مجله علمی شیلات ایران ۳۲(۱) ۹۵-۱۰۸ (DOI): 10.22092/ISFJ.2023.129148

CC BY

مقاله علمی - پژوهشی:

تغییرات رشد، زنده‌مانی و برخی شاخص‌های فیزیولوژیک آرتمیای دریاچه ارومیه (*Artemia urmiana*) در مواجهه با سمیت مزمن حشره‌کش سایپرمترین

رحیم‌اله بختیاری[۱]، کوروش سروی مغانلو*[۱]، بهروز آتشبار کنگرلوئی[۲]، احمد ایمانی[۱]، مجتبی پوراحد انزابی[۱]

*k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir

۱- گروه شیلات و آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه ایران

۲- گروه اکولوژی و مدیریت ذخایر آبی، پژوهشکده آرتمیا و آبزی‌پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: آذر ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۴۰۲

چکیده

با توجه به مصرف حشره‌کش سایپرمترین در کشاورزی استان آذربایجان‌غربی و احتمال ورود آن به دریاچه ارومیه، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثر سم سایپرمترین بر رشد، زنده‌مانی و برخی شاخص‌های فیزیولوژیک *Artemia urmiana* انجام گرفت. بدین منظور، ابتدا غلظت کشندگی متوسط (LC_{50}) سایپرمترین برای ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۹۶ در مراحل ناپلی، متاناپلی و بالغین با استفاده از آزمون پروبیت به‌دست آمد. میانگین غلظت‌های LC_{50} ۹۶ ساعته به منظور بررسی اثر سمیت مزمن استفاده شد. در ادامه ناپلی‌ها در قالب ۴ تیمار شامل گروه شاهد، ۲۵ درصد LC_{50}، ۵۰ درصد LC_{50} و ۱۰۰ درصد LC_{50} به مدت ۱۵ روز پرورش داده شدند. در پایان آزمایش شاخص‌های رشد، زنده‌مانی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و گوارشی کل بدن سنجیده شدند. نتایج نشان داد غلظت‌های مختلف سایپرمترین باعث کاهش رشد و زنده‌مانی در آرتمیای دریاچه ارومیه شد ($p<۰/۰۵$) و میزان این کاهش به سن آرتمیا و مدت زمان مواجهه بستگی داشت. بیشترین کاهش رشد و زنده‌مانی مراحل مختلف زندگی *A. urmiana* در گروه ۱۰۰ درصد LC_{50} مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). نتایج فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان داد که سایپرمترین منجر به کاهش سطوح سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و مالون دی‌آلدئید شد ($p<۰/۰۵$) اما تغییری در فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). همچنین فعالیت آنزیم‌های گوارشی لیپاز و آلفا-آمیلاز تحت تاثیر سایپرمترین کاهش یافتند ($p<۰/۰۵$) اما در فعالیت آلکالین پروتئاز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). به طور کلی، می‌توان بیان کرد که حشره‌کش سایپرمترین منجر به کاهش رشد، زنده‌مانی و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و گوارشی در *A. urmiana* شد.

لغات کلیدی: حشره‌کش سایپرمترین، رشد، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، آنزیم‌های گوارشی، *Artemia urmiana*

*نویسنده مسئول

مقدمه

اکوسیستم‌های آبی همواره تحت تاثیر انواع آلاینده‌ها هستند. در این بین یکی از راه‌های آلودگی منابع آبی با آفت‌کش‌ها زهکش زمین‌های کشاورزی است (Mansingh and Wilson, 1995). فعالیت کشاورزی همواره با مشکلاتی نظیر انواع آفات در برداشت غذایی مواجه بوده است و کشاورزان جهت مقابله با آنها ناگزیر از آفت‌کش‌های مختلف استفاده می‌کنند. افزایش جمعیت و تقاضا برای مصرف مواد غذایی و از سویی، محدود بودن نهاده‌های تولید منجر به استفاده از مواد مختلفی برای کنترل عوامل محدود کننده در تولیدات کشاورزی شده است. البته آفت‌کش‌ها علاوه بر کشاورزی در محیط‌های آبی، جنگل‌ها و حفظ سلامت حیوانات نیز به‌کار می‌روند (زند و همکاران، ۱۳۸۲). انواع حشره‌کش‌ها، علف‌کش‌ها و قارچ‌کش‌ها موجودات زنده خاصی که از نظر انسان‌ها مزاحم تلقی می‌شوند، از بین می‌برند. امروزه معمولاً آفت‌کش‌هایی مدنظر هستند که باقی مانده آنها کم، حلالیت آنها در آب پایین و قابلیت جذب آنها به خاک بیشتر باشد (Pimentel, 2005). با این‌حال، استفاده از این مواد شیمیایی در دنیا افزایش یافته و بخش قابل‌توجهی از این ترکیبات وارد منابع آبی شده است (Aydın and Köprücü, 2005; De Prado *et al*., 2012). آلودگی محیط‌های آبی با آفت‌کش‌ها تهدید جدی برای پایه‌های اصلی زنجیره غذایی (فیتوپلانکتون‌ها و زئوپلانکتون‌ها) محسوب می‌شود (کردوانی، ۱۳۷۴). در ایران نیز مصرف آفت‌کش‌های پرخطر مانند دیازینون، سایپرمترین، گلایفوزیت و پاراکوات بالاست (زند، ۱۳۸۷). حشره‌کش سایپرمترین یکی از سموم پایروتروییید مصنوعی است که بیش از دو دهه به‌عنوان جایگزینی برای سموم ارگانوفسفره، ارگانوکلره و کاربامات‌ها استفاده می‌شود (Asztalos *et al*., 1990). حشره‌کش‌های پایروتروییید به‌طور گسترده برای کنترل انواع مختلف آفات و افزایش تولیدات کشاورزی استفاده می‌شوند (Wengatz *et al*., 1996). این مواد شیمیایی بیشترین سمیت را برای ماهیان و سایر آبزیان و کمترین سمیت را در پرندگان دارند (Milam *et al*., 2000). به دلیل استفاده بیش از حد از پایروتروییدهای مصنوعی، محیط زیست و منابع آبی در حال آلوده شدن است. در نتیجه، حیات منابع آبی به صورت مستقیم و زندگی انسان به‌طور غیر مستقیم در خطر است (Hill, 1989). وزن مولکولی سایپرمترین ۴۱۶/۳ گرم بر مول و فرمول مولکولی آن $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$ است. نوعی حشره‌کش غیرسیستمیک، تماسی و گوارشی است و دارای اثر سریع، پایدار و بسیار موثر بر انواع آفات است. این سم به طور گسترده برای کنترل آفات گیاهی و انگل‌های خارجی گاو، گوسفند، مرغ و جهت مبارزه با انگل خارجی *Lepeophtheirus salmonis* در پرورش ماهی آزاد اقیانوس اطلس در قفس نیز استفاده می‌شود (Treasurer and Wadsworth, 2004).

آرتمیا توزیع جغرافیایی گسترده‌ای دارد و در دریاچه‌های آب شور، مرداب‌های ساحلی، چاه‌های آب شور و سایر منابع آبی که شوری کم تا حد اشباع دارد، پراکنش دارند (Nunes *et al*., 2006; Libralato, 2014). آرتمیا در آبزی‌پروری به عنوان غذای زنده کاربرد دارد و همانند سخت‌پوست-زئوپلانکتون‌هایی مثل کوپه‌پودها و دافنی‌ها در محیط‌های طبیعی که لارو ماهیان آنها را مصرف کرده و نقش مهمی در انتقال زنجیره انرژی منابع آبی و دریاها ایفاء می‌کنند (Ates *et al*., 2013a; Ates *et al*., 2013b; Gambardella *et al*., 2014). چرخه زندگی کوتاه، نیاز غذایی کم و تولید نتاج زیاد از مشخصه‌های انواع گونه‌های این جنس بوده که باعث شده است، آزمایش‌های زیستی متنوعی در بررسی سمیت آلاینده‌ها را به عنوان مدل بر آنها انجام شود. در این آزمایش‌ها توانایی هچ شدن سیست‌ها، تولید زی‌توده، توانایی تولید مثل، میزان مصرف اکسیژن و رفتارهایی مثل سرعت شنا، مورد بررسی قرار می‌گیرند (Gambardella *et al*., 2014). پیش‌تر نیز نتایج مطالعات متعددی از بررسی مواد شیمیایی مثل آرسنیک و مس (Brix *et al*., 2003, 2006)، کادمیوم، کروم و جیوه (Leis *et al*., 2014)، نانومواد (Libralato, 2014)، علف‌کش‌ها، حشره‌کش‌ها و آفت‌کش‌ها (Varó *et al*., 1998, 2002) و فاضلاب‌ها (Krishnakurmar *et al*., 2007) بر *Artemia salina* نشان‌دهنده اثر منفی این آلاینده‌ها بر تکامل لاروی، رشد، زنده‌مانی، نرخ مصرف اکسیژن، تولید مثل و تغییرات ریخت‌شناسی داشتند. *Artemia urmiana* یکی از

مهم‌ترین گونه جنس آرتمیا بوده و زیستگاه اصلی آن دریاچه ارومیه است. با توجه به این‌که این دریاچه را باغ‌ها و زمین‌های مزروعی وسیعی احاطه کرده است و مصرف سم سایپرمترین در استان آذربایجان غربی به عنوان یکی از قطب‌های کشاورزی و باغداری کشور بالاست، بنابراین، این احتمال وجود دارد که این سم به محیط دریاچه ارومیه یا برکه‌های اطراف وارد شده و منجر به آسیب‌های فیزیولوژیک در این گونه گردد. لذا، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر سمیت حاد و مزمن حشره‌کش سایپرمترین بر رشد، زنده‌مانی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و گوارشی آرتمیای دریاچه ارومیه انجام گرفت.

مواد و روش کار

تخم‌گشایی آرتمیا

سیست آرتمیا در آب شور ۳۳ گرم در لیتر، دمای ۲۸-۲۷ درجه سانتی‌گراد، حداقل اکسیژن محلول ۲ میلی‌گرم در لیتر به همراه نور و هوادهی مناسب به مدت ۲۴ ساعت در ظروف ته مخروطی تخم‌گشایی شدند. برای تهیه آرتمیا با سنین مختلف تعداد ۵۰۰ عدد ناپلی شمارش و به ظروف ته مخروطی حاوی ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب دریا با شوری ۸۰ گرم در لیتر منتقل شدند. دمای محیط پرورش در حدود ۲۸ درجه سانتی‌گراد تنظیم و ظروف ته مخروطی به کمک پیپت پلاستیکی و لوله‌های هوادهی از ته ظروف هوادهی شدند (Ates *et al*., 2013a).

تعیین میزان غلظت بی‌اثر (NOEC[1])، حداقل غلظت موثر (LOEC[2]) و غلظت متوسط کشنده (LC_{50}[3]) حشره‌کش سایپرمترین در مراحل مختلف رشد آرتمیا

آزمایش اولیه به منظور مشخص کردن محدوده سمیت سایپرمترین در مرحله ناپلی آرتمیا انجام گردید. مدت زمان آزمایش ۲۴ ساعت و روی ۵۰ عدد ناپلی و در سه تکرار بود (Lan and Lin, 2005). با توجه به نتایج به‌دست آمده از آزمایش مقدماتی، ۸ غلظت از حشره‌کش سایپرمترین در محدوده غلظت ۰/۰۰۰۰۴ الی ۴ میلی‌گرم در لیتر و بر اساس تصاعد هندسی انتخاب شدند (Barahona and Sanchez-Fortun, 1999). بعد از آماده‌سازی غلظت‌های مختلف تعداد ۵۰ عدد از ناپلی، متاناپلی و آرتمیای بالغ به ظروف ۱۰۰ سی‌سی منتقل شده (۵ تکرار برای هر غلظت) و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و دوره ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری و در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت تعداد تلفات شمارش شدند. در انتها مقدار عددی LC_{50} حشره‌کش سایپرمترین برای مدت زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت بر اساس آزمون پروبیت[4] محاسبه شد (محیسنی و همکاران، ۱۳۸۸). همچنین میزان غلظت بی‌اثر و حداقل غلظت موثر حشره‌کش سایپرمترین محاسبه شدند (APHA, 1992).

بررسی اثر سمیت مزمن حشره‌کش سایپرمترین بر شاخص‌های زیستی آرتمیا

بر اساس نتایج مراحل قبل سه تیمار آزمایشی شامل ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد غلظت LC50 به‌همراه یک گروه شاهد جهت مطالعه اثر وجود غلظت‌های تحت کشنده حشره‌کش سایپرمترین در محیط پرورش آرتمیا تا مرحله آرتمیای بالغ (روز ۱۵) مورد استفاده قرار گرفت (محیسنی و همکاران، ۱۳۸۸). تغذیه آرتمیاها در این مرحله با استفاده از جلبک *Dunaliella salina* انجام گرفت (Coutteu,1996; Agh *et al*, 2008).

بررسی رشد و زنده‌مانی

میانگین طول کل آرتمیاها در شروع دوره پرورشی (روز ۱) برای تمامی تیمارها ۰/۴۵۱±۰/۰۰۳ میلی‌متر بود. میزان رشد با واحد میلی‌متر در مراحل سنی ۸، ۱۱ و ۱۵ روز پرورشی بعد از انتخاب تصادفی و تثبیت در محلول لوگول با استفاده از میکروسکوپ مجهز به میکرومتر چشمی و لام مدرج اندازه‌گیری شد. بدین‌منظور، طول بدن از سر تا انتهای بند شکمی اندازه گرفته شد. با توجه به محدودیت کاربرد میکروسکوپ در اندازه‌گیری طول آرتمیا در مراحل پایانی از یک دستگاه استریومیکروسکوپ ترسیم و دستگاه دیجیتایزر استفاده گردید (Agh *et al*., 2008). درصد زنده‌مانی نیز در

[1] No Observed Effect Concentration
[2] Lowest Observed Effect Concentration
[3] Median Lethal Concentration
[4] Probit Analysis Test

روزهای ۸، ۱۱ و ۱۵ دوره پرورشی با توجه به تعداد آرتمیاهای زنده نسبت به کل آرتمیاهای روز اول تعیین گردید. بدین‌ترتیب، تعداد آرتمیاها در هر تیمار با استفاده از الک ۱۵۰ میکرونی جدا و شمارش و نهایتاً به صورت درصد زنده‌مانی بیان شد. در طول این دوره آب ظروف پرورشی، روزانه به میزان ۱۰ درصد تعویض و غلظت مورد نیاز حشره‌کش سایپرمترین بر اساس میزان آب تازه تامین گردید (رحیمی و نجات خواه، ۱۳۹۰).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و گوارشی

بدین‌منظور، نمونه‌برداری از آرتمیاها در انتهای دوره (روز ۱۵) انجام و برای تهیه عصاره خام آنزیمی، آرتمیاها در بافر تریس- کلریدریک و با استفاده از هموژنایزر همگن شدند (Qu *et al*., 2014). پس از سانتریفیوژ هموژنه‌ها سوپرناتانت حاصل جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده شد. سنجش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز بر اساس روش توصیه شده Yazdanparast و همکاران (۲۰۰۸) انجام گرفت. سنجش میزان فعالیت مالون دی‌آلدئید نیز بر اساس میزان مهار تیوباربیتوریک اسید به‌وسیله مالون دی‌آلدئید موجود در عصاره خام آنزیمی صورت گرفت. در ادامه نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۵۳۵ نانومتر قرائت شدند (Ledwozyw *et al*., 1986). به منظور تهیه عصاره‌های خام آنزیمی جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی بدن آرتمیاها از محلول نمک فیزیولوژیک استفاده شد (Rungraungsak-Torrissen, 2007). پس از سانتریفیوژ هموژن‌ها از مایع رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی آلکالین پروتئاز، لیپاز و آلفاآمیلاز بر اساس روش توصیه شده عشقی و همکاران (۱۳۹۵) استفاده شد.

روش تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

داده‌های حاصل با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه مورد بررسی قرار گرفتند. البته پیش از انجام آنالیز نرمال بودن داده‌ها و یکنواختی واریانس‌ها به ترتیب با استفاده از آزمون‌های شاپیروویلک و لون صورت گرفت. تمام آنالیزها در محیط نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام پذیرفت و سطح خطای نوع اول در آزمون‌ها ۰/۰۵ انتخاب شد. همچنین نتایج به صورت Mean±SD گزارش شدند.

نتایج

غلظت بی‌اثر، حداقل غلظت موثر و غلظت متوسط کشنده

غلظت بی‌اثر (NOEC)، حداقل غلظت موثر (LOEC) و غلظت متوسط کشنده (LC_{50})، در مدت زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت به همراه مراحل مختلف زندگی آرتمیای دریاچه ارومیه شامل ناپلی، متاناپلی و بالغ در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱: غلظت بی‌اثر (NOEC)، حداقل غلظت موثر (LOEC) و غلظت متوسط کشنده (LC_{50}) حشره‌کش سایپرمترین بر آرتمیای دریاچه ارومیه (*Artemia urmiana*)

Table 1: No Observed Effect Concentration (NOEC), Lowest Observed Effect Concentration (LOEC) and Median Lethal Concentration (LC_{50}) of cypermethrin insecticide on *Artemia urmiana*

	ناپلی	متاناپلی	بالغ
غلظت بی‌اثر (NOEC) (میکروگرم بر لیتر)			
۲۴ ساعت	۸۱/۲	۳	۱۹۶
۴۸ ساعت	۲۱/۸	۰/۱۳	۵۶/۲
۹۶ ساعت	۰/۳۴	۰/۰۱۱	۰/۰۱
حداقل غلظت موثر (LOEC) (میکروگرم بر لیتر)			
۲۴ ساعت	۵۶/۶۷	۰/۷۲۵	۱۰۳۴
۴۸ ساعت	۱۷/۷۶	۰/۱۴۶	۵۲
۹۶ ساعت	۰/۰۷	۰/۰۰۵۵	۰/۰۰۰۱
غلظت متوسط کشنده (LC_{50}) (میلی‌گرم بر لیتر)			
۲۴ ساعت	۰/۸۱۲	۰/۰۳	۱/۹۶
۴۸ ساعت	۰/۲۱۸	۰/۰۰۱۳	۰/۵۶۲
۹۶ ساعت	۰/۰۰۳۴	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

رشد و زنده‌مانی

مقایسه آزمون میانگین‌های شاخص رشد (جدول ۲) در روز ۸ پرورش نشان داد که این شاخص تحت تاثیر سم سایپرمترین قرار گرفت و کاهش یافت ($p<۰/۰۵$)

به‌طوری‌که کمترین رشد این مرحله در تیمارهای ۳ و ۴ مشاهده شد ($p<۰/۰۵$) که با تیمارهای ۱ و ۲ دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p<۰/۰۵$). تیمار ۲ نیز با تیمار ۱ دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p<۰/۰۵$). همچنین نتایج نشان داد که در روز ۱۱ پرورش، تیمار ۴ با تیمارهای ۱، ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$) به‌طوری‌که کمترین رشد در این تیمار دیده شد. مقایسه بین تیمارهای ۲ و ۳ با تیمار ۱ اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p>۰/۰۵$). شاخص رشد در روز ۱۵ پرورش نیز در تمامی تیمارها تحت تاثیر سم سایپرمترین کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). با افزایش غلظت سم در این مرحله روند کاهشی رشد بیشتر مشاهده شد به‌طوری‌که اختلاف معنی‌داری بین تیمار ۴ با تیمارهای ۲ و ۳ دیده شد ($p<۰/۰۵$). تیمارهای ۲ و ۳ نیز در مقایسه با تیمار ۱ اختلاف معنی‌داری نشان دادند ($p<۰/۰۵$).

جدول ۲: عملکرد رشد آرتمیای دریاچه ارومیه (*Artemia urmiana*) بر حسب میلی‌متر در روزها و تیمارهای مختلف پرورشی (میانگین ± انحراف معیار، n=۳)

Table 2: Growth performance (mm) of *Artemia urmiana* in different days and treatments (Mean ± SD, n=3)

تیمار / روز	۸	۱۱	۱۵
۱ (شاهد)	۱/۹۶±۰/۱۷^{c}	۲/۴۴±۰/۱۵^{b}	۶/۷±۰/۳۷^{c}
۲ (۲۵ درصد)	۱/۵۶±۰/۰۵^{b}	۲/۱۶±۰/۰۶^{b}	۳/۷۹±۰/۲۲^{b}
۳ (۵۰ درصد)	۱/۲۵±۰/۰۵^{a}	۲/۳۸±۰/۱^{b}	۳/۴۱±۰/۳۹^{b}
۴ (۱۰۰ درصد)	۱/۰۹±۰/۰۳^{a}	۱/۷۳±۰/۰۷^{a}	۲/۳۲±۰/۲۳^{a}

حروف غیر یکسان در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $p<۰/۰۵$ است.

نتایج مربوط به میانگین‌های شاخص درصد زنده‌مانی در روزهای ۸، ۱۱ و ۱۵ پرورش (جدول ۳) نشان داد که این شاخص تحت تاثیر سم سایپرمترین کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). بررسی این شاخص نشان داد که در روز ۸ پرورش تیمار ۴ با تیمارهای ۱، ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). بین تیمارهای ۱ و ۳ با تیمار ۲ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). همچنین نتایج نشان داد که در روز ۱۱ پرورش، تیمارهای ۳ و ۴ با تیمارهای ۱ و ۲ اختلاف معنی‌داری داشتند ($p<۰/۰۵$). بین تیمار ۲ با تیمار ۱ نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). نتایج به‌دست آمده نشان داد که در روز ۱۵ پرورش تیمارهای ۲، ۳ و ۴ با تیمار ۱ و تیمار ۲ و ۳ با تیمار ۴ اختلاف معنی‌داری داشتند ($p<۰/۰۵$).

جدول ۳: زنده‌مانی (٪) آرتمیای دریاچه ارومیه (*Artemia urmiana*) در روزها و تیمارهای مختلف پرورشی (میانگین ± انحراف معیار، n=۳)

Table 3: Survival of *Artemia urmiana* in different days and treatments (Mean ± SD, n=3)

تیمار / روز	۸	۱۱	۱۵
۱ (شاهد)	۸۰/۸±۶/۴^{c}	۷۰/۹±۳/۳^{c}	۵۵/۸±۵/۹^{c}
۲ (۲۵ درصد)	۷۷/۲±۲/۲^{bc}	۴۶/۸±۴/۷^{b}	۲۹/۹±۵/۵^{b}
۳ (۵۰ درصد)	۶۲/۹±۳/۸^{b}	۳۰/۱±۳/۲^{a}	۱۹±۵/۵^{ab}
۴ (۱۰۰ درصد)	۴۳/۷±۶/۳^{a}	۲۵/۴±۲/۲^{a}	۸/۳±۱/۵^{a}

حروف غیر یکسان در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $p<۰/۰۵$ است.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و گوارشی

بر اساس نتایج مربوط به شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی (جدول ۴)، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای ۱ و ۴ با تیمارهای ۲ و ۳ دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($p<۰/۰۵$). کمترین و بیشترین فعالیت این آنزیم به‌ترتیب در تیمارهای ۲ و ۱ مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). فعالیت آنزیم کاتالاز نیز در تیمار ۱ با تیمارهای ۲ و ۳ و در تیمار ۲ با تیمارهای ۱ و ۴ اختلاف معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$).

کمترین فعالیت این آنزیم در تیمار ۲ و بیشترین فعالیت آن در تیمار ۱ مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). در فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). البته کمترین و بیشترین فعالیت این آنزیم به‌ترتیب در تیمارهای ۳ و ۱ به ثبت رسید. مالون دی‌آلدئید در تیمار ۱ با تیمار ۴ اختلاف معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). کمترین فعالیت این شاخص در تیمار ۴ و بیشترین آن در تیمار ۱ مشاهده شد ($p<۰/۰۵$).

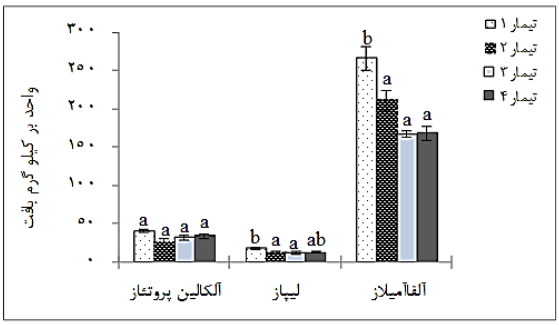
جدول ۴: شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی آرتمیای دریاچه ارومیه (*Artemia urmiana*) در تیمارهای مختلف پرورشی (میانگین ± انحراف معیار، n=۳)

Table 4: Antioxidative indices of *Artemia urmiana* in different days and treatments (Mean ± SD, n=3)

تیمار / شاخص	سوپراکسید دیسموتاز (واحد بر گرم بافت)	کاتالاز (واحد بر گرم بافت)	گلوتاتیون پراکسیداز (واحد بر گرم بافت)	مالون دی‌آلدئید (میکرومول بر کیلوگرم بافت)
۱ (شاهد)	۱۳۷±۶^{b}	۲۷۴±۱۷^{c}	۵۴۰±۱۴^{a}	۲۳۲±۲۱^{b}
۲ (۲۵ درصد)	۹۶±۳^{a}	۱۹۹±۱۰^{a}	۵۳۰±۸۱^{a}	۱۸۹±۳۱^{ab}
۳ (۵۰ درصد)	۹۸±۳^{a}	۲۱۰±۷^{ab}	۴۶۳±۶^{a}	۱۵۸±۱۳^{ab}
۴ (۱۰۰ درصد)	۱۲۲±۳^{b}	۲۴۶±۱۰^{bc}	۴۹۷±۹^{a}	۱۳۴±۵^{a}

حروف غیر یکسان در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $p<۰/۰۵$ است.

نتایج فعالیت آنزیم‌های گوارشی (شکل ۱) نشان داد که در آلکالین پروتئاز اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). بیشترین فعالیت این آنزیم در تیمار ۱ و کمترین فعالیت آن در تیمار ۲ مشاهده شد. فعالیت آنزیم لیپاز در تیمار ۱ با تیمارهای ۲ و ۳ دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p<۰/۰۵$).



شکل ۱: تغییرات فعالیت آنزیم‌های گوارشی آرتمیای دریاچه ارومیه (*Artemia urmiana*) برای تیمارهای مختلف پرورشی حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $p<۰/۰۵$ است (میانگین ± انحراف معیار، n=۳)

Figure 1: Changes in the digestive enzymes activity of *Artemia urmiana* in different treatments (Mean ± SD, n=3)

کمترین و بیشترین سطح فعالیت این آنزیم به‌ترتیب در تیمارهای ۲ و ۱ مشاهده شد. همچنین این نتایج نشان داد که در فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز تیمار ۱ با تیمارهای ۲، ۳ و ۴ دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p<۰/۰۵$). بیشترین و کمترین فعالیت این آنزیم نیز به‌ترتیب در تیمارهای ۱ و ۳ مشاهده شد.

بحث

اگرچه تمامی بوم‌سامانه‌ها در برابر سموم و آلاینده‌ها حساس هستند، اما منابع آبی بیشتر در معرض این آلودگی‌ها بوده است و زنجیره غذایی آنها مورد تهدید جدی قرار دارند. این آلودگی‌های محیطی از طریق اثر بر میزان فیلتراسیون و جذب مواد غذایی باعث آسیب‌های فیزیولوژیک آبزیان ساکن در این اکوسیستم‌ها می‌شوند (کردوانی، ۱۳۷۴).

نتایج به‌دست آمده از غلظت LC_{50} سم سایپرمترین برای آرتمیای دریاچه ارومیه نشان داد که با افزایش مدت زمان آزمایش در هر سه مرحله ناپلی، متاناپلی و بالغ غلظت LC_{50} کاهش یافت. به عبارتی، در این مراحل متاناپلی‌ها در برابر سم سایپرمترین حساسیت بیشتری در مقایسه با ناپلی‌ها و بالغین نشان دادند. همچنین در بررسی نتایج غلظت LC_{50} در مدت زمان ۹۶ ساعت پایین‌ترین غلظت سم در مرحله‌های متاناپلی و بالغ و بیشترین غلظت سم در مرحله ناپلی به‌دست آمد. می‌توان این‌گونه بیان کرد که ناپلی‌ها در مدت زمان ۹۶ ساعت به نسبت متاناپلی‌ها و آرتمیاهای بالغ

مقاومت بیشتری نشان دادند. حساسیت بالای متاناپلی آرتمیا در برابر آلاینده‌ها و سموم در مقایسه با ناپلی‌ها در مطالعات مختلفی گزارش شدند که با تحقیق حاضر هم‌خوانی دارند. رفتار و میزان حساسیت زئوپلانکتون‌های مختلف در برابر آلاینده‌های محیطی در ارتباط با سن موجود بیان شده است (Chiarelli *et al*., 2019). محیسنی و همکاران (۱۳۸۸) در بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف سم دیازینون بر آرتمیای دریاچه ارومیه، متابولیسم پایین در ناپلی‌ها و به دنبال آن فیلتراسیون کمتر نسبت به متاناپلی‌ها را از دلایل مقاومت بیشتر مرحله ناپلی در مقایسه با متاناپلی عنوان کردند. تصور بر این است که افزایش نرخ متابولیسم آرتمیا در مرحله متاناپلی در مقایسه با مرحله ناپلی منجر به افزایش شدت فیلتراسیون جهت جذب بیشتر مواد غذایی شده و به دنبال آن جذب آلاینده‌های محیطی افزایش می‌یابد. از سویی، در این مرحله مقاومت آرتمیا در مقایسه با بالغین کمتر است (محیسنی و همکاران، ۱۳۸۸).

روند تاثیر سم سایپرمترین در روزهای مختلف پرورش نشان داد که بیشترین غلظت سم سایپرمترین که ۱۰۰ درصد LC_{50} بود، بیشترین اثر را بر کاهش رشد داشت به‌طوری‌که در تمامی روزهای پرورش کمترین رشد در این تیمار دیده شد. غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ درصد LC_{50} که در تیمارهای ۲ و ۳ استفاده شد، در روز ۸ پرورش اختلاف معنی‌داری داشتند و در روزهای ۱۱ و ۱۵ اگرچه بین این تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، اما رشد آرتمیاها کاهش داشت. مطالعات متعددی از اثرات سموم مختلف بر تغییرات شاخص رشد در آبزیان گزارش شد که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارند. بررسی تاثیر سمیت فلزات نیکل و وانادیوم بر رشد گونه‌های آرتمیا ارومیانا و *Artemia franciscana* نشان داد که میانگین رشد در روزهای ۵، ۷ و ۱۱ پرورش با افزایش غلظت کاهش داشت (Asadpour *et al*., 2012). نتیجه مشابه Carriquiriborde و همکاران (۲۰۰۹) از اثرات سم سایپرمترین بر کاهش رشد بچه‌ماهیان پجری (*Odontesthes bonariensis*) گزارش شد. اختلال در رفتارهای تغذیه‌ای و همینطور پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک آبزیان از عوامل کاهش رشد در مواجهه با سموم مختلف عنوان شد. رفتار تغذیه‌ای آبزیان نسبت به تغییرات محیطی از جمله آلاینده‌ها و سموم بسیار حساس و آسیب‌پذیر است. بروز شرایط استرس محیطی در کوتاه‌ترین زمان ممکن موجودات را وادار به پاسخ و تغییر در رفتار تغذیه‌ای می‌کند و در ادامه کاهش نرخ تغذیه و کاهش رشد رخ می‌دهد (Kasumyan, 2000). از سویی، ممکن است سموم از طریق جذب سلولی و آسیب زدن به اندامک‌ها و اعمال تغییرات در سطح فعالیت آنزیم‌های گوارشی باعث کاهش رشد شوند (Cong *et al*., 2009; Rudnicki *et al*., 2009; Aggarwal *et al*., 2013).

بررسی تاثیر غلظت سم سایپرمترین در روزهای مختلف پرورش نشان داد که مواجهه آرتمیا با غلظت‌های مختلف این سم در تمامی روزهای پرورشی باعث کاهش زنده‌مانی شد به‌طوری‌که در تمامی مراحل زندگی کمترین بازماندگی در تیمارهای حاوی سم دیده شد و تن‌ها در روز ۸ پرورش در تیمار ۲ که محیط پرورش حاوی ۲۵ درصد LC_{50} بود اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد دیده نشد. همچنین مشخص شد که با افزایش سن، مرگ و میر آرتمیاها در مواجهه با سم سایپرمترین کاهش یافت. در مطالعه Alishahi و Dezfuli (۲۰۱۹) بررسی نتایج شاخص زنده‌مانی *Artemia salina* نشان داد که افزایش غلظت و مدت زمان مواجهه با آفت‌کش‌های پاراکوات، تری‌فلورالین، گلیفوزیت، آترازین و 2,4-dichlorophenoxy acetic acid منجر به افزایش تلفات و کاهش درصد زنده‌مانی در همه سموم شد. همچنین مجتبی علیشاهی و بختیار حیدری (۱۳۹۰) در مطالعه بررسی تاثیر نانوذرات نقره بر ناپلی آرتمیای دریاچه ارومیه نشان داده شد که شاخص درصد زنده‌مانی با افزایش غلظت و مدت زمان رویارویی کاهش یافت. Carriquiriborde و همکاران (۲۰۰۹) کاهش درصد زنده‌مانی بچه‌ماهیان بیجر (*Odontesthes bonariensis*) در مواجهه با سم سایپرمترین را گزارش کردند. نتایج این مطالعات با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارند. شاخص زنده‌مانی روزهای ۱۱ و ۱۵ پرورشی در تیمارهای ۳ و ۴ مطالعه حاضر با افزایش غلظت سم کاهش یافت، اما این اختلاف معنی‌دار نبود. می‌توان این‌گونه بیان کرد که با توجه به اثر سم و افزایش تلفات و کاهش تراکم پرورش، شدت مرگ و میر آرتمیاهای تیمار ۴ در مقایسه با تیمار ۳ افزایش

چندانی نداشت. پیشتر نیز این ارتباط در مورد دافنی‌ها گزارش شد (Taylor *et al*., 1998).

بررسی روند تغییرات فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نشان داد که کمترین غلظت سم سایپرمترین بیشترین تاثیر را در کاهش فعالیت این آنزیم داشت به‌طوری‌که در تیمارهای ۲، ۳ و ۴ به‌ترتیب کمترین سطح فعالیت آین آنزیم مشاهده شد. مشابه این روند در فعالیت آنزیم کاتالاز دیده شد. فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز اگرچه تغییرات معنی‌داری را نشان نداد، اما می‌توان گفت که تاثیر سم بر کاهش فعالیت این آنزیم مشهود بود. همچنین روند تغییرات مالون دی‌آلدئید نشان داد با افزایش غلظت سم در تیمارهای آزمایشی سطح فعالیت این شاخص کاهش داشت. Gambardella و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی اثر سمیت اکسید قلع (SnO_2) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی *Artemia salina* گزارش کردند که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون اس‌ترانسفراز در مواجهه با این سم کاهش یافت. مشابه همین نتایج در مورد سایر موجودات با آلاینده‌های مختلف گزارش شد. برای مثال، کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در مواجهه با سیانید در خرگوش‌ها نشان‌دهنده مهار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌واسطه سموم و آلاینده‌ها بود (Okolie and Osobase, 2005). Federici و همکاران (۲۰۰۷) نیز در بررسی تاثیر استرس اکسیداتیو بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به این نتیجه رسیدند که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت کبد در مواجهه با نانوذرات نقره کاهش یافت. در مطالعه حاضر، کاهش سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در مواجهه با غلظت‌های پایین سم در تیمارهای ۲ و ۳ را می‌توان به مصرف در جهت حذف رادیکال‌های آزاد و شرکت در فرآیند خنثی‌سازی نسبت داد (Rumley and Paterson, 1998). به‌نوعی با افزایش غلظت سم در تیمار ۴ و به دنبال آن افزایش رادیکال‌های آزاد سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آرتمیا تحریک و فعالیت این آنزیم افزایش یافت. سوپراکسید دیسموتاز اولین سد دفاعی در برابر رادیکال‌های آزاد است و آنیون‌های سوپراکسید را به اکسیژن و H_2O_2 تبدیل می‌کند. به همین علت فعالیت این آنزیم در مواجهه با کمترین استرس اکسیداتیو دچار تغییر می‌شود (Limon-Pacheco and Gonsebatt, 2009). در تحقیق حاضر، فعالیت آنزیم کاتالاز نیز روند مشابهی با سوپراکسید دیسموتاز داشت. ارتباط بین این دو آنزیم در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی به اثبات رسیده است. وظیفه اصلی آنزیم کاتالاز تجزیه متابولیت‌های تولیدی از سوپراکسید دیسموتاز به مولکول‌های آب و اکسیژن است (Valavanidis *et al*., 2006). در واقع، کاتالاز به منظور جلوگیری از آسیب‌های بافتی H_2O_2 را تجزیه و در ارتباط با فعالیت سوپراکسید دیسموتاز دچار تغییر می‌شود (Limon-Pacheco and Gonsebatt, 2009). عدم تغییر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در مطالعه حاضر احتمالاً سازگاری آرتمیا به شرایط استرس اکسیداتیو است. گلوتاتیون پراکسیداز آخرین آنزیمی است که وارد واکنش ضد اکسایشی می‌شود. میزان فعالیت متعادل این آنزیم نشان‌دهنده توانایی لازم برای خنثی کردن واکنش‌های زنجیره رادیکالی است (Schneider *et al*., 2005). در مطالعه حاضر، فعالیت مالون دی‌آلدئید با افزایش غلظت سم کاهش یافت. این روند کاهشی احتمالاً ناشی از افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن با افزایش غلظت سم بود. این آنزیم آخرین محصول پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء سلول‌هاست و به عنوان مارکر استرس اکسیداتیو شناخته می‌شود و کاهش فعالیت آن نشان‌دهنده مصرف در جهت خنثی‌سازی پراکسیداسیون لیپیدهاست (Jafari *et al*., 2012).

در مطالعه حاضر، سم سایپرمترین در غلظت‌های مختلف باعث کاهش سطح فعالیت آنزیم‌های گوارشی آرتمیای دریاچه ارومیه شد. آنزیم آلفاآمیلاز بیشترین تاثیر را در مواجهه با سم نشان داد. فعالیت این آنزیم در تمامی تیمارهای حاوی سم کاهش داشت. تا حدودی مشابه همین فرآیند در آنزیم لیپاز نیز مشاهده شد. فعالیت این آنزیم فقط در غلظت ۱۰۰ درصد LC_{50} به نسبت سایر غلظت‌ها، حداقل تغییرات کاهشی را نشان داد. فعالیت آنزیم آلکالین پروتئاز در مواجهه با سم دچار تغییرات اندکی شد، اما با این وجود روند کاهشی در این آنزیم نیز مشاهده شد. تغییرات در فعالیت آنزیم‌های گوارشی در پاسخ به آلاینده‌ها به عوامل مختلفی همچون نوع آنزیم، میزان تولید و ترشح آن بستگی دارد (Ramesh *et al*., 2017). سموم و آلاینده‌ها با اثر بر

مکانیسم تولید و ترشح آنزیم‌های گوارشی تاثیر خود را اعمال می‌کنند (Amiard-Triquet *et al*., 2012). نتایج مطالعات متعددی نشان‌دهنده تاثیر سموم و آلاینده‌ها بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی آبزیان بود. Wang و همکاران (۲۰۱۵) کاهش فعالیت آنزیم‌های گوارشی بچه‌ماهیان هامور (*Epinephelus coioides*) در مواجهه با نانوذرات مس و سولفات مس را گزارش کردند. همچنین بررسی غلظت‌های مختلف نیکل بر آنزیم‌های گوارشی بچه‌ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نشان داد که افزایش غلظت نیکل باعث کاهش فعالیت این آنزیم‌ها شد (Jain, 2009). برخی پژوهش‌ها نشان داد که تغییرات در سطح فعالیت آنزیم‌های گوارشی سایر آبزیان هم مشابه ماهیان در مواجهه با آلاینده‌ها بود. فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز دو گونه از شکم‌پایان *Sulculus diversicolor* و *Haliotis sieboldii* در رویارویی با محیط پرورشی آلوده به مس، کادمیوم و روی کاهش داشت (Hsieh *et al*., 2008). همچنین محققان کاهش فعالیت آنزیم‌های گوارشی صدف آب شیرین (*Corbicula striatella*) در مواجهه با مس و جیوه، کاهش آنزیم آلکالین پروتئاز ماهی مرکب (*Sepia offisinalis*) در رویارویی با نقره و اثر نیکل بر کاهش فعالیت آلفاآمیلاز صدف سبز (*Perna viridis*) را گزارش کردند (Sabapathy and Teo, 1992; Zambare and Mahajan, 2001; Le Bihan *et al*., 2004). تصور بر این است که سموم و آلاینده‌ها با اعمال شرایط تنش‌زا اشتهای آبزیان را کمتر می‌کنند و به دنبال آن میزان ترشح آنزیم‌های گوارشی کاهش می‌یابد. همچنین حضور این ترکیبات سمی باعث تغییرات کمی و کیفی مواد غذایی در دسترس شده و موجب تغییر الگوی فعالیت‌های آنزیمی می‌شوند (Suzer *et al*., 2006).

با توجه به نتایج به‌دست آمده از این تحقیق می‌توان بیان کرد که سم سایپرمترین حتی در غلظت‌های پایین منجر به کاهش درصد زنده‌مانی و رشد و همچنین باعث اختلال در اعمال حیاتی و فیزیولوژیک آرتمیای دریاچه ارومیه (*A. urmiana*) شد. البته نوع اختلال و شدت تاثیر این سم به دو عامل مدت زمان رویارویی و نیز سن آرتمیا بستگی داشت به‌طوری‌که متاناپلی‌ها کمترین زنده‌مانی را در غلظت‌های بالای سم داشتند. ناپلی‌های *A. urmiana* مقاومت بالایی را در رویارویی طولانی مدت و غلظت‌های بالا از خود نشان دادند. در مجموع، اثر غلظت بالای سم (۱۰۰ درصد LC_{50}) بر شاخص‌های رشد، زنده‌مانی و فیزیولوژیک مراحل مختلف زندگی آرتمیا بیشتر از سایر غلظت‌ها بود.

منابع

رحیمی، ب. و نجات‌خواه‌معنوی، پ.، ۱۳۹۰. تعیین LC_{50} و بررسی میزان تجمع کادمیوم در مراحل مختلف زندگی آرتمیای دریاچه ارومیه *Artemia urmiana* مجله علمی شیلات ایران، ۲۰ (۱): ۶۴-۵۳. DOI:10.22092/ISFJ.2017.109975

زند، ا.، باغستانی، م.ع.، شیمی، پ. و فقیه، ا.، ۱۳۸۲. تحلیلی بر مدیریت سموم علف‌کش در ایران. مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، ۳۲ صفحه.

زند، ا.، ۱۳۸۷. راهنمای مدیریت علف‌های هرز. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۴۲۰ صفحه.

عشقی، ش.ن.، نوری، ف.، ایمانی، ا. و آق، ن.، ۱۳۹۵. اثرات جایگزینی جلبک *Dunaleiia salina* با سبوس گندم و برنج و پروبیوتیک *Lactobacillus rhamnosus* بر شاخص‌های رشد، تجزیه تقریبی بدن و ترکیب اسیدهای چرب *Artemia franciscana* مجله علمی شیلات ایران، ۲۶(۱): ۲۱۲-۲۰۷. DOI: 20.1001.1.10261354.1396.26.1.17

علیشاهی، م. و بختیار حیدری، ب.، ۱۳۹۰. بررسی سمیت نانوذرات نقره در ناپلی آرتمیای دریاچه ارومیه. مجله پژوهش‌های نوین دامپزشکی، ۲(۸): ۵۴-۴۹.

کردوانی، پ.، ۱۳۷۴. زئوهیدروبیولوژی. انتشارات دانشگاه تهران، ۷۷ صفحه.

محیسنی، م.، فرهنگی، م.، محیسنی، ع.، میرواقفی، ع. و شکوه سلجوقی، ظ.، ۱۳۸۸. تأثیر سن بر میزان حساسیت ناپلیوس *Artemia urmiana* نسبت به غلظت‌های مختلف حشره‌کش دیازینون. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۶(۳): ۸۵-۷۷.

Aggarwal, V., Deng, X., Tuli, A. and Goh, K.S., 2013. Diazinon- chemistry and environmental fate: A California perspective. In: Whitacre D.M. (Ed.). *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 223: 107-140. DOI: 10.1007/978-1-4614-5577-6_5

Agh, N., Van Stappen, G., Razavi Rouhani, S.M. and Sorgeloos, P., 2008. Life cycle characteristics of Artemia populations from Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(6): 854-61. DOI: 10.3923/pjbs.2008.854.861

Alishahi, M. and Dezfuly, T.Z., 2019. Comparative toxicities of five herbicides on nauplii of *Artemia franciscana* as an ecotoxicity bioindicator. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 18(4): 716-726. DOI: 10.22092/ijfs.2019.118284

Amiard-Triquet, C., Amiard, J.C. and Rainbow, P.S., 2012. Ecological biomarkers: indicators of ecotoxicological effects. CRC Press, United States of America. pp 279-306.

APHA (American Public Health Association), 1992. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 18th edition. American Public Health Association, Washington, D.C. pp 349 -351.

Asadpour, Y.A., Nejatkhah Manavi, P. and Baniamam, M., 2012. Evaluating the Bioaccumulation of Nickel and Vanadium and their effects on the growth of *Artemia urmiana* and *A. franciscana*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(1):183-192. DOI: 20.1001.1.15622916.2013.12.1.15.8.

Asztalos, B., Nemcsók, J.G., Benedeczky, I., Gabriel, R., Szabo, A. and Refaie, O.J., 1990. The effects of pesticides on some biochemical parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 19(2): 275-282. DOI: 10.1007/BF01056097.

Ates, M., Daniels, J., Arsalan, Z. and Farah, I.O., 2013a. Comparative evaluation of impact of Zn and ZnO on brine shrimp *(Artemia salina)* larvae: effects of particle size and solubility on toxicity. *The Royal Society of Chemistry*, 15: 225-233. DOI: 10.1039/c2em30540b

Ates, M., Daniels, J., Arsalan, Z., Farah, I.O. and Rivera, H.F., 2013b. Effects of aqueous suspensions of titanium dioxide nanoparticles on *Artemia salina* assessment of nanoparticle aggregation, accumulation and toxicity. *Euvironmental Monitoring and Assessment*, 85: 3339-3348. DOI: 10.1007/s10661-012-2794-7

Aydın, R. and Köprücü, K., 2005. Acute toxicity of diazinon on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. *Pesticide biochemistry and physiology*, 82(3): 220-225. DOI: 10.1016/j.pestbp.2005.03.001

Barahona, M.V. and Sanchez-Fortun, S., 1999. Toxicity of carbamates to the brine shrimp *Artemia salina* and the effect of atropine, BW284c51, iso-OMPA and 2-PAM on carbaryl toxicity. *Environmental Pollution*, 104(3): 469-476. DOI: 10.1016/S0269-7491(98)00152-3

Brix, K.V., Cardwell, R.D. and Adams, W.J., 2003. Chronic toxicity of arsenic to the Great

Salt Lake brine shrimp, *Artemia franciscana*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54: 169-175. DOI: 10.1016/s0147-6513(02)00054-4

Brix, K.V., Gerdes, R.M., Adams, W.J. and Grosell, M., 2006. Effect of copper, cadmium, and zinc on the hatching success of brine shrimp (*Artemia franciscana*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 51: 580-583. DOI: 10.1007/s00244-005-0244-z.

Carriquiriborde, P., Diaz, J., Lopez, C., Ronco, G.E. and Somoza, A.M.G., 2009. Effects of Cypermethrin chronic exposure and water temperature on survival, growth, sex differentiation, and gonadal developmental stages of *Odontesthes bonariensis* (Teleostei). *Chemosphere*, 76: 374-380. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2009.03.039

Chiarelli, R.; Martino, C. and Rocheri, M.C., 2019. Cadmium stress effects indicating marine pollution in different species of sea urchin employed as environmental bioindicatos. *Cell Stress Chaperones*, 24(4): 675-687. DOI: 10.1007/s12192-019-01010-1.

Cong, N.V., Phuong, N.T. and Bayley, M., 2009. Effects of repeated exposure of diazinon on cholinesterase activity and growth in snakehead fish (*Channa striata*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(3): 699-703. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2008.10.007.

Coutteu, P., 1996. Micro- algea. In: Lavens, P. and Sorgeloos, P. (eds) Manual on the production and use of the live food for aquaculture. FAO, Rome, PP 9-60.

De Prado, R., Jorrín, J. and García-Torres, L., 2012. Weed and crop resistance to herbicides. Springer Science & Business Media, Berlin, Germany. 356 p.

Federici G., Shaw B.J. and Handy, R.D., 2007. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. *Aquatic Toxicology*, 84(4): 415-430. DOI: 10.1016/j.aquatox.2007.07.009.

Gambardella,C., Mesaric, T., Milivojevic, T., Sepcic, K., Gallus, L., Cabone, S., Ferrando, S. and Fammali, M., 2014. Effects of selected metal oxide nanoparticles on *Artemia salina* larvae evaluation of mortality and behavioral and biochemical responses. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(7): 4249-4259. DOI: 10.1007/s10661-014-3695-8.

Hill, I.R., 1989. Aquatic organisms and pyrethroids. *Pesticide Science*, 27(4): 429-457. DOI: 10.1002/ps.2780270408

Hsieh, M.S., Yin, L.J. and Jiang, S.T., 2008. Purification and characterization of the amylase from a small abalone *Haliotis sieboldii*. *Fisheries Science*, 74(2): 425-432. DOI: 10.1111/j.1444-2906.2008.01540.x

Jafari, M., Salehi, M., Asgari, A., Ahmadi, S., Abbasnezhad, M., Hajihoosani, R. and Hajigholamali, M., 2012. Effects of paraoxon on serum biochemical parameters and oxidative stress induction in various tissues of Wistar and Norway rats.

275-284. DOI: 10.1016/0009-8981(86)90247-0.

Leis, M., Manfra, L., Taddia, L., Chicca, M., Trentini, P. and Savorelli, F., 2014. A Comparative toxicity study between an autochthonous Artemia and a non-native invasive species. *Ecotoxicology*, 23 (6): 1143-1145. DOI: 10.1007/s10646-014-1252-4.

Libralato, G., 2014. The case of *Artemia* spp. In nanoecotoxicology. *Marine Environmental Research*, 101: 38-43. DOI: 10.1016/j.marenvres.2014.08.002

Limon-Pacheco, J. and Gonsebatt, M.E., 2009. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research- Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 674:137-47. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2008.09.015.

Mansingh, A. and Wilson, A., 1995. Insecticide Contamination of Jamaican Environment Iii. Baseline Studies on the Status of Insecticidal Pollution of Kingston Harbor. *Marine Pollution Bulletin*, 30: 640-645. DOI: 10.1016/0025-326X(95)00038-O

Milam, C.D., Farris, J.L. and Wilhide, J.D., 2000. Evaluating mosquito control pesticides for effect on target and nontarget organisms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 39(3): 324-328. DOI: 10.1007/s002440010111.

Nunes, B.S., Carvalho, F.D., Guilhermino, L.M. and Stappen, G.V., 2006. Use of the genus Artemia in ecotoxicity testing. *Environmental Toxicology Pharmacology*, 34: 876-887. DOI: 10.1016/j.etap.2012.08.011.

Jain, K.L., 2009. Chronic effects of heavy metals on the activity of some digestive and metabolic enzymes in *Cyprinus carpio*. *Annals of Biology*, 25(1): 63-67.

Kasumyan, A.O., 2000. Effects of chemical pollutants on foraging behavior and sensitivity of fish to food stimuli. *Journal of Ichthyology*, 41(1): 76-87.

Krishnakurmar, P.K., Dineshbabu, A.P., Sasikumar, G. and Bhat, G.S., 2007. Toxicity evaluation of treated refinery effluent using brine shrimp (*Artemia salina*) eggs and larval bioassay. *Fishery Technology*, 44: 85-92.

Lan, C.H. and Lin, T.S., 2005. Acute toxicity of trivalent thallium compounds to *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 61(3): 432-435. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2004.12.021

Le Bihan, E., Perrin, A. and Koueta, N., 2004. Development of a bioassay from isolated digestive gland cells of the Cuttlefish *Sepia officinalis* L. (Mollusca, Cephalopoda): Effect of Cu, Zn and Ag on enzyme activities and cell viability. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 309(1): 47-66. DOI: 10.1016/j.jembe.2004.03.007

Ledwozyw, A., Michalak, J., Stepien, A.K. and Adziolka, A., 1986. The relationship between plasma triglycerides, total lipids and lipid peroxidation products during huma atherosclerosis. *Clinica Chimical Acta*, 155:

Environmental Pollution, 144: 453-462. DOI: 10.1016/j.envpol.2005.12.037.

Okolie, N.P. and Osobase, S., 2005. Cataractogenic potential of cyanide-induced oxidative stress in rabbits. *Global Journal of Pure and Applied Sciences*, 11(1): 57-62. DOI: 10.4314/gjpas.v11i1.16461

Pimentel, D., 2005. Environmental and economic costs of the application of Pesticide Primarily in United States Environment. *Development and Sustainability*, 7(2): 229-252.

Qu, R., Feng, M., Wang, X., Qin, L., Wan, C., Wang, Z. and Wang, L., 2014. Metal accumulation and oxidative stress biomarkers in liver of freshwater fish *Carassius auratus* following in vivo exposure to waterborne zinc under different pH values. *Aquatic Toxicology*, 150(2): 9-16. DOI: 10.1016/j.aquatox.2014.02.008.

Ramesh, R., Dube, K., Reddy, A.K., Rangacharyulu, P.V., Venkateshwarlu, G. and Jayasankar, P., 2017. Effect of varying protein levels on growth and digestive enzyme activities of *pengba Osteobrama belangeri* (Valenciennes, 1844). *Indian Journal of Fisheries*, 64: 206–213.

Rudnicki, C.A.M., Melo, G.C., Donatti, L., Kawall, H.G. and Fanta, E., 2009. Gills of juvenile fish *piaractus mesopotamicus* as histological biomarkers for experimental sublethal contamin- ation with the Organophosphorus Azodrin® 400. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52(6): 1431-1441. DOI: 10.1590/S1516-89132009000600015

Rumley, A.G. and Paterson, J.R., 1998. Analytical aspects of antioxidants and free radical activity in clinical biochemistry. *Annals of Clinical Biochemistry*, 35: 181-200. DOI: 10.1177/000456329803500202.

Rungraungsak-Torrissen, K., 2007. Digestive efficiency, growth and qualities of muscle and oocyte in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) fed with krill meal as an alternative protein source. *Journal of Food Biochemistry*, 31: 509–540. DOI: 10.1111/J.1745-4514.2007.00127.X

Sabapathy, U. and Teo, L.H., 1992. A kinetic study of the α-amylase from the digestive gland of *Perna viridis L*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 101:73-7. DOI: 10.1016/0305-0491(92)90160-S

Schneider, C.D., Barp, J., Ribeiro, J.L., Bello, K.A. and Oliveira, A.R., 2005. Oxidative stress after three different intensities of running. *The Canadian Journal of Applied Physiology*, 30:723-34. DOI: 10.1139/h05-151

Suzer, C., Saka, S. and Firat, K., 2006. Effects of illumination on early life development and digestive enzyme activities in common pandora *Pagellus erythrinus L*. larvae. *Aquaculture*, 260(1): 86-93. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.06.025

Taylor, G., Baird, D.J. and Soares, A.M., 1998. Surface binding of contaminants by algae: consequences for lethal toxicity and feeding to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology Chemistry*, 17: 412-419. DOI: 10.1002/etc.5620170310

Treasurer, J.W. and Wadsworth, S.L., 2004. Interspecific comparison of experimental and natural routes of *Lepeophtheirus salmonis* and *Caligus elongatus* challenge and consequences for distribution of chalimus on salmonids and therapeutant screening. *Aquaculture research*, 35(8): 773-783. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2004.1100.x

Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M. and Scoullos, M., 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64(2): 178-189. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2005.03.013.

Varó, I., Serrano, R., Navarro, J.C., López, F.J. and Amat, F., 1998. Acute lethal toxicity of the organophosphorus pesticide chlorpyrifos to different species and strains of Artemia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 61(6): 778-785. DOI: 10.1007/s001289900828

Varó, I., Navarro, J.C., Amat, F. and Guilhermino, L., 2002. Characterisation of cholinesterases and evaluation of the inhibitory potential of chlorpyrifos and dichlorvos to *Artemia salina* and Artemia parthenogenetica. *Chemosphere*, 48: 563-569. DOI: 10.1016/s0045-6535(02)00075-9

Wang, T., Long, X., Cheng, Y., Liu, Z. and Yan, S., 2015. A comparison effect of copper nanoparticles versus copper sulphate on juvenile *Epinephelus coioides*: growth parameters, digestive enzymes, body composition, and histology as biomarkers. *International Journal of Genomics*, 2015: 783021. DOI: 10.1155/2015/783021.

Wengatz, I., Harris, A.S., Gilman, S.D., Wortberg, M., Kido, H., Szurdoki, F., Goodrow, M.H., Jaeger, L.L., Stoutamire, D.W., Sanborn, J.R. and Gee, S.J., 1996. Recent developments in immunoassays and related methods for the detection of xenobiotics. ACS Symposium Series 646 (Environmental Immunochemical Methods). *American Chemical Society Washington*, D. C. pp 110-126.

Yazdanparast, R., Bahramikia, S. and Ardestani, A., 2008. *Nasturtioum officinale* reduces oxidative stress and enhances hyper cholesterolaemic rats. *Chemico- Biological Interactions*, 172: 176-184. DOI: 10.1016/j.cbi.2008.01.006.

Zambare, S.P. and Mahajan, A.Y., 2001. Heavy metal (copper and mercury) induced alterations in the enzyme secretory activity of hepatopancreas of a freshwater bivalve *Corbicula striatella*. *Pollution Research*, 20(1): 143-146.

Changes in growth, survival, and some physiological indices of Urmia Lake Artemia (*Artemia urmiana*) under chronic toxicity of Cypermethrin insecticide

Bakhtiyari R.[1]; Sarvi Moghanlou K.[1*]; Atashbar Kangarloei B.[2]; Imani A.[1]; Pourahad Anzabi M.[1]

[*]k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir

1- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Urmia, Urmia, Iran.
2- Department of Ecology and Resources management, Artemia and Aquatic animals Institute, University of Urmia, Urmia, Iran.

Abstract

Regarding the use of cypermethrin insecticide in agriculture in West Azerbaijan and the possibility of its entry into the Urmia Lake, the present study was conducted to investigate the effect of cypermethrin on growth, survival, and some physiological parameters of *Artemia urmiana*. For this purpose, the LC50 of cypermethrin for 24, 48, and 96 hours in the nauplii, post-larva, and adult stages were obtained using the probit test. The average LC_{50} of 96 hours was used to study the effect of chronic toxicity. Then, the Naplii was cultured in 4 treatments including the control group, 25% LC_{50}, 50% LC_{50}, and 100% LC_{50} for 15 days. At the end of the experiment, growth, survival, antioxidant enzymes activity, and digestive enzymes activity of the whole body were evaluated. The results showed that different concentrations of cypermethrin decreased the growth and survival of *A. urmiana* ($p<0.05$) and the amount of this decrease depended on the age of Artemia and the exposure duration. The highest decrease in growth and survival of different life stages of *A. urmiana* was observed in the 100% LC_{50} group. The results of antioxidant enzymes activity showed that cypermethrin decreased the levels of superoxide dismutase, catalase, and malondialdehyde ($p<0.05$), but there was no change in the activity of glutathione peroxidase ($p>0.05$). Also, the activities of lipase and alpha-amylase enzymes were decreased ($p<0.05$), but no significant difference was observed in the alkaline protease activity ($p>0.05$). In conclusion, the cypermethrin insecticide decreased the growth, survival, and antioxidant and digestive enzymes activities in *A. urmiana*.

Keywords: Cypermetherin insecticide, Growth, Antioxidant enzymes, Digestive enzymes, *Artemia urmiana*

[*]Corresponding author