5th Iranian Congress of Trace Elements
20 – 22 Dec 2016
Tarbiat Modares University
پنجمین کنگره عناصر کمیاب ایران
۳۰ آذرماه تا ۲ دیماه ۱۳۹۵
دانشگاه تربیت مدرس

مقایسه غلظت موثر سمی آلومینیم ، مس و روی به صورت محلول در آب در ناپلی آرتمیا (*Artemia franciscana*)

فرهاد کرمانی [۱]، عیسی ابراهیمی [۲]، سارا کریمی [۳]، یزدان کیوانی [۴]، پدرام ملک پوری [۵]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

[۲] دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

[۳] دانشجوی کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

[۴] دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

[۵] دکترای تخصصی بهداشت و بیماری‌های آبزیان

چکیده

طی دهه‌های گذشته غلظت ترکیبات فلزی مانند آلومینیم، مس و روی در بسیاری از اکوسیستم‌های آب شیرین و شور افزایش یافته است. مطالعات اندکی در خصوص سمیت فلزات بر جوامع ساکن در آب شور انجام شده است. مطالعه حاضر جهت تعیین اثرات سمی آلومینیم به‌صورت نمک کلرید ($AlCl_3$)، مس به‌صورت نمک سولفات ($CuSO_4.5H_2O$)، روی به‌صورت کلرید ($ZnCl_2$) بر تحرک و بقا ناپلی تازه هچ شده آرتمیا (*Artemia franciscana*) طراحی و انجام پذیرفت. به این منظور از پروتکل OECD 202 جهت تعیین غلظت موثر (EC_{50}) فلزات استفاده شد و عدم تحرک (Immobilization) آرتمیا به‌عنوان شاخص تاثیرگذاری فلز، مورد بررسی قرار گرفت. ناپلی‌های تازه هچ شده آرتمیا به‌مدت ۴۸ ساعت در معرض غلظت‌های مشخص از هریک از فلزات آلومینیم (صفر(شاهد)، ۲۸/۱۷، ۸۷/۲۴، ۸۵/۲۹، ۸۲/۳۵، ۹۸/۴۲، ۵۸/۵۱، ۹/۶۱، ۲۷/۷۴، ۱۲/۸۹، ۹۴/۱۰۶، ۳۲/۱۲۸، ۹۹/۱۵۳و ۷۹/۱۸۴µg/l)، روی (صفر(شاهد)، ۵۵/۳۲۶۳، ۲۶/۳۹۱۶، ۵۱۲/۴۶۹۹، ۲۹/۶۷۶۷ و ۷۵/۸۱۲۰ µg/l) و مس (صفر(شاهد)، ۹۸/۱۷۱، ۳۷/۲۰۶، ۶۵/۲۴۷، ۱۸۱/۲۹۷، ۶۱۷/۳۵۶، ۹۴/۴۲۷، ۵۲/۵۱۳، ۲۳/۶۱۶، ۴۸/۷۳۹و ۳۷/۸۸۷ µg/l) قرار گرفتند. به این منظور، ۱۰ قطعه ناپلی تازه هچ شده (Instar I) به ظروف ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی آب با شوری ۳۵ قسمت در هزار معرفی شده و غلظت‌های تعیین شده به آنها اضافه گردید. عدم تحرک ناپلی‌ها در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج EC_{50}-48hبرای سه فلز آلومینیم، روی و مس به‌ترتیب برابر با ۳۵۳/۸۷ µg/l، ۳۸۰/۵ mg/l و ۴۴۰/۰ mg/lبه‌دست آمد. محدوده اطمینان ۹۵درصدی EC_{50}-48hبرای آلومینیم برابر با ۲۹۳/۸۹– ۴۱۲/۸۵، برای روی برابر با ۰۷/۶– ۰۷۹/۰۴ و برای مس ۵۲۶/۰– ۳۵۴/۰برآورد گردید. درمجموع، نتایج به‌دست آمده حاکی از سمیت

بیشتر آلومینیم و در جایگاه‌های بعدی مس و روی بر ناپلی تازه هچ شده آرتمیا است. بنابراین با توجه به ضروری بودن فلز مس و روی، در مواقع غنی‌سازی ناپلی آرتمیا به‌منظور تغذیه آبزیان پرورشی می‌بایست دقت بسیاری نسبت به افزایش غلظت آن در محیط آب مبذول داشت.

کلمات کلیدی: عناصر کمیاب، *Oreochromis niloticus*، LC_{50}

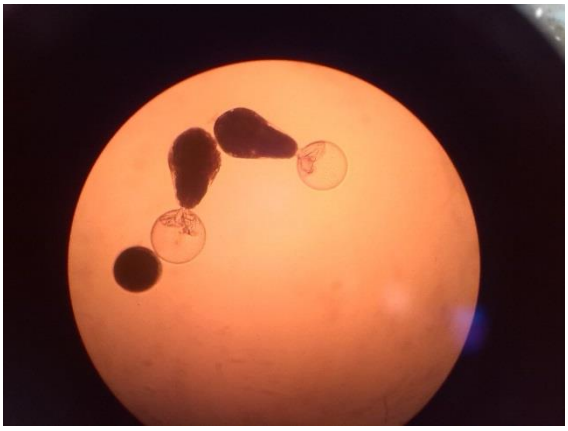
مقدمه

آلومینیم فراوان ترین عنصر در محیط می‌باشد که در کمترین غلظت می‌تواند برای آبزی خطرساز باشد. فلزاتی همچون روی و مس در یک غلظتی معین به عنوان عناصر ضروری برای رشد مطرح هستند(Watanabe et al. 1997). به عنوان مثال روی از جمله المنت هایی است که در رشد، تکامل و سلامت استخوان در لارو ماهی نقش بسزایی دارد(Ma & Yamaguchi 2001)، اما اکثر مواقع به دلیل غلظت بیش از حد باعث اختلال در آبزی می‌شوند. این عناصر به دلیل فعالیت های انسانی مانند پسماندهای صنعتی و غیره به اکوسیستم های آبی وارد شده است(Bu-Olayan & Thomas 2004). بسیاری از بی مهرگان آبزی می‌توانند میزان بالایی از فلزات را جذب و تحمل کنند. در سال های اخیر تست های سمی شناسی تکامل زیادی پیدا کرده است به گونه ای که از شاخص های زنده جهت آزمایشات و ارزیابی استفاده می‌شود. تست های سمی شناسی برای یک گونه ناپلی اغلب با تعیین EC50 مشخص می‌شود (غلظتی از یک ماده که منجر به عدم تحرک و مرگ ۵۰٪ از افراد گروه می‌شود) (Artoxkit 2014). گونه آرتمیا به عنوان یک مدل معمول برای آزمایشات اکوتوکسیکولوژی استفاده می‌شود (Chapman 2007). آرتمیا از مصرف کنندگان اولیه در زنجیره غذایی می‌باشد که از بین کلیه غذاهای زنده معمول تر و منبع غذایی مهم در تغذیه آبزیان به شمار می‌آید(Migliore et al. 1997) . تست های سمیت کوتاه مدت به طور وسیع برای مطالعات استفاده می‌شود ولی در ۱۰ سال اخیر پروتکل‌های طولانی مدت نیز مورد استفاده قرار گرفته است. با توجه به تأثیر آلودگی ها بر ارگانیسم های آبزی و از سویی دیگر اهمیت فلزات این تحقیق در نظر دارد تا میزان غلظت موثره این سه فلز را مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش ها

به منظور انجام این مطالعه سیست آرتمیا(*Artemia franciscana*) خریداری و برای آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. سیست ها در آب با شوری ۳۵g/l در دمای ۲۵±۵/۰ °C طی ۲۴ ساعت هوادهی و بعد از هچ تیماربندی گردید(شکل۱) و پارامتر های کیفی آب(pH، اکسیژن محلول و شوری) در طول آزمایش اندازه گیری شد(جدول ۱). ناپلی‌های تازه هچ شده به‌مدت ۴۸ ساعت در معرض غلظت‌های مشخص از هریک از فلزات آلومینیم (صفر(شاهد)، ۲۸/۱۷، ۸۷/۲۴، ۸۵/۲۹، ۸۲/۳۵، ۹۸/۴۲، ۵۸/۵۱، ۹/۶۱، ۲۷/۷۴، ۱۲/۸۹، ۹۴/۱۰۶، ۳۲/۱۲۸، ۹۹/۱۵۳و ۷۹/۱۸۴µg/l)، روی (صفر(شاهد)، ۵۵/۳۲۶۳، ۲۶/۳۹۱۶، ۵۱۲/۴۶۹۹، ۲۹/۶۷۶۷ و ۷۵/۸۱۲۰ µg/l) و مس (صفر(شاهد)، ۹۸/۱۷۱، ۳۷/۲۰۶، ۶۵/۲۴۷، ۱۸۱/۲۹۷، ۶۱۷/۳۵۶، ۹۴/۴۲۷، ۵۲/۵۱۳، ۲۳/۶۱۶، ۴۸/۷۳۹و ۳۷/۸۸۷ µg/l) قرار گرفتند. به این منظور، ۱۰ قطعه ناپلی تازه هچ شده (Instar I) به ظروف ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی آب با شوری ۳۵ قسمت در هزار معرفی شده و غلظت‌های تعیین شده به آنها اضافه گردید. در طول آزمایش

هوادهی به دلیل عدم امکان پذیری صورت نگرفت. تلفات در طی ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت برای هر تیمار ارزیابی شد. ناپلی ها در صورتیکه بعد از ۱۰ ثانیه حرکت نداشتند به عنوان تلفات ثبت می‌شدند(Alyuruk 2013). در پایان بعد از ثبت تلفات با استفاده از آنالیز پروبیت EC50 برای هر فلز محاسبه گردید.



شکل۱- ناپلی هچ شده در مرحله (Instar I)

جدول ۱- خصوصیات فیزیکو شیمیایی آب

	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت
مرحله لاروی	Nauplii I stage	Nauplii II–III stage
نوع آزمایش	static	static
دما(°C)	۲۵±۵/۰	۲۵±۵/۰
دوره نوری(ساعت نور به ازای روز)	۱۲:۱۲	۱۲:۱۲
شوری(PSU)	۳۵	۳۵
سختی($mg/l\ CaCO_3$)	>۲۰۰۰	>۲۰۰۰

>۶۰	>۶۰	اکسیژن محلول٪
ساخته شده	ساخته شده	آب محیط هچ

نتایج

با توجه به نتایج هیچ گونه تلفاتی در گروه کنترل مشاهده نشد. در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد با افزایش غلظت فلزات، میزان تلفات افزایش پیدا کرد. جدول ۲ میزان EC_{50} به ترتیب برای سه فلز آلومینیم،روی و مس است. نتایج نشان داد که میزان سمیت آلومینیم نسبت به فلز روی و مس بیشتر می‌باشد.

جدول ۲- EC_{50}سه فلز آلومینیم، روی و مس بر اساس آنالیز پروبیت

غلظت موثر فلز	محدوده اطمینان ۱۹۵٪	EC_{50}-24h	محدوده اطمینان ۱۹۵٪	EC_{50}-48h
روی (mg/l)	۶۲۸/۹-۷۵۵/۶	۱۸۹/۸	۰۷/۶-۰۷۹/۴	۳۸۰/۵
مس (mg/l)	۸۸۶/۰-۶۲۶/۰	۷۵۶/۰	۵۲۶/۰-۳۵۴/۰	۴۴۰/۰
آلومینیم (µg/l)	۴۹/۱۴۰-۲۱۸/۱۳۶	۳۵۸/۱۳۸	۲۹۳/۸۹-۴۱۳/۸۵	۳۵۳/۸۷

بحث و نتیجه گیری

از سال ۱۹۸۰ سیست آرتمیا در کارهای توکسیکولوژی مورد استفاده قرار گرفته است. (Marcel et al.2014)میزان غلظت سمی روی برای آرتمیا را $100mg.l^{-1}$ تعیین نمود. طبق مطالعه (Nagarajan *et al.* 2014)میزان EC_{50} ۹۶ ساعته آلومینیم برای ناپلیوس *Artemia parthenogenetica* ۱۴/۴۵۳ µg/l مشخص شد. در این مطالعه ناپلیوس‌هایی که در معرض سمیت آلومینیم قرار گرفته بودند در مراحل بعدی دارای هم‌آوری و رشد کمتری نسبت به گروه شاهد بودند. (Thonga-ar *et al.* 2003)گزارش کردند که ناپلیوس می‌تواند غلظت های بالایی از فلزات سنگین را تحمل و جذب

نمایند. ولی زمانیکه در معرض آلودگی های محیطی قرار می گیرد با کاهش بقا روبرو و حتی تولید سیست های آلوده می کند که برای آبزیان مضر می‌باشد مطالعه حاضر نشان می‌دهد که با افزایش غلظت سه فلز بقا در ناپلی کاهش می‌یابد.

منابع

Alyuruk, H., Demir, G.K., Cavas, L., 2013. A video tracking based improvement ofacute toxicity test on Artemia salina. Mar. Freshw. Behav. Physiol. 46, 251–266.

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

Bu-Olayan, A.H., Thomas, B.V. 2004. Effects of trace metals, harmful algal blooms, nutrients and hydrological variables to mullet *Liza klunzingeri* in Kuwait Bay. *Biosci. Biotech. Res. Asia.,* 2(1): 1 8.

Chapman, P.M., 2007. Determining when contamination is pollution – weight ofevidence determinations for sediments and effluents. Environ. Int. 33, 492–501.

Ma, Z.J., Yamaguchi, M., 2001. Role of endogenous zinc in the enhancement of bone protein synthesis associated with bone growth of newborn rats. J. Bone Miner.Metab. 19, 38–44. Marcel F, Michaela S, Jaroslav L., 2014. Effects of heavy metals and pesticides on survival of *Artemia franciscana*. ACTA VET. BRNO. 83: 95–99.

Migliore, L., Civitareale, C., Brambilla, G., Dojmi di Delupis, G., 1997. Toxicity ofseveral important antibiotics to Artemia. Water Res. 31, 1801–1806.

S.Nagarajan1*, S.L.Sasikala2, S.Kulandaivel1 and R.Prakash1., 2014. Toxic effects of AlCl3 on Biochemical profile and fecundity of brine shrimp (*Artemia parthenogenetica*). *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* (2014) 3(12): 268-275.

Thonga-ar, W., Parkpian, P., Tang, A. 2003. Toxicity of mercury to growth and survival of seabass larvae, *Lates calcarifer* and the modifying effects of salinity. *Sci. Asia.,* 29: 209 219.

T. Watanabe, V. Kiron, and S. Satoh, Trace minerals in fish nutrition, *Aquaculture* 151, 185-207 (1997).