

Sublethal toxicity of the Diazinon insecticide on the growth, survival, antioxidant and digestive enzymes activity of Fairy shrimp (*Phallocryptus spinosa*)

Atashbar Kangarloei B.^{1*}; Pourahad Anzabi M.²; Amini R.²

*b.atashbar@urmia.ac.ir

1-Department of Ecology and Resources Management, Artemia and Aquaculture Institute, Urmia University, Urmia, Iran

2-Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran

Received: March 2025

Accepted: July 2025

Published: November 2025



Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introduction

Population growth and limited production inputs have forced farmers to use pesticides (Zand *et al.*, 2002), and aquatic ecosystems are consistently exposed to these pollutants (Mansingh and Wilson, 1995). Pesticide contamination in aquatic ecosystems poses a serious threat to the foundation of the food chain (Aydın and Köprücü, 2005; De Prado *et al.*, 2012). Pesticides at the chronic level led to destructive effects in various physiological functions (Varo *et al.*, 2002; Koprucu and Koprucu, 2006). Additionally, organophosphorus pesticides have been shown to induce oxidative stress, alter growth rates, and disrupt reproductive indices in the larvae of the shrimp *Streptocephalus dichotomus* (Arun Kumar and Javahar, 2014). Diazinon is one of the most important organophosphorus pesticides. As a persistent pesticide, it is highly toxic to fish and aquatic invertebrates (Coupe *et al.*, 2000; Samadi *et al.*, 2019). This chemical is easily washed away after use, entering aquatic environments in significant quantities (Aydın & Köprücü, 2005). Many species of large branchiopods occur in temporary habitats surrounding agricultural areas and farmlands, which serve as locations where *Phallocryptus spinosa* can be found (Atashbar *et al.*, 2014). *Phallocryptus spinosa* inhabits temporary freshwater to brackish water bodies, the hydroregime patterns of which are highly unpredictable. These habitats typically fill in early spring and dry out by summer (Atashbar *et al.*, 2014). Environmental pollution from diazinon-one of the most widely used agricultural pesticides-affects the life cycle of zooplankton, such as fairy shrimp, and threatens their populations. Thus, understanding the impact of such substances on the environment, particularly aquatic ecosystems, is essential. Therefore, this study aimed to investigate the effects of diazinon insecticide toxicity on the growth, survival, and activity of antioxidant and digestive enzymes in *P. spinosa* larvae.

Methodology

This study was conducted at the Artemia and Aquaculture Research Institute of Urmia University. *P. spinosa* shrimp cyst hatching was performed following the method recommended by Atashbar *et al.* (2012). To determine the 24-hour LC₅₀ of diazinon, a preliminary range-finding test was first conducted using 30 shrimp larvae (in triplicate) (Lan and Lin, 2005). Based on these results, three experimental treatments (Table 1) were selected to investigate the effects of sublethal diazinon concentrations on shrimp rearing conditions. Survival and growth rates were assessed on days 1, 3, 5, and 7 using the methods of Rahimi and Nejatkah Manavi (2011) and Agh *et al.* (2008). The activities of SOD, CAT and GP_x enzymes were measured according to Yazdanparast *et al.* (2008). Malondialdehyde (MDA) activity was determined based on thiobarbituric acid inhibition by MDA in the crude enzyme extract (Ledwożyw *et al.*, 1986). Digestive enzyme activities were measured as follows: Alkaline protease: Garcia-Carreno and Haard (1993), Lipase: Iijima *et al.* (1998), Alpha-amylase: Bernfeld (1955). Data were analyzed using one-way ANOVA in SPSS (version 21), with a significance level (Type I error) set at $\alpha = 0.05$.

Results

The comparison of mean survival percentages (Table 3) revealed a significant decrease due to diazinon exposure ($p < 0.05$). Day 3: a significant difference ($p < 0.05$) was observed between treatment 1 (control) and treatment 4 (100% diazinon). Day 5: significant differences ($p < 0.05$) were detected between treatment 1 and treatments 2 (25% diazinon), 3 (50% diazinon), and 4. Also, treatments 2 and 3 vs. treatment 4. Day 7: significant differences ($p < 0.05$) occurred between treatment 1 and treatments 2, 3, and 4 and between the treatment 2 and treatments 3 and 4. The highest survival rate was recorded in treatment 1, while the lowest was in treatment 4 (100% diazinon) ($p < 0.05$). Comparison of mean growth indices (Table 4) revealed a significant decrease due to diazinon exposure ($p < 0.05$). The significant differences were observed as follows: day 3: treatment 1 (control) vs. treatments 3 (50% diazinon) and 4 (100% diazinon), day 5: treatment 1 vs. treatments 3 and 4; treatment 2 (25% diazinon) vs. treatment 4; day 7: treatment 1 vs. treatments 2, 3, and 4; treatment 2 vs. treatments 3 and 4; treatment 3 vs. treatment 4. The highest growth rate was observed in treatment 1 (control), while the lowest occurred in treatment 4 (100% diazinon) ($p < 0.05$). The results for whole-body antioxidant enzyme activity and malondialdehyde (MDA) levels (Figure 1) showed significant increases due to diazinon exposure ($p < 0.05$). Significant differences were observed in: SOD activity: treatment 1 (control) vs. treatments 2 (25% diazinon), 3 (50% diazinon), and 4 (100% diazinon); CAT activity: treatment 1 vs. treatments 3 and 4; GP_x activity: treatment 1 vs. treatments 2, 3, and 4; treatment 3 vs. treatments 2 and 4; MDA content: treatment 1 vs. treatments 2, 3, and 4; treatment 4 vs. treatments 2 and 3. The results of whole-body digestive enzyme activity (Figure 2) showed significant increases due to diazinon exposure ($p < 0.05$). Alkaline protease, lipase, and α -amylase in treatment 1 (control) showed significant differences compared to treatments 2 (25% diazinon), 3 (50% diazinon), and 4 (100% diazinon) ($p < 0.05$). The α -Amylase in treatment 4 differed significantly from treatments 2 and 3 ($p < 0.05$). The lowest and highest levels of alkaline protease activity were observed in

treatments 1 and 4, respectively, and the lowest and highest activity of lipase and alpha-amylase enzymes were observed in treatments 1 and 3, respectively ($p < 0.05$).

Discussion and conclusion

The results of this study demonstrated that shrimp larval survival decreased with increasing diazinon concentration. This aligns with findings by Taylor *et al.* (1998), where pollutant exposure affected vital functions in zooplankton, leading to population density reduction, decreased oxygen consumption, and nutritional limitations that ultimately impact survival rates. Additionally, shrimp larval growth declined at higher diazinon concentrations. Asadpour *et al.* (2012) attributed such growth reduction to disturbances in feeding behavior and alterations in biochemical and physiological responses to pollutants.

Toxins reduce growth through absorption and organ damage (Cong *et al.*, 2009; Rudnicki *et al.*, 2009; Aggarwal *et al.*, 2013). Our results demonstrated elevated levels of SOD, CAT, GP_x, and MDA following diazinon exposure. The increased SOD and CAT enzyme levels reflect stimulated free radical elimination (Rumley and Paterson, 1998), while elevated GP_x activity indicates an enhanced antioxidant defense capacity against radical chain reactions in *P. spinosa* (Schneider *et al.*, 2005). The rise in MDA content suggests diazinon-induced lipid peroxidation (Jafari *et al.*, 2012). We also observed increased digestive enzyme activity at various diazinon concentrations. This may result from toxin-induced stress altering feeding behavior and subsequent digestive enzyme secretion (Suzer *et al.*, 2006). In summary, diazinon exposure at different concentrations: (1) reduced survival and growth rates, (2) disrupted vital physiological functions in *P. spinosa* larvae.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests.

Acknowledgment

We extend our heartfelt thanks to the Office of Vice Chancellor for Research and Artemia and Aquaculture Research Institute of Urmia University for enabling this research.

مقاله علمی - پژوهشی:

سمیت تحت کشنده حشره کش دیازینون بر رشد، زنده ماندی، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و گوارشی پریان میگو (*Phallocryptus spinosa* Milne-Edwards, 1840)

بهروز آتشبار کنگرلوئی^{۱*}، مجتبی پوراحمد انزابی^۲، رامان امینی^۲

*b.atashbar@urmia.ac.ir

۱- گروه اکولوژی و مدیریت ذخایر آبی، پژوهشکده آرتیمیا و آبزی پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

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

تاریخ چاپ: آبان ۱۴۰۴

تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: اسفند ۱۴۰۳

چکیده

آلودگی محیط زیست در اثر استفاده از حشره کش ها در فعالیت های کشاورزی، تهدیدی جدی برای بوم سازگان های آبی محسوب می شود که می تواند چرخه زندگی و ذخایر زیستی بسیاری از گونه های زی شناوران جانوری (ریزسخت پوستان) را تحت تأثیر قرار دهد. از این رو، در مطالعه حاضر اثر سمیت حشره کش دیازینون بر رشد، زنده ماندی، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و گوارشی در پریان میگو (*Phallocryptus spinosa*) مورد بررسی قرار گرفت. غلظت کشندگی میانی (LC₅₀) برای مرحله های ناپلی و بلوغ و در ساعت های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ با استفاده از تجزیه و تحلیل آماری پرویت تعیین گردید. به منظور بررسی اثر غلظت های تحت کشنده دیازینون، میانگین غلظت های LC₅₀ ۹۶ ساعته استفاده شد و ناپلی ها در قالب ۴ تیمار شامل گروه شاهد، ۲۵ درصد LC₅₀، ۵۰ درصد LC₅₀ و ۱۰۰ درصد LC₅₀ به مدت ۷ روز پرورش داده شدند. نتایج نشان داد، غلظت های مختلف دیازینون باعث کاهش درصد زنده ماندی و رشد پریان میگو (*P. spinosa*) در روزهای ۳، ۵ و ۷ پرورش شد ($p < 0.05$). فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی (سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز) و محتوای مالون دی آلدئید در غلظت های مختلف سم دیازینون افزایش یافت ($p > 0.05$). همچنین سطح فعالیت آنزیم های گوارشی (پروتئاز، لیپاز و آلفا آمیلاز) نیز در غلظت های مختلف سم دیازینون افزایش یافت ($p > 0.05$). بر اساس نتیجه گیری نهایی می توان بیان کرد که حشره کش دیازینون منجر به کاهش زنده ماندی و رشد و تغییر در فعالیت فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، محتوای مالون دی آلدئید و آنزیم های گوارشی در پریان میگو (*P. spinosa*) شد. بنابراین، بایستی در ارتباط با چگونگی مدیریت در دفع پساب های آلوده به سموم کشاورزی توجه بیشتری صورت پذیرد.

لغات کلیدی: دیازینون، رشد، زنده ماندی، آنزیم های آنتی اکسیدانی، آنزیم های گوارشی، *Phallocryptus spinosa*

*نویسنده مسئول



Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

مقدمه

امروزه آفت کش ها در کشاورزی برای کنترل آفات به کار می روند. جمعیت روبه رشد بشر و محدود بودن نهاده های تولید، کشاورزان را ناگزیر از کاربرد آفت کش های مختلف برای جلوگیری از کاهش محصول در اثر عوامل ناخواسته کرده است (Zand et al., 2002). این ترکیبات به طیفی از مواد شیمیایی اطلاق می شوند که برای موجودات زنده خاصی که از نظر انسان مزاحم هستند، کشنده است. انواع حشره کش ها، علف کش ها، قارچ کش ها و سموم جونده کش در این گستره تعریف می گردند (De Prado et al., 2012). اگرچه در فعالیتهای کشاورزی آفت کش هایی استفاده می شوند که باقی مانده آنها کم، حلالیت آنها در آب پایین و قابلیت جذب آنها به خاک بیشتر باشد (Pimentel, 2005)، اما بوم سازگان های آبی همواره تحت تأثیر انواع این آلاینده ها هستند. در این بین یکی از راه های آلودگی منابع آبی با آفت کش ها، زهکش زمین های کشاورزی است (Mansingh and Wilson, 1995). آلودگی محیط های آبی موجودات آبی را درگیر مشکلات جدی کرده است. انتشار مواد شیمیایی کشاورزی، صنعتی و تجاری در آب منجر به اثرات مخرب متعددی بر موجودات آبی شده است. آلودگی بوم سازگان های آبی با آفت کش ها، تهدیدی جدی برای پایه های اصلی زنجیره غذایی (زی شناوران) محسوب می شود (Aydın and Köprücü, 2005; De Prado et al., 2012). محققان تأثیر سمیت آفت کش های ارگانوفسفره را در آبیان مطالعه کرده اند. نتایج این مطالعات نشان داده است که این آفت کش ها در سطح مزمن منجر به آثار مخرب در عملکردهای فیزیولوژیک می شوند (Varo et al., 2002; Köprucu and Köprucu, 2006). همچنین مشخص شده است که آفت کش های ارگانوفسفره منجر به استرس اکسیداتیو، تغییرات در رشد و اختلالات شاخص های تولیدمثلی در پریان میگو (*Streptocephalus dichotomus*) می شود (Arun Kumar and Javahar, 2014). دیازینون یکی از مهم ترین آفت کش های ارگانوفسفره بوده و به عنوان یک آفت کش پایدار، به شدت برای ماهیان و بی مهرگان آبی سمی است (Coupe et al., 2000; Samadi et al., 2019). دیازینون جزو پرمصرف ترین سموم

مورد استفاده فعالیت های کشاورزی، زمین های زراعی و باغات در ایران است. این حشره کش غیر سیستمیک، تماسی، گوارشی و تنفسی از گروه سموم ارگانوفسفره بوده و مهارکننده آنزیم کولین استراز در سیستم عصبی است. دیازینون با دارا بودن قابلیت نفوذ در لایه های واکسی بافت های گیاهی، طیف وسیعی از آفات جونده و مکنده را در باغات به خوبی کنترل می کند (Mohiseni et al., 2008). این سم پس از استفاده به راحتی شسته شده و به مقدار قابل توجهی وارد محیط های آبی می شود (Aydın and Köprucu, 2005). دیازینون با تأثیر عمومی بر موجودات غیر هدف (بی مهرگان)، خطرات زیست محیطی فوق العاده زیادی به دنبال دارد (Köprucu and Köprucu, 2006). سخت پوست-زی شناوران جانوری (آرتیمیا، پریان میگو، کوبه پودها و دافنی ها)، علاوه بر کاربرد در آبی پروری به عنوان غذای زنده، در محیط های طبیعی نیز لارو ماهیان آنها را مصرف کرده و نقش مهمی در انتقال زنجیره انرژی در منابع آبی و دریاها ایفاء می کنند (Aydın et al., 2013a, b; Gambardella et al., 2014). این ریزسخت پوستان به دلیل طول عمر کوتاه، جثه کوچک و در دسترس بودن سیستم های خشک آنها، از مهم ترین موجودات آبی برای مطالعات سم شناسی به شمار می آیند. یکی دیگر از مزیت های مطالعات سم شناسی بر این موجودات، سریع تر به نسل دوم رسیدن این آبیان است و می توان اثرات سمیت را در نسل های بعدی نیز بررسی نمود (Novakova et al., 2007). پریان میگوها مهم ترین بی مهرگان مرتبط با محیط های آبی هستند. آنها در جویبارها، حوضچه های ذخیره سازی، استخرها و تالاب ها زندگی می کنند. خواص فیزیولوژیکی نقش اساسی را در توسعه زیستگاه های موقت و جوامع آنها ایفاء می کنند (Angelibert et al., 2004). پریان میگو (*P. spinosa*) به طور گسترده به عنوان غذای زنده در آبی پروری استفاده می شود. این گونه، شاخص آلودگی منابع آبی با آفت کش ها نیز مطرح است (Atashbar et al., 2014). از این رو، در نظر گرفتن تأثیر حشره کش ها بر این گونه مهم راسته Anostraca بسیار مهم است. آلودگی منابع آبی با حشره کش ها تهدیدی برای حیات وحش آبیان است و بایستی به عنوان یک عامل مهم در

جدول ۱: گروه‌های آزمایشی

Table 2: Experimental groups

Treatment	Nomenclature	Diazinon toxin concentration
1	Control	Without Diazinon
2	25% Diazinon	25% LC ₅₀ 96 hours Diazinon
3	50% Diazinon	50% LC ₅₀ 96 hours Diazinon
4	100% Diazinon	100% LC ₅₀ 96 hours Diazinon

تعیین غلظت کشنده میانی (LC₅₀) سم دیازینون در مراحل مختلف رشد

برای به دست آوردن غلظت LC₅₀ سم دیازینون، ابتدا آزمایشی بر ۳۰ عدد پریان میگو (در سه تکرار) به مدت ۲۴ ساعت برای یافت محدوده اثر انجام شد (Lan and Lin, 2005). بدین منظور تعداد ۲۰ ناپلی و ۱۰ پریان میگوی بالغ در ظروف ۱۰۰ میلی لیتری با ۵ تکرار برای هر غلظت (۱۶ غلظت در محدوده صفر تا ۸ میلی گرم در لیتر) قرار داده شده و سپس تعداد تلفات در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت برای هر یک ثبت شد (Hadjispyrou *et al.*, 2001). تست آنالیز پروبیت برای محاسبه LC₅₀ حشره کش دیازینون (جدول ۲) در یک دوره ۹۶ ساعته انجام شد (Mohiseni *et al.*, 2008).

بررسی اثر غلظت‌های تحت کشنده سم دیازینون بر شاخص‌های زیستی

برای تعیین سمیت، با استفاده از نتایج مرحله قبلی (جدول ۲)، ۳ تیمار آزمایشی جهت مطالعه اثر وجود غلظت‌های تحت کشنده سم دیازینون در محیط پرورش پریان میگوها مورد استفاده قرار گرفت. در تیمار بندی از درصد‌های مختلف LC₅₀ ناپلی در ۹۶ ساعت در سه تکرار استفاده شد. این آزمایش با انتقال ۱۰۰ عدد ناپلی تازه تفریخ شده به محیط پرورش و اضافه کردن سم دیازینون شروع و تا روز هفتم ادامه یافت (Lan and Lin, 2005). تعویض آب طی دوره پرورش در روزهای ۳ و ۵ انجام شد و بعد از تعویض آب غلظت‌های سم دیازینون بر اساس میزان آب تعویض شده و غلظت تحت کشنده سم در هر تیمار اصلاح شد. در طول این مدت پریان میگوها با جلبک *Scenedesmus* sp.

استفاده از این آفت کش‌ها برای فعالیت‌های کشاورزی باشد (Angelibert *et al.*, 2004). با وجود این، در مورد سمیت حاد و مزمن آفت کش‌ها بر *P. spinosa* اطلاعاتی چندانی وجود ندارد. با توجه به این که آلودگی محیط زیست با دیازینون به عنوان یکی از سموم پرمصرف در کشاورزی، چرخه زندگی زی‌شناورانی مانند پریان میگوها را تحت تأثیر قرار می‌دهد و ذخائر این گونه‌ها را تهدید می‌کند، شناخت تأثیرگذاری این مواد در محیط زیست به خصوص در بوم‌سازگان‌های آبی ضروری به نظر می‌رسد و نتایج آن می‌تواند در برنامه‌ریزی‌های حفاظت از محیط زیست و ذخائر زی‌شناوران جانوری مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر غلظت‌های تحت کشنده حشره کش دیازینون بر رشد، زنده‌مانی، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و گوارشی پریان میگو (*P. spinosa*) انجام گرفت.

مواد و روش کار

سیست گشایی و پرورش

این مطالعه در پژوهشکده آرتمیا و آبی‌پروری دانشگاه ارومیه انجام گرفت. بدین منظور سیست‌های پریان میگو (*P. spinosa*) جمع‌آوری شده از آبگیرهای فصلی استان آذربایجان غربی، با آب شور ۵ گرم در لیتر با دمای ۲۱ درجه سانتی گراد، pH ۸/۲، هوادهی مناسب به همراه نور فلورسنت سفید و هوادهی مناسب به مدت ۲۴ ساعت در ظروف ته مخروطی تخم‌گشایی شدند (Atashbar *et al.*, 2012). در ادامه جهت تهیه پریان میگوها با سنین مختلف، تعداد ۵۰۰ عدد ناپلی تازه هچ شده شمارش شده و به ظروف حاوی ۱۰۰۰ میلی لیتر آب منتقل شدند (در ۳ تکرار جهت تأمین پریان میگوی بالغ برای آزمایش‌های LC₅₀: بعد از ۱۵ روز نر و ماده از لحاظ ظاهری کاملاً قابل تشخیص هستند). برای هوادهی از ظروف ته مخروطی به کمک پیپت پلاستیکی استفاده شد (Ates *et al.*, 2013a) (جدول ۱). در طول مدت پرورش پریان میگوها با جلبک *Scenedesmus* sp. بر اساس روش Coutteu (۱۹۹۶) تغذیه شدند.

با غلظت 1×10^6 cell/ml و بر اساس تعداد میگوها تغذیه شدند (Coutteu, 1996; Atashbar *et al.*, 2012). همچنین برای هوادهی از ظروف ته مخروطی به کمک پیپت پلاستیکی استفاده شد (Ates *et al.*, 2013a).

بررسی درصد زنده‌مانی و رشد

در روزهای ۱، ۳، ۵ و ۷ پرورش، تعداد پریان میگوها در هر تیمار به صورت جداگانه شمارش گردید و با توجه به تعداد پریان میگوهای زنده مانده نسبت به کل آن‌ها در روز اول، درصد زنده‌مانی تعیین شد. در طول دوره پرورش تعویض آب انجام گرفته و دوباره غلظت سم دیازینون تأمین می‌شد (Rahimi and Nejatkhah Manavi, 2011). همچنین میزان رشد در این روزها، پس از تثبیت پریان میگوها با محلول لوگول ۱٪ و با استفاده از میکروسکوپ مجهز به میکرومتر چشمی و لام مدرج با اندازه‌گیری طول بدن از سر تا انتهای بند شکمی تعیین شد. در صورت محدودیت استفاده از میکروسکوپ برای اندازه‌گیری طول پریان میگوها در مراحل پایانی رشد، از دستگاه استریومیکروسکوپ ترسیم و دستگاه دیجیتالی‌زر استفاده شد (Atashbar *et al.*, 2016).

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای مالون دی‌آلدئید بدن

بدین منظور از همه پریان میگوهای باقی‌مانده در انتهای دوره آزمایش، برای تهیه عصاره خام آنزیمی استفاده شد. در این مرحله پریان میگوها 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 سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز بر اساس روش Yazdanparast و همکاران (۲۰۰۸) انجام گرفت. سنجش میزان فعالیت مالون دی‌آلدئید نیز بر اساس میزان مهار تیوباربتوریک اسید به وسیله 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).

سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی بدن

به منظور تهیه عصاره‌های خام آنزیمی برای سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی بدن، از محلول نمک فیزیولوژیک استفاده شد (Rungrangsak-Torrissen, 2007). پس از سانتریفیوژ هموژن‌ها از مایع رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی پروتئاز بر اساس روش Carica-Carreno and Haard (۱۹۹۸)، لیپاز بر اساس روش Iijima و همکاران (۱۹۹۸) و آلفا آمیلاز بر اساس روش Bernfeld (۱۹۹۵) استفاده شد.

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

غلظت LC_{50} سم دیازینون با استفاده از آزمون پروبیت در محیط نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ به دست آمد. همچنین داده‌های حاصل با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه 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. همچنین تمام آنالیزها در محیط نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام پذیرفت و بیشینه سطح خطای نوع اول در آزمون‌ها ۰/۰۵ انتخاب شد. نتایج به صورت $Mean \pm SD$ گزارش شدند.

نتایج

غلظت LC_{50} سم دیازینون

بر اساس نتایج به دست آمده از تعیین غلظت‌های LC_{50} سم دیازینون مشخص شد که با افزایش مدت زمان مواجهه، مقاومت پریان میگوها به سم دیازینون کاهش یافت. همچنین بر اساس این نتایج (جدول ۲) ناپلی‌ها در مقایسه با بالغین مقاومت کمتری به سم دیازینون داشتند.

جدول ۲: غلظت LC_{50} سم دیازینون ۹۶ ساعته در پریان میگو

(*P. spinosa*)

Table 1: 96-hour LC_{50} of Diazinon in *P. spinosa*

Stage	24 h (mg/l)	48 h (mg/l)	72 h (mg/l)	96 h (mg/l)
Nauplii	2.449	0.732	0.327	0.075
Adult	7.084	1.899	0.450	0.057

زنده‌مانی

(50% Diazinon) و ۴ و تیمار ۲ و ۳ با تیمار ۴، و در روز ۷ پرورش نیز تیمار ۱ با تیمارهای ۲، ۳ و ۴ و تیمار ۲ با تیمارهای ۳ و ۴ دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($p < 0.05$). بیشترین درصد زنده‌مانی در تیمار ۱ و کمترین آن در تیمار ۴ مشاهده شد ($p < 0.05$).

مقایسه آزمون میانگین‌های شاخص درصد زنده‌مانی (جدول ۳) نشان داد که این شاخص تحت تأثیر سم دیازینون قرار گرفت و کاهش یافت ($p < 0.05$). به‌طوریکه در روز ۳ پرورش، تیمار ۱ (شاهد) با تیمار ۴ (100% Diazinon)، در روز ۵ پرورش تیمار ۱ با تیمارهای ۲ (25% Diazinon)، ۳

جدول ۳: درصد زنده‌مانی پربان میگو (*P. spinosa*) برای روزها و تیمارهای مختلف پرورشی (میانگین $\pm$ انحراف معیار، $n=3$)

Table 4: The survival rate of *P. spinosa* for different days and treatments (Mean $\pm$ SD, $n=3$)

Treatment	Nomenclature	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7
1	Control	0.0 ^a $\pm$ 100	0.0 ^a $\pm$ 100.0	0.9 ^a $\pm$ 94.3	0.6 ^a $\pm$ 76.6
2	25% Diazinon	0.0 ^a $\pm$ 100	4.7 ^{ab} $\pm$ 96.7	3.5 ^b $\pm$ 76.7	4.9 ^b $\pm$ 53.4
3	50% Diazinon	0.0 ^a $\pm$ 100	5.1 ^{ab} $\pm$ 90.00	4.7 ^b $\pm$ 63.4	4.1 ^c $\pm$ 16.7
4	100% Diazinon	0.0 ^a $\pm$ 100	6.7 ^c $\pm$ 73.4	5.5 ^c $\pm$ 36.7	1.5 ^c $\pm$ 9.3

داده‌ها (میانگین $\pm$ انحراف معیار) با حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند ($p < 0.05$).

Data (Mean $\pm$ SD) with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

رشد

(50% Diazinon) و ۴ و تیمار ۲ (25% Diazinon) با تیمار ۴، و در روز ۷ پرورش نیز تیمار ۱ با تیمارهای ۲، ۳ و ۴ و تیمار ۲ با تیمارهای ۳ و ۴ دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($p < 0.05$). بیشترین میزان رشد در تیمار ۱ و کمترین آن در تیمار ۴ مشاهده شد ($p < 0.05$).

مقایسه آزمون میانگین‌های شاخص رشد (جدول ۴) نشان داد که این شاخص تحت تأثیر سم دیازینون قرار گرفت و کاهش یافت ($p < 0.05$). به‌طوریکه در روز ۳ پرورش تیمار ۱ (شاهد) با تیمارهای ۳ (50% Diazinon) و ۴ (100% Diazinon)، در روز ۵ پرورش تیمار ۱ با تیمارهای ۳

جدول ۴: عملکرد رشد (میلی‌متر) پربان میگو (*P. spinosa*) برای روزها و تیمارهای مختلف پرورشی (میانگین $\pm$ انحراف معیار، $n=3$)

Table 4: The growth performance (mm) of *P. spinosa* for different days and treatments (Mean $\pm$ SD, $n=3$).

Treatment	Nomenclature	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7
1	Control	0.01 ^a $\pm$ 0.46	0.33 ^a $\pm$ 3.72	0.63 ^a $\pm$ 5.25	0.73 ^a $\pm$ 8.56
2	25% Diazinon	0.01 ^a $\pm$ 0.46	0.65 ^{ab} $\pm$ 3.46	0.06 ^{ab} $\pm$ 4.53	0.41 ^b $\pm$ 7.24
3	50% Diazinon	0.01 ^a $\pm$ 0.46	0.31 ^b $\pm$ 3.14	0.39 ^{bc} $\pm$ 4.26	0.71 ^c $\pm$ 5.57
4	100% Diazinon	0.01 ^a $\pm$ 0.46	0.37 ^c $\pm$ 2.65	0.17 ^c $\pm$ 3.58	0.46 ^d $\pm$ 3.82

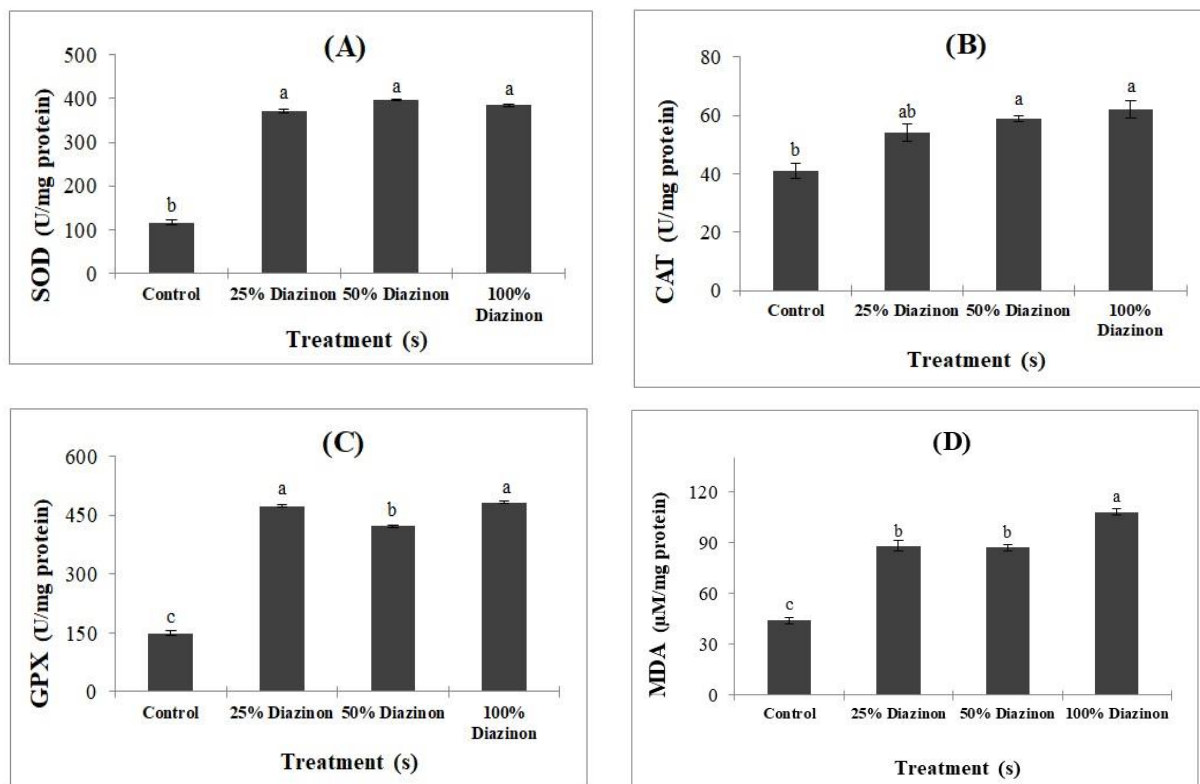
داده‌ها (میانگین $\pm$ انحراف معیار) با حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند ($p < 0.05$).

Data (Mean $\pm$ SD) with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

(CAT) در تیمار ۱ با تیمارهای ۳ و ۴، گلوکاتایون پراکسیداز (GPx) در تیمار ۱ با تیمارهای ۲، ۳ و ۴ و در تیمار ۳ با تیمارهای ۲ و ۴، و محتوای مالون دی‌آلدئید (MDA) در تیمار ۱ با تیمارهای ۲، ۳ و ۴ و در تیمار ۴ با تیمارهای ۲ و ۳ دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($p < 0.05$). کمترین و بیشترین سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای مالون دی‌آلدئید به‌ترتیب در تیمارهای ۱ و ۴ مشاهده شد ($p < 0.05$).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای مالون دی‌آلدئید

نتایج مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای مالون دی‌آلدئید کل بدن (شکل ۱) نشان داد که این شاخص‌ها تحت تأثیر سم دیازینون قرار گرفتند و افزایش یافتند ($p < 0.05$). به‌طوری‌که سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در تیمار ۱ (شاهد) با تیمارهای ۲ (25% Diazinon)، ۳ (50% Diazinon) و ۴ (100% Diazinon)، کاتالاز



شکل ۱: فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و مالون دی‌آلدئید پریان میگو (*P. spinosa*) در تیمارهای مختلف پرورشی. سوپر اکسید دیسموتاز: (A) SOD، کاتالاز: (B) CAT، گلوکاتایون پراکسیداز: (C) GPx، مالون دی‌آلدئید: (D) MDA. ۱: Control (محیط پرورش فاقد سم دیازینون)، ۲: 25% Diazinon (محیط پرورش حاوی ۲۵ درصد LC_{50} ۹۶ ساعت سم دیازینون)، ۳: 50% Diazinon (محیط پرورش حاوی ۵۰ درصد LC_{50} ۹۶ ساعت سم دیازینون)، ۴: 100% Diazinon (محیط پرورش حاوی ۱۰۰ درصد LC_{50} ۹۶ ساعت سم دیازینون). حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $p < 0.05$ بود (میانگین $\pm$ انحراف معیار، $n=3$).

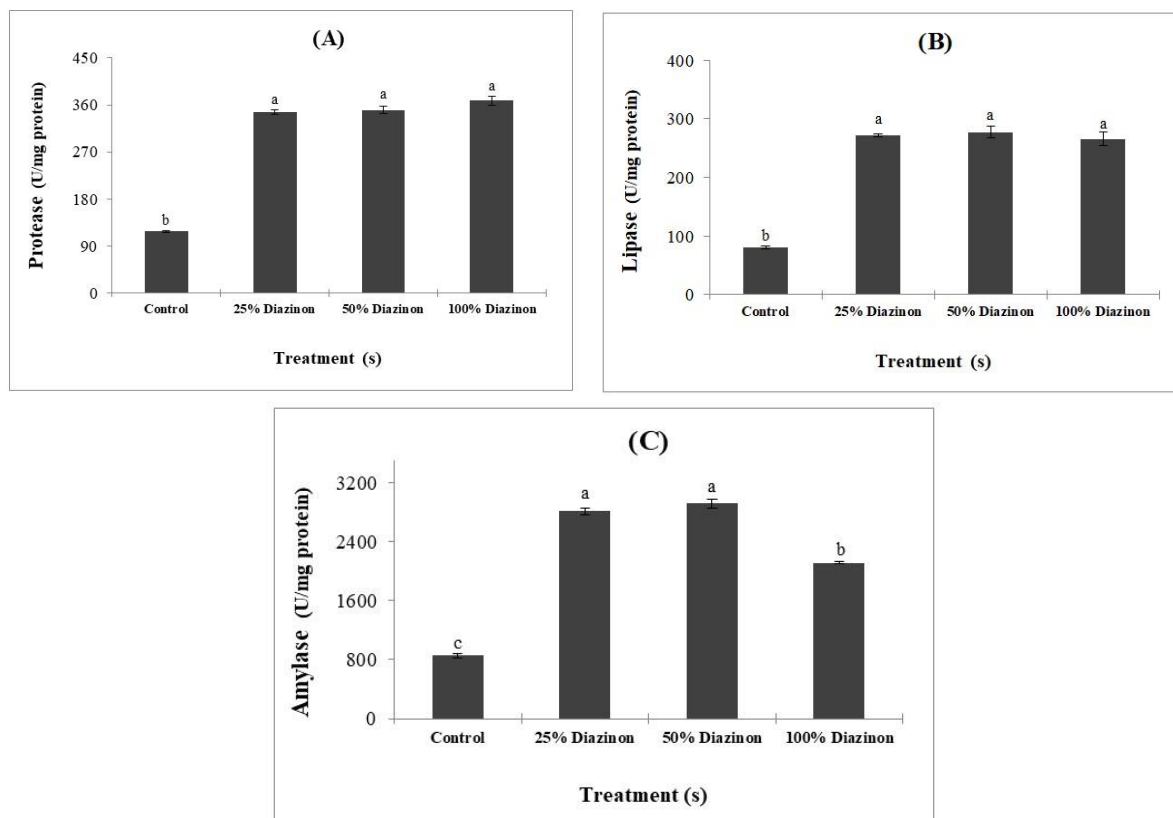
Figure 1: The activity of antioxidant enzymes and malondialdehyde of *P. spinosa* in different treatments. Superoxide dismutase SOD (A), Catalase: CAT (B), Glutathione peroxidase: GPx (C), Malondialdehyde: MDA (D). 1: Control (Without Diazinon), 25% CdCl₂ (25% LC_{50} 96 hours Diazinon), 50% Diazinon (50% LC_{50} 96 hours Diazinon), 100% Diazinon (100% LC_{50} 96 hours Diazinon)

Data (Mean $\pm$ SE) with different superscripts were significantly different ($p < 0.05$).

فعالیت آنزیم‌های گوارشی

نتایج مربوط به سطح فعالیت آنزیم‌های گوارشی کل بدن (شکل ۲) نشان داد که این آنزیم‌ها تحت تأثیر سم دیازینون قرار گرفتند و افزایش یافتند ($p < 0.05$) به‌طوری‌که پروتئاز، لیپاز و آلفا آمیلاز در تیمار ۱ (شاهد) با تیمارهای ۲ (25% Diazinon)، ۳ (50% Diazinon) و ۴ (100% Diazinon) دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($p < 0.05$). سطح آلفا آمیلاز در تیمار ۴ با تیمارهای ۲ و ۳ نیز دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p < 0.05$). کمترین و بیشترین سطح

فعالیت پروتئاز به‌ترتیب در تیمارهای ۱ و ۴ و کمترین و بیشترین سطح فعالیت آنزیم‌های لیپاز و آلفا آمیلاز به‌ترتیب در تیمارهای ۱ و ۳ مشاهده شد ($p < 0.05$).



شکل ۲: فعالیت آنزیم‌های گوارشی پریان میگو (*P. spinosa*) در تیمارهای مختلف پرورشی. پروتئاز: (A) آلfa آمیلاز: (B) آمیلاز: (C) لیپاز: (C). ۱: Control (محیط پرورش فاقد سم دیازینون)، ۲: 25% Diazinon (محیط پرورش حاوی ۲۵ درصد Diazinon)، ۳: 50% Diazinon (محیط پرورش حاوی ۵۰ درصد LC₅₀ ۹۶ ساعت سم دیازینون)، ۴: 100% Diazinon (محیط پرورش حاوی ۱۰۰ درصد LC₅₀ ۹۶ ساعت سم دیازینون). حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $p < 0.05$ بود (میانگین $\pm$ انحراف معیار، n=۳).

Figure 2: The activity of digestive enzymes of *P. spinosa* in different treatments. Alkaline protease (A), Amylase (B), Lipase (C). 1: Control (Without Diazinon), 25% CdCl₂ (25% LC₅₀ 96 hours Diazinon), 50% Diazinon (50% LC₅₀ 96 hours Diazinon), 100% Diazinon (100% LC₅₀ 96 hours Diazinon).

Data (Mean $\pm$ SE) with different superscripts were significantly different ($p < 0.05$).

بحث

بررسی روند تغییرات شاخص درصد زنده‌مانی در مطالعه حاضر نشان داد که با افزایش سن طی ۷-۱ روز پرورش و افزایش غلظت حشره‌کش دیازینون، درصد زنده‌مانی پریان میگوها کاهش یافت. پیش‌تر نیز پژوهشگران نتایج مشابهی را از تأثیر آلاینددهای مختلف بر ریزسخت‌پوستان گزارش کردند. در مطالعه Ghamarshenas و همکاران (۲۰۲۳) نیز پرورش در محیط حاوی حشره‌کش دیازینون منجر به کاهش زنده‌مانی *Artemia urmiana* شد. نتایج مطالعه Alishahi و Dezfouli (۲۰۱۹) نشان‌دهنده کاهش زنده‌مانی *Artemia salina* با افزایش غلظت و مدت زمان مواجهه با

بوم‌سازگان‌های آبی همواره در معرض آلودگی با انواع سموم هستند. این آلودگی‌ها از طریق اثر بر میزان فیلتراسیون و جذب مواد غذایی باعث آسیب‌های فیزیولوژیک آبزیان ساکن در این اکوسیستم‌ها می‌شوند (Kardavani, 2005). تغییرات شرایط محیطی در منابع آبی به‌وسیله آلاینددهایی مانند حشره‌کش‌ها منجر به اختلالات در عملکرد رشد، زنده‌مانی و تغییر در عملکرد فیزیولوژیک آبزیان می‌شود تا بتوانند در محیط جدید دارای رفتار بهینه باشند (Pierre et al., 2011).

سلولی و آسیب زدن به اندامک‌های زی‌شناوران منجر به کاهش رشد می‌شوند (Cong *et al.*, 2009; Rudnicki *et al.*, 2013; Aggarwal *et al.*, 2009). بررسی روند تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مطالعه حاضر، نشان‌دهنده افزایش سطح سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز در مواجهه با دیازینون بود. محتوای مالون دی‌آلدئید نیز در مواجهه با سم افزایش یافت. نتایج مختلفی از فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در رویارویی با آلاینده‌ها در آبزیان گزارش شده است. در مطالعه Yuksel و همکاران (۲۰۲۰) سم مالاتیون باعث کاهش سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز در گاماروس (*Gammarus pulex*) شد. در مطالعه Gambardella و همکاران (۲۰۱۴) استفاده از فلز سنگین در محیط پرورش *A. salina* باعث افزایش گلووتاتیون پراکسیداز شد. آنزیم‌های کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز در بافت کبد گربه‌ماهی (*Clarias gariepinus*) پرورش یافته در محیط آلوده به آفت‌کش پری‌مکسترا، افزایش یافتند (Nwani *et al.*, 2014). محتوای مالون دی‌آلدئید کبد ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نیز در مواجهه با نانوذرات نقره افزایش یافت (Federici *et al.*, 2007). 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 استرس اکسیداتیو دچار تغییر می‌شود (Limon-Pacheco and Gonsebatt, 2009). در مطالعه حاضر، افزایش سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در مواجهه با سم دیازینون را می‌توان به تحریک در جهت حذف رادیکال‌های آزاد نسبت داد (Rumley and Paterson, 1998). 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 تولید شده به وسیله 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 می‌کند و

آفت‌کش‌های مختلف بود. همچنین Alishahi و Heidari (۲۰۱۰) و Mohammadi و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی تأثیر نانوذرات نقره بر ناپلی *A. urmiana* گزارش کردند که درصد زنده‌مانی با افزایش غلظت این آلاینده به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در مطالعه Bakhtiyari و همکاران (۲۰۲۳) پرورش در محیط حاوی حشره‌کش سایپرمتترین منجر به کاهش زنده‌مانی *A. urmiana* شد. مشخص شده است که افزایش غلظت آلاینده‌ها در محیط زندگی زی‌شناوران با اختلال و آسیب بر اندام‌های حیاتی آنها باعث تلفات می‌شوند (Aggarwal *et al.*, 2013). با تأثیر سمیت مزمن آلاینده‌ها بر اعمال حیاتی و افزایش تلفات زی‌شناوران، کاهش تراکم در محیط پرورشی و به دنبال آن کاهش مصرف اکسیژن و کاهش محدودیت تغذیه‌ای باعث زنده‌مانی سایر افراد جمعیت می‌شود. پیش‌تر این رفتار در دافنی‌های مواجهه شده با آلاینده‌ها، به اثبات رسیده است (Tylor *et al.*, 1998).

بررسی روند تغییرات شاخص رشد در مطالعه حاضر نشان داد که با افزایش غلظت حشره‌کش دیازینون، رشد پربان میگوها کاهش یافت. نتایج مطالعات متعددی نشان‌دهنده اثرات سموم مختلف بر کاهش رشد در گونه‌های مختلف ریزسخت‌پوستان بودند که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارند (Varó *et al.*, 1998, 2002; Brix *et al.*, 2003; Brix *et al.*, 2006). بررسی تأثیر آلاینده‌های مختلف بر رشد چند گونه از آرتمیا نشان داد که میزان رشد با افزایش غلظت آلاینده‌ها کاهش داشت (Asadpour *et al.*, 2012). نتایج مطالعات Ghamarshenas و همکاران (۲۰۲۳) با هدف بررسی اثر حشره‌کش دیازینون و Bakhtiyari و همکاران (۲۰۲۳) با هدف بررسی اثر غلظت‌های تحت‌کشنده حشره‌کش سایپرمتترین بر *A. urmiana* نیز نشان‌دهنده کاهش رشد بود. استرس محیطی در مدت زمان اندک زی‌شناوران را وادار به پاسخ و تغییر در رفتار تغذیه‌ای می‌کند و در ادامه کاهش نرخ تغذیه و کاهش رشد رخ می‌دهد (Kasumyan, 2000). اختلال و تغییر در رفتار تغذیه‌ای و پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک موجود در مواجهه با آلاینده‌ها از عوامل کاهش رشد در آنها بیان شده است (Asadpour *et al.*, 2012). سموم از طریق جذب

با توجه به نتایج حاصله از این مطالعه می‌توان بیان کرد که حشره‌کش دیازینون در غلظت‌های مختلف منجر به کاهش درصد زنده‌مانی و رشد و اختلال در اعمال حیاتی و فیزیولوژیک پریان میگو (*P. spinosa*) شد. نوع اختلال و شدت تأثیر سم دیازینون به دو عامل مدت زمان رویارویی و سن پریان میگو (*P. spinosa*) بستگی داشت. البته اثر غلظت بالای سموم (۵۰ و ۱۰۰ درصد LC_{50}) بر شاخص‌های رشد، زنده‌مانی و فیزیولوژیک مراحل مختلف زندگی پریان میگو (*P. spinosa*) بیشتر از سایر غلظت‌ها بود. بنابراین، بایستی در ارتباط با چگونگی مدیریت در دفع پساب‌های آلوده به سموم کشاورزی، توجه و جدیت بیشتری صورت پذیرد.

منابع

- Aggarwal, V., Deng, X., Tuli, A. and Goh, K.S., 2013. Diazinon- chemistry and environmental fate: A California perspective. In: Whitacre, D.M. (eds) Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. Springer, New York. pp 107-140. DOI:10.1007/978-1-4614-5577-6_5
- Alishahi, M. and Heidari, B., 2010. Investigating the toxicity of silver nanoparticles in Urmia Lake Artemia. *Journal of Modern Veterinary Research*, 8:49-54. (In Persian)
- 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.

سطح فعالیت آن در ارتباط با فعالیت سوپراکسید دیسموتاز است (Limon-Pacheco and Gonsebatt, 2009). گلوکاتیون پراکسیداز آخرین آنزیمی است که وارد واکنش ضد اکسایشی می‌شود. در مطالعه حاضر، افزایش فعالیت این آنزیم نشان‌دهنده توانایی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی *P. spinosa* برای حذف واکنش‌های زنجیره رادیکالی است (Schneider et al., 2005). مالون دی‌آلدئید آخرین محصول پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء سلول‌هاست و به عنوان مارکر استرس اکسیداتیو شناخته می‌شود. افزایش محتوای آن در مطالعه حاضر نشان‌دهنده افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای بدن *P. spinosa* به‌وسیله غلظت‌های مختلف سم دیازینون است (Jafari et al., 2012).

در مطالعه حاضر، سطح فعالیت آنزیم‌های گوارشی در مواجهه با غلظت‌های مختلف سم دیازینون افزایش یافت. پژوهشگران نتایج مختلفی را از تغییرات فعالیت آنزیم‌های گوارشی آبزیان در مواجهه با آلاینده‌ها گزارش کرده‌اند. سطح فعالیت آنزیم‌های گوارشی کل بدن *A. urmiana* در مطالعات Bakhtiyari و همکاران (۲۰۲۳) در مواجهه با حشره‌کش سایپرمتترین و Ghamarshenas و همکاران (۲۰۲۳) در مواجهه با حشره‌کش دیازینون کاهش یافتند. با این حال، فعالیت آنزیم‌های گوارشی کل بدن *A. urmiana* در مطالعه Mohammadi و همکاران (۲۰۲۵) در مواجهه با غلظت‌های مختلف فلز سنگین کادمیوم کلراید، افزایش یافت. تفاوت در گونه آبی و نوع آلاینده، دز و نحوه استفاده، مدت زمان تأثیر سموم و رفتار آنزیم‌ها در برابر سموم مختلف از دلایل چنین تفاوت‌هایی است (Imani et al., 2017; Ramesh et al., 2017). سموم با آسیب بافت‌ها و اثر بر مکانیسم ساخت و ترشح آنزیم‌های گوارشی تأثیر خود را اعمال می‌کنند (Amiard-Triquet et al., 2012). تصور بر این است که با اعمال شرایط تنش‌زا به‌وسیله سموم، اشتها آبزیان دچار تغییر می‌شود و به دنبال آن میزان ترشح آنزیم‌های گوارشی تغییر می‌یابد. همچنین حضور این ترکیبات سمی باعث تغییرات کمی و کیفی مواد غذایی در دسترس شده و موجب تغییر الگوی سطح فعالیت‌های آنزیم‌های گوارشی می‌شوند (Suzer et al., 2006).

- Angelibert, S., Marty, P., Cereghino, R. and Giani, N., 2004.** Seasonal variations in the physical and chemical characteristics of ponds: implications for biodiversity conservation. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 14(5):439-456. DOI:10.1002/aqc.616
- Arun Kumar, M.S. and Javahar, A., 2014.** Effect of two organophosphorus pesticides on the reproductive bionomics of freshwater Fairy shrimp *Streptocephalus dichotomus* (Baird, 1860) (Crustacea: Anostraca). *International Journal of Bioassays*, 3(9):3305-3312.
- 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
- Atashbar, B., Agh, N., Beladjal, L., Jalili, R. and Mertens, J., 2012.** Effects of temperature on survival, growth, reproductive and life span characteristics of *Branchinecta orientalis* G. O. Sars, 1901 (Branchipoda, Anostraca) from Iran. *Crustaceana*, 85:1099-1114. DOI:10.1163/15685403-00003115.
- Atashbar, B., Agh, N., Van Stappen, G. and Beladjal, L., 2014.** Diversity and distribution patterns of large branchiopods (Crustacea: Branchiopoda) in temporary pools (Iran). *Journal of Arid Environments*, 111:27-34. DOI:10.1016/j.jaridenv.2014.07.005
- Atashbar, B., Agh, N., Manaffar, R., Van Stappen, G., Mohammadyari, Ali., Mertens, J. and Beladjal, L., 2016.** Morphometric and preliminary genetic characteristics of *Branchinecta orientalis* populations from Iran (Crustacea: Anostraca). *Zootaxa*, 4109 (1):031-045 DOI:10.11646/zootaxa.4109.1.3
- 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. *Environmental Monitoring and Assessment*, 85:3339-3348. DOI:10.1007/s10661-012-2794-7
- Aydın, R. and Koprucu, 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
- Bakhtiyari, R., Sarvi Moghanlou, K., Atashbar Kangarloei, B., Imani, A., Pourahad Anzabi, M., 2023.** Changes in growth, survival, and some physiological indices of Urmia Lake Artemia (*Artemia urmiana*) under chronic toxicity of Cypermethrin insecticide. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 32(1):95-108. DOI:10.22092/ISFJ.2023.129148 (In Persian)
- Bernfeld, P., 1955.** Amylase. In: Colowick, S.P. and Kaplan, N.O. (eds) *Methods in enzymology*. Academic Press, New York. pp 149-158. DOI:10.1016/0076-6879(55)01021-5

- Brix, K.V., Cardewell, R.D. and Adans, J.V., 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.
- 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
- Coupe, R.H., Manning, M.A., Foreman, W.T., Goolsby, D.A. and Majewski, M.S., 2000.** Occurrence of pesticides in rain and air in urban and agricultural areas of Mississippi, pril–September 1995. *Science of the Total Environment* 248(2), 227-240. DOI:10.1016/s0048-9697(99)00545-8
- Coutteu, P., 1996.** Micro- algae. 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
- Garcia-Carreno, F.L. and Haard, N.F., 1993.** Characterization of proteinase classes in Langostilla *Pleuroncodes planipes* and Crayfish *Pacifastacus astacus* extracts. *Journal of Food Biochemistry*, 17:97–113. DOI:200902104610913018
- Ghamarshenas, S., Atashbar Kangarloei, B., Sarvi Moghanlou, K., Imani, A., Pourahad Anzabi, M., 2023.** Effect of chronic toxicity of diazinon insecticide on growth, survival and physiological activities of Urmia Lake Artemia (*Artemia urmiana*). *Journal of Fisheries*, 76(2):237-249. DOI:10.22059/JFISHERIES.2023.351498.1353 (In Persian).
- Hadjispyrou, S., Kungolos, A., Anagnostopoulos, A. 2001.** Toxicity, bioaccumulation, and interactive effects of organotin, cadmium, and chromium on *Artemia franciscana*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49(2):179-186. DOI:10.1006/eesa.2001.2059
- Iijima, N., Tanaka, S. and Ota, Y., 1998.** Purification and characterization of bile salt-activated lipase from the hepatopancrease of

- red sea bream (*Pagrus major*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 18:59-69. DOI:10.1023/A:1007725513389
- Imani, A., Bani, M.S., Noori, F., Farzaneh, M. and Moghanlou, K.S., 2017.** The effect of bentonite and yeast cell wall along with cinnamon oil on aflatoxicosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Digestive enzymes, growth indices, nutritional performance and proximate body composition. *Aquaculture* 476:160-167. DOI:10.1016/J.AQUACULTURE.2017.04.023
- 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. *Environmental Toxicology Pharmacology*, 34:876-887. DOI:10.1016/j.etap.2012.08.011
- Kardavani, P., 2005.** Geohydrology. *Tehran University Press, Iran*. 367 P. (In Persian)
- 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
- Koprucu, S. and Koprucu, K., 2006.** Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of fingerling European catfish (*Silurus glanis* L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 86:99-105. DOI:10.1016/j.pestbp.2006.02.001
- 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
- Ledwozyw, A., Michalak, J., Stepień, A.K. and Adziolka, A., 1986.** The relationship between plasma triglycerides, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta*, 155:275-284. DOI:10.1016/0009-8981(86)90247-0.
- Limon-Pacheco, J. and Gonsébat, 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
- Mohammadi, S., Sarvi Moghanlou, K., Atashbar, B., Imani, A., 2016.** Studying the chronic effects of silver nanoparticles on the growth, survival and reproductive characteristics of Urmia Lake Artemia (*Artemia urmiana*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 25(4):63-75. DOI:10.22092/ISFJ.2017.110299 (in Persian).
- Mohammadi, S., Sarvi Moghanlou, K., Manaffar, R., Atashbar Kangarloei, B. and Libralato, G., 2025.** Effects of chronic toxicity of the heavy metal Cadmium on the growth, survival, digestive enzymes, and some reproductive indices of *Artemia urmiana*.

- Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 33(3):77-90. DOI:10.22092/ISFJ.2024.131971 (In Persian).
- Mohiseni, M., Farhanghi, M., Mahiseni, A.A., Mirvaghefi, A., Shokouh, S.Z., 2008.** The effect of age on the sensitivity of *Artemia urmiana* nauplius to different concentrations of diazinon insecticide. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 16(3):77-85. (In Persian)
- Novakova, J., Danova, D., Striskova, K., Hromada, R., Mickova, H. and Rabiskova, M., 2007.** Zinc and cadmium toxicity using a biotest with *Artemia franciscana*. *Acta Veterinaria Brno*, 76(4): 635-642. DOI:10.2754/avb200776040635
- Nwani, C.D., Ifo, C.T., Nwamba, H.O., Ejere, V.C., Onyishi, G.C., Oluah, S.N., Ikwuagwu, O.E. and Odo, G.E., 2014.** Oxidative stress and biochemical responses in the tissues of African catfish *Clarias gariepinus* juvenile following exposure to primextra herbicide. *National Library of Medicine*, 38(3):278-285. DOI:10.3109/01480545.2014.947503
- Pierre, S., Tarnowska, K., Hachfi, L., Coupe, S., Simide, R., Couvray, S., Garnier, C., Grimaldi, M., Richard, S., Gaillard, S. and Grillasca, J.P., 2011.** Effects of water temperature increase and heavy metals contamination on WAP65 gene expression in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) liver. *Cellular and Molecular Biology*, 57(2):1614-1622. DOI:10.1170/205
- 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
- Rahimi, B. and Nejatkhah Manavi, P. 2011.** LC₅₀ and bioaccumulation of Cd in different life stages of *Artemia urmiana*. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 20(1):53-64. DOI:10.22092/ISFJ.2017.109975 (in Persian)
- 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 contamination 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
- Samadi, H., Javadian, S.R. and Imanpour, M.R., 2019.** Effect of sub-lethal toxicity of diazinon on steroid detoxification and quality of sexual production in male goldfish breeders (*Carassius auratus*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 29(6), 133-142. DOI:20.1001.1.10261354.1399.29.6.7.5 (In Persian)
- 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
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M. and Scoullou, 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
- Yazdanparast, R., Bahramikia, S. and Ardestani, A., 2008.** Nasturtium officinale reduces oxidative stress and enhances hypercholesterolaemic rats. *Chemico-Biological Interactions*, 172:176-184. DOI:10.1016/j.cbi.2008.01.006.
- Yuksel, F., Aydin, R., Serdar, O. and Pala, A., 2020.** Examining the biochemical effect of malathion pesticide on *Gammarus pulex* (L., 1798). *Journal Fresenius Environmental Bulletin*, 29: 9490-9497.
- Zand, E., Baghestani, M.A., Shimi, P. and Faghih, S.A., 2002.** Analysis of herbicide management in Iran. Pest and Plant Diseases Research Institute, Iran. pp 1-32. (in Persian)