

تأثیر سمیت غذایی فلزات سنگین سرب و کادمیوم بر *Artemia franciscana*زهرا کناری زاده^۱، محمد رضا طاهری زاده^{۱*}، نرگس امراللهی بیوکی^۱، احمد نوری^۲^۱ گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس^۲ گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

چکیده

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۷/۰۱/۲۰

اصلاح: ۹۸/۰۴/۰۲

پذیرش: ۹۸/۰۸/۰۲

کلمات کلیدی:

سرب

سمیت

کادمیوم

میکروجلبک

این تحقیق با هدف بررسی غلظت کشندگی کادمیوم و سرب بر گونه *Artemia franciscana* در شرایط آزمایشگاهی انجام شده است. لاروهای آرتمیا از میکروجلبک‌های *Isochrysis galbana* و *oculata* *Nannochloropsis* جداگانه به مدت هفت روز تغذیه شدند. از میان فلزات سنگین، کادمیوم و سرب، شاخص آلودگی نفتی و فعالیت‌های صنعتی در اکوسیستم دریایی هستند، لذا نوع پاسخ این موجود به آلاینده‌ها از جمله سرب و کادمیوم با توجه به آلودگی روز افزون آن، اهمیت بسیاری دارد. در این تحقیق آرتمیا در معرض ۱۰ غلظت مختلف از (۱۲۰ تا ۲۳۰ میلی‌گرم در لیتر و یک گروه شاهد) کادمیوم و سرب قرار گرفت که میزان LC_{50} ۲۴ ساعته برای آرتمیای تغذیه شده با میکروجلبک‌های *Isochrysis galbana* و *Nannochloropsis oculata* در مجاورت فلز کادمیوم به ترتیب برابر با ۱۷۰ میلی‌گرم در لیتر و ۱۸۹ میلی‌گرم در لیتر و برای فلز سرب در آرتمیای تغذیه شده با هردو نوع میکروجلبک برابر با ۱۸۰ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. نتایج این تحقیق نشان داد که سمیت کادمیوم در آرتمیای تغذیه شده با میکروجلبک *I. galbana* نسبت به سرب بیشتر بوده ولی سمیت سرب در آرتمیای تغذیه شده با میکروجلبک *N. oculata* نسبت به کادمیوم بیشتر می‌باشد.

مقدمه

از میان آلاینده‌ها در اکوسیستم‌های آبی، فلزات سنگین اهمیت زیادی دارند، که دلیل آن سمی بودن و توانایی تجمع زیستی در گونه‌های مختلف دریایی و حتی بزرگنمایی زیستی در سراسر زنجیره غذایی می‌باشد (Baniamam and Pourang, 2014). فلزات سنگین به دلیل تداوم زیست‌محیطی و تمایل خود برای تمرکز در موجودات آبی به عنوان آلاینده‌های جدی در محیط‌های آبی در نظر گرفته می‌شوند. آلودگی اکوسیستم‌های آبی با فلزات سنگین در آب، رسوب و موجودات مشاهده شده است (Yigit and Altindag, 2006). فلزات سنگین از راه‌های مختلف که عمدتاً از طریق منابع طبیعی مانند هوازدگی سنگ‌ها و خاک در حوضه آبریز و منابع انسانی مانند ضایعات کشاورزی، شهری، خانگی، صنعتی و غیره به محیط‌های آبی وارد می‌شوند. آلودگی آبزبان به فلزات سنگین معمولاً نشان‌دهنده سطوح بالایی از فلزات سنگین در سیستم‌های آبی است (Mohamed et al., 2014).

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: taheri.1965@gmail.com

اگرچه بسیاری از فلزات کمیاب ضروری به شمار می‌روند، اما در غلظت‌های بالا سمی هستند (Horvatić and Peršić, 2007). فلزات سنگین از مهم‌ترین آلاینده‌های پایدار و مضر هستند که به محیط دریایی وارد می‌شوند. عناصر سنگین به طور طبیعی در اکوسیستم‌ها وجود دارند و تعدادی از آن‌ها در بقای موجودات زنده نقش حیاتی دارند (Demirak et al., 2006).

سرب یکی از مهم‌ترین فلزات سنگین سمی است (Duruibe et al., 2007). مهم‌ترین راه ورود سرب به بدن تنفس و بعد از آن گوارش می‌باشد (Rezaei, 2016). از علائم مسمومیت حاد سرب می‌توان به سردرد، فشار خون بالا، خستگی، تهوع، بی‌اشتهایی، اسهال و افسردگی اشاره کرد که به مرور زمان می‌تواند باعث ضعف، کم‌خونی، نقص مادرزادی، جنون، آسیب مغزی، آسیب کلیوی و حتی مرگ شود (Jan et al., 2015).

کادمیوم به عنوان یکی از سمی‌ترین عناصر در محیط در نظر گرفته شده است. حتی در غلظت‌های بسیار کم باعث مسمومیت در موجودات آبی می‌شود (Padmanaban and Mohan, 2013). این فلز در اکوسیستم‌های آبی، حلالیت بالایی داشته و همچنین ظرفیت بالایی برای تجمع زیستی در بسیاری از گونه‌های آبی دارد (Liu et al., 2013). جانوران در اثر مسمومیت با کادمیوم دچار فقر آهن خون، بیماری‌های کبدی و آسیب‌های مغزی-عصبی می‌شوند. اثرات سمی کادمیوم از برهم زدن تعادل اسمزی تا مرگ می‌تواند متغیر باشد (Ghiasi et al., 2007).

فیتوپلانکتون‌ها تولیدکنندگان اولیه هستند که با دریافت نور و انجام عمل فتوسنتز اکسیژن تولید می‌کنند؛ بنابراین نقش بسزایی در پویایی محیط آبی بر عهده دارند. عمق حضور فیتوپلانکتون‌ها در آب بستگی به عمق نفوذ نور دارد و تا جایی که نور نفوذ داشته باشد فیتوپلانکتون‌ها نیز حضور دارند (Steven et al., 2004). فیتوپلانکتون‌ها به عنوان پایه و اساس زنجیره‌های غذایی در محیط‌های دریایی شناخته می‌شوند و بنابراین به عنوان یک منبع غذایی غیر قابل اجتناب در پرورش تجاری گونه‌های مختلف آبزیان مطرح می‌باشند. بعلاوه در تولید انبوه زئوپلانکتون‌ها نقش دارند که زئوپلانکتون‌ها نیز به عنوان منبع غذایی در رشد مراحل لاروی و جوانی برخی سخت‌پوستان و ماهیان، دارای اهمیت و کاربرد می‌باشند (Suthers and Rissik, 2009; Ghorbani vaghaei and Davoodi, 2014). از جمله فیتوپلانکتون‌هایی که به عنوان غذای زنده در آبی‌پروری استفاده می‌شوند می‌توان *Chaetoceros*, *Nannochloropsis*, *Isochrysis*, *Tetraselmis*, *Thalassiosira*, را نام برد (Leopold et al., 1987; Hafezieh, 2003; (Mohammadi Nafchi et al., 2016).

آرتمیا در دریاچه نمک و برکه زندگی می‌کند. دریاچه ارومیه زیستگاه اصلی برای میگوی بومی آب شور ایران (آرتمیا ارومیانا) می‌باشد. آرتمیا یک موجود بومی در ایران است و اولین بار در ایران در سال ۱۹۹۸ معرفی شد (Nejatkhah Manavi and Baniamam, 2011). آرتمیا در رده اولین مصرف‌کننده گیاهی و اولین مصرف‌کننده جانوری در پرورش آبزیان دریایی نقش مهمی دارد و باعث سرعت رشد در آبزیان می‌شود و نقش مهمی در تجمع پذیری فلزات در محیط و انتقال آن به مصرف‌کننده بعدی دارد. در بعضی از پژوهش‌ها آرتمیا جهت کاهش غلظت کروم در محیط استفاده شده است که نتایج قابل قبولی به دست آمده است. این گونه آبی به عنوان غذای زنده در آبی‌پروری نقش مهمی بر عهده دارد (Devi et al., 2015). آرتمیا به منظور غنی‌سازی غذای آبزیان در آبی‌پروری نیز مورد آزمایش قرار گرفته و نتایج خوبی گزارش شده چراکه خاصیت تجمع پذیری مواد مغذی و اسیدهای چرب را در خود نشان داده است (Emami, 2003). از آرتمیا و ناپلیوس آن به عنوان غذای زنده به طور گسترده برای تغذیه لارو ماهی، سخت‌پوستان و صدف استفاده می‌شود (Baniamam and Pourang, 2014). از آنجایی که فلزات در حالت تجمع پذیری به رده‌های بالاتر انتقال می‌یابند و با توجه به اهمیت آرتمیا به عنوان غذای زنده در پرورش آبزیان و نقش آن در انتقال فلزات به رده‌های بالاتر، این مطالعه با هدف بررسی تأثیر سمیت غذایی فلزات سنگین سرب و کادمیوم بر گونه *Artemia franciscana* انجام شد.

مواد و روش‌ها

کشت جلبک

مهم‌ترین پارامترهای کشت جلبک‌ها، کمیت و کیفیت غذا، میزان نور و pH، شفافیت، دما و شوری است. دامنه تحمل دما ۲۷-۱۶ و بهترین دما برای کشت انواع جلبک‌ها ۲۴-۱۸ درجه سانتی‌گراد، دامنه تحمل شوری ۴۰-۱۲ و بهترین شوری برای کشت جلبکی ۲۴-۲۰ گرم در لیتر، دامنه تحمل شدت نور ۱۰۰۰۰-۱۰۰۰ و بهترین شدت نور برای کشت جلبکی ۵۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس، بهترین دوره نوری برحسب ساعت ۲۴-۱۶ و دامنه تحمل pH ۷-۹ و بهترین pH برای کشت جلبکی ۸/۷-۸/۲ می‌باشد (Lavens and Sorgeloos, 1996). محیط کشت مورد استفاده برای این دو نوع جلبک محیط کشت F2 بود که شامل سه محلول به نام‌های مواد مغذی، سیلیکات و ویتامین‌ها با غلظت‌های متفاوت می‌باشد. برای کشت جلبک نانوکروپسیس از سیلیکات استفاده نمی‌شود؛ به خاطر اینکه نانوکروپسیس پوسته سیلیسی ندارد و نیازی به سیلیکات برای ساخت پوسته ندارد.

کشت آرتمیا

برای تخمه‌گشایی سیستم‌ها از روش استاندارد Amat و همکاران (۲۰۰۵) استفاده 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 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.

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. به منظور تسریع این عمل از خاصیت نورگرایی ناپلیوس آرتمیا استفاده گردید (Sarabia et al., 2006).

تعیین LC₅₀ در ۲۴ ساعت

برای اندازه‌گیری LC₅₀ ۲۴ ساعته، از نمک کلرید کادمیوم و نمک کلرید سرب (ساخت Merk آلمان) استفاده شد. جهت آماده‌سازی کلرید سرب (PbCl₂)، با توجه به جرم مولکولی نمک کلرید سرب و جرم مولکولی سرب (۱/۳۲) گرم در لیتر بر اساس حجم یک لیتری (یک گرم در لیتر) ده غلظت (۱۲۰-۱۵۰-۱۶۰-۱۷۰-۱۸۰-۱۸۹-۲۰۰-۲۱۰-۲۲۰-۲۳۰) میکروگرم بر لیتر و برای آماده‌سازی کلرید کادمیوم (CdCl₂)، با توجه به جرم مولکولی نمک کلرید کادمیوم و جرم مولکولی کادمیوم (۱/۶۳) گرم در لیتر بر اساس حجم یک لیتری (یک گرم در لیتر) در ده غلظت (۱۲۰-۱۵۰-۱۶۰-۱۷۰-۱۸۰-۱۸۹-۲۰۰-۲۱۰-۲۲۰-۲۳۰) میکروگرم بر لیتر تهیه شد و با استفاده از سمپلر به آرتمیا اضافه شد. در هر تیمار ۱۰ عدد آرتمیای هفت روزه که با میکروجلبک *Nannochloropsis oculata* و میکروجلبک *Isochrysis galbana* تغذیه شده بودند قرار داده شد. آرتمیایا به مدت ۲۴ ساعت بدون غذاهای در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و در نهایت تعداد آرتمیایا مرده مورد شمارش قرار گرفتند. هر آزمایش در ۳ تکرار انجام شد (Hadjispyrou et al., 2001). نتایج حاصل توسط برنامه SPSS ۱۶ به روش آنالیز واریانس یک طرفه تحلیل شد و از آزمون Tukey به مقایسه بین تیمارها پرداخته شد.

نتایج

تعیین و بررسی میزان LC₅₀

مطابق با جدول ۱ و ۲ میزان مرگ و میر *A. franciscana* هفت روزه در حضور غلظت‌های مختلف کادمیوم ده عدد آرتمیای تغذیه شده با میکرو جلبک نانو کلروپسیس اکولاتا و میکرو جلبک ایزو کرایسیس گالبانا با سه تکرار انجام گرفت. بر اساس این یافته‌ها در غلظت‌های ۰، ۱۲۰، ۱۵۰، ۱۶۰، ۱۷۰، ۱۸۰، ۱۸۹، ۲۰۰، ۲۱۰، ۲۲۰، ۲۳۰ الگوی میانگین مرگ و میر *A. franciscana* هفت روزه با تغذیه با هر دو نوع میکرو جلبک به ترتیب صورت $0 > 120 > 150 > 160 > 170 > 180 > 189 > 200 > 210 > 220 > 230$ بود. بیشترین درصد مرگ و میر آرتمیا در هر دو نوع میکرو جلبک مطابق انتظار مربوط به غلظت ۲۳۰ یعنی بیشترین غلظت انتخاب شده بود. مطابق با یافته‌های ارائه شده در جدول‌های ۱ و ۲ مقدار LC_{50} ۲۴ ساعته برای کادمیوم در گروهی از آرتمیا که با *I. galbana* و *N. oculata* تغذیه شده‌اند به ترتیب برابر با ۱۷۰ و ۱۸۹ میلی‌گرم در لیتر بود. مقاومت گروهی از آرتمیا که با *N. oculata* تغذیه شده‌اند در برابر فلز کادمیوم بیشتر از گروهی بود که با *I. galbana* تغذیه شده بودند.

مطابق با جدول ۳ و ۴ میزان مرگ و میر *A. franciscana* هفت روزه در حضور غلظت‌های مختلف سرب ده عدد آرتمیای تغذیه شده با میکرو جلبک نانو کلروپسیس اکولاتا و میکرو جلبک ایزو کرایسیس گالبانا با سه تکرار انجام گرفت.

بر اساس این یافته‌ها در غلظت‌های ۰، ۱۲۰، ۱۵۰، ۱۶۰، ۱۷۰، ۱۸۰، ۱۸۹، ۲۰۰، ۲۱۰، ۲۲۰، ۲۳۰ الگوی میانگین مرگ و میر *A. franciscana* هفت روزه با تغذیه با هر دو نوع میکرو جلبک به صورت $0 > 120 > 150 > 160 > 170 > 180 > 189 > 200 > 210 > 220 > 230$ بود. بیشترین درصد مرگ و میر در هر دو نوع میکرو جلبک مربوط به غلظت ۲۳۰ یعنی بیشترین غلظت انتخاب شده بود. مقدار LC_{50} ۲۴ ساعته برای سرب در هر دو گروهی از آرتمیا که با *I. galbana* و *N. oculata* تغذیه شده بودند برابر با ۱۸۰ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد.

جدول ۱. میانگین (\pm انحراف معیار)، مرگ و میر، درصد مرگ و میر و در صد بقا در *A. franciscana* هفت روزه با تغذیه با میکرو جلبک ایزو کرایسیس گالبانا پس از ۲۴ ساعت در معرض غلظت‌های مختلف کادمیوم

غلظت کادمیوم (میلی‌گرم در لیتر)	میانگین مرگ و میر (\pm انحراف معیار)	درصد مرگ و میر	درصد بقا
شاهد (۰)	0 ± 0^a	۰	۱۰۰
۱۲۰	$1/6 \pm 0/57^a$	۱۶	۸۴
۱۵۰	3 ± 0^{bc}	۳۰	۷۰
۱۶۰	$3/6 \pm 0/57^{bcd}$	۳۶	۶۴
۱۷۰	5 ± 1^{Cde}	۵۰	۵۰
۱۸۰	$5/3 \pm 1/15^{def}$	۵۳	۴۷
۱۸۹	$5/6 \pm 1/15^{def}$	۵۶	۴۴
۲۰۰	6 ± 1^{ef}	۶۰	۴۰
۲۱۰	$7/3 \pm 0/57^{fg}$	۷۳	۲۷
۲۲۰	$9/3 \pm 0/57^{gh}$	۹۳	۷
۲۳۰	$9/6 \pm 0/57^h$	۹۶	۴

حروف انگلیسی غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار است ($P < 0/05$).

بحث

از نظر برخی محققین گونه‌های آرتمیا موجوداتی هستند که مواد سمی را در خود تجمع می‌دهند، بدون این که بر دوره زندگی آن‌ها تأثیری داشته باشد. آرتمیا به طور گسترده‌ای در مطالعات سمیت آزمایشگاهی، با توجه به اندازه کوچک، طول عمر کوتاه و دسترس بودن آن از سیستم خشک مورد بررسی قرار می‌گیرد (Nejatkhah Manavi and Baniamam, 2011).

یکی از جنبه‌های بررسی ارزش غذایی آرتمیا ارزیابی شاخص‌های بیوشیمیایی آن از قبیل پروتئین، چربی و کالری بالا، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب رنگ دانه‌ها، آلودگی آن با آفت کش‌ها و فلزات سنگین و موارد متعدد دیگر می‌باشد (Emami *et al.*, 2003). با توجه به اهمیت غذای زنده در تکثیر و پرورش لارو انواع آبزبان، پرورش انواع مختلفی از غذای زنده مانند آرتمیا بسیار مورد توجه واقع شده است. لذا جهت پرورش آرتمیا و حتی لارو بسیاری از سخت‌پوستان در مراحل ابتدایی، دسترسی به انواع جلبک‌های تک‌سلولی یک امر حیاتی می‌باشد (Lavens and Sorgeloos, 1991; Vojdazadeh *et al.*, 2007).

جدول ۲. میانگین (\pm انحراف معیار)، مرگ و میر، درصد بقا در *A. franciscana* هفت روزه با تغذیه از میکروجلبک نانوکروپسیس اکولاتا پس از ۲۴ ساعت در معرض غلظت‌های مختلف کادمیوم

درصد بقا	درصد مرگ و میر	میانگین مرگ و میر (\pm انحراف معیار)	غلظت کادمیوم (میلی گرم در لیتر)
۱۰۰	۰	0 ± 0^a	شاهد (۰)
۸۴	۱۶	$1/6 \pm 0/57^{ab}$	۱۲۰
۶۷	۳۳	$3/3 \pm 0/57^{bc}$	۱۵۰
۶۰	۴۰	$4 \pm 1/15^{Cd}$	۱۶۰
۵۶/۷	۴۳/۳	$4/3 \pm 0/57^{cd}$	۱۷۰
۵۴	۴۶	$4/6 \pm 1/15^{cd}$	۱۸۰
۵۰	۵۰	5 ± 1^{Cd}	۱۸۹
۴۰	۶۰	6 ± 1^d	۲۰۰
۱۶/۷	۸۳/۳	$8/3 \pm 0/57^e$	۲۱۰
۱۴	۸۶	$8/6 \pm 0/57^e$	۲۲۰
۱۰	۹۰	9 ± 1^e	۲۳۰

حروف انگلیسی غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار است ($P < 0/05$).

جدول ۳. میانگین (\pm انحراف معیار)، مرگ و میر، درصد مرگ و میر در *A. franciscana* هفت روزه با تغذیه با میکروجلبک ایزوکرالپسیس گالپانا پس از ۲۴ ساعت در معرض غلظت‌های مختلف سرب

درصد بقا	درصد مرگ و میر	میانگین مرگ و میر (\pm انحراف معیار)	غلظت سرب (میلی گرم در لیتر)
۱۰۰	۰	0 ± 0^a	شاهد (۰)
۹۰	۱۰	1 ± 0^{ab}	۱۲۰
۸۰	۲۰	2 ± 1^{abc}	۱۵۰
۷۳/۴	۲۶/۶	$2/6 \pm 0/57^{bc}$	۱۶۰
۶۰	۴۰	$4/3 \pm 0/57^{cd}$	۱۷۰
۵۰	۵۰	5 ± 1^d	۱۸۰
۴۰	۶۰	5 ± 1^{de}	۱۸۹
۲۶/۷	۷۳/۳	$7/3 \pm 0/57^{ef}$	۲۰۰
۱۴	۸۶	$8/6 \pm 0/57^f$	۲۱۰
۷	۹۳	$9/3 \pm 0/57^f$	۲۲۰
۴	۹۶	$9/3 \pm 0/57^f$	۲۳۰

حروف انگلیسی غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار است ($P < 0/05$).

جدول ۴. میانگین (± انحراف معیار)، مرگ و میر، درصد مرگ و میر و درصد بقا در *A. franciscana* هفت روزه با تغذیه از میکرو جلبک نانوکلوپسیس/کولوتا پس از ۲۴ ساعت در معرض غلظت‌های مختلف سرب

درصد بقا	درصد مرگ و میر	میانگین مرگ و میر (± انحراف معیار)	غلظت سرب (میلی گرم در لیتر)
۱۰۰	۰	۰± ^a	شاهد (۰)
۷۷	۲۳	۲/۳±۰/۵۷ ^{ab}	۱۲۰
۶۴	۳۶	۳/۶±۰/۵۷ ^{bc}	۱۵۰
۵۶/۷	۴۳/۳	۴/۳±۰/۵۷ ^{bc}	۱۶۰
۵۳/۴	۴۶/۶	۴/۶±۱/۱۵۴ ^{bc}	۱۷۰
۵۰	۵۰	۵±۱ ^{bc}	۱۸۰
۴۳/۴	۵۶/۶	۵/۶±۰/۵۷ ^c	۱۸۹
۴۰	۶۰	۶±۱ ^c	۲۰۰
۱۴	۸۶	۸/۶±۰/۵۷ ^d	۲۱۰
۷	۹۳	۹/۳±۱/۱۵ ^d	۲۲۰
۴	۹۶	۹/۶±۰/۵۷ ^d	۲۳۰

حروف انگلیسی غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار است ($P < 0.05$).

طبق مطالعه حاضر مقدار LC_{50} ۲۴ ساعته تعیین شده برای *A. franciscana* در حضور فلز کادمیوم در تغذیه با *I. galbana* و *N. oculata* به ترتیب برابر ۱۷۰ و ۱۸۹ بود که بیانگر مقاومت بالاتر گروهی از آرتمیاست که با *N. oculata* تغذیه شده‌اند. این امر ممکن است به علت وجود حداکثر مقدار پروتئین در *N. oculata* باشد (Punitha et al., 2007). میکرو جلبک نانوکلوپسیس به دلیل دارا بودن میزان بالای پروتئین در آبی‌پروری از اهمیت بالایی برخوردار است (Brown et al., 1993). آرتمیای به دلیل خصوصیات زیست‌شناختی خاص خود می‌تواند از رژیم غذایی مختلفی استفاده نماید که شامل میکروآلگ‌های تک‌سلولی زنده، میکروکپسول و ضایعات صنایع غذایی می‌باشد (Lavens and Sorgeloos, 1991; Mohebbi et al., 2016).

بر اساس تحقیق Nejatkhah Manavi و همکاران (۲۰۱۱) میزان LC_{50} برای *A. franciscana* در حضور فلز کادمیوم ۱۸۹/۳۳ تعیین شد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. Kungolos و Aoyama (۱۹۹۳) بیان کردند که *A. franciscana* در مقایسه با سایر سخت‌پوستان مورد مطالعه، حدود ۴ برابر مقاومت بیشتری به تجمع کادمیوم دارند. به طور کلی آرتمیای یکی از موجوداتی است که میزان سنتز متالوتیونین در آن بسیار زیاد است. سنتز متالوتیونین یکی از دلایل مقاومت بالای آرتمیای به فلزات سنگین و به‌ویژه کادمیوم در مقایسه با سایر سخت‌پوستان است. از دیگر دلایل مقاومت بالای آرتمیای به فلز کادمیوم می‌توان به محل سکونت و عوامل محیطی اشاره کرد که این عوامل تأثیر معنی‌داری در مقاومت آرتمیای به کادمیوم ایجاد می‌کند (Sarabia et al., 2002). مقدار LC_{50} ۲۴ ساعته برای سرب در هر دو گروه از آرتمیای که با *N. oculata* و *I. galbana* تغذیه شده‌اند برابر با ۱۸۰ است. از مقایسه مقدار LC_{50} گروه‌های تیمار کادمیوم و سرب استنباط می‌شود که آرتمیای به فلز سرب مقاومت کمتری را نشان می‌دهد که دلیل آن سمیت بیشتر فلز سرب نسبت به کادمیوم می‌باشد. طبق نظر Sarabia و همکاران (۱۹۹۸) گونه‌های آرتمیای نسبت به کادمیوم بسیار تحمل‌پذیرند و LC_{50} آن ۹۳/۳ تا ۲۸۰ میلی‌گرم بر لیتر است.

طبق نتایج این تحقیق، با افزایش غلظت کادمیوم و سرب بر میزان مرگ و میر آرتمیای افزوده گردیده است. این مشاهده به مطالعات Gajbhiye و Hirota (۱۹۹۰) مشابهت دارد. به طوری که میزان مرگ و میر ناپلی آرتمیای با افزایش میزان سرب، کادمیوم، نیکل، مس، روی و آهن افزایش نشان داده است. سخت‌پوستان برای بی‌اثر کردن سمیت فلزات سنگین در بدن دارای دو مکانیزم می‌باشند. برخی فلزات را تا آستانه مشخص، به همان میزان جذب، از بدن دفع می‌کنند و تعدادی هم فلزات را تا غلظت مشخصی در محیط، توسط پروتئین‌های خاصی به نام متالوتیونین در بدن خود غیر سمی می‌کنند (Taghizadeh

(Ansari, 2006). متالوتیونین دسته‌ای از پروتئین‌های سیتوپلاسمی با وزن مولکولی کم هستند. بر طبق تحقیقات مختلف، افزایش سطوح این پروتئین‌ها ناشی از جذب، ذخیره، انتقال و حذف فلزات سنگین است. Del Ramo و همکاران (۱۹۹۵) نشان دادند که میزان متالوتیونین‌ها در آرتمیا با گذشت زمان افزایش می‌یابند. سنتز متالوتیونین در آرتمیا بسیار زیاد بوده که یکی از دلایل مقاومت بالای این موجود نسبت به آلاینده‌ها می‌باشد.

هر دو گروه آرتمیا مقاومت بالایی در برابر دو فلز کادمیوم و سرب نشان دادند، اما گروهی که با جلبک *N. oculata* تغذیه شدند مقاومت بالاتری را نسبت به گروهی داشتند که از جلبک *I. galbana* تغذیه می‌کردند. Novakova و همکاران (۲۰۰۷) اثر روی و کادمیوم را روی آرتمیا فرانسیسکانا بررسی و نتیجه گرفتند که در غلظت‌های کم کادمیوم و غلظت‌های کم و متوسط روی، سنتز متالوتیونین‌ها افزایش پیدا می‌کند که باعث افزایش جایگاه اتصال فلز می‌شود. پس از پر شدن جایگاه‌های اتصال فلز به متالوتیونین، فلز به خون و بافت‌ها می‌رود و به عنوان یک یون آزاد اثرات سمی خود را اعمال می‌کند. بالا رفتن غلظت فلزات می‌تواند سیستم آنزیمی را مختل کرده، باعث اثرمهار آنزیم‌های مسئول متابولیسم پروتئین شده و موجب کاهش میزان پروتئین شود (Sobha et al., 2007). به این معنی که میزان سمیت بسیار بالا رفته و آرتمیا دیگر توان مقابله با آن را ندارد. مطالعاتی که توسط Kokkali و همکاران (۲۰۱۱) انجام شد نشان داد که تجمع فلزات سنگین اثرات حاد بر روی فعالیت‌های بیولوژیک مانند تحرک ناپلی‌ها پس از ۲۴ ساعت دارد. تحقیق حاضر اثرات واضح سمی بودن فلزات سنگین را روی مرگ و میر آرتمیا نشان داد.

با توجه به اینکه در سیستم‌های آبی‌پروری بیشتر هزینه‌های جاری صرف تغذیه آبزیان می‌شود، توجه به رژیم غذایی و دستیابی به بالاترین رشد و بقا با صرف کمترین هزینه و اصولاً بالانس جیره غذایی بسیار حائز اهمیت است. نتایج آنالیز ارزش غذایی دو نوع غذای مورد استفاده در این تحقیق نشان داد که ارزش غذایی *N. oculata* بیشتر از میکروجلبک دیگر می‌باشد. جلبک *N. oculata* با اندازه ۲-۴ میکرون از جمله جلبک‌های تک‌سلولی سبز تازک‌دار می‌باشد که در این آزمایش به عنوان یکی از غذاهای اصلی مورد توجه قرار گرفت. این جلبک با رشد سریع در آزمایشگاه به راحتی کشت داده شده و به دلیل داشتن دیواره‌ی نازک سلولی یکی از غذاهای اصلی برای پرورش انواع آرتمیا می‌باشد و از تک‌سلولی‌های مهم برای افزایش قدرت ایمنی آبزیان به شمار می‌رود (Okachi et al., 1990; Vogodzadeh et al., 2007).

نتایج این تحقیق نشان داد که سمیت کادمیوم در آرتمیای تغذیه شده با میکروجلبک *I. galbana* نسبت به سرب بیشتر بوده ولی سمیت سرب در آرتمیای تغذیه شده با میکرو جلبک *N. oculata* نسبت به کادمیوم بیشتر می‌باشد. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که نوع غذا از جمله عوامل مؤثر در بازماندگی آرتمیا بوده و این امر می‌تواند به عنوان یک راه اصولی در تولید توده زنده آرتمیا در مراکز تکثیر و پرورش آبزیان مد نظر قرار گیرد.

منابع

- Amat, F., Hontoria, F., Ruiz, O., Green, A.J., Sanchez, M.I., Figuerola, J., Hortas, F. 2005. The American brine shrimp as an exotic invasive species in the western Mediterranean. *Biological Invasions*. 7(1): 37-47.
- Baniamam, M., Pourang, N. 2014. The toxicity effect of vanadium on *Artemia Franciscanna* and *Artemia Urmiana*. *Scientific Journal of Pure and Applied Sciences*. 3(7): 710-716.
- Brown, C., Davies, M., Nimer, N., Dong, L.F., Merrett, M.J. 1993. Calcification, Photosynthesis and intracellular regulation in *emiliana haxleyi*; Marine Biological Association, the Laboratory Citadel Hill, Plymouth PL1 2PB, UK.
- Del Ramo, J., Torreblanca, A., Martinez, M., Pastor, A., Diaz-Mayans, J. 1995. Quantification of Cadmium-induced metallothionein in crustaceans by the silver-saturation method. *Marine Environmental Research*. 39(1-4): 121-125.

- Demirak, A., Yilmaz, F., Tuna, A.L., Ozdemir, N. 2006. Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey. *Chemosphere*. 63(9): 1451-1458.
- Devi, S.S., Sethu, M., Priya, P.G. 2015. Studies on the effect of *Artemia franciscana* on the removal of chromium by bioaccumulation. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*. 44(3): 411-415.
- Duruibe, J.O., Ogwuegbu, M.O.C., Egwurugwu, J.N. 2007. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of Physical Sciences*. 2(5): 112-118.
- Emami, F. 2003. The effect of temperature and salinity on enrichment and survival of *Artemia urmiana* with long-chain unsaturated fatty acids (HUFA), M.Sc., Hormozgan University, 132. (in Persian)
- Gajbhiye, S.N., Hirota, R. 1990. Toxicity of heavy metals to brine shrimp *Artemia*. *Journal of Indian Fisheries Association*. 20: 43-50.
- Ghiasi, F., Mirzargar, S., Salar Amoli, J., Bahonar, A., Ebrahimzadeh Mousavi, H. 2007. Study on hematology and serum biochemistry of common carp, *Cyprinus carpio* after low Cadmium concentration exposure. *Journal of Veterinary Research*. 65(1): 61-66.
- Ghorbani vaghaei, R., Davoodi, R. 2014. Nutrition in aquaculture. Shams International Publishing House. 53. (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.
- Hafezieh, M. 2003. *Artemia* (brine shrimp). Iranian Fisheries Research Center. 163 p. (in Persian)
- Horvatic, J., Persic, V. 2007. The effect of Ni 2+, Co 2+, Zn 2+, Cd 2+ and Hg 2+ on the growth rate of marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin: microplate growth inhibition test. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 79(5): 494-498.
- Jan, A.T., Azam, M., Siddiqui, K., Ali, A., Choi, I., Rizwanul Haq, Q.M. 2015. Heavy metals and human health: mechanistic insight into toxicity and counter defense system of antioxidants. *International Journal of Molecular Sciences*. 16: 29592-29630.
- Kokkali, V., Katramados, I., Newman, J.D. 2011. Monitoring the effect of metal ions on the mobility of *Artemia salina* nauplii. *Biosensors*. 1(2): 36-45.
- Kungolos, A., Aoyama, I. 1993. Interaction effect, food effect, and bioaccumulation of cadmium and chromium for the system daphnia magna-chlorella ellipsoidea. *Environmental Toxicology*. 8(4): 351-369.
- Lavens, P., Sorgeloos, P. 1991. Production of *Artemia* in culture tanks. In: Browne, R.A., Sorgeloos, P., Trotman, C.N.A. (eds.). *Artemia Biology*. CRC Press, Inc. Boca Raton. pp. 317-350.
- Lavens, P., Sorgeloos, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture (No. 361). Food and Agriculture Organization (FAO).
- Leopold, D.G., Ho, J., Lineberger, W.C. 1987. Photoelectron spectroscopy of mass-selected metal cluster anions. I. Cu⁻ⁿ, n=1-10. *The Journal of Chemical Physics*. 86(4): 1715-1726.
- Liu, D., Yang, J., Wang, L. 2013. Cadmium induces ultrastructural changes in the hepatopancreas of the freshwater crab *Sinopotamon henanense*. *The International Research and Review Journal for Microscopy*. 47: 24-32.
- Lohrenz, S.E., Fahnenstiel, G.L., Millie, D.F., Schofield, O.M., Johengen, T., Bergmann, T. 2004. Spring phytoplankton photosynthesis, growth, and primary production and relationships to a recurrent coastal sediment plume and river inputs in southeastern Lake Michigan. *Journal of Geophysical Research: Oceans*. 109(C10).
- Mohamed, A.H., Sheir, S.K., Osman, G.Y., Abd-El Azeem, H.H. 2014. Toxic effects of heavy metals pollution on biochemical activities of the adult brine shrimp, *Artemia salina*. *Canadian Journal of Pure and Applied Sciences*. 8: 3019-3028.
- Mohammadi Nafchi, F., Souri, M., Shirvani, F., Mohammadi Azari, H. 2016. Effects Nutritional of algae (*Nannochloropsis oculata*) and concentrates of rice bran Rich With yeast *accharomyces cerevisiae* on the growth and survival of *Artemia franciscana*. *Quarterly of Applied Sciences and Aquaculture*. 9: 85-96. (in Persian)
- Mohebbi, F., Seidgar, M., Hafezieh, M., Ahmadi, R., Mohebbi Garalar, P. 2016. The Effects of unicellular microalgae as food on the growth, survival and reproductive characteristics in *Artemia urmiana*. (in Persian)

- Nejatkhah Manavi, P.N., Baniamam, M. 2011. Toxic effects of nickel on *Artemia urmiana* and *Artemia franciscana*. International Conference on Biology, Environment and Chemistry IPCBEE vol.24 (2011). IACSIT Press. Singapore.
- Novakova, J., Danova, D., Striskova, K., Hromada, R., Mickova, H., Rabiskova, M. 2007. Zinc and Cadmium toxicity using a biotest with *Artemia franciscana*. Acta Veterinaria Brno. 76(4): 635-642.
- Okauchi, M., Zhou, W., Zou, W., Fukucho, K., Kanazawa, A. 1990. Difference in nutritive value of micro algae *Nannochloropsis oculata* at various growth phases. The Japanese Society of Fisheries Science. 56(8): 1293-1298.
- Padmanaban, A.M., Mohan, K. 2013. Toxic effects of cadmium chloride on hematological changes in fresh water field crab *Paratelphusa hydrodromous* (decapoda: brachyura). International Journal of Innovative Research in Science. Engineering and Technology. 8: 2319-8753.
- Punitha, S.J., Babu, M.M., Immanuel, G. 2007. Developing feed for the culture of brine shrimp *Artemia franciscana* using marine algae as major dietary feed source. Romanian Biotechnological Letters. 12(4): 3313.
- Rezaei, A. 2016. The role of heavy metals on human health. Second International Conference on Recent Findings in Chemistry and Chemical Engineering, Tehran, International Confederation of Inventions World (IFIA). University of Applied Science.
- Sarabia, R., Del Ramo, J., Varo, I., Diaz-Mayans, J., Torreblanca, A. 2002. Comparing the acute response to Cadmium toxicity of nauplii from different populations of artemia. Environmental Toxicology and Chemistry. 21(2): 437-444.
- Sarabia, R., Torreblanca, A., Del Ramo, J.J. Diaz-Mayans, J. 1998. Effect of low mercury concentration exposure on hatching, growth and survival in *Artemia* strain la mata parthenogenic diploid. Comparative Biochemistry and Physiology part A.120: 93-97.
- Sarabia, R., Varo, I., Amat, F., Pastor, A., Del Ramo, J., Diaz-Mayans, J., Torreblanca, A. 2006. Comparative toxicokinetics of cadmium in *Artemia*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 50(1): 111-120.
- Sobha, K., Poornima, A., Harini, P., Veeraiah, K. 2007. A study on biochemical changes in the fresh water fish, *Catla catla* (Hamilton) exposed to the heavy metal toxicant cadmium chloride. Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology. 3(2): 1-11.
- Suthers, I., Rissik, D. 2009. Plankton: A guide to their ecology and monitoring for water quality. CSIRO Publishing. 273 p.
- Taghizadeh Ansari, A. 2006. Investigation of Zn and Cd Heavy Effects on Growth and Survival of *Artemia urmiana*. Master Thesis for Marine Biology, University of Marine Technologies. (in Persian)
- Vojdazadeh, H., Ghezlbash, F., Ryahi, H., Manaffar, R. 2007. The study of growth and survival rate of 3 different *Artemia* species feeding on unicellular algae: *Nannochloropsis oculata*, *Dunaliella tertiolecta* and *Tetraselmis suecica*. Iranian Journal of Fisheries Research. 4: 143-152. (in Persian)
- Yigit, S., Altindag, A. 2006. Concentration of heavy metals in the food web of Lake Egirdir, Turkey. Journal of Environmental Biology. 27(3): 475-478.