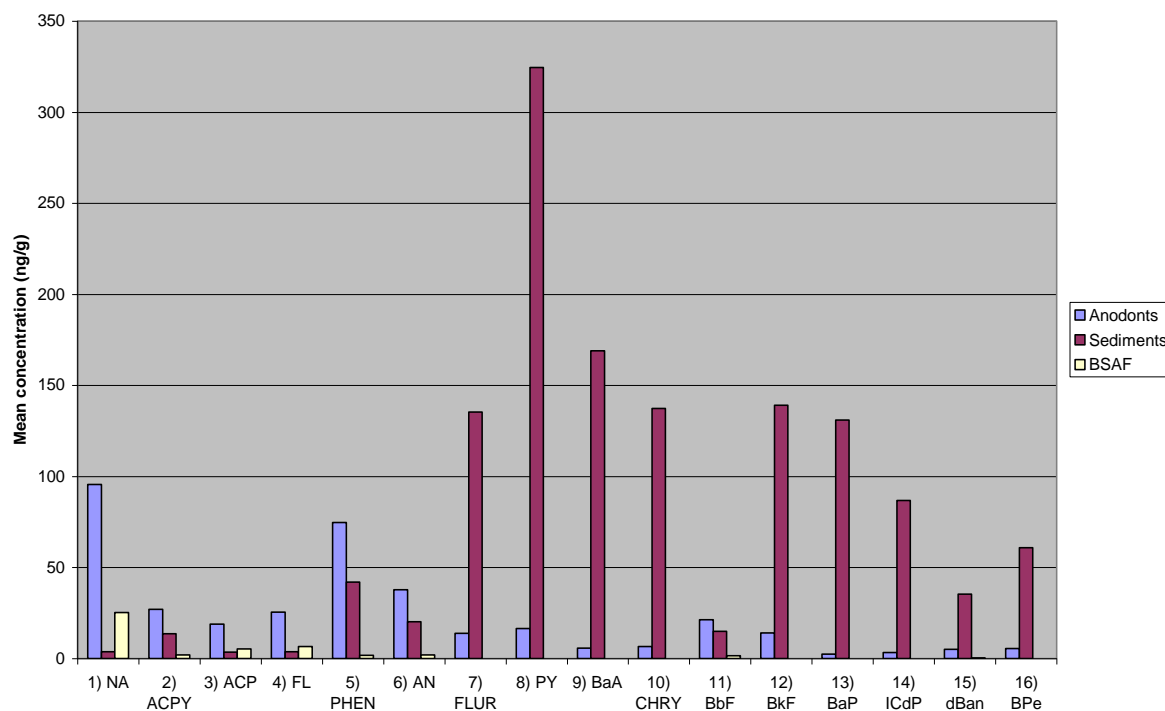
۳-۴-۱-۵ تعیین BSAF برای 16 PAH در ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)

با بررسی مقادیر BSAF در ایستگاه Cage در روز بیست و هشتم (جدول ۳-۳۱) و با توجه به نمودار ۳-۵ مشاهده می شود که تنها در سه مورد یعنی ترکیبات نفتالن (NA)، اسنفتن (ACP) و فلورن (FL) تجمیع زیستی بالایی دیده می شود.

جدول ۳-۳۱ میانگین 16 PAH (ng/g) در نمونه آنودونت و رسوبات ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)

و مقادیر فاکتور تجمع زیستی- رسوبی آنها

Target compont	Mean in Anodonts (Cage 28. Sep)	Mean in Sediments (Cage 28. Sep)	BSAF
1) NA	95.631	3.794	25.205
2) ACPY	27.026	13.7	1.972
3) ACP	18.87	3.576	5.276
4) FL	25.419	3.813	6.666
5) PHEN	74.594	42.045	1.774
6) AN	37.896	20.104	1.884
7) FLUR	13.926	135.445	0.102
8) PY	16.448	324.54	0.05
9) BaA	5.628	168.87	0.033
10) CHRY	6.644	137.342	0.048
11) BbF	21.413	14.94	1.433
12) BkF	13.952	139.077	0.1
13) BaP	2.459	130.967	0.018
14) ICdP	3.374	86.864	0.038
15) dBan	5.099	35.347	0.144
16) BPe	5.402	60.8	0.088



نمودار ۳-۵ نمایش تجمع زیستی- رسوبی (BSAF) برای 16 PAH در ایستگاه Cage، (بعد از گذشت زمان ۲۸

روز)

۳-۵ نتایج اندازه گیری نیکل و وانادیوم

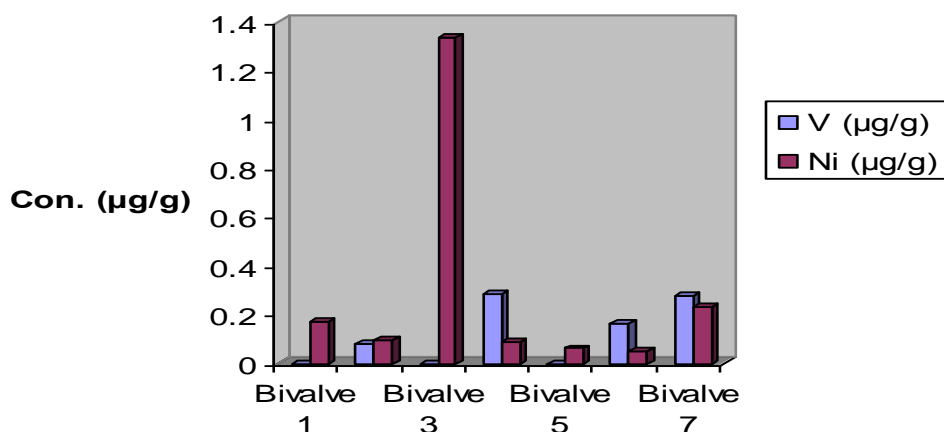
همانطور که در فصول گذشته هم اشاره شد نیکل و وانادیوم جزو فلزات سنگین موجود در پسابهای صنعتی و همچنین بخش آسفالتن نفت می باشند و با توجه به اینکه آلودگیهای نفتی (PAH) در این پروژه مورد بررسی قرار گرفته و احتمال وجود آلودگی این دو فلز هم مطرح بود، در ادامه مقادیر نیکل و وانادیوم به تفکیک هر ایستگاه و برای هر فصل نمونه برداری اندازه گیری شد که به شرح زیر گزارش می شود.

۳-۵-۱ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونت ها و رسوبات ایستگاه ماهروزه / خرداد

با توجه به آنالیزهای انجام شده مقدار نیکل و وانادیوم در نمونه های بافت آنودونت ایستگاه ماهروزه در خرداد ماه پایین می باشد بطوری که مقادیر وانادیوم در محدوده غیر قابل تشخیص دستگاه (ND)^۱ تا $0.2827 \mu\text{g/g}$ و مقادیر نیکل در محدوده $0.0524 - 1.3351 \mu\text{g/g}$ می باشد (جدول شماره ۳-۳۲ و نمودار ۳-۶).

جدول ۳-۳۲ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه ماهروزه - خرداد ۸۶

ایستگاه ماهروزه/خرداد	V ($\mu\text{g/g}$)	Ni ($\mu\text{g/g}$)
Bivalve 1	*ND	0.1725
Bivalve 2	0.0811	0.0967
Bivalve 3	ND	1.3351
Bivalve 4	0.2827	0.0864
Bivalve 5	ND	0.0622
Bivalve 6	0.1626	0.0524
Bivalve 7	0.2749	0.2291
Mean	0.2	0.29



نمودار ۳-۶ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه ماهروزه - خرداد ۸۶

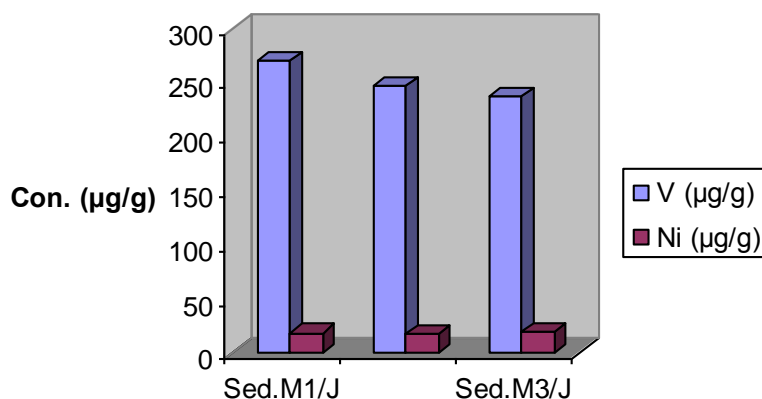
¹ - Not Detect (تشخیص داده نشد)

اما با توجه به آنالیز های انجام شده مقدار نیکل و وانادیوم در رسوبات ماهروزه در خرداد ماه بالاتر بوده بطوری که مقادیر وانادیوم در محدوده $269.6086 - 238.1256 \mu\text{g/g}$ و مقادیر نیکل در محدوده $19.3561 - 18.5326 \mu\text{g/g}$ می باشد (جدول شماره ۳-۳۳ و نمودار ۳-۷).

یاد آوری می شود که در هر ایستگاه به طول ۱ کیلومتر، سه نمونه رسوب برداشته شده و هر نمونه سه بار تکرار داشته و میانگین سه تکرار برای هر نمونه رسوب، گزارش شده است.

جدول ۳-۳۳ مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه ماهروزه - خرداد ۸۶

ایستگاه ماهروزه / خرداد	V ($\mu\text{g/g}$)	Ni ($\mu\text{g/g}$)
Sed.M1/J	269.6086	19.126
Sed.M2/J	247.8204	18.5326
Sed.M3/J	238.1256	19.3561
Mean	251.85	19.00



نمودار ۳-۷ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه ماهروزه - خرداد ۸۶

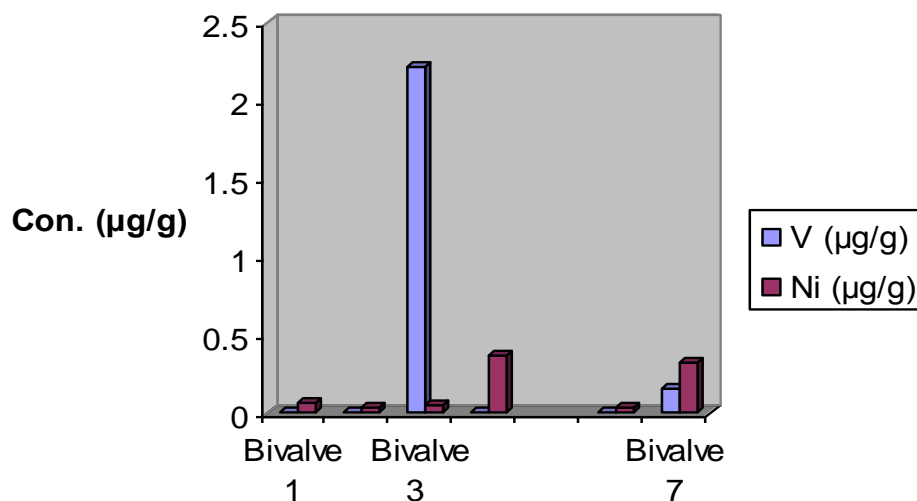
۳-۵-۲ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونت ها و رسوبات ایستگاه سلکه / خرداد

همچنین با توجه به آنالیز های انجام شده مقدار نیکل و وانادیوم در آنودونتهای سلکه در خرداد ماه هم پایین بوده بطوری که مقادیر وانادیوم (بجز در دو نمونه) در بیشتر نمونه ها در حد غیر قابل تشخیص دستگاه (ND) می باشد و مقادیر نیکل نیز در محدوده $0.3676 - 0.0274 \mu\text{g/g}$ می باشد (جدول شماره ۳-۳۴ و نمودار ۳-۸).

جدول ۳-۳۴ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه سلکه - خرداد ۸۶

ایستگاه سلکه / خرداد	V ($\mu\text{g/g}$)	Ni ($\mu\text{g/g}$)
Bivalve 1	ND	0.0621
Bivalve 2	ND	0.0376
Bivalve 3	2.2211	0.0515
Bivalve 4	ND	0.3676
*Bivalve 5	-	-
Bivalve 6	ND	0.0274
Bivalve 7	0.1552	0.3273
Mean	1.19	0.09

* یادآوری می شود آنودونت شماره ۵ در آزمایشگاه تلف شد.

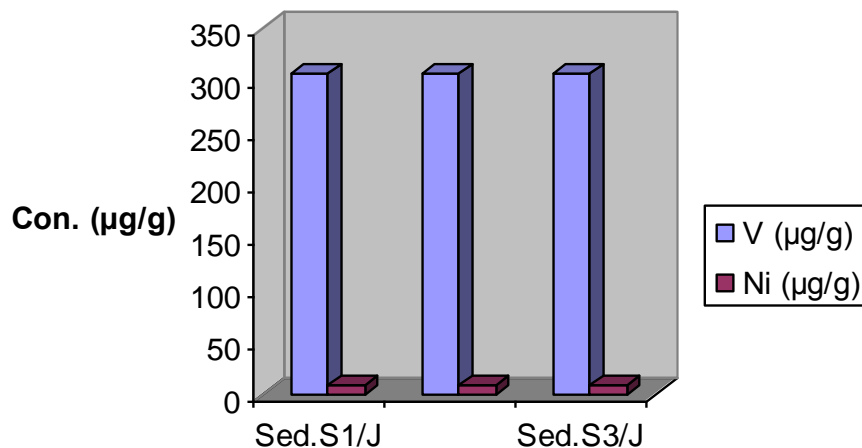


نمودار ۳-۸ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه سلکه - خرداد ۸۶

با توجه به آنالیزهای انجام شده مقدار نیکل و وانادیوم در رسوبات سلکه در خرداد ماه مشابه ایستگاه ماهروزه، نسبت به بافت آنودونت بالاتر بوده بطوری که مقادیر وانادیوم در محدوده $306.9603 \mu\text{g/g}$ - $289.3411 \mu\text{g/g}$ و مقادیر نیکل در محدوده $9.6936 - 10.3551 \mu\text{g/g}$ می باشد (جدول شماره ۳-۳۵ و نمودار ۳-۹).

جدول ۳-۳۵ مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه سلکه - خرداد ۸۶

ایستگاه سلکه / خرداد	V ($\mu\text{g/g}$)	Ni ($\mu\text{g/g}$)
Sed.S1/J	306.9603	9.9693
Sed.S2/J	289.3411	9.6936
Sed.S3/J	299.0012	10.3551
Mean	298.43	10.01



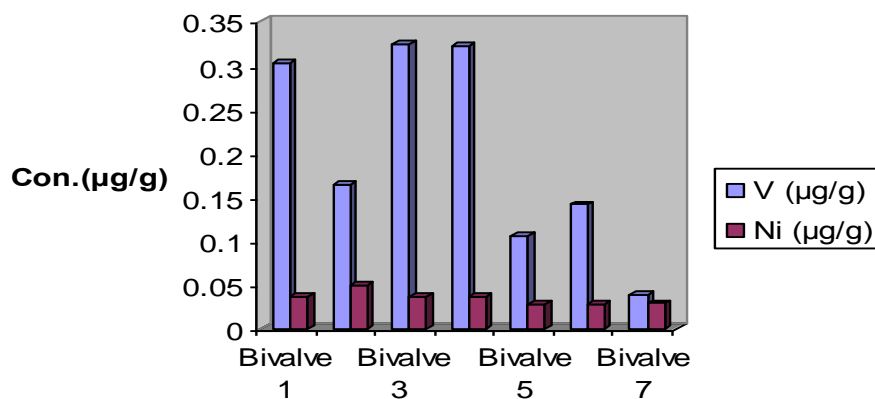
نمودار ۳-۹ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه سلکه - خرداد ۸۶

۳-۵-۳ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونت ها و رسوبات ایستگاه ماهروزه / شهرپور

با توجه به آنالیزهای انجام شده مقدار وانادیوم در بافت نمونه های آنودونت سلکه در شهرپور ماه نسبت به خرداد ماه کمی افزایش نشان می دهد بطوری که مقادیر وانادیوم در شهرپور بین $0.0391 - 0.3243 \mu\text{g/g}$ می باشد. مقادیر نیکل هم در نمونه های آنودونت سلکه در محدوده $0.0271 - 0.0497 \mu\text{g/g}$ می باشد (جدول شماره ۳-۳۶ و نمودار ۳-۱۰).

جدول ۳-۳۶ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه ماهروزه - شهرپور ۸۶

ایستگاه ماهروزه / شهرپور	V ($\mu\text{g/g}$)	Ni ($\mu\text{g/g}$)
Bivalve 1	0.3023	0.0359
Bivalve 2	0.1649	0.0497
Bivalve 3	0.3243	0.0365
Bivalve 4	0.3226	0.0357
Bivalve 5	0.1063	0.0284
Bivalve 6	0.1414	0.0271
Bivalve 7	0.0391	0.0287
Mean	0.2	0.03

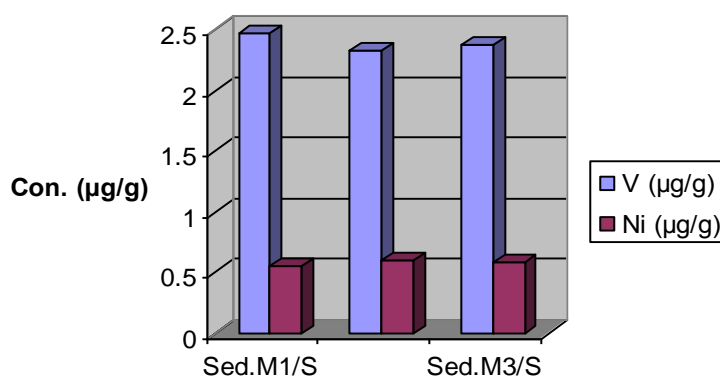


نمودار ۱۰-۳ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه ماهروزه - شهریور ۸۶

اما با توجه به آنالیزهای انجام شده مقدار نیکل و وانادیوم در رسوبات ماهروزه در شهریور ماه به نسبت خردادماه کاهش داشته بطوری که مقادیر وانادیوم در محدوده $2.3304 - 2.4797 \mu\text{g/g}$ و مقادیر نیکل در محدوده $0.5574 - 0.5936 \mu\text{g/g}$ قرار می گیرد (جدول شماره ۳-۳۷ و نمودار ۳-۱۱).

جدول ۳-۳۷ مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه ماهروزه - شهریور ۸۶

ایستگاه ماهروزه / شهریور	V (µg/g)	Ni (µg/g)
Sed.M1/S	2.4797	0.5574
Sed.M2/S	2.3304	0.5936
Sed.M3/S	2.3827	0.5799
Mean	2.397	0.58



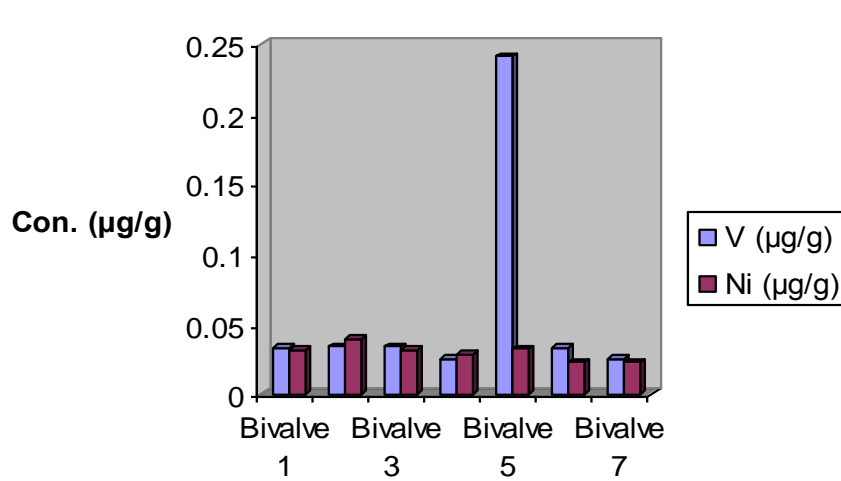
نمودار ۱۱-۳ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه ماهروزه - شهریور ۸۶

۳-۵-۴ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونت ها و رسوبات ایستگاه سلکه / شهریور

همچنین با توجه به آنالیز های انجام شده مقدار نیکل و وانادیوم در آنودونتهای سلکه در شهریور ماه هم عملاً پایین بوده بطوری که مقادیر وانادیوم در محدوده $0.0249 - 0.2413 \mu\text{g/g}$ و مقادیر نیکل نیز در محدوده $0.0231 - 0.0395 \mu\text{g/g}$ می باشد (جدول شماره ۳-۳۸ و نمودار ۳-۱۲).

جدول ۳-۳۸ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه سلکه - شهریور ۸۶

ایستگاه سلکه / شهریور	V ($\mu\text{g/g}$)	Ni ($\mu\text{g/g}$)
Bivalve 1	0.0336	0.0316
Bivalve 2	0.0339	0.0395
Bivalve 3	0.0341	0.0314
Bivalve 4	0.0259	0.0282
Bivalve 5	0.2413	0.0324
Bivalve 6	0.0329	0.0231
Bivalve 7	0.0249	0.0231
Mean	0.06	0.03

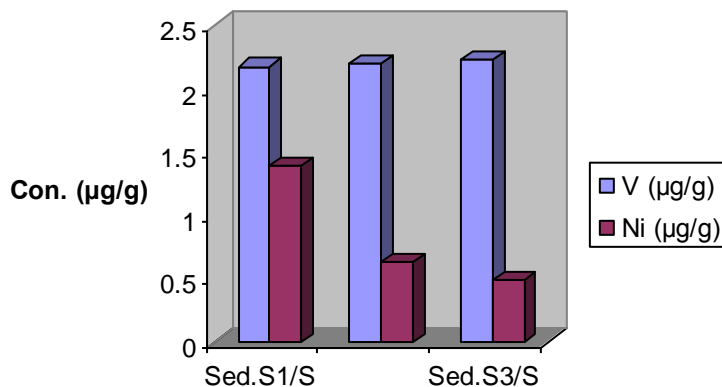


نمودار ۳-۱۲ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه سلکه - شهریور ۸۶

اما با توجه به آنالیز های انجام شده مقدار نیکل و وانادیوم در رسوبات سلکه در شهریور ماه به نسبت خرداد ماه کاهش داشته بطوری که مقادیر وانادیوم در محدوده $2.1796 - 2.2421 \mu\text{g/g}$ و مقادیر نیکل در محدوده $0.4942 - 1.3928 \mu\text{g/g}$ قرار می گیرد (جدول شماره ۳-۳۹ و نمودار ۳-۱۳).

جدول شماره ۳-۳۹ مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه سلکه - شهریور ۸۶

ایستگاه سلکه / شهریور	V (µg/g)	Ni (µg/g)
Sed.S1/S	2.1796	1.3928
Sed.S2/S	2.2038	0.6236
Sed.S3/S	2.2421	0.4942
Mean	2.21	0.084



نمودار ۳-۱۳ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه سلکه - شهریور ۸۶

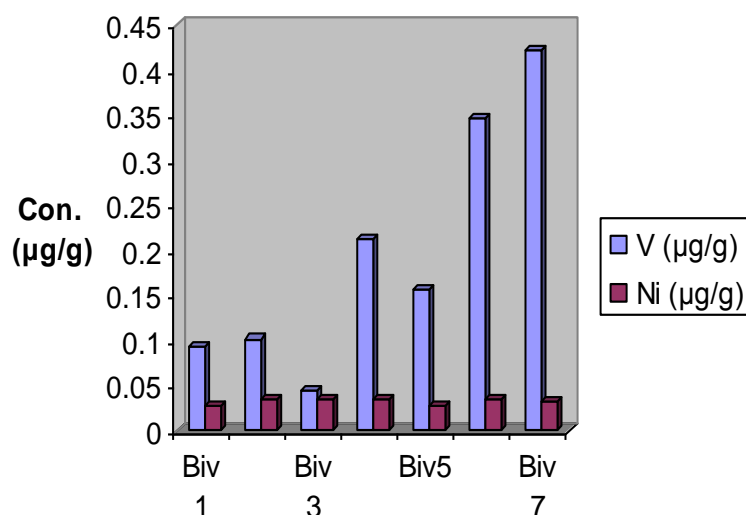
۳-۵-۵ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونت ها و رسوبات ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸

روز)

بر طبق آنالیزهای انجام شده مقادیر نیکل و وانادیوم در نمونه آنودونتهای ایستگاه آلوده یعنی ایستگاه Cage هم محاسبه شده و همانطور که مشاهده میشود مقادیر آن خیلی بالاتر از دو ایستگاه ماهروزه و سلکه نیست، البته باید توجه داشت که این مقادیر در بافت آنودونت های مربوط به روز بیست و هشتم Cage گذاری است (جدول ۳-۴۰ و نمودار ۳-۱۴).

جدول ۳-۴۰ مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)

ایستگاه Cage 28	V (µg/g)	Ni (µg/g)
Bivalve 1	0.0929	0.0284
Bivalve 2	0.1018	0.0351
Bivalve 3	0.04351	0.0356
Bivalve4	0.2119	0.0351
Bivalve5	0.1564	0.0281
Bivalve 6	0.3467	0.0357
Bivalve 7	0.4231	0.0321
Mean	0.25	0.032



نمودار ۳-۱۴ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)

همچنین مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات روز اول و روز ۲۸، Cage گذاری هم بدست آمده (جدول ۳-۴۱ و ۳-۴۲).

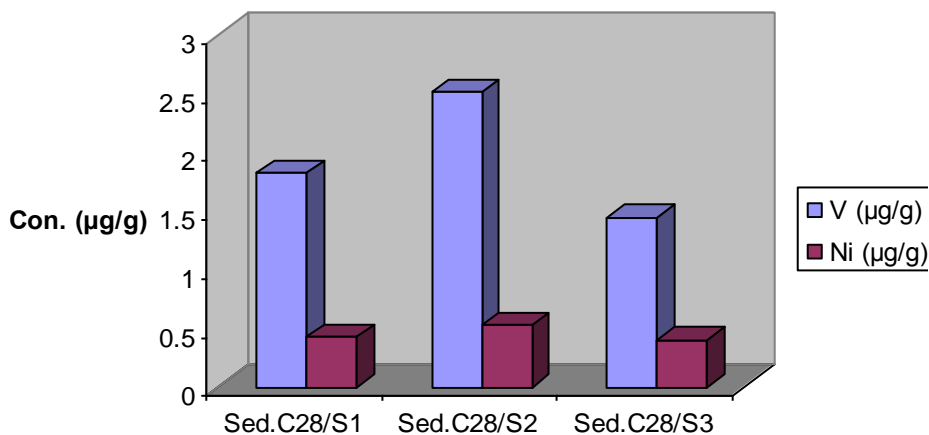
قابل ذکر است با توجه به اینکه نمونه های آنودونت در روز ۲۸ Cage گذاری برداشته شده و بین رسوبات روز اول و روز ۲۸ هم اختلاف معنی داری وجود نداشت عملاً مبنای نتیجه گیری ها در این ایستگاه فقط روی مقادیر آلاینده ها در آنودونتها و رسوبات روز ۲۸ ایستگاه Cage متمرکز شده است (جدول ۳-۴۲ و نمودار ۳-۱۵).

جدول ۳-۴۱ مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه Cage (در روز ۱)

ایستگاه Cage 1	V (µg/g)	Ni (µg/g)
Sed.C1/S1	3.0318	0.5558
Sed.C1/S2	3.3691	0.8723
Sed.C1/S3	3.0501	0.6287
Mean	3.15	0.69

جدول ۳-۴۲ مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)

ایستگاه Cage 28	V (µg/g)	Ni (µg/g)
Sed.C28/S1	1.8197	0.4238
Sed.C28/S2	2.5104	0.5225
Sed.C28/S3	1.4381	0.4024
Mean	1.92	0.45



نمودار ۳-۱۵ نمایش مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاه Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)

۳-۶ نتایج تعیین تجمع زیستی- رسوبی نیکل و وانادیوم بین رسوب و دوکفه‌ای *A. cygnea* با توجه به توضیحات ارائه شده در بخش ۳-۴، با استفاده از نسبت مقادیر آلاینده در بافت دوکفه‌ای / مقادیر آلاینده در رسوب، میتوان به میزان BSAF دست یافت. بنابراین BSAF در ایستگاههای ماهروزه و سلکه در خرداد ماه در مورد آلاینده های نیکل و وانادیوم به شرح زیر می باشد:

الف) نیکل

$$1) \text{ B S A F (ماهروزه/خرداد)} = \frac{0.29(\pm 0.18)}{19(\pm 0.245)} = 0.01 (\pm 0.73)$$

$$2) \text{ B S A F (سلکه/خرداد)} = 8.99 \times 10^{-3} (\pm 0.26)$$

همچنین در ایستگاههای ماهروزه، سلکه و Cage میزان BSAF در مورد آلاینده نیکل به شرح زیر

می باشد:

$$1) \text{ B S A F (ماهروزه/شهریور)} = 0.05 (\pm 0.3)$$

$$2) \text{ B S A F (سلکه/شهریور)} = 0.35 (\pm 0.03)$$

$$3) \text{ B S A F (Cage, بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)} = 0.07 (\pm 0.27)$$

ب) وانادیوم

$$1) \text{ B S A F (ماهروزه/خرداد)} = \frac{0.2 (\pm 0.05)}{251.85(\pm 9.31)}$$
$$= 7.94 \times 10^{-4} (\pm 0.0005)$$

$$2) \text{ B S A F (سلکه/خرداد)} = 3.98 \times 10^{-3} (\pm 0.2)$$

و در ایستگاههای ماهروزه، سلکه و Cage میزان BSAF در مورد آلاینده وانادیوم به شرح زیر می باشد:

$$1) \text{ B S A F (ماهروزه/شهریور)} = 0.08 (\pm 1)$$

$$2) \text{ B S A F (سلکه/شهریور)} = 0.02 (\pm 1.6)$$

$$3) \text{ B S A F (Cage, بعد از گذشت زمان ۲۸ روز)} = 0.13 (\pm 0.19)$$

۳-۷ نتایج آنالیزهای آماری

همانطور که در فصول گذشته مطرح شد پس از نمونه برداری و انجام عملیات آزمایشگاهی، محاسبات لازم انجام و مقادیر PAH و Ni, V در دو فصل گرم و خشک، و بارندگی در ایستگاههای ماهروزه، سلکه و Cage بدست آمد. در ادامه با استفاده از نرم افزار SPSS(13) آنالیزهای آماری انجام گرفته که در این بخش به آنها پرداخته خواهد شد.

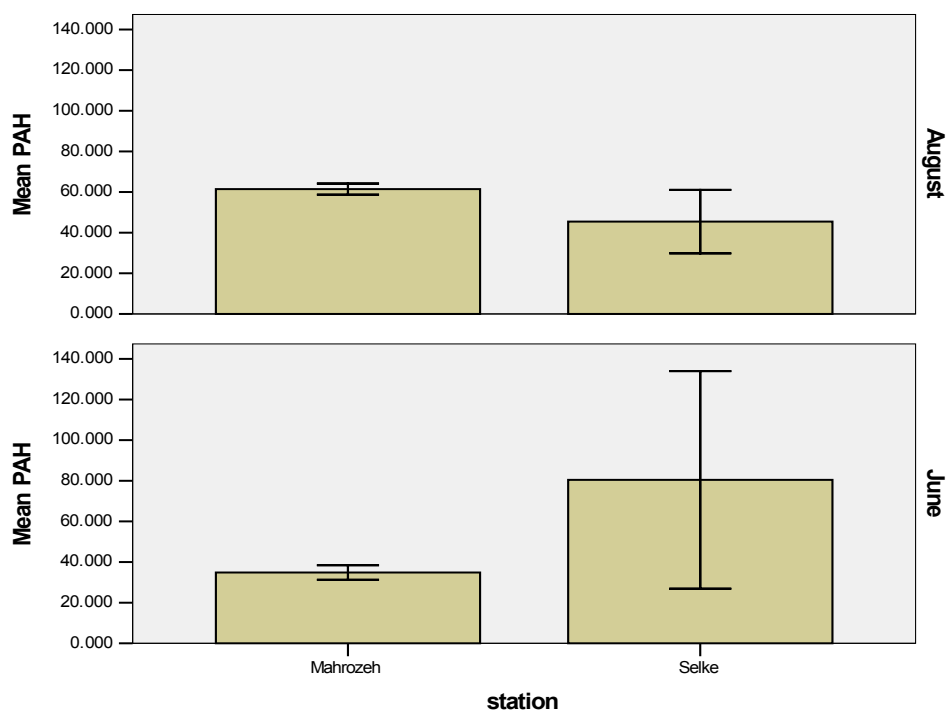
۳-۷-۱ نتایج مقایسه مقادیر آلاینده ها در ایستگاهها و فصلهای مختلف نمونه برداری

ابتدا با توجه به انجام آزمون آماری Non parametric و تست Mann-whitney u داده های حاصل بررسی و نتایج زیر به تفکیک ایستگاه و فصل برای آلاینده های V, Ni, PAH حاصل شده است.

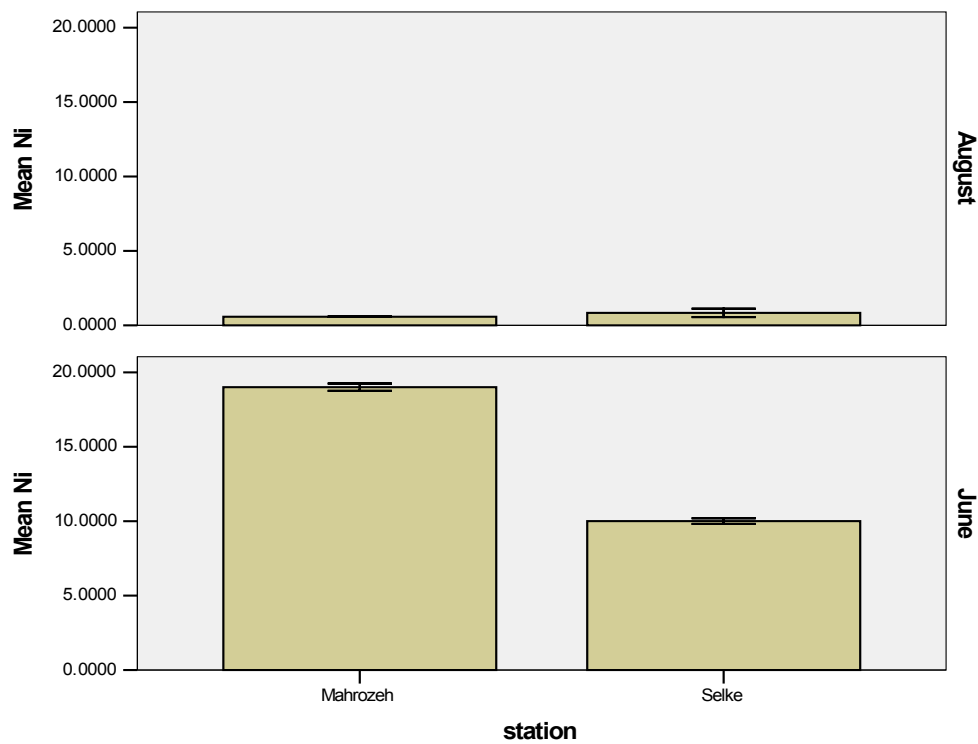
۳-۷-۱-۱ مقایسه مقادیر PAH, Ni, V بین دو ایستگاه ماهروزه و سلکه در خرداد

با مقایسه مقادیر آلاینده های V, Ni, PAH در رسوبات و دوکفه ای های ایستگاههای ماهروزه و سلکه در فصل گرم و خشک (خرداد ماه) مشخص می گردد که:

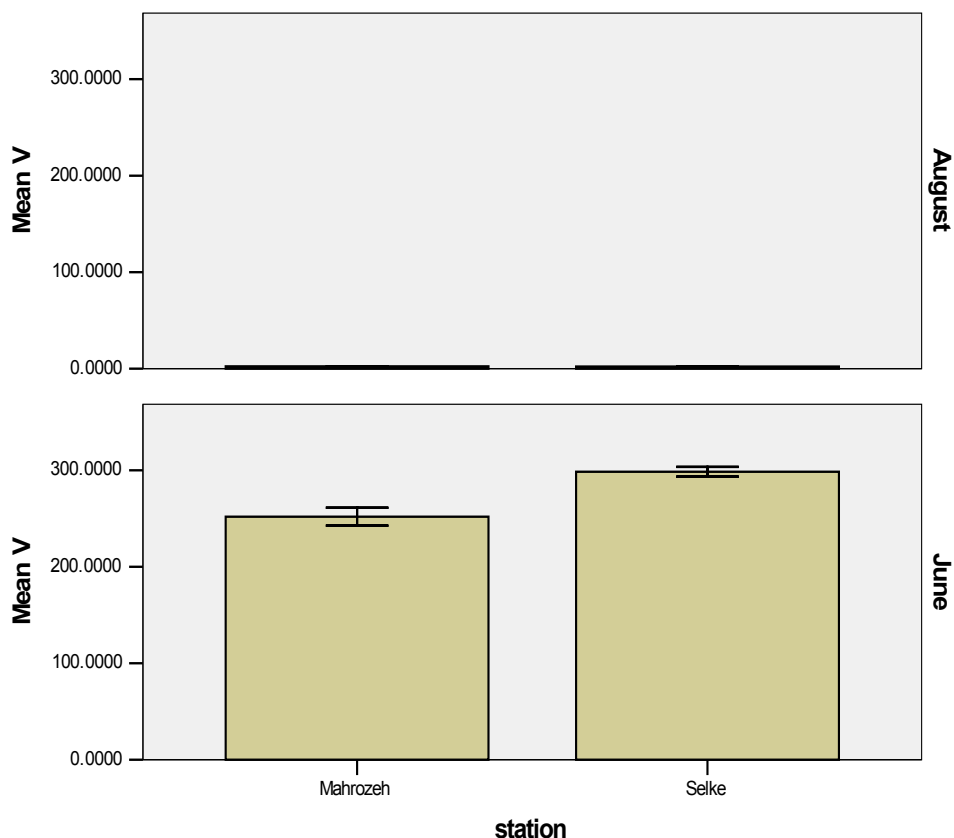
الف) در رسوبات: اگر چه تفاوت مقادیر آلاینده های مذکور در دو ایستگاه ماهروزه و سلکه دیده میشود، اما با توجه به سطح معنی داری بدست آمده ($P=1$) برای هر سه آلاینده V, Ni, PAH اختلاف معنی داری بین دو ایستگاه در خرداد ماه مشاهده نمی شود (نمودارهای ۳-۱۶ و ۳-۱۷ و ۳-۱۸)



نمودار ۳-۱۶ مقایسه مقادیر PAH در رسوبات ایستگاه های ماهروزه و سلکه در دو فصل گرم و خشک (خرداد ۸۶) و بارندگی (شهریور ۸۶)

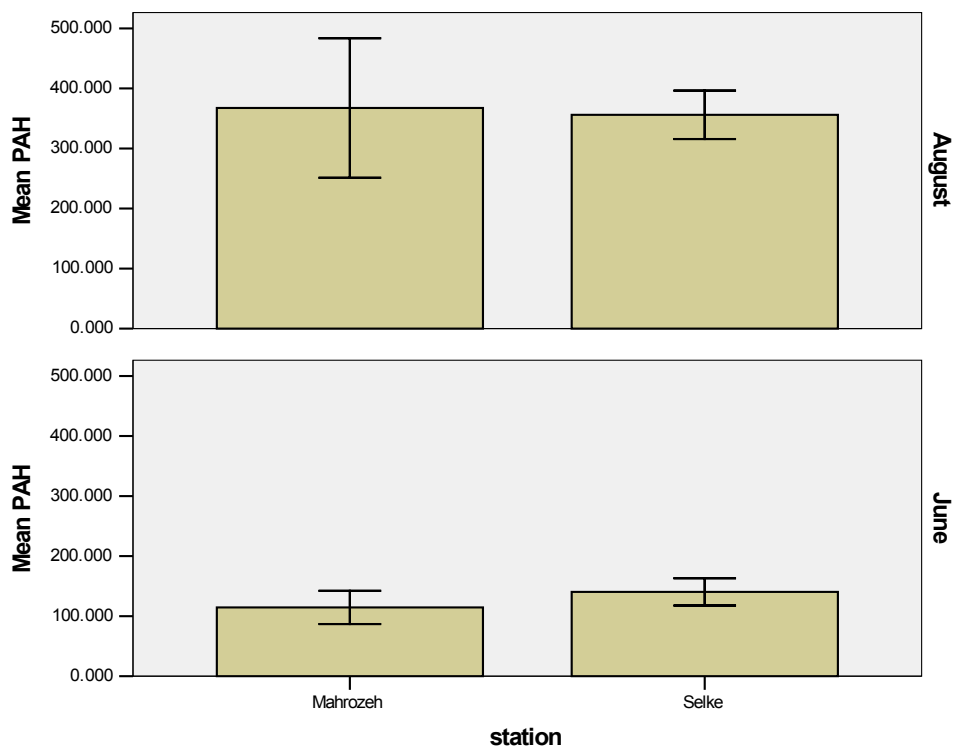


نمودار ۳-۱۷ مقایسه مقادیر نیکل در رسوبات ایستگاه های ماهروزه و سلکه در دو فصل گرم و خشک (خرداد ۸۶) و بارندگی (شهریور ۸۶)

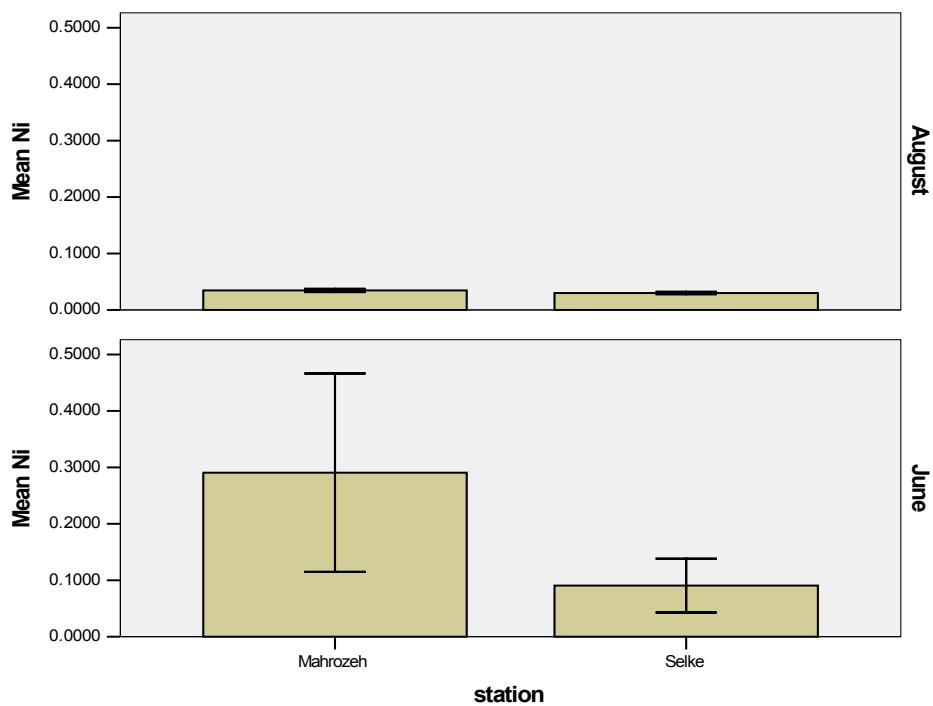


نمودار ۳-۱۸ مقایسه مقادیر وانادیوم در رسوبات ایستگاه های ماهروزه و سلکه در دو فصل گرم و خشک (خرداد ۸۶) و بارندگی (شهریور ۸۶)

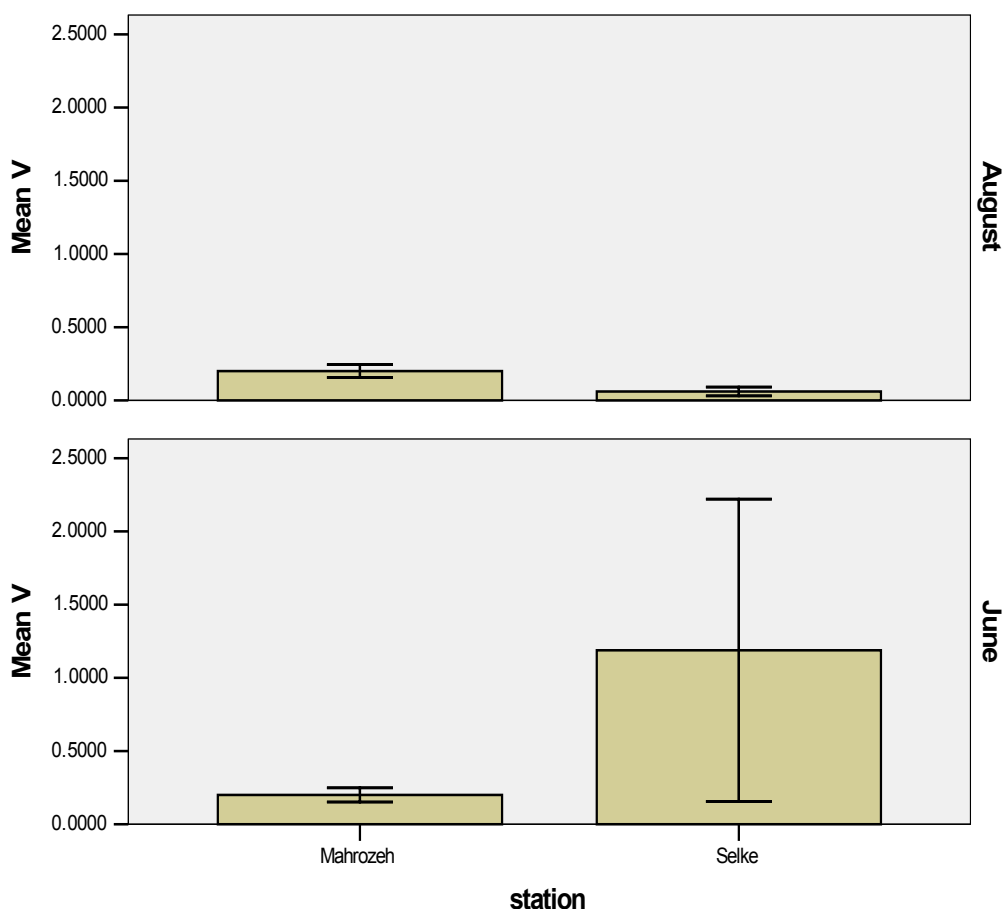
ب) در دو کفه ای ها: بررسی های آماری نشان می دهد که در مقایسه دو کفه ای های دو ایستگاه ماهروزه و سلکه هم گر چه تفاوت مقادیر بین هر سه آلاینده V, Ni, PAH وجود دارد اما با توجه به اینکه در مورد PAH، $P=0.181$ و در مورد نیکل، $P=0.51$ (نمودار ۳-۱۷) و در مورد وانادیوم، $P=0.8$ وجود دارد بنابراین اختلاف معنی داری در خصوص آلاینده های مذکور بین دو کفه ای های آنودونت هم در دو ایستگاه ماهروزه و سلکه در فصل گرم و خشک (خردادماه) دیده نمی شود (نمودارهای ۳-۱۹ و ۳-۲۰ و ۳-۲۱).



نمودار ۳-۱۹ مقایسه مقادیر PAH در آنودونتهای ایستگاه های ماهروزه و سلکه در دو فصل گرم و خشک (خرداد ۸۶) و بارندگی (شهریور ۸۶)



نمودار ۳-۲۰ مقایسه مقادیر نیکل در آنودونتهای ایستگاه های ماهروزه و سلکه در دو فصل گرم و خشک (خرداد ۸۶) و بارندگی (شهریور ۸۶)



نمودار ۳-۲۱ مقایسه مقادیر وانادیوم در آنودونتهای ایستگاه های ماهروزه و سلکه در دوفصل گرم و خشک (خرداد ۸۶) و بارندگی (شهریور ۸۶)

۳-۷-۱-۲ مقایسه مقادیر PAH, Ni, V بین دو ایستگاه ماهروزه و سلکه در شهریور

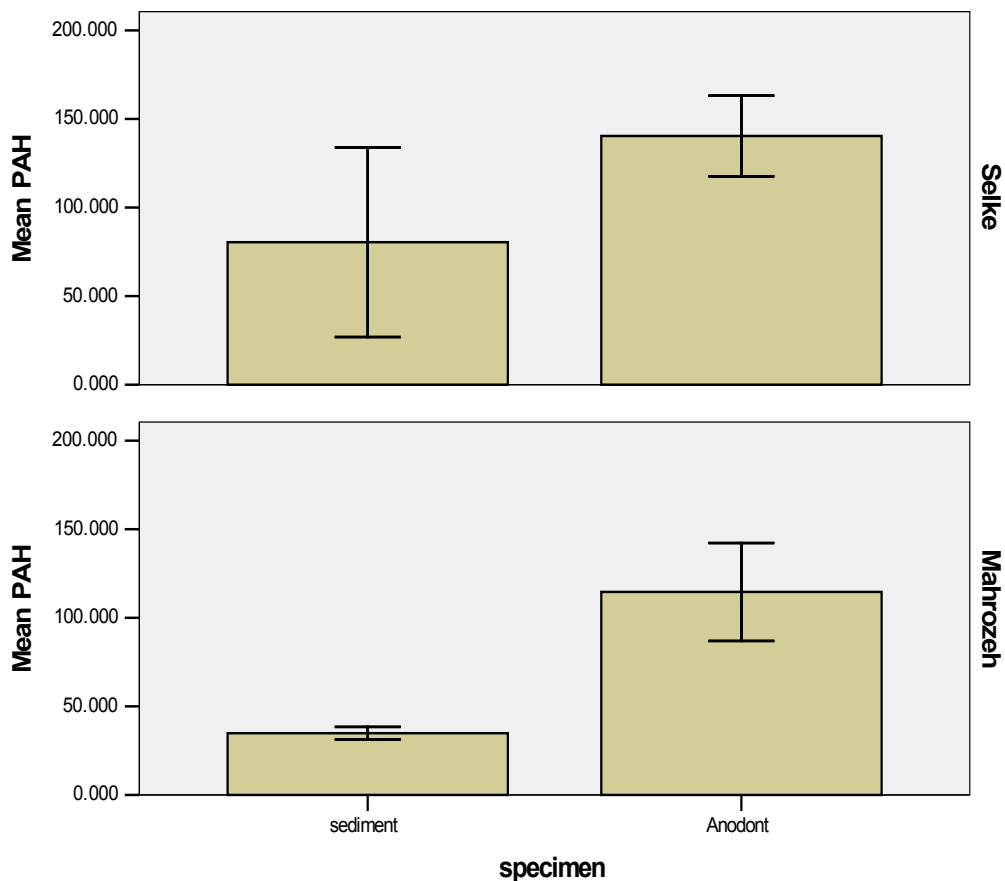
با استفاده از تست Mann-whitney u و مقایسه مقادیر آلاینده های V, Ni, PAH در رسوبات و دوکفه ای های ایستگاههای ماهروزه و سلکه در فصل بارندگی (شهریور ماه) مشخص می گردد که: (الف) در رسوبات: اگر چه تفاوت مقادیر آلاینده های مذکور در دو ایستگاه ماهروزه و سلکه دیده میشود اما با توجه به سطح معنی داری برای PAH $P=0.7$ و برای نیکل و $P=0.1$ برای وانادیوم، اختلاف معنی داری بین دو ایستگاه مشاهده نمی شود (نمودار های ۳-۱۶ و ۳-۱۷ و ۳-۱۸).

(ب) در دوکفه ای ها: با مقایسه دو کفه ای های دو ایستگاه ماهروزه و سلکه هم گر چه تفاوت مقادیر بین هر سه آلاینده PAH, Ni, V وجود دارد اما با توجه به اینکه در مورد PAH $P=0.535$ و در مورد نیکل، $P=0.318$ است، تفاوت معنی داری برای این دو آلاینده دیده نمی شود (نمودار ۳-۱۷) ولی در

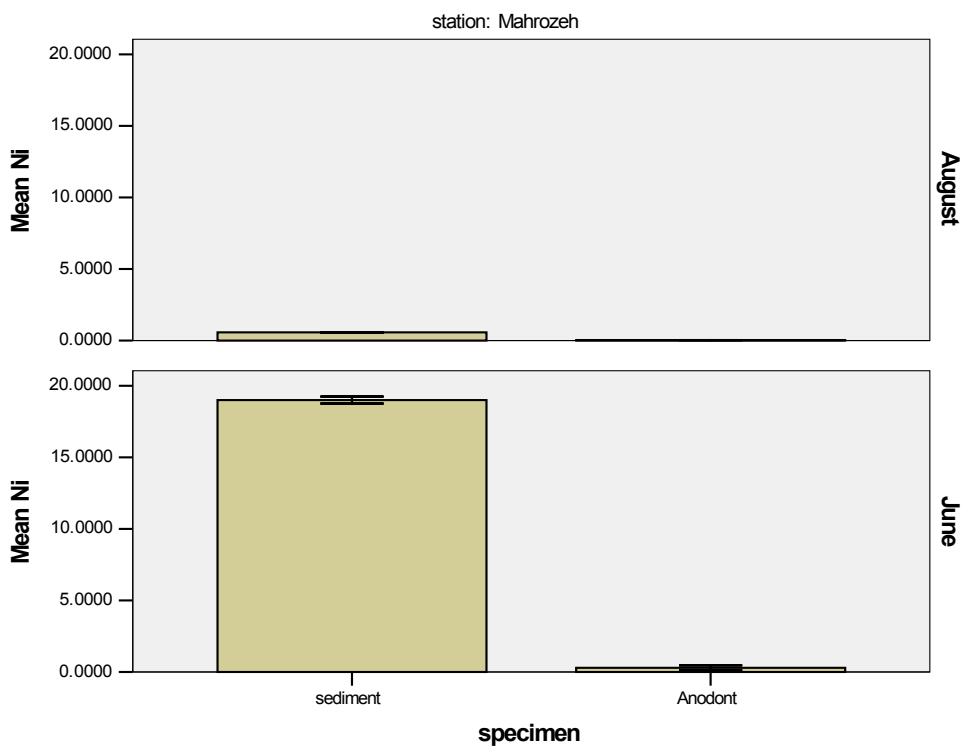
مورد وانادیوم با توجه به اینکه $P=0.007$ است، اختلاف معنی داری مشاهده می شود (نمودارهای ۳-۱۹ و ۳-۲۰ و ۳-۲۱).

۳-۱-۷-۳ بررسی آلاینده های V, Ni, PAH بین رسوبات و آنودونتهای ایستگاه ماهروزه / خرداد

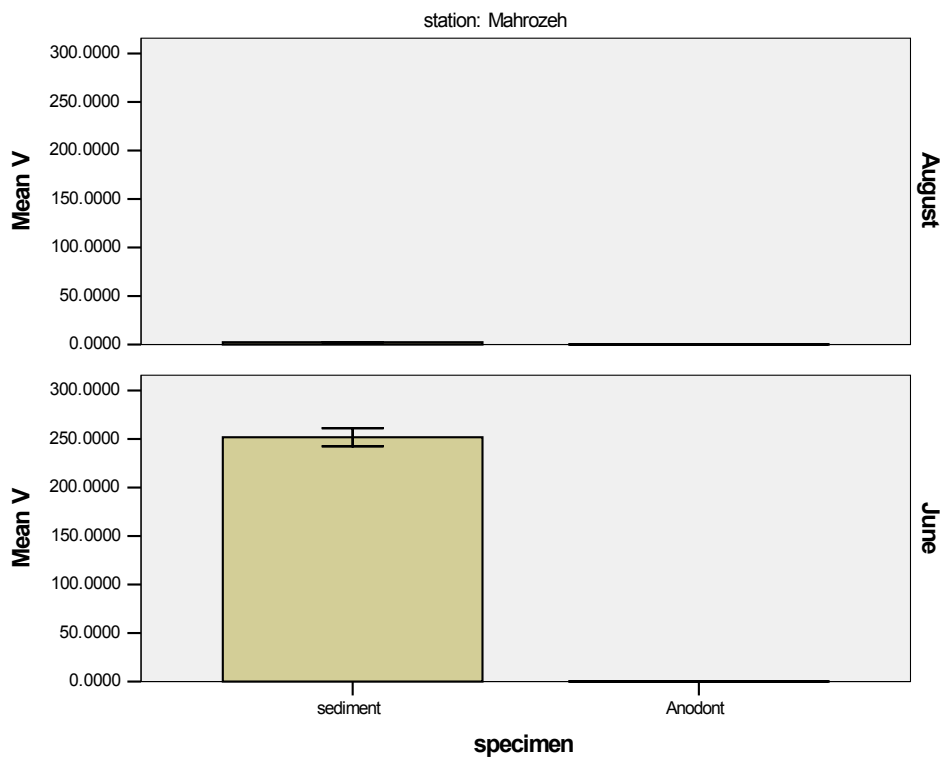
با استفاده از تست Mann-whitney u و بررسی مقادیر V, Ni, PAH بین رسوبات و دو کفه ای های آنودونت در فصل گرم و خشک (خرداد ماه) در ایستگاه ماهروزه و با توجه به سطح معنی داری $P=0.017$ برای PAH و $P=0.017$ برای نیکل اختلاف معنی داری برای این دو آلاینده بین رسوبات و بافت آنودونت وجود داشته ولی با توجه به $P=0.57$ برای وانادیوم اختلاف معنی داری مشاهده نمی شود (نمودارهای ۳-۲۲، ۳-۲۳، ۳-۲۴).



نمودار ۳-۲۲ مقایسه مقادیر PAH بین رسوبات و آنودونتهای دو ایستگاه ماهروزه و سلکه در خرداد ۸۶

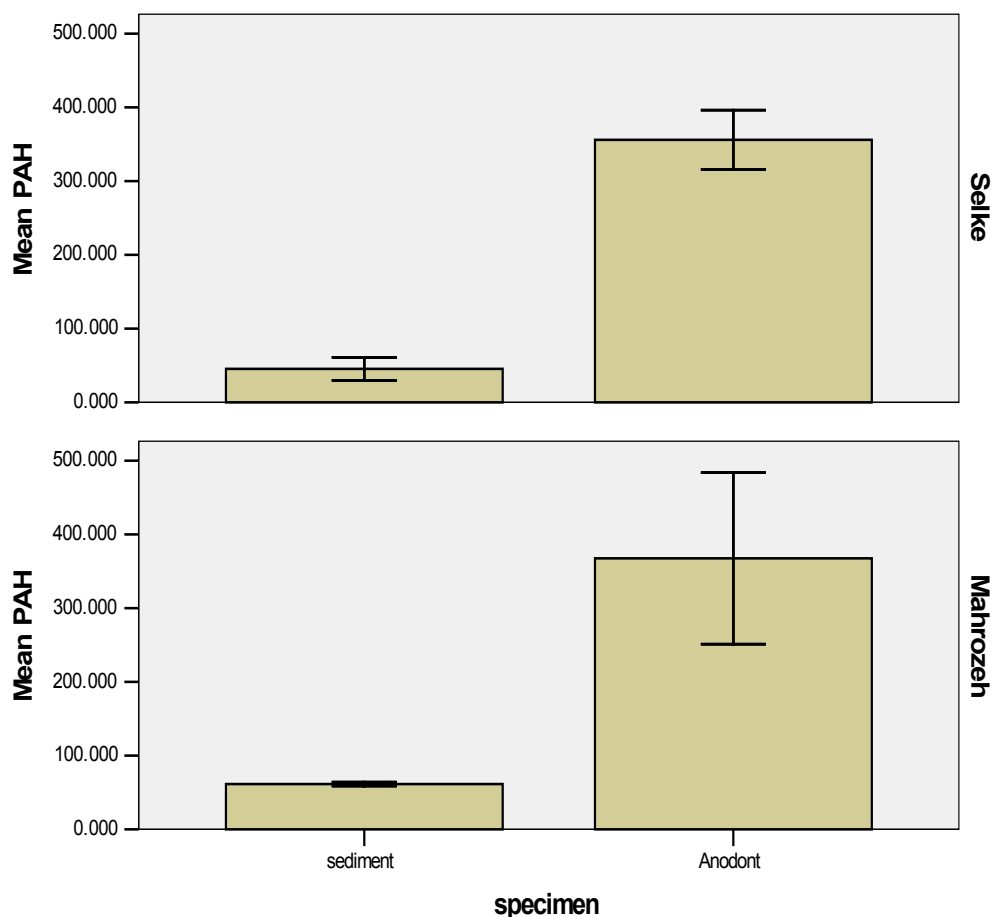


نمودار ۲۳-۳ مقایسه مقادیر نیکل بین رسوبات و آنودونتهای ایستگاه ماهروزه در دو فصل نمونه برداری (سال ۸۶)



نمودار ۲۴-۳ مقایسه مقادیر وانادیوم بین رسوبات و آنودونتهای ایستگاه ماهروزه در دو فصل نمونه برداری (سال ۸۶)

۳-۷-۱-۴ بررسی آلاینده های V, Ni, PAH بین رسوبات و آنودنتهای ایستگاه ماهروزه / شهرپور
 با استفاده از تست Mann-whitney u و بررسی مقادیر V, Ni, PAH بین رسوبات و دو کفه ای های
 آنودنت در فصل بارندگی در ایستگاه ماهروزه و با توجه به سطح معنی داری $P=0.017$ برای PAH و
 $P=0.017$ برای نیکل و برای وانادیوم اختلاف معنی داری بین رسوبات و بافت دو کفه ای در
 مورد هر سه آلاینده مذکور مشاهده می شود (نمودارهای ۳-۲۵، ۳-۲۴، ۳-۲۳).

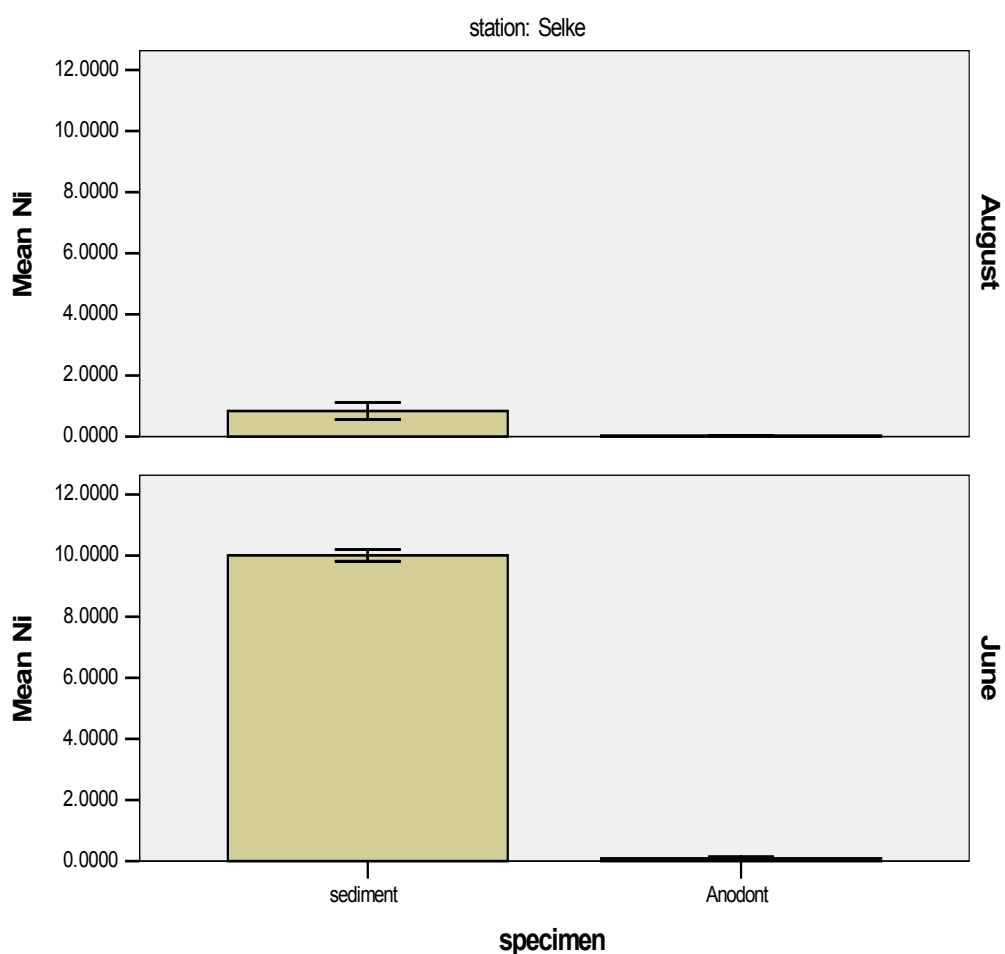


نمودار ۳-۲۵ مقایسه مقادیر PAH بین رسوبات و آنودنتهای دو ایستگاه ماهروزه و سلکه در شهریور ۸۶

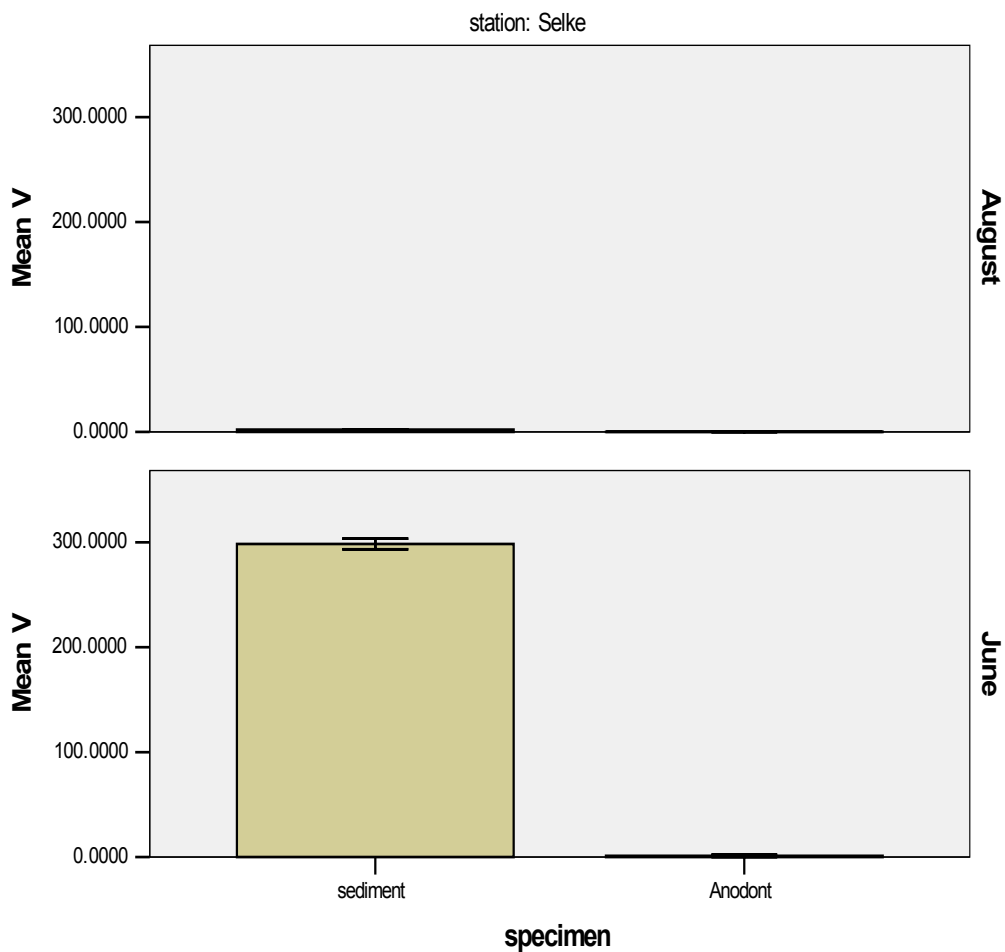
۳-۷-۱-۵ بررسی آلاینده های V, Ni, PAH بین رسوبات و آنودنتهای ایستگاه سلکه / خرداد
 با استفاده از تست Mann-whitney u و بررسی مقادیر V, Ni, PAH بین رسوبات و دو کفه ای های
 آنودنت در فصل گرم و خشک در ایستگاه سلکه و با توجه به سطح معنی داری $P=0.381$ برای PAH و
 $P=0.024$ برای نیکل و $P=0.2$ برای وانادیوم، اختلاف معنی دار فقط برای نیکل بین رسوبات و بافت
 آنودنت مشاهده شده و در مورد دو آلاینده دیگر اختلاف معنی داری دیده نمی شود.

۳-۷-۱-۶ بررسی آلاینده های V, Ni, PAH بین رسوبات و آنودنتهای ایستگاه سلکه / شهر یور

با استفاده از تست Mann-whitney u و بررسی مقادیر V, Ni, PAH بین رسوبات و دو کفه ای های آنودنت در فصل بارندگی نتایج کاملاً مشابهی در ایستگاه سلکه مشاهده میشود. به این معنی که در سلکه همانند ماهروزه با توجه به سطح معنی داری P=0.017 برای PAH و P=0.017 برای نیکل و P=0.017 برای وانادیوم، اختلاف معنی داری بین رسوبات و بافت دو کفه ای در مورد هر سه آلاینده مذکور دیده می شود (نمودارهای ۳-۲۵، ۳-۲۶، ۳-۲۷).



نمودار ۳-۲۶ مقایسه مقادیر نیکل بین رسوبات و آنودنتهای ایستگاه سلکه در دو فصل نمونه برداری (سال ۸۶)



نمودار ۳-۲۷ مقایسه مقادیر وانادیوم بین رسوبات و آنودونتها ایستگاه سلکه در دو فصل نمونه برداری (سال ۸۶)

۳-۱-۷-۳ مقایسه مقادیر آلاینده های V, Ni, PAH بین رسوبات ایستگاه Cage

با مقایسه آلاینده های مورد بررسی مذکور در نمونه های رسوبات ایستگاه Cage و با استفاده از تست Mann-whitney u، و با توجه به سطح معنی داری بدست آمده ($P=1$) بین مقادیر آلاینده ها در رسوبات روز اول (روز گذاشتن Cage) و روز بیست و هشتم (روز برداشتن Cage) اختلاف معنی داری دیده نمی شود. بنابراین با توجه به اینکه آنودونتها هم در یک دوره ۲۸ روزه در Cage بوده اند، مبنای کار در ایستگاه Cage، آنودونتها و رسوبات روز بیست و هشتم، قرار گرفته است.

۳-۷-۱-۸ مقایسه مقادیر آلاینده های V, Ni, PAH بین رسوبات ایستگاههای سلکه و ماهروزه با

رسوبات ایستگاه Cage

با توجه به سطح معنی داری بدست آمده با استفاده از تست Mann-whitney u یعنی $P < 0.005$ برای PAH و $P = 0.024$ برای نیکل اختلاف معنی داری بین رسوبات سلکه و ماهروزه با رسوبات ایستگاه Cage وجود دارد ولی با توجه به $P = 0.291$ ، برای وانادیوم اختلاف معنی داری بین مقادیر ایستگاه های ماهروزه و سلکه با مقادیر ایستگاه Cage دیده نمی شود.

۳-۷-۱-۹ مقایسه مقادیر آلاینده های V, Ni, PAH بین آنودونت های ایستگاههای سلکه و

ماهروزه با آنودونت های ایستگاه Cage

با توجه به سطح معنی داری بدست آمده با استفاده از تست Mann-whitney u یعنی $P = 0.043$ برای PAH، اختلاف معنی دار برای این آلاینده بین ایستگاههای ماهروزه و سلکه با ایستگاه Cage وجود دارد. اما با توجه به $P = 0.139$ برای نیکل و $P = 0.145$ برای وانادیوم، اختلاف معنی داری برای این دو آلاینده بین بافت آنودونتهای سلکه و ماهروزه با بافت آنودونت در ایستگاه Cage دیده نمی شود.

۳-۷-۲ نتایج تعیین میانگین و خطای استاندارد آلاینده های V, Ni, PAH در نمونه ها

سپس میانگین و خطای استاندارد درمورد آلاینده های PAH و Ni, V برای نمونه آنودونت ها و رسوبات در اواخر خرداد و اواخر شهریور (فصول نمونه برداری) در ایستگاه های ماهروزه و سلکه بشرح زیر تعیین گردید.

۳-۷-۲-۱ تعیین میانگین و خطای استاندارد PAHها

میانگین و و خطای استاندارد در مورد مقادیر PAH در ایستگاههای ماهروزه و سلکه با استفاده از تست Mann-whitney u مورد بررسی آماری قرار گرفته که خلاصه نتایج در جدول ۳-۴۳ آورده شده است:

جدول ۳-۴ بررسی میانگین و خطای استاندارد آلاینده PAH در ایستگاههای ماهروزه و سلکه (خرداد و شهریور ۸۶)

June Mean PAH (SE ±)	September Mean PAH (SE ±)	نمونه - ایستگاه
1) 80.43 (53.54) ±	2) 45.44 (15.6) ±	رسوبات سلکه
3) 34.84 (3.58 ±)	4) 61.44 (2.73 ±)	رسوبات ماهروزه
5) 140.22 (22.73) ±	6) 356.03 (40.29 ±)	آنودونت سلکه
7) 115.00 (27.63) ±	8) 367.43 (116.17 ±)	آنودونت ماهروزه
(1),(2) → 4(1) (3),(4) → 0(0.1) (5),(6) → 0(0.001)* (7),(8) → 5(0.01) (1),(5) → 5(0.381) (2),(6) → 0(0.017) (5),(7) → 11(0.181) (6),(8) → 19(0.535) (1),(3) → 4(1) (2),(4) → 3(0.7) (3),(7) → 0(0.017) (4),(8) → 0(0.017)		آزمون Mann Whitney U(p)

*در صورتی که $P < 0.05$ باشد معنی دار است و بنابراین موارد زیر خط دار معنی دار هستند.

مشاهده می شود که:

- ۱- بین میانگین PAH در آنودونتهای سلکه خرداد ماه (ژوئن) و آنودونتهای سلکه شهریورماه (سپتامبر) اختلاف معنی داری وجود دارد (۶و۵ در جدول ۳-۴).
- ۲- همچنین بین میانگین PAH در آنودونتهای ماهروزه خرداد ماه (ژوئن) و آنودونتهای ماهروزه شهریورماه (سپتامبر) هم اختلاف معنی داری وجود دارد (۷و۸ در جدول ۳-۴).
- ۳- بین میانگین PAH در آنودونتهای سلکه و رسوبات سلکه در شهریور ماه (سپتامبر) اختلاف معنی داری وجود دارد (۲و۶ در جدول ۳-۴).
- ۴- بین میانگین PAH در آنودونتهای ماهروزه و رسوبات ماهروزه در شهریورماه (سپتامبر) این اختلاف معنی دار وجود دارد (۴و۸ در جدول ۳-۴).

۵- بین میانگین PAH در آنودونتهای ماهروزه خرداد ماه (ژوئن) و رسوبات ماهروزه خرداد ماه (ژوئن) اختلاف معنی داری وجود دارد (۳ و ۷ در جدول ۳-۴۳).

۳-۲-۲-۲ تعیین میانگین و خطای استاندارد Ni

با بدست آوردن میانگین و خطای استاندارد در مورد آلاینده نیکل در نمونه های آنودونت و رسوبات و بررسی آنها در ماههای خرداد و شهریور (ژوئن و سپتامبر) در ایستگاه های ماهروزه و سلکه (جدول ۳-۴۴) موارد مذکور بشرح زیر اعلام می گردد:

جدول ۳-۴۴ بررسی میانگین و خطای استاندارد آلاینده نیکل در ایستگاههای ماهروزه و سلکه (خرداد و شهریور ۸۶)

June Mean Ni (SE ±)	September Mean Ni (SE ±)	نمونه - ایستگاه
1) 10.01 (0.192 ±) 3) 19.00 (0.245) ±	2) 0.084 (0.28) ± 4) 0.58 0.01) ± (رسوبات سلکه رسوبات ماهروزه
5) 0.09 (0.05) ± 7) 0.29 (0.18) ±	6) 0.03 (0.01) ± 8) 0.03(0.003) ±	آنودونت سلکه آنودونت ماهروزه
	9) 0.032 (0.01) ± 10) 0.69 (0.096) ± 11) 0.45 (0.037) ±	◀ آنودونت Cage 28 رسوبات Cage 1 رسوبات Cage 28
	1,2 → <0.0005(1) 3,4 → <0.0005(1) 5,6 → 7(0.051) * 7,8 → <0.0005(0.001) 1,5 → 0.0005(0.024) 2,6 → <0.0005(0.017) 5,7 → 7(0.051) 6,8 → 16(0.318) 1,3 → <0.0005(1) 2,4 → 3(0.7) 3,7 → <0.0005(0.017) 4,8 → <0.0005(0.017)	آزمون Mann whitney U (p)

* در صورتی که $P < 0.05$ باشد معنی دار است و بنابراین موارد زیر خط دار معنی دار هستند.

◀ در ضمن قابل توجه است که اختلاف معنی داری بین مقادیر نیکل در آنودونت های ایستگاههای ماهروزه و سلکه با آنودونت های ایستگاه Cage (روز ۲۸) وجود نداشته (p=0.139) همچنین اختلاف معنی داری بین مقادیر نیکل در رسوبات ایستگاههای ماهروزه و سلکه با رسوبات ایستگاه Cage (روز ۲۸) وجود ندارد (p=0.012).

با توجه به جدول ۳-۴۴ مشاهده می شود که:

- ۱- بین میانگین Ni در آنودونتهای سلکه خرداد ماه و آنودونتهای سلکه شهریور ماه اختلاف معنی داری وجود دارد (۵ و ۶ در جدول ۳-۴۴)
- ۲- بین میانگین Ni در آنودونتهای ماهروزه خرداد ماه و آنودونتهای ماهروزه شهریور ماه اختلاف معنی داری وجود دارد (۷ و ۸ در جدول ۳-۴۴)
- ۳- بین میانگین Ni در آنودونتهای سلکه خرداد ماه و رسوبات سلکه خرداد ماه اختلاف معنی داری وجود دارد (۱ و ۵ در جدول ۳-۴۴)
- ۴- بین میانگین Ni در آنودونتهای سلکه شهریورماه و رسوبات سلکه شهریور ماه اختلاف معنی داری وجود دارد (۲ و ۶ در جدول ۳-۴۴)
- ۶- بین میانگین Ni در آنودونتهای ماهروزه خرداد ماه و آنودونتهای سلکه خرداد ماه اختلاف معنی داری وجود دارد (۵ و ۷ در جدول ۳-۴۴)

۳-۲-۷-۳ تعیین میانگین و خطای استاندارد V

با بدست آوردن میانگین و خطای استاندارد در مورد آلاینده وانادیوم برای نمونه های آنودونت و نمونه های رسوب و بررسی آنها در ماه های مختلف (ژوئن و سپتامبر) و ایستگاه های مختلف ماهروزه و سلکه (جدول ۳-۴۵) موارد فوق بشرح زیر اعلام می گردد:

جدول ۳-۴۵ بررسی میانگین و خطای استاندارد آلاینده وانادیوم در ایستگاههای ماهروزه و سلکه (خرداد و شهریور ۸۶)

June Mean V (SE ±)	September Mean V (SE ±)	نمونه - ایستگاه
5.094 ± 1) 298.43(9.31) ± 3) 251.85(2) 2.21 (0.018) ± 4) 2.397 (+ 0.04)	رسوبات سلکه رسوبات ماهروزه
5) 1.19 (1.03) ± 7) 0.2 (0.05) ±	6) 0.06 (0.03) ± 8) 0.2 (0.04 ±)	آنودونت سلکه آنودونت ماهروزه
	9) 0.032 (0.01) ± 10) 0.69 (0.096) ± 11) 0.45 (0.037) ±	◀ آنودونت Cage 28 رسوبات Cage 1 رسوبات Cage 28
	1,2 → <0.0005(1) 3,4 → <0.0005(1) 5,6 → 1(0.111) 7,8 → 12(0.788) 1,5 → 0.0005(0.2) 2,6 → <0.0005(0.017) 5,7 → 3(0.8) 6,8 → 4(0.007)* 1,3 → <0.0005(1) 2,4 → <0.0005(1) 3,7 → <0.0005(0.057) 4,8 → <0.0005(0.017)	آزمون Mann whitney U (p)

*در صورتی که $P < 0.05$ باشد معنی دار است و بنابراین موارد زیر خط دار معنی دار هستند.

◀ در ضمن قابل توجه است که اختلاف معنی داری بین مقادیر وانادیوم در آنودونت های ایستگاههای ماهروزه و سلکه با آنودونت های ایستگاه Cage (روز ۲۸) وجود نداشته (p=0.145) و همچنین اختلاف معنی داری بین مقادیر وانادیوم در رسوبات ایستگاههای ماهروزه و سلکه با رسوبات ایستگاه Cage (روز ۲۸) وجود ندارد (p=0.088).

با توجه به جدول ۳-۴۵ مشاهده می شود که:

۱- بین میانگین V در آنودونتهای سلکه و ماهروزه در شهریور ماه اختلاف معنی داری وجود دارد (۶ و ۸ در جدول ۳-۴۵).

۲- بین میانگین ۷ در آنودونتهای ماهروزه و رسوبات ماهروزه در خرداد ماه اختلاف معنی داری وجود دارد (۳ و ۷ در جدول ۳-۴۵).

۳- بین میانگین ۷ در آنودونتهای ماهروزه و رسوبات ماهروزه در شهریور ماه اختلاف معنی داری وجود دارد (۴ و ۸ در جدول ۳-۴۵).

۳-۷-۳ بررسی همبستگی^۱

در ادامه آنالیزهای آماری با توجه به فرضیه ارتباط بین برخی آلاینده ها با یکدیگر و وجود ارتباط بین مقادیر آلاینده ها و نوع پاسخ دهی سلولهای همولنف آنودونت، همبستگی بین آنها با استفاده از ضریب Pearson مورد بررسی قرار گرفت.

۳-۷-۳-۱ بررسی همبستگی بین آلاینده های نیکل و وانادیوم در نمونه های رسوب و آنودونت

با توجه به اینکه نیکل و وانادیوم از نظر شیمیایی هردو جزو فلزات سنگین هستند احتمال داده می شد که در رسوبات و بافت آنودونت دارای رفتارهای مشابهی باشند، بنابراین همبستگی آنها مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که همبستگی قوی و معنی داری بین V, Ni برای تمامی رسوبات وجود دارد (P<0.005 و r=0.88) اما همبستگی معنی داری بین نیکل و وانادیوم در آنودونت ها مشاهده نشد (r=0.013 , p=0.947).

۳-۷-۳-۲ بررسی همبستگی بین آلاینده های V, Ni, PAH و روش NRR

در واقع از اهداف اصلی این طرح تحقیقاتی بررسی پاسخ دهی سلولهای همولنف آنودونت در برابر آلاینده های PAH و Ni, V می باشد که بررسی این پاسخ دهی با استفاده از آزمایشات Neutral Red Retention assay (NRR) صورت گرفته است و نکته بسیار مهم میزان همبستگی بین مقادیر آلاینده ها و پاسخ سلولی آنودونت هاست. بنابراین در مرحله بعد آنالیزهای آماری، با استفاده از ضریب pearson میزان همبستگی بین آلاینده های PAH، نیکل و وانادیوم و آزمایشات (NRR) مورد بررسی قرار گرفته و بدین ترتیب مشخص می گردد اهداف اصلی پروژه یعنی استفاده از سلولهای همولنف آنودونت در روش NRR برای معرفی این دو کفه ای بعنوان یک بیومارکر برای آلاینده های PAH، نیکل و وانادیوم تامین خواهد شد یا خیر .

¹ - Correlation

۱-۲-۳-۷-۳ بررسی همبستگی بین آلاینده PAH و روش NRR

بررسی نتایج تست همبستگی (جدول ۳-۴۶) به وضوح نشان می دهد که همبستگی منفی و معنی دار بین متغیرهای PAH, NRR وجود دارد و در فصول مختلف و ایستگاه های مختلف هم خوشبختانه این همبستگی منفی و معنی دار دیده می شود یعنی در آزمایشات NRR با افزایش مقدار PAH ، سلولهای همولنف آنودونت در زمان کمتری عکس العمل نشان داده و با افزایش مقدار آلاینده پاسخ دهی سلولی سریعتر صورت می گیرد. این همبستگی در هر دو فصل گرم و خشک (خرداد/ ژوئن) و فصل بارندگی (شهریور/ سپتامبر) و همچنین در هر دو ایستگاه ماهروزه و سلکه و همچنین ایستگاه آلوده Cage مشاهده شده و این همبستگی به فصول نمونه برداری (زمان) و ایستگاه (مکان) وابسته نیست (جدول ۳-۴۶).

جدول ۳-۴۶ بررسی همبستگی بین مقادیر PAH در آنودونت و روش NRR

r(p) cage 28	سلکه r(p)	r(p) ماهروزه	بدون در نظر گرفتن فصل
- 0.85 (0.15)	-0.78(0.002)	-0.8(0.001)	
	June	-0.724(0.005)	بدون در نظر گرفتن ایستگاه
	September	-0.745(0.002)	
		-0.761 (0.005) $p < 0.0005$	بدون در نظر گرفتن فصل و ایستگاه

۲-۲-۳-۷-۳ بررسی همبستگی بین آلاینده های نیکل و وانادیوم و روش NRR

با توجه به نتایج تست همبستگی (جدول ۳-۴۷) مشاهده می شود که بین مقادیر آلاینده نیکل و NRR در ایستگاه سلکه بدون در نظر گرفتن فصل و زمان خاص، همبستگی وجود دارد. اما نکته مهم و قابل توجه در مورد میزان وانادیوم و NRR در ایستگاه آلوده Cage است که همبستگی قوی و منفی مشاهده می شود.

جدول ۳-۴۷ مقایسه همبستگی بین مقادیر نیکل و وانادیوم در آنودونت و روش NRR

r(p) cage 28	سلکه r(p)	r(p) ماهروزه	بدون در نظر گرفتن فصل
- 0.253 (0.584) - 0.919 (0.003)	0.693 < 0.0005 0.192 (0.621)	0.31(0.28) (Ni) -0.379(0.25) (V)	
	June	0.344(0.249)(Ni) -0.219(0.676)(V)	بدون در نظر گرفتن ایستگاه
	September	-0.291(0.313) (Ni) 0.009 (0.0976) (V)	
		0.369 (0.032) (Ni) 0.052 (0.798) (V)	بدون در نظر گرفتن فصل و ایستگاه

فصل چہارم

بحث و نتیجہ گیری

۴-۱ فرضیه و اهداف طرح:

در این پروژه تعیین کاربرد روش بیومارکری (Neutral Red Retention Assay (NRR) برای پایش زیستی تالاب انزلی نسبت به آلاینده‌های مهم PAH و فلزات سنگین V و Ni (که عواملی سرطانی و جهش زا هستند و برای سلامتی انسان و محیط زیست و سایر موجودات بسیار خطرناکند) مد نظر است. هدف اصلی بکارگیری روش جدید بررسی پایداری غشای زیستی سلولهای همولنف در دوکفه‌ای *Anodont cygnea* و مقایسه این روش در تعیین آلودگی نسبت به آلاینده‌های مذکور با روش‌های شیمیایی گاز کروماتوگرافی طیف سنجی جرمی) و جذب اتمی می‌باشد. در این راستا و با توجه به تصویب اساتید محترم، می‌توان اهداف مورد نظر از انجام این طرح تحقیقاتی را در ۹ بخش به شرح زیر بیان نمود:

۱) تعیین مقادیر هیدروکربنهای چند حلقه‌ای آروماتیک (PAH) در رسوبات تالاب انزلی (در ایستگاههای مورد نظر)

۲) تعیین مقادیر هیدروکربنهای چند حلقه‌ای آروماتیک (PAH) در آنودونتهای تالاب انزلی (در ایستگاههای مورد نظر^۱)

۳) تعیین منشا PAH ها با استفاده از روابط علمی موجود^۲

۴) تعیین میزان تجمع زیستی - رسوبی PAH ها بین رسوبات و آنودونتهای^۳ (Bio-sediment Accumulation Factor) در ایستگاههای مورد نظر

۵) تعیین مقادیر فلزات سنگین نیکل و وانادیوم در رسوبات تالاب انزلی (در ایستگاههای مورد نظر)

۶) تعیین مقادیر فلزات سنگین نیکل و وانادیوم در آنودونتهای تالاب انزلی (در ایستگاههای مورد نظر)

۷) تعیین میزان تجمع زیستی - رسوبی فلزات سنگین نیکل و وانادیوم بین رسوبات و آنودونت ها در ایستگاههای مذکور

۸) تعیین پایداری غشایی سلولهای همولنف آنودونت با استفاده از تکنیک NRR

۹) بررسی ارتباط بین مقادیر شیمیایی آلاینده‌های PAH و فلزات سنگین Ni و V، و پاسخ بیولوژیک سلولهای همولنف آنودونت به این آلاینده ها

۱۰) شناسایی نوع سلولهای همولنف آنودونت^۴

^۱ - یاد آوری می‌کند در ابتدا طبق اهداف تعیین شده قرار بود دو ایستگاه ماهروزه و سلکه مورد بررسی قرارگیرند اما در ادامه جهت بالا بردن دقت کار، یک ایستگاه دیگر (Cage) هم اضافه شد.

^۲ - این هدف جزو اهداف تعریف شده اولیه نبود اما در ادامه کار انجام شد.

^۳ - در ابتدا طبق اهداف تعیین شده فقط قرار بود BSAF کل تعیین شود اما در ادامه جهت بدست آوردن اطلاعات بیشتر میزان BSAF برای هر یک از شانزده PAH اولویت EPA هم تعیین گردید.

^۴ - این هدف هم جزو اهداف اولیه نبود اما در ادامه کار برای اولین بار انجام شد.

۴-۲ بررسی میزان PAH ها در نمونه های رسوبات و آنودونت تالاب انزلی

با توجه به موارد فوق و اهداف شماره ۱ و ۲ این پروژه (بخش ۴-۱)، مقادیر PAH ها در آنودونتها و رسوبات تالاب انزلی در دو فصل گرم و خشک، و بارندگی، در ایستگاه های ماهروزه و سلکه و Cage تعیین گردید (بخش های ۳-۳ تا ۳-۵) که در ادامه بحث و بررسی پیرامون نتایج دنبال می شود:

الف) در رسوبات

در تحقیق حاضر میزان میانگین \sum PAH در رسوبات ایستگاه ماهروزه در خرداد و شهریور به ترتیب ۳۴/۸۳۹ و ۶۱/۴۳۹ ng/g dw (جداول ۳-۷ و ۳-۱۵) و در ایستگاه سلکه در خرداد و شهریور به ترتیب ۸۰/۴۳۲ و ۴۵/۴۳۹ ng/g dw (جداول ۳-۱۱ و ۳-۱۹) و در رسوبات ایستگاه Cage (جداول ۳-۲۳ و ۳-۲۴) بین ۱۳۳۹/۸۳۵-۱۳۲۲/۲۲۴ گزارش شده است.

با مقایسه مقادیر \sum PAH در تحقیق حاضر با مقادیر گزارش شده در رسوبات سایر کشورهای جهان (بخش ۱-۲۲)، مشخص می شود که در دو ایستگاه ماهروزه و سلکه نسبت به سایر کشورها، ماکزیمم دامنه \sum PAH کمتر می باشد ولی در مقایسه با کشورهای حوضه خلیج فارس در جنوب ایران، مقدار \sum PAH در ایستگاههای ماهروزه و سلکه (تالاب انزلی)، از رسوبات امارات متحده و عمان بیشتر بوده ولی این مقدار از رسوبات سواحل بحرین کمتر و تقریباً در حد رسوبات سواحل قطر می باشد.

در مقایسه با کشورهای حوضه دریای خزر در شمال ایران هم مشاهده می شود که ماکزیمم \sum PAH در این دو ایستگاه از \sum PAH رسوبات دریای خزر هم کمتر است، اما در مورد \sum PAH در ایستگاه Cage (که ایستگاه آلوده در این تحقیق بوده) این مقدار در مقایسه با سایر کشورهای جهان مساوی یا بالاتر از ماکزیمم \sum PAH آنها بوده و تقریباً از نظر میزان آلودگی \sum PAH حد واسط بین رسوبات خزر در سواحل آذربایجان قرار می گیرد.

نکته حائز اهمیت این است که با توجه به خطرات بیولوژیکی PAH ها برای رسوبات، غلظت ریسک پایین آنها^۱ (ERL) برابر ۵۵۲ $\mu\text{g}/\text{kg}$ و غلظت ریسک متوسط^۲ (ERM) ۳۱۶۰ $\mu\text{g}/\text{kg}$ تعیین شده است (Culotta et al, 2006)، همچنین آلودگی متوسط PAH ها را در رسوبات بین ۱۰۰-۱۰۰۰ ng/g (Baumard et al, 1998) و آلودگی بالای رسوبات و در واقع آستانه PAH ها را ۱۰۰۰ ng/g اعلام شده است (Johnson et al, 2002). بنابراین با توجه به نتایج تحقیق حاضر می توان اعلام کرد که خوشبختانه میزان \sum PAH در رسوبات ایستگاههای مورد بررسی در ماهروزه و سلکه در حد بحرانی نیست، اما متأسفانه

^۱ - Effects Range Low

^۲ - Effects Range Medium

رسوبات ایستگاه Cage در نزدیکی مرکز تحقیقات آبی پروری آبهای داخلی (انزلی) دارای آلودگی بالایی از PAH ها است.

ب) در دوکفه ای ها

در تحقیق حاضر با بررسی میزان \sum PAH در بافت آنودونتها مشخص می شود که میانگین PAH ها در آنودونتهای ایستگاه ماهروزه در خرداد و شهریور به ترتیب $115/00$ ng/g dw و $367/432$ (جدول ۳-۶ و ۳-۱۴) و در ایستگاه سلکه در خرداد و شهریور به ترتیب $140/225$ ng/g dw و $365/03$ (جدول ۳-۱۰ و ۳-۱۸) و در ایستگاه Cage، \sum PAH = $373/781$ ng/g dw می باشد (جدول ۳-۲۲).

گرچه در مورد آنودونتها اطلاعات بسیار اندک است ولی با مقایسه با سایر دو کفه ای ها و با توجه به بخش ۱-۲۳ مشاهده می شود که میزان \sum PAH در بافت آنودونت ایستگاههای ماهروزه و سلکه و Cage در تمامی موارد بیشتر از دوکفه ای های (بجز Rock oyster، امارات متحده) کشورهای دیگر می باشد. همچنین قابل توجه است که در خصوص PAHها، میزان 300 ng/g dw این نوع ترکیبات برای اویسترها حد بحرانی تلقی شده است (Geffard et al, 2003) بنابراین مشاهده میشود که متاسفانه مقادیر PAH ها در آنودونتهای ایستگاههای ماهروزه و سلکه در شهریور ماه (فصل بارندگی) و آنودونتهای ایستگاه Cage در مقایسه با اویسترها از حد بحرانی گذشته و این موضوع می تواند هشدار برای آلوده شدن محیط زیست تالاب انزلی باشد که باید مورد توجه مسئولین مربوطه قرار گیرد.

همچنین مشاهده می شود بجز در ایستگاه Cage که مقادیر \sum PAH در رسوبات بیشتر از بافت دوکفه ای است (که دلایل آن هم در ادامه توضیح داده خواهد شد)، در هر دو فصل نمونه برداری هم در ایستگاه ماهروزه و هم در ایستگاه سلکه مقادیر \sum PAH در بافت آنودونت بیشتر از رسوبات است. با توجه به بررسی های بعمل آمده بنظر می رسد بر طبق جدول ۱-۳ PAH های با وزن ملکولی پایین بهتر در فاز آبی قرار گرفته و در آب حل می شوند و از سوی دیگر PAH های با وزن ملکولی متوسط و بالا بیشتر در بخش رسوبی (که مخزنی طولانی مدت برای ترکیبات هیدروفوبیک هستند) قرار می گیرند (Hellou et al, 1993 and Gaspare et al, 2009)، بنابراین می توان انتظار داشت که با توجه به نوع تغذیه دوکفه ای آنودونت (Filter feeder بودن) در صورت قرار گرفتن این دوکفه ای در محیط آلوده و در مدت زمان مناسب، از دو طریق PAH ها وارد بدن جانور می شوند: اولاً PAH های سبکتر که kow کمتری دارند می توانند از طریق فیلتره کردن آب توسط آنودونت وارد بدن دو کفه ای شده و ثانیاً PAH های با جرم مولکولی بالاتر که kow بالاتری هم دارند (بالاتر از ۵/۵) و در رسوبات بهتر مستقر می شوند (Landrum & Robbis, 1990 and Meador, 2003) هم می توانند همراه با ذرات معلق رسوب و

با فیلتراسیون وارد بدن کف‌ه ای شوند و به این ترتیب پس از ورود PAH ها به بافت آنودونتها با توجه به لیپوفیل بودن این ترکیبات در بافت چرب آنودونت تجمع یافته و همانطور که مشاهده می شود غلظت بیشتری را نسبت به رسوب نشان دهند. این وضعیت موافق با تحقیقات انجام شده توسط (Guinan 2001) بر روی ماسل های آبهای ایرلند و تحقیقات خانم (Gaspere 2009) در مورد اویسترهای آبهای تانزانیا می باشد.

۳-۴ بررسی نتایج آماری مقادیر PAH ها

همچنین با بررسی بیشتر در نتایج طرح حاضر و آنالیز های آماری انجام شده با استفاده از تست Mann- whitney u (بخشهای ۱-۱-۷-۳ تا ۱-۱-۷-۳-۹ و جدول ۳-۴۳) مشخص می شود که:

۱) با مقایسه بین Σ PAH در بافت آنودونتهای ایستگاه ماهروزه و رسوبات این ایستگاه در فصل گرم و خشک یعنی خرداد ماه (جداول ۳-۶ و ۳-۷) مشاهده می شود که مقدار این آلاینده ها در آنودونتها به مراتب بیشتر می باشد. آنالیز های آماری (بخش ۳-۱-۷-۳) و جدول ۳-۴۳ (مقایسه موارد ۳ و ۷) اختلاف معنی داری را بین مقدار PAH ها در آنودونت و رسوبات ماهروزه گزارش می کند ($P=0.017$) و این بدان معنی است که میزان PAH ها در دوکفه ای آنودونت بطور معنی داری بیشتر از رسوبات است.

بنظر می رسد همانطور که در بخش قبل هم کاملاً توضیح داده شد با توجه به نوع تغذیه دوکفه ای آنودونت (Filter feeder بودن)، افزایش مقادیر PAH در آنها می تواند ناشی از ورود این دسته از آلاینده ها از طریق تغذیه و فیلتره شدن آب حاوی ذرات آلوده به درون بدن موجود باشد و با توجه به محتوای چربی موجود در بافت رده های پایین جانوری نظیر آنودونتها (بخش ۱-۲۳)، آلاینده هایی همانند PAH که لیپوفیل هستند قادرند در بافت چرب آنودونت تجمع یابند و این امر با تحقیقات (Den Besten et al, 2003) هم مطابقت دارد. بنابراین میزان PAH ها در کل بافت دوکفه ای بطور معنی داری بیشتر از رسوبات همان ایستگاه (ماهروزه) می باشد.

۲) با مقایسه Σ PAH بین بافت آنودونتهای ایستگاه سلکه و رسوبات این ایستگاه در خرداد ماه (جداول ۳-۱۰ و ۳-۱۱) مشاهده می شود که همچنان مقدار PAH ها در بافت آنودونت بیشتر از رسوبات است ولی با توجه به انجام آنالیزهای آماری در جدول ۳-۴۳ (مقایسه موارد ۱ و ۵) و (بخش ۳-۱-۷-۵)، اختلاف معنی داری بین میزان Σ PAH در آنودونتها و رسوبات این ایستگاه گزارش نمی شود ($P=0.381$). البته با بررسی بیشتر مشخص می گردد مقدار PAH ها در رسوبات سلکه در خرداد ماه دارای افزایش است (البته معنی دار نیست) که علت افزایش غلظت Σ PAH در رسوبات سلکه را می توان عملاً به افزایش ناگهانی چهار نوع از PAH ها یعنی فنانترن، آنتراسن، فلورانتن و پایرن (PAH های ۳-۴ حلقه ای) در نمونه رسوب

کد S1/J ایستگاه سلکه مرتبط که چون فقط یکبار این حالت در انجام طرح مشاهده شده احتمال داده می شود این مورد یک آلودگی نقطه ای و مقطعی (با توجه به وجود مناطق روستایی و کارگاههای اطراف این مکان) باشد. مشابه این وضعیت در تحقیقات انجام شده در رسوبات تنگه Karmsund نروژ دیده شده که به علت وجود یک کارگاه آلومینیوم سازی افزایش مقادیر برخی از PAH ها با منشا های پیروژنیک گزارش شده است (Watson et al, 2004) همچنین در تحقیق دیگری که در رودخانه Pearl چین انجام شده (Bixian et al, 2001) در ایستگاه نزدیک مناطق روستایی افزایش برخی از PAH ها دیده شده است. بدین ترتیب بنظر می رسد اگر مقدار افزایش PAH ها در رسوبات کد S1/J ایستگاه سلکه در نظر گرفته نشود و با توجه به افزایش غلظت PAH ها در بافت آلودونتهای این ایستگاه، تجمع بیشتر آلاینده در آلودونتهای سلکه هم وجود داشته (همانند آلودونتهای ایستگاه ماهروزه) و همچنان اختلاف قابل توجه بین مقادیر PAH ها در رسوبات و آلودونتهای ایستگاه سلکه هم مشاهده می شود.

۳) همچنین با توجه به آنالیزهای آماری و جدول ۳-۴۳ (مقایسه موارد ۴ و ۸) اختلاف معنی داری بین غلظت PAH ها در آلودونتها و رسوبات ماهروزه در شهریور ماه وجود دارد (P=0.017). مشابه همین وضعیت در جدول ۳-۴۳ (مقایسه موارد ۲ و ۶) برای آلودونتها و رسوبات سلکه در شهریور ماه وجود دارد (P=0.017).

همانطور که اشاره شد با توجه به اینکه آلودونت ها Filter Feeder هستند و PAH ها می توانند در بافت چرب بدن آنها تجمع یابند، در نتیجه افزایش مقادیر PAH در بافت آنها، نسبت به رسوب قابل انتظار است. از سوی دیگر با مراجعه به جداول ۳-۱۴ و ۳-۱۸ مشاهده می شود که در آلودونتهای ماهروزه و سلکه از کل PAH های مورد بررسی بیشترین مقدار مربوط به نفتالن، اسنفتیلن، فلورن، فنانترن و آنتراسن بالاست که PAH های ۳-۲ حلقه ای هستند. این دسته از PAH ها نسبت به PAH های ۵-۴ حلقه ای، بهتر در آب حل شده (جدول ۱-۳) و بنابراین منطقی بنظر می رسد که این مواد همراه با افزایش بارندگی های شدید منطقه در شهریور ماه، همراه با آب رودخانه های اطراف (که حاوی پسابهای آلوده هستند) با آب حمل گردیده و سپس از طریق فیلتره شدن وارد بدن و بافت آلودونت شوند. این امر با نظر Mckim (1994) مطابقت داشته و موافق با تحقیقات انجام شده بر روی PAH ها در ماسل های سواحل کانادا است (Hellou et al, 2002).

۴) با توجه به جدول ۳-۱۴ و ۳-۱۵ و نتایج حاصل از نمونه برداری های فصل بارندگی یعنی اواخر شهریور ماه و بررسی و مقایسه روند زمانی در دو فصل خشک و بارندگی، مشخص می شود که بطور قابل توجهی مقدار PAH ها در بافت آلودونتها در فصل بارندگی افزایش داشته است و نتایج آنالیزهای آماری در جدول ۳-۴۳ (مقایسه موارد ۷ و ۸) هم اختلاف معنی داری را بین مقادیر PAH ها در آلودونتهای ماهروزه در

خرداد و شهریور ماه نشان می دهد ($P=0.01$). بنظر می رسد افزایش غلظت PAH ها در محیط را می توان به ورود بیشتر این آلاینده مربوط دانست. شهریور ماه، بارندگی شدید در منطقه وجود داشته و از آنجائیکه نمونه برداری ماهروزه در محل تلاقی چند رودخانه بوده است، وجود سیلابهای شدید که حاوی آلاینده هاست از طریق رودخانه هایی که به این محل می ریزند سبب بالا رفتن غلظت PAH ها در این منطقه شده و این امر با افزایش غلظت PAH ها در رسوبات ماهروزه در شهریور نسبت به خرداد آشکار است (نمودار ۳-۱۶). مشابه این وضعیت در تحقیق انجام شده، در ایستگاهی در رودخانه Po ایتالیا که محل تلاقی چند رود (نظیر ایستگاه ماهروزه در تحقیق حاضر) می باشد، گزارش شده است (Vigano et al, 2007).

۵) البته نکته جالب توجه این است که با بررسی جداول ۳-۷ و ۳-۱۵ و با توجه به آنالیزهای آماری در جدول ۳-۴۳ (مقایسه موارد ۳ و ۴) و با مقایسه مقادیر PAH ها در رسوبات ماهروزه در خرداد و شهریور ماه (برخلاف آنودونتهای ایستگاه ماهروزه در دو فصل نمونه برداری)، اختلاف معنی داری بین مقادیر PAH ها در رسوبات مذکور مشاهده نمی شود ($P=0.1$). عبارت دیگر می توان استنباط کرد که افزایش PAH ها در بافت آنودونتها در شهریور ماه (فصل بارندگی)، احتمالاً مربوط به افزایش PAH های سبکتر و با تعداد حلقه های بنزنی کمتر است که تا حدودی بهتر در آب محلول بوده و توانسته اند با فیلتراسیون آب توسط دوکفه ای در بافت آن افزایش یابند. نتایج بدست آمده در جداول ۳-۲۷ و ۳-۲۹ هم این موضوع را تایید کرده و نشان می دهد که در شهریور ماه ترکیبات PAH، ۲ و ۳ حلقه ای (نظیر نفتالن، اسنفتیلن، اسنفتن، فلورن) در رسوبات ایستگاه ماهروزه چندین برابر شده اند.

۶) نتایج مربوط به ایستگاه سلکه در شهریور ماه (جدول ۳-۱۸) هم حاکی از افزایش بار آلودگی PAH ها در بافت آنودونت های این ایستگاه نسبت به خرداد ماه است. نتایج آماری در جدول ۳-۴۳ (مقایسه موارد ۵ و ۶) تایید کننده اختلاف معنی داری بین مقدار PAH ها در آنودونتهای ایستگاه سلکه در خرداد ماه و شهریور ماه است ($P=0.001$) و در واقع همانطور که اشاره شد بارندگی شدید در شهریور ماه و تغییرات فصلی عامل مهمی در افزایش میزان PAH ها است و این امر موافق با تحقیقات انجام شده در خلیج سانفرانسیسکو می باشد که اختلاف معنی داری همراه با تغییرات فصلی در میزان PAH ها در ماسل های این خلیج گزارش شده است (Oros et al, 2007).

۷) بر طبق جدول ۳-۱۹ مقادیر PAH ها در رسوبات سلکه در شهریور ماه نسبت به خرداد ماه کاهش یافته است، که البته با توجه به آنالیزهای آماری و جدول ۳-۴۳ (مقایسه موارد ۱ و ۲) در این خصوص اختلاف معنی داری مشاهده نمی شود ($P=1$). اما از سوی دیگر با کمی دقت در مقایسه مقادیر PAH ها در رسوبات سلکه در خرداد و شهریور ماه، افزایش ناگهانی غلظت PAH ها در رسوبات خرداد ماه در سلکه مشاهده می شود که عملاً بواسطه افزایش فناترن، آنتراسن، فلورانتن و پایرن تنها در رسوبات کد S1/J است

(جدول ۳-۱۱) و افزایش این چهار مورد PAH، باعث افزایش ناگهانی PAH در رسوبات کد S1/J و در نهایت افزایش Σ PAH در کل رسوبات سلکه در خرداد ماه گردیده است و همانطور که قبلا هم اشاره شد بنظر می رسد این آلودگی نقطه ای و مقطعی بوده باشد. لازم به ذکر است که در سایر رسوبات سلکه کدهای S3/J, S2/J در خرداد ماه هم چنین چیزی دیده نمی شود، بنابراین عملا روند افزایش ناگهانی Σ PAH در رسوبات سلکه در بهار است که غیرعادی بوده و صرفنظر از رسوبات کد S1/J در خرداد ماه سلکه، روند تغییرات Σ PAH در رسوبات ایستگاه سلکه در شهریور ماه (جدول ۳-۱۹) شبیه به رسوبات ایستگاه ماهروزه در شهریور ماه (جدول ۳-۱۵) است.

۸) با توجه به آنالیزهای آماری در جدول ۳-۴۳، مشخص می شود که در مورد آلاینده PAH، بین رسوبات ایستگاههای ماهروزه و سلکه (مقایسه موارد ۱ و ۳، و مقایسه موارد ۲ و ۴) اختلاف معنی داری در خرداد ماه ($P=1$) و در شهریور ماه هم ($P=0.7$) وجود ندارد. از دیگر سو با مقایسه مقادیر PAH بدست آمده در بافت آنودنت های ایستگاههای ماهروزه و سلکه (مقایسه موارد ۵ و ۷، و مقایسه موارد ۶ و ۸) هم اختلاف معنی داری در خرداد ماه ($P=0.181$) و شهریور ماه ($P=0.535$) مشاهده نمی شود.

بنابراین با توجه به موارد فوق و همانطور که در فصول قبل به آن اشاره گردید تصمیم گرفته شد جهت بررسی دقیق تر، بخصوص اطمینان بیشتر در سری آزمایشات (Natural Red Retention) ایستگاه دیگری (بیشتر از اهداف اولیه پروژه) که احتمال بیشتری در آلوده بودن آن داده می شد، تعریف شود. بنابراین در نزدیکی محل مرکز تحقیقات آبزی پروری آبهای داخلی (انزلی) و محل سوختگیر قایق ها یک Cage حاوی ۱۴ آنودنت برای یک دوره ۲۸ روزه (USEPA, 1994 and ASTM, 1997b and Nigro et al, 2006) گذاشته شده و پس از طی این دوره آزمایشات لازم برای تعیین PAH در بافت دوکفه ای و رسوبات انجام گردید.

با توجه به جدول شماره ۳-۲۲ و ۳-۲۳ در ایستگاه Cage مشاهده می شود که برخلاف موارد قبلی، مقادیر PAH این بار در رسوب (رسوب روز ۲۸) بمراتب بیشتر از بافت آنودنت است. نظر به اینکه ۵۰٪ از دوکفه ای های این ایستگاه در طول دوره ۲۸ روزه تلف شدند و با توجه به مقدار PAH در رسوبات (1322.229 ng/g) که نسبت به ایستگاههای ماهروزه و سلکه چندین برابر شده قطعا میزان آلودگی Σ PAH در این ایستگاه می بایست بمراتب بالاتر از ایستگاههای سلکه و ماهروزه باشد. آنالیزهای آماری هم تایید می کند که اختلاف معنی داری بین رسوبات ایستگاههای سلکه و ماهروزه با رسوبات ایستگاهی Cage وجود دارد ($P < 0.0005$). همچنین بین میزان PAH در آنودنتهای ایستگاه سلکه و ماهروزه با آنودنتهای ایستگاه Cage اختلاف معنی داری مشاهده می شود ($P=0.043$) و این امر قابل پیش بینی بود چون با توجه به اینکه در این ایستگاه سوختگیری قایق ها انجام می شود انتظار می رفت آلودگی ترکیبات PAH در این

ایستگاه قابل توجه باشد، اما نکته مهم این است که به چه دلیل با وجود بالا بودن چندین برابری ΣPAH در رسوبات ایستگاه مذکور، میزان این آلاینده در بافت آنودونت چندین برابر نشده است؟

گرچه ترکیبات PAH لیپوفیل بوده و پس از ورود به بدن دوکفه ای می توانند در بافتهای چرب متمرکز شوند ولی به نظر می رسد نرخ تجمع زیستی در بدن موجود شدیداً به زمان وابسته است و زمان ۲۸ روز برای تجمع سینتیکی آلاینده در بدن دوکفه ای کافی نیست. از طرف دیگر از بین رفتن ۵۰٪ از دوکفه ای های نشان می دهد که احتمالاً عوامل دیگری در زنده بودن یا مرگ دوکفه ای در حضور آلاینده می توانند دخیل باشند، نظیر جنسیت، سایز، سن، فیزیولوژی و میزان متابولیسم آلاینده که در مورد دوکفه ای آنودونت چون اطلاعات کمی در دسترس است نیاز به تحقیقات بیشتر دارد، اما این نظر موافق با تحقیقات انجام شده در مورد برخی موجودات دیگر است به عنوان مثال طی تحقیقات انجام شده بر روی موجودات بتتیک (نظیر گونه هایی از پلی کیت ها و ستاره دریایی شکننده) در آبهای سوئد مبنی بر نحوه تجمع ترکیبات PCB (که آنها هم همانند PAH ها هیدروفوبیک هستند)، مشخص گردیده که فاکتور های سایز و جنسیت جانور در تجمع بیشتر این ترکیبات آلی هیدروفوبیک، در افراد مختلف یک گونه موثر بوده است (Magnusson et al, 2006).

تاثیر اندازه و سایز بی مهرگان در جذب و تجمع آلاینده ها قابل توجه است و در تحقیق انجام شده توسط Landrum & Stubblefield (1991) هم در مورد آمفی پودها ی آب شیرین، همبستگی بالایی بین جذب بنزو (α) پایرن با نسبت سطح /حجم جانور ثابت شده است.

همچنین سن جانور هم علاوه بر سایز آن، در نرخ جذب و پالایش ترکیبات آلی هیدروفوبیک موثر است و حتی سبب تفاوت های داخل گونه ای می شود (Hawker and Connell, 1985) (Gustafsson et al, 1991) . تفاوت های فیزیولوژیک هم در نحوه تجمع و انتقال آلاینده های آلی در مورد بی مهرگان بتتیک گزارش شده است (Magnusson et al 2006) .

طی تحقیقات انجام شده بر روی بی مهرگان (کلامهایی همانند *Rangia cuneata*) ، بیشترین غلظت های PAH ها در اندام های از آنان نظیر کبد و بافت دیده شده (Jovanovich and Marion, 1987) که این مسئله می تواند وابسته به تغییرات فصلی باشد که سبب تغییر در محتوای چربی و چرخه های تولید مثلی می شود (Maruya et al, 1997, Miles and Roster, 1999).

عامل موثر بعدی متابولیسم است که در مورد مهرداران که سیستم آنزیمی دارند بسیار با اهمیت است اما در مورد بی مهرگان (نظیر دو کفه ایها) هم که در محیط های آلوده زندگی می کنند مهم تلقی میشود (Akcha & Burgeot, 1999) البته در این خصوص به تحقیقات بیشتر نیاز هست.

۴-۴ بررسی منشا PAH ها در نمونه های رسوبات و آلودونت:

الف) در رسوبات

با مراجعه به جدول ۳-۹ (و با توجه به نسبت فنانترن/آنتراسن و فلورانتن/پایرن) مشاهده می شود که نمونه رسوب ایستگاه ماهروزه کد M1/J منشا پتروژنیک و کد M2/J منشا نامشخص و پراکنده، و کد M3/J منشا پیروژنیک دارند، بنابراین نمی توان صراحتاً منشا مشخصی در مورد رسوبات ایستگاه ماهروزه در خرداد ماه (فصل گرم و خشک) اعلام نمود.

همچنین با توجه به جدول شماره ۳-۱۳ در مورد رسوبات سلکه هم در خرداد ماه مشاهده می شود که منشا PAH در نمونه های کد S2/J, S3/J منشا پیروژنیک و نمونه کد S1/J منشا پراکنده را نشان می دهد و نمی توان در مورد رسوبات این ایستگاه هم صراحتاً اظهار نظر نمود.

با توجه به جدول ۳-۱۷ در رسوبات ماهروزه در شهریور ماه (فصل بارندگی) هم برای رسوب کد M1/J منشا پیروژنیک و برای رسوبات کد M2/S, M3/S منشا پراکنده مشاهده می شود. بنابراین با توجه به موارد فوق به نظر نمی رسد بتوان صراحتاً منشا مشخصی را برای PAH ها در رسوبات این منطقه اعلام نمود.

مشابه همین وضعیت در جدول ۳-۲۱ در مورد رسوبات سلکه در شهریور ماه دیده می شود. یعنی با توجه به نسبت فنانترن/آنتراسن و فلورانتن/پایرن، یک مورد منشا پیروژنیک (نمونه کد S3/J) و دو مورد (نمونه های کد S2/J, S1/J) منشا پراکنده گزارش می شود.

بر طبق جدول ۳-۲۶ هم منشا PAH ها در رسوبات روز ۲۸ در ایستگاه Cage، شامل دو مورد منشا نامشخص و پراکنده (C1/S, C2/S) و یک مورد منشا پیروژنیک (C3/S) می باشد.

با توجه به موارد فوق مشخص می شود که امکان قضاوت صریح در مورد منشا رسوبات وجود ندارد و این امر مشابه تحقیقی است که در رسوبات آبهای تانزانیا گزارش شده است (Gaspere et al, 2009)، زیرا معمولاً منابع مختلف و زیادی می توانند از قبل در رسوبگذاری رسوبات دخیل بوده باشند (Culotta et al, 2006).

علاوه بر آن افزایش غلظت \sum PAH در فصل بارندگی، این احتمال را قوت می بخشد که پسابهای صنعتی که همراه با سیلابها و Run off ها وارد تالاب می شوند علاوه بر منابع پتروژنیک و پیروژنیک در افزایش بار آلودگی دخیل می باشند (Culotta et al, 2006). در واقع PAH ها در حال حاضر آلودگی موجود در تمامی محیط های آبی موجود هستند و بطور کلی این آلودگی بواسطه احتراق سوختهای فسیلی و بیوفسیلی در بخشها و صنایع مختلف و فعالیت های مختلف بشر وارد محیط زیست می شوند (منابع پیروژنیک) همچنین موتورهای دیزلی در برخی خودروها و بخصوص صنایع هم مقداری از این دسته آلاینده ها را وارد اتمسفر می کنند که می توانند مجدداً به سطح زمین و محیط های آبی Fall out نمایند، اما

بیشترین مقدار PAH ها در حال حاضر در نزدیک شهرها (بواسطه فعالیتهای مختلف بشر) دیده شده است. همچنین نقل و انتقالات نفتی و عملیات انجام شده بر روی نفت خام نیز از منابع ورود این دسته آلاینده (منابع پتروژنیک) به محیط می باشند (Latimer et al, 2003).

ب) در دوکفه ای ها:

با توجه به جدول ۳-۸ و ۳-۱۲ و ۳-۱۶ و ۳-۲۰ و ۳-۲۵ و بررسی نسبت فلورانتن/پایرن و فنانترن/آنتراسن مشاهده می شود که نمی توان منشا PAHها را در آنودونتهای هیچیک از ایستگاهها بطور دقیق بصورت منشا پتروژنیک یا پیرروژنیک مشخص نمود.

همچنین نکته دیگر اینکه معمولا در مورد رسوبات منشا PAH ها را مشخص می نمایند، ولی در یک مورد، تحقیق (Gomez & Roca, 2007) که در دریای مدیترانه و در سواحل اسپانیا انجام شد در مورد دوکفه ای های *Mytilus galloprovincialis* هم نسبتهای فنانترن/آنتراسن و فلورانتن / پایرن محاسبه و منشا Σ PAH کار شده است. لذا ما هم بر آن شدیم که این کار جدید را در تحقیق حاضر اجرا و بررسی نماییم که نتایج آن در ادامه ارائه خواهد شد. البته تحقیق فوق مشابه تحقیق حاضر، در بسیاری از موارد منشا PAHها در دوکفه ایها را پراکنده و در برخی موارد منشا PAHها پتروژنیک و یا پیرروژنیک گزارش کرده است (Gomez & Roca, 2007).

در تحقیق Gomez & Roca نسبت فنانترن/آنتراسن در مورد *Mytilus* ها بین ۱۷/۳۷-۷/۵۵ و نسبت فلورانتن/پایرن بین ۳/۹۳-۰/۷۷ گزارش شده، در حالی که نسبت فنانترن/آنتراسن در آنودونتهای ایستگاه ماهروزه در دو فصل نمونه برداری بین ۱۴/۶۵-۰/۸۷ و در آنودونتهای ایستگاه سلکه بین ۴/۵-۰/۲۶ و در آنودونتهای ایستگاه Cage این نسبت بین ۱۴/۷۴-۰/۹۲ بوده و مشاهده می شود که آلودگی PAH ها در این مناطق نسبت به سواحل اسپانیا (بارسلونا، تابارکا، تاگونا) بیشتر است. علاوه بر آن نسبت فلورانتن/پایرن در دو فصل نمونه برداری در آنودونتهای ایستگاه ماهروزه بین ۱/۲۳-۰/۰۶ و در آنودونتهای ایستگاه سلکه بین ۱/۱۹-۰/۴۵ و در آنودونتهای ایستگاه Cage ۰/۹۷-۰/۷۳ می باشد که با توجه به تحقیق Gomez & Roca در مورد *Mytilus*ها از مقدار کمتری برخوردار است. بنابراین مشاهده می شود وضعیت نسبتهای فنانترن/آنتراسن و نسبت فلورانتن/پایرن در تحقیق حاضر با تحقیق Gomez & Roca کاملا همخوانی ندارند. اما نکته حائز اهمیت این است که اساسا با توجه به وجود عواملی نظیر اختلاف در سن و اختلاف زمان در معرض آلودگی بودن، اختلاف در وزن و سایز، بافت چرب، فیزیولوژی و یا جنسیت دوکفه ای ها که قطعا بر روی متابولیسم و جذب و دفع و تجمع آلاینده در بافت جانور تاثیر گذار است و این عوامل مانع از آن می شوند که حتی در دوکفه ای های یک ایستگاه میزان تجمع PAH ها یکسان باشد

و به یک نسبت و همانند یکدیگر بتوانند PAH ها را جذب و متابولیسم نمایند (بند ۶ در بخش ۴-۲-۲) بنابراین نمی توان منشأ PAH ها را در موجود زنده براحتی بررسی کرد و روش بکار گرفته شده توسط Gomez & Roca نمی تواند منطقی باشد.

همچنین قابل توجه است که گرچه یکی از عوامل تاثیر گذار در Bioaccumulation گرا دیان غلظت آلاینده است، یعنی اگر مثلاً آلاینده x در رسوب بیشتر است در بدن جاندار هم باید بیشتر باشد و فرض بر این است که بین دو کفه ای و رسوبات یک منطقه الگوی مشابهی از آلاینده وجود داشته باشد اما عملاً میتواند این طور هم نباشد (Gaspere et al, 2009). با مقایسه مقادیر بدست آمده از PAH ها در رسوبات و آنودونتهای مورد بررسی در تحقیق حاضر (مقایسه جداول ۳-۶ با ۳-۷ و جداول ۳-۱۰ با ۳-۱۱ و ۳-۱۴ و ۳-۱۵ و ۳-۱۸ با ۳-۱۹ و ۳-۲۲ با ۳-۲۴) کاملاً مشخص است که الگوی مشابهی بین مقادیر PAH ها در بافت آنودونت و رسوبات وجود ندارد زیرا شرایط دیگری مثل هیدوفیل یا لیپوفیل بودن آلاینده و نوع پیوند پذیری ملکول آلاینده، شرایط ساختمان مولکولی (به عنوان مثال اینکه چند حلقه بنزنی داشته باشند) و پارامترهای هندسی یک بعدی (نظیر جرم، نقطه ذوب و جوش مولکول، طولی پیوندهای مولکولی)، پارامترهای دوبعدی (نظیر مساحت مولکول) و پارامترهای سه بعدی (نظیر حجم مولکول) هم در این رابطه دخیل هستند و به همین دلیل در مورد تجمع زیستی انواع PAH ها، تنها غلظت رسوبی PAH تاثیر گذار نیست. همچنین عوامل متعدد دیگری نظیر سایز دانه های رسوبی و نوع رسوب، سایز دوکفه ای (موجودات بزرگتر نرخ تغذیه و تنفس بیشتری دارند) میزان چربی بافتی، تلاطم و Turbidity ستون آب، نرخ متابولیسم آلاینده در بدن موجود، خصوصیات فیزیولوژی موجود، شرایط محیطی نظیر pH، شوری، اکسیژن و خصوصیات اکسیداسیون و احیا آلاینده و نرخ دفع آلاینده (که وابسته به نیمه عمر آلاینده در بافت دو کفه ای است) در تجمع زیستی و BSAF موثرند که البته نیاز به تحقیق بیشتر دارد (Meador, 2003). بنابراین و با توجه به موارد فوق الذکر از نظر ما منشأ یابی PAH ها در موجودات زنده (دوکفه ای ها) توسط Gomez & Roca قابل قبول نبوده، و از صحت لازم برخوردار نیست.

۴-۵ بررسی فاکتور تجمع زیستی - رسوبی PAH ها:

با توجه به هدف شماره ۳ در بخش ۴-۱ و نتایج ارائه شده در بخش ۳-۴ دیده می شود که:

۱) فاکتور تجمع زیستی - رسوبی (BSAF) در خصوص PAH ها در ایستگاههای ماهروزه و سلکه در خرداد ماه (فصل گرم و خشک) به ترتیب ۳/۳۰ و ۱/۷۴ می باشد. همچنین میزان BSAF در ایستگاههای ماهروزه و سلکه در شهریور ماه (فصل بارندگی) هم به ترتیب ۵/۹۸ و ۷/۸۳ می باشند که در تمامی موارد اعداد بالاتر از یک بوده و این امر نشان دهنده این مطلب است که تجمع زیستی آلاینده (PAH ها) در بدن

آنودونت وجود داشته و عبارت دیگر میزان تجمع PAH ها در بافت بیشتر از رسوب است. بنظر می رسد دلیل این امر این است که چون PAH ها ترکیباتی آلی و لیپوفیل هستند باید بتوانند از طریق آب و فیلتره شدن آن بواسطه نوع تغذیه آنودونت توسط دوکفه ای بخوبی در بافت چرب وارد شده و تجمع یابند. در واقع تغذیه و نوع استراتژی تغذیه در تجمع زیستی بسیار موثر بوده (Magnusson et al, 2006) و به دلیل وجود بیشتر ذرات و ترکیبات آلی در رسوبات، در موجودات بتتیک و رسوب خوار تجمع زیستی بیشتری از این ترکیبات دیده می شود (Lee et al, 1990) و تجمع زیستی بالاتر از یک، در آنودونت ثابت می کند که این دوکفه ای بخوبی می تواند آلاینده هایی نظیر PAH ها را در بافت خود جذب کرده و تجمع زیستی مناسب را نشان دهند.

از سوی دیگر متابولیسم پایین می تواند سبب افزایش BSAF شود (Magnusson et al, 2006) و بنابراین همانطور که در بخش ۱-۲۳ هم اشاره شد از بی مهرگانی نظیر آنودونتها به دلیل داشتن محتوای چربی و قدرت جذب ترکیبات آلی از یک طرف و متابولیسم پایین از سوی دیگر، می توان انتظار داشت که تجمع زیستی - رسوبی بالاتر از یک را نشان دهند.

۲) همچنین مشاهده می شود که تجمع زیستی در فصل بارندگی (شهریور ماه) در آنودونتهای هر ایستگاه، بمراتب بیشتر از فصل گرم و خشک (خرداد ماه) است و این مسئله می تواند به دلیل افزایش بار آلودگی PAH ها در آب و رسوبات منطقه باشد که چون مقدار آنها در محیط بیشتر شده (به دلیل افزایش بارندگی و Run off ها و سیلابهایی که پسابهای آلوده را حمل می کنند) بیشتر هم در دسترس آنودونت قرار گرفته و بنابراین انتظار می رود در شهریور ماه تجمع زیستی بیشتری نسبت به خرداد ماه بروز کند. افزایش غلظت PAH ها در نمونه های شهریور این مسئله را تایید می کند (جداول ۳-۱۴، ۳-۱۵ و ۳-۱۸، ۳-۱۹) و این امر موافق با تحقیقات انجام شده در خلیج سانفرانسیسکو است که در بخش جنوبی خلیج به دلیل Run off ها میزان PAH ها افزایش نشان می دهد (Ross & Oros, 2004).

همچنین افزایش غلظت PAH ها و افزایش تجمع زیستی بواسطه سیلابها و Run off ها در فصل بارندگی (مشابه نتایج تحقیق حاضر) موافق با تحقیقات گزارش شده (Miles & Roster, 1999) بر روی ماسل ها است (این ماسل ها از خوری در نزدیکی یک انبار متروکه سوخت نمونه برداری شده بودند). این محققین عقیده دارند که بواسطه تغییرات فصلی و جریانهای آبی، دسترسی زیستی ماسل ها به PAH ها در هنگام بارندگی با افزایش جریانهای آبی افزایش می یابد.

در تحقیقی که بر روی ماسلهای دریای بالتیک انجام شد (Bramumard et al, 1999) افزایش BSAF در ماه مارس (افزایش بارندگی در این منطقه) نسبت به ماههای آگوست و اکتبر گزارش شده است (که مشابه تحقیق حاضر می باشد) و این مسئله به دلیل تمایل به افزایش نرخ فیلتراسیون ماسل ها در ماه مارس

و اواخر زمستان اعلام شده که همین امر سبب افزایش تجمع آلاینده PAH در بافتهای ماسل ها گردیده، همچنین Bramumard و همکارانش اشاره داشته اند که آنزیم های گوارشی از تغییرات فصلی پیروی می کنند. البته این مورد هنوز به تحقیقات بیشتر نیاز دارد اما بنظر می رسد در صورتی که واقعا آنزیم های گوارشی با تغییرات فصل تغییر کنند قطعا بر روی متابولیسم و بالطبع تجمع یا عدم تجمع زیستی ترکیبات آلاینده در بافت دوکفه ای ها موثرند.

از سوی دیگر با توجه به تحقیقات انجام توسط Meador مشخص شده که در واقع تغییرات فصلی می توانند بر روی نوع تغذیه و محتوی چربی در بدن موجودات تاثیر گذار بوده و در نهایت در میزان تجمع زیستی آلاینده هم موثر باشد. همچنین تغییرات فصلی می تواند بر روی میزان در دسترس قرار گرفتن آلاینده ها و نرخ تغییرات آنها و تغذیه موثر باشد (Meador, 2003).

۳) اما تجمع زیستی در نمونه ایستگاه Cage کمتر از یک می باشد (BSAF=0.28). با توجه به میزان بالای آلودگی در رسوبات این ایستگاه (جدول ۳-۲۳ و ۳-۲۴) می بایست میزان PAHها در بافت آنودونت هم بالا باشد و در نتیجه تجمع زیستی مناسبی در بافت آنودونت دیده شود که بر خلاف انتظار مقدار PAHها در بافت آنودونت کمتر از رسوبات این ایستگاه است. البته همانطور که قبلا هم اشاره شد احتمال داده می شود برای افزایش غلظت PAHها در بافت دوکفه ای و در نتیجه تجمع زیستی آن، زمان عامل مهمی باشد و یک دوره ۲۸ روزه در Cage نمی تواند این هدف را تامین نماید. لذا با وجود آلودگی بالای PAHها در رسوبات و تلف شدن نیمی از آنودونتهای موجود در Cage، میزان تجمع زیستی در بافت آنودونت های ایستگاههای Cage کمتر از یک می باشد و بنظر می رسد در واقع نسبت مستقیمی بین زمان در معرض آلودگی و دسترسی به PAH برای دوکفه ای و بالا رفتن تجمع زیستی وجود داشته باشد.

۴-۵-۱ بررسی فاکتور تجمع زیستی - رسوبی PAHهای اولویت بندی شده EPA به تفکیک:

۱) با توجه به جدول ۳-۲۷ و نمودار ۳-۱ و بررسی نتایج تجمع زیستی - رسوبی (BSAF) در مورد PAHهای اولویت بندی شده EPA در ایستگاه ماهروزه در خرداد ماه مشخص می شود که بیشترین تجمع زیستی - رسوبی در این ایستگاه بشرح زیر است:

جدول ۴-۱ مشخصات PAHهایی که بیشترین تجمع زیستی - رسوبی را در ایستگاه ماهروزه (خرداد ۸۶) داشته اند

PAH	NA	BkF	ACP	PY	IcdP	dBan
BSAF	3.793	4.513	5.511	8.68	9.163	14.474
Rings	2	5	3	4	6	5
log kow	3.37	6.0	3.92	5.18	-	6.75

صرفنظر از دو مورد dBan (دی بنزو a,h آنتراسن) و BkF (بنزو k فلورانتن) که احتمالاً به دلیل افزایش ورود به تالاب از طریق پسابهای آلوده، تجمع زیستی بالایی را نشان می دهند در بقیه موارد مشاهده می شود با افزایش تعداد حلقه های بنزنی و log kow، تجمع زیستی - رسوبی افزایش می یابد. همچنین تجمع PAH های ۴ و ۶ حلقه ای در این ایستگاه احتمال وجود منشا پیروژنیک را افزایش می دهد (Dahle et al, 2003).

(۲) با توجه به جدول ۳-۲۸ و نمودار ۳-۲، نتایج BSAF در مورد PAH های اولویت بندی شده EPA در ایستگاه سلکه در خرداد ماه بشرح زیر است:

جدول ۴-۲ مشخصات PAH هایی که بیشترین تجمع زیستی - رسوبی را در ایستگاه سلکه (خرداد ۸۶) داشته اند

PAH	NA	ACP	BbF	BkF
BSAF	4.027	5.758	6.057	17.051
Rings	2	3	5	5
log kow	3.37	3.92	5.80	6.0

در اینجا هم مشاهده می شود که کاملاً با افزایش تعداد حلقه های بنزنی و log kow تجمع زیستی - رسوبی افزایش می یابد.

بنظر می رسد از عوامل مهم و دخیل در تجمع زیستی - رسوبی PAH ها تعداد حلقه های بنزنی و log kow آنها باشد. به این معنی که با افزایش log kow خاصیت آب گریزی (هیدروفوبیک) و افزایش چربی دوستی (لیپوفیلی) در PAH ها افزایش یافته و بنابراین پس از ورود این ترکیبات به بدن دوکفه ای، به خوبی می توانند در بافت چرب تجمع یافته و سبب افزایش تجمع زیستی - رسوبی این ترکیبات در بافت شوند. در واقع PAH هایی که دارای $\log kow < 5.5$ هستند می توانند بهتر در آب حل شوند و از طریق تخلیه^۱ آب و PAH هایی دارای $\log kow > 5.5$ هستند دارای خاصیت هیدروفوبیک بیشتری بوده و بیشتر از طریق رسوبات وارد بدن دوکفه ای شده و تجمع زیستی پیدا می کنند (Landrum 1989, Landrum & Robbins 1990, Meador et al 1995, Meador 2003).

از سوی دیگر یکی از مهمترین مبحث ها در مقدار تجمع PAH ها میزان متابولیسم این ترکیبات است. بنظر می رسد هرچه تعداد حلقه های بنزنی افزایش می یابد احتمال متابولیسم آنها و وارد شدن در پیوندهای شیمیایی در بدن موجود کمتر شده و بنابراین تجمع زیستی آنها افزایش می یابد و این امر در مورد موجوداتی نظیر دوکفه ای ها که قدرت متابولیسمی پایینی دارند شدیدتر است. این نظر و نتایج فوق موافق با تحقیقات انجام شده بر روی گونه هایی از آنیلیده ها، گاستروپودها، سخت پوستان و دوکفه ای ها در

¹ - Ventilation

مجاورت یکی از ترکیبات PAH یعنی BaP است (Mc Elory et al, 2000). این تحقیقات حاکی از آن است که گاستروپودها بطور نسبی سیستم متابولیکی قویتری نشان داده اند. متابولیسم در آنیلیدها و سخت پوستان متغیر بوده اما در دوکفه ای ها میزان متابولیسم BaP ضعیف گزارش شده است. جالب است گونه هایی که می توانند متابولیسم قوی بر روی PAH ها انجام دهند برخی اوقات غلظتهای قابل اندازه گیری از ترکیبات PAH اولیه در آنها مشاهده نمی شود زیرا مقادیر بالای PAH ها می تواند متابولیتهای موتاژنیک تشکیل دهند که سبب بروز اثرات خطرناکی شده و در برخی موارد سمی تر از ترکیب اصلی PAH ها هستند (Meador, 2003).

۳) بررسی نتایج BSAF در مورد PAH های اولویت بندی شده EPA در ایستگاه ماهروزه در شهریور ماه (جدول ۳-۲۸ و نمودار ۳-۲) بشرح زیر است:

جدول ۳-۴ مشخصات PAH هایی که بیشترین تجمع زیستی - رسوبی را در ایستگاه ماهروزه (شهریور ۸۶) داشته اند

PAH	NA	FL	AN	PHEN
BSAF	15.241	12.862	12.576	11.767
Rings	2	3	3	3
log kow	3.37	4.18	4.54	4.57

در اینجا مشاهده می شود هر چه تعداد حلقه های بنزنی کمتر است (نظیر نفتالن) تجمع آنها بیشتر می شود و بر خلاف موارد قبلی بین تجمع زیستی - رسوبی PAH های فوق و log kow نسبت عکس برقرار است.

بنظر می رسد با توجه به موقعیت جغرافیایی ایستگاه ماهروزه (محل تلاقی چند رودخانه و افزایش شدید سیلابها و Run off ها در فصل بارندگی و ورود بیشتر پسابهای آلوده)، افزایش تجمع زیستی - رسوبی PAH های ۲ و ۳ حلقه ای، که قابلیت انحلال بیشتری در آب دارند و طبعاً می توانند همراه با آب آلوده حمل شده و از طریق تخلیه آب وارد بدن دو کفه ای آلودونت شوند و در بافت تجمع یابند، منطقی باشد. همانطور که مشاهده می شود میزان نفتالن (NA) بیشترین تجمع را در این ایستگاه نشان می دهد (جدول ۳-۴) و نفتالن بیشترین قابلیت انحلال در آب (31 mg/l) را هم داراست (جدول ۳-۱).

این مسئله موافق تحقیقات انجام شده بر روی بررسی تجمع زیستی - رسوبی ماهیان تالاب Mai Po در هونگ کونگ است که در فصل بارندگی با افزایش بارش و افزایش آب ورودی رودخانه Pearl بواسطه Run off ها، میزان ورود PAH به بدن ماهیان بیشتر شده و در نهایت تجمع زیستی بیشتری مشاهده می شود (Liang et al, 2007).

۴) همچنین با توجه به جدول ۳-۳ و نمودار ۳-۴ و بررسی نتایج BSAF در مورد PAH های اولویت بندی شده EPA در ایستگاه سلکه در شهریور ماه، مشخص می شود که بیشترین تجمع زیستی - رسوبی در این ایستگاه بشرح زیر است:

جدول ۴-۴ مشخصات PAH هایی که بیشترین تجمع زیستی - رسوبی را در ایستگاه سلکه (شهریور ۸۶) داشته اند

PAH	AN	PHEN	FL	NA
BSAF	70.581	44.167	28.943	21.137
Rings	3	3	3	2
log kow	4.54	4.57	4.18	3.37
MW	216	101	116	80

در این ایستگاه هم صرفنظر از فنانترن مشاهده می شود که نسبت مستقیمی بین مقادیر تجمع زیستی - رسوبی و log kow برقرار است و با افزایش log kow، مقادیر تجمع زیستی هم افزایش می یابد که با توجه به توضیحات قبلی قابل انتظار است. از سوی دیگر بنظر می رسد با افزایش جرم ملکولی (MW) احتمال متابولیسم و شرکت در واکنشهای شیمیایی در بدن دوکفه ای کاهش یافته و در نتیجه با توجه به خاصیت لیپوفیلی این ترکیبات تجمع زیستی بیشتر، قابل انتظار است.

اما تجمع زیستی - رسوبی فنانترن (PHEN) بسیار بالاست و بنظر میرسد این امر به ورود بیش از حد این ترکیب مرتبط است. در واقع می توان احتمال داد که افزایش غلظت ترکیبات ۲-۳ حلقه ای نظیر فنانترن می تواند حاکی از ورود زیاد این ترکیب توسط یک منبع پتروژنیک باشد (Dahle et al, 2003).

۵) در ایستگاه Cage با توجه به جدول ۳-۳۱ و نمودار ۳-۵ مشخص می شود که بیشترین تجمع زیستی PAH ها بشرح زیر است:

جدول ۴-۵ مشخصات PAH هایی که بیشترین تجمع زیستی - رسوبی را در ایستگاه

Cage (بعد از گذشت زمان ۲۸ روز) داشته اند

PAH	NA	FL	ACP
BSAF	25.205	6.666	5.276
Rings	2	3	3
log kow	3.37	4.18	3.92
S	31	1.9	3.8

مشاهده می شود که تجمع زیستی - رسوبی نفتالن (NA) چندین برابر دو ترکیب دیگر یعنی فلورن (FL) و اسنفتن (ACP) است که این امر می تواند ناشی از log kow و خاصیت انحلال (S) بالاتر آن نسبت به دو ترکیب دیگر باشد.

اما نکته قابل توجه در اینجا این است که هر سه ترکیب بین ۲-۳ حلقه بنزنی دارند و بنابراین احتمال داده می شود که منابع پتروژنیک در ورود آنها دخیل بوده باشند (Dahle et al, 2003) و از آنجاییکه این ایستگاه محل سوختگیری قایق ها بوده این امر منطقی بنظر می رسد. در ضمن همانطور که مشاهده می شود نفتالن در تمامی ایستگاههای مورد بررسی تجمع بالای را نشان می دهد و این امر موافق با تحقیقات (Dahle et al, 2003) است.

۶-۴ بررسی میزان نیکل و وانادیوم در نمونه های رسوبات و آنودونت تالاب انزلی

با توجه به اهداف شماره ۴ و ۵ در بخش ۴-۱، مقادیر نیکل و وانادیوم در رسوبات و آنودونتهای ایستگاههای ماهروزه، سلکه و Cage تعیین گردید (بخش ۳-۵ تا ۳-۶) که در به بحث و بررسی این نتایج پرداخته خواهد شد.

الف) در رسوبات

در تحقیق حاضر میانگین مقادیر نیکل در رسوبات ایستگاه ماهروزه $0.058-19/00 \mu\text{g/g dw}$ و در رسوبات ایستگاه سلکه $0.084-10/01 \mu\text{g/g dw}$ و در رسوبات ایستگاه Cage 28 ، $0.45 \mu\text{g/g dw}$ گزارش می شود.

تحقیقات انجام شده در سواحل کالیفرنیا، غلظت نیکل در رسوبات این سواحل $12/4-79/6 \mu\text{g/g dw}$ و میزان وانادیوم را $17/4-147 \mu\text{g/g dw}$ گزارش کرده است (California Coastal Commission-The Research Agency, 2001). همچنین غلظت نیکل در رسوبات

خلیج Paria در ونزوئلا $4/7-24/1 \mu\text{g/g dw}$ اعلام شده است (Rojas de Astudillo et al, 2005).

با توجه به موارد فوق و از آنجاییکه در نیکل $ERL=20/9$ و $ERM=51/6$ است^۱ (NOAA) مشاهده می شود که مقادیر نیکل در تالاب انزلی نسبتا پایین تر از موارد مشابه در سواحل کالیفرنیا و خلیج Paria ونزوئلا است و خوشبختانه حتی در محدوده ERL هم قرار نمی گیرد.

میانگین مقادیر وانادیوم در تحقیق حاضر در رسوبات ایستگاه ماهروزه $2/397-251/85 \mu\text{g/g dw}$ و در رسوبات ایستگاه سلکه $2/21-298/43 \mu\text{g/g dw}$ و در رسوبات ایستگاه Cage 28 ، $1/92 \mu\text{g/g dw}$ می باشد که بسیار کمتر از مناطقی نظیر سواحل کالیفرنیاست و از آنجاییکه ERL و ERM برای وانادیوم تعریف نشده نمی توان در این خصوص قضاوت کرد.

^۱ - US National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA)

ب) در دوکفه ای ها

با توجه به تحقیقات انجام شده در در اویسترهای گونه *Crassostrea brasiliana* در آبهای ریودوژانیرو میانگین غلظت نیکل $1 \mu\text{g/g dw}$ (Gomez et al 1991) و میانگین غلظت نیکل در اویستر *Crassostrea iridescens*، در آبهای مکزیک $2/1 \mu\text{g/g dw}$ گزارش شده است (Paez- Osuna et al, 1995).

همچنین در اویسترهای گونه *Ostrea iridescens* در آبهای السالوادور میانگین غلظت نیکل $6 \mu\text{g/g dw}$ اعلام شده است (Michel & Zengel, 1998).

در گونه های مختلف اویستر در خلیج Paria در شمال ونزوئلا، در اویستر *Crassostrea rhizophorae* میانگین مقادیر نیکل در ایستگاههای مورد بررسی کمتر از $0/01$ تا $0/03 \mu\text{g/g (wet. wt)}$ و در گونه *C. virginica* میانگین غلظت نیکل بین $0/16 \mu\text{g/g (wet. wt)}$ - $0/04$ و در ماسل های سبز *(Perna viridis)* در جزیره Trinidad ونزوئلا، مقادیر نیکل از کمتر از $0/01$ تا $1/4 \mu\text{g/g (wet. wt)}$ گزارش شده است (Rojas de Astudillo et al, 2005).

در تحقیق حاضر میانگین مقادیر نیکل در بافت آنودونتهای ایستگاه ماهروزه $0/29 \mu\text{g/g dw}$ - $0/03$ و در بافت آنودونتهای سلکه $0/09 \mu\text{g/g dw}$ - $0/03$ و در بافت آنودونتهای ایستگاه Cage، $0/32 \mu\text{g/g dw}$ می باشد. بنابراین مشاهده می شود که میزان نیکل در آنودونتهای ایستگاههای ماهروزه، سلکه و Cage در حدود مقادیر این عنصر در خلیج Paria بوده و از نیکل گزارش شده در دوکفه ای های آبهای کشورهای برزیل (ریودوژانیرو)، مکزیک و السالوادور کمتر است.

در تحقیق حاضر میانگین مقادیر وانادیوم هم در بافت آنودونتهای ایستگاه ماهروزه $0/2 \mu\text{g/g dw}$ و در بافت آنودونتهای سلکه $0/19 \mu\text{g/g dw}$ - $0/06$ و در بافت آنودونتهای ایستگاه Cage، $0/25 \mu\text{g/g dw}$ گزارش می شود اما لازم به ذکر است که در مورد مقادیر وانادیوم در دوکفه ای ها گزارشی یافت نشد.

همچنین با بررسی بیشتر نتایج بدست آمده در بافت آنودونتها مشاهده می شود که:

۱) با بررسی جداول ۳-۳۲ و نمودار ۳-۶ بطور کلی مقادیر نیکل ($0.0524 - 1.3351 \mu\text{g/g}$) و وانادیوم ($0.2827 \mu\text{g/g}$ - ND^۲) در بافت آنودونتهای ایستگاه ماهروزه در خرداد ماه پایین است. اما در دوکفه ای شماره ۳ میزان نیکل یکباره افزایش نشان می دهد.

^۱ - وزن تر

^۲ - Not Detect (تشخیص داده نشد)

۲) در بررسی بافت آنودونتهای سلکه در خرداد ماه (جدول شماره ۳-۳۴ و نمودار ۳-۸) همچنان میزان نیکل ($0.0367 - 3676 \mu\text{g/g}$) و وانادیوم ($\text{ND} - 2.2211 \mu\text{g/g}$) در حد $\mu\text{g/g}$ بوده و مقادیر پایین مشاهده می شود. علاوه بر آن در دوکفه ای شماره ۳ این ایستگاه هم در مورد وانادیوم افزایش دیده می شود. با توجه به افزایش میزان نیکل در دوکفه ایهای شماره ۳ (بند ۱ فوق) و افزایش میزان وانادیوم در دوکفه ای شماره ۳ (بند ۲ فوق) احتمال داده می شود عواملی نظیر اندازه، سن و جنسیت دوکفه ای در این خصوص موثر باشند. در مورد آبزبان دیگر مثلا ماهیان آب شیرین، همبستگی مستقیمی بین مقدار نیکل و اندازه (طول) ماهی گزارش شده است (Coetzee et al, 2002) و احتمال داده می شود این رابطه در مورد مقادیر نیکل در سایر آبزبان نظیر دوکفه ای ها هم برقرار باشد.

همچنین طی تحقیقات انجام شده مشخص گردیده که تجمع فلزات واسطه ای مانند مس، در جنس نر و سنین پایین تر (juveniles) گونه ای از میگوها بیشتر از سایرین است (Frent & Alliot, 1985). گزارشاتی هم مبنی بر تاثیر جنسیت در تجمع برخی فلزات دیگر گروه واسطه (مانند روی) در میگوها وجود دارد (Paez - Osuna & Tron - Mayen, 1995). گرچه پژوهش در مورد عوامل موثر بر تجمع و جذب فلزات سنگین در مورد آبزبان نتایج مختلفی ارائه داده و همچنان ادامه دارد ولی احتمال تاثیر این عوامل در جذب فلزات توسط دوکفه ای ها هم می تواند مطرح شود که البته نیاز به تحقیقات بیشتری را طلب می کند.

۳) بررسی جدول ۳-۳۸ و نمودار ۳-۱۲ نشان می دهد در آنودونتهای ایستگاه سلکه در شهریور ماه (مشابه خرداد) مقادیر نیکل و وانادیوم نزدیک بهم و پایین بوده و تنها در مورد دوکفه ای شماره ۵، میزان وانادیوم افزایش نشان می دهد و همانطور که در موارد فوق اشاره شد احتمالا عواملی نظیر سن، اندازه و جنسیت دوکفه ای می توانند در این خصوص موثر باشند.

۴-۷ بررسی نتایج آماری مقادیر نیکل و وانادیوم

همچنین با بررسی بیشتر در نتایج بدست آمده و آنالیزهای آماری انجام شده با استفاده از تست Mann- whitney u (بخشهای ۳-۷-۱ تا ۳-۷-۱-۹ و جداول ۳-۴۴ و ۳-۴۵) مشخص می شود که:

۱) با توجه به جدول ۳-۴۴ (مقایسه موارد ۳ و ۷) حاکی از اختلاف معنی دار مقادیر نیکل بین بافت آنودونتها و رسوبات ماهروزه در خرداد ماه است ($P = 0.017$). مشابه همین وضعیت در مورد مقادیر نیکل در آنودونتها و رسوبات سلکه در خرداد ماه وجود دارد (جدول ۳-۴۴، مقایسه موارد ۱ و ۵) یعنی اختلاف معنی داری بین مقادیر نیکل در رسوبات و بافت آنودونتهای سلکه مشاهده می شود ($P = 0.024$).

۲) نتایج آنالیزهای آماری (جداول ۳-۴۴، مقایسه موارد ۴ و ۸) اختلاف معنی داری را برای نیکل بین بافت دوکفه ای و رسوبات ماهروزه در شهریور ماه نشان می دهد ($P=0.017$). مشابه همین وضعیت برای نیکل در بافت آنودونت و رسوبات سلکه در شهریورماه وجود دارد (جداول ۳-۴۴، مقایسه موارد ۲ و ۶) و اختلاف معنی داری مشاهده می شود ($P=0.017$).

در موارد فوق مشاهده می شود که میزان نیکل در رسوبات بیشتر از بافت دوکفه ای است و این امر موافق با تحقیقات انجام شده بر روی رسوبات و دو کفه ای های خلیج Paria در شمال ونزوئلا است (Rojas de Astudillo et al, 2005) که این مسئله با توجه به جرم بالای فلزات سنگین نظیر نیکل قابل انتظار است.

۳) با توجه به جدول ۳-۴۴ (موارد ۷ و ۸) مشاهده می شود که بین مقادیر نیکل در آنودونتهای ایستگاه ماهروزه در خرداد و شهریور ماه اختلاف معنی داری وجود دارد ($P=0.001$) همچنین با توجه به جدول ۳-۴۴ (موارد ۵ و ۶) مشاهده می شود بین مقادیر نیکل در آنودونتهای ایستگاه سلکه هم در خرداد و شهریور ماه اختلاف معنی داری وجود دارد ($P=0.051$) یعنی تغییرات فصلی در مورد ورود میزان نیکل در بافت آنودونت موثر بوده است و این امر موافق با تحقیقات انجام شده بر روی مقادیر نیکل در اویسترهای (*Ostrea equestris*) سواحل ریودوژانیرو در برزیل است (Ferreira et al, 2003).

اما نکته جالب این است که در تحقیق Ferreira، در فصل بارندگی میزان فلزات در بافت دو کفه ای افزایش یافته است، اما در تحقیق حاضر گرچه اختلاف معنی دار بین مقادیر فلز نیکل در مقایسه دو فصل گرم و خشک، و فصل بارندگی مشابه تحقیق مذکور وجود دارد و تغییرات فصلی مشاهده می شود اما در فصل بارندگی یعنی شهریور ماه مقدار نیکل (و البته وانادیوم) در بافت دو کفه ای بشدت کاهش نشان میدهد که بنظر می رسد دسترسی بیشتر به فلز از طریق رسوبات هم برای این دوکفه ای های فیلترکننده تاثیر گذار است. به این معنی که با دقت در میزان نیکل (و البته وانادیوم) در رسوبات خرداد و شهریور ماه (جدول ۳-۳۷ و ۳-۳۹) مشخص می شود که میزان نیکل و وانادیوم در رسوبات ایستگاههای ماهروزه و سلکه در شهریور (نسبت به خرداد ماه) بشدت کاهش یافته است. بنابراین میتوان انتظار داشت که به دلیل کاهش فلزات در ذرات رسوب در شهریور و کاهش ورود آنها (از طریق فیلتراسیون) مقدار آنها در بدن دوکفه ای هم کمتر باشد. با توجه به بارندگی و سیلابهای شدید مشاهده شده در شهریور ماه در تالاب انزلی، بنظر می رسد رسوبات جدید حمل شده همراه با سیلابها، بر روی رسوبات قدیمی تر قرار گرفته شده و چون از رسوبات سطحی نمونه برداری صورت گرفته است طبعاً این امر در میزان این فلزات که به مرور در رسوبات تجمع یافته اند موثر بوده باشد. ضمن اینکه احتمال شسته شدن ترکیبات حاوی فلزات با توجه به افزایش بارندگی در شهریور ماه هم وجود دارد.

از سوی دیگر تغییرات فصلی و تغییر غلظت فلزات در دوکفه ای *Pecten maximus* با میزان تولید اولیه پلانکتونی مرتبط دانسته شده است (Bryan, 1993) و علاوه بر آن محققین معتقدند که با افزایش تولید پلانکتونی در محیط، یک افزایش تغذیه ای هم در دوکفه ای صورت می گیرد و به دنبال آن افزایش غلظت فلزات در بدن جانور مشاهده می گردد (Oliver et al, 2002)، بنابراین افزایش میزان فلزات مورد بررسی در اواخر خرداد ماه (فصل گرم و خشک) در بدن آنودونت در تحقیق حاضر را می توان ناشی از افزایش میزان تولید پلانکتونی بیشتر در این فصل دانست و این امر با نظر Oliver موافق است.

همچنین تغییرات معنی دار مقادیر نیکل در بافت دوکفه ای در فصول مختلف می تواند وابسته به تغییرات فیزیوشیمیایی محیط و نرخ تغذیه جانور باشد (Haynes & Toohey, 1998) که البته نیاز به تحقیق بیشتر دارد.

۴) با مقایسه موارد ۳ و ۷ در جدول ۳-۴ مشاهده می شود که بین مقادیر وانادیوم در آنودونتها و رسوبات ایستگاه ماهروزه در خرداد ماه اختلاف معنی داری وجود دارد ($P = 0.057$) در حالیکه این وضعیت برای ایستگاه سلکه مشاهده نشده (موارد ۱ و ۵ در جدول ۳-۴) و اختلاف معنی داری هم وجود ندارد ($P = 0.2$). با توجه به جدول ۳-۴ (مقایسه موارد ۴ و ۸) نشان می دهد که اختلاف معنی داری برای وانادیوم بین بافت دوکفه ای و رسوبات ماهروزه در شهریور ماه دیده می شود ($P = 0.017$). با مقایسه موارد ۲ و ۶ در جدول ۳-۴ اختلاف معنی داری برای وانادیوم بین بافت دوکفه ای و رسوبات سلکه هم در شهریور ماه وجود دارد ($P = 0.017$).

با توجه به موارد فوق مشاهده می شود که مقادیر فلزات سنگین نیکل و وانادیوم در رسوبات بیشتر از بافت دو کفه ای است (نمودارهای ۳-۶ و ۳-۷، ۳-۸ و ۳-۹، ۳-۱۰ و ۳-۱۱، ۳-۱۲ و ۳-۱۳ هم حاکی از همین موضوع هستند).

بنظر می رسد این امر به دلایل زیر باشد: اولاً نیکل و وانادیوم جزو عناصر سنگین محسوب شده و دارای جرم بالایی هستند و بنابراین تمایل دارند در رسوبات قرار گیرند و به همین دلیل مقدار آنها در رسوب افزایش نشان می دهد. ثانیاً با توجه به نوع فعالیت شیمیایی این عناصر و تحقیقات انجام شده، بطور کلی در رسوبات گلی/رسی/لجنی با محتوای بالایی از مقادیر آلی (نظیر رسوبات تالاب انزلی) آلاینده ها تمایل بیشتری نسبت به سایر رسوبات داشته و می توانند در این رسوبات قرار گرفته و باقی بمانند (Demora et al, 2002).

۵) با توجه به موقعیت جغرافیایی ماهروزه انتظار می رود مقدار وانادیوم و نیکل در بافت آنودونتهایی که از ایستگاه ماهروزه در فصل بارندگی (شهریور ماه) نمونه برداری شده اند بیشتر از سلکه باشد. آنالیزهای آماری (جدول ۳-۴، مقایسه موارد ۶ و ۸) اختلاف معنی داری را بین وانادیوم آنودونتهای ماهروزه و سلکه

در شهریور ماه نشان می دهد ($P = 0.007$) که تایید کننده این امر است. اما با توجه به جدول ۳-۴۴ (مقایسه موارد ۶ و ۸) در مورد نیکل این اختلاف وجود ندارد ($P = 0.318$).

بنظر می رسد این افزایش مقدار وانادیوم به دلیل موقعیت جغرافیایی ماهروزه باشد، از آنجاییکه ایستگاه ماهروزه محل تلاقی چند رودخانه است و در شهریور ماه (فصل بارندگی) سیلابهای شدید و Run off هایی که حاوی پسابهای آلوده هستند به این نقطه وارد می شوند، این امر موجب افزایش غلظت آلاینده ها در شهریور ماه (فصل بارندگی) نسبت به خرداد ماه است و چون این افزایش غلظت در مورد وانادیوم در شهریور ماه به چشم می خورد بنابراین پسابهایی آلوده ای که به همراه سیلابها و بارندگی به ماهروزه می ریزند احتمالاً بیشتر به صنایعی مرتبط هستند که حاوی وانادیوم می باشند. (تنها برای نمونه می توان اشاره ای به رودخانه زرچوب نمود که یکی از آلوده ترین رودخانه های کشور است و از رودهای منتهی به تالاب انزلی می باشد. فقط همین رودخانه در مسیر حرکت پذیرای فاضلاب ۱۰ بیمارستان، ۵۲ گرمابه و تعداد ۳۸ واحد صنعتی و کارخانه های متعدد و پسابهای اراضی کشاورزی است، تعداد ۶ شهر، ۵ بخش و ۱۸ دهستان و بیش از ۳۰۰ روستا در حوزه این رودخانه وجود دارد. بخشی از فاضلاب صنعتی کارخانه های حوزه و تمامی فاضلابهای شهری و روستایی بدون تصفیه به رودخانه تخلیه و باعث آلودگی شدید این رودخانه می شود که تلفات مرگ و میر وسیع آبزیان رودخانه و تالاب انزلی را در مقاطع بحرانی باعث می شود (<http://www.fishing.ir/farsi>).

۶) با توجه به جدول ۳-۴۴ (مقایسه موارد ۱ و ۲، ۳ و ۴) مشاهده می شود که اختلاف معنی داری بین مقادیر نیکل در رسوبات ماههای خرداد و شهریور در ایستگاه ماهروزه ($P=1$) و رسوبات ماههای خرداد و شهریور در ایستگاه سلکه ($P=1$) وجود ندارد و این امر موافق با تحقیقات (Hornberger et al, 2000) در خلیج سانفرانسیسکو است. بنظر میرسد این مسئله (یعنی اینکه مقادیر نیکل و وانادیوم به تغییرات زمانی وابسته نیستند)، حاکی از این باشد که این مقادیر به عوامل دیگری مثل خصوصیت و شرایط محیطی اطراف محل نمونه برداری و ورود آب و شرایط آبی مرتبط باشد (Hornberger et al, 2000) که نیاز به تحقیقات بیشتری دارد.

۷) نکته بعدی این که تقریباً در تمامی رسوبات ایستگاههای ماهروزه و سلکه و Cage مقدار وانادیوم در هر دو فصل نمونه برداری، بمراتب بیشتر از نیکل است (جداول ۳-۳۳، ۳-۳۵، ۳-۳۷، ۳-۳۹، ۳-۴۱، ۳-۴۲ و نمودارهای ۳-۷ و ۳-۹ و ۳-۱۱ و ۳-۱۳).

بنظر می رسد یکی از دلایل عمده افزایش چشمگیر وانادیوم نسبت به نیکل در رسوبات علاوه بر احتمال ورود بیشتر این عنصر به تالاب به فعالیت شیمیایی این عنصر مرتبط باشد.

نیکل از نظر شیمیایی از وانادیوم فعالتر بوده و تنها دارای ظرفیت II می باشد ولی وانادیوم دارای چندین ظرفیت می باشد و برای شرکت در واکنش های شیمیایی و محیطی برای هر ظرفیت به شرایط ویژه ای نیاز دارد، در مقابل وانادیوم می تواند سریعاً اکسید شده و پس از آن بخوبی در رسوبات ماندگار می شود. از سوی دیگر احتمال داده می شود نوع ترکیبات شیمیایی موجود در رسوبات هم در جذب فلزات موثر باشد، بعنوان مثال تحقیقات انجام شده نشان می دهد که وجود مقادیر بالای کربنات کلسیم در رسوبات در افزایش جذب برخی فلزات نظیر کادمیوم موثر است (Balestrieri et al, 2004) و قطعاً تحقیقات بیشتری در این خصوص باید صورت پذیرد.

۸) با بررسی جداول ۴۰-۳ و ۴۲-۳ و نمودارهای ۱۴-۳ و ۱۵-۳ در ایستگاه Cage، میزان وانادیوم هم در بافت آنودونت و هم در رسوبات این ایستگاه بیشتر از نیکل می باشد. از آنجائیکه این ایستگاه نزدیک محل سوختگیری قایق ها بوده، انتظار می رفت که آلودگی ترکیبات نفتی در این ایستگاه بیشتر باشد و بنظر می رسد این میزان افزایش وانادیوم تنها بواسطه افزایش آلودگی ترکیبات نفتی باشد. ضمن اینکه موقعیت مکانی این ایستگاه فاقد جریانهای شدید آبی و انتقال از سایر نقاط آلوده بوده و سکون موجود در آن به افزایش غلظت این آلاینده ها در رسوبات کمک می کند. یاد آوری می کند از آنجائیکه نتایج بدست آمده در مورد میزان PAH ها (آلاینده های نفتی) در رسوبات ایستگاه Cage هم بیشتر از سایر ایستگاههای مورد بررسی بوده است بنظر می رسد باید منبع مشترکی مثل سوخت قایقهای شیلات و ماهیگیری در روند افزایش هر دو آلاینده دخیل باشد و این امر موافق با تحقیقات Paez-Osuna است که افزایش بین غلظت برخی فلزات و افزایش PAHها را در اویسترهای تعدادی از ایستگاهها در خلیج مکزیک گزارش کرده است و پیشنهاد نموده که وجود یک منبع مشترک در این خصوص می تواند دخیل باشد (Paez-Osuna et al, 2002).

۹) بر طبق آنالیزهای آماری اختلاف معنی داری در مورد نیکل و وانادیوم بین بافت آنودونتهای ایستگاههای ماهروزه و سلکه در مقایسه با بافت آنودونتهای ایستگاه Cage مشاهده نمی شود (در مورد نیکل $P = 0.139$) و (در مورد وانادیوم $P = 0.145$) که به نظر میرسد جهت رفتارهای شیمیایی مناسب این دو فلز و تجمع آنها در بافت دو کفه ای، عامل زمان در این خصوص موثر است که با توجه به زمان محدود ۲۸ روز در ایستگاه Cage این شرایط فراهم نشده است.

۱۰) آنالیزهای آماری اختلاف معنی داری را در مورد نیکل بین رسوبات ایستگاههای ماهروزه و سلکه در مقایسه با رسوبات ایستگاه Cage نشان می دهد ($P = 0.012$) ولی در مورد وانادیوم این اختلاف معنی دار مشاهده نمی شود ($P = 0.088$).

در مورد نیکل این امر می تواند به دو دلیل باشد (اولا) با توجه به مقادیر PAH های بدست آمده در رسوبات ایستگاه Cage در تحقیق حاضر، رسوبات این ایستگاه آلوده به ترکیبات نفتی است و مقادیر نیکل و وانادیوم می تواند بواسطه آلودگی ترکیبات نفتی در این ایستگاه نسبت به رسوبات دو ایستگاه دیگر بالا باشد و اختلاف معنی داری را ایجاد کند که این امر برای نیکل صادق است، ثانیا) با توجه به خواص شیمیایی نیکل (که در بالا به آن اشاره شد) مقدار این فلز در رسوبات ایستگاههای ماهروزه و سلکه نسبت به ایستگاه Cage پایین بوده و در نتیجه اختلاف معنی داری بین این ایستگاهها در مورد نیکل مشاهده می شود.

اما با توجه به اینکه وانادیوم در ایستگاههای دیگر هم دارای مقادیر بالایی است (همانطور که قبلا اشاره شد، احتمال داده می شود پسابهای صنعتی ورودی شهرها و کارگاههای اطراف که از طریق رودخانه های مجاور به تالاب می ریزند دارای مقادیر بالاتری از آلاینده وانادیوم باشند) در نتیجه در خصوص وانادیوم اختلاف معنی داری بین رسوبات ایستگاههای ماهروزه و سلکه با ایستگاه Cage مشاهده نمی شود.

۴-۸ بررسی فاکتور تجمع زیستی - رسوبی نیکل و وانادیوم

نتایج ارائه شده در بخش ۳-۶ حاکی از آن است که عملا تجمع زیستی - رسوبی قابل ملاحظه ای در مورد نیکل و وانادیوم مشاهده نشده و در تمامی موارد و ایستگاهها اعداد کمتر از یک گزارش شده است. این مسئله می تواند ناشی از این امر باشد که بر خلاف PAHها، ترکیبات نیکل و وانادیوم معمولا لیپوفیل نبوده و نمی توانند براحتی در بافت های آنودونت تجمع یابند.

اما با بررسی بیشتر نتایج طرح حاضر، در مجموع تجمع نیکل در بافت آنودونت بیشتر از وانادیوم می باشد (بخش ۳-۶) و این مسئله می تواند تاییدی بر فرضیه ما باشد مبنی بر این که احتمال تشکیل کمپلکس های نیکل در محیط (رسوب) و ورود راحتتر آنها به بدن موجود وجود دارد. در واقع بطور کلی شعاعهای اتمی و یونی در عناصر واسطه کوچکتر از شعاعهای اتمی و یونی عناصر اصلی همان دوره است زیرا در عناصر واسطه الکترونها به یک زیر لایه درونی (لایه d) اضافه می شوند که در اینجا اثر بار هسته نسبت به اثر آن بر لایه بیرونی بیشتر میشود و این انداز نسبتا کوچک سبب می شود که یونهای عناصر واسطه دانسیته بالایی داشته باشند، این امر بعلاوه فراهم بودن اوربیتالهای d جهت تشکیل پیوند، تمایل بارز اکثر عناصر واسطه را برای تشکیل یونها کمپلکس متعدد و پایدار توجیه می کند (Mortimer, 1975) با توجه به موارد فوق، در مقایسه بین دو فلز واسطه نیکل و وانادیوم، شعاع اتمی نیکل 1.15^0A و شعاع اتمی وانادیوم 1.22^0A است و مشاهده می شود که نیکل دارای شعاع اتمی کمتری بوده و معمولا هم از نظر شیمیایی نیکل کمتر اکسید شده و بیشتر در واکنش های کمپلکس شرکت می کند. از طرف دیگر برای ورود

یک ترکیب فلزی به بدن دوکفه ای بایستی این ترکیبات به فرمهای شیمیایی مناسب درآیند و همانطور که اشاره شد معمولاً نیکل می تواند بصورت ترکیبات کمپلکس در آید که راحتتر قابل جذب در بدن موجودات می باشد و بیشتر تجمع زیستی نشان دهد (و شاید به همین دلیل امکان تجمع بیشتر در بدن موجودات در رده های بالاتری اثرات سرطان زایی آن دیده می شود).

البته باید توجه داشت که مقدار تجمع زیستی یک فلز در بدن موجود، به عوامل مختلف محیطی (نظیر فصل و ...)، عوامل بیولوژیکی و فاکتورهای ژنتیکی هم بستگی دارد (Kotze et al, 1997). علاوه بر آن تجمع زیستی یک آلاینده با دسترسی زیستی آلاینده هم در ارتباط است (Kennish et al, 1992). همچنین میزان تجمع زیستی به تعادل بین جذب و دفع آلاینده در بدن موجود هم وابسته است (Rain bow et al, 1990 & Weimin et al, 1993) ولی ارتباط بین ذرات فلزی با رسوبات و دسترسی زیستی بیولوژیکی آنها در دوکفه ای ها هنوز کاملاً شناخته شده نیست و دیده شده عواملی مثل محتوای آلی ذرات رسوبی و اسیدهای گوارشی در میزان جذب فلزات در ماسل ها، موثر بوده است (Gagnon & Fisher 1997, Guppy 2001). در مجموع اطلاعات و تحقیقات کمی در مورد بزرگنمایی و تجمع زیستی نیکل و وانادیوم در محیط های آبی وجود دارد ولی در بعضی مواقع دسترسی زیستی نیکل در رسوبات تحت تاثیر کلسیم و منیزیم در محیط آبی است (Di Toro et al, 1990). همچنین گزارش شده که تجمع زیستی نیکل در رسوبات وابسته و تحت کنترل سولفیدهای فرار اسیدی است (Krantzberg et al, 1992 & Nriagu et al, 1980) که می تواند مبنایی برای تحقیقات بعدی در تالاب انزلی باشد.

اما در ایستگاه Cage تجمع زیستی وانادیوم بیشتر می شود که می تواند همانطور که قبلاً هم اشاره شد ناشی از ورود بیشتر آن بواسطه آلودگی ترکیبات نفتی و وجود شرایط سکون و ثابت در این ایستگاه باشد، از سوی دیگر از آنجاییکه وانادیوم می تواند سریعتر از نیکل اکسید شده و در رسوب ماندگاری یابد بنابراین مقدار آن در رسوبات این ایستگاه بیشتر شده و سپس طی فیلتراسیون همراه با ذرات معلق رسوبی وارد بدن دوکفه ای می شود و از طرف دیگر چون وانادیوم نمی تواند بخوبی متابولیت شود بنابراین در کوتاه مدت هم (۲۸ روز دوره Cage) مقادیر آن در بدن بافت دوکفه ای این ایستگاه هم بالا رفته است.

۹-۴ بررسی نتایج آزمایشات (NRR) Neutral Red Retention Assay

یکی از مهمترین اهداف تحقیق حاضر تعیین پایداری غشایی همولنف سلولهای آنودونت (هدف شماره ۷ در بخش ۴-۱) در برابر آلاینده هایی نظیر هیدروکربنهای چند حلقه ای آروماتیک (PAH) و فلزات سنگینی نظیر نیکل (Ni) و وانادیوم (V) بوده است. با توجه به روش کار (Lowe 1994) سلولهای همولنف

آنودونتها مورد بررسی قرار گرفت (یادآوری می نماید در سال ۲۰۰۷ طی مکاتبه ای با ایشان آخرین پروتکل این روش اخذ گردید).

با توجه به نتایج ارائه شده در فصل ۳-۱ و جداول شماره ۳-۱ تا ۳-۵ مشاهده می شود که کلیه عوارض مورد انتظار نظیر از دست دادن رنگ سلولها، تجمع سلولی، تورم سلولی و... که در فصل دوم (بخش ۲-۲-۱) به آنها اشاره شد در زمانهای کمتر از ۱۸۰ دقیقه بروز می کند.

در واقع اساس کار و فرضیه اصلی ما به این صورت بوده که طبق پروتکل Lowe و روش NRR اگر سلولهای رنگ آمیزی شده همولنف آنودونت در فواصل زمانی مشخص و در کمتر از ۱۸۰ دقیقه عوارض مورد نظر را نشان دهند (یعنی در برابر آلودگی واکنش مناسب را نشان دهند) می توانند بعنوان یک بیو اندیکاتور^۱ برای آلاینده مورد نظر برای اولین بار معرفی شوند.

تصاویر شماره ۳-۵ تا ۳-۱۸ بخوبی نشان می دهند که کلیه آنودونتها در ایستگاههای مورد بررسی، عوارض مذکور را نشان داده اند و بخصوص در ایستگاه آلوده Cage این عوارض و پاسخ سلولهای همولنف نسبت به آلودگی شدیدتر و در مدت زمان کوتاهتری بروز کرده است. بعنوان مثال در عکسهای شماره ۳-۱۶ تا ۳-۱۸ بخوبی نمونه هایی از بروز پاسخهای سلولی (تشکیل تجمع های پراکنده سلولی و از دست دادن رنگ آنها) در برابر آلودگی PAH ها مشاهده می شود.

۴-۹-۱ بررسی ارتباط بین مقادیر PAH و نتایج آزمایشات NRR

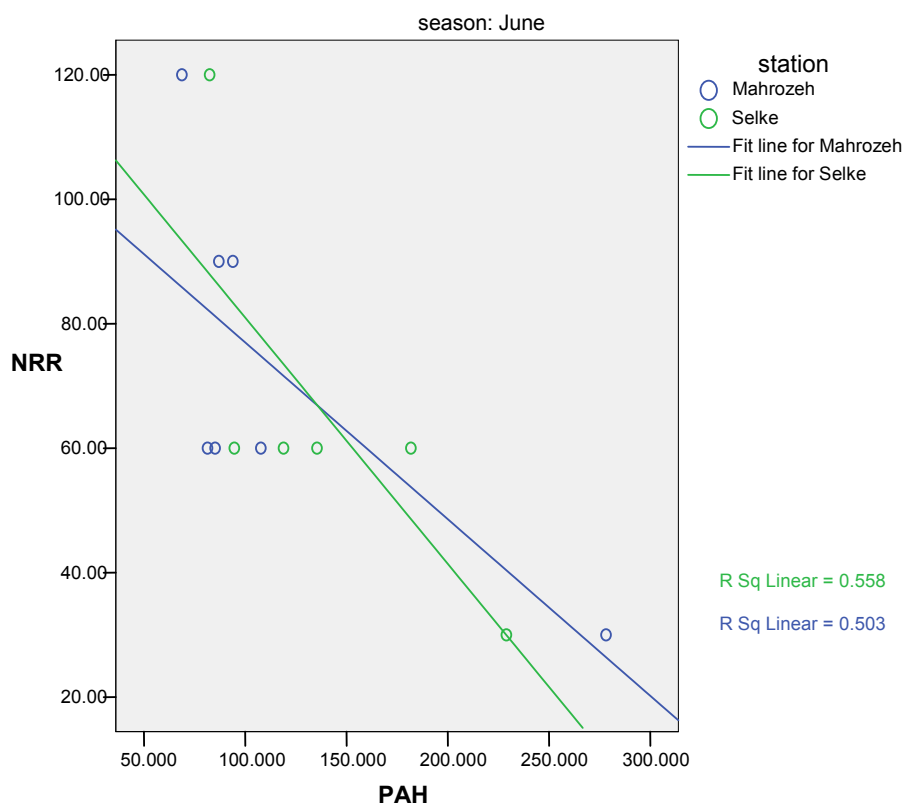
با توجه به هدف شماره ۸ در بخش ۴-۱، پس از تعیین غلظت PAH ها در نمونه های آنودونت از یکسو و همچنین انجام آزمایشات NRR از سوی دیگر، با استفاده از نرم افزار SPSS و ضریب Pearson (Lafabrie et al, 2007) همبستگی بین مقادیر PAH ها در آنودونتهای ایستگاههای مختلف و زمان پاسخ دهی سلولهای همولنف در آنودونتها (در آزمایشات NRR) مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۳-۶). نتایج حاکی از آن است که:

همبستگی منفی قوی و معنی داری بین مقدار PAH ها و زمان بروز عوارض در آزمایشات NRR وجود دارد. این همبستگی قوی در تمام فصول نمونه برداری و ایستگاههای مختلف بصورت منفی و معنی دار وجود دارد و حتی همانطور که در جدول فوق الذکر مشهود است بدون در نظر گرفتن فصل و ایستگاه هم این همبستگی منفی و معنی دار مشاهده می شود $r(P) = -0.761(0.005)$

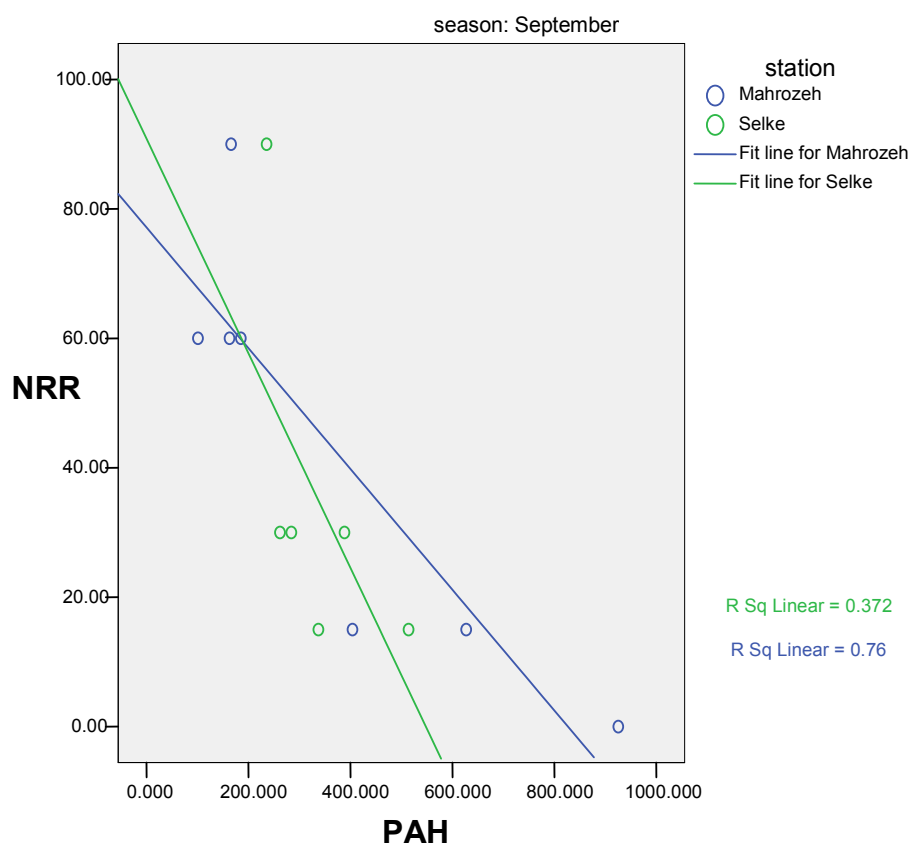
بنابراین بین مقادیر PAH و زمان نشان دادن عوارض در آزمایشات NRR و پاسخ دهی سلولهای همولنف، نسبت معکوس و البته معنی دار وجود دارد، به این معنی که با افزایش غلظت PAH ها در محیط،

^۱ - Bioindicator

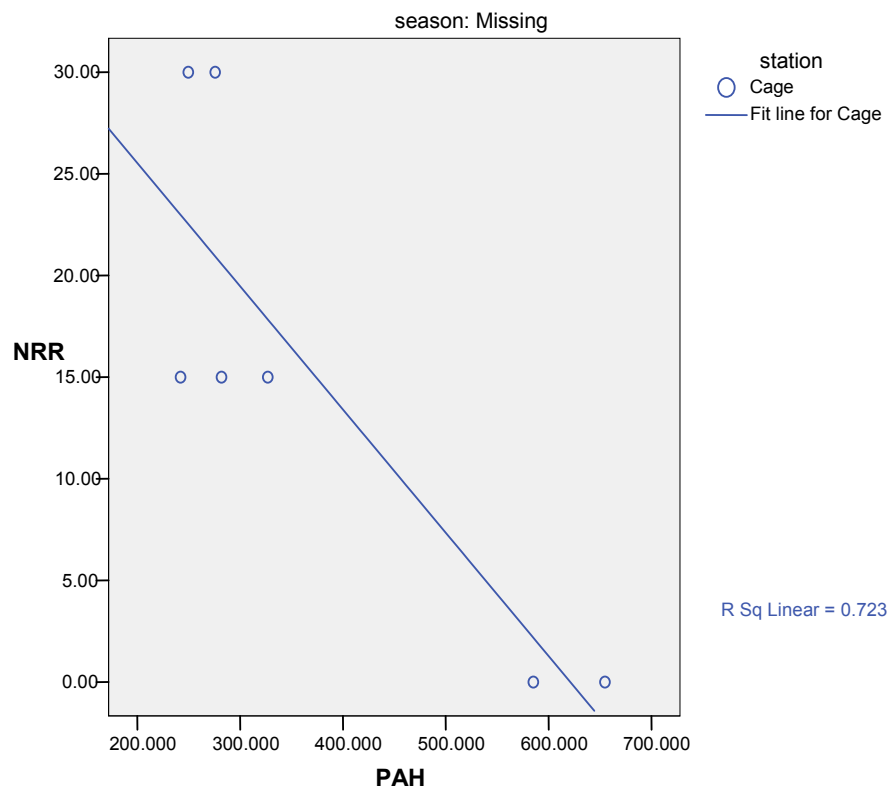
سلولهای همولنف سریعتر و در زمان کوتاهتر عوارض عنوان شده (بخش ۲-۲-۱) را بروز می دهند و این عکس العمل وابسته به فصل (زمان) یا ایستگاه (مکان) خاصی هم نبوده و در تمامی فصول و ایستگاههای نمونه برداری برقرار است (نمودارهای ۴-۱ تا ۴-۳).



نمودار ۴-۱ نمایش همبستگی منفی بین مقادیر PAH و زمان بروز عوارض و پاسخ دهی سلولهای همولنف در روش NRR - ایستگاههای ماهروزه و سلکه (خرداد ۸۶)



نمودار ۴-۲ نمایش همبستگی منفی بین مقادیر PAH و زمان بروز عوارض و پاسخ دهی سلوهای همولنف در روش NRR - ایستگاههای ماهروزه و سلکه (شهریور ۸۶)



نمودار ۳-۴ نمایش همبستگی منفی بین مقادیر PAH و زمان بروز عوارض
 و پاسخ دهی سلولهای همولنف در روش NRR - ایستگاه Cage

بنظر می رسد PAH ها می توانند همراه با آب و ذرات معلق رسوبی موجود در آب (با توجه به نوع تغذیه و Filter feeder بودن آنودونتها) وارد بدن آنودونت و همولنف آنها شده و چون ترکیباتی آلی و لیپوفیل هستند بر روی غشا لیپو پروتئینی سلولها تاثیر گذاشته، با آنها وارد واکنش شده و در نتیجه سبب تخریب غشا می گردند و به دنبال آن عکس العمل هایی را بصورت عوارض مذکور (نظیر تخریب غشا، از دست دادن رنگ و...) نشان می دهند. در نتیجه هرچه غلظت PAH ها بالاتر باشد انتظار می رود سبب شوند تا سلول سریعتر تخریب شده و عوارض مذکور را بروز دهد. نمودارهای ۴-۱ تا ۴-۳ بخوبی بیانگر این موضوع هستند و نشان می دهند نسبت عکس بین مقادیر PAH و زمان پاسخ دهی سلول در روش NRR برقرار است.

با توجه به موارد فوق (آزمایشات انجام شده و تایید نتایج آماری) ، می توان برای اولین بار صراحتاً سلولهای همولنف آنودونت را بعنوان یک بیومارکر برای PAH ها معرفی نمود و بدین ترتیب در زمان بسیار کوتاهتر و با هزینه بسیار کمتر نسبت به انجام آزمایشات شیمیایی (نظیر GC-Mass و GC) به وجود آلاینده های خطرناک PAH در محیط پی برده و تصمیمات مقتضی و مدیریتی مناسبی برای رفع این آلودگی را اخذ نمود تا محیط زیست و موجودات رده های مختلف از صدمات جبران ناپذیر آنها در امان بماند. (لازم به ذکر است در صورت درست انجام دادن آزمایشات، پس از همولنف گیری می توان آنودونت را مجدداً بطور زنده به محیط زیست برگرداند و بدین ترتیب مانع از تخریب محیط زیست و کاهش جمعیت گونه ای در آن گردید).

نکته حائز اهمیت این است که پاسخ بیولوژیکی سلولهای همولنف آنودونت در غلظتهای پایین PAH ها (در حد ng/g) بوده و این امر بخوبی موید آن است که می توان حتی در صورت ورود مقادیر اندک PAH ها در محیط زیست هم این بیومارکر را برای مونیتورینگ محیط های آبی بکار برد و بر خلاف این ادعا که آنودونت موجودی مزاحم در محیط های آبی تلقی می گردد از آنودونت برای پایش و حفظ محیط زیست آبهای شیرین می توان بهره گرفت.

همچنین قابل توجه است که در خصوص سنجش های زیستی آلاینده ها شاید اولین قدمها از سالهای ۱۹۶۰ برداشته شده اما استفاده از دوکفه ای ها و معرفی آنها بعنوان بیومارکر عملاً از دهه ۹۰ میلادی شکل گرفته است و پروژه حاضر موافق با تحقیقات مشابهی است که در کشورهای مختلف جهان در این خصوص انجام شده و می شود. بعنوان مثال در ۱۹۹۵ تحقیقاتی به منظور بررسی اثر آلاینده های PBC بر روی غشا لیزوزومی *Mytilus galloprovincialis* در آبهای ونیز ایتالیا توسط Fassato و Lowe به منظور بررسی آلودگی PCB, PAH و برخی فلزات صورت گرفت که نتایجی مشابه تحقیق حاضر بدست آمد.

همچنین طی آزمایشات (Fernley, et al (2000) بر روی ماسل های (*Mytilus edulis*) در بریستول نتایج حاکی از جواب دهی مناسب این ماسل ها به ترکیبات نفتی بوده است.

Martins, et al(2005) آزمایشات NRR را بر روی کلامهای *Anomalocardia brasiliiana* در سواحل برزیل (اقیانوس اطلس) انجام داده و اثرات بیولوژیکی و واکنش مناسب کلامهای مذکور را نسبت به آلودگی PAHها (در آزمایشات NRR) گزارش کرده است.

Jeony & Cho(2005) هم در آزمایشگاه تاثیر غلظت های مختلف آلودگی PAH را بر روی اویسترهای سواحل پاسفیک *Carssostrea gigas* بررسی و ثابت کرده است که با افزایش مقادیر PAHها، ناپایداری غشا لیزوز سلولهای همولف شدیدتر می شود.

Francioni et al(2006) در سواحل برزیل بر روی ماسل های *Perna perna* و واکنش آنها در آزمایشات NRR نسبت به آلودگی PAH ها تحقیق نموده که پاسخ دهی بیولوژیکی ماسل های مذکور، در حد مناسب بوده است.

در تحقیق مشابه دیگری هم (Gomes et al (2008) تاثیر PAH ها را در سواحل مدیترانه بر روی ماسلهای *Mytilus edulis* بررسی کرده و در نهایت این ماسل را بعنوان یک اندیکاتور مناسب و موثر برای PAH ها معرفی نموده است.

با توجه به موارد مذکور گرچه بر روی دوکفه ای های دریایی تحقیقات مشابهی صورت گرفته ولی اولاً در ایران بر روی دوکفه ای بعنوان بیومارکر کاری صورت نگرفته و ثانياً تا کنون در دنیا بر روی سلولهای همولف دوکفه ای آنودونت بعنوان یک بیومارکر کار نشده و خوشبختانه با نتایج بدست آمده در این طرح می توان *Anodonta cygnea* (دوکفه ای مردابی و آب شیرین) را برای اولین بار بعنوان یک بیومارکر موثر با پاسخگویی مناسب در برابر آلودگی PAH ها معرفی نمود و از آنجائیکه این دوکفه ای در آبهای شیرین در سطح جهانی پراکنش بالایی دارد نتایج این طرح می تواند بسیار کاربردی باشد.

۴-۹-۲ بررسی ارتباط بین مقادیر نیکل و وانادیوم و نتایج آزمایشات NRR :

با توجه به قسمت دوم هدف شماره ۸ در بخش ۴-۱ این پروژه در ابتدای فصل ۴، ارتباط بین روش NRR و میزان آلاینده های نیکل (Ni) و وانادیوم (V) هم مورد بررسی قرار گرفت.

همانطور که در جدول ۳-۴۷ مشاهده می شود همبستگی بین روش NRR و آلودگی فلزات نیکل و وانادیوم (در ایستگاههای مختلف و در ماههای مختلف نمونه برداری)، با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون همبستگی و ضریب Pearson مورد بررسی قرار گرفته است.

در ایستگاه ماهروزه بین روش NRR و Ni همبستگی معنی داری مشاهده نمی شود $r(P) = 0.31 (0.28)$ یعنی بین افزایش غلظت نیکل و پاسخ دهی بیولوژیکی سلولهای همولنف آنودونت به این آلاینده رابطه مشخص و معنی داری دیده نمی شود. همچنین بین روش NRR و V هم همبستگی معنی داری مشاهده نمی شود $r(P) = -0.379 (0.25)$ یعنی بین افزایش مقادیر نیکل و پاسخ دهی سلولهای همولنف آنودونت به این آلاینده رابطه معنی داری وجود ندارد، ولی در ایستگاه سلکه همبستگی معنی داری بین روش NRR و $r(P) = Ni \ 0.693 < 0.0005$ مشاهده می شود. در این شرایط بنظر می رسد پارامترهایی نظیر شرایط محیطی و افزایش غلظت آلاینده Ni بواسطه ورود پسابهای مختلف از دهکده ها و کارگاههای اطراف سلکه سبب تاثیر در آزمایشات NRR گردیده و با توجه به افزایش غلظت نیکل و فعالیت شیمیایی بیشتر این عنصر (نسبت به وانادیوم) و تشکیل راحتتر کمپلکس های نیکل، این کمپلکس ها می توانند بهتر همراه با جریان آب و فیلتره شدن آن وارد بدن آنودونت شوند و بر روی آزمایشات NRR تاثیر گذار باشند اما جهت درک مکانیسم واکنش ترکیبات نیکل در بدن آنودونت نیاز به تحقیقات بیشتری می باشد.

در ایستگاه Cage همبستگی معنی داری بین روش NRR و Ni مشاهده نمی شود $r(P) = -0.253 (0.584)$ اما همبستگی قوی و معنی داری بین روش NRR و V در این ایستگاه مشاهده می شود $r(P) = -0.919 (0.003)$ و این یعنی بین مقادیر وانادیوم و پاسخ دهی سلولهای همولنف آنودونت نسبت عکس وجود داشته و با افزایش وانادیوم کاهش زمان پاسخ دهی سلولها در روش NRR وجود دارد که متناسب با اساس این روش است و با توجه به اینکه ایستگاه Cage ایستگاه آلوده به ترکیبات نفتی و PAH بوده احتمال داده می شود افزایش مقادیر وانادیوم بواسطه این آلاینده ها در پاسخ بیولوژیکی سلولهای همولنف در آزمایشات NRR موثر بوده است.

نکته حائز اهمیت این است که این نسبت باید در هر زمان (هر فصل) و در هر مکان (هر ایستگاه) برقرار باشد تا بتوان سلولهای همولنف آنودونت را بعنوان یک بیومارکر برای آلاینده های مذکور معرفی نمود. اما با توجه به ادامه آنالیزهای آماری (تست correlation و ضریب Pearson) در انتهای جدول ۳-۴۷ زمانی که بدون در نظر گرفتن فصل و ایستگاه و بطور کلی، پاسخ بیولوژیکی سلولهای همولنف در آزمایشات NRR بررسی می گردد همبستگی معنی داری برای وانادیوم مشاهده نمی شود $r(P) = 0.052 (0.798)$ ولی برای Ni یک همبستگی معنی دار بین Ni و آزمایشات NRR در مورد سلولهای همولنف آنودونت دیده می شود $r(P) = 0.369 (0.032)$. البته چون این همبستگی منفی نبوده یعنی بین مقادیر نیکل و زمان پاسخ بیولوژیکی سلولها به آلاینده نسبت عکس وجود نداشته و حتی همبستگی منفی هم در تمامی ایستگاهها دیده نمی شود و از سوی دیگر چون مکانیسم دقیق ترکیبات نیکل و نیمه عمر بیولوژیکی این عنصر در بدن

آنودونتها مشخص نیست به این ترتیب نمی توان بطور قطعی سلولهای همولنف آنودونت را بعنوان بیومارکری برای آلاینده های نیکل و وانادیوم معرفی نمود.

فصل پنجم

نتیجه گیری نهایی و

پیشنهادات

۱-۵ نتیجه گیری نهایی:

در این پروژه همانطور که در بخش ۴-۱ ذکر شد اهدافی تعریف و اجرا گردیده که مهمترین هدف آن تعیین و معرفی کاربرد بیومارکر NRR در سلولهای همولنف آنودونت و پایش زیستی PAH, Ni, V در این دوکفه ای آنودونت و رسوبات تالاب انزلی در ایستگاههای مورد نظر می باشد. نتایج حاصل از انجام این طرح بطور خلاصه حاکی از آن است که:

۱- مقادیر میانگین PAHها در رسوبات تالاب انزلی در ایستگاههای مورد بررسی و دو فصل نمونه برداری، در ایستگاه ماهروزه $34/85 \text{ ng/g dw}$ (خرداد)، $61/439 \text{ ng/g dw}$ (شهریور) و در ایستگاه سلکه $80/432 \text{ ng/g dw}$ (خرداد)، و $45/439 \text{ ng/g dw}$ (شهریور) می باشد. اما در ایستگاه Cage با توجه به آلودگی ایستگاه (این ایستگاه محل سوختگیری قایقهاست) همانطور که انتظار میرفت افزایش چندین برابری PAHها دیده می شود ($1322/229 \text{ ng/g dw}$).

قابل توجه است که در مقایسه مقدار $\sum \text{PAH}$ در رسوبات ایستگاههای ماهروزه و سلکه (تالاب انزلی)، با سایر نقاط جهان مقدار PAHها در ایستگاههای مذکور، معمولاً پایین تر بوده ولی این مقادیر از مقدار آن در رسوبات کشورهایمانند امارات متحده و عمان بیشتر است. مقدار $\sum \text{PAH}$ در رسوبات ایستگاه Cage هم در مقایسه با سایر کشورهای جهان مساوی یا بالاتر از ماکزیمم $\sum \text{PAH}$ در آنها بوده و تقریباً از نظر میزان آلودگی PAHها حد واسطی بین رسوبات خزر، در سواحل آذربایجان و ایران است.

نکته حائز اهمیت این است که با توجه به خطرات بیولوژیکی PAHها برای رسوبات (Johnson, 2002)، و با توجه به نتایج تحقیق حاضر می توان اعلام کرد که میزان $\sum \text{PAH}$ در رسوبات ایستگاههای مورد بررسی در ماهروزه و سلکه در حد بحرانی نیست، اما متأسفانه رسوبات ایستگاه Cage یعنی ایستگاه نزدیک مرکز تحقیقات آبی پروری آبهای داخلی (انزلی) دارای آلودگی بالایی نسبت به PAHها بوده و از آستانه بحرانی گذشته است.

۲- بطور کلی میانگین مقادیر PAHها در بافت آنودونت تالاب انزلی در ایستگاههای مورد بررسی و دو فصل نمونه برداری، در ایستگاه ماهروزه 115 ng/g dw (خرداد)، $367/432 \text{ ng/g dw}$ (شهریور) و در ایستگاه سلکه $140/225 \text{ ng/g dw}$ (خرداد)، $356/03 \text{ ng/g dw}$ (شهریور) است.

میانگین مقادیر PAHها در آنودونتهای ایستگاه Cage هم $373/788 \text{ ng/g dw}$ بوده که با توجه به مقادیر بالای PAHها در رسوبات این ایستگاه، انتظار می رفت مقدار PAHها در آنودونتهای این ایستگاه افزایش چشمگیری نشان دهد ولی با توجه به نتایج بدست آمده بنظر می رسد فاکتور زمان در این خصوص بسیار تاثیر گذار بوده و با توجه به زمان Cage گذاری (۲۸ روز) افزایش غلظت و تجمع زیاد PAHها در

بافت آنودونتها امکان پذیر نبوده است، گرچه با توجه به مرگ ۵۰٪ آنودونتهای این ایستگاه و افزایش چند برابری PAH ها در ایستگاه Cage، آلودگی آن محرز می باشد.

گرچه در مورد آنودونتها اطلاعات بسیار اندک است ولی با مقایسه میزان \sum PAH در سایر دو کفه ای ها و با توجه مشاهده می شود که میزان \sum PAH در بافت آنودونت ایستگاههای ماهروزه و سلکه و Cage، در تمامی موارد بیشتر از دوکفه ای های سایر کشورهای مورد بررسی (بجز Rock oyster، امارات متحده) می باشد و از آنجاییکه میزان ۳۰۰ ng/g dw این نوع ترکیبات برای اویسترها حد بحرانی تلقی شده است (Geffard et al, 2003) بنابراین متأسفانه مقادیر PAH ها در آنودونتهای ایستگاههای ماهروزه، سلکه و آنودونتهای ایستگاه Cage در فصل بارندگی از حد بحرانی گذشته (در مقایسه با اویسترها) و این موضوع می تواند هشدار برای آلوده شدن محیط زیست تالاب انزلی باشد.

۳- میزان PAH ها در دو فصل نمونه برداری در ایستگاههای ماهروزه و سلکه، تقریباً در یک محدوده بوده، ولی مشاهده می شود در فصل بارندگی نسبت به فصل گرم و خشک مقادیر PAH ها افزایش می یابند و این افزایش در ایستگاه ماهروزه بیشتر می باشد که بنظر می رسد با توجه به موقعیت جغرافیایی این ایستگاه در فصل بارندگی (محل نمونه برداری در بخشی واقع شده که محل تلاقی چند رودخانه است که از مناطق اطراف پسابهای آلوده را با خود حمل کرده و به تالاب می ریزند)، همراه با Run off ها و افزایش سیلابهای حاوی پسابهای آلوده و ورود آنها به این محل، این امر قابل پذیرش و منطقی بوده و مشابه نتایج تحقیقات انجام شده توسط Vigano et al, 2007 است.

۴- با توجه به نسبت فنانترن/آنتراسن و فلورانتن/پایرن و بررسی های بعمل آمده بر روی نمونه های رسوبی، مشخص می شود که امکان قضاوت صریح در مورد منشا رسوبات وجود ندارد زیرا معمولاً منابع زیادی می توانند از قبل در رسوبگذاری رسوبات دخیل بوده باشند (Culotta et al, 2006) و این امر مشابه تحقیقی است که توسط Gaspare et al, 2009 گزارش شده است.

۵- نمی توان منشا PAH ها را در آنودونتهای هیچیک از ایستگاهها با توجه به نسبت فلورانتن/پایرن و فنانترن/آنتراسن بطور دقیق بصورت منشا پتروژنیک یا پیروژنیک مشخص نمود و اساساً بطور معمول در مورد رسوبات منشا PAH ها را مشخص می نمایند، ولی طی بررسی های انجام شده در یک مورد، تحقیق (Gomez & Roca, 2007) در دوکفه ای های *Mytilus galloprovincialis* هم منشا یابی \sum PAH انجام شده است. لذا ما هم بر آن شدیم که این کار را انجام دهیم. بر طبق نتایج تحقیق حاضر، در بسیاری از موارد منشا PAH ها در آنودونتها پراکنده و در برخی موارد منشا PAH ها پتروژنیک و یا پیروژنیک بوده و این امر مشابه گزارش Gomez & Roca است. اما نکته حائز اهمیت این است که اساساً با توجه به وجود عواملی نظیر اختلاف در سن و اختلاف زمان در معرض آلودگی بودن، اختلاف در وزن و سایز، اختلاف در بافت

چرب، فیزیولوژی و سایر عواملی که در بخش ۴-۴ مفصلاً توضیح داده شده است نمی توان منشاء PAH ها را در موجود زنده براحتی بررسی کرد و از نظر ما منشا یابی PAH ها در موجودات زنده (دوکفه ای ها) که توسط Gomez & Roca انجام شده قابل قبول نبوده، و بنظر می رسد از صحت لازم برخوردار نیست.

۶- تحقیقات انجام شده نشان می دهد که PAH های بررسی شده، دارای تجمع زیستی-رسوبی (BSAF) بوده و در تمامی ایستگاهها اعداد بدست آمده بالاتر از یک می باشد و این امر نشان دهنده جذب و تجمع PAH ها در بافت آنودونتهاست. بنظر می رسد بواسطه نوع تغذیه آنودونت، PAH ها از طریق فیلتره شدن آب توسط آنودونت به بدن دوکفه ای وارد شده و از آنجاییکه PAH ها لیپوفیل هستند بخوبی در بافت و بخصوص بافتهای چرب آنودونت جذب شده و سبب تجمع زیستی بالای این ترکیبات در بدن دوکفه ای گردیده اند.

قابل توجه است که برخلاف انتظار میزان تجمع زیستی- رسوبی در آنودونتهای ایستگاه آلوده Cage، کمتر از یک می باشد و بنظر می رسد همانطور که قبلاً هم اشاره شد این امر به دلیل تاثیر فاکتور زمان باشد، به این معنی که زمان دسترسی زیستی به آلاینده PAH برای آنودونت های این ایستگاه در دوره ۲۸ روزه Cage گذاری کافی نبوده و در نتیجه جذب و تجمع کافی PAH ها، در بافت آنودونت صورت نگرفته و به دنبال آن تجمع زیستی- رسوبی در این ایستگاه پایین می باشد.

۷- با بررسی میزان تجمع زیستی- رسوبی در مورد هر یک از ۱۶ PAH مورد بررسی (لیست خطرناک EPA) مشاهده میشود که بیشترین تجمع در مورد ترکیباتی نظیر Na, ACP, PY, IcdP, BkF, dBan وجود دارد و بنظر می رسد از عوامل مهم و دخیل در تجمع آلاینده PAH در بافت دوکفه ای، تعداد حلقه های بنزنی PAH و log kow آنها باشد که مشابه تحقیقات Meador, 2003 می باشد.

۸- میزان فلزات سنگین نیکل و وانادیوم در هر دو فصل نمونه برداری در رسوبات ایستگاههای ماهروزه و سلکه و Cage بیشتر از بافت آنودونت می باشد که با توجه به جرم این عناصر افزایش آنها در رسوبات قابل انتظار است ولی در فصل بارندگی میزان این عناصر نسبت به فصل گرم و خشک بشدت در رسوبات کاهش می یابد که بنظر می رسد با افزایش بارندگی های شدید و فراوان، در فصل بارندگی و بروز سیلابهای گسترده، تلاطم و جابجایی و شستشوی رسوبات رخ داده و به دنبال آن رسوبات حمل شده توسط سیلابها، جایگزین رسوبات قدیمی تر گردیده و با توجه به اینکه نمونه برداری از رسوبات سطحی صورت گرفته این رسوبات دارای غلظتهای کمتر از نیکل و وانادیوم بوده بنابراین در نتایج آنالیز رسوبات فصل بارندگی کاهش شدید این دو آلاینده مشاهده می شود، همچنین بارندگی ها و افزایش سطح آب در کاهش غلظت این عناصر دخیل هستند.

۹- در تحقیق حاضر میانگین میزان فلزات سنگین نیکل و وانادیوم در هر دو فصل نمونه برداری در بافت آنودونتهای ایستگاههای ماهروزه و سلکه و Cage پایتتر از موارد مشابه در سایر کشورها بوده و در برخی موارد حتی کمتر از حد تشخیص دستگاه است، در واقع مقادیر نیکل در بافت آنودونتهای ایستگاه ماهروزه بین $0.03-0.29 \mu\text{g/g dw}$ و در بافت آنودونتهای سلکه بین $0.03-0.09 \mu\text{g/g dw}$ و در بافت آنودونتهای ایستگاه Cage، $0.032 \mu\text{g/g dw}$ می باشد که با بررسی های بعمل آمده مشاهده می شود میزان نیکل در آنودونتهای ایستگاههای ماهروزه، سلکه و Cage در حدود غلظت این عنصر در خلیج Paria (ونزوئلا) بوده و بطور کلی مقادیر این فلزات در ایستگاههای مورد بررسی در تالاب انزلی کمتر از سایر کشورهای مورد بررسی است. احتمال داده می شود مقادیر پایین این فلزات در بافت آنودونت به عواملی نظیر عدم جذب این عناصر در بافت (چون معمولا ترکیبات این فلزات لیپوفیل نیستند)، و شرایطی محیطی (نظیر جنس رسوبات و وجود سایر ترکیبات شیمیایی رسوب که مانع از واکنشها و تشکیل ترکیبات مناسب از این عناصر جهت جذب در بافت دوکفه ای می شوند) و خصوصیات شیمیایی نیکل و وانادیوم وابسته باشد.

۱۰- تجمع زیستی- رسوبی نیکل و وانادیوم کمتر از یک بوده و این امر می تواند نشان دهنده عدم ورود یا جذب راحت این دو فلز در بافت آنودونت باشد. البته در مجموع تجمع زیستی نیکل کمی از وانادیوم بیشتر می باشد که بنظر میرسد این امر به دلیل خواص و فعالیت شیمیایی بیشتر این عنصر باشد که بطور مفصل در بخش ۴-۸ به آن اشاره شد.

۱۱- مهمترین هدف این پروژه تعیین پاسخ بیولوژیک سلولهای همولنف آنودونت به آلاینده های PAH, Ni, V و بررسی روش NRR در مورد این سلولها و معرفی آنها بعنوان یک بیومارکر جدید بوده و با توجه به روش مذکور، عوارض مورد نظر (بخش ۲-۲-۱) کاملا مشاهده شد، ضمن اینکه آنالیزهای آماری هم نتایج حاصل را تایید نمودند. در واقع سلولهای همولنف آنودونتها پاسخ های مناسب و مورد انتظار را در برابر حتی مقادیر پایین PAH در تمامی ایستگاهها (مکانها) و تمامی فصول نمونه برداری (زمانها) را نشان داده، همچنین همبستگی منفی و قوی بین مقادیر PAH و زمان عوارض مشاهده شده سلولی وجود داشته و بدین ترتیب خوشبختانه برای اولین بار سلولهای همولنف آنودونت بعنوان یک بیومارکر در برابر PAH ها برای آبهای شیرین معرفی می شوند. اما سلولهای مذکور در تمامی ایستگاهها و تمامی فصول پاسخهای مناسب و عوارض بیولوژیکی مورد نظر را در مورد فلزات سنگین نیکل و وانادیوم بروز نداده و نمی توان صراحتا سلولهای همولنف آنودونت را بعنوان بیومارکر برای پایش آلودگی فلزات مذکور بکار گرفت.

۱۲- همچنین سلولهای همولنف آنودونت (*Anodonta cygnea*) هم برای اولین بار شناسایی شد که در طی آن دو دسته سلول آگرانولوسیت و گرانولوسیت تشخیص داده شد. آگرانولوسیتها شامل سلولهای

Vesicular cell و Blastlike cell بوده و گرانولوسیتها شامل Basophilic cell و Eosinophilic cell (از انواع بزرگ و کوچک) می باشند.

۲-۵ پیشنهادات

با توجه به تحقیقات انجام شده در این طرح، بنظر می رسد در ادامه تحقیق حاضر بتوان اقدامات و طرحهای زیر را پیشنهاد نمود:

۱- با توجه به اینکه تالاب انزلی یک زیستگاه ویژه و تالابی بین المللی است (که متأسفانه در حال حاضر جزو لیست قرمز مونثرو قرار گرفته و نیاز به اقدامات مراقبتی خاص دارد) پیشنهاد می شود بیومونیتورینگ های سالانه آب و رسوبات در این تالاب جهت پایش محیط زیست آن نسبت به آلاینده های خطرناک، انجام شود تا بدین ترتیب سریعاً از بروز و روند افزایش آلودگی تالاب جلوگیری شود.

۲- یکی از موجودات بومی تالاب انزلی دوکفه ای *Anodonta cygnea* است که با توجه به تحقیقات انجام شده در این طرح، بعنوان یک بیومارکر مناسب نسبت به آلودگی ترکیبات PAH معرفی شده، بنابراین پیشنهاد می شود در پایش های تالاب نسبت به آلودگیهای نفتی، بطور دوره ای بررسی جمعیت و پراکنش این دوکفه ای مد نظر قرار گیرد.

۳- با توجه به تاثیر فاکتورهای مختلف (نظیر سن و جنسیت) در جذب برخی آلاینده ها، پیشنهاد می شود در مقیاس آزمایشگاهی بررسی دقیق تاثیر این عوامل در جذب PAHها، در آنودونتها صورت گیرد.

۴- پیشنهاد می شود در مقیاس آزمایشگاهی، نقش عامل زمان بطور دقیق در میزان تجمع زیستی آلاینده هایی نظیر PAHها در آنودونتها بررسی شود که این امر می تواند در پیش بینی بروز و ورود آلودگی در منطقه موثر باشد.

۵- در مقیاس آزمایشگاهی، پیشنهاد می شود بررسی تاثیر PAHها و تاثیر سایر آلاینده های خطرناک (نظیر PCBها و...) در تیمارهای جداگانه، صورت پذیرد و نتایج آنها در مورد پاسخ دهی سلولهای همولنف آنودونت با نتایج بدست آمده در طرح حاضر مقایسه گردد که می تواند بسیار با اهمیت باشد.

۶- با توجه به تاثیر آلاینده هایی همانند فلزات سنگین در زنجیره غذایی (بخصوص مواردی که کاربردی بوده ولی کمتر مورد بررسی های Toxicology قرار گرفته اند نظیر وانادیوم)، بررسی روند تجمع زیستی و بزرگنمایی زیستی آنها در سطوح مختلف تروفیک، به دلیل نشان دادن روند تاثیر آلاینده و بزرگنمایی زیستی احتمالی، پیشنهاد می شود.

۷- با توجه به افزایش بکارگیری بیومارکرها در مطالعات زیست محیطی در سطح جهانی، پیشنهاد می شود تحقیق بر روی سایر آلاینده های خطرناک (سرطانزا یا جهش زا) در موجودات مختلف بتتیک

صورت گرفته و بیومارکرهای جدید که در سرعت بخشیدن به پایش های زیستی ضروری بنظر می رسد، معرفی شوند.

در خاتمه امید است با استفاده از نتایج این پروژه و ضمن کاربردی شدن آن، و با انجام تحقیقات بیشتر و بررسی فاکتورها و عوامل موثر در این زمینه، ایران نیز به کشورهای پیشرفته ای که در زمینه بیومارکرها فعالیت گسترده ای دارند بپیوندد و بدین ترتیب گامهای موثری در زمینه حفظ محیط زیست آبی برای کشوری که دو مرز عمده و مهم آبی دارد، برداشته شود.

منابع فارسی:

- ۱- اسماعیلی ساری. عباس؛ ۱۳۸۱، آلاینده ها بهداشت و استاندارد در محیط زیست؛ انتشارات نقش مهر، ص ۱۸۱-۱۷۵
- ۲- اقتصادی عراقی. پیمان؛ ۱۳۸۱، بررسی اختلالات حاصل از هیدروکربنهای چند حلقه ای آروماتیک در غشای سیناپتوزومها، مرکز تحقیقات بیوشیمی بیوفیزیک دانشگاه تهران، ص ۵۰-۴۲
- ۳- باقری نسب. محبوبه؛ راشد. طاهره؛ ناظم. محمد؛ ۱۳۷۵، باکتری شناسی آزمایشگاهی، انتشارات آستان قدس رضوی، ص ۳۷۷
- ۴- پروانه. سید امیر؛ ۱۳۷۴، بررسی ویژگیهای زیستی و پراکنش صدف آندونت در حوزه تالاب انزلی، سازمان تحقیقات و آموزش شیلات ایران (مرکز تحقیقاتی شیلاتی استان گیلان).
- ۵- جلیلی. مهشید؛ ۱۳۸۵، بررسی فون ماکروبتیک بخش جنوب غربی تالاب انزلی (سیاه کشیم) و ارتباط آن با مواد آلی بستر؛ دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی (تهران شمال)، ص ۸-۱۰
- ۶- جمالزاده. فلاح، فریبرز؛ ۱۳۷۷، تعیین میزان حساسیت مناطق مختلف تالاب انزلی با استفاده از سامانه اطلاعات جغرافیایی (GIS)، دانشکده محیط زیست دانشگاه تهران، ص ۶-۴
- ۷- حبیبی. طلعت؛ ۱۳۸۴، جانورشناسی عمومی (جلد دوم)؛ انتشارات دانشگاه تهران، ص ۳۱۲-۳۰۲
- ۸- خوشخو. ژاله؛ ۱۳۸۴، تعیین ارزش غذایی و بررسی میزان فلزات سنگین در بافت نرم دوکته ای *Anodonta cygnea* در تالاب انزلی، ص ۱۸
- ۹- طباطبایی شیرازانی. عباس؛ ۱۳۸۷، امکان بازیابی وانادیوم از سنگ آهن چغارت، دانشکده معدن متالوژی و نفت دانشگاه صنعتی امیرکبیر، ص ۳-۱
- ۱۰- عباسپور. مجید؛ ۱۳۸۲، مهندسی محیط زیست (جلد اول)؛ انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی، ص ۴۳۳-۴۳۳

- 1- Akcha, F; Burgeot, T; Venier, P; Narbonne, J. F; 1999, Relationship between kinetics of benzo[a]-pyrene bioaccumulation and DNA binding in the mussel *Mytilus galloprovincialis*, Bull. Environ. Contam. and Toxicol, 62: 455–462.
- 2- Akcha, F; Burgeot, T; Narbonne, JF; Garrigues, P; 2003, PAHs: An ecotoxicological prespective. Metabolic activation of PAHs: Role of DNA adduct formation in induced carcinogenesis, John Willey & Sons Ltd, 65-68.
- 3- ASTM, 1997b, Standard guide for determination of bioaccumulation of sediments-associated contaminants by benthic invertebrates, E1688-97a, In ASTM annual book of standards, Vol.11.05, American Society for Testing and Materials, Philadephila, PA, 1072-1121 pp.
- 4- Balestri, E; Benedetti-Cecchi, L; Lardicci, C; 2004, Variability in patterns of growth and morphology of *Posidonia oceanica* exposed to urban and industrial wastes: contrasts with two reference locations; Exp. Marine Biology Ecology, 308, 1-21.
- 5- Baumard, P; Budzinski, H; Michon, Q; Garrigues, P; Burgeot, T; Bellocq, J; 1998, Origin and bioavailability of PAHs in the Mediterranean Sea from mussel and sediment records. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 47:77-90.
- 6- Baumard, P; Budzinski, H; Garrigues, P; 1998, Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and mussels of the western mediterranean sea, Environmental Toxicology and Chemistry, 17: 765–776.
- 7- Baumard, P; Budzinski, H; Garrigues, P; Dizer, H; Handsen, P.D; 1999, Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments and mussels (*Mytilus edulis*) from the western Baltic Sea: occurrence, bioavailability and seasonal variation; Marine Environmental Research, 47, 17–47.
- 8- Baumard, P; Budzinski, H; Garrigues, P; Narbonne, J.F; Burgeot, T; Michel, X; Bellocq, J; 1999, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) burden of mussels (*Mytilus spp.*) in different marine environments in relation with sediments PAH contamination, and bioavailability; Marine Environmental Research, 47, 415-439.
- 9- Bixian, M; Jiamo, F; Gan, Z; Zheng, L; Yushun, M; Guoying, S; Xingmin, W; 2001, Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from the Pearl river and estuary, China: spatial and temporal distribution and sources, Applied Geochemistry, 16: 1429-1445.
- 10- Broman, D; Naf, C; Lundbergh, I; Zebuhr, Y; 1990, An in situ study on the distribution biotransformation and flux of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a aquatic food-chain (Seston, *Mytilus edulis*, *L.Somateria mollissima* L) from the Baltic-an ecotoxicological perspective, Environmental Toxicology and Chemistry, 9:429-442.
- 11- Bryan, G. W; 1993, The occurrence of seasonal variations of trace metals in *Pecten maximus* and *Mytilus edulis* , Mar. Biol. Assoc., 53: 145-166.
- 12- California Coastal Commission, 2001, Results of the Chevron 4H platform shell mound technical and environmental report, The Resources Agency, State of California (San Francisco).
- 13- Campbell, PGC; Lesis, AG; Chapmen, PM; Fletcher, WK; Imber, BE; Luoma, SN; Stokes, PM; Winfrey, M; 1988, Biologically Available Metals in Sediments, Publication No 27694. National Research Council of Canada, Ottawa.
- 14- Chang, SJ; Tseng, SM; Chou, Hy; 2005, Morphological characterization via light and Electron microscopy of the hemocytes of two cultured Bivalves: A comparison study

- between the hard clam (*Meretrix lusoria*) and Pacific oyster (*Crassostrea gigas*), Zoological Studies, pp 144-152.
- 15- Cheng, TC; 1981, Bivalves: In vertebrate blood cells, Academic Press, London, Vol (I), 231-300.
 - 16- Cincinelli, A; Stortini, AM; Perugini, M; Checchini, L; Lepri, L; 2001, Organic pollutants in sea-surface microlayer and aerosol in the coastal environment of Leghorn (Tyrrhenian Sea); Marine Chemistry, 76 (1-2), 77-98.
 - 17- Clements, WH; Oris, IT; Wissing, TE; 1994, Accumulation and food-chain transfer of fluoranthene and benzo [a] pyrene in *Chironomus riparius* and *Lepomis macrochirus*, Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 26; 261-266.
 - 18- Coetzee, L; Du Preez, H.H; Van Vuren, J.H.J; 2002, Metal concentration in *Clarias gariepinus* and *Labeo umbratus* from the Olifants and Klein Olifant River, South Africa: zinc, copper, manganese, lead, chromium, nickel, aluminum and iron; Rand Afrikaans University, South Africa, 16 pp.
 - 19- Culotta, L; De Stefano, C; Gianguzza, A; Mannino, M. R; Orecchio, S; 2006, The PAH composition of surface sediments from Stagnone coastal lagoon, Marsala (Italy), Marine Chemistry, 99: 117-127.
 - 20- Dahle, S; Savinov, V.M; Matishov, G.G; Evenset, A; Naes, K; 2003, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in bottom sediments of the Kara Sea shelf, Gulf of Ob and Yenisei bay, The Science of the Total Environment 306: 57-71.
 - 21- Delistraty, D; 1997, Toxic equivalency factor approach for risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons, Toxicol. Environ. Chem, 64: 81-108.
 - 22- De Luca, G; Furesi, A; Leardi, R; Micera, G; Panzanelli, A; Paola Costantina Piu, PC; Sanna, G; 2004, Polycyclic aromatic hydrocarbons assessment in the sediments of the Porto Torres Harbor (Northern Sardinia, Italy); Marine Chemistry, 86: 15- 32.
 - 23- De Mora, S.D; Sheikholeslami, M.R; 2002, ASTP: Contaminant screening program: Final report: Interpretation of Caspian Sea sediment data; Caspian Environment Program (CEP), 27p.
 - 24- Den Besten, P.J; Ten Hulscher, D.; Van Hattum, B; 2003, PAHs: An ecotoxicological perspective. Bioavailability uptake and effects of PAHs in aquatic invertebrates in field studies, John Wiley & Sons Ltd, 127-129.
 - 25- Di Toro, D.m; Mahnoy, J.D; Hansen, D.J; Scott, K.J; Hicks, M.B; Mayer, S.M; Remond, M.S; 1990, Toxicity of cadmium in sediments: The role of acid volatile sulfide; Environmental Toxicology Chemistry, 9: 1487-1502.
 - 26- Dobroski, CJ; Epifanio, CE; 1980, Accumulation of benzo [a] pyrene in a larval bivalve via trophic transfer, Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science, 37: 2318-2322.
 - 27- Eganhouse, R.P; Gossett, R.W; 1991, Historical deposition and biogeochemical fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments near a major submarine wastewater out fall in Southern California. In Baker RA(ed), Organic Substances and Sediments in Water, Lewis, Chelsea, MI, pp. 191-220.
 - 28- Eisler, R; 1987, Polycyclic aromatic hydrocarbon hazards to fish, wildlife and invertebrates: A Synoptic Review, Vol. 11. Fish and Wildlife Service, US Department of the Interior.
 - 29- EPA, 1987, Health Effects Assessment for Boron and Compounds, US Environmental Protection Agency, Washington DC.
 - 30- EPA, 1987, Quality Criteria for Water 1986, EPA 440/5-86-001 US Environmental Protection Agency, Washington. DC.

- 31- EPA, 1997, Drinking Water Standards Environment of Criteria and Assessment, US Environmental Protection Agency, Washington DC.
- 32- EPA, 2000 Equilibrium, Partitioning Sediment Guidelines (ESGs) for the Protection of Benthic Organisms: PAH Mixtures. US Environmental Protection Agency, Office of Water. Office of Science and Technology. Office of Research and Development. Washington. DC.
- 33- Fernley, PW; Moore, MN; Lowe, DM; Donkin, P; Evans, S; 2000, Impact of Sea Empress oil spill on lysosomal stability in mussel blood cells, Marine Environmental Research, 50; 451-455.
- 34- Ferreira, A. G; Machado, A. L. S; Zalmon, I. R; 2005, Temporal and spatial variation on heavy metal concentrations in the oyster *Ostrea equestris* on the northern coast of Rio de Janeiro state, Brazil, Braz. J. Biol., 65(1): 67-76.
- 35- Francioni, E; Wagener, A; Scofield, A.L; Cavalier, B; Depledge, M.H; 2006, Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbon in mussel *Perna Perna* after an oil spill and evaluation of cellular biomarkers for biomonitoring, Journal of Coastal Research, Special Issue, 39, 1804-1806.
- 36- Frenet, M; Alliot, A; 1985, Comparative bioaccumulation of metals in Palaemonates varies in polluted and non-polluted environments, Marine Environmental Research, 17: 19-44.
- 37- Gagnon, C; N.S. Fisher; 1997, The bioavailability of sediment-bound Cd, Co, and Ag to the mussel *Mytilus edulis*, J. Fish. Aquat. Sci., 54: 147-156.
- 38- Galloway, J.N; 1980, Toxic substance in atmospheric deposition: A Review and Assessment, National Atmospheric Deposition Program Report, 141.
- 39- Gaspare, L; Machiwa, J.F; Mdachi, S.J.M; Streck, G; Brack, W; 2009, Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) contamination of surface sediments and oysters from the inter-tidal areas of Dar es Salaam (Tanzania), Environmental Pollution, 157: 24-34.
- 40- Geffard, O; Geffard, A; His, E; Budzinski, H; 2003, Assessment of the bioavailability and toxicity of sediment-associated polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals applied to *Crassostrea gigas* embryos and larvae, Marine Pollution Bulletin, 46: 481-490.
- 41- Gomez, C.M; Benedicto, J; Campillo, J.A; Moore, M; 2008, Application and evaluation of the neutral red retention (NRR) assay for lysosomal stability in mussel populations along the Iberian Mediterranean coast; Journal of environmental Monitoring, 10: 490-499.
- 42- Gomes, M. P; Carvalho, C. E. V; Lacerda, L. D; 1991, Monitores biológicos de metais pesados no litoral do Estado do Rio de Janeiro. An. Sem. Reg. Ecol., São Carlos, 6: 319-329.
- 43- Gomez, C.M; Roca, M; Aguera, I.G; Benedicto, J; 2007, Spatial distribution of Polycyclic aromatic hydrocarbons in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the Iberian Mediterranean coast, Rapp. Comm. int. Mer Medit, 38 , 287-292.
- 44- Grant, R; 1988, Chemical Dictionary, MC Grow Hill, PP: 277, 390, 615-616.
- 45- Guinan, j; Charlesworth, M; Service, M; Oliver, T; 2001, Sources and geochemical constraints of Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments and mussels of two northern Irish sea- loughs, 42 (11) 1073-1081.
- 46- Guppy, M; 2001, Chemical investigation in the green lipped mussel (*Perna viridis*) in the Gulf of Paria, Trinidad. PhD Thesis, Univ. West Indies, St. Augustine, Trinidad and Tobago. 220 p.

- 47- Gustafsson, K; Bjork, M; Burreau, S; Gilek, M; 1999, Bioaccumulation kinetics of brominated flame retardants (polybrominated diphenyl ethers) in blue mussels (*Mytilus edulis*), *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18: 1218–1224.
- 48- Hoffman, E. J; Mills, G. L; Latimer, J. S; Quinn, J. G; 1984, Urban runoff as a source of polycyclic aromatic hydrocarbons to coastal waters, *Environmental Science Technology*, 18: 580-587.
- 49- Hankard, PK; Scendsen, C; Wright, J; Wienberg, C; Fishwick, SK; Spurgeon, DJ; Weeks, JM; 2004, Biological assessments of contaminated land using earthworm biomarkes in Support of chemical analysis, *Science of the Total Environment*, 330:9-20.
- 50- Hawker, D. W; Connel, D. W; 1985, Relationships between partition coefficient, uptake rate constant, clearance rate constant and time to equilibrium for bioaccumulation. *Chemosphere*, 14: 1205–1219.
- 51- Haynes, D; Toohey, D; 1998, The use of transplanted, cultered mussels (*Mytilus edulis*) to monitor pollutants along the ninety Mile Beach, Victoria, Australia III. Heavy Metals. *Mar. Pollut. Bull.*, 36(5): 396-399.
- 52- Hellou, J; Steller, S; Zitko, V; Leonard, J; King, T; Milligan, T.G; Yeats, P; 2002, Distribution of PACs in surficial sediments and bioavailability to mussels, *Mytilus edulis* of Halifax Harbour, *Marine Environmental Research*, 53: 357–379.
- 53- Hellou, J; Upshall, C; Ni, I.H; Payne, Jf; Huang, YS; 1991, Polycyclic aromatic hydrocarbons in harp seals (*Phoca groenlandica*) from the north west Atlantic, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 21:135-140.
- 54- Hellou, J; Upshall, C; Payne, J.F; Naidu, S; Paranjape, M.A; 1993, Total Unsaturated compounds and polycyclic aromatic-hydrocarbons in mollusks collected from waters around Newfoundland, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 24: 249–257.
- 55- Henderson, R.F; Bechtoid, WE; Bond, J; 1989, The use of biological markers in toxicology, *Critical Reviews of Toxicology*, 20:65-82.
- 56- Hoffman, EJ; Mills, GL; Latimer, JS; Quinn, JG; 1984, Urban runoff as a source of polycyclic aromatic hdrocarbons to coastal waters; *Emironmental Science and Technology*, 18,580-586.
- 57- Hornberger, M.I; Luoma, S.N; Cain, D.J; Parchaso, F; Brown, C.L; Bouse, R.M; Wellise, C; Thompson, J.K; 2000, Linkage of bioaccumulation and biological effects to changes in pollutant loads in south San Francisco Bay, *Environ. Sci. Technol.*, 34: 2401-2409.
- 58- <http://aftab.ir/news/2008/feb/17>
- 59- http://anzali.irandoe.org/condition_wetland_farsi.htm
- 60- [http:// www.fao.org/docrep/006/AD192E/AD192E03...](http://www.fao.org/docrep/006/AD192E/AD192E03...)
- 61- <http://www.fishing.ir/farsi>
- 62- <http://www.manandmollusc.net>
- 63- <http://www.nafttimes.com/articles/1386/11/27/25>
- 64- <http://www.ngdir.ir/GeoportalInfo/psubjectInfoDetail.asp?pID=227&index=4>
- 65- <http://www.niehs.nih.gov/index.cfm>
- 66- <http://www.razmpa.com/pe/medicalinformation/50.aspx>
- 67- <http://www.waresh.org/blog/?p=3299>
- 68- Jeong, W.G; Cho, S.M; 2005, Effects of polynuclear aromatic hydrocarbons on hemocyte characteristics of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*; *Journal of Shellfish Research*, 24 (2): 451-456.

- 69- Johnson, L.L; Collier, T.K; Stein, J.E; 2002, An analysis in support of sediment quality thresholds for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) to protect estuarine fish, *Aquat. Conserv., Mar. Freshwater Ecosyst*, 12: 517–538.
- 70- Jovanovich, M.C; Marion, K.R; 1987, Seasonal variation in uptake and depuration of anthracene by brackish water clam, *Rangia cuneata*, *Marine Biology*, 95: 395-403.
- 71- Kennish, M.J; 1992, *Ecology of Estuaries: Anthropogenic Effects*; CRC Press. London, 494 pp.
- 72- Kim, GB; Maruya, KA; Lee, RF; Lee, JH; Koh, CH; Tanabe, S; 1999, Distribution and sources of polycyclic hydrocarbons in sediments from Kyeonggi Bay, Korea. *Marine Pollution Bulletin*, 38(1),7-15.
- 73- Kose, T; Yamamoto, T; Anegawa, A; Mohri, S; Ono, Y; 2008, Source analysis for polycyclic aromatic hydrocarbon in road dust and urban runoff using marker compounds, *Desalination*, 226:151–159.
- 74- Kotze, P.J, 1997, *Aspects of water quality, metal contamination of sediments and fish in Olifants River*; Rand Afrikaans University, South Africa, 157 pp.
- 75- Krantzberg, G; Boyd, D; 1992, The biological significance of contaminants in sediment from Hamilton Harbor, Lake Ontario.
- 76- Kucklick, JR; Sivertsen, SK; Sanders, M; Scott, GI; 1997, Factors influencing polycyclic aromatic hydrocarbons distributions in South Carolina estuarine sediments; *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 213(1), 13-29.
- 77- Lafbrie, C; Pergent, G; Kantin, R; Pergent-Martini, C; Gonzalez, J.L; 2007, Trace metals assessment in water, sediment, mussel and seagrass species - validation of the use of *Posidonia oceanica* as a metal biomonitor; *Chemosphere*, 68(11), 2033-2039.
- 78- Lam; Paul K. S; Gray , John. S; 2003, The use of biomarkers in environmental monitoring programmes, *Marine Pollution Bulletin*, 46(2): 182-186
- 79- Landrum, P.F; 1989, Bioavailability and toxicokinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons sorbed to sediment for the amphipod, *pontoporeia boyi*. *Environmental Science and Technology*, 23: 588-595.
- 80- Landrum, P.F; Robbins, J.A; 1990, Bioavailability of sediment associated contaminants: a review and simulation model, In Baudo, R. et al (eds), *sediments: Chemistry and Toxicity of In-place Pollutants*, Lewis, Chelsea, M.I, pp.237-263.
- 81- Landrum, P.F; Stubblefield, C.R; 1991, Role of respiration in the accumulation of organic xenobiotics by the amphipod, *Pontoporeia boyi*, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 10: 1019-1028.
- 82- Laone, RWPM; Sonneveldt, HLA; Van der Weyden, AJ; Loch, JPG; Groeneveld, G; 1999, Trends in the spatial and temporal distribution of metals (Cd, Cu, Zn and Pb) and organic compounds (PCBs and PAHs) in Dutch coastal zone sediments from 1981 to 1996: a model case study for Cd and PCBs, *Journal of Sea Research*, 41: 1-17.
- 83- Latimer, J. S; Hoffman, E.j; Hoffman, G; Fasching, J. L; Quinn, J. G; 1990, Sources of petroleum hydrocarbons in urban runoff, *Water Air Soil Pollutions*, 52: 1-21.
- 84- Latimer, J. S; Zheny, J; 2003, *The sources transport and fate of PAH in the marine environment, PAHs: An Ecotoxicological Perspective.*; John Willey and Sons Ltd, 9-26.
- 85- Lemaire, P; Den Besten, PJ; O'Hara, SCM; Livingstone, DR; 1993, Comparative metabolism of benzo [a] pyrene by microsomes of hepatopancreas of the shore crab (*Carcinus maenas L.*) and digestive gland of the common mussel (*Mytilus edulis L.*) *Polycyclic Aromatic Compounds*, 3: 1133-1140.

- 86- Lee, H. L; Boese, B. L; Randall, R. C; Pelletier, J; 1990,. A method for determining gut uptake efficiencies of hydrophobic pollutants in a deposit-feeding clam, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 9: 215–219.
- 87- Liang, Y; Tsea, M.F; Young, L; Wong; M.H, 2007, Distribution patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the sediments and fish at Mai Po Marshes Nature Reserve, Hong Kong, *Water research* , 41: 1303 – 1311.
- 88- Lowe, DM; Fassato, VU; Depledge, MH; 1995, Contaminant-induced lysosomal membrane damage in blood cells of mussels (*Mytilus galoprovincialis*) from the Venice Lagoon: an invitro study, *Marine Ecology Progress Series*, Vol (129), 189-196.
- 89- Lowe, DM; Pipe, RK; 1994, Contaminant induced lysosomal membrane damage in marine mussel digestive cells: an invitro Study, *Aquatic Toxicology*, 30:357-365.
- 90- Ma, M; Feng, Z; Guan, C; Ma, Y; Xu, H; Li, H; 2001, DDT, PAH and PCB in sediments from the intertidal zone of the Bohai Sea and the Yellow Sea; *Marine Pollution Bulletin*, 42 (2), 132-136.
- 91- Mac Donald, D. D; Carr, R. S; Calder, F. D; Long, E. R; Ingersoll, C. G; 1996, Development and evaluation of sediment quality guidelines for Florida coastal waters, *Ecotoxicology*, 5: 253–278.
- 92- Magnusson, K; Ekelund, R ; Grabic, R; Bergqvist, P.A; 2006, Bioaccumulation of PCB congeners in marine benthic infauna, *Marine Environmental Research*, 61: 379–395.
- 93- Martins, L.K.P; Nascimento, I.A; Fillmann, G; King, R; Evangelista, A.J.A; Readman, J.W; Depledge, M.H; 2005, Lysosomal responses as a diagnostic tool for the detection of chronic petroleum pollution at Todos os Santos Bay, Brazil; *Environmental Research*, 99: 387–396.
- 94- Maruya, K.A; Risebrough, R.W; Horne, AJ; 1997, The bioaccumulation of polynuclear aromatic hydrocarbons by benthic invertebrates in an intertidal marsh; *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16, 1087–1097.
- 95- McElory, A.E; Leitch, K; Fay, A; 2000, A survey of in vivo benzo (a) pyrene metabolism in small benthic marine invertebrates, *Marine Environmental Research*, 50: 33-38.
- 96- McKim, J. M; 1994, Physiological and biochemical mechanisms that regulate the accumulation and toxicity of environmental chemicals in fish, *Bioavailability: physical, chemical and biological interactions*, Boca Raton: Lewis Publishers, 179–201.
- 97- Meador, JP; Casillas, E; Sloan, CA; Varanasi, U; 1995, Comparative bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons from sediment by two infaunal invertebrates, *Marine Ecology Progress Series*, 123: 107-124.
- 98- Meador, JP; Stein, JE; Reichert, WL; Varanasi, U; 1995, A review of bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by marine organisms; *Reviews in Environmental Contamination and Toxicology*, 143: 79-165.
- 99- Meador, JP; 2003, Bioaccumulation of PAHs in marine invertebrates; *PAHs: An Ecotoxicological Perspective*; John Willey and Sons Ltd, 147-171.
- 100- Merian, E; 1992, *Metals and their Compounds in the Environment*, VCH.
- 101- Michel, J; Zengel, S; 1998, Monitoring of oyster and sediments in Acajutla, El Salvador, *Mar. Pollut. Bull.*, 36(4): 256-266.
- 102- Miles, A.K; Roster, N; 1999, Enhancement of polycyclic aromatic hydrocarbons in estuarine invertebrates by surface runoff at a decommissioned military fuel depot; *Marine Environmental Research*, 47, 49–60.

- 103- Miller, EC; Miller, JA; 1981, Searches for ultimate chemical carcinogens and their reactions with cellular macromolecules; *Cancer*, 47:2327-2345.
- 104- Mortimer, C. E; 1975, *Chemistry: A Conceptual Approach*, Third Edition, Vol II (part 18), New York, Van Nostrand Company.
- 105- MOOPAM, 1999, *Manual of Oceanographic Observations and Pollutant Analyses Methods*, (V 1 -V 27), (VI 1-VI 23), Regional Organization for the Protection of the Marine Environment, Kuwait.
- 106- Neff, JM; 1979, *Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment*, Applied Science Publishers, London.
- 107- Neilson, A; Hutzinger, O; 1998, PAHs and related compounds, *The Handbook of Environmental Chemistry*, Vol.3, Part J. Springer Berlin.
- 108- Niimi, AJ; Dookhran, GP; 1989, Dietary absorption efficiencies and elimination rates of polycyclic aromatic hydrocarbons PAHs in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), *Environmental Toxicology and Chemistry*, 8: 719-722.
- 109- Nigro, M; Falleni, A; Barga, ID; Scarcelli, V; Lucchesi, P; Regoli, F; Frenzilli, G; 2006, Cellular biomarker for monitoring estuarine environments: Transplanted versus native mussels, *Aquatic Toxicology*, 77:339-347.
- 110- Nriagu, J.O; 1980, Global cycle and properties of nickel; In *Nickel in the environment*, 1-26 pp, Wiley, New York, NY.
- 111- O'Connor, T.P; Paul, J.f; 2000, Misfit between sediment toxicity and chemistry, *Marine Pollution Bulletin*, 40(1). 59-64.
- 112- Oliver, F; Ridd, M; Klumpp, D; 2002, The use of transplanted cultured tropical oysters (*Saccostrea commercialis*) to monitor Cd levels in North Queensland Coastal waters (Australia). *Mar. Pollut. Bull.*, 44: 1051-1062.
- 113- Oros, D. R; Ross, J. R.M; Spies, R. B; Mumley, T, 2007, Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) contamination in San Francisco Bay: A 10-year retrospective of monitoring in an urbanized estuary, *Environmental Research* 105: 101–118.
- 114- Oros, D.R; Ross, J.R.M; 2004, Polycyclic aromatic hydrocarbons in San Francisco Estuary sediments, *Mar. Chem.* 86: 169–184.
- 115- Oros, D.R; Ross, J.R.M; 2005, Polycyclic aromatic hydrocarbons in bivalves from the San Francisco estuary: spatial distributions, temporal trends, and sources (1993–2001), *Mar. Environ. Res.* 60: 466–488.
- 116- Paez-Osuna, P; Frias-Espericueta, M. G; Osunalopez, J. I; 1995, Trace metal concentrations in relation to season and gonadal maturation in the oyster *Crassostrea iridescens*. *Mar. Environ. Res.*, 40(1): 19-31.
- 117- Paez-Osuna, F; Torn-Mayen, L; 1995, Distribution of heavy metals in tissues of shrimp *Penaeus californiensis* from the northwest coast of Mexico, *Environ. Contam. Toxicol*, 55: 209-215.
- 118- Pereira, WE; Hostettler, FD; Luoma, SN; Van Geen, A; Fuller, CC; Anima, RJ; 1999, Sedimentary record of anthropogenic and biogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in San Francisco Bay; *CA.Marine Chemistry*, 64(1-2), 99-113.
- 119- Philips, D.J.H; 1985, Organochlorines and trace metals in green lipped mussels *Perna viridis* from Hong Kong waters: a test of indicator ability, *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 21: 251-258.
- 120- Philips, D.J.H; Rainbow, P.S; 1993, *Biomonitoring Aquatic Systems*, Elsevier. London.
- 121- Pruell, RJ; Quinn, JG; 1985, Geochemistry of Organic Contaminants in Narragansett Bay Sediments, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 21: 295-312.

- 122- Rainbow, P.S; Phillips, D.j.H; Depledge, M.H; 1990, The significance of trace metal concentrations in marine invertebrates; *Marine Pollution Bulletin*, 21: 321-324.
- 123- Rainbow, P.S; 1995, Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment, *Mar. Pollut. Bull.*31: 183-192.
- 124- Rojas de Astudillo, L; Chang Yen, I; Bekele, I; 2005, Heavy metals in sediments, mussels and oysters from Trinidad and Venezuela, *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744)* Vol. 53 (Suppl. 1): 41-53, (www.tropiweb.com).
- 125- Ross, J. R.M; Daniel, R.O; 2004, Polycyclic aromatic hydrocarbons in the San Francisco Estuary water column: Sources, spatial distributions and temporal trends (1993-2001), *Chemosphere*, 57: 909-920.
- 126- Savinov, V.M; Savinova, T.N; Carroll, J.L; Matishov, G.G; Dahle, S; Naes, K; 2000; polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments of White Sea, Russia; *Marine Pollution Bulletin*, 40 (10), 807-818.
- 127- Schlekat, C; McGee, B.L; Reinharz, E; 1992. Testing sediment toxicity in Chesapeake Bay with the amphipod *Leptocheirus plumulosus*: an evaluation. *Environ. Toxicol. Chem.* 11: 225-236.
- 128- Simck, M.F; Eisenreich. S. J; Golden, K.A; Liu, S; Lipiatou, E; Swackhamer, D. L; Long, D. t; 1996, Atmospheric loading of polycyclic aromatic hydrocarbons to Lake Michigan as recorded in the sediments, *Environmental Science Technology*, 30: 3039-3046.
- 129- Soclo, HH; Garrigues, P; Ewald, M; 2000, Origin of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coastal marine sediments: Case studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France) areas; *Marine Pollution Bulletin*, 40(5), 387-396.
- 130- Southworth, GR; Beauchamp, JJ; Schmieder, PK; 1978, Bioaccumulation potential of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Daphnia pules*, *Water Research*, 12: 973-977.
- 131- Swartz, R. C; Schultz, D. W; Ozretich, R. J; Lamberson, J. O; Cole, F. A; DeWitt, T. H; Redmond, M. S; Ferraro, S. P; 1995, PAH: a model to predict the toxicity of polynuclear aromatic hydrocarbon mixtures in field collected sediments, *Environ Toxicol. Chem.* 14: 1977–1987.
- 132- Swartz, R. C; 1999, Consensus sediment quality guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures, *Environ. Toxicol. Chem.* 18: 780–787.
- 133- Thomann, RV; Komlos, J; 1999; Model of biota-sediment accumulation factor for polycyclic aromatic hydrocarbons *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18:1060-1068.
- 134- Tolosa, I; Mora, S.J; Sheikholeslami, M.R; Villeneuve, J.P; Bartocci, J; Cattini, C; 2004, Aliphatic and aromatic hydrocarbons in coastal Caspian Sea sediments; *Marine Pollution Bulletin*, 48, 44–60.
- 135- Tolosa, I; Mora, S.J; Fowler, S.W; Villeneuve, J.P; Bartocci, J; Cattini, C; 2005, Aliphatic and aromatic hydrocarbons in marine biota land coastal sediments from the Gulf and the Gulf of Oman; *Marine Pollution Bulletin*, 50, 1619–1633.
- 136- USEPA, 1994, Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates, EPA 600/R-94/024, U.S. Environmental Protection Agency, Duluth, MN.
- 137- Van Hattum, B; Burgers, I; Swart, K; Van der Horst, A; Wegener, JWM; Den Besten, PJ; 1998, Biomonitoring of micropollutants in foodchains in the Amer and the Haringvliet. Report E-98/08. Institute for Environmental Studies, Vrije Universiteit Amsterdam, The Netherlands.

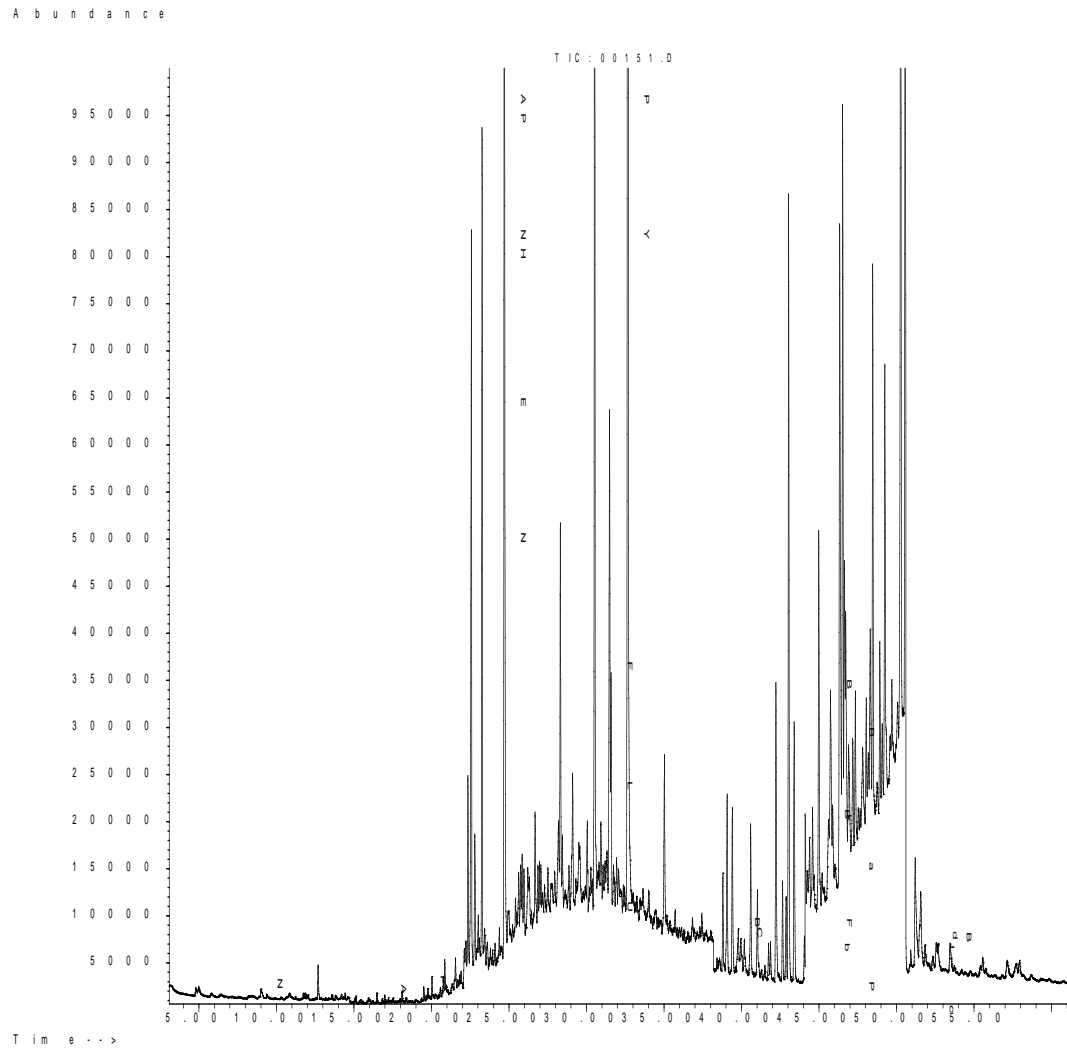
- 138- Van Straalen, NM; Verweij, RA; van Brummelen, TC; 1993, PAH concentration in forest floor invertebrates in the vicinity of a blast furnace plant. Polycyclic aromatic compounds. Synthesis, Properties, Analytical measurements, Occurrence and Biological effects, Proceedings of the 13th International Symposium on Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. Gordon and Breach. Yverdon, Switzerland, 1001-1006 pp.
- 139- Vigano, L; Farkas, A; Guzzella, L; Roscioli, C; Erratico, C; 2007, The accumulation levels of PAHs, PCBs and DDTs are related in an inverse way to the size of a benthic amphipod (*Echinogammarus stammeri* Karaman) in the River Po, Science of the Total Environment, 373: 131–145.
- 140- Watson, G. M.; Andersen, O. K; Depledge, M. H; Galloway, T. S, 2004, Detecting a field gradient of PAH exposure in decapod crustacea using a novel urinary biomarker, Marine Environmental Research, 58 92-5)257-261.
- 141- Weimine, Y; Ahsanullah, M; Batley, G.E; 1993, Accumulation and regulation of heavy metals by the intertidal snail *Polinices sordidus*; Marine Biology, 116: 417-422.
- 142- Wells, PG; Kenneth, L; Blaise, CD; 1997, Microscale Testing in Aquatic Toxicology, CRC Press USA. Washington DC.
- 143- WHO, 1993, Biomarkers and Risk Assessment: Concepts and principles (Environmental Health Criteria), World Health Organization, Geneva, No. 155.
- 144- WHO, 1998, Environmental Health Criteria 202: Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons. World Health Organization, Geneva, P. 883.
- 145- Wu, Y; Zhang, J; Zhu, Z; 2003, Polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of the Yalujiang Estuary, North China, Marine Pollution Bulletin, 46: 619-625.
- 146- Yilmaz, K; Yilmaz, A; Yemenicioglu, s; sur, M; Salihoglu, I; Karbulut, Z; Telli Karrakoc, F; Hatipoglu, E; Gaines, AF; Philips, D; Hewer, A; 1998, Polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) in the eastern Mediterranean Sea; Marine Pollution Bulletin, 36(11), 922-925.
- 147- Yunker, M.B; Macdonald, R.W; Goyette, D; Paton, D.W, Fowler, B.R; Sullivan, D; Boyd, J; 1999, Natural and anthropogenic inputs of hydrocarbons to the Strait of Georgia; Science of the Total Environment, 225 (3): 181-209.
- 148- Zamuda, C.D; Sunda, W.G; 1982, Bioavailability of dissolved copper to the American oyster *Crassostrea virginica*. I. Importance of chemical speciation; Marine Biology, 66: 77-82.
- 149- Zheng, GJ; Richardson, BJ; 1999, Petroleum hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Hong Kong marine sediments; Chemosphere, 38(11), 2625-2632.

پیوست ۱

نمونه طیف های GC-Mass بافت دوکفه ای آنودونت
(*Anodonta cygnea*) تالاب انزلی

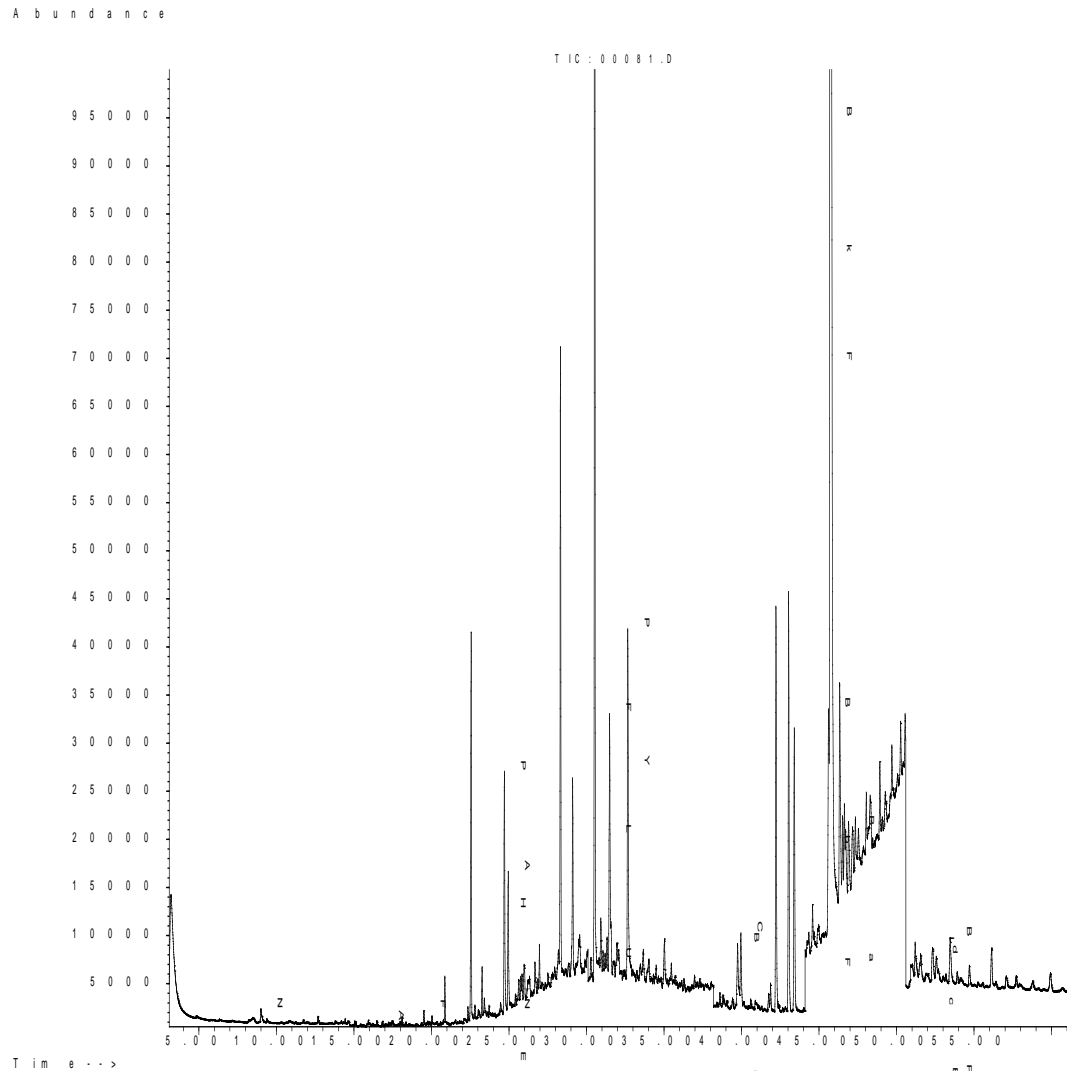
طیف ۱-۱ نمونه ای از طیف GC-Mass برای بررسی PAH ها در بافت آنودونت های

ایستگاه ماهروزه- خرداد ۸۶



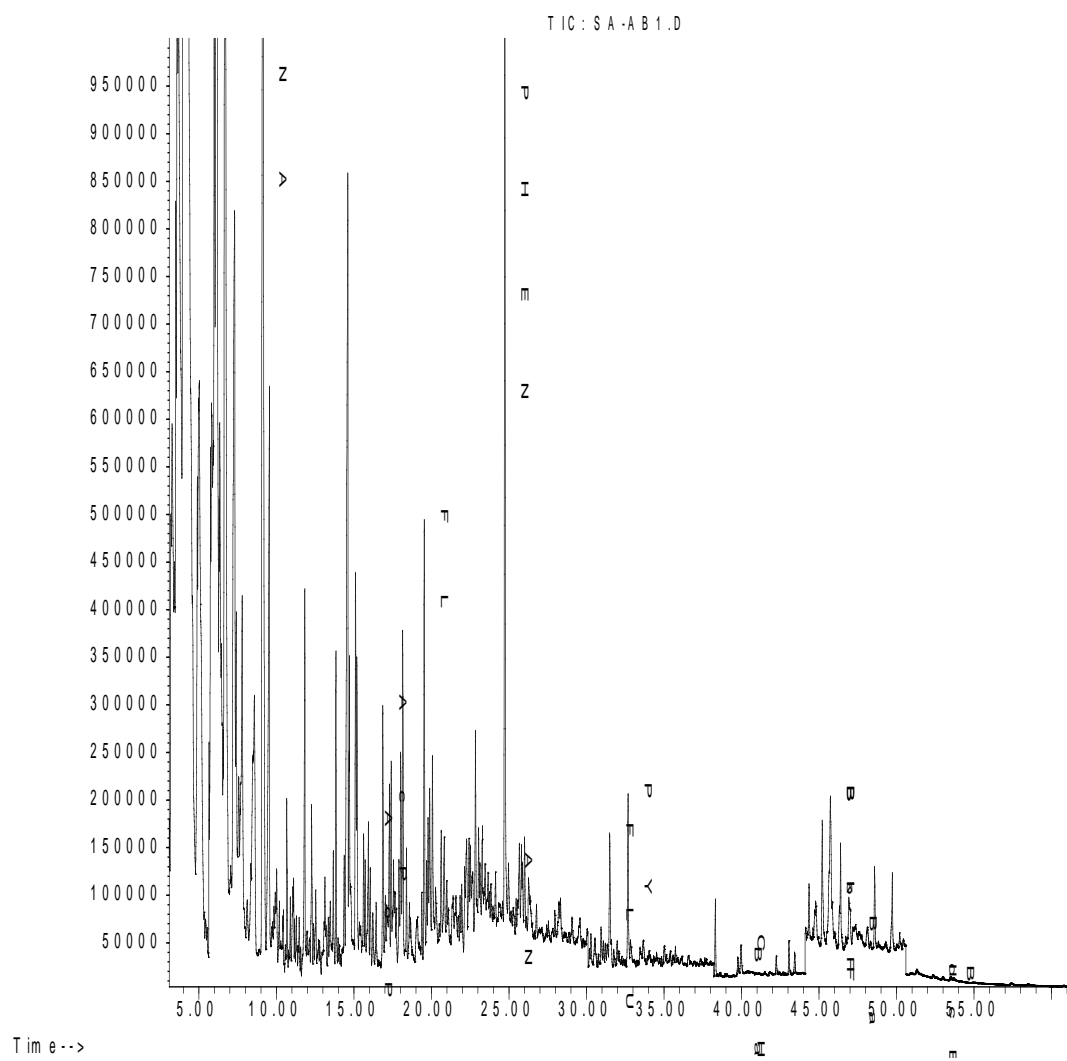
طیف ۲-۱ نمونه ای از طیف GC-Mass برای بررسی PAH ها در بافت آنودونت های

ایستگاه سلک- خرداد ۸۶

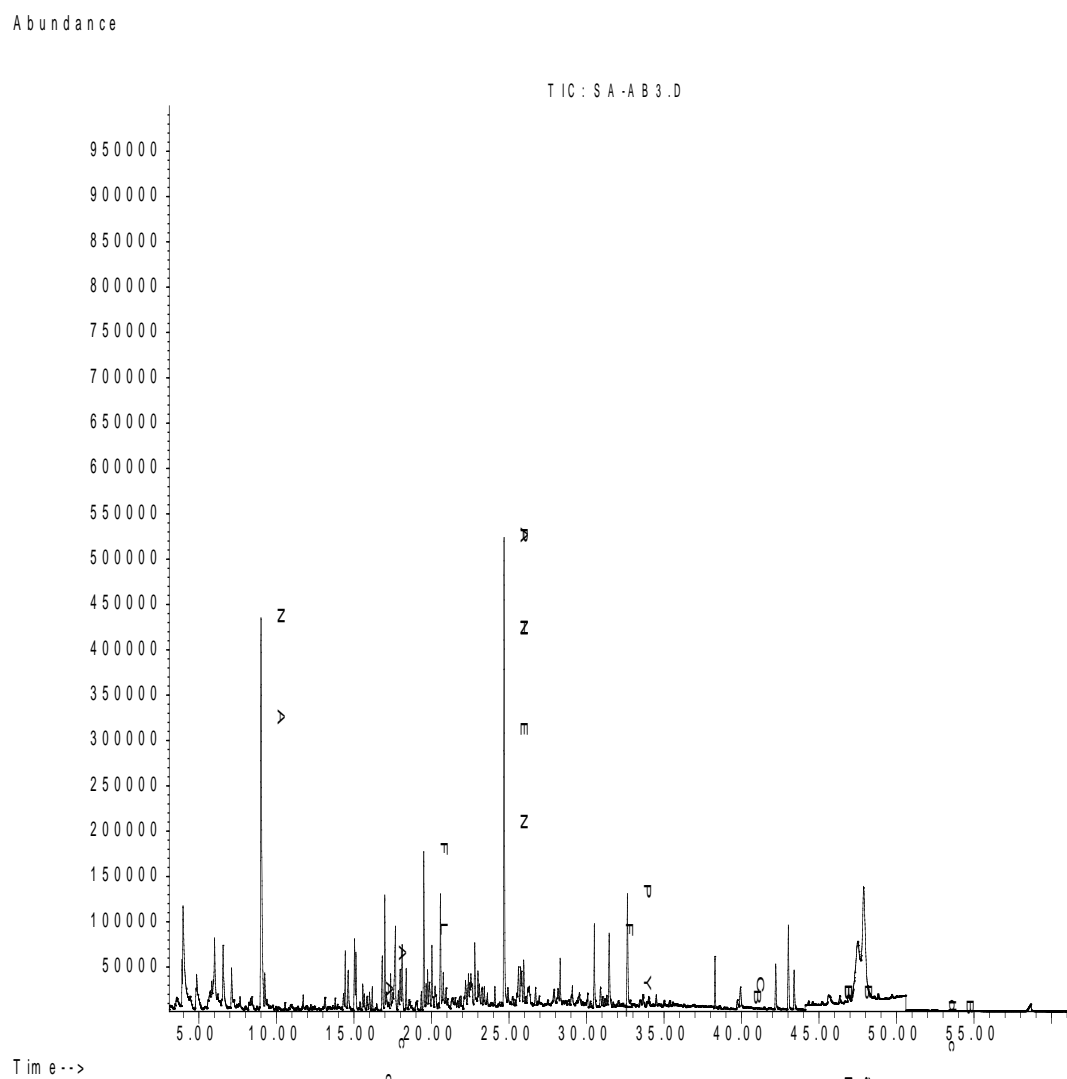


طیف ۳-۱ نمونه ای از طیف GC-Mass برای بررسی PAH ها در بافت آنودونت های
ایستگاه ماهروزه- شهریور ۸۶

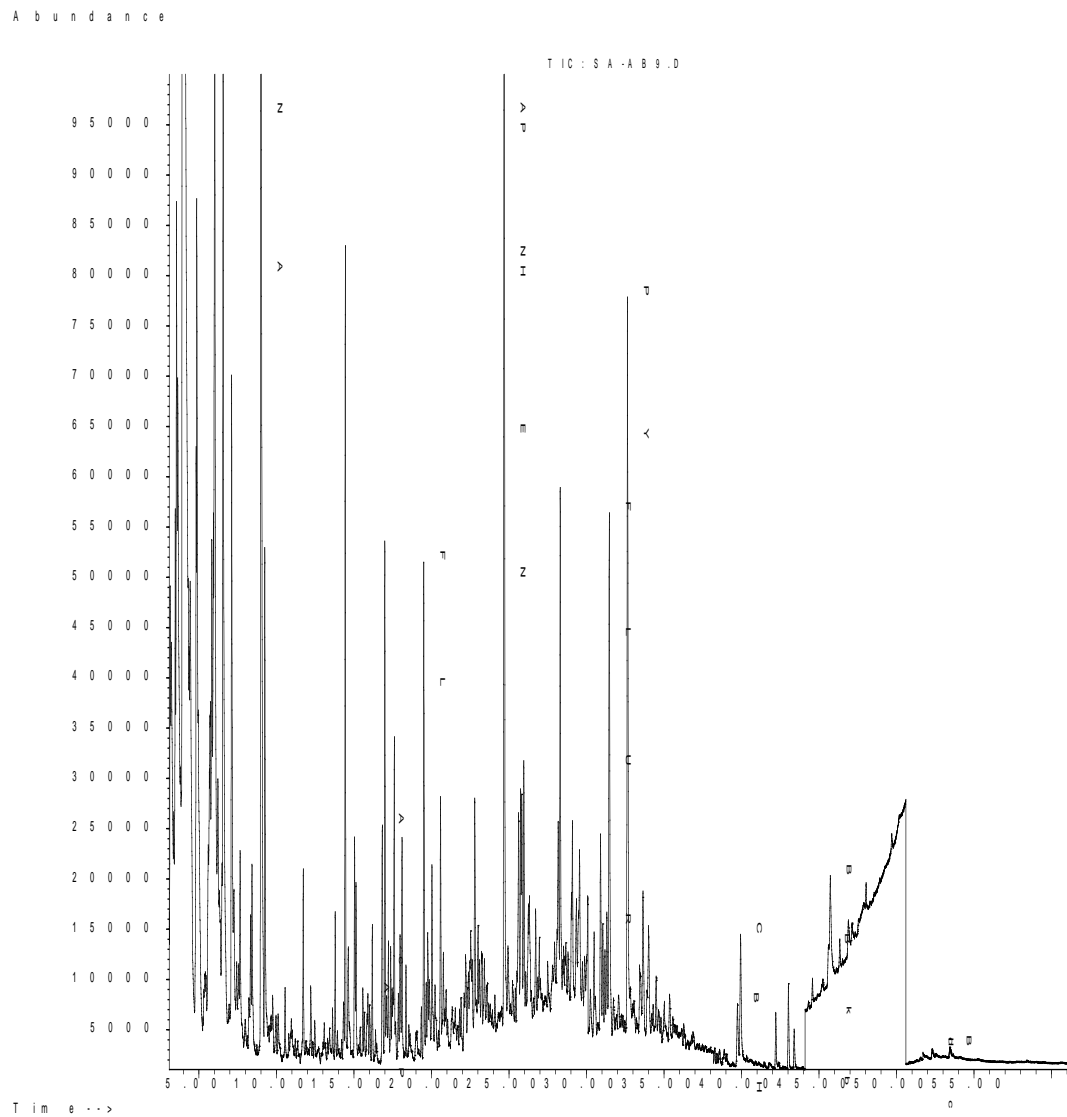
Abundance



طیف ۱-۴ نمونه ای از طیف GC-Mass برای بررسی PAH ها در بافت آنودونت های
ایستگاه سلک-شهریور ۸۶



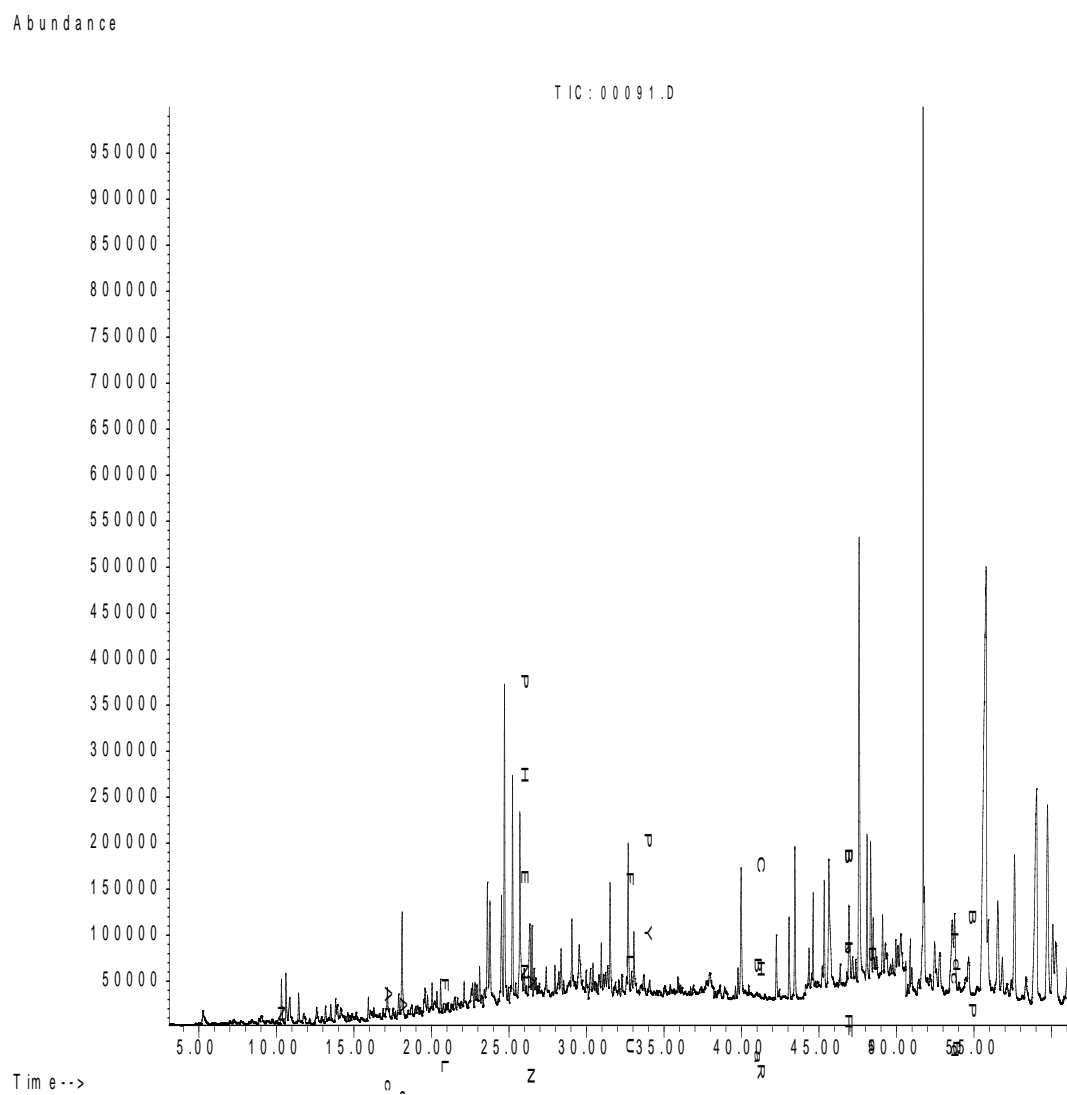
طیف ۵-۱ نمونه ای از طیف GC-Mass برای بررسی PAH ها دریافت آنودونت های
ایستگاه Cage (روز بیست و هشتم Cage گذاری)



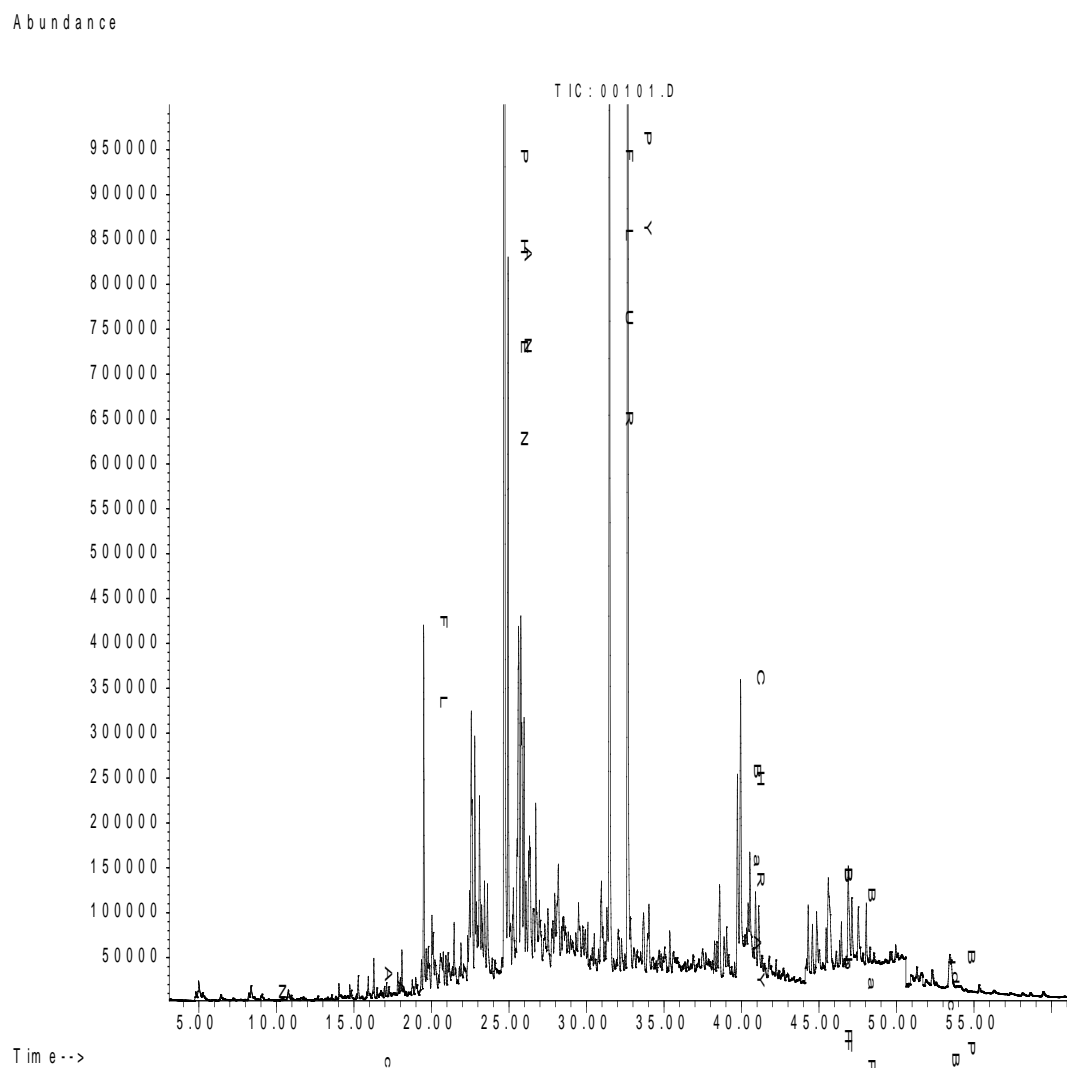
پیوست ۲

نمونه طیف های GC-Mass رسوبات تالاب انزلی

طیف ۱-۲ نمونه ای از طیف GC-Mass برای بررسی PAH ها در رسوبات
ایستگاه ماهروزه- خرداد ۸۶

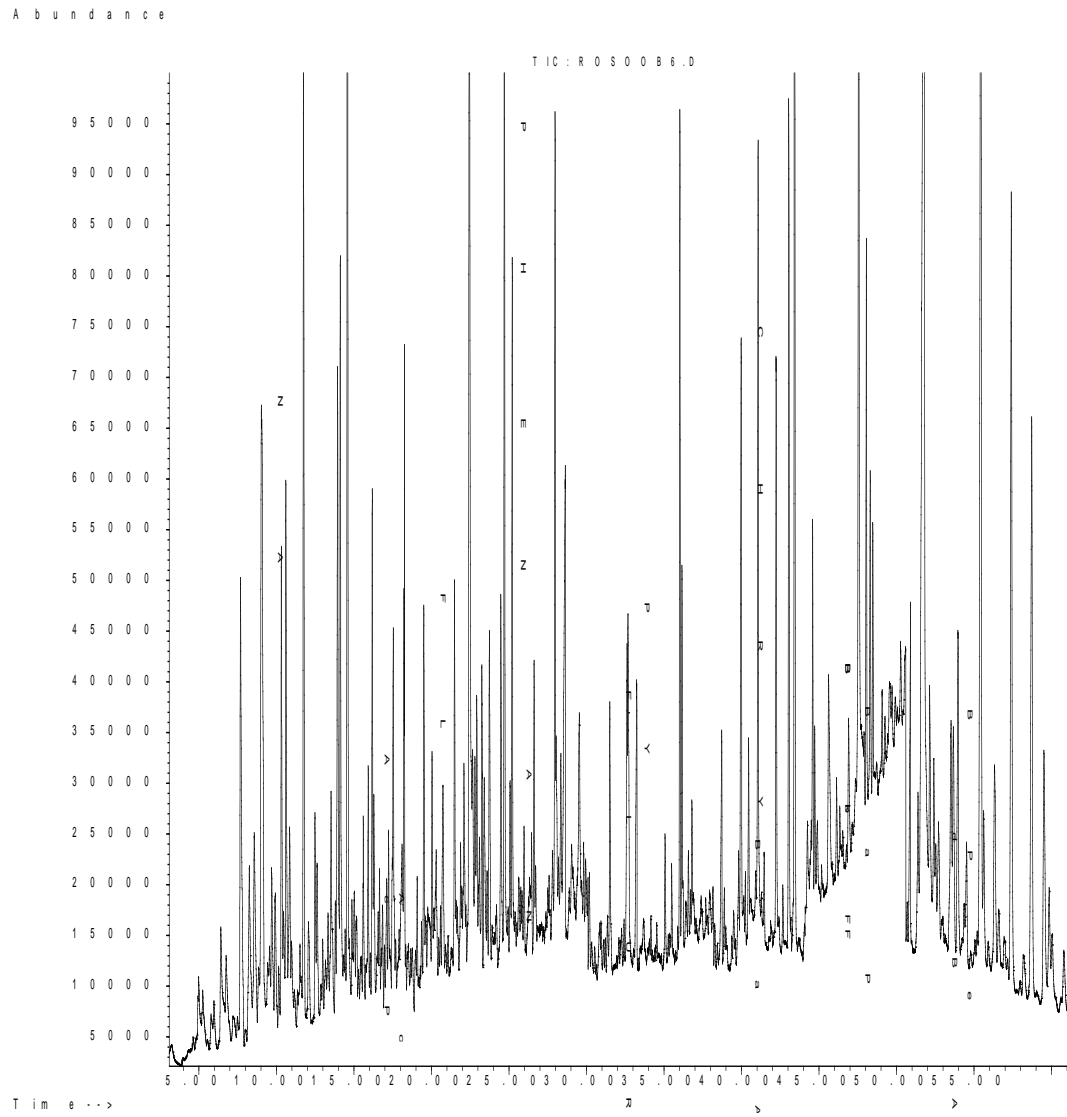


طیف ۲-۲ نمونه ای از طیف GC-Mass برای بررسی PAH ها در رسوبات
ایستگاه سلکته - خرداد ۸۶

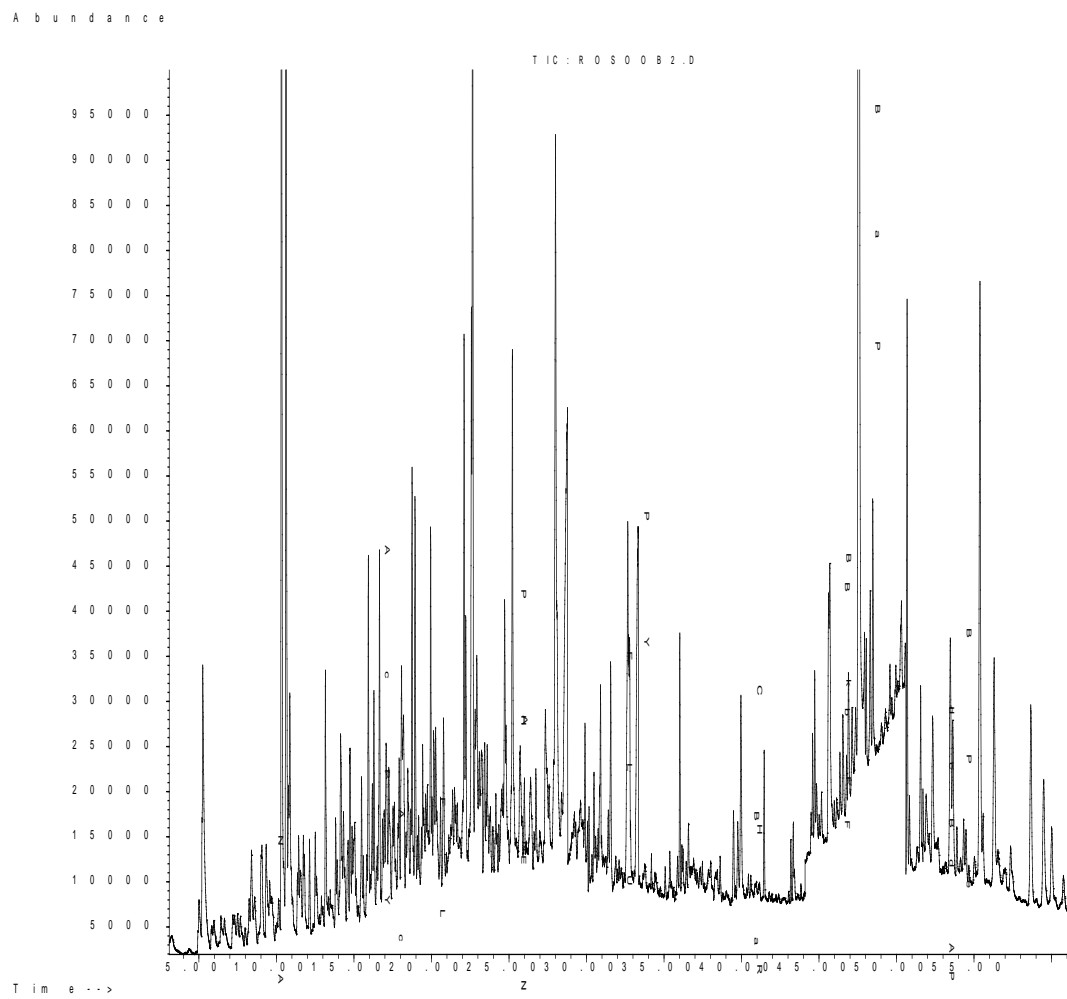


طیف ۳-۲ نمونه ای از طیف GC-Mass برای بررسی PAH ها در رسوبات

ایستگاه ماهروزه-شهریور ۸۶

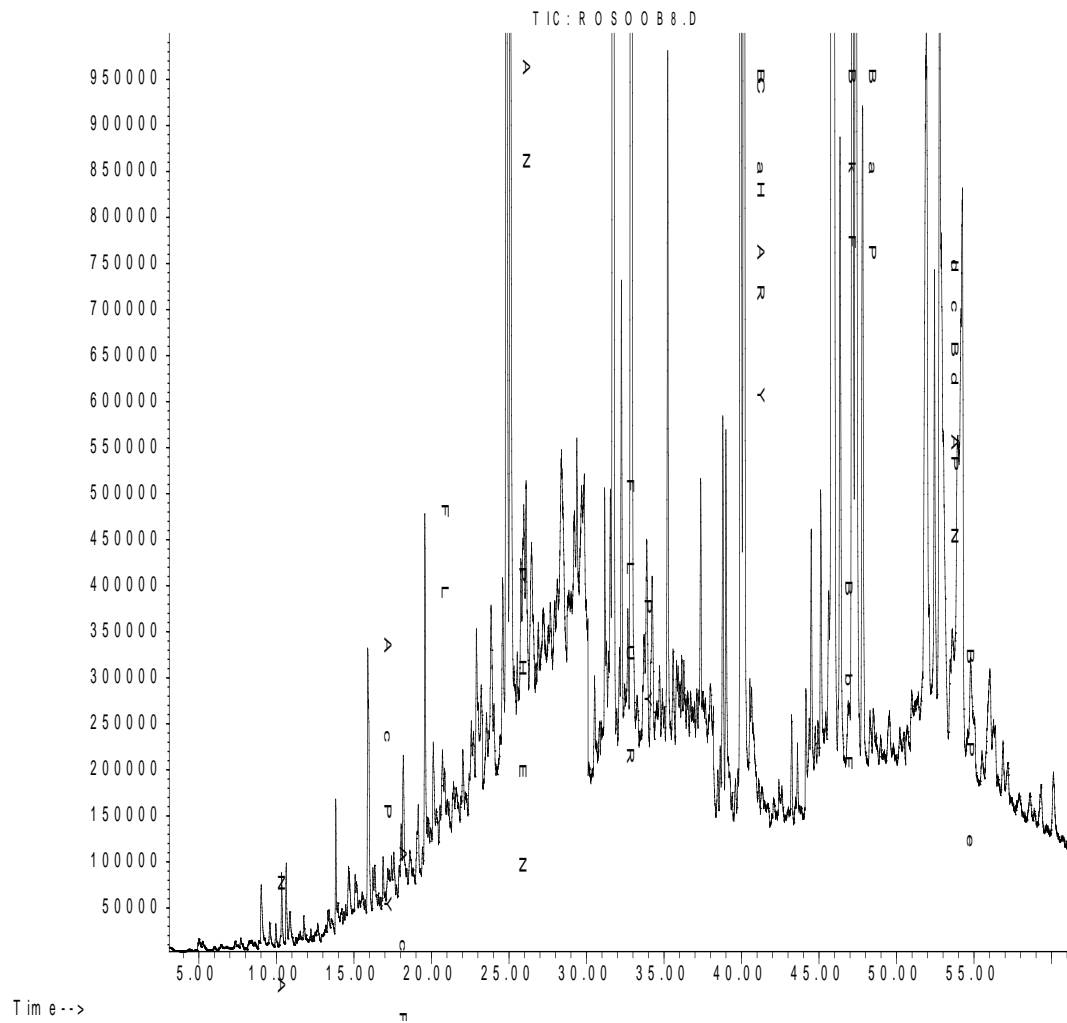


طیف ۲-۴ نمونه ای از طیف GC-Mass برای بررسی PAH ها در رسوبات
ایستگاه سلکه - شهر یور ۸۶

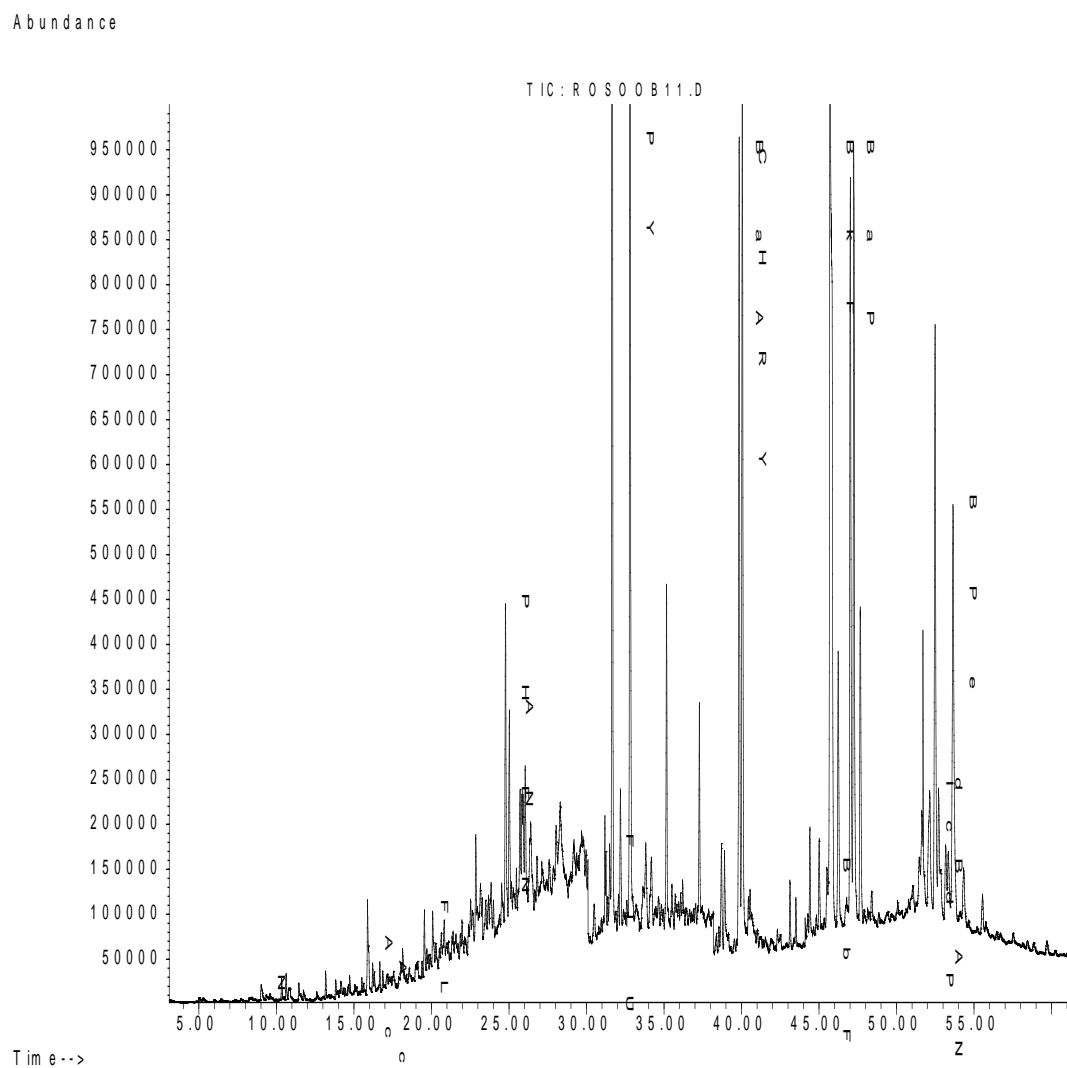


طیف ۵-۲ نمونه ای از طیف GC-Mass برای بررسی PAH ها در رسوبات
ایستگاه Cage (روز اول Cage گذاری)

Abundance



طیف ۶-۲ نمونه ای از طیف GC-Mass برای بررسی PAH ها در رسوبات
ایستگاه Cage (روز بیست و هشتم Cage گذاری)



Biomonitoring of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) and Heavy Metals Ni, V in Sediments and Anodonts of the Anzali Lagoon and Applicability of Neutral Red Retention Assay (NRR) as Biomarkers of These Pollutants

By: Lida Salimi

Abstract:

Biochemical Ecotoxicology and Biomarkers using are a new sciences that are used for biomonitoring in aquatic environment. Biomonitoring plays a vital role in strategies to identify, assess, and control contaminants. On the other hands in recent year's attention to polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) and heavy metals increased in aquatic environments because of their carcinogenic and mutagenic properties combined with their nearly ubiquitous distribution in depositional environments by oil pollution or industrial waste waters.

The present research aimed to assess PAHs and Ni, V levels in surface sediments and bivalves (*Anodonta cygnea*) and the effects of PAHs and heavy metals (Ni, V) on the hemocyte of the *Anodonta cygnea* were investigated in 2 stations (Mahrozeh, Selke in Anzali Lagoon, North of Iran). Samples were collected during at 2 different periods of the year, Dry and rain seasons, (June & September) and to confirm our first observations, Cage station is added. The bivalves hemocytes were monitored for membrane injury by NRR methods (neutral red retention assay).

Heavy metal (Ni, V) concentrations were determined by Atomic Absorption in *Anodonta cygnea* and the sediments in Anzali Lagoon. The vanadium concentration in bivalves and sediments was ND(not detect)-0.4231 $\mu\text{g/g}$ and 1.4381-306.9603 $\mu\text{g/g}$ dry weight respectively. Nickel concentration in bivalves and sediments was 0.0231-1.3351, 0.4024-19.3561 $\mu\text{g/g}$ dry weight respectively.

PAHs concentrations were determined by GC-Mass in *Anodonta cygnea* and the sediments. Average concentration of PAHs is 115-373.788 ng/g dry weight in bivalves and average concentration of PAHs is 34.85-1339.839 ng/g dry weight in sediments. Bioaccumulation sediments factor(BASF) is high about PAHs (>1) and BASF is low for Ni, V (<1) .

Internal Damage mechanisms of bivalves hemocytes (cell mortality, dye leakage, decreased membrane stability, ...) are observed (Lowe Methods).

Statistical analysis was used to explore the relationship between altered cellular and above contaminants. There are power and negative correlations between PAHs and NRR method for hemocytes in *Anodonta cygnea* ($P < 0.0005$), but good correlation is not observed between Ni, V and NRR method for hemocytes in every time.

This research indicates that the NRR assay is a useful screening technique able to discriminate polluted sites and at first we announce that *Anodonta cygnea* hemocytes are efficient biomarker for PAHs pollutants in fresh water.

Key words: PAHs, Ni, V, Bivalves, Neutral red retention, Hemocytes, Contaminants, Anzali Lagoon, Bioaccumulation.