(DOI): 10.22034/AEJ.2020.129615

مقایسه ماندگاری گروه‌های مختلف سنی سخت‌پوست آرتمیا (*Artemia urmiana*) در برابر حشره‌کش آبامکتین

- **ساحل پاکزادتوچایی***: گروه مدیریت اکوسیستم‌های طبیعی، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، دانشگاه زابل، زابل، ایران
- **عبدالعلی راهداری**: گروه شیلات، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، دانشگاه زابل، زابل، ایران

تاریخ دریافت: مرداد ١٣٩٩ تاریخ پذیرش: آبان ١٣٩٩

چکیده

افزایش استفاده از انواع آفت‌کش‌ها از عوامل تهدیدکننده سلامت اکوسیستم‌های طبیعی و موجودات زنده به‌شمار می‌رود. بر این اساس، از طریق آزمون‌های سمیت آبزیان به‌ویژه سخت‌پوست آرتمیا در اکوسیستم‌های آبی، غلظت کشنده و مجاز این ترکیبات تعیین می‌شود. در تحقیق حاضر سمیت آفت‌کش آبامکتین که به‌مقدار زیاد به‌عنوان حشره‌کش در کشاورزی و به‌ویژه کنه‌کش دامی در منطقه سیستان استفاده می‌شود، از طریق اثر بر بقای ناپلی ٢٤ و ٤٨ ساعته و بالغ *Artemia urmiana* بررسی شد. در ابتدا نمونه‌های آزمایشی با استفاده از پروتکل O.E.C.D ٢٠٢ به‌صورت ساکن (Static) در معرض غلظت‌های مختلف سم قرار داده شدند و مقادیر LC١٠،LC١٥،LC٥٠،LC٨٥،LC٩٠،LC٩٥، LC٩٩ پس از ٢٤ ساعت توسط نرم‌افزار Probit Analysis بررسی و غلظت کشنده سم نیز تعیین شد. نتایج مقایسه حساسیت سنین مختلف، حاکی از مقاوم بودن گروه سنی ٢٤ ساعته در مقایسه با سایر گروه‌ها بود. میزان سمیت حاد آبامکتین در ناپلی ٢٤ و ٤٨ ساعته و آرتمیای بالغ به‌ترتیب ٤/٧٢، ١/١٥ و ٠/٧٢٦ میکروگرم برلیتر به‌دست آمد. هم‌چنین نتایج این تحقیق نشان داد که سم آبامکتین در ردیف سموم با سمیت‌حاد قرار دارد.

کلمات کلیدی: سیستان، پروبیت، آرتمیا، LC٥٠

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: s.pakzad@uoz.ac.ir

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.129615

مقدمه

افزایش جمعیت و نیاز بیش‌تر به مواد غذایی و محصولات کشاورزی موجب گردیده تا از طریق استفاده از انواع کود و سموم، تولید بیش‌تر محصولات کشاورزی میسر شود (Carvalho، ۲۰۱۷). بدین‌منظور، انواع آفت‌کش‌ها نیز از مهم‌ترین فرآورده‌هایی هستند که بشر ناگزیر آن‌ها را تولید کرده و به شکل روزافزونی مورد استفاده قرار می‌دهد(Vasseghian و همکاران، ۲۰۲۰؛ Fedrizzi و همکاران، ۲۰۱۹). این ترکیبات در کنار اثرات مفید خود، تأثیرات مخربی به‌ویژه بر محیط‌های آبی که ازجمله اکوسیستم‌های طبیعی حساس هستند، به همراه داشته‌اند. زیرا مقادیر بالایی از انواع آفت‌کش‌ها پس از استفاده در فعالیت‌های کشاورزی و دامپروری از طریق فرایند آب‌شویی و روان آب‌های سطحی و زهکش‌های زیرسطحی و فرسایش خاک زمین‌های کشاورزی به اکوسیستم‌های طبیعی راه یافته که موجب آسیب به کیفیت آب و مسمومیت آبزیان ساکن آن می‌شوند (Bradford و همکاران، ۲۰۱۸). بدین ترتیب آفت‌کش‌ها به‌دلیل اثرات عمومی و مخرب بر سایر موجودات غیرهدف (از قبیل آبزیان) موجب ایجاد آسیب در اکوسیستم خواهد شد (Stara و همکاران، ۲۰۲۰؛ خوشنود و همکاران، ۱۳۹۴). از طرف دیگر به‌دلیل خاصیت تجمعی این ترکیبات و تأثیر بر زنجیره غذایی اکوسیستم‌های آبی و انباشت آن‌ها در سطوح بالاتر و درنتیجه تأثیر بر تنوع زیستی وابسته به آن‌ها، اثرات جبران‌ناپذیری داشته باشد (Ren و همکاران، ۲۰۱۷؛ Pico و همکاران، ۲۰۲۰). منطقه سیستان در شمال استان سیستان و بلوچستان واقع شده است، که در گذشته و حال حاضر بخش بزرگی از فعالیت‌های کشاورزی و دامپروری استان را به خود اختصاص داده است. به گونه‌ای که سطح زیر کشت منطقه حداقل ۴۶۰۰۰ هکتار است که تحت کشت انواع محصولات زراعی قرار می‌گیرد (Sardar Shahreki و همکاران، ۲۰۱۶؛ Beek و همکاران، ۲۰۰۸). بنابراین با توجه به فعالیت‌های انجام گرفته در منطقه مصرف انواع کودهای شیمیایی و مواد دفع آفات نباتی و انواع سموم دفع انگل‌های دامی نیز مورد مصرف قرار گرفته که می‌تواند مدنظر قرار بگیرد. از طرف دیگر بخش بزرگی از دامپروری این منطقه به‌صورت سنتی و عشایری و در بستر خشک تالاب‌هامون و هم‌چنین حاشیه‌آن انجام‌شده‌که به سموم‌دفع‌انگل‌های دامی این بخش نیز بایستی توجه شود. در کنار زمین‌های کشاورزی منطقه زهکش‌های متعددی نیز موجود بوده که مقادیر بالایی از زه‌آب کشاورزی از زمین‌های اطراف به آن‌ها وارد می‌شوند (Ghaderi و همکاران، ۲۰۱۲). از طرف دیگر، طی خشکسالی‌های چند سال اخیر، زهکش‌های باقی‌مانده در سیستان به‌عنوان مأمن مناسب، پذیرای بسیاری از پرندگان و موجودات زنده است. بنابراین ورود آلاینده‌ها به آن‌ها می‌تواند بر وضعیت سلامت محیط و تنوع زیستی منطقه موثر باشد. یکی از مهم‌ترین سموم دفع آفات مورد استفاده در منطقه سیستان، سم آبامکتین است که به‌ویژه به‌منظور کنترل کنه‌های دامی و هم‌چنین آفات سبزیجات و گیاهان جالیزی استفاده می‌شود. سم آبامکتین با نام‌تجاری ورتی‌مک Vertimec به‌صورت امولسیون ۱/۸٪ EC مورد استفاده قرار می‌گیرد. این سم از طریق استخراج مواد از باکتری خاکزی *Streptomyces avermitilis* تهیه شده و عملکرد آن از طریق تأثیر بر سیستم عصبی حشرات و کنه‌ها و فلج و مرگ آن‌ها است. این سم هم‌چنین از طریق گوارشی و تماسی نیز می‌تواند موثر بوده و از این طریق دارای سمیت زیاد است (Gharalari و همکاران، ۲۰۰۹؛ Radi و همکاران، ۲۰۲۰). بنابراین لازم است اثرات این سم بر آبزیان مورد بررسی قرار بگیرد. آرتمیا ازجمله سخت‌پوستانی است که به‌طور وسیع در مطالعات سم‌شناسی آزمایشگاهی به‌کار گرفته می‌شود (Nunes و همکاران، ۲۰۰۶؛ Libralato و همکاران، ۲۰۱۶؛ Marta و همکاران، ۲۰۲۰؛ Suman و همکاران، ۲۰۲۰). این سخت پوست، از مصرف‌کنندگان اولیه در سطح زنجیره غذایی بوده و جزء منابع اولیه غذایی در تغذیه آبزیان محسوب شده و پایه غذایی سایر موجودات ازجمله پرندگان محسوب‌می‌شود. آرتمیا درآب‌های‌با شوری بالا زیست کرده و از طریق فیلتر کردن غیرانتخابی از ذرات کم‌تر از ۵۰ میکرومتر تغذیه می‌کند. آرتمیا متعلق به شاخه بندپایان رده سخت‌پوستان و زیر رده آبشش‌پایان و راسته بی‌پوششان خانواده Branchiothidae و جنس *Artemia* است. ازجمله قابلیت‌هایی که موجب انتخاب این سخت‌پوست در مطالعات سم‌شناسی و بررسی آثر آلاینده‌های مختلف می‌شود،شناخت‌کافی نسبت به‌بیولوژی‌و اکولوژی موجود، اندازه کوچک و تکثیر سریع آن است. قابلیت استفاده از سیست‌های خشک آرتمیا نیز این موجود را برای این دسته از مطالعات مناسب نموده است هم‌چنین در مقایسه با سایر موجودات دارای هزینه‌های آزمایشگاهی پایینی بوده و زمان اجرای آزمون نیز کوتاه‌تر است (Libralato و همکاران، ۲۰۱۶؛ Kokkali و همکاران، ۲۰۱۱؛ شادی و همکاران، ۱۳۹۷). بنابراین با توجه به عدم وجود اطلاعات کافی در مورد اثر سم آبامکتین بر موجودات آبزی، در این تحقیق به منظور بررسی اثرات احتمالی این آفت‌کش مورد استفاده در منطقه سیستان، اثر سمیت آبامکتین بر گونه *Artemia urmiana* بررسی گردید.هم‌چنین حساسیت وحداکثر غلظت مجاز این سم در گروه‌های مختلف سنی این سخت‌پوست تعیین گردید.

مواد و روش‌ها

با توجه به این‌که سم آبامکتین در منطقه سیستان به‌ویژه در زمین‌های کشاورزی منطقه و دامداری‌های اطراف تالاب هامون مصرف

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.129615

می‌شود، تحقیق حاضر، در آزمایشگاه پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون واقع در شهرستان زابل انجام شد.

تفریخ سیست آرتمیا: در این مطالعه به‌منظور بررسی اثر سم آبامکتین بر آبزیان سطح پایین زنجیره غذایی، تست سمیت این سم در سنین مختلف *A. urmiana* بررسی گردید. بدین‌منظور، تفریخ سیست آرتمیا به‌روش Sorgeloos و همکاران (۲۰۰۱) انجام شد. بر طبق یافته‌های Artoxkit (۲۰۱۴)، زمان مناسب تفریخ سیست ۳۰ ساعت قبل از تست سمیت است. بنابراین تفریخ سیست آرتمیا در این زمان و در مخروط‌های پلاستیکی (زوک) انجام شد. جهت تفریخ، یک گرم از سیست خالص در شرایط معمول استاندارد (شوری ۳۵، pH برابر ۷/۸، دمای آب ۲۹ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۲۰۰۰ Lux به‌همراه هوادهی) در یک لیتر آب به‌مدت ۲۴ ساعت تفریخ شدند. پس از انجام فرایند تفریخ، ناپلیوس‌های تازه خارج شده از سیست‌ها به‌روش نورگرایی یا فتوتروپی مثبت و تجمع در سطح بشر توسط پیپت پاستور جمع‌آوری گردیدند (Artoxkit، ۲۰۱۴). ناپلئوس‌های آرتمیا پس از گذراندن مرحله اینستار I که معمولاً ۸ ساعت پس از تفریخ صورت می‌گیرد، توسط مخمرنان ۳ بار در روز تغذیه‌شدند (Mohiseni و همکاران، ۲۰۱۶).

آزمون سمیت سنجی: برای انجام کار، از سم تجاری آبامکتین موجود در بازار استفاده شد. از آن‌جایی‌که برخی از مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که حساسیت بسیاری از گونه‌های آبزی به‌ویژه سخت‌پوستان در برابر آلاینده‌ها در سنین مختلف متفاوت است (Libralato و همکاران، ۲۰۱۶؛ Bustos-Obregonو Vargas، ۲۰۱۰؛ محیسنی و همکاران، ۱۳۸۸)، در نتیجه این مطالعه در گروه‌های مختلف سنی ناپلی ۲۴ ساعته، ۴۸ ساعته و بالغ *A. urmiana* انجام شد. تعیین سمیت LC_{50} حشره‌کش آبامکین براساس روش استاندارد O.E.C.D ۲۰۲ و به‌صورت ساکن (static) انجام شد. درجه حرارت آب در طول آزمایش ۲۵ درجه سانتی‌گراد و pH نیز برابر ۷/۵ با شوری ۳۵ میلی‌گرم بر لیتر ثابت نگه داشته شد. جهت انجام کار، محلول مادر تهیه و سایر غلظت‌های مورد استفاده در این آزمایش، از رقیق سازی محلول مادر به‌دست آمدند. به‌منظور تعیین دامنه موثر آزمایش، ابتدا آزمایشات مقدماتی انجام و با توجه به حساسیت بالای سخت پوست به سم، غلظت‌های موردبررسی در حد میکروگرم برلیتر انتخاب شدند. بدین‌ترتیب، غلظت‌های متوالی از سم به‌روش تصاعد حسابی درنظر گرفته شد. برای تمامی گروه‌های سنی در ۶ تیمار به همراه یک تیمار شاهد بدون سم غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میکروگرم در لیتر و با ۳ تکرار در نظر گرفته شد. هر یک از غلظت‌ها پس از ساخته‌شدن از محلول مادر در پتری‌دیش‌ها ریخته شدند. برای هر گروه آزمایش تعداد ۲۰ عدد اضافه شد. فرایند بررسی سمیت به صورت عدم تعویض آب و بدون غذادهی (براساس استانداردهای موجود جهت انجام تست سمیت در آرتمیا ۲۰۲ O.E.C.D) انجام شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، تعداد آرتمیای مرده در هر ظرف ثبت شده و برای شمارش از لوپ استفاده گردید. پذیرش کنترل زیر ۱۰درصد مرگ و میر بود و تعیین تلفات نیز براساس عدم تحرک پس از ۱۰ ثانیه مشاهده مداوم درنظر گرفته شد (Zolkifi و همکاران، ۲۰۱۴).

در پایان آزمایش سمیت و مقایسه گروه‌های سنی مختلف و با توجه به عدم مرگ و میر در گروه ناپلی ۲۴ ساعته در دامنه غلظت تعیین شده، برای این گروه سنی آزمایش سمیت با غلظت‌های بالاتر ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میکروگرم بر لیتر انجام شد. سپس نتایج به‌دست آمده با استفاده از روش آماری Probit Program Analysis نسخه ۱/۵ (USEPA، ۱۹۸۵) که توسط EPA برای تجزیه و تحلیل داده‌های مرگ و میر ناشی از مسمویت حاد و مزمن طراحی شده است، با سطح اطمینان ۹۵ درصد تحلیل شد. بعد از ثبت تلفات، مقادیر LC_{99} ،LC_{95}،LC_{90}،LC_{85}،LC_{50}،LC_{15}،LC_{10} تعیین گردید (شادی و همکاران، ۱۳۹۷). براساس نتایج LC_{50} حداکثر غلظت مجاز این سم برای گروه‌های سنی ۲۴، ۴۸ و بالغ به‌ترتیب برابر ۰/۴۷، ۰/۱۱ و ۰/۰۷۳ میکروگرم‌درلیتر به‌دست‌آمد. بدین‌ترتیب که میزان حداکثر غلظت مجاز (میزان LC_{50} به‌دست آمده از نتایج در طی ۲۴ ساعت تقسیم بر ۱۰ تعیین شد). هم‌چنین به‌منظور مقایسه بین حساسیت هر گروه سنی به سم آبامکتین، مقایسه بین نتایج به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ بررسی و پس از حصول اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، نتایج در سطح معنی‌داری ۵ درصد، با استفاده از پس آزمون توکی بررسی شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار excel استفاده شد.

نتایج

پس از انجام آزمایش‌های ابتدایی به‌منظور یافتن محدوده کشندگی سم آبامکتین بر گروه‌های مختلف سنی *A. urmiana*، آزمایش نهایی در گروه‌های مختلف ۲۴و ۴۸ ساعته و گروه بالغ ادامه یافت. میانگین تیمارهای مورد بررسی با غلظت‌های مختلف آبامکتین، نشان داد که با افزایش غلظت این سم تراکم تیمارها به شکل معنی‌داری کاهش یافت ($p<0/05$). بدین‌ترتیب که در بررسی‌های ابتدایی، با مقایسه بین تیمار شاهد و هر یک از گروه‌های بررسی شده بیش‌ترین تراکم در تیمار شاهد و کم‌ترین تراکم مربوط به تیمار بالغ و با غلظت ۲/۵ میکروگرم بر لیتر بود. جدول ۱ درصد تلفات گروه‌های مختلف سنی *A. urmiana* را در برابر سم آبامکتین نشان می‌دهد. براساس نتایج به دست آمده با افزایش غلظت سم، میزان مرگ و میر افزایش معنی‌داری

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.129615

نشان داد. هم‌چنین نتایج حاصل از مقایسه آماری بین حساسیت گروه‌های مختلف سنی در مواجهه با هر یک از غلظت‌های به‌کار رفته اختلاف معنی‌داری را نسبت به سن گونه نشان داد($p<0/05$). به‌طوری که با افزایش سن پس از تفریخ، میزان حساسیت گروه‌های مختلف افزایش یافت. براساس نتایج به‌دست آمده از مقایسات بیش‌ترین حساسیت در گروه بالغ به‌دست آمد. گروه ۴۸ ساعته در مقایسه با گروه بالغ، دارای حساسیت پایین‌تری بود. درحالی‌که با کاهش معنی‌داری، در مقایسه با دو گروه دیگر، کم‌ترین میزان حساسیت در گروه ۲۴ ساعته به‌دست آمد ($p<0/05$). نتایج حاصل از Probit program در گروه‌های سنی ۲۴ و ۴۸ ساعته و گروه بالغ در جدول ۲ آورده شده است. بر طبق این نتایج LC_{50} برای گروه ۲۴ ساعته ۴/۷۲، ۴۸ ساعته ۱/۱۵ و بالغ ۰/۷۲۶ میکروگرم بر لیتر به‌دست آمد. با توجه به نتایج به‌دست آمده، میزان LC_{50} با افزایش سن، کاهش یافت. براساس جدول ۲، میزان شیب خط نیز با افزایش سن، افزایش یافته که نشان می‌دهد افراد بالغ دارای حساسیت بالاتری نسبت به سایر گروه‌های سنی هستند.

جدول ۱: مقایسه میانگین درصد تلفات گروه‌های سنی مختلف *A. urmiana* در سطوح مختلف سم آبامکتین (میکروگرم بر لیتر)

	شاهد	۰/۲۵	۰/۵	۱	۱/۵	۲	۲/۵
ناپلی ۲۴ ساعته	۵	۰ ^{c}	۵^{b}	۱۰^{b}	۱۰^{b}	۱۵^{b}	۲۰^{b}
ناپلی ۴۸ ساعته	۱۰	۱۰^{b}	۳۰^{b}	۴۵^{b}	۶۰^{a}	۸۵^{a}	۱۰۰^{a}
بالغ	۵	۲۵^{a}	۴۰^{a}	۵۵^{a}	۷۰^{a}	۹۰^{a}	۱۰۰^{a}

* حروف لاتین مختلف، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های هر غلظت است ($p<0/05$).

جدول ۲: غلظت‌های کشنده سم آبامکین در گروه‌های مختلف *A. urmiana* (میکروگرم بر لیتر)

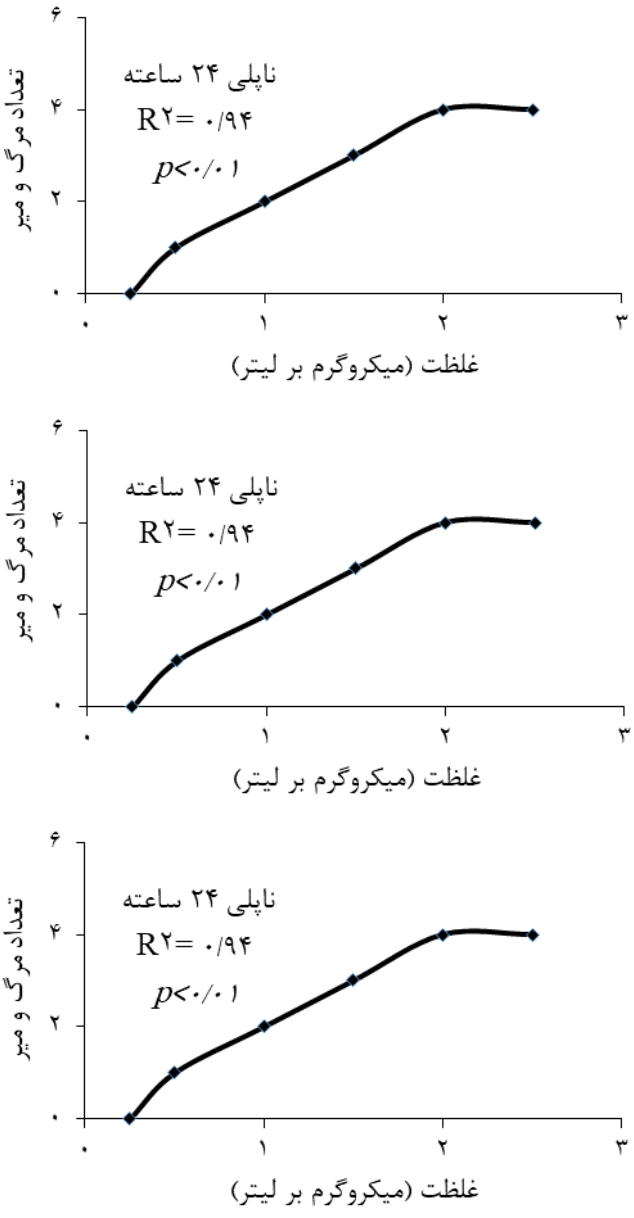
گروه سنی	سطح کشندگی	میکروگرم بر لیتر	محدوده اطمینان	Slop±SE
ناپلی ۲۴ ساعته	LC_{10}	۱/۶۴	۰/۳۲ – ۱/۷۲	۲/۷۸±۰/۴۶
	LC_{15}	۲/۰۰	۰/۸۷ – ۳/۴۲	
	LC_{50}	۴/۷۲	۳/۲۲ – ۷/۴۲	
	LC_{85}	۱۱/۱۱	۷/۶۴ – ۱۲/۲۳	
	LC_{90}	۱۳/۶۰	۹/۳۴ – ۱۳/۸۰	
	LC_{95}	۱۸/۳۶	۱۲/۴۹ – ۲۳/۳۴	
	LC_{99}	۳۲/۲۳	۲۱/۶۰ – ۶۰	
ناپلی ۴۸ ساعته	LC_{10}	۰/۵۴۸	۰/۱۸ - ۰/۸۱	۴±۱/۰۳
	LC_{15}	۰/۶۳۱	۰/۲۴ - ۰/۸۹	
	LC_{50}	۱/۱۴۶	۰/۷۴ - ۱/۴۲	
	LC_{85}	۲/۰۸۰	۱/۶۸ - ۳/۱۱	
	LC_{90}	۲/۴۰	۱/۹۰ - ۴/۰۳	
	LC_{95}	۲/۹۵۱	۲/۲۴ - ۵/۹۹	
	LC_{99}	۴/۳۶۷	۲/۹۷ - ۱۲/۹۵	
بالغ	LC_{10}	۰/۲۱۹	۰/ ۰۶۰- ۰/۳۷	۵/۳۴±۰/۴۹
	LC_{15}	۰/۲۷۵	۰/۱۰ - ۰/۴۴	
	LC_{50}	۰/۷۲۶	۰/۴۵ - ۰/۹۸	
	LC_{85}	۱/۹۱۷	۱/۴۲ - ۳/۱۳	
	LC_{90}	۲/۴۱	۱/۷۳ - ۴/۴۲	
	LC_{95}	۳/۳۸	۲/۲۸ - ۷/۵۱۰	
	LC_{99}	۶/۴۱	۳/۷۱ - ۲۰/۹۰	

معمولاً دسته‌بندی سمیت ترکیبات براساس مقدار میلی‌گرم بر لیتر بوده که با مقایسه مقادیر به‌دست آمده در مطالعه حاضر، می‌توان عنوان کرد که سم آبامکتین برای سنین مختلف آرتمیا به‌شدت سمی بوده و در صورت ورود به محیط‌های آبی این سخت‌پوست، به‌شدت خطرناک خواهد بود (جدول ۳).

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.129615

جدول۳: تعیین سمیت حشره‌کش‌های مختلف (محمدنژاد شموشکی و شاهکار، ۱۳۸۸)

درجه سمیت	LC۵۰
تقریباً غیرسمی	۱۰۰< میلی‌گرم در لیتر
سمیت کم	۱۰۰ – ۱۰ میلی‌گرم در لیتر
سمیت متوسط	۱-۱۰ میلی‌گرم در لیتر
سمیت زیاد	۰/۱-۱ میلی‌گرم در لیتر
سمیت خیلی زیاد	۰/۱> میلی‌گرم در لیتر



شکل ۱: مقایسه برازش مقادیر غلظت- کشندگی در گروه‌های سنی مختلف *A. urmiana*

بحث

امروزه به‌دلیل مصرف آفت‌کش‌های مختلف، محیط‌های آبی تحت تأثیر اثرات منفی آن‌ها قرار می‌گیرند. ورود این ترکیبات از طریق کاهش تنوع زیستی، تأثیر بر زنجیره و شبکه غذایی، کاهش دسترسی به نوترینت‌های غذایی در این محیط‌ها و تجمع انواع آلاینده‌ها می‌تواند بر موجودات زنده و حتی انسان تأثیر منفی بگذارد (Alishahi و همکاران، ۲۰۱۶). لذا اهمیت تعیین غلظت‌های کشنده این ترکیبات، دور از ذهن نیست. یکی از مهم‌ترین فاکتورهایی که در ارتباط با تعیین میزان اثرات مخرب سموم مختلف مدنظر قرار می‌گیرد، تعیین $LC_{۵۰}$ آن است. این شاخص، مقدار عددی غلظتی از سم یا ماده شیمیایی ویژه‌ای است که می‌تواند در طی زمان معینی موجب مرگ ۵۰ درصد از جمعیت مورد آزمایش شود (Ghadersarbazi و همکاران، ۲۰۱۹). آزمون کشندگی سخت‌پوست آرتمیا، نیز یک روش آزمایشگاهی کاربردی جهت بررسی سمیت محیطی ترکیبات مختلف محسوب می‌شود (Libralato و همکاران، ۲۰۱۶). هم‌چنین این سخت‌پوست از مهم‌ترین منابع تغذیه دستی در مراکز پرورش آبزیان محسوب می‌شود. درنتیجه تعیین سلامت آن و اثر آلاینده‌های مختلف بر این موجود الزامی است. لذا مطالعه حاضر با هدف ارزیابی میزان سمیت حاد آبامکتین بر آرتمیا به‌ویژه در سنین مختلف این آبزی انجام شد. در ادامه میزان درجه سمیت آبامکتین نیز براساس این فاکتور به‌دست آمد. براساس نتایج به‌دست آمده میزان غلظت کشنده بعداز گذشت ۲۴ ساعت در گروه‌های مختلف به‌ترتیب ۴/۷۲، ۱/۱۵ و ۰/۷۲۶ میکروگرم بر لیتر به‌دست آمد. هم‌چنین به‌منظور تعیین حداکثر غلظت مجاز در محیط‌های مورد بررسی برای موجود مدنظر، غلظت به‌دست آمده در $LC_{۵۰}$ تقسیم بر ۱۰ خواهد شد. لذا حداکثر غلظت مجاز و یا غلظت غیرموثر نیز به ترتیب ۰/۴۷۲، ۰/۱۱۵، و ۰/۰۷۳ میکروگرم بر لیتر برای گروه‌های ناپلی ۲۴ ساعته و ۴۸ ساعته و آرتمیای بالغ اندازه‌گیری شد. از آن جایی که تاکنون اطلاعات دقیقی درخصوص اثر سمیت آبامکتین بر آبزیان به‌ویژه آرتمیا موجود نیست، نتایج حاضر می‌تواند در ارتباط با تصمیم‌گیری استفاده از سم در منطقه سیستان موثر باشد. بررسی‌های مختلف نشان داده است که آرتمیا در مقایسه با سایر آبزیان دارای مقاومت بالاتری نسبت به آلاینده‌ها بوده و می‌تواند شرایط سخت مانند تغییرات شدید غلظت نمک (۲۵۰- ۵گرم بر لیتر)، گرمای بالا، تابش مقدار زیاد اشعه فرابنفش، حتی اکسیژن پایین و دمای متغیر (۳۵-۶ درجه سانتی‌گراد) را تحمل کند (Libralato و همکاران، ۲۰۱۶؛ Tanguay و همکاران، ۲۰۰۴). هم‌چنین این سخت‌پوست در مقایسه با سایر آبزیان، دارای مقاومت بالاتری نسبت به سموم است. به‌طوری که Mohiseni و همکاران (۲۰۱۶) عنوان کردند که در مقایسه با اثر

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.129615

کادمیم بر ناپلی آرتمیا، میزان حساسیت آن ۴ برابر کم‌تر از روتیفر به‌دست آمد. هم‌چنین Svensson و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی اثر شیرابه لندفیل‌ها بر *A. salina* نشان دادند که این سخت‌پوست دارای مقاومت بالایی در برابر ترکیبات آلی، فنولی و فلزات سنگین است. با این وجود، حسسیت بالای آرتمیا نسبت به سم آبامکتین در مطالعه حاضر، علی‌رغم مقاوم بودن موجود، می‌تواند دلیل مهمی بر خطرساز بودن ورود احتمالی این آلاینده به محیط‌های آبی برای سایر آبزیان باشد.

در مطالعه محسینی و همکاران (۱۳۸۸) غلظت LC_{50} در آرتمیای ۲۴ و ۴۸ ساعته پس از گذشت ۲۴ ساعت، به‌ترتیب ۹/۶۳ و ۱/۸۳ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. هم‌چنین در این بررسی میزان نسبی تلفات در غلظت‌های کم نسبت به زیاد، بیش‌تر بود. Taylor و همکاران (۱۹۹۸) و محسینی و همکاران (۱۳۸۸) نشان دادند که آرتمیا در غلظت‌های پایین به‌دلیل پالیده‌خواری به‌مرور سم را تجمع داده که موجب مرگ موجود گشته است و در غلظت‌های بالا به‌دلیل اثرات منفی سم پالیده‌خواری موجود کاهش یافته که باعث کاهش تلفات به نسبت غلظت خواهد بود. درحالی‌که در بررسی اخیر، تقریباً متناسب با افزایش غلظت سم، مرگ و میر نیز اتفاق افتاد که این مسأله در ابتدا به‌دلیل سمیت بالای آبامکتین، می‌تواند ناشی از کم بودن دامنه غلظت سم در گروه‌ها بوده و دامنه تغییرات اندک غلظت می‌تواند در مقایسه با سایر بررسی‌ها، اثر متفاوتی داشته باشد. از طرف دیگر اختلال در سیستم مغز و اعصاب که مهم‌ترین اثر سم بر موجود زنده است، می‌تواند از عوامل کاهش‌دهنده فعالیت طبیعی موجود از جمله تغذیه بوده در نتیجه در غلظت‌های مختلف مرگ و میر متناسب با غلظت مشاهده شود. بنابراین با کاهش میزان شناوری، درنتیجه کاهش دریافت مواد غذایی اتفاق بیافتد. Guo و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی اثرات سم ارگانوفسفره دی‌متوات نشان دادند که از عوامل موثر بر مرگ روتیفر در برابر سم می‌تواند کاهش شناوری موجود و درنتیجه کاهش یافتن مواد غذایی باشد. آن‌ها عنوان کردند که هرچند تاکنون دلیل اصلی تأثیر سم بر شناوری شناخته شده نیست، اما دلیل احتمالی آن می‌تواند اثر بر جلوگیری تولید آنزیمAcetylcholineserase (ACHE) در بافت‌های عصبی باشد.

در بررسی‌های مختلف نشان داده شده که حساسیت موجودات درسنین مختلف نسبت به آلاینده‌های‌محیط متفاوت بوده (Amoatey و Baawian، ۲۰۱۹؛ Chiarelli و همکاران، ۲۰۱۹) که این مسأله در ارتباط با آرتمیا نیز به‌دست آمده است (محیسنی و همکاران، ۱۳۸۸). در بررسی اخیر، با افزایش سن از گروه ناپلی ۲۴ ساعته به ۴۸ ساعته و بالغ، میزان حساسیت به سم روند افزایشی داشته است. علت افزایش میزان تلفات در این دو گروه، افزایش وابستگی غذایی به محیط در مقایسه با ناپلی ۲۴ ساعته است. علت این امر، افزایش میزان دریافت آب حاوی سم از محیط از طریق فرایند پالیده‌خواری است. درحالی‌که ناپلی ۲۴ ساعته، تنها به کیسه زرده متکی بوده و به نسبت سم کم‌تری از محیط دریافت می‌کند (Kamali و Shabanpour، ۲۰۰۴). هم‌چنین با بررسی میزان افزایش سن، شیب خط ناشی از آنالیز Probit نیز افزایش مقدار را در گروه‌های ۴۸ ساعته و بالغ در مقایسه با گروه ۲۴ ساعته نشان داد. این‌نتیجه نیز می‌تواند تأییدی بر حساسیت گروه‌های بالاتر نسبت به ناپلی ۲۴ و ۴۸ ساعته باشد. محیسنی و همکاران (۱۳۸۸) نیز با بررسی سم دیازینون در گروه‌های مختلف ناپلی تازه تفریخ شده، ۲۴ و ۴۸ ساعته به نتایج مشابهی دست یافتند.

در جدول ۴، نتایج به‌دست آمده از میزان سمیت آبامکتین در *A. urmiana* با مطالعات مشابه مقایسه شد. این مقایسه نشان داد که سم آبامکتین در هر ۳ گروه مورد بررسی دارای سمیت بسیار بالاتری نسبت به ترکیبات بررسی شده در مطالعات مشابه است. این مقایسه نیز نشان‌دهنده خطرناک بودن ورود احتمالی این سم به محیط‌های آبی به‌ویژه در منطقه حساس سیستان از نظر اکولوژیکی و بیولوژیکی است.

جدول ۴: سمیت حاد (LC_{50}) سموم مختلف در جنس *Artemia* (میلی‌گرم بر لیتر)

ترکیب – گونه	ناپلی ۲۴ ساعته	ناپلی ۴۸ ساعته	بالغ	منبع
دیورین *A. salina*	۲۳/۲۷	–		Shaala و همکاران، ۲۰۱۵
دیازینون *A. urmiana*	۹/۶۳	۱/۸۴	–	محیسنی و همکاران، ۱۳۸۸
کادمیم – *A. urmiana*	۷۹/۰۸	–	–	Mohiseni و همکاران، ۲۰۱۶
مس – *A. urmiana*	۲۹/۸۷	–	–	Mohiseni و همکاران، ۲۰۱۶
۲،۴-dichlorophenoxy acetic acid (۲،۴-DCPA) *A. franciscana*	–	–	۷۳/۳۸	Rahnama و همکاران، ۲۰۱۸
پاراکوات – *A. franciscana*	–	–	۱۳/۷۳	Rahnama و همکاران، ۲۰۱۸
تری فلورالین – *A. franciscana*	–	–	۰/۶	Rahnama و همکاران، ۲۰۱۸
Glyphosate – *A. franciscana*	–	–	۳/۶۷	Rahnama و همکاران، ۲۰۱۸
آبامکتین – *A. urmiana*	۰/۰۰۴۷۲	۰/۰۰۱۱۵	۰/۰۰۷۲۶	مطالعه حاضر

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.129615

نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر نشان‌دهنده افزایش سمیت آبامکتین در آرتمیا به‌همراه افزایش سن موجود بوده و بیش‌ترین اثر سمیت آبامکتین در گروه بالغ اتفاق افتاد که می‌تواند به‌دلیل وابستگی موجود به محیط در مقایسه با سایر گروه‌ها باشد. در مقایسه با نتایج موجود سایر سموم، از سمیت بالاتری برخوردار بوده و شدیداً برای آبزیان خطرناک است. لذا، بایستی استفاده از این سم محدود به مناطق خشک و دور از منابع آبی شود. هم‌چنین از آن‌جایی‌که میزان سمیت ترکیبات مختلف در شرایط طبیعی محیط ممکن است تاحدودی متفاوت باشد، لازم است سمیت آبامکتین در آرتمیا در محیط طبیعی نیز بررسی شود.

منابع

۱. **خشنود، ز.؛ جمیلی، ش.؛ خدابنده، ص.؛ ماشینچیان‌مرادی، ع. و مطلبی، ع.، ۱۳۹۴.** اثرات سمیت علف‌کش آترازین بر لارو ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*)، فصلنامه محیط زیست جانوری. سال ۷، شماره ۱، صفحات ۱۷۸ تا ۱۸۶.

۲. **شادی، ا.؛ وزیری‌زاده، ا. و آفریدون، ف.، ۱۳۹۷.** اثرات سمیت سلولی، همولیز و ضدانعقادی عصاره خاره چسب *Siphonoria carbo*، فصلنامه محیط زیست جانوری. سال ۱۰، شماره ۱، صفحات ۳۵۳ تا ۳۶۰.

۳. **محمدنژادشموشکی، ج. و شاهکار، م.، ۱۳۸۸.** تعیین غلظت کشنده (LC_{50} 96h) حشره‌کش کلرپیریفوس و دیازینون بر روی بچه ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*). مجله علمی شیلات ایران. دوره ۳، شماره ۴، صفحات ۱ تا ۶.

۴. **محیسنی، م.؛ فرهنگی، م.؛ محیسنی، ع. و میرواقفی، ع.، ۱۳۸۸.** بررسی تأثیر سن بر میزان حساسیت ناپلیوس *Artemia urmiana* نسبت به غلظت‌های مختلف حشره‌کش دیازینون. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. دوره ۱۶، شماره ۳، صفحات ۱ تا ۹.

۵. **Alishahi, M.; Tulaby Dezfuly, Z. and Mohammadian, T., 2019.** Acute toxicity evaluation of five herbicides: paraquat, 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D), trifluralin, glyphosite and atrazine in *Luciobarbus esocinus* fingerlings, Iranian Journal of Veterinary Medicine. Vol. 10, No. 4, pp: 319-330.

۶. **Amoatey, P. and Baawian, M.S., 2019.** Effect of pollution on freshwater aquatic organisms, Water Environment Federation, Vol. 91, pp: 1272-1287.

۷. **Artoxkit, M., 2014.** Artemia Toxicity Screening Test for Estuarine and MarineWaters. Standard Operational Procedure. Microbiotests, Mariakerke-Gent.

۸. **Beek, E.V.; Bozorgy, B.; Vekerdy, Z. and Meijer, K., 2008.** Limitation to agricultural growth in the Sistan closed inland delta, Iran, Irrigation and drainage System. Vol. 22, pp: 131-143.

۹. **Bradforda, J.; Dahala, P.; Van, J.; Keshavulu, A.; Belloa, P.; Thompsond, J. and Wu, F., 2018.** The dry chain: Reducing postharvest losses and improving food safety inhumid climates Kent, Trends in Food Science and Technology, Vol. 71, pp: 84-93.

۱۰. **Bustos-Obregon, E. and Vargas, Á., 2010.** Chronic toxicity bioassay with populations ofthe crustacean *Artemia salina* exposed to the organophosphate diazinon. Biological Research, Vol. 43, No. 3, pp: 357-362.

۱۱. **Carvalho, F.P., 2017.** Pesticides, environment, and food safety, Food and Energy Security, Vol. 6, No. 2, pp: 48-60.

۱۲. **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. Vol. 24, No. 4, pp: 675-687.

۱۳. **Sorgeloos, P.; Dehert, P. and Candreva, P., 2001.** Use of the brine shirinp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. Aquaculture. Vol. 200, pp: 147-759.

۱۴. **Fedrizzi, G.; Altafini, A.; Armorini, S.; Al-Qudah, K.M. and Roncada, P., 2019.** LC–MS/MS analysis of five neonicotinoid pesticides in sheep and cow milk samples collected in Jordan Valley. Bulletin of Environmental Contamination Toxicology. Vol. 102, pp: 347-352.

۱۵. **Ghadersarbazi, Z.; Ghiasi, F.; Ghorbani, F. and Johari, S.A., 2019.** Toxicity assessment of arsenic on common carp (*Cyprinus carpio*) and development of natural sorbents to reduce the bioconcentration by RSM methodology, Chemosphere, Vol. 224, pp: 247-255.

۱۶. **Gharalari, A.H.; Nansen, C.; Lawson, D.S.; Gilley, J.E.; Munyaneza, J. and Vaughn, K., 2009.** Knockdown mortality, repellency, and residual effects of insecticides for control of adult *Bactericeraco ckerelli* (Hemiptera: Psyllidae). Journal of Economic Entomology. Vol. 102, No. 3, pp: 1032-1038.

۱۷. **Ghaderi, A.A.; Abduli, M.A.; Karbassi, A.R.; Nasrabadi, T. and Khajeh, M., 2012.** Evaluating the Effects of Fertilizers on Bioavailable Metallic Pollution of soils, Case study of Sistan farms, Iran, International Journal of Environmental Research. Vol. 6, No. 2, pp: 565-570.

۱۸. **Guo, R.; Ren, X. and Ren, H., 2012.** A new method for analysis of the toxicity of organophosphorus pesticide, dimethoate on rotifer based on response surface methodology, Journal of Hazardous Materials. Vol. 237- 238, pp: 270-276.

۱۹. **Kamali, A. and Shabanpour, B., 2004.** Effects of *Daphnia magna* and *Artemia Naplii* on growth performance in Persian sturgeon *Acipenser persicus* larve, Iranian Journal of Fisheries Sciences. Vol. 4, No. 1, pp: 103-115.

۲۰. **Kokkali, V.; Katramados, I. and Newman, J.D., 2011.** Monitoring the effect of metal ionson the mobility of *Artemia salina* nauplii. Biosensors. Vol. 1, No. 2, pp: 36-45.

۲۱. **Libralato, G.; Prato, E.; Migliore, L.; Cicero, A.M. and Manfra, L., 2016.** Areview of toxicity testing protocols and endpoints with Artemia spp. Ecological Indicators. Vol. 69, pp: 35-49.

۲۲. **Marta, S.; Erica, S.; Juliána, B. and Moreno-Garrido, Araujo, C.V.M., 2020.** Ingestion and bioaccumulation of polystyrene nanoplastics and their effects on the microalgal feeding of Artemia franciscana, Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 188, pp: 109853.

۲۳. **Mohiseni, M.; Farhangi, M.; Agh, N.; Mirvaghefi, A. and Talebi, K., 2017.** Toxicity and Bioconcentration of Cadmium and Copper in *Artemia Urmiana* Nauplii, Iran Journal of Toxicology. Vol. 11, No. 1, pp: 31-41.

۲۴. **Nunes, B.S.; Carvalho, F.D.; Guilhermino, L.M. and Stappen, G.V., 2006.** Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing, Environmental pollution (Barking, Essex: 1987). Vol. 144, pp: 453-462.

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.129615

۲۵. **Picó, Y.; Alvarez-Ruiz, R.; Ahmed, H.; Alfarhan, A.H.; El-Sheikh, M.A.; Hamad, O. and Damià Barceló, A., 2020.** Pharmaceuticals, pesticides, personal care products and microplastics contamination assessment of Al-Hassa irrigation network (Saudi Arabia) and its shallow lakes, Science of The Total Environment. Vol. 701, pp: 135021.

۲۶. **Radi, A.M.; Mohammed, E.T.; Abushouk, A.R. and Aleya, L., 2020.** The effects of abamectin on oxidative stress and gene expression in rat liver and brain tissues: Modulation by sesame oil and ascorbic acid, Science of the Total Environment. Vol. 70, pp: 134882-11.

۲۷. **Rahnama, R.; Tulaby Dezfuly, Z. and Alishahi, M., 2019.** Acute Toxicity of Herbicides on the Survival of Adult Shrimp, Artemia Franciscana, Iran Journal of Toxicology. Vol. 12, No. 6, pp: 45-51.

۲۸. **Ren, J.; Wang, X.; Wang, C.; Gong, P.; Wang, X. and Yao, T., 2017.** Biomagnification of persistent organic pollutants along a high-altitude aquatic food chain in the Tibetan Plateau, Processes and Mechanisms Environmental Pollution. Vol. 220, pp: 636-643.

۲۹. **Svensson, B.M.; Mathiasson, L. and Rtensson, LM., 2005.** ***Artemia*** *salina* as test organism for assessment of acute toxicity of leachatewater from landfills, Environmental Monitoring and Assessment. Vol. 102, pp: 309-321.

۳۰. **Shaala, N.M.A.; Zulkifia, S.Z.; Ismail, A.; Azmai, M.A. and Yusuff, M., 2015.** Lethal concentration 50 (LC_{50}) and effects of Diuron on morphology of brine shrimp *Artemia salina* (Branchiopoda: Anostraca) Nauplii, Procedia Environmental Sciences. Vol. 30, pp: 279-284.

۳۱. **Sardar Shahraki, A.; Shahraki, J. and Hashemi Monfared, S.A., 2016.** Ranking and level of development according to the agricultural indices, case study: Sistan region, International Journal of Agricultural Management and Development. Vol. 6, No. 1, pp: 93-100.

۳۲. **Stara, A.; Pagano, M.; Capillo, G.; Fabrello, J.; Sandova, M.; Vazzana, I.; Zuskova, E.; Velisek, J.; Matozzo, V. and Faggio, C., 2020.** Assessing the effects of neonicotinoid insecticide on the bivalve mollusk *Mytillus galloprovincials*, Science of the Total Environment. Vol. 700, pp: 134914.

۳۳. **Suman, T.Y.; Pan-Pan, J.; Li, W.G.; Junaid, M.; Xin, G.Y.; Yan, W. and Pei, D.S., 2020.** Acute and chronic effects of polystyrene microplasticson brine shrimp: First evidence highlighting the molecular mechanism through transcriptome analysis Thodhal Yoganandham Sumana, Journal of Hazardous Materials. Vol. 400, pp: 123220.

۳۴. **Tanguay, J.A.; Reyes, R.C. and Clegg, J.S., 2004.** Habitat diversity and adaptation to environmental stress in encysted embryos of the crustacean *Artemia*. Journal of Biosciences. Vol. 29, pp:489-501.

۳۵. **Taylor, G.; Baird, D.J. and Soares, A.M., 1998.** Surface binding of contaminants by algae: consequences for lethal toxicity and feeding to *D. magna*. Environmental Toxicology Chemistry. Vol. 17, pp: 412-419.

۳۶. **USEPA. 1985.** Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. 3rd Ed. Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring and Support Laboratory, Cincinnati, OH. EPA-600/4-85/013.

۳۷. **Vasseghian, Y.; Moradib, M.; Pirsahebb, M.; Khataee, A.; Rahimib, S.; Yegane Badi, M. and Mousavi Khaneghahf, A., 2020.** Pesticide decontamination using UV/ferrous-activated persulfate with the aid neurofuzzy modeling: a case study of Malation, Food Research International. Vol. 137, pp: 109557.

۳۸. **Zulkifli, S.Z.; Aziz, F.Z.A.; Ajis, S.Z.M. and Ismail, A., 2014.** Nauplii of brine shrimp (*Artemia salina*) as a potential toxicity testing organism for heavy metals contamination. In: From Sources to Solution. Springer, Singapore. pp: 233-237.

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.129615

Scientific Research Journal of Animal Environment Vol. 12, No. 4, Winter 2020

Comparison surviving ability of *Artemia urmiana* in different stages at Abamektin pesticide Exposure

- **Sahel Pakzad Toochaei***: Department of Natural Ecosystems Management, Hamoun International Wetland Research Institute, University of Zabol, Zabol, Iran
- **Abdolali Rahdari**: Department of Fisheries, Hamoun International Wetland Research Institute, University of Zabol, Zabol, Iran

Received: July 2020 Accepted: October 2020

Key words: Sistan, Probit, Artemia, LC_{50}

Abstract

The increasing of using pesticides are the major threat to natural ecosystems and organisms. Accordingly, the aquatic organisms especially *Artemia* sp are being used in determining the lethal and legislation concentration of these compounds. The present study was carried out to investigate the lethal effect of Abamektin pesticide which is used in Sistan area for agriculture and domestic activities, on nauplii 24, 48h and adult *Artemia urmiana*. This study was also focused to evaluate the effects of Abamektin toxicity on stages of *A. urmiana*. The lethal concentration including LC_{10}, LC_{15}, LC_{50}, LC_{85}, LC_{90}, LC_{95} and LC_{99} were determined with Probit analysis program for three groups of *A. urmiana* after 24 hours exposure and conducting a range definitive Abamektin in static process according to O.P.D.C 202 protocol. Results showed the highest mortality rate was observed for adults in comparing to 24h nauplii and the adults were higher sensitive in comparing to other groups. The LC_{50} amounts were determined 4.72, 1.15 and 0.726 µg/l for 24h, 48h nauplii and adult respectively. These results indicate that Abamektin is a very high environmental toxic substance.

* Corresponding Author's email: s.pakzad@uoz.ac.ir