



ارزیابی قابلیت تجمع زیستی سرب در حلزون آب شیرین (*Lymnaea truncatula*) در معرض غلظت‌های تحت کشنده آفت‌کش‌های پریمیکارب و بی‌تورین

مرضیه رئیسی^{۱*}، حمیدرضا پورخباز^۱، مهدی بنایی^۲، علیرضا پورخباز^۳، سعیده جوانمردی^۱

^۱ گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط‌زیست، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء (ص) بهبهان، بهبهان

^۲ گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط‌زیست، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء (ص) بهبهان، بهبهان

^۳ گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط‌زیست، دانشگاه بیرجند، بیرجند

چکیده

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۶/۰۷/۲۵

اصلاح: ۹۶/۱۰/۲۹

پذیرش: ۹۶/۱۲/۱۴

کلمات کلیدی:

بی‌تورین

پریمیکارب

تجمع زیستی

سرب

شاخص زیستی

پریمیکارب، آفت‌کش کارباماته، بی‌تورین، آفت‌کش زیستی و فلز سرب به عنوان متداول‌ترین آلاینده‌های محیطی طبقه‌بندی می‌شوند که ممکن است اثرات مختلفی بر یکدیگر و بر ارگانیسم‌های آبی داشته باشند. لذا این مطالعه با هدف ارزیابی اثرات سینرژیک و آنتاگونیستی آفت‌کش‌های پریمیکارب و بی‌تورین بر تجمع زیستی سرب در حلزون آب شیرین (*Lymnaea truncatula*) است. حلزون‌ها در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در معرض غلظت‌های مختلف تحت کشنده پریمیکارب (۰/۵، ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) و بی‌تورین (۰/۵، ۰/۱ و ۱ میلی‌لیتر در لیتر) به تنهایی و توأم با سرب (۰/۵، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر) به مدت ۸ روز قرار گرفتند. با افزایش غلظت پریمیکارب از ۰/۵ به ۱ میلی‌گرم در لیتر تجمع سرب در بافت حلزون‌ها افزایش یافت اما با افزایش غلظت بی‌تورین از ۰/۵ به ۱ میلی‌لیتر در لیتر تجمع سرب در بافت حلزون‌ها نسبت به حلزون‌های قرارگرفته در معرض سرب به تنهایی افزایش معنی‌داری را نشان نداد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که اثرات سینرژیک پریمیکارب بر تجمع زیستی سرب در بافت حلزون، به شدت غلظت این آفت‌کش در آب بستگی دارد اما آفت‌کش زیستی بی‌تورین در غلظت بالای سرب اثر سینرژیک بر تجمع زیستی سرب دارد. همچنین نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که حلزون (*Lymnaea truncatula*) می‌تواند به عنوان شاخص زیستی مفیدی برای ارزیابی و پایش محیط‌زیست به خصوص اکوسیستم‌های آبی آلوده به فلزات سنگین و آفت‌کش‌ها مورد استفاده قرار گیرد.

مقدمه

کشاورزی یکی از منابع آلوده‌کننده آب‌های سطحی و زیرزمینی به کودهای آلی، شیمیایی و آفت‌کش‌ها است. انواع مختلف آفت‌کش‌ها و کودهای آلی و شیمیایی مورد استفاده در کشاورزی ممکن است سهواً یا عمدتاً از طریق وزش باد، آبشویی، رواناب‌های سطحی و زهکش کشاورزی به اکوسیستم‌های آبی وارد شود (Ghaderi et al., 2012). آلودگی آب توسط آفت‌کش‌ها معمولاً پس از چند هفته مصرف از طریق رواناب‌های سطحی و زهکشی زیرسطحی رخ می‌دهد (Nouri et al., 2000).

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: Marzie.raisi1369@gmail.com

پرمیکارب یک حشره‌کش متیل کاربامات است (WHO, 1976) که به گروهی از ترکیبات تعلق دارد که ممکن است دارای پتانسیل سرطان‌زایی در انسان باشد (USEPA, 2009). فرمول پرمیکارب (ماده فعال ۵۰٪) نشان داده که اثرات تحریک‌کننده سمی بر روی کشت سلولی سرطان ریه در انسان دارد (Skandrani et al., 2006). تأثیر سمی فرمولاسیون‌های مختلف آفت‌کش پرمیکارب بر جوامع میکروبی رسوب آب شیرین (Widenfalk et al., 2004)، سخت‌پوست *Ceriodaphnia quadrangulata* (Mansour and Hassan, 1993)، *Daphnia magna* (Andersen et al., 2006)، دوزیستان (Syberg et al., 2008)، *Rhinella arenarum* (Vera-Candioti et al., 2010) و *Poecilia reticulata* (Alvarez et al., 1995) و بچه قورباغه *Pelophylax perezi* (OPP-EEDB, 2000) و *Cyprinus carpio* (Honrubia et al., 1993; Alvarez et al., 1995) گزارش شده است. بی‌تورین حشره‌کش گوارشی بیولوژیکی است که از محصول باکتری *Bacillus thuringiensis* زیرگونه *Bacillus thuringiensis subsp. Kurstaki* (BTK) بدست می‌آید.

از آنجایی که آلاینده‌های مختلف موجود در محیط می‌تواند دارای اثرات فزاینده، سینرژیک و یا آنتی‌گونیستی بر قابلیت دسترسی زیستی و سمیت بر یکدیگر باشند (Nematdoost Haghi and Banaee, 2017) (Hamidipoor et al., 2015a)، انتظار می‌رود که آفت‌کش‌ها نیز بر دسترسی زیستی و سمیت دیگر آلاینده‌های محیطی نظیر فلزات سنگین تأثیر داشته باشد (Banaee et al., 2015a; Banaee et al., 2015b). علاوه بر این تأثیر این ترکیبات و برهمکنش‌ها می‌تواند بر پاسخ فیزیولوژیک ارگانیسم‌های در معرض و توان سم‌زدایی آن‌ها نیز تأثیر بگذارد.

فلزات سنگین به دلیل قابلیت تجمع زیستی خطرناک می‌باشند (Adedeji and Okocha, 2011). همچنین این عناصر به علت خاصیت پایداری در محیط‌های آبی و تغلیظ زیستی در بافت‌ها و استخوان‌های موجودات زنده و به دلیل عدم دفع بیولوژیکی، غلظت آن‌ها در زنجیره‌های غذایی به سمت رأس هرم غذایی افزایش یافته و موجب اثرات سمی و بیماری‌هایی برای موجودات مصرف‌کننده بالای هرم غذایی به خصوص انسان می‌شود (Abbas Zadeh, 1996). سرب بیش از هر عنصر دیگری محیط‌زیست را آلوده می‌کند و فعالیت‌های انسانی منشأ اصلی ورود سرب به محیط‌زیست می‌باشد. سرب بعد از ورود به بدن به مرور انباشته شده و به شکل سرب دو ظرفیتی می‌تواند به جای کلسیم در استخوان‌ها جایگزین شود. برای تعیین تأثیر ترکیبی آلودگی‌ها، منابع و غلظت آلاینده‌ها در محیط‌های آبی نیاز به ارزیابی و پایش محیط وجود دارد. وجود آلاینده‌ها زمانی مشکل‌ساز است که توسط موجود زنده جذب شوند (Wright and Welbourn, 2002). به همین دلیل باید بخشی از آلودگی که در دسترس زیستی می‌باشد، محاسبه شود (Ruelas-Inzunza and Paez-Osuna, 2000) از این‌رو ارزیابی تأثیر غلظت‌های زیرکشنده پرمیکارب و بی‌تورین بر قابلیت تجمع زیستی فلز سرب در ارگانیسم‌های آبی ضروری به نظر می‌رسد.

در رودخانه مارون گونه‌های مختلف جانوری یافت می‌شوند که از آن جمله می‌توان به شکم‌پایان اشاره کرد. شکم‌پایان به عنوان یک بیواندیکاتور برای ارزیابی سطح آلودگی اکوسیستم‌های آبی، به دلیل شیوه زندگی و تغذیه‌شان مورد استفاده قرار می‌گیرند (Macías-Mayorga et al., 2015). تغییر در شاخص‌های فیزیولوژیکی، رشد (Coeurdassier et al., 2001)، تغییرات رفتاری در *Bellamyia aeruginosa* (Zheng et al., 2012)، بروز استرس اکسیداتیو، آسیب‌های بافتی و تغییر پارامترهای بیوشیمیایی در حلزون‌های *Pila globosa* (Bhattacharya et al., 2016) و دوکفه‌ای *Meretrix meretrix* (Wan et al., 2015) و *Ruditapes decussatus* (Kamel, et al., 2012)، حلزون‌های *Lanistes carinatus* (Khalil, 2015) و *Cantareus apertus* (Leomanni et al., 2015)، *Biomphalaria alexandrina* (Ibrahim et al., 2018)، (Barky et al., 2012)، *Lymnaea luteola* (Ali et al., 2012)، *Helix aspersa* (Abdel-Halim et al., 2013)، حلزون *Theba pisana* (Radwan et al., 2010)، آسیب‌های ژنتیکی در *B. aeruginosa* (Zheng et al., 2012) در معرض انواع مختلف آلاینده‌های محیطی نظیر آفت‌کش‌ها و فلزات سنگین و قابلیت تجمع فلزات سنگین کادمیوم، روی، سرب و مس در حلزون *T. pisana* (Radwan et al., 2010) و *H. aspersa* (Abdel-Halim et al., 2013)، از مهم‌ترین شاخص‌های زیستی است که در این جانوران تاکنون مورد مطالعه قرار گرفته است. حلزون‌ها از قابلیت بالایی برای تجمع فلزات سنگین در بافت‌هایشان برخوردارند (Silva et al., 2017).

حلزون آب شیرین جنس *Lymnaea* sp. به فراوانی در اکوسیستم‌های آب شیرین، از جمله رودخانه مارون یافته می‌شود و در سرتاسر پوشش گیاهی حاشیه رودخانه‌ها و آب‌بندها پراکنده شده است. حلزون *Lymnaea truncatula* گونه‌ای است کم‌تحرک که به آسانی در اکوسیستم‌های آب شیرین یافت می‌شود؛ به سهولت قابل جمع‌آوری و شناسایی است و نگهداری از آن در شرایط آزمایشگاهی نسبتاً راحت است. لذا هدف از این مطالعه ارزیابی اثر سینرژیک و آنتاگونیستی آفت‌کش پرمیکارب و بی‌تورین بر تجمع فلز سرب در بافت نرم حلزون آب شیرین *Lymnaea truncatula* به عنوان یک مدل آزمایشگاهی است. اطلاعات به دست آمده از این مطالعه می‌تواند در پایش زیست‌محیطی اکوسیستم‌های آبی و نظارت بیشتر در نوع و میزان استفاده از سموم آفت‌کش در اراضی کشاورزی و تأثیر این سموم بر تجمع فلزات سنگین مؤثر باشد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

پرمیکارب (2-dimethylamino-5,6-dimethylpyrimidin-4-yl dimethylcarbamate) (ساخت شرکت شیمیایی گل سم، ۵۰٪ ماده فعال) و بی‌تورین (شرکت فناوری زیستی مهر آسیا (مابکو) (هر میلی‌لیتر دارای یک اسپور فعال) از شیراز خریداری شد و استات سرب از مرک (شرکت آلمان، خلوص ۹۹٪) تهیه شد.

نحوه انتخاب و شرایط نگهداری حلزون

حلزون‌های آب شیرین *Lymnaea truncatula* با توجه به چارچوب اخلاقی ملی تحقیقات جانوری در ایران (Mobasher et al., 2008) با دست در عمق ۳۰-۴۰ سانتی‌متری از پوشش گیاهی حاشیه رودخانه مارون در نزدیکی شهرستان بهبهان، استان خوزستان به صورت تصادفی جمع‌آوری و بلافاصله به آزمایشگاه تکثیر و پرورش زینتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء (ص) بهبهان برای یک دوره از سازگاری، قبل از شروع آزمایش منتقل شدند. پیش از شروع آزمایش، حلزون‌ها جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاهی به مدت یک هفته در سط‌های پلاستیکی از نظر شرایط محیطی (دما $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ، درجه سانتی‌گراد، pH: 7.4 ± 0.2 ، دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) نگهداری شدند. برای انجام آزمایش حلزون‌ها در آکواریوم‌های پر شده با دو لیتر آب تصفیه شده نگهداری و با عصاره کاهو تغذیه شدند.

طرح آزمایش

آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. گروه‌بندی نمونه‌های حلزون بر اساس هدف تحقیق انجام گرفت و حلزون‌ها در معرض غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر پرمیکارب، ۰/۵ و ۱ میلی‌لیتر بی‌تورین و غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب در سه تکرار به مدت ۸ روز قرار گرفتند. آزمایش در دو مرحله طراحی شد. مرحله اول ۲۱۰ حلزون در ۶ تیمار تقسیم و در مدت ۸ روز در معرض غلظت‌های زیرکشنده پرمیکارب (۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر) و فلز سرب (۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر) به تنهایی و به صورت توأم و یک گروه کنترل و مرحله دوم ۲۱۰ حلزون در ۶ تیمار تقسیم و در مدت ۸ روز در معرض غلظت‌های زیرکشنده بی‌تورین (۰/۵ و ۱ میلی‌لیتر بر لیتر) و فلز سرب (۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر) به تنهایی و به صورت توأم و یک گروه کنترل قرار گرفتند. انتخاب غلظت‌های زیرکشنده آفت‌کش پرمیکارب و بی‌تورین (Laznik et al., 2010) و غلظت سرب (Grosell et al., 2006) بر اساس غلظت‌های کشنده آن‌ها برای نرم‌تنان صورت گرفته است.

در طی آزمایش ۵۰ درصد از آب حلزون‌ها به‌طور روزانه تعویض می‌شد تا میزان متابولیت‌های زائد تولید شده کاهش داده شود و همچنین آفت‌کش‌ها و فلز نیز اضافه گردید تا غلظت‌های پرمیکارب و بی‌تورین و فلز سرب ثابت باقی بماند. در طول دوره آزمایش هیچ‌گونه مرگ و میری در بین گروه‌های مختلف آزمایشی مشاهده نشد. بعد از آزمایش برای هر مرحله پس از گذشت ۸ روز سم دهی، ۲۰ حلزون به طور تصادفی برداشت و به منظور هضم در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند.

آماده‌سازی و هضم نمونه‌ها

حلزون‌ها پس از جداسازی بافت نرمشان به وسیله ترازوی الکترونیکی با دقت $0/001$ گرم توزین شدند و 1 گرم از بافت نرم هر نمونه در لوله فالكون قرار داده شد و مقدار 2 میلی‌لیتر پر اکسید هیدروژن (37%) به ازای یک گرم بر روی بافت‌ها در هر لوله فالكون ریخته شد و به مدت 2 ساعت زیر هود در دمای اتاق قرار گرفت. سپس به میزان 2 میلی‌لیتر اسید نیتریک (65%) و اسید پرکلریک (72%) با نسبت $1:1$ به آن‌ها اضافه شد (Arhaimen and Donald, 2002) و به مدت 24 ساعت در دمای محیط قرار داده شدند تا بافت‌ها به خوبی تجزیه شود و مایع شفاف به دست آید. سپس محلول شفاف به دست آمده را با کاغذ واتمن شماره 42 میکرون صاف و به بالن‌های حجم‌سنجی 25 میلی‌لیتری منتقل و با آب مقطر به حجم رسانده شد. علاوه بر نمونه‌های هضم شده، به موازات آماده‌سازی نمونه‌های حقیقی، سه نمونه شاهد نیز در کنار سایر نمونه‌ها همانند نمونه‌های مورد بررسی جهت صحت سنجی دستگاه جذب اتمی و درجه خلوص اسیدهای مورد استفاده تهیه شد. در نهایت نمونه‌ها جهت تعیین غلظت عناصر، به دستگاه جذب اتمی (Shimadzu (AA-670G تزریق شدند. در نهایت، غلظت نهایی فلز با استفاده از رابطه 1 بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

$$M=CV/W$$

رابطه ۱

C: غلظت به دست آمده از دستگاه بر حسب mg/l

V: حجم نهایی نمونه (در این بررسی 25 میلی‌لیتر بوده است)

W: مقدار ماده خشک مصرف‌شده برای هضم بر حسب گرم (در این بررسی یک گرم بوده است)

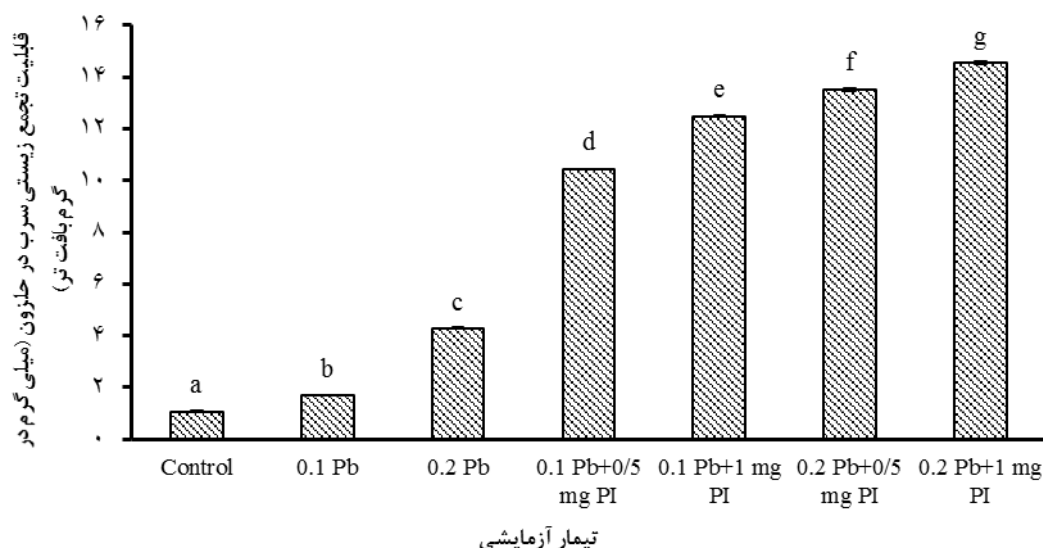
M: غلظت نهایی نمونه بر حسب mg/l یا $\mu\text{g/g}$ وزن تر محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

آنالیز آماری توسط نرم‌افزار SPSS (IBM) 19 و در سطح خطای $0/05$ انجام شد. نرمال بودن داده‌ها به وسیله‌ی آزمون Kolmogorov-Smirnov مورد بررسی قرار گرفت. از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) جهت مقایسه بین تیمارها استفاده شد و در صورت معنی‌دار بودن، جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون Duncan در سطح اطمینان 95% استفاده گردید. همبستگی پیرسون نیز جهت بررسی میزان همبستگی غلظت سموم پریمیکارب، بی‌تورین و تجمع سرب استفاده شد. نتایج به صورت نمودار توسط نرم‌افزار Excell رسم گردید و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (S.D) ارائه می‌گردد.

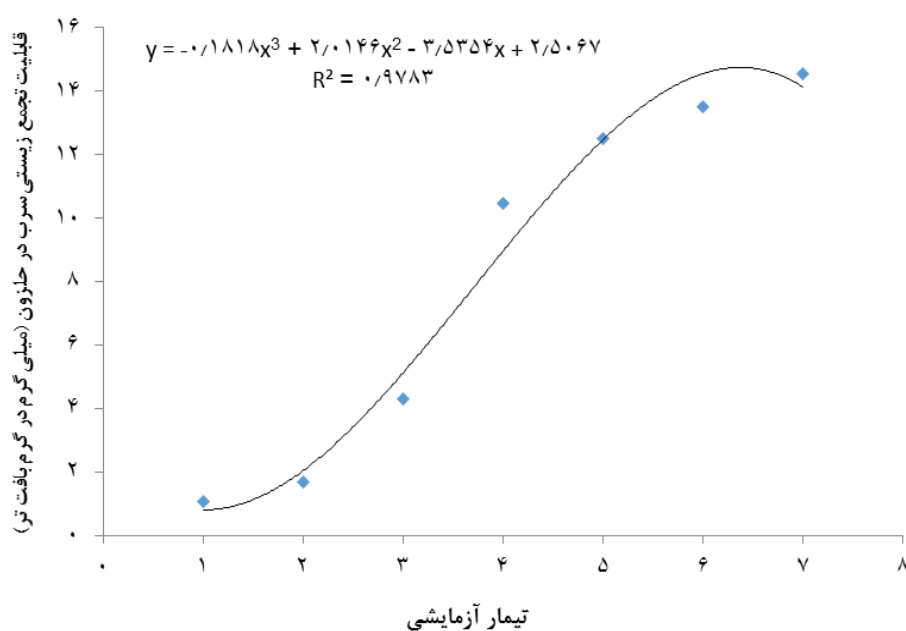
نتایج

نتایج این مطالعه نشان داد که تجمع سرب در بافت نرم حلزون‌های قرار گرفته در معرض پریمیکارب و سرب به صورت توأم افزایش معنی‌داری ($p < 0/05$) در مقایسه با حلزون‌های قرار گرفته در معرض سرب به تنهایی نشان دادند. بیشترین افزایش در حلزون‌های قرار گرفته در معرض غلظت بالای سرب و پریمیکارب به صورت توأم مشاهده شد. با افزایش غلظت پریمیکارب و سرب به صورت توأم تجمع سرب در بافت حلزون‌ها افزایش یافت که این افزایش؛ به افزایش بیشتر غلظت پریمیکارب در محیط آبی بستگی دارد به این صورت که تجمع سرب در بافت حلزون‌های قرار گرفته در معرض سرب $0/1 +$ پریمیکارب 1 میلی‌گرم بر لیتر بیشتر از حلزون‌های قرار گرفته در معرض سرب $0/1 +$ پریمیکارب $0/5$ میلی‌گرم بر لیتر است و افزایش تجمع سرب در بافت نرم حلزون‌های قرار گرفته در معرض سرب $0/2 +$ پریمیکارب 1 بیشتر از حلزون‌های قرار گرفته در معرض سرب $0/2 +$ پریمیکارب $0/5$ میلی‌گرم بر لیتر است (شکل ۱).



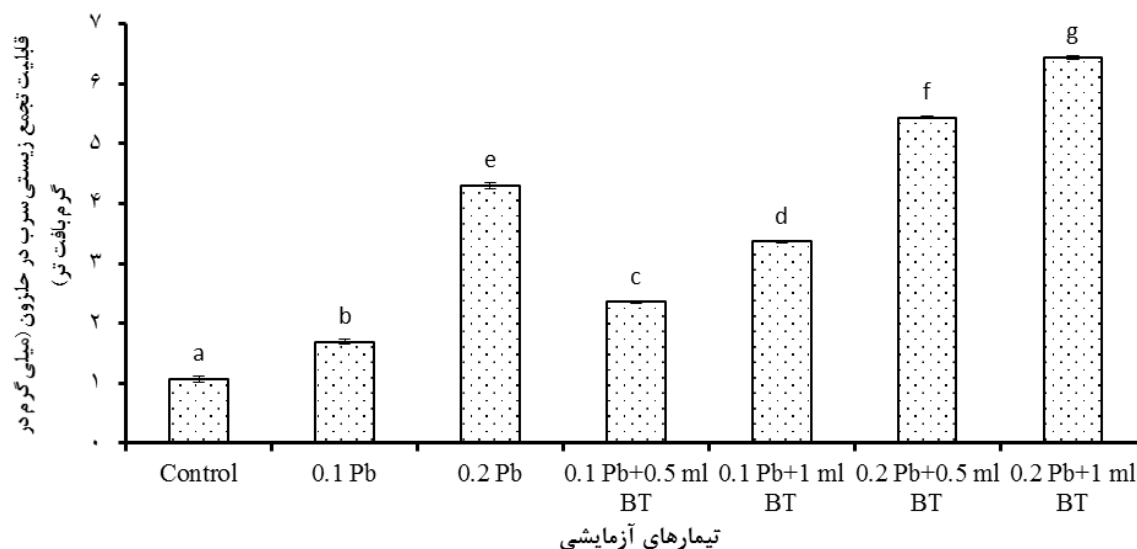
شکل ۱. روند تغییرات تجمع سرب در بافت حلزون‌های قرار گرفته در معرض غلظت‌های مختلف پرمیکارب و سرب. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار است.

اطلاعات روی تجمع زیستی سرب و غلظت‌های مختلف پرمیکارب در شکل ۲ نشان داده شده است. اختلاف معنی‌داری بین تجمع زیستی سرب و غلظت‌های مختلف پرمیکارب در کل بافت نرم حلزون (*Lymnaea truncatula*) ($p < 0.05$) مشاهده شد به طوری که با افزایش غلظت پرمیکارب تجمع زیستی سرب در کل بافت نرم حلزون آب شیرین (*Lymnaea truncatula*) افزایش یافت و تجمع زیستی سرب به طور هم‌زمان به قرارگیری در معرض غلظت‌های مختلف پرمیکارب و پایداری غلظت پرمیکارب در آب بستگی دارد (شکل ۲). نتیجه این مطالعه در مورد اثر غلظت‌های مختلف بی‌تورین در تجمع زیستی سرب در بافت نرم حلزون آب شیرین (*Lymnaea truncatula*) نشان داد که تجمع زیستی سرب در بافت نرم حلزون‌های قرار گرفته در معرض غلظت‌های مختلف بی‌تورین و



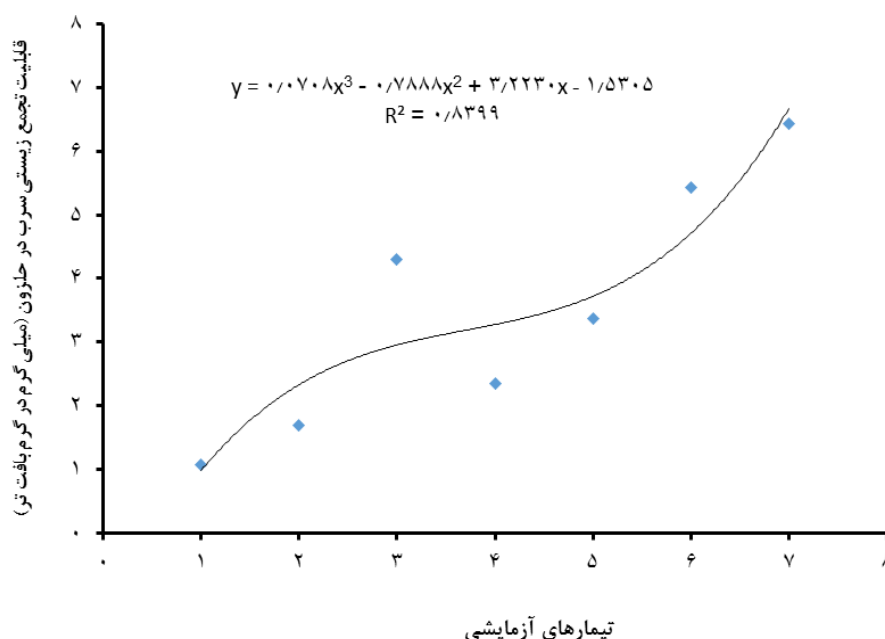
شکل ۲. تجمع زیستی سرب در کل بافت نرم *Lymnaea truncatula* قرار گرفته در معرض غلظت‌های مختلف پرمیکارب

غلظت پایین سرب به صورت توأم در مقایسه با حلزون‌های قرار گرفته در معرض غلظت بالای سرب به تنهایی کاهش معنی‌داری ($p < 0.05$) را نشان دادند در صورتی‌که حلزون‌های قرار گرفته در معرض غلظت‌های مختلف بی‌تورین و غلظت بالای سرب به صورت توأم افزایش معنی‌داری ($p < 0.05$) را نسبت به حلزون‌های قرار گرفته در معرض غلظت بالای سرب به تنهایی نشان دادند (شکل ۳).



شکل ۳. روند تغییرات تجمع سرب در بافت حلزون‌های قرار گرفته در معرض غلظت‌های مختلف بی‌تورین و سرب، حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار

اطلاعات مربوط به تجمع زیستی سرب و غلظت‌های مختلف بی‌تورین در شکل ۴ نشان داده شده است. اگرچه هیچ افزایش معنی‌داری ($p < 0.05$) روی تجمع زیستی سرب در کل بافت نرم حلزون آب شیرین قرار گرفته در معرض ۰/۵ و ۱ میلی‌لیتر بر لیتر بی‌تورین در ترکیب با ۰/۱ میلی‌گرم بر گرم سرب مشاهده نشد اما افزایش تجمع زیستی سرب در حلزون‌های قرار گرفته در معرض ۰/۵ و ۱ میلی‌لیتر بر لیتر بی‌تورین در ترکیب با ۰/۲ میلی‌گرم بر گرم سرب مشاهده شد (شکل ۴).



شکل ۴. تجمع زیستی سرب در کل بافت نرم *Lymnaea truncatula* قرار گرفته در معرض غلظت‌های مختلف بی‌تورین

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، روند افزایش تجمع زیستی سرب در بافت حلزون آب شیرین (*Lymnaea truncatula*) قرار گرفته در معرض غلظت‌های مختلف پرمیکارب و سرب به صورت سرب $0/2$ + پرمیکارب 1 < سرب $2/0$ + پرمیکارب $5/0$ < سرب $1/0$ + پرمیکارب 1 < سرب $1/0$ + پرمیکارب $5/0$ < سرب $2/0$ < سرب $1/0$ < کنترل مشاهده شد. همان‌طوری که ملاحظه می‌شود با افزایش غلظت پرمیکارب و سرب تجمع زیستی فلز سرب در بافت حلزون به لحاظ آماری افزایش معنی‌داری یافت ($P < 0/05$). این افزایش ممکن است به کاهش فعالیت استیل کولین استراز نسبت داده شود که به‌طور هم‌زمان باعث پراکسیداسیون لیپیدی مغز به‌وسیله استرس اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن (ROS^1) می‌شود که ممکن است به غشاء سلول خسارت وارد کند (Nasuti et al., 2007, 2008; Banaee et al., 2014). مالون دی آلدئید یکی از محصولات اصلی پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از ROS است که خود بسیار واکنش‌پذیر است و می‌تواند به دلیل داشتن پیوند دوگانه با دیگر اجزای غشاء سلولی پیوند کووالانسی تشکیل دهد و بدین ترتیب بر فعالیت فیزیولوژیکی غشاء سلولی اثر بگذارد (Radwan et al., 2010). از این‌رو تخریب غشاء سلول توسط مالون دی آلدئید می‌تواند باعث کار غیرعادی غشاء شود که کار غیرعادی غشاء ممکن است اثر قابل‌توجهی روی نفوذ سرب داخل سلول داشته باشد. مطالعات نشان می‌دهد که رابطه معنی‌داری بین تجمع فلزات سنگین در حلزون *Theba pisana* و بروز استرس اکسیداتیو وجود دارد (Radwan et al., 2010).

همچنین افزایش تجمع زیستی سرب با افزایش غلظت پرمیکارب و فلز سرب ممکن است ناشی از کاهش متالوتیونین‌ها و اختلال عملکرد در روند سمیت‌زدایی سرب باشد؛ زیرا یکی از مکانیزم‌های دفاعی بدن در برابر با سمیت فلزات، اتصال فلزات به پروتئین سیتوزولی متالوتیونین است که می‌تواند به فلزات سنگین متصل شود و مانع از ورود آن‌ها به جریان خون شود (Wood et al., 2012a,b; Siscar et al., 2013). از این رو متالوتیونین نقش مهمی در تنظیم فلزات ضروری و در سمیت‌زدایی فلزات سمی مانند سرب دارد (Erdogan et al., 2011; Ceyhun et al., 2012). علاوه بر این مدارکی وجود دارد که متالوتیونین در موجودات قرارگرفته در معرض آفت‌کش‌ها خصوصاً در پاسخ به گونه‌های فعال اکسیژن به صورت ترکیبی درمی‌آید. فعل و انفعالات بین سرب و پرمیکارب ممکن است دسترسی زیستی فلز سرب را در حلزون افزایش دهد و علاوه بر این، ناتوانی حلزون در کاهش سمیت و دفع سرب دلیل دیگری برای تجمع سرب در بافت حلزون است. مطالعات Banaee و همکاران (2015) روی ماهی (*Cichlasoma nigrofasciatum*) نشان داد که تجمع کادمیوم و جیوه بر اثر آفت‌کش پرمترین با افزایش غلظت پرمترین افزایش می‌یابد که با مطالعه ما در ارتباط با آفت‌کش پرمیکارب مطابقت دارد. همچنین مطالعه Hamidipoor و همکاران (2015) روی بلدرچین نشان داد که آفت‌کش دلتامترین بر تجمع استات سرب تأثیرگذار است.

تجمع زیستی سرب در حلزون‌های قرار گرفته در معرض غلظت‌های مختلف آفت کش زیستی بی‌تورین و فلز سرب به صورت

سرب mg/l $+0\cdot2$ بی‌تورین ml/l $<0\cdot5$ سرب mg/l $<0\cdot2$ سرب mg/l $+0\cdot1$ بی‌تورین ml/l $<0\cdot5$

سرب mg/l $+0\cdot1$ بی‌تورین ml/l $<0\cdot5$ سرب mg/l $<0\cdot1$ گروه کنترل؛ مشاهده شد. حلزون‌های قرار گرفته در معرض غلظت‌های

$0\cdot5$ و 1 میلی‌لیتر بر لیتر بی‌تورین و سرب $0\cdot1$ میلی گرم بر لیتر به صورت توأم کاهش معنی داری ($p < 0\cdot05$) را در مقایسه با

حلزون‌های قرار گرفته در معرض سرب با غلظت $0\cdot2$ میلی گرم بر لیتر به تنهایی نشان دادند در صورتی که حلزون‌های قرار

گرفته در معرض غلظت‌های $0\cdot5$ و 1 میلی‌لیتر بر لیتر بی‌تورین توأم با سرب $0\cdot2$ میلی گرم بر لیتر افزایش معنی داری ($0\cdot05$.

$p <$) را در مقایسه با حلزون‌های قرار گرفته در معرض غلظت $0\cdot2$ میلی گرم بر لیتر سرب به تنهایی نشان دادند. کاهش

معنی دار غلظت‌های بی‌تورین در ترکیب با غلظت پایین سرب در مقایسه با حلزون‌های قرار گرفته در معرض سرب $0\cdot2$.

میلی گرم بر لیتر سرب به تنهایی می‌تواند به علت افزایش ترکیب متالوتئوئین نسبت داده شود و افزایش تجمع زیستی سرب

در حلزون‌های قرار گرفته در معرض غلظت‌های بی‌تورین در ترکیب با غلظت بالای سرب ممکن است ناشی از پراکسیداسیون

لیپیدی مغز به وسیله‌ی استرس اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) باشد که ممکن است به غشاء سلول

خسارت وارد کند در نتیجه کار غیرعادی غشاء سلول ممکن است اثر قابل توجهی روی نفوذ سرب داخل سلول داشته باشد.

¹ Reactive oxygen species

همچنین این افزایش ممکن است ناشی از غلظت بالای سرب در حضور غلظت‌های مختلف بی‌تورین باشد که افزایش بالای فلز سرب ممکن است ناشی از کاهش متالوتیونین‌ها و اختلال عملکرد در روند سمیت‌زدایی سرب باشد.

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که حضور غلظت‌های مختلف آفت‌کش پیریمیکارب در اکوسیستم آبی می‌تواند تجمع زیستی سرب را در بافت حلزون (*Lymnaea truncatula*) ساکن آب آلوده افزایش دهد. آفت‌کش زیستی بی‌تورین در غلظت‌های مختلف در ترکیب با سرب با غلظت کم، افزایش معنی‌داری را در مقایسه با حلزون‌های قرار گرفته در معرض غلظت بالای سرب به تنهایی نشان ندادند اما تجمع زیستی سرب با افزایش غلظت فلز سرب در ترکیب با غلظت‌های مختلف آفت‌کش بی‌تورین افزایش یافت. این نتایج به ما نشان می‌دهد که آفت‌کش زیستی بی‌تورین در حضور غلظت بالای فلز سرب می‌تواند مانند آفت‌کش شیمیایی پیریمیکارب باعث تجمع زیستی فلز سرب شود. همچنین این مطالعه نشان‌دهنده ضرورت استفاده کمتر از آفت‌کش‌های شیمیایی و فلزات سنگین و کاهش ورود فاضلاب صنعتی و شهری و مواد شیمیایی در سطح آب‌ها است.

همچنین پاسخ بافت نرم حلزون (*Lymnaea truncatula*) قرار گرفته در معرض غلظت‌های مختلف آفت‌کش‌های پیریمیکارب و بی‌تورین و فلز سرب به تجمع زیستی سرب در نتایج این مطالعه نشان‌دهنده این است که حلزون (*Lymnaea truncatula*) می‌تواند به عنوان شاخص زیستی مفیدی برای ارزیابی و پایش محیط‌زیست به خصوص اکوسیستم‌های آبی آلوده به فلزات سنگین و آفت‌کش مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

- Abbas Zadeh, K. 1996. Investigation of Crabs tidal areas of Bushehr coast. Iran Fisheries Information Center. (in Persian)
- Abdel-Halim, K.Y., Abo El-Saad, A.M., Talha, M.M., Hussein, A.A., Bakry, N.M. 2013. Oxidative stress on land snail *Helix aspersa* as a sentinel organism for ecotoxicological effects of urban pollution with heavy metals. *Chemosphere*. 93(6): 1131-1138.
- Adediji, O.B., Okocha, R.C. 2011. Bioconcentration of heavy metals in prawns and water from Epe lagoon and asejire river in southwest Nigeria. Department of Veterinary Public Health and Preventive Medicine. University of Ibadan. Nigeria. *Journal of Applied Sciences in Environmental Sanitation*. 6(3): 377-384.
- Ali, D., Alarifi, S., Kumar, S., Ahamed, M., Siddiqui, M.A. 2012. Oxidative stress and genotoxic effect of zinc oxide nanoparticles in freshwater snail *Lymnaea luteola* L. *Aquatic Toxicology*. 125: 83-90.
- Alvarez, R., Honrubia, M.P., Herráez, M.P. 1995. Skeletal malformations induced by the insecticides ZZ-Aphox and Folidol during larval development of *Rana perezi*. *Archive of Environmental Toxicology*. 28: 349-356.
- Andersen, T.H., Tjørnhøj, R., Wollenberger, L., Slothuus, T., Baun, A. 2006. Acute and chronic effects of pulse exposure of *Daphnia magna* to dimethoate and pirimicarb. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 25: 1187-1195.
- Arhaimen, V., Donald, T. 2002. Recipe Laboratory of Device Analysis. Salagegheh, A., Moosavi, R. University Press Publishing Center First Printing. pp. 330-363. (in persian)
- Banaee, M., Beitsayah, A., Jorabdoz, I. 2015a. Assessment of Mercury Bioaccumulation in Zebra Cichlid (*Cichlasoma nigrofasciatum*) Exposed to Sublethal Concentrations of Permethrin. *Iranian Journal of Toxicology*. 8(27): 1168-1173.
- Banaee, M., Mohammadipour, S., Madhani, S. 2015b. Effects of sublethal concentrations of permethrin on bioaccumulation of cadmium in zebra cichlid (*Cichlasoma nigrofasciatum*). *Toxicological & Environmental Chemistry*. 97(2): 200-207.
- Banaee, M., Sureda, A., Zohiery, F., Nematdoust Hagi, B., Garanzini, D.S. 2014. Alterations in Biochemical Parameters of the Freshwater Fish, *Alburnus mossulensis*, Exposed to Sub-Lethal Concentrations of Fenpropathrin. *International Journal of Aquatic Biology*. 2(2): 58-68.
- Barky, F.A., Abdelsalam, H.A., Mahmoud, M.B., Hamdi, S.A. 2012. Influence of Atrazine and Roundup pesticides on biochemical and molecular aspects of *Biomphalaria alexandrina* snails. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 104(1): 9-18.

- Bhattacharya, P., Swarnakar, S., Mukhopadhyay, A., Ghosh, S. 2016. Exposure of composite tannery effluent on snail, *Pila globosa*: A comparative assessment of toxic impacts of the untreated and membrane treated effluents. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 126: 45-55.
- Ceyhun, S.B., Aksakal, E., Kirim, B., Atabeyoglu, K., Erdogan, O. 2012. Chronic Toxicity of Pesticides to the mRNA Expression Levels of Metallothioneins and Cytochrome P450 1A Genes in Rainbow Trout. *Toxicology and Industrial Health*. 28(2): 162-169.
- Coeurdassier, M., Saint-Denis, M., Gomot-de Vaufléury, A., Ribera, D., Badot, P.M. 2001. The garden snail (*Helix aspersa*) as a bioindicator of organophosphorus exposure: effects of dimethoate on survival, growth, and acetylcholinesterase activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20(9): 1951-1957.
- Erdogan, O., Ceyhun, S.B., Ekinici, D., Aksakal, E. 2011. Impact of Deltamethrin Exposure on mRNA Expression Levels of Metallothionein A, B and Cytochrome P450 1A in Rainbow Trout Muscles. *Gene*. 484(1-2): 13-17.
- Ghaderi, A.A., Abduli, M.A., Karbassi, A.R., Nasrabadi, T., 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*. 6(2): 565-570.
- Grosell, M., Gerdes, R.M., Brix, K.V. 2006. Chronic toxicity of lead to three freshwater invertebrates- *Brachionus calyciflorus*, *Chironomus tentans*, and *Lymnaea stagnalis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 25(1): 97-104.
- Hamidipoor, F., Banaee, M., Pourkhabbaz, H., Javanmardi, S. 2015a. Synergistic effects of sub-lethal concentrations of deltamethrin on lead acetate toxicity in Japanese Quail (*Coturnix japonica*). *Journal of Chemical Health Risks*. 6(1): 9-22.
- Hamidipoor, F., Pourkhabbaz, H.R., Banaee, M., Javanmardi, S. 2015b. Sub-lethal toxic effects of deltamethrin on blood biochemical parameters of Japanese quail, *Coturnix japonica*. *Toxicological & Environmental Chemistry*. 97(9): 1217-1225.
- Honrubia, P.M., Paz Herráez, M., Alvarez, R. 1993. The carbamate insecticide ZZAphox induced structural changes of gills, liver, gall-bladder, heart, and notochord of *Rana perezi* tadpoles. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 25: 184-191.
- Ibrahim, A.M., Ahmed, A.K., Bakry, F.A., Abdel-Ghaffar, F. 2018. Hematological, physiological and genotoxicological effects of Match 5% EC insecticide on *Biomphalaria alexandrina* snails. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 147: 1017-1022.
- Kamel, N., Jebali, J., Banni, M., Ben Khedher, S., Chouba, L., Boussetta, H. 2012. Biochemical responses and metals levels in *Ruditapes decussatus* after exposure to treated municipal effluents. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 82: 40-46.
- Khalil, A.M. 2015. Toxicological effects and oxidative stress responses in freshwater snail, *Lanistes carinatus*, following exposure to chlorpyrifos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 116: 137-142.
- Laznik, Z., Mihicinic, M., Rupnik, J., Vidrih, M., Prsa, I., Trdan, S. 2010. Testing the efficacy of different substances against Arion slugs (*Arionidae*) under laboratory conditions. *Acta Agriculturae Slovenica*. 95(2): 129-140.
- Leomanni, A., Schettino, T., Calisi, A., Gorbi, S., Mezzelani, M., Regoli, F., Lionetto, M.G. 2015. Antioxidant and oxidative stress related responses in the Mediterranean land snail *Cantareus apertus* exposed to the carbamate pesticide Carbaryl. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 168: 7-20.
- Macías-Mayorga, D., Laiz, I., Moreno-Garrido, I., Blasco, J. 2015. Is oxidative stress related to cadmium accumulation in the Mollusc *Crassostrea angulata*? *Aquatic Toxicology*. 161: 231-241.
- Mansour, S.A., Hassan, T.M. 1993. Pesticides and *Daphnia*. 3. An analytical bioassay method, using *Ceriodaphnia quadrangula*, for measuring extremely low concentrations of insecticides in waters. *Int. J. Toxicol. Occup. Environmental Health*. 2: 34-39.
- Mobasher, M., Aramesh, K., Aldavoud, S.J., Ashrafganjooei, N., Divsalar, K., Phillips, C.J.C., Larijani, B. 2008. Proposing a National Ethical Framework for Animal Research in Iran. *Iranian Journal Public Health*. 37(1): 39-46.

- Nasuti, C., Falcioni, M.L., Nwankwo, I.E., Cantalamessa, F., Gabbianelli, R. 2008. Effect of permethrin plus antioxidants on locomotor activity and striatum in adolescent rats. *Toxicology*. 251: 45-50.
- Nasuti, C., Gabbianelli, R.M., Falcioni, L., Di Stefano, A., Sozio, P., Cantalamessa, F. 2007. Dopaminergic system modulation, behavioral changes, and oxidative stress after neonatal administration of pyrethroids. *Toxicology*. 229: 194-205.
- Nematdoost Haghi, B., Banaee, M. 2017. Effects of micro-plastic particles on paraquat toxicity to common carp (*Cyprinus carpio*): biochemical changes. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 14(3): 521-530.
- Nouri, J., Arjmandi, R., Bayat, H. 2000. Ecological investigation of application of pesticides in rice fields. *Iran Journal Public Health*. 29(4): 137-146.
- OPP-EEDB. 2000. Office of Pesticide Programs Pesticide Ecotoxicity Database (Formerly: Environmental Effects Database (EEDB). Environmental Fate and Effects Division. US Government Printing Office, Washington, DC.
- Radwan, M.A., El-Gendy, K.S., Gad, A.F. 2010. Biomarkers of oxidative stress in the land snail, *Theba pisana* for assessing ecotoxicological effects of urban metal pollution. *Chemosphere*. 79(1): 40-46.
- Ruelas-Insunza, J.R., Pa'ez-Osuna, F. 2000. Comparative bioavailability of trace metals using three filter-feeder organisms in a subtropical coastal environment (Southeast Gulf of California). *Environmental Pollution*. 107: 437-444.
- Skandrani, D., Gaubin, Y., Vincent, C., Beau, B., Murat, J.C., Soleilhavoup, J.P. 2006. Relationship between toxicity of selected insecticides and expression of stress proteins (HSP, GRP) in cultured human cells: effects of commercial formulations versus pure active molecules. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1760: 95-103.
- Silva, C.O., Simões, T., Novais, S.C., Pimparel, I., Granada, L., Soares, A.M., Lemos, M.F. 2017. Fatty acid profile of the sea snail *Gibbula umbilicalis* as a biomarker for coastal metal pollution. *Science of the Total Environment*. 586: 542-550.
- Siscar, R., Koenig, S., Torreblanca, A., Sole, M. 2013. The role of metallothionein and selenium in metal detoxification in the liver of deep-sea fish from the NW Mediterranean Sea. *Science of the Total Environment*. 466-467: 898-905.
- Syberg, K., Elleby, A., Pedersen, H., Cedergreen, N., Forbes, V.E. 2008. Mixture toxicity of three toxicants with similar and dissimilar modes of action to *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 69: 428-436.
- USEPA. 2009. Registration Review Document for Glyphosate. Report no. EPA-HQ-OPP-2009-0361. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency. pp. 1-16.
- Vera-Candioti, J., Natale, G., Soloneski, S., Ronco, A.E., Larramendy, M.L. 2010. Sublethal and lethal effects on *Rhinella arenarum* (Anura, Bufonidae) tadpoles exerted by the pirimicarb-containing technical formulation insecticide Aficida1. *Chemosphere*. 78: 249-255.
- Wan, R., Meng, F., Fu, W., Wang, Q., Su, E. 2015. Biochemical responses in the gills of *Meretrix meretrix* after exposure to treated municipal effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 111: 78-85.
- WHO. 1976. Pirimicarb. IPCS. Geneva, Switzerland: World Health Organization. pp. 1-51.
- Widenfalk, A., Svensson, J.M., Goedkoop, W. 2004. Effects of the pesticides captan, deltamethrin, isoproturon, and pirimicarb on the microbial community of a freshwater sediment. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 23: 1920-1927.
- Wood, C.M., Farrell, A.P., Brauner, C.J. 2012a. Homeostasis and Toxicology of Essential Metals: Fish Physiology. Vol. 31A. Amsterdam: Academic Press. pp. 1-520.
- Wood, C.M., Farrell, A.P., Brauner, C.J. 2012b. Homeostasis and Toxicology of Non-Essential Metals: Fish Physiology. Vol. 31B. Amsterdam: Academic Press. pp. 1-531.
- Wright David, A., Welbourn, P. 2002. Environmental toxicology, Cambridge university press, Cambridge. U.K. <http://go.mining.com/apr08-a3>.
- Zheng, S., Zhou, Q., Gao, J., Xiong, H., Chen, C. 2012. Behavioral alteration and DNA damage of freshwater snail *Bellamya aeruginosa* stressed by ethylbenzene and its tissue residue. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 81: 43-8.