



تأثیر سمیت مزمن حشره کش دیازینون بر شاخص‌های رشد، بقاء و فعالیت‌های فیزیولوژیکی آرتمیای دریاچه ارومیه (*Artemia urmiana*)

سوننا قمرشناس^۱، بهروز آتشبار کنگرلوئی^{۲*}، کوروش سروی مغانلو^۳، احمد ایمانی^۳، مجتبی پوراحمد انزابی^۴

۱. کارشناسی ارشد گروه شیلات و آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲. دانشیار گروه اکولوژی و مدیریت ذخایر آبی، پژوهشکده آرتیمیا و آبزی پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳. دانشیار گروه شیلات و آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۴. دانشجوی دکتری گروه شیلات و آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۰۱

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر سمیت مزمن حشره کش دیازینون به عنوان یکی از پرمصرف‌ترین سموم مورد استفاده در زمین‌های زراعی و باغ‌های اطراف دریاچه ارومیه، بر شاخص‌های رشد، بقاء، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و گوارشی در گونه *Artemia urmiana* صورت گرفت. ابتدا LC₅₀ حشره کش دیازینون برای مراحل مختلف سنی آرتیمیا شامل ناپلی، متاناپلی و بالغین در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۹۶ با استفاده از آزمون پروبیت سنجش شد. LC₅₀ دیازینون برای ناپلی در ساعت‌های عنوان شده به ترتیب ۲۳/۷۶۹، ۰/۹۹۲ و ۰/۰۰۸، برای متاناپلی ۲/۲۳۱، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۰۲ و برای بالغین ۰/۹۱۹، ۰/۰۳۸ و ۰/۰۰۷ میلی گرم بر لیتر به دست آمد. برای بررسی اثر سمیت مزمن حشره کش دیازینون بر شاخص‌های زیستی، *A. urmiana* در قالب ۴ تیمار کنترل، ۲۵ درصد LC₅₀، ۵۰ درصد LC₅₀ و ۱۰۰ درصد LC₅₀ به مدت ۱۵ روز پرورش داده شد. شاخص‌های رشد و درصد بقاء در روزهای ۸، ۱۱ و ۱۵ و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و گوارشی کل زی توده آرتیمیاها در انتهای دوره سنجش شدند. بیشترین مقدار رشد و بقاء در تیمار کنترل و کمترین آن‌ها در تیمار ۱۰۰ درصد LC₅₀ مشاهده شد ($P < 0.05$). فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای ۲۵ درصد LC₅₀ و ۵۰ درصد LC₅₀ کاهش یافت ($P < 0.05$). فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گلوکاتانیون پراکسیداز نیز در تیمارهای ۲۵ درصد LC₅₀ و ۵۰ درصد LC₅₀ در مقایسه با تیمار ۱۰۰ درصد LC₅₀ کاهش یافت ($P < 0.05$). بین تیمارهای مختلف در فعالیت آنزیم‌های آلکالین پروتئاز و لیپاز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز با افزایش غلظت دیازینون کاهش یافت ($P < 0.05$). به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که دیازینون باعث کاهش رشد و بقاء در *A. urmiana* خواهد شد و اثرات منفی بر فعالیت آنزیمی دارد. با توجه به نتایج پژوهش حاضر جهت حفظ این گونه، استفاده از حشره کش دیازینون در مناطق اطراف دریاچه ارومیه بایستی کنترل شده باشد.

واژگان کلیدی: دیازینون، رشد، بقاء، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و گوارشی، *Artemia urmiana*



Effect of chronic toxicity of diazinon insecticide on growth, survival and physiological activities of Urmia Lake Artemia (*Artemia urmiana*)

Sona Ghamarshenas¹, Behrooz Atashbar Kangarloei^{2*}, Kourosh Sarvi Moghanlou³, Ahmad Imani³, Mojtaba Pourahad Anzabi⁴

1. M.Sc. Graduate, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Urmia, Urmia, Iran

2. Associate Professor, Department of Ecology and Aquatic Stocks Management, Artemia and Aquaculture Research Institute, University of Urmia, Urmia, Iran

3. Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Urmia, Urmia, Iran

4. Ph.D. Student, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Urmia, Urmia, Iran

Received: 22-Nov-2022

Accepted: 18-Mar-2023

Abstract

This study was carried out with the aim of investigating the effect of diazinon insecticide chronic toxicity as one of the most widely used poisons used in agricultural lands and gardens around Lake Urmia on growth, survival, antioxidant and digestive enzyme activity indices of *Artemia urmiana*. First, the LC₅₀ of diazinon insecticide for different age stages, including nauplii, post larvae and adults, were measured at 24, 48 and 96 hours using the probit analysis. The LC₅₀ of diazinon for nauplii 23.769, 0.992, 0.008, post larvae 2.231, 0.015, 0.002 and adults 0.919, 0.038, 0.007 (mg/l) were obtained. To investigate the effect of chronic toxicity of diazinon, *A. urmiana* was cultured in the form of 4 treatments, control, 25% LC₅₀, 50% LC₅₀ and 100% LC₅₀ for 15 days. The growth and survival indices were measured on days 8, 11 and 15, and the activity of antioxidant and digestive enzymes of the biomass were measured at the end of the period. The highest amount of growth and survival was observed in the control treatment and the lowest in the 100% LC₅₀ treatment ($P < 0.05$). The activity of superoxide dismutase decreased in 25% LC₅₀ and 50% LC₅₀ treatments ($P < 0.05$). The activities of catalase and glutathione peroxidase enzymes also decreased in the 25% LC₅₀ and 50% LC₅₀ treatments compared to the 100% LC₅₀ treatment ($P > 0.05$). There was no significant difference between different treatments in the activity of alkaline protease and lipase enzymes ($P < 0.05$). Alpha-amylase enzyme activity decreased with increasing diazinon concentration ($P > 0.05$). In general, it can be concluded that diazinon reduces growth and survival in *A. urmiana* and has negative effects on enzyme activities. According to the results of the present research, in order to preserve this species, the use of diazinon insecticide in the areas around Lake Urmia should be controlled.

Keywords: Diazinon, Growth, Survival, Antioxidant and Digestive enzymes, *Artemia urmiana*

۱. مقدمه

بی‌مهرگان آبی، حشرات شکارچی و یا انگل‌ها سمی است (Coupe *et al.*, 2000; Samadi *et al.*, 2019) براساس اطلاعات منطقه‌ای، دیازینون جزء پرمصرف‌ترین سموم مورد استفاده فعالیت‌های کشاورزی در استان آذربایجان غربی و زمین‌های زراعی و باغات اطراف دریاچه ارومیه می‌باشد. این حشره‌کش غیر سیستمیک، تماسی، گوارشی و تنفسی از گروه سموم ارگانوفسفره بوده و مهارکننده آنزیم کولین استراز در سیستم عصبی اند. دیازینون با داشتن قابلیت نفوذ در لایه‌های واکسی بافت‌های گیاهی، طیف وسیعی از آفات جونده و مکنده در باغات را به‌خوبی کنترل می‌کند (Mohiseni *et al.*, 2008). این سم پس از استفاده به‌راحتی شسته شده و به‌مقدار قابل توجهی وارد محیط‌های آبی می‌شود (Aydın and Köprücü, 2005). دیازینون با تأثیر عمومی بر موجودات غیر هدف نظیر بی‌مهرگان و ماهیان، خطرات زیست‌محیطی فوق‌العاده زیادی به‌دنبال دارد (Köprücü *et al.*, 2006).

آرتمیا یک سخت‌پوست-ژئوپلانکتون بوده و توزیع جغرافیایی گسترده‌ای دارد و گونه‌های این جنس با شرایط غیرمعمول سازگار می‌شوند. آرتمیا توانایی تحمل شوری در حد کم تا شوری اشباع را دارد (Libralato, 2014). بنابراین در محیط‌هایی مانند دریاچه‌های آب شور، مرداب‌های ساحلی، چاه‌های آب شور و منابع آبی که آب آن‌ها تبخیر و شوری آن زیاد شده است، دیده می‌شود (Nunes *et al.*, 2006). با توجه به اینکه آرتمیا همانند سایر ژئوپلانکتون‌ها مثل کوپه‌پودها و دافنی‌ها به‌عنوان غذای زنده در تغذیه لارو ماهیان و سایر آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرد، نقش مهمی در انتقال انرژی زنجیره غذایی در محیط‌های آبی ایفا می‌کند (Ates *et al.*, 2013a; Ates *et al.*, 2013b; Gamberdella *et al.*, 2014). از طرفی، گونه‌های مختلف آرتمیا به‌عنوان مدل آزمایشگاهی در بررسی سمیت فلزات سنگین و آفت‌کش‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. چرخه زندگی کوتاه و تولید نتاج زیاد در طول دوره زندگی و نیاز غذایی کم در کل دوره آزمایش، منجر به گسترش مطالعات زیستی روی این آبی شده است. در

امروزه آفت‌کش‌ها در کشاورزی و برای کنترل آفات در جنگل‌ها، محیط‌های آبی و نیز برای حفظ سلامت بشر و حیوانات بکار می‌روند. جمعیت روبه رشد بشر و محدود بودن نهاده‌های تولید، کشاورزان را ناگزیر از کاربرد آفت‌کش‌های مختلف برای جلوگیری از کاهش محصول در اثر عوامل ناخواسته کرده است (Zand *et al.*, 2002). این ترکیبات به طیفی از مواد شیمیایی اطلاق می‌شوند که برای موجودات زنده خاصی که از نظر انسان مزاحم هستند، کشنده است. انواع حشره‌کش‌ها، علف‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها و سموم جونده‌کش در این گستره تعریف می‌شوند. گسترش مصرف آفت‌کش‌ها سبب ورود بخش قابل توجهی از آن‌ها به محیط‌های آبی شده است (Aydın and Köprücü, 2005; De Prado *et al.*, 2012). در ایران نیز مقدار مصرف آفت‌کش‌های پرخطر بالا می‌باشد. دیازینون، ساپروترین، پاراکوات، کلرپیریفوس و گلايفوزیت پرمصرف‌ترین آفت‌کش‌های مصرفی در کشور هستند (Zand *et al.*, 2002). البته امروزه آفت‌کش‌هایی مدنظر مصرف هستند که باقی‌مانده آن‌ها کم، حلالیت آن‌ها در آب پایین و قابلیت جذب آن‌ها در خاک بیشتر باشد (Pimentel *et al.*, 2005). اکوسیستم‌های آبی به‌عنوان بزرگترین بخش محیط طبیعی همواره با تهدیدهایی نظیر آلودگی با سموم آفت‌کش مواجه هستند (Mansingh and Wilson, 1995). این آلودگی‌ها از دو طریق کاربرد مستقیم در اکوسیستم‌های آبی و دیگری در اثر استفاده غیرمستقیم مانند انتقال جوی و زهکش زمین‌های کشاورزی وارد منابع آبی می‌شوند. هنگامی که محیط‌های آبی توسط آفت‌کش‌ها آلوده می‌شوند، اثرات زیانبار آن‌ها پایه‌های اصلی زنجیره غذایی یعنی فیتوپلانکتون‌ها و ژئوپلانکتون‌ها را مورد تهدید جدی قرار می‌دهد (Kardavani, 2005).

دیازینون یکی از مهم‌ترین آفت‌کش‌های ارگانوفسفره می‌باشد و به‌عنوان یک آفت‌کش پایدار (با نیمه عمر ۱۷۱ روز در دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد) به شدت برای ماهی‌ها،

سانتی‌گراد، نور و هوادهی مناسب) در ظروف ته‌مخروطی تخم‌گشایی شدند. سپس برای تهیه آرتیمیا با سنین مختلف جهت انجام مراحل آزمایش، تعداد ۵۰۰ عدد ناپلی (لارو اینستار I) شمارش‌شده و جهت پرورش به ظروف ته‌مخروطی حاوی ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب دریاچه ارومیه با شوری ۸۰ گرم در لیتر منتقل شدند (در ۴ تکرار). برای تهیه آب نمک از نمک دریاچه ارومیه استفاده گردید. دمای محیط پرورش در حدود ۲۸ درجه سانتی‌گراد تنظیم و ظروف ته‌مخروطی به کمک پیپت پلاستیکی و لوله‌های هوادهی از ته ظروف هوادهی شدند (Ates et al., 2013a).

۲.۲. تعیین غلظت متوسط کشنده (LC₅₀)

حشره‌کش دیازینون در مراحل مختلف رشد آرتیمیا به‌منظور مشخص کردن محدوده سمیت، ابتدا آزمایش مقدماتی در مرحله سنی آرتیمیا انجام گردید. مدت آزمایش ۲۴ ساعت و روی ۳۰ عدد آرتیمیا در سه تکرار بود (Lan and Lin, 2005). پس از اتمام آزمایش و براساس نتایج مقدماتی، ۸ غلظت از حشره‌کش دیازینون در بازه به‌دست آمده و براساس تصاعد هندسی انتخاب شدند (Barahona and Sanchez-Fortun, 1999). بعد از آماده‌سازی غلظت‌های مختلف، تعداد ۲۰ عدد از ناپلی، متاناپلی و ۱۰ عدد آرتیمیای بالغ به ظروف ۱۰۰ سی‌سی منتقل شده (۵ تکرار برای هر غلظت) و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و دوره ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری و در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت تعداد تلفات شمارش شدند. سپس مقدار عددی LC₅₀ حشره‌کش دیازینون برای مدت زمان ۹۶ ساعت براساس آزمون پروبیت (Probit Analysis Test) محاسبه شد (Mohiseni et al., 2008).

۳.۲. بررسی اثر سمیت مزمن حشره‌کش

دیازینون بر شاخص‌های زیستی آرتیمیا

بدین‌منظور براساس نتایج مرحله قبل، از غلظت LC₅₀ ۹۶ ساعت در مراحل مختلف زیستی آرتیمیا (ناپلی،

بیشتر این مطالعات، آرتیمیا در معرض دوره‌های کوتاه (۴۸-۲۴ ساعت) یا طولانی (۱۴ روز)، قرار می‌گیرد و توانایی هیچ شدن سیستم‌ها، تولید زی‌توده، توانایی تولید مثل، میزان مصرف اکسیژن و رفتارهایی مثل سرعت شنای آن‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرد (Gambardella et al., 2014). محققین متعددی اثر طیف مختلفی از مواد شیمیایی مثل آرسنیک (Brix et al., 2003)، کادمیوم، کروم (Leis et al., 2014)، مس (Brix et al., 2006)، جیوه (Leis et al., 2014)، نانو مواد (Libralato, 2014)، علف‌کش‌ها، حشره‌کش‌ها، آفت‌کش‌ها (Varó et al., 1998, 2002) و فاضلاب‌ها (Krishnakurmar et al., 2007) را روی آرتیمیا مورد بررسی قرار داده‌اند. آن‌ها گزارش کردند که شدت اثر این ترکیبات در ارتباط با نوع آلاینده، میزان سمیت، غلظت مورد استفاده و گونه آرتیمیایا بودند. نتایج اکثر این مطالعات نشان داد که این ترکیبات بر تکامل لاروی، رشد، بقاء، تولید مثل، تغییرات ریخت‌شناسی و نرخ مصرف اکسیژن تأثیر داشتند.

با این وجود در مورد سمیت حاد و مزمن آفت‌کش‌ها بر *Artemia urmiana* اطلاعاتی چندانی وجود ندارد. بنابراین با توجه به احتمال ورود پساب مزارع کشاورزی و انواع آفت‌کش‌ها به منابع آبی، همچنین به‌دلیل نبود اطلاعات کافی در مورد سمیت حشره‌کش دیازینون بر *Artemia urmiana*، پژوهش حاضر با هدف مطالعه اثر سمیت حاد و مزمن حشره‌کش دیازینون به‌عنوان یکی از آفت‌کش‌های پرمصرف در مزارع اطراف دریاچه ارومیه، بر رشد، بقاء و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و گوارشی این گونه طراحی و انجام شد.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تخم‌گشایی آرتیمیا

این پژوهش آذر ماه ۱۴۰۱ در آزمایشگاه بیولوژی پژوهشکده آرتیمیا و آبی‌پروری دانشگاه ارومیه انجام گرفت. بدین‌منظور، سیستم آرتیمیا تحت شرایط متعارف (آب شور ۳۵ گرم در لیتر، دمای ۲۸-۲۷ درجه

سانتریفیوژ هموزنه‌ها جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده شد. سنجش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوکاتیون پراکسیداز (GPX) براساس روش توصیه‌شده توسط Yazdanparast و همکاران (۲۰۰۸) صورت گرفت. برای سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی بدن آرمیا از تمامی تیمارها در انتهای دوره پرورش نمونه‌برداری شد. سپس آرمیاها با آب مقطر شست‌وشو و توزین شدند. نمونه‌ها در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. به‌منظور تهیه عصاره‌های خام آنزیمی از محلول نمکی فیزیولوژیکی برای همگن‌سازی نمونه‌ها استفاده شد. پس از سانتریفیوژ هموزن‌ها از مایع رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی آلکالین پروتئاز، لپاز و آلفا آمیلاز براساس روش توصیه شده توسط Eshghi و همکاران (۲۰۱۵) استفاده شد.

۶.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

نرمال بودن داده‌ها و یکنواختی واریانس‌ها به‌ترتیب با استفاده از آزمون‌های شاپیروویک و لون بررسی و داده‌های حاصل با استفاده از تجزیه واریانس یک‌طرفه تحلیل شدند. تمام تجزیه و تحلیل‌ها در محیط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ صورت پذیرفت و سطح خطای نوع اول در آزمون‌ها ۰/۰۵ انتخاب شد. همچنین نتایج به‌صورت Mean±SE گزارش و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۰ استفاده شد.

۳. نتایج

۱.۳. غلظت متوسط کشنده (LC₅₀)

نتایج مربوط به غلظت متوسط کشنده حشره‌کش دیازینون در مدت زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت به‌همراه مراحل مختلف زندگی آرمیای دریاچه ارومیه شامل ناپلی، متاناپلی و بالغ در جدول ۱ ارائه شده است.

متاناپلی و بالغ) میانگین گرفته شده و به‌عنوان LC₅₀ برای کل دوره پرورش آرمیا در نظر گرفته شد. ۴ تیمار آزمایشی به‌ترتیب صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد از غلظت LC₅₀ جهت مطالعه اثر وجود غلظت‌های تحت‌کشنده حشره‌کش دیازینون در محیط پرورش آرمیا تا روز ۱۵ (مرحله بلوغ) مورد استفاده قرار گرفت. طی این مدت آرمیاها با جلبک *دونالیلا سالینا* (*Dunaliella salina*) تغذیه شدند (Coutteu, 1996; Agh et al., 2008).

۴.۲. بررسی رشد و بقا

رشد آرمیا (طول بدن از سر تا انتهای بند شکمی) در روزهای ۸، ۱۱ و ۱۵ پرورش بعد از تثبیت در محلول لوگول توسط میکروسکوپ مجهز به میکرومتر چشمی و لام مدرج بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری و نتایج از نظر آماری مورد مقایسه قرار گرفت. با توجه به محدودیت کاربرد میکروسکوپ در اندازه‌گیری طول آرمیا در مراحل پایانی، از دستگاه استریومیکروسکوپ ترسیم و دستگاه دیجیتالیزر جهت اندازه‌گیری‌ها استفاده شد (Agh et al., 2008). همچنین درصد بقا نیز در روزهای ۸، ۱۱ و ۱۵ پرورش با توجه به تعداد آرمیاهای زنده در محیط پرورش نسبت به کل آرمیاهای روز اول، تعیین گردید. در طول دوره پرورش بخشی از آب ظروف پرورشی تعویض و غلظت حشره‌کش دیازینون به همان نسبت تأمین شد. در این مرحله تعداد آرمیاها در هر تیمار به‌صورت جداگانه شمارش و نهایتاً به‌صورت درصد بقا بیان شد (Rahimi et al., 2010).

۵.۲. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و گوارشی

در انتهای دوره پرورش از آرمیاها نمونه‌برداری و جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و گوارشی به آزمایشگاه بیوشیمی و فیزیولوژی آبیان پژوهشکده آرمیا و آبی‌پروری دانشگاه ارومیه منتقل شدند. برای تهیه عصاره خام آنزیمی آرمیاها به قطعات کوچک تقسیم و در بافر تریس-کلریدریک و با استفاده از هموزنایزر، همگن شدند. سوپرناتانت حاصل پس از

جدول ۱- نتایج غلظت متوسط کشنده (LC₅₀) حشره کش دیازینون (میلی گرم بر لیتر)

مدت زمان (ساعت)	ناپلی	متاناپلی	بالغ
۲۴	۲۳/۷۶۹	۲/۲۳۱	۰/۹۱۹
۴۸	۰/۹۹۲	۰/۰۱۵	۰/۰۳۸
۹۶	۰/۰۰۸	۰/۰۰۲	۰/۰۰۷

۲.۳. رشد و بقا

آزمون مقایسه میانگین‌های شاخص رشد برای روزها و تیمارهای مختلف پرورشی در جدول ۲ آورده شده است. براساس این نتایج در روز ۸ پرورش اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$). بیشترین رشد در این مرحله در تیمار ۱ (کنترل) و کمترین آن در تیمار ۲ (۲۵ درصد LC₅₀ حشره کش دیازینون) به ثبت رسید. مشابه همین روند در روز ۱۱ پرورش نیز اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$). البته در

این مرحله بیشترین و کمترین رشد به ترتیب در تیمارهای ۳ (۵۰ درصد LC₅₀ حشره کش دیازینون) و ۲ (۲۵ درصد LC₅₀ حشره کش دیازینون) مشاهده شد. بررسی این نتایج برای روز ۱۵ پرورش نشان داد که تیمار ۱ با تیمارهای ۳ و ۴ (۱۰۰ درصد LC₅₀ حشره کش دیازینون) اختلاف معنی‌داری داشت ($P \leq 0.05$). همچنین تیمار ۲ با تیمار ۴ دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P \leq 0.05$). بیشترین رشد در این مرحله در تیمار ۱ و کمترین آن در تیمار ۴ مشاهده شد.

جدول ۲- مقایسه شاخص رشد (طول آرتیمیا بر حسب میلی‌متر) برای روزها و تیمارهای مختلف پرورشی، (Mean±SE, n=3)

تیمار	۸	۱۱	۱۵
۱ (کنترل)	۴/۹۷±۰/۳۳ ^a	۷/۲±۰/۸۴ ^a	۱۱/۶۵±۰/۸۸ ^a
۲ (۲۵ درصد)	۳/۷۵±۰/۱۱ ^a	۶/۶۵±۰/۲۴ ^a	۱۰/۶۴±۰/۳ ^{ab}
۳ (۵۰ درصد)	۴/۵۵±۰/۵۲ ^a	۷/۲۹±۰/۶۴ ^{ab}	۹/۲۵±۰/۴۲ ^{bc}
۴ (۱۰۰ درصد)	۳/۹۷±۰/۳۷ ^a	۶/۶۹±۰/۳۵ ^a	۷/۸۳±۰/۳۲ ^c

حروف غیر یکسان در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.

نتایج آزمون مقایسه میانگین‌های مربوط به شاخص درصد بقا در روزها و تیمارهای مختلف پرورشی (جدول ۳) نشان داد که در روز ۸ پرورش تیمارهای ۱ (کنترل) و ۲ (۲۵ درصد LC₅₀ حشره کش دیازینون) با تیمارهای ۳ (۵۰ درصد LC₅₀ حشره کش دیازینون) و ۴ (۱۰۰ درصد LC₅₀ حشره کش دیازینون) دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($P \leq 0.05$). بیشترین و کمترین درصد بقا در این مرحله به ترتیب در تیمارهای ۱ و ۳ مشاهده شد. براساس این نتایج برای روز ۱۱ پرورش تیمار ۱ با تیمارهای ۲، ۳

و ۴ اختلاف معنی‌داری داشت ($P \leq 0.05$). همچنین بین تیمار ۲ با تیمار ۳ نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P \leq 0.05$). در این مرحله بیشترین درصد بقا در تیمار ۱ و کمترین آن در تیمار ۳ به ثبت رسید. همچنین بررسی این نتایج نشان داد که در روز ۱۵ پرورش بین تیمارهای ۱ و ۲ با تیمارهای ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P \leq 0.05$). برای این مرحله بیشترین و کمترین درصد بقا به ترتیب در تیمارهای ۱ و ۴ مشاهده شد.

جدول ۳- مقایسه شاخص درصد بقاء برای روزها و تیمارهای مختلف پرورشی، (Mean±SE, n=3)

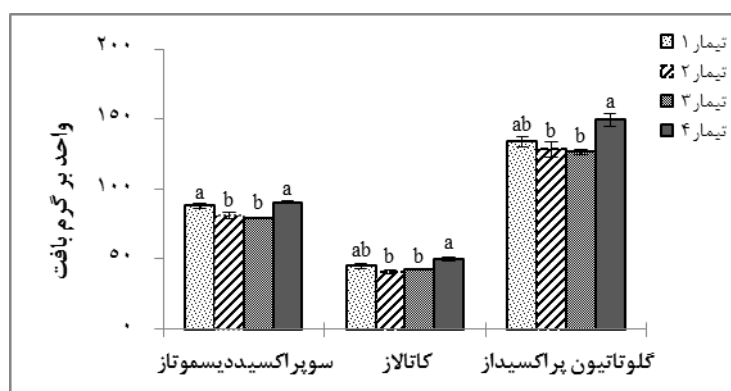
تیمار/ روز	۸	۱۱	۱۵
۱ (کنترل)	۹۷±۱/۳ ^a	۸۲/۴۷±۰/۷۴ ^a	۶۵/۴±۳/۳ ^b
۲ (۲۵ درصد)	۹۰/۲±۷/۴ ^a	۴۶/۵۳±۳/۱۳ ^b	۳۳±۴/۴ ^b
۳ (۵۰ درصد)	۶۰/۴۷±۵/۱ ^b	۲۶±۱/۹۳ ^c	۱۷/۹۳±۱/۱۷ ^a
۴ (۱۰۰ درصد)	۶۶/۸±۴ ^b	۳۰/۸۷±۵/۴۸ ^{bc}	۱۳/۶۷±۲/۰۳ ^a

حروف غیر یکسان در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.

۳.۳. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و گوارشی

نمودار تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (شکل ۱) نشان داد که سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای ۱ (کنترل) و ۴ (۱۰۰ درصد LC_{50} حشره‌کش دیازینون) با تیمارهای ۲ (۲۵ درصد LC_{50} حشره‌کش دیازینون) و ۳ (۵۰ درصد LC_{50} حشره‌کش دیازینون) دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P \leq 0.05$). بیشترین فعالیت این آنزیم در تیمار ۴ و کمترین آن در تیمار ۳

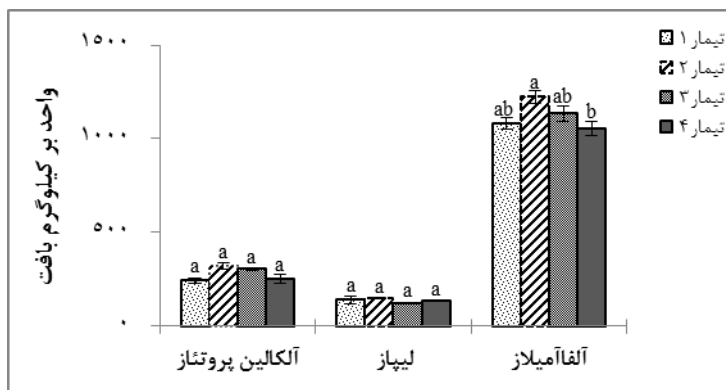
مشاهده شد. براساس این نتایج برای آنزیم کاتالاز بین تیمار ۴ با تیمارهای ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری دیده شد ($P \leq 0.05$). بیشترین و کمترین فعالیت این آنزیم به ترتیب در تیمارهای ۴ و ۲ به ثبت رسید. همچنین مشابه این روند فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نشان داد که تیمار ۴ با تیمارهای ۲ و ۳ دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P \leq 0.05$). بیشترین فعالیت این آنزیم در تیمار ۴ و کمترین آن در تیمار ۳ دیده شد.



شکل ۱- نمودار میانگین تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برای تیمارهای مختلف پرورشی حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است. (Mean±SE, n=3).

(کنترل) و لیپاز در تیمار ۳ (۵۰ درصد LC_{50} حشره‌کش دیازینون) دیده شد. این نتایج نشان داد که در فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بین تیمار ۲ با تیمار ۴ (۱۰۰ درصد LC_{50} حشره‌کش دیازینون) اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P \leq 0.05$). بیشترین و کمترین فعالیت این آنزیم به ترتیب در تیمارهای ۲ و ۴ مشاهده شد.

نمودار تغییرات فعالیت آنزیم‌های گوارشی (شکل ۲) نشان داد که در آنزیم‌های آلکالین پروتئاز و لیپاز اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$). بیشترین فعالیت این آنزیم‌ها در تیمار ۲ (۲۵ درصد LC_{50} حشره‌کش دیازینون) مشاهده شد. همچنین کمترین فعالیت آنزیم‌های آلکالین پروتئاز در تیمار ۱



شکل ۲- نمودار میانگین تغییرات فعالیت آنزیم‌های گوارشی برای تیمارهای مختلف پرورشی حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است (Mean±SE, n=3).

۴. بحث و نتیجه‌گیری نهایی

اکوسیستم‌های آبی به‌عنوان بزرگترین بخش محیط طبیعی، همواره در معرض آلودگی با انواع سموم، مواد شیمیایی و فلزات سنگین هستند (Mansingh and Wilson, 1995). این آلودگی‌های محیطی باعث آسیب‌های فیزیولوژیکی در آبزیان می‌شوند (Libralato, 2014). محققین متعددی در مطالعات مختلفی اثرات این آلودگی‌ها بر آرتمیاها را بررسی کردند. آن‌ها گزارش دادند که شدت اثر این ترکیبات در ارتباط با نوع آلاینده، میزان سمیت، غلظت مورد استفاده و گونه آرتمیاها بودند. نتایج اکثر این مطالعات نشان از تأثیر این ترکیبات بر تکامل لاروی، رشد، بقا، تولید مثل و تغییرات ریخت‌شناسی در این آبزیان داشت (Krishnakumar et al., 2007; Leis et al., 2014).

بررسی روند نتایج مربوط به غلظت متوسط کشنده حشره‌کش دیازینون بر آرتمیای دریاچه ارومیه نشان‌دهنده افزایش حساسیت این آبی با افزایش مدت زمان مواجهه در مراحل ناپلی، متناپلی و بالغین بود. همچنین این نتایج نشان داد که ناپلی‌ها کمترین و پست لارو *Artemia urmiana* بیشترین حساسیت را در برابر حشره‌کش دیازینون از خود نشان دادند. مطالعات انجام شده روی آرتمیا نشان داد که حساسیت نسبت به آلاینده‌های مختلف ارتباط زیادی با مدت زمان مواجهه و

سن دارد (Mohiseni et al., 2008). حساس‌ترین مرحله زیستی نسبت به آلاینده‌ها در آرتمیا فرانسسیسکانا مرحله ناپلی عنوان شد و بعد از این مرحله حساسیت کاهش یافت (Alishahi and Tulaby Dezfuly, 2019). از طرفی، در مطالعه Sanchez-Fortu و همکاران (۱۹۹۵) بر روی *Artemia salina* مقاومت بالای بالغین در مقایسه با متناپلی‌ها در برابر انواع آفت‌کش‌ها گزارش شد. به هر حال پاسخ‌های متنوعی از میزان حساسیت بی‌مهرگان در برابر انواع آلاینده‌ها در سنین مختلف توسط محققین گزارش شده است. برای *Daphnia magna* و میگوی آب‌شیرین *Caridina laevis* عنوان شد که در برابر فلزات سنگین مانند مس و روی و سم دیازینون با افزایش سن تا مرحله بالغ حساسیت افزایش یافت (Muysen and Janssen, 2007, Sucahyo et al., 2007). نرخ پایین متابولیسم در ناپلی‌ها در مقایسه با سنین بالاتر از دلایل حساسیت کمتر در این مرحله است. با افزایش سن و در مرحله متناپلی به‌دنبال نیاز به جذب بیشتر موادغذایی و افزایش شدت فیلتراسیون، جذب آلاینده‌های محیطی و اثرات مخرب احتمالی افزایش می‌یابد (Mohiseni et al., 2008).

بررسی روند تغییرات شاخص رشد مطالعه حاضر نشان داد اگرچه اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف در روزهای ۸ و ۱۱ پرورش مشاهده نگردید، اما با افزایش غلظت حشره‌کش دیازینون سرعت رشد آرتمیا کاهش

آترازین و 2,4-dichlorophenoxy acetic acid باعث افزایش تلفات و کاهش درصد بقاء در *Artemia fransiscana* شد. همچنین بررسی تأثیر نانوذرات نقره بر ناپلی آرتمیای دریاچه ارومیه توسط Alishahi و Heidari (۲۰۱۰) نیز نشان داد که درصد بقاء با افزایش غلظت این آلاینده به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. نتایج این مطالعات با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارند. پیشتر عنوان شده بود که افزایش غلظت آلاینده‌ها در محیط زندگی موجودات با اختلال و آسیب بر اندام‌های حیاتی بدن باعث تلفات می‌شوند (Aggarwal et al., 2013). البته برخی محققین اینگونه بیان کردند که با تأثیر سمیت مزمن آلاینده‌ها بر اعمال حیاتی موجودات و افزایش تلفات، کاهش تراکم در محیط اتفاق افتاده و به‌دنبال آن کاهش مصرف اکسیژن و کاهش محدودیت تغذیه‌ای باعث زنده‌مانی سایر افراد جمعیت می‌شود (Tylor et al., 1998).

روند تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز با افزایش غلظت حشره‌کش دیازینون تا ۵۰ درصد LC₅₀ کاهش یافت. البته در غلظت ۱۰۰ درصد LC₅₀ فعالیت این آنزیم‌ها افزایش داشت. روند کاهشی در غلظت‌های پایین و افزایشی در غلظت بالای حشره‌کش دیازینون در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار بود. در مطالعه Gambardella و همکاران (۲۰۱۴) بررسی اثر سمیت اکسید قلع (SnO₂) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی *Artemia salina* نشان داد که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گلوکاتایون اس‌ترانسفراز در مواجهه با این سم کاهش یافت. مشابه همین نتایج در مورد سایر موجودات با آلاینده‌های مختلف گزارش شده است، که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارند (Okolie and Osobase, 2005; Federici et al., 2007). کاهش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در مواجهه با غلظت‌های پایین دیازینون را می‌توان در جهت حذف رادیکال‌های آزاد و فرآیند خنثی‌سازی بیان نمود (Rumley and Paterson, 1998).

یافت. البته در مواجهه بلند مدت و در روز ۱۵ پرورش این تغییرات به‌صورت معنی‌داری مشاهده شد. از طرفی با افزایش غلظت حشره‌کش دیازینون اثرات کاهشی بر رشد آرتمیای مشهود بود. نتایج مطالعات متعددی نشان‌دهنده اثرات سموم مختلف بر کاهش رشد در گونه‌های مختلف آرتمیای بودند، که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارند (Varó et al., 1998, 2002; Brix et al., 2003; Brix et al., 2006). در مطالعه Asadpour و همکاران (۲۰۱۲) تأثیر سمیت نیکل و وانادیوم بر گونه‌های *Artemia urmiana* و *Artemia fransiscana* بررسی و نتایج به‌دست آمده نشان داد که این فلزات نیز در روزهای ۵، ۷ و ۱۱ پرورش باعث کاهش رشد در آرتمیای شدند. در این مطالعه، اختلال و تغییر در رفتار تغذیه‌ای و همچنین پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی موجود در مواجهه با آلاینده‌ها از عوامل کاهش رشد بیان شد. رفتار تغذیه‌ای آرتمیای به‌عنوان یک آبی فیلترکننده در برابر تغییرات محیطی و حضور آلاینده‌ها و سموم بسیار حساس بوده و در صورت حضور عوامل استرسی در محیط زندگی منجر به پاسخ‌های فیزیولوژیکی و تغذیه‌ای می‌شود (Kasumyan, 2000). از طرفی، ماهیت اثر آلاینده‌ها آسیب و اختلال در عملکرد اندام‌ها بوده و از این طریق باعث کاهش سرعت رشد در آبزیان می‌شوند (Aggarwal et al., 2013).

بررسی روند تغییرات شاخص درصد بقاء در مطالعه حاضر نشان داد که در روزهای ۸، ۱۱ و ۱۵ پرورش با افزایش غلظت دیازینون این شاخص کاهش یافت. البته تأثیر غلظت ۲۵ درصد LC₅₀ در روزهای ۸ و ۱۵ در کاهش شاخص درصد بقاء غیرمعنی‌دار بود. برای روز ۱۱ پرورش نیز کاهش این شاخص در غلظت ۱۰۰ درصد LC₅₀ در مقایسه با غلظت ۵۰ درصد LC₅₀ به‌صورت غیرمعنی‌دار بود. با این حال در تمامی مراحل سنی *Artemia urmiana* با افزایش غلظت حشره‌کش دیازینون، کاهش درصد بقاء مشاهده شد. نتایج بررسی غلظت آفت‌کش‌های پاراکوات، تری‌فلورالین، گلیفوزیت،

رویاریویی با نقره، و اثر نیکل بر کاهش فعالیت آلفا آمیلاز صدف سبز (*Perna viridis*) گزارش شدند (Sabapathy and Teo, 1992; Zambare and Mahajan, 2004; Le Bihan *et al.*, 2001). با این حال، در مطالعه Imani و همکاران (۲۰۱۷) آنزیم‌های گوارشی (آلکالین پروتئاز، لیپاز و آلفا آمیلاز) بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره حاوی سم آفلاتوکسین ب ۱ 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 (Applebaum *et al.*, 2001; Imani *et al.*, 2008; Marchioro *et al.*, 2013). آلاینده‌ها با آسیب در بافت‌ها، بر مسیر ساخت و ترشح آنزیم‌ها تأثیر می‌گذارند. از طرفی با حضور سموم و عوامل تنش‌زا اشتهاى آبیان کاهش یافته و میزان ترشح آنزیم‌های گوارشی دست‌خوش تغییر می‌شود (Suzer *et al.*, 2006).

۵. نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج به‌دست آمده از این مطالعه می‌توان چنین بیان نمود که حشره‌کش دیازینون در تمامی مراحل زندگی و در غلظت‌های مختلف باعث کاهش درصد بقاء در *A. urmiana* می‌شود. این سم بیشترین تأثیر در شاخص رشد را با افزایش مدت زمان مواجهه بر روی بالغین دارد. همچنین حشره‌کش دیازینون سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و سطح ترشح آنزیم گوارشی آلفا آمیلاز در *A. urmiana* را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

با توجه به اینکه این آنزیم اولین سد دفاعی در برابر رادیکال‌های آزاد است، با افزایش غلظت دیازینون و افزایش شرایط استرسی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آرمیا تحریک و فعالیت این آنزیم افزایش یافت (Lemon-Pacheco and Gonsebatt, 2009). مشابه همین روند در فعالیت آنزیم کاتالاز نیز مشاهده شد. این آنزیم متابولیت‌های تولیدشده توسط سوپراکسید دیسموتاز را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند و سطح فعالیت آن مرتبط با فعالیت سوپراکسید دیسموتاز تغییر می‌کند (Aebi, 1984). گلووتاتیون پراکسیداز آخرین آنزیمی است که در جهت فرآیند ضد اکسایشی فعال می‌شود. در مطالعه حاضر افزایش سطح فعالیت این آنزیم در غلظت بالای دیازینون مشابه آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز، نشان‌دهنده تحریک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آرمیا برای حذف زنجیره رادیکالی است (Schneider *et al.*, 2005).

در مطالعه حاضر تغییری در سطح فعالیت آنزیم‌های گوارشی آلکالین پروتئاز و لیپاز مشاهده نشد، اما آنزیم آلفا آمیلاز در غلظت ۲۵ درصد LC₅₀ دیازینون به‌صورت غیرمعنی‌دار افزایش و با افزایش غلظت حشره‌کش دیازینون فعالیت این آنزیم کاهش یافت. البته آلکالین پروتئاز نیز در مواجهه با سطوح مختلف غلظت دیازینون افزایش غیرمعنی‌داری داشت. نتایج مختلفی از تغییرات فعالیت آنزیم‌های گوارشی آبیان در مواجهه با آلاینده‌ها توسط محققین گزارش شده است. کاهش فعالیت آنزیم‌های گوارشی صدف آب شیرین (*Corbicula striatella*) در مواجهه با مس و جیوه، کاهش آنزیم آلکالین پروتئاز ماهی مرکب (*Sepia officinalis*) در

۵. منابع

References

- Aebi, H., 1984. Catalase invitro. *Methods Enzymology* 105, 121-126.
- Aggarwal, V., Deng, X., Tuli, A., Goh, K.S., 2013. Diazinon- chemistry and environmental fate: A California perspective. In: Whitacre D.M. (Ed.). *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* Springer USA 223, 107-140.

- Agh, N., Van Stappen, G., Razavi Rouhani, S.M., Sorgeloos P., 2008. Life cycle characteristics of *Artemia* populations from Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 11(6), 854-61.
- Alishahi, M., Heidari, B., 2010. Investigating the toxicity of silver nanoparticles in Urmia lake *Artemia*. *Journal of Modern Veterinary Research* 8(2), 49-54. (In Persian).
- Alishahi, M., Tulaby Dezfuly, 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.
- Applebaum, S.L., Perez, R., Lazo, G.P., Holt, G.L., 2001. Characterization of chymotrypsin activity during ontogeny of larval red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Fish Physiology and Biochemistry* 25(4), 291-300.
- Asadpour, Y.A., Nejatkhah Manavi, P., 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.
- Ates, M., Daniels, J., Arsalan, Z., Farahi, 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(1), 225-233.
- Ates, M., Daniels, J., Arsalan, z., Farahi, I.O., 2013b. Effects of aqueous suspensions of titanium dioxide nanoparticles on *Artemia salina* assessment of nanoparticle aggregation, accumulation and toxicity. *Environmental Monitoring and Assessment* 85(4), 3339-3348.
- Aydın, R., Köprücü, K., 2005. Acute toxicity of diazinon on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. *Pesticide biochemistry and physiology* 82(3), 220-225.
- Barahona, M.V., Sanchez-Fortun, S., 1999. Toxicity of carbamates to the brine shrimp *Artemia salina* and the effect of atropine, BW284c51, iso-OMPA and 2-PAM on carbaryl toxicity. *Environmental Pollution* 104(3), 469-476.
- Brix, K.V., Cardwell, R.D., Adams, W.J., 2003. Chronic toxicity of arsenic to the Great Salt Lake brine shrimp, *Artemia franciscana*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 54(2), 169-175.
- Brix, K.V., Gerdes, R.M., Adams, W.J., 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(4), 580-583.
- Coutteu, P., 1996. Micro- algae in: manual on the production and use of the live food for aquaculture, Lavens, P., Sorgeloos, P. (Eds), 1 st Edn pp: 9-60.
- Coupe, R.H., Manning, M.A., Foreman, W.T., Goolsby, D.A., 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.
- De Prado, R., Jorrín, J., García-Torres, L. eds., 2012. Weed and crop resistance to herbicides. Springer Science & Business Media.
- Eshghi, S., Noori, F., Imani, A., Agh, N., 2015. The effects of substituting *Dunaliella salina* algae with agricultural by-products and probiotic *Lactobacillus rhamnosus* on growth indices, proximate body composition and fatty acids profiles of *Artemia franciscana*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 26(1), 207-213. (In Persian)
- Federici G., Shaw B. J., 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.
- Gambardella, C., Mesaric, T., Milivojevic, T., Sepcic, K., Gallus, L., Cabone, S., Ferrando, S., 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.

- Imani, A., Bani, M.S., Noori, F., Farzaneh, M., 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(2017), 160-167.
- Imani, A., Yazdanparast, R., Farhanghi, M., Bakhtiari, M., Majazi, A.B., Saljioghi, S.Z., 2008. Investigating the activity of digestive enzymes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during the period of food deprivation and re-feeding. *Journal of Marine Sciences and Techniques* 8(3,4), 24-33. (In Persian)
- Kardavani, P., 2005. Geohydrology. *Tehran universty* 3, PP 1-367. (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.
- Köprücü, S.Ş., Köprücü, K., Ural, M.Ş., İspir, Ü., Pala, M., 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(2), 99-105.
- Krishnakumar, P.K., Dineshbabu, A.P., Sasikumar, G., Bhat, G.S., 2007. Toxicity evaluation of treated refinery effluent using brine shrimp (*Artemia salina*) eggs and larval bioassay. *Fishery Technology* 44, 85-92.
- Lan, C.H., Lin, T.S., 2005. Acute toxicity of trivalent thallium compounds to *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 61(3), 432-435.
- Le Bihan, E., Perrin, A., Koueta, N., 2004. Development of a bioassay from isolated digestive gland cells of the Cuttlefish *Sepia officinalis* L. (Mollusca, Cephalopoda): effect of Cu, Zn and Ag on enzyme activities and cell viability. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 309(1), 47-66.
- Leis, M., Manfra, L., Taddia, L., Chicca, M., Trentini, P., Savorelli, F., 2014. A Comparative toxicity study between an autochthonous *Artemia* and a non-native invasive species. *Ecotoxicology* 23 (6), 1143-1145.
- Libralato, G., 2014. The case of *Artemia* spp. In nanoecotoxicology. *Marine environmental research* 101, 38-43.
- Limon-Pacheco, J., Gonsebatt, 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(1-2), 137-47.
- Mansingh, A., Wilson, A., 1995. Insecticide Contamination of Jamaican Environment Iii. Baseline Studies on the Status of Insecticidal Pollution of Kingston Harbor. *Marine Pollution Bulletin* 30(10), 640-645.
- Marchioro, A., Mallmann, A.O., Diel, A., Dilkin, P., Rauber, R.H., Blazquez, F.J.H., Oliveira, M.G.A., Mallmann, C.A., 2013. Effects of aflatoxins on performance and exocrine pancreas of broiler chickens. *Avian Diseases* 57(2), 280-284.
- 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)
- Muysen, B.T.A., Janssen, C.R., 2007. Age and exposure duration as a factor influencing Cu and Zn toxicity toward *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 68(3), 436-442.
- Nunes, B.S., Carvalho, F.D., Guilhermino, L.M., Stappen, G.V., 2006. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. *Environmental pollution* 144, 453-462.
- Okolie, N.P., Osobase, S., 2005. Cataractogenic potential of cyanide-induced oxidative stress in rabbits. *Global Journal of Pure and Applied Sciences* 11(1), 57-62.
- Pimentel, D., 2005. Environmental and economic costs of the application of Pesticide Primarily in United States Environment. *Development and Sustainability* 7(2), 229-252.

- Rahimi, B., Nejatkhah, M.P., 2010. LC₅₀ and bioaccumulation of Cd in different life Stages of *Artemia urmiana*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 20(1), 53-64. (In Persian)
- Rumley, A.G., Paterson, J.R., 1998. Analytical aspects of antioxidants and free radical activity in clinical biochemistry. *Annals of Clinical Biochemistry* 35, 181-200.
- Sabapathy, U., Teo, L.H., 1992. A kinetic study of the α -amylase from the digestive gland of *Perna viridis* L. *Comparative Biochemistry and Physiology* 101(1-2), 73-77.
- Samadi, H., Javadian, S.R., 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. (In Persian)
- Sanchez-Fortun, S., Sanz, F., Barahona, M.V., 1995. Acute toxicities of selected insecticides to the aquatic arthropod *A. salina*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 54(1), 76-82.
- Schneider, C. D., Barp, J., Ribeiro, J. L., Bello, K. A., Oliveira, A. R., 2005. Oxidative stress after three different intensities of running. *The Canadian Journal of Applied Physiology* 30(6), 723-34.
- Sucahyo, D., van Straalen, N.M., Krave, A., Van Gestel, C.A.M., 2007. Acute toxicity of pesticides to the tropical freshwater shrimp *Caridina laevis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 69(3), 421-427.
- Suzer, C., Saka, S., 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.
- Taylor, G., Baird, D.J., Soares, A.M., 1998. Surface binding of contaminants by algae: consequences for lethal toxicity and feeding to *D.magna*. *Environmental Toxicology Chemistry* 17(3), 412-419.
- Varó, I., Serrano, R., Navarro, J.C., López, F.J., 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.
- Varó, I., Navarro, J.C., Amat, F., Guilhermino, L., 2002. Characterisation of cholinesterases and evaluation of the inhibitory potential of chlorpyrifos and dichlorvos to *Artemia salina* and *Artemia parthenogenetica*. *Chemosphere* 48(6), 563-569.
- Yazdanparast, R., Bahramikia, S., Ardestani, A., 2008. *Nasturtium officinale* reduces oxidative stress and enhances hyper cholesterolaemic rats. *Chemico- Biological Interactions* 172(3), 176-184.
- Zambare, S.P., Mahajan, A.Y., 2001. Heavy metal (copper and mercury) induced alterations in the enzyme secretory activity of hepatopancreas of a freshwater bivalve *Corbicula striatella*. *Pollution Research* 20(1), 143-146.
- Zand, E., Baghestani, M.A., Shimi, P., Faghih, S.A., 2002. Analysis of herbicide management in Iran. *Pest and Plant Diseases Research Institute*. pp: 1-32. (In Persian)

