

تعیین LC_{50} و بررسی میزان تجمع زیستی کادمیوم

در مراحل مختلف زندگی آرتمیای دریاچه ارومیه (*Artemia urmiana*)

بی‌تا رحیمی* و پریسا نجات خواه معنوی

Beti_rf@yahoo.com

دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، خیابان شهید فلاحی، پلاک ۴۹

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۸

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی شدت کشندگی فلز سنگین کادمیوم و تعیین LC_{50} و امکان تجمع زیستی آن در آرتمیای دریاچه ارومیه (*Artemia urmiana*) در شرایط آزمایشگاهی انجام شده است. مقاومت *A. urmiana* در برابر فلز کادمیوم در مراحل مختلف زندگی مورد بررسی قرار گرفت. آرتمیا در تکثیر و پرورش آبزیان بسیار مورد توجه می‌باشد، لذا نوع پاسخ این موجود به آلاینده‌ها از جمله کادمیوم با توجه به آلودگی روزافزون آن، اهمیت بسیاری دارد. این بررسی در سال ۱۳۸۸ در دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال و سازمان انرژی اتمی ایران انجام گرفت. در مرحله اول، ناپلیوس‌های کوچکتر از یک روزه در معرض ۱۰ غلظت مختلف از صفر تا ۲۵۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم قرار گرفتند و LC_{50} ۲۴ ساعته ۱۸۹/۳۳ میلی گرم در لیتر بدست آمد. در ادامه، انباشتگی کادمیوم در غلظت‌های (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی گرم در لیتر) در نمونه‌های آرتمیای ۱، ۵، ۱۱ و ۱۷ روزه بررسی شد. نتایج نشان داد که *A. urmiana* دارای توانایی تجمع کادمیوم در بدن بوده و میزان این تجمع به غلظت فلز در محیط و همچنین به دوره‌های مختلف زندگی آرتمیا بستگی دارد و در اغلب موارد با افزایش غلظت کادمیوم در محیط، میزان کادمیوم در بدن موجود افزایش می‌یابد. بطوریکه میزان کادمیوم در آرتمیای ۱ روزه در غلظت ۵ میلی گرم در لیتر کادمیوم (۰/۲۷۶ppm) با غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم (۰/۳۶۴ppm) دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P < 0.05$) و در آرتمیای ۱۱ روزه با افزایش غلظت کادمیوم میانگین تجمع زیستی در کلیه تیمارها افزایش یافت. حداکثر کادمیوم بطور میانگین در غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر، در یازدهمین روز زندگی آرتمیا دیده شد. نتایج نشان می‌دهد که *A. urmiana* موجودی مقاوم در برابر فلز کادمیوم می‌باشد، با این حال اثر سمی این فلز در غلظت ۲۵۰ میلی گرم در لیتر بر بقای موجود ۳/۳۳ درصد بود.

لغات کلیدی: *Artemia urmiana*، آلودگی، فلزات سنگین، سموم

* نویسنده مسئول

مقدمه

آرتمیا سخت‌پوستی است که بطور وسیع در مطالعات سم‌شناسی آزمایشگاهی استفاده می‌شود. اندازه کوچک آرتمیا و طول عمر کوتاه و همچنین قابلیت استفاده از سیستم‌های خشک آن، این موجود را برای مطالعات آزمایشگاهی مناسب ساخته است. از طرف دیگر آرتمیا در آزمون‌های زیست‌سنجی نیز کاربرد دارد. آرتمیا نمونه‌ای بسیار مقاوم در برابر فاکتورهای محیطی مانند شوری، دما و تغییرات اکسیژن محلول در آب است و در آب‌هایی با شوری فوق‌العاده زیاد زندگی می‌کنند. در چنین شرایط سخت محیطی زیستگاه‌های کمی برای زندگی این جانور مناسب خواهد بود (Sarabia et al., 2006). از میان غذاهای زنده‌ای که برای پرورش لارو ماهی، سخت‌پوستان و صدف‌داران مورد استفاده قرار می‌گیرند، ناپلیوس آرتمیا دارای گستره مصرف وسیعی است (Van Stappen., 1996) آرتمیا بصورت گسترده بعنوان خوراک انسان، حیوانات اهلی و پرندگان مورد استفاده قرار می‌گیرد. علاوه از آرتمیا می‌توان بعنوان حامل ترکیبات غذایی و دارویی مانند اسیدهای چرب HUFA، واکسن، آنتی‌بیوتیک و ویتامین برای ماهی و میگو (با هدف غنی‌سازی) استفاده کرد (Hanaee et al., 2005).

کادمیوم از طریق فعالیت‌هایی چون حفاری معدن، صنایع فلزی، صنایع خودرو سازی، صنایع شیمیایی، آبکاری فلزات، کودهای سوپر فسفات، آفت‌کشهای حاوی کادمیوم و نیز تولید برخی از آلیاژهای فلزی، باتری‌سازی و غیره به محیط‌زیست وارد می‌گردد. استفاده و کاربرد کادمیوم بطور فزاینده‌ای در قرن بیستم افزایش یافته و در ۲۰-۳۰ سال اخیر به اوج خود رسیده است (Ruangsomboon & Wongrat, 2006) از دیگر موارد کاربرد عمده این فلز سنگین در صنایع می‌توان به استفاده از آن بعنوان کاتالیزور در واکنش‌های پلیمری اشاره کرد (Chongprasith et al., 1999) که در این زمینه نیز ابعاد وسیعی از نظر کاربردی دارد. کادمیوم موجود در دریاچه ارومیه نیز از طریق صنایع فوق وارد این دریاچه می‌شود (حیدری ساری، ۱۳۸۷).

فلزات سنگین تأثیرات فیزیولوژیکی وسیعی بر موجودات آبی دارند. با توجه به این که غلظت فلزات سنگین در منابع آبی اغلب در حد سمیت حاد نیست، بیشتر تأثیر غلظت‌های مزمن این فلزات بر موجودات آبی مد نظر قرار گرفته است، غلظت‌های مزمن کادمیوم علاوه بر کاهش رشد، به وقوع مرگ نیز می‌انجامد، زیرا این فلز می‌تواند آنزیم‌های پانکراس، اندازه کبد و محتوای گلیکوژن موجود در کبد را

تحت تأثیر قرار دهد. همچنین مشخص شده است که این فلز با اختلال در پمپ Ca^{+2} -ATP ase باعث وقوع عارضه کمبود کلسیم می‌شود (Wong & Wong, 2000).

با توجه به اهمیت آرتمیا در تکثیر و پرورش آبزیان که از سال ۱۹۳۰ بعنوان غذایی عالی برای لاروهای تازه از تخم بیرون آمده معرفی شد، مطالعه در مورد *A. urmiana* ضروری بنظر می‌رسد. بنابراین در این بررسی اثرات کادمیوم روی بقاء ناپلیوس و همچنین میزان تجمع زیستی کادمیوم در مراحل مختلف زندگی *A. urmiana* مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

تحقیق حاضر در سال ۱۳۸۸ در دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال و سازمان انرژی اتمی ایران انجام گرفت. این پژوهش در مراحل مختلف بترتیب زیر انجام شده است.

۱- تخمه‌گشایی سیستم‌های آرتمیا (سیستم‌های آرتمیا از مرکز تحقیقات آرتمیا در ارومیه خریداری شد) در آزمایشگاه: برای تخمه‌گشایی سیستم‌ها طبق روش استاندارد Amat و همکاران (۲۰۰۵) انجام شد و از ظروف پلاستیکی استوانه‌ای مخروطی با حجم یک لیتر استفاده گردید. دمای آب در طول آزمایش ۲۵ تا ۳۵ درجه سانتیگراد نگه داشته شد. برای ایجاد آب با شوری مناسب ۳۰ قسمت در هزار (Lavens & Sorgeloos, 1996) از نمک دریاچه ارومیه و آب دکلره شده استفاده شد. برای تأمین نور مناسب در طول آزمایش، دو عدد لامپ فلوروسنت در فاصله ۲۰ سانتیمتری انکوباتورها قرار داده شده و بدین ترتیب شدت نور حدود ۲۰۰۰ تا ۴۰۰۰ لوکس تنظیم شد. pH (۸-۸/۵) نیز بوسیله بی‌کربنات سدیم تأمین گردد (Sarabia et al., 2006).

۲- جداسازی و برداشت ناپلیوس‌ها: برای انجام مراحل بعدی آزمایش ابتدا لازم بود پوسته‌ها و سیستم‌های تخمه‌گشایی نشده را جدا کرده و ناپلیوس‌ها را به محیط جدید منتقل نمود. بدین منظور ابتدا هوادهی قطع شد و به این ترتیب بعد از چند دقیقه پوسته‌ها که سبک بودند در سطح آب شناور شدند. بمنظور تسریع این عمل از خاصیت نورگرائی ناپلیوس آرتمیا استفاده گردید (Sarabia et al., 2006).

۳- اندازه‌گیری LC_{50} در ۲۴ ساعت: برای اندازه‌گیری LC_{50} ۲۴ ساعته، از نمک فلز کادمیوم ($Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$) استفاده شد و محلول با شوری ۳۰ قسمت در هزار تهیه گردید. توزین نمکها و کادمیوم توسط ترازوی دیجیتالی METTLER با دقت ۰/۰۰۱ گرم صورت گرفت. در هر تیمار ۳۰ عدد ناپلیوس آرمیا که بیش از ۱۲ ساعت از تخمه‌گشائی آنها نگذشته بود قرار داده شد. ده غلظت مختلف کادمیوم شامل (۰-۸۰-۱۲۰-۱۴۰-۱۶۰-۱۸۰-۲۰۰-۲۲۰-۲۴۰-۲۵۰) میلی‌گرم در لیتر، تهیه گردید (Hadjispyrou et al., 2001).

ناپلیوس‌ها به مدت ۲۴ ساعت بدون غذادهی در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده شده و در نهایت تعداد ناپلیوسهای مرده مورد شمارش قرار گرفتند. هر آزمایش در ۳ تکرار انجام گرفت و در طول مدت بررسی در صورتی که در گروه شاهد مرگ و میر بیش از ۱۰ درصد رخ می‌داد، آزمایش تکرار گردید (Hadjispyrou et al., 2001).

۴- اندازه‌گیری تجمع زیستی: این آزمایش روی ناپلیوس یکروزه و آرمیای ۵، ۱۱ و ۱۷ روزه صورت گرفت. چهار غلظت مختلف از کادمیوم (۲۰ و ۱۵، ۱۰، ۵ میلی‌گرم در لیتر) در ۳ تکرار به همراه گروه شاهد تهیه شد و تعداد ۲۰۰۰ عدد و در مورد آرمیاهای بزرگتر ۱۰۰۰ عدد به مدت ۲۴ ساعت در معرض غلظت‌های ذکر شده قرار داده شد و سپس غلظت فلزات مورد سنجش قرار گرفتند (Hadjispyrou et al., 2001). برای تغذیه آرمیا طی دوره پرورش از جلبک تک‌سلولی کلرلا و مخمر استفاده شد. نمونه‌های آرمیای جدا شده با آب مقطر شستشو داده شده و هر تکرار بطور جداگانه به ظرفی که قبلاً کاملاً تمیز و با آب مقطر شستشو داده شده بودند، منتقل گردید و سپس در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا مرحله هضم و آنالیز نگهداری گردید (Blust et al., 1992). برای هضم، نمونه‌ها در داخل آون در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند تا کاملاً خشک شوند. پس از سرد کردن نمونه‌ها در

دسیکاتور، نمونه‌های خشک شده به بشرهای جداگانه‌ای منتقل و با ترازوی ۰/۰۰۰۱ گرم توزین گردیدند. هضم شیمیایی به روش خشک و با استفاده از دستورالعمل (Roger, 1994) انجام گردید. ابتدا به نمونه‌های خشک ۱ میلی‌لیتر اسید نیتریک (HNO_3) غلیظ اضافه گردید و با دمای ۶۰ درجه سانتیگراد برای حدود ۱۰ دقیقه حرارت داده شدند. سپس ۱ میلی‌لیتر اسید کلریدریک (HCl) اضافه شد و ۳۰ دقیقه حرارت هضم کامل گردید. در ادامه محلول را به حجم ۱۰ سی‌سی رسانده و در شیشه‌های جداگانه تا زمان آنالیز دستگاهی نگهداری شدند (Seebaugh et al., 2004). نمونه‌های هضم شده با دستگاه جذب اتمی VARIAN MODEL 220 Spectra از نوع FAAS در سازمان انرژی اتمی مورد ارزیابی قرار گرفتند. با توجه به وزن خشک نمونه‌ها و غلظت ارزیابی شده فلز در نمونه و میزان تجمع‌زیستی برحسب میلی‌گرم فلز در کیلوگرم وزن خشک آرمیا بدست آمد (Hadjispyrou et al., 2001).

نتایج حاصل از هر آزمایش توسط برنامه SPSS ۱۶ به روش آنالیز واریانس یکطرفه تحلیل شد و از آزمون LSD نیز بعنوان Post Hoc استفاده گردید که بوسیله آزمون Tukey به مقایسه بین تیمارهای مختلف و توسط آزمون Dunnett به مقایسه بین گروه شاهد با سایر تیمارها پرداخته شد. کلیه نمودارها نیز در برنامه Excel رسم گردید.

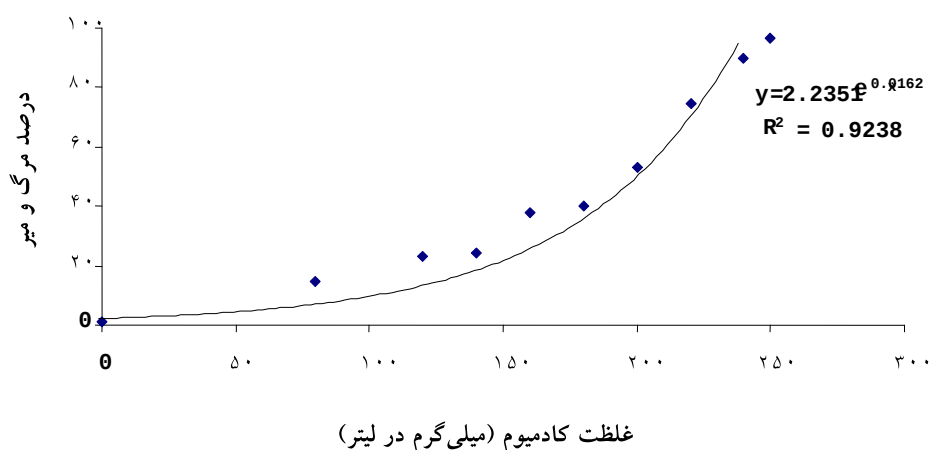
نتایج

درصد مرگ و میر ناپلیوس در غلظت‌های مختلف فلز کادمیوم محاسبه شد (جدول ۱ و نمودار ۱). میزان LC_{50} ۲۴ ساعته در ناپلی *A. urmiana* در مجاورت فلز کادمیوم برابر ۱۸۹/۳۳ میلی‌گرم در لیتر محاسبه گردید. حداکثر بقاء ناپلیوس *A. urmiana* در برابر فلز کادمیوم ۳/۳۳ درصد در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. بین هر ۹ تیمار کادمیوم با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری دیده شد ($P < 0.05$).

جدول ۱: میانگین ($\pm$ انحراف معیار) مرگ و میر، درصد مرگ و میر و درصد بقا در ناپلیوس *A. urmiana* پس از ۲۴ ساعت در معرض، غلظت‌های مختلف کادمیوم

غلظت کادمیوم (میلی گرم در لیتر)	میانگین مرگ و میر ($\pm$ انحراف معیار)	خطای استاندارد	درصد مرگ و میر	درصد بقا
۰	$۰/۳۳ \pm ۰/۵۷^a$	۰/۳۳	۱/۱۱	۹۸/۸۹
۸۰	$۴/۳۳ \pm ۱/۱۵^{bcd}$	۰/۶۶	۱۴/۴۴	۸۵/۵۶
۱۲۰	۷ ± ۲^{bcdef}	۱/۱۵	۲۳/۳۳	۷۶/۶۷
۱۴۰	$۷/۳۳ \pm ۱/۵۲^{bcdef}$	۰/۸۸	۲۴/۴۴	۷۵/۵۶
۱۶۰	$۱۱/۳۳ \pm ۲/۰۸^{cdefg}$	۱/۲۰	۳۷/۷۸	۶۲/۲۲
۱۸۰	۱۲ ± ۲^{cdefg}	۱/۱۵	۴۰/۰۰	۶۰/۰۰
۲۰۰	۱۶ ± ۱^{efg}	۰/۵۷	۵۳/۳۳	۴۶/۶۷
۲۲۰	$۲۲/۳۳ \pm ۲/۸۸^h$	۱/۶۶	۷۴/۴۴	۲۵/۵۶
۲۴۰	۲۷ ± ۱^h	۰/۵۷	۹۰/۰۰	۱۰/۰۰
۲۵۰	۲۹ ± ۱^k	۰/۵۷	۹۶/۶۷	۳/۳۳

حروف انگلیسی غیر مشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار است ($P < ۰/۰۵$).



نمودار ۱: درصد مرگ و میر ناپلیوس *A. urmiana* پس از ۲۴ ساعت در غلظت‌های مختلف کادمیوم

در این تحقیق میزان تجمع زیستی برحسب میلی گرم فلز در کیلوگرم وزن خشک آرتمیا (ppm) بیان شد. میانگین تجمع زیستی فلز کادمیوم برحسب روزهای مختلف زندگی آرتمیا در نمونه‌های سیست و ناپلی‌های ۱ روزه و آرتمیاهای ۵، ۱۱ و ۱۷ روزه در گروه شاهد و همچنین همگام با افزایش غلظت کادمیوم محیط کشت (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم) نتایج بدست آمده در جداول ۲ و ۳ خلاصه شده است.

میزان تجمع کادمیوم در سیست آرتمیا بسیار ناچیز بود. در بررسی میزان تجمع کادمیوم در ناپلی‌های یکروزه در کلیه غلظت‌های کادمیوم نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری داشته و تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای ۲۰ با ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی گرم در لیتر کادمیوم دیده شد ($P < 0.05$). افزایش تجمع با افزایش غلظت کادمیوم قابل تشخیص بود. در مورد آرتمیای ۵ روزه هم بین گروه شاهد و سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$). با افزایش غلظت کادمیوم، میزان تجمع زیستی در آرتمیا کاهش یافت بطوریکه در غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم بطور معنی‌داری، تجمع زیستی این فلز کمتر از غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم بود ($P < 0.05$).

در آرتمیاهای ۱۱ روزه، نتایج نشان می‌دهد که با افزایش غلظت کادمیوم، میزان تجمع زیستی در آرتمیا نیز افزایش یافته است بطوریکه میزان تجمع زیستی در آرتمیای ۱۱ روزه و در تیمار ۵ میلی گرم در لیتر کادمیوم بصورت معنی‌داری کمتر از غلظت کادمیوم در تیمارهای ۱۵ و ۲۰ میلی گرم در لیتر بود ($P < 0.05$). حداکثر میزان تجمع در آرتمیای ۱۱ روزه و در غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم بدست آمد. همچنین در

کلیه تیمارهای آرتمیای ۱۷ روزه در مقایسه به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری دیده شد ($P < 0.05$). روند افزایش غلظت کادمیوم باعث افزایش تجمع زیستی آن در این دوره زندگی آرتمیا (۱۷ روزه‌ها) شده است (جدول ۲).

از طرف دیگر به بررسی میزان تجمع زیستی کادمیوم در غلظت‌های (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم) در مقایسه با روزهای مختلف زندگی آرتمیا پرداختیم (۱، ۵، ۱۱ و ۱۷ روزه). در تیمار شاهد (بدون کادمیوم) هیچ اختلاف معنی‌دار بین روزهای مختلف زندگی دیده نشد ($P > 0.05$). غلظت ۵ میلی گرم در لیتر کادمیوم، تفاوت معنی‌داری بین آرتمیاهای ۵ روزه با بالاترین تجمع زیستی با آرتمیاهای ۱ و ۱۷ روزه وجود داشت ($P < 0.05$). ۵ روزه‌ها، در غلظت ۵ میلی گرم در لیتر نسبت به سایر غلظت‌های در معرض تماس، حداکثر توانایی را در تجمع زیستی دارند و کمترین میزان تجمع زیستی کادمیوم در این غلظت در آرتمیاهای ۱۷ روزه دیده شد. در میزان تجمع کادمیوم در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر، ۵ روزه‌ها با ۱ و ۱۷ روزه‌ها تفاوت معنی‌دار دیده شد ($P < 0.05$). ولی در غلظت ۱۵ میلی گرم در لیتر کادمیوم ۱۱ روزه‌ها با گروه‌های ۱، ۵ و ۱۷ روزه اختلاف معنی‌دار داشتند ($P < 0.05$) و در روز ۱۱ در مقایسه با روزهای ۱، ۵ و ۱۷ تجمع بیشتری از کادمیوم دیده شد. نتایج نشان داد که در غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم، ۱۱ روزه‌ها بطور معنی‌داری توان تجمع بیشتری از کادمیوم را نسبت به ۱ و ۱۷ روزه‌ها داشتند ($P < 0.05$) و در این غلظت نیز بیشترین تجمع زیستی کادمیوم در ۱۱ روزه‌ها مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۲: میزان تجمع زیستی کادمیوم در سیست، ناپلیوس یک روزه و آرتمیای ۵، ۱۱ و ۱۷ روزه در تیمار شاهد و تیمارهای حاوی کادمیوم در *A. urmiana* برحسب میلی گرم فلز در کیلوگرم وزن خشک هر نمونه

نوع نمونه	غلظت کادمیوم (میلی گرم در لیتر)	میانگین تجمع زیستی کادمیوم (ppm) ($\pm$ انحراف معیار)	خطای استاندارد
سیست	—	$0.00051 \pm$ ناچیز ^a	ناچیز
ناپلیوس ۱ روزه	۰	0.00098 ± 0.0002^a	۰/۰۰۰۱
	۵	0.276 ± 0.051^{bcd}	۰/۰۲۸
	۱۰	0.253 ± 0.007^{bcd}	۰/۰۰۴
	۱۵	0.282 ± 0.014^{bcd}	۰/۰۰۸
	۲۰	0.364 ± 0.028^e	۰/۰۱۶
آرتمیای ۵ روزه	۰	0.001 ± 0.0001^a	۵/۸۹۷
	۵	0.775 ± 0.326^{bc}	۰/۱۹۴
	۱۰	0.634 ± 0.539^{bc}	۰/۳۱۱
	۱۵	0.386 ± 0.108^{de}	۰/۰۶۲
	۲۰	0.480 ± 0.094^{de}	۰/۰۵۴
آرتمیای ۱۱ روزه	۰	0.001 ± 0.0001^a	۰/۰۰۰۱
	۵	0.345 ± 0.120^{bc}	۰/۰۶۹۴
	۱۰	0.553 ± 0.236^{bcde}	۰/۱۳۶
	۱۵	0.719 ± 0.141^{de}	۰/۰۸۱
	۲۰	0.748 ± 0.002^{de}	۰/۰۰۱
آرتمیای ۱۷ روزه	۰	0.0076 ± 0.0001^a	۰/۰۰۰
	۵	0.179 ± 0.073^{bcd}	۰/۰۴۲۵
	۱۰	0.171 ± 0.044^{bcd}	۰/۰۲۵۶
	۱۵	0.223 ± 0.042^{bcd}	۰/۰۲۴۳
	۲۰	0.327 ± 0.274^e	۰/۰۱۵۸

حروف انگلیسی غیرمشابه در هر ستون، (بطور اختصاصی مربوط به هر دوره زندگی آرتمیا) نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار است ($P < 0.05$).

جدول ۳: میزان تجمع زیستی کادمیوم در غلظت‌های متفاوت کادمیوم (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی گرم در لیتر) در روزهای مختلف زندگی *A. urmiana* برحسب میلی گرم فلز در کیلوگرم وزن خشک هر نمونه

غلظت کادمیوم (میلی گرم در لیتر)	نوع نمونه	میانگین تجمع زیستی کادمیوم (ppm) ($\pm$ انحراف معیار)	خطای استاندارد
صفر	سیست	ناچیز ^a ± 0.00051	ناچیز
	ناپلیوس ۱ روزه	0.00098 ± 0.0002^a	۰/۰۰۰۱
	آرتمیای ۵ روزه	0.001 ± 0.0001^a	۵/۸۹۷
	آرتمیای ۱۱ روزه	0.001 ± 0.0001^a	۰/۰۰۰۱
۵	آرتمیای ۱۷ روزه	0.0076 ± 0.0001^a	۰/۰۰۰
	ناپلیوس ۱ روزه	0.276 ± 0.0501^{ac}	۰/۰۲۸
	آرتمیای ۵ روزه	0.775 ± 0.326^b	۰/۱۹۴
	آرتمیای ۱۱ روزه	0.345 ± 0.120^{abc}	۰/۰۶۹۴
۱۰	آرتمیای ۱۷ روزه	0.179 ± 0.0736^{ac}	۰/۰۴۲۵
	ناپلیوس ۱ روزه	0.253 ± 0.007^{ad}	۰/۰۰۰۴
	آرتمیای ۵ روزه	0.634 ± 0.039^{bc}	۰/۳۱۱
	آرتمیای ۱۱ روزه	0.553 ± 0.236^{bc}	۰/۱۳۶
۱۵	آرتمیای ۱۷ روزه	0.171 ± 0.044^{bcd}	۰/۰۲۵۶
	ناپلیوس ۱ روزه	0.282 ± 0.0141^{ab}	۰/۰۰۸
	آرتمیای ۵ روزه	0.386 ± 0.108^{ab}	۰/۰۶۲
	آرتمیای ۱۱ روزه	0.719 ± 0.141^c	۰/۰۸۱
۲۰	آرتمیای ۱۷ روزه	0.223 ± 0.047^{ab}	۰/۰۲۴۳
	ناپلیوس ۱ روزه	0.364 ± 0.028^e	۰/۰۱۶
	آرتمیای ۵ روزه	0.480 ± 0.094^{abc}	۰/۰۵۴
	آرتمیای ۱۱ روزه	0.748 ± 0.002^{de}	۰/۰۰۱
	آرتمیای ۱۷ روزه	0.327 ± 0.274^{ac}	۰/۰۱۵۸

حروف انگلیسی غیرمشابه در هر ستون، (بطور اختصاصی مربوط به هر دوره زندگی آرتمیا) نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار است ($P < 0.05$).

بحث

نیز (LC₅₀ ۲۴ آن برابر ۱۴۲ میلی گرم در لیتر) دارای مقاومت کمتری در مقابل کادمیوم نسبت به *A. urmiana* می‌باشد. هر چند که Kungolos و Aoyama (۱۹۹۳) گزارش دادند که *A. franciscana* در مقایسه با سایر سخت‌پوستان مورد مطالعه حدود ۴ برابر مقاومت بیشتری به تجمع کادمیوم نشان دادند. بطور کلی آرتمیا یکی از موجوداتی است که میزان سنتز

مقایسه نتایج تحقیق حاضر با سایر مطالعات نشان‌دهنده مقاومت بالای *A. urmiana* (LC₅₀ ۲۴ برابر ۱۸۹/۳۳ میلی گرم در لیتر) نسبت به کادمیوم در مقایسه با *A. franciscana* (LC₅₀ ۲۴ ساعته برابر ۱۵۵/۵ میلی گرم در لیتر) می‌باشد (Hadjispyrou et al., 2001) همچنین مطالعات انجام شده توسط Sarabia و همکاران (۲۰۰۲) نشان داد که *A. prsimilis*

متالوتیونین در آن نسبتاً زیاد است. سنتز متالوتیونین یکی از مهمترین دلایل مقاومت بالای آرتمیا در مقابل فلزات سنگین و بویژه کادمیوم در مقایسه با سایر سخت‌پوستان عنوان شده است. از دیگر علل مقاومت بالای آرتمیا به سمیت کادمیوم می‌توان به ویژگی‌های محل سکونت و خاستگاه تاریخی جمعیت و عوامل مختلف محیطی اشاره نمود که این عوامل می‌توانند تاثیر معنی‌داری را در پاسخ به سمیت کادمیوم ایجاد نمایند (Sarabia et al., 2002). مقاومت بالای آرتمیا اورمیا را برابر فلز کادمیوم ارزش بیواندیکاتوری آن را در ارزیابی آلودگی‌های اکوسیستم‌های آبی به کادمیوم پایین خواهد آورد و از این نظر شاخص خوبی نخواهد بود. از طرف دیگر تاکنون هیچ اثر مثبتی برای فلزات سنگین بر بقاء گونه‌های مختلف آرتمیا مشاهده نشده است (Hadjispyrou et al., 2001).

نتایج بررسی مرگ و میر ناپلیوس *A. urmiana* در غلظت‌های مختلف کادمیوم نشان داد که درصد مرگ و میر بین تیمار شاهد و سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار بود. این تحقیق نشان داد که فلز کادمیوم تاثیر قابل توجهی در کاهش بقای ناپلیوس *A. urmiana* داشته است. در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم پس از ۲۴ ساعت درصد مرگ و میر برابر با ۹۶/۶۷ درصد بود.

نتایج بررسی میانگین تجمع زیستی فلز کادمیوم با افزایش غلظت آن در ناپلی‌های ۱، ۱۱ و ۱۷ روزه نشان داد که افزایش غلظت فلز در محیط، بخصوص در حداکثر غلظت کادمیوم ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، میزان تجمع فلز در بدن بطور معنی‌داری از نظر آماری نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است. این مسأله نشان‌دهنده قدرت صافی‌خواری (فیلتر نمودن آب) توسط آرتمیا می‌باشد که با افزایش غلظت، افزایش تجمع فلز دیده شد (جدول ۲). در تحقیق حاضر، میزان تجمع کادمیوم در روز هفدهم نسبت به روز یازدهم کاهش یافته بود. علت این امر می‌تواند دلیل قدرت غیرسمی نمودن و حذف بیولوژیکی فلزها از جمله کادمیوم در آرتمیا باشد. نتایج Rahimi و Nejatkhah Manavi (۲۰۱۰) نشان داد که آرتمیا پس از آنکه در معرض فلز کادمیوم قرار می‌گیرد، در ابتدا با افزایش غلظت فلز در محیط میزان

تجمع آن در بدن افزایش می‌یابد لیکن پس از مدتی شروع به حذف و غیرسمی نمودن فلز می‌نماید که طبعاً باعث کاهش میزان آن در بدن می‌گردد. همانگونه که در آرتمیاهای ۱۷ روزه در مقایسه ۱۱ روزه‌ها نیز دیده شد (جدول ۲). با توجه به مطلب ذکر شده می‌توان گفت، حتی در میزان حداقل کادمیوم (۵ میلی‌گرم در لیتر)، آرتمیاهای ۵ روزه توانسته‌اند فلز را از طریق شبکه مویرگی که در سطح بدن دارند انباشته کرده و نسبت بیشتری از آنها زنده بمانند. در حالیکه در آرتمیاهای بزرگتر در این غلظت کادمیوم میزان تجمع احتمالاً بدلیل دفع بی‌اثر کردن فلز و همچنین کاهش تبادل سطحی، کاهش نشان می‌دهد (جدول ۳). از طرف دیگر در آرتمیاهای ۵ روزه با افزایش غلظت کادمیوم میزان تجمع زیستی آن در حداقل میزان کادمیوم (۵ میلی‌گرم در لیتر) با ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم، بطور معنی‌داری کاهش تجمع دیده شد که نشان‌دهنده این مطلب است که نرخ صافی‌خواری آرتمیا در مواجه با سموم و غلظت‌های کشنده به شدت کاهش یافته و موجود در چنین شرایطی با به حداقل رساندن فعالیت‌های متابولیکی سعی در حفظ و بقای خود می‌نماید (محیسنی و همکاران، ۱۳۸۷) (جدول ۲). در غلظت‌های بالاتر کادمیوم ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، در مقایسه با دوره‌های مختلف زندگی، بیشترین میزان تجمع فلز در یازدهمین روز زندگی آرتمیا دیده شد، که اختلاف معنی‌داری را با ۱ و ۱۷ روزه‌ها نشان دادند که بیان‌کننده حساسیت کمتر *A. urmiana* در ۱۱ روزه‌گی (اینستار هشت) می‌باشد. Sarabia و همکاران (۲۰۰۶) نیز در مورد تاثیر غلظت‌هایی از کادمیوم که منجر به مرگ آرتمیا نمی‌شوند نشان دادند که الگوی انباشته شدن کادمیوم در یک گونه از آرتمیا بوسیله حذف سریع فلز کنترل می‌شوند که در گام نخست، برداشت کادمیوم در آرتمیا با افزایش سطح کادمیوم در این سخت‌پوست بصورت خطی و مستقیم است و با نسبت کادمیوم در آب ارتباط دارد و این شبکه برداشت تا رسیدن به مرحله تعادلی که میزان تجمع و حذف با یکدیگر برابر باشد ادامه دارد که چنین تعادلی نشان‌دهنده وجود مکانیزم‌های انتقال کادمیوم است و در غلظت‌های بالاتر کادمیوم، میزان سمیت در آرتمیا

با توجه به ظرفیت بالای آرتمیا ارومیا از نظر جذب فلز سنگین کادمیوم، بحث انتقال این فلزات از طریق زنجیره غذایی به سطوح بالاتر مطرح می‌شود. این موضوع که آیا فلزات تجمع یافته در بدن *A. urmiana* به سطوح بالاتر زنجیره غذایی انتقال می‌یابد یا خیر، در محدوده پژوهش حاضر نبوده است و تجمع زیستی این گونه فلزات در بدن این موجود را نمی‌توان دلیل انتقال فلزات به سطوح بالاتر زنجیره غذایی تلقی نمود (Seebaugh et al., 2004). نتایج حاصل از این گونه مطالعات می‌تواند در تحقیقات آتی در جهت سنجش چگونگی انتقال این فلزات به سطوح بالاتر زنجیره غذایی مفید باشد.

منابع

حیدری ساری، ع.، ۱۳۸۷. تعیین میزان تجمع زیستی برخی عناصر سنگین در مراحل مختلف زیست آرتمیای دریاچه ارومیه. اولین کنفرانس ملی علوم شیلات و آبزیان ایران، اردیبهشت ۸۷ لاهیجان، ایران. دانشگاه آزاد لاهیجان، صفحات ۸۷ تا ۹۱.

محیسنی م.، فرهنگی م.، محیسنی ع. و باقری د.، ۱۳۸۷. بررسی اثر سطوح مختلف آفت کش دیازینون بر درصد تفریح و تفریح موثره سیستم *Artemia urmiana*. اولین کنفرانس ملی علوم شیلات و آبزیان ایران، اردیبهشت ۸۷ لاهیجان، ایران. دانشگاه آزاد لاهیجان، صفحات ۱۳۱ تا ۱۳۵.

Amat F., Hontroria F., Ruiz O., Green A.J., Hortas F. and Figuerota J., 2005. The American brine shrimp as an exotic invasive species in the western Mediterranean. *Biology Invasion*, 7(1):37-47.

Blust R., Kockelbergh E. and Baillieul M., 1992. Effect of salinity on the uptake of cadmium by the brine shrimp *Artemia franciscana*. *Marian Ecology Progress Series*, 84:245-254.

Brix K.V. and Deforest D.K., 2000. Critical review of the use of bioaccumulation factor for hazard

کاهش می‌یابد. مطلب ذکر شده در مورد اغلب تیمارهای مورد بررسی در این تحقیق نیز صدق می‌کند (جدول ۳). مطالعات سایر محققین مانند Hadjispyrou و همکاران (۲۰۰۱) نشان می‌دهد که میزان تجمع فلزاتی مانند قلع، کادمیوم و کروم در *A. franciscana* در مقایسه با ماهیان کمتر می‌باشد که این موضوع سبب مقاومت این گونه در برابر فلزهای سنگین می‌باشد. مطالعات نشان داده است که موجودات آبی مختلف از طریق فرآیندهایی بسیار متنوع و پیچیده غلظت فلزات مختلف را در بدن خود تنظیم می‌نمایند. از جمله این فرآیندها ذخیره و غیرسمی کردن فلزها می‌باشد. این موجودات قادرند فلزات را بصورت غیرسمی در مقادیر بالایی ذخیره نمایند. این عمل از طریق گرانوله کردن و همچنین ترکیب با متالوتیونین حاصل می‌گردد. بارناکل‌ها و دوکفه‌ای‌ها (Brix & Deforest, 2000) از این روش استفاده می‌کنند. آرتمیا را نیز می‌توان در این دسته قرار داد. همانطور که قبلاً نیز اشاره شد، در آرتمیا سنتر متالوتیونین بسیار بالاست و یکی از دلایل مقاومت بالای این موجود در مقابل آلاینده‌ها را به این مسئله نسبت می‌دهند. (Sarabia et al., 2002).

تحقیقات نشان داد که هیچیک از موجودات آبی شناخته شده، قابلیت تنظیم فعال کادمیوم را ندارند. در مواقعی که غلظت کادمیوم افزایش یافته دسترسی موجود زنده به آن در محیط بالا باشد، سامانه‌های دخیل در فرآیند سمیت‌زدایی ناتوان بوده و مرگ و میر رخ می‌دهد (Brix & Deforest, 2000). سنتر بالای متالوتیونین بعنوان یک عامل مهم در سمیت‌زدایی فلزات سنگین، منجر به افزایش مقاومت موجود در مقابل فلزات سنگین می‌شود. اما از سوی دیگر متالوتیونین پتانسیل موجود را برای جذب فلزات سنگین افزایش داده و در نتیجه ظرفیت موجود به منظور انتقال فلزات سنگین به موجودات شکارچی را می‌افزاید (Seebaugh & Wallace, 2004). اما در خصوص آرتمیا بدلیل شوری نسبتاً زیاد محیط کشت و زندگی این موجود و تمایل زیاد کادمیوم به تشکیل کمپلکس با یون کلرید، زیست‌فراهمی آن کاهش و از میزان سمیت آن نیز کاسته می‌گردد (Blust et al., 1992).

- classification of metals and metal compounds. Bioaccumulation report 2, Kirkland. 71P.
- Chongprasith P., Utoomprurkporn W. and Rattikhansukha C., 1999.** Asian marine water quality criteria for cadmium. Cooperative Program on Science. Bangkok. Thailand. 64P.
- Hadjispyrou S., Kungolos A. and Anagnostopoulos A., 2001.** Toxicity, bioaccumulation, and interactive effects of organotin, cadmium, and chromium on *Artemia franciscana*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 49:179-186.
- Hanaee J., Agh N., Hanaee M., Delazar A. and Sarker S.D., 2005.** Studies on the enrichment of *Artemia urmiana* cysts for improving fish food value. Animal Feed Science and Technology, 120:107-112.
- Kungolos A. and Aoyama I., 1993.** Interaction effect, food effect and bioaccumulation cadmium and chromium for the system *Daphnia magna-Chlorella ellipsol*. Environmental Toxicology and Water Quality, 8:351-369.
- Lavens P. and Sorgeloos P., 1996.** Manual on production and use of live food for aquaculture, FAO, pp.79-250.
- Rahimi B. and Nejatkah Manavi P., 2010.** Availability, accumulation and elimination of cadmium by *Artemia urmiana* in different salinities. Journal of Biological and Environmental Sciences, 4(12):149-157.
- Roger N.R., 1994.** Environmental analyses. John Wiley and Sons Inc. New York, U.S.A.
- Ruangsomboon S. and Wongrat L., 2006.** Bioaccumulation of cadmium in an experimental aquatic food chain involving phytoplankton (*Chlorella vulgaris*), zooplankton (*Moina macrocopa*), and the predatory catfish, *Clarias macrocephalus*, *C. gariephinus*. Aquatic Toxicology, 78:15-20.
- Sarabia R., Del Ramo J., Varo I., Diaz-Mayans J. and Torreblanca A., 2002.** Comparing the acuteresponse to cadmium toxicity of nauplii from different populations of *Artemia*. Environmental Toxicology and Chemistry, 21(2):437-444.
- Sarabia R., Varo I., Amat F., Pastor A., Del Ramo J., Diaz-Mayans J. and Torreblanca A., 2006.** Comparative toxicokinetics of cadmium in *Artemia*. Archive of Environmental Contamination and Toxicology, 50:111-120.
- Seebaugh D.R. and Wallace W.G., 2004.** Importance of metal-binding protein in the partitioning of Cd and Zn as tropically available metal (TAM) in the brine shrimp *Artemia franciscana*. Marine Ecology Progress Series, 272:215-230.
- Seebaugh D.R., Goto W.G. and Wallace D.W.G., 2004.** Bioenhancement of cadmium transfer along a multi-level food chain. Marine Environmental Research, 141:473-491.
- Szczerbik P., Mikolajczyk M. and Mikolajczyk M.S., 2006.** Influence of longterm exposure to dietary cadmium on growth, maturation and reproduction of goldfish (subspecies: Prussian carp *Carassius auratus gibelio* B.). Aquatic Toxicology, 77:126-135.
- Van Stappen G., 1996.** Introduction, biology and ecology of *Artemia*. In: (P. Lavens and P.

Sorgeloos eds.) Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper No. 361. FAO, Rome, Italy .295P.

Wong C.K.C. and Wong M.H., 2000. Morphological and biochemical changes in the gills of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to ambient cadmium exposure. Aquatic Toxicology, 48:517-527.

LC₅₀ and bioaccumulation of Cd in different life stages of *Artemia urmiana*

Rahimi B.* and Nejatkhah Manavi P.

beti_rf@yahoo.com

Faculty of Marine Science and Technology, Islamic Azad University, # 14, Shahid Falahi Ave.,
Tehran, Iran

Received: March 2009

Accepted: March 2010

Keywords: *Artemia urmiana*, Pollution, Heavy metals, Toxics

Abstract

This study was conducted in vitro to assess lethality, LC₅₀ and the possibility of bioaccumulation of cadmium in various life stages of *Artemia urmiana*. *Artemia* is highly used in aquaculture; hence the response of the organisms to pollutants, such as cadmium regarding the increase in environmental pollution is of high importance. This experiment was performed in Faculty of Marine science and Technology, Islamic Azad University and Atomic Energy Organization of Iran in 2009. In the first stage, smaller than 1day naupliis were exposed to 10 different concentrations from 0 to 250mg/l Cd. LC₅₀ of Cd in 24h of *A. urmiana* exposure was 189.33mg/L. Next, the accumulations of Cd in 5, 10, 15 and 20mg/l Cd were examined in 1, 5, 11 and 17 days of *Artemia urmiana* life. The results showed that *Artemia urmiana* has the ability of accumulation of cadmium and the accumulation level depends upon the concentration of the cadmium in the environment as well as different living periods of *Artemia*. We found that increasing the concentration of cadmium in the environment increases its accumulation in *Artemia*. There was a significant difference in accumulation of Cd between 5mg/l Cd (0.267ppm) and 20mg/l Cd (0.364ppm) in the first day of *A. urmiana* life ($P<0.05$). In all treatments of the 11 day *Artemia*, bioaccumulations of Cd increased with increasing of cadmium concentration. Maximum accumulation of Cd was in 20mg/l Cd in the 11 day *Artemia*. Results showed that although *A. urmiana* is resistant to Cd, however in 250mg/l, cadmium has significant toxic effects on *Artemia* survival (3.33%).

*Corresponding author