

تعیین LC50 و بررسی تغییرات سطوح پروتئین *Artemia urmiana* در غلظت های مختلف نیکل و کبالت

چکیده

در این مطالعه اثر فلزات سنگین کبالت و نیکل بر LC50 و پروتئین *Artemia urmiana* در سال ۱۳۸۹ مورد بررسی قرار گرفت. ناپلیوس ها به مدت ۶ روز در غلظت های مورد نظر پرورش یافتند. برای غذادهی از جلبک کلرلا و مخمر استفاده شد. درجه حرارت در طول پرورش ۲۸ - ۲۰ درجه سانتی گراد، شوری ۲۸ قسمت در هزار و نوردهی ۱۲:۱۲ (تاریکی: روشنائی) بود. پس از ۶ روز آرتمیایها برای سنجش پروتئین برداشته شدند. مقادیر پروتئین در مجاورت غلظت های مختلف کبالت و نیکل اختلاف معنی داری را نشان دادند ($P \leq 0.05$). بیشترین میزان پروتئین در مجاورت کبالت متعلق به غلظت ۴۱ میلی گرم در لیتر و برابر با ۳/۱۳ درصد و در مجاورت نیکل در غلظت ۱۶۷ میلی گرم در لیتر و برابر با ۱۴/۹۰ درصد بود. میزان LC5024h آرتمیا در مجاورت فلز کبالت ۴۰۳/۷ میلی گرم در لیتر و در مجاورت فلز نیکل ۳۸۴ میلی گرم در لیتر محاسبه شد.

واژگان کلیدی: کبالت، *Artemia urmiana*، LC50، نیکل.

فرناز رفیعی^۱

آریا اشجع اردلان^۲

زهرا کمالی^{۳*}

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، استادیار گروه

بیولوژی دریا، تهران، ایران

۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، دانشیار گروه

بیولوژی دریا، تهران، ایران

۳. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، دانش آموزخته

کارشناسی ارشد بیولوژی دریا، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات:

kamali.za64@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۰/۶/۱۲

تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۱/۱۵

مقدمه

افزایش فعالیت های توسعه انسانی به ویژه در جوامع صنعتی و فوق صنعتی با تولید و هدایت پساب های حاوی محصولات صنعتی به آب های سطحی و تحت الارضی حیات آبریان را به مخاطره انداخته است (Seebaugh et al., 2004).

فلزات سنگین به عنوان یکی از مهم ترین آلاینده های محیطی مطرح هستند که از طرق مختلف به محیط زیست وارد شده و منجر به افزایش میزان سطح فلزات سنگین در آب های زیرزمینی، جاری و خاک شده و به دنبال آن تجمع این فلزات را در فرآورده های دامی و گیاهان خواهیم داشت که علاوه بر آسیب های جدی بر سلامت و حیات این موجودات، آن ها را برای انسان مخاطره آمیز ساخته است. این فلزات توسط پیکر موجودات متابولیزه نشده، تجمع پیدا می کنند، جایگزین دیگر املاح معدنی مورد نیاز بدن شده و موجب بروز بیماری می گردند.

فلز سنگین نیکل به طور طبیعی در DNA و RNA وجود دارد، باعث تثبیت ساختمان اسیدهای نوکلئیک می شود، مولکول هایی

مانند استیل کوآنزیم A را فعال می کند که افزایش آن به دلیل ماندگاری و قابلیت تجمع زیستی مخاطره آمیز است. نیکل دارای مصارف متنوعی است که از طریق معدنکاری، صنایع ذوب نیکل، تصفیه و سوزاندن باطله های شهری وارد محیط شده و موجب بروز سرطان پوست، سرطان ریه، درمانیت و پوکی استخوان می گردد (ربانی و همکاران، ۱۳۸۷).

کبالت یکی از عناصر تشکیل دهنده ویتامین B₁₂ و برخی آنزیم ها و دارای اثر تجمع پذیری است (ثنایی، ۱۳۷۵). کبالت از طریق سوختن ذغال و نفت، فاضلاب های صنعتی، صنایع ریخته گری و معدنکاری، کارخانجات فرآوری کبالت وارد سیستم های آبی شده و افزایش بیش از حد آن باعث بیماری های ریوی و قلبی، ناراحتی های پوستی و سرطان می گردد (ربانی و همکاران، ۱۳۸۷).

از میان غذاهای زنده ای که برای پرورش آبریان مورد استفاده قرار می گیرند، آرتمیا دارای گستره مصرف وسیعی است. از آرتمیا

عنوان عناصر ضروری در مقادیر آسیب رسان و کشنده روی مرگ و میر و میزان پروتئین آرتمیا اورمیان (Artemia urmiana) بررسی شد.

مواد و روش‌ها

به منظور تخمه‌گشایی سیستم آرتمیا، در شوری ۲۸ قسمت در هزار به میزان ۰/۵ گرم سیستم در لیتر عملیات تخمه‌گشایی استفاده شد (Lavens and Sargeloos, 1996). سپس ناپلیوس‌ها از پوسته و سیستم‌های هج نشده جدا شدند. در بشرهای ۲۵ و ۲۰ سی سی از محلول مورد نظر ریخته و در هر بشر ۲۰ عدد ناپلی قرار گرفت. بشرها برای ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. این آزمایش به غذایی و هوادهی نیاز نداشته، بعد از ۲۴ ساعت تعداد ناپلیوس‌های زنده و مرده شمارش و درصد مرگ و میر آن‌ها محاسبه شد (اکبری حامد، ۱۳۸۳؛ تقی زاده انصاری، ۱۳۸۵؛ Hadjisprou et al., 1990; Gajbhiye Hirota, 2001).

با توجه به تحقیقات انجام شده بر روی اثر سمیت فلزات روی، کادمیوم و مس بر روی آرتمیا اورمیان (تقی زاده انصاری، ۱۳۸۵؛ اکبری حامد، ۱۳۸۳)، بیشترین میزان LC50، ۴۸۰ میلی‌گرم در لیتر در مورد فلز روی بدست آمده است. برای آزمایشات سمیت نیکل و کبالت در این پژوهش غلظت‌های ۰ تا ۴۸۰ میلی‌گرم در لیتر به فواصل مشخص در نظر گرفته شد. در تیمارهای ۴۸۰، ۴۵۹ و ۴۳۸ میلی‌گرم در لیتر (به فواصل ۲۱ میلی‌گرم در لیتر) در هر دو فلز ناپلی‌ها بلافاصله از بین رفتند. بنابراین غلظت‌های ۰ تا ۴۱۶ میلی‌گرم در لیتر برای ادامه کار در نظر گرفته شد.

غلظت‌های مورد استفاده برای فلز کبالت ۰ (شاهد)، ۴۱، ۱۶۶، ۱۰۴، ۲۲۸، ۲۹۱، ۳۵۳، ۳۷۴، ۳۹۵، ۴۱۶ میلی‌گرم در لیتر و برای فلز نیکل ۰ (شاهد)، ۴۱، ۱۰۴، ۱۶۷، ۲۲۹، ۲۹۲، ۳۵۴، ۳۷۵، ۳۹۶ و ۴۱۰ میلی‌گرم در لیتر بود. برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. برای بدست آوردن میزان LC50 از روش probit استفاده شد. به این صورت که یک رابطه رگرسیون بین میزان پروبیت که بر مبنای درصد مرگ و میر آرتمیاها در هر غلظت بدست می‌آید و لگاریتم غلظت فلزات بدست آمد. سپس با قرار

برای تغذیه دکاپودها، میگو و انواع ماهیانی مانند ماهیان خاویاری، قزل‌آلا، کپور و کفال استفاده می‌شود. به دلیل دسترسی این موجودات در پرورش آبزیان، روز به روز به اهمیت این جانوران افزوده می‌شود (اویسی، ۱۳۸۳). آرتمیا مانند سایر موجودات، عناصر کم مقدار را انباشته نموده و سپس آن را به سطوح بالاتر انتقال می‌دهد. بنابراین دانستن رابطه بین آرتمیا و دامنه تحمل آن در مورد فلزات سنگین مختلف و بررسی اثر آلودگی بر روی این گونه ضروری است تا بتوان آن را در برابر خطرات زیست محیطی حفاظت نمود (Gajbhiye and Hirota, 1990).

آرتمیا به عنوان یک جانور آبی دارای مزیت‌های زیادی برای مطالعه میزان آلودگی‌های محیطی است. دسترسی آسان به سیستم، متمایز بودن مراحل زندگی و کشت آن در محیط مصنوعی این امکان را به وجود می‌آورد تا بتوان میزان تاثیر فلزات سنگین را بر روی آرتمیا بررسی نمود. (تقی زاده انصاری، ۱۳۸۵). تحقیقاتی در زمینه تجمع فلزات سنگین روی، کادمیوم، نیکل و سرب در *A. urmiana* (حیدری، ۱۳۸۰)، جذب فلزات سنگین مس و روی توسط *A. urmiana* و *A. fransiscana* (اکبری حامد، ۱۳۸۳)، اثر روی و کادمیوم بر *A. urmiana* (تقی زاده انصاری، ۱۳۸۵)، تجمع و حذف زیستی کادمیوم توسط *A. urmiana* (Rahimi and nejatkah manavi, 2010)، اثر غلظت‌های جیوه روی رشد و بقا و انادیوم روی *A. salina* (Fichet and miramand, 1998) اثر آلودگی قلع، کادمیوم و کروم در *A. fransiscana* (Hadjisprou et al., 2001) و آلودگی آرسنیک بر روی *A. fransiscana* (Brix et al., 2003)، صورت گرفته است. تا کنون اثر فلزات نیکل و کبالت روی میزان مرگ و میر و ترکیبات آلی *A. urmiana* انجام نشده است.

واکنش‌های دفاعی موجودات در معرض فلزات سنگین افزایش پروتئین متالوتئین است که فلزات سنگین را جذب کرده و اثر سمیت آن‌ها را کاهش می‌دهد. بنابراین مطالعه بر روی تغییرات میزان پروتئین در اثر فلزات مختلف از اهمیت خاصی برخوردار است. به همین دلیل، در این تحقیق اثر فلزات نیکل و کبالت به

آب به طور کامل تعویض گردید و فلزات با غلظت مورد نظر دوباره به محیط وارد شدند. برای تأمین غذای آرتمیا از جلبک سبز کلرلا به میزان ۱۵۰ سی سی در روز و از مخمر به عنوان مکمل غذایی استفاده شد (اکبری حامد، ۱۳۸۳). پس از ۶ روز ناپلیوس‌ها برای سنجش پروتئین برداشته شدند.

سنجش پروتئین از روش Folin-Phenol پس از هیدرولیز با 1M NaOH، در ۹۵ درجه سانتی‌گراد براساس روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) انجام شد (Seixas *et al.*, 2009).

در این بررسی از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه جهت مشخص نمودن تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مختلف و از آزمون توکی (Tukey) جهت تعیین حد معنی دار بین تیمارهای مختلف از نرم افزار SPSS و برای ترسیم نمودارها از نرم افزار اکسل استفاده گردید.

نتایج

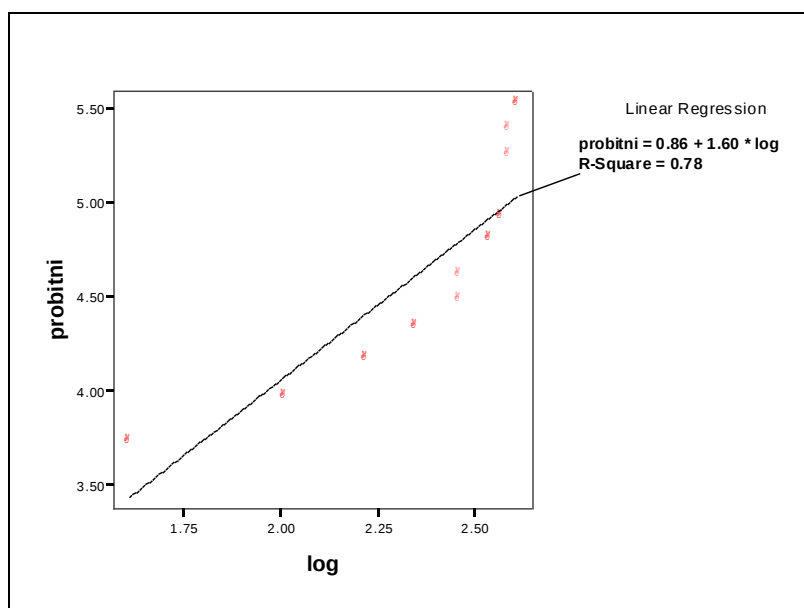
LC50 24h برای *Artemia urmiana* در مجاورت فلز کبالت برابر با ۴۰۳/۷ و برای فلز نیکل برابر با ۳۸۴ میلی‌گرم در لیتر محاسبه گردید (اشکال ۱ و ۲).

دادن عدد ۵ به‌جای پروبیت، لگاریتم غلظتی که در آن ۵۰ درصد موجودات از بین رفته اند محاسبه شده و آنتی لگاریتم آن نشان دهنده میزان غلظت بود.

در آزمایش سنجش پروتئین بیشترین روزهای زنده ماندن ناپلی‌ها از تیمار ۴۱ تا ۲۹۱ میلی‌گرم در لیتر کبالت و ۲۹۲ میلی‌گرم در لیتر نیکل، ۷ روز بود و در غلظت‌های بالاتر در سه روز اول از بین رفتند. بنابراین تیمارهای این آزمایش ۴۱، ۱۶۶ و ۲۹۱ میلی‌گرم در لیتر برای کبالت و ۴۱، ۱۶۷ و ۲۹۲ میلی‌گرم در لیتر برای نیکل در نظر گرفته شد. برای هر غلظت و شاهد ۳ تکرار انجام شد.

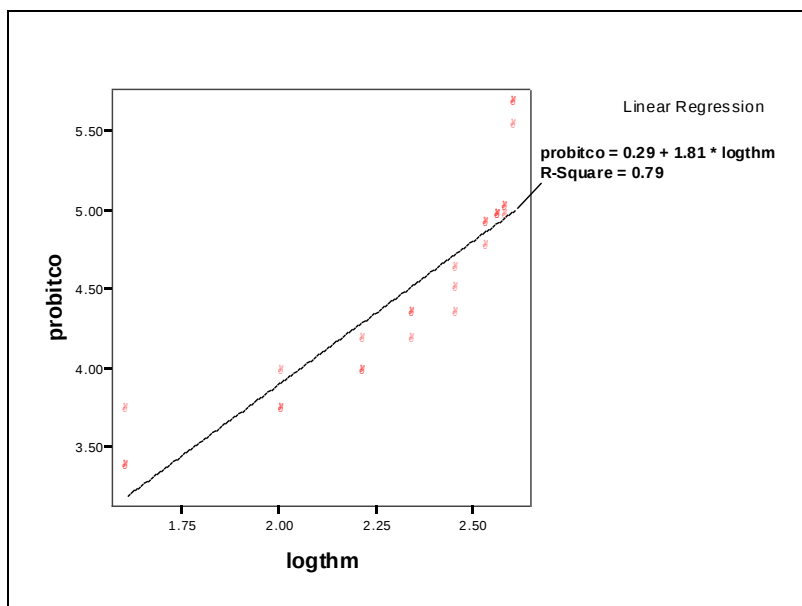
برای هر تیمار ۱ گرم سیست در ۱ لیتر آب نمک ۲۸ قسمت در هزار ریخته شد و بعد از هچ شدن، پوسته‌ها و سیست‌های هچ نشده جدا شده و ناپلیوس‌ها به محیط جدید حاوی غلظت مورد نظر انتقال یافتند (اکبری حامد، ۱۳۸۳).

ناپلیوس‌ها به مدت ۶ روز در محیط‌های حاوی غلظت‌های مورد نظر پرورش یافتند. درجه حرارت در طول پرورش ۲۸-۲۰ درجه سانتی‌گراد و شوری ۲۸ قسمت در هزار بود. برای حفظ pH، در صورت نیاز NaHCO_3 به محیط اضافه شد. در طی مدت پرورش هوادهی مداوم توسط پمپ هوا و به کمک پیپت و لوله‌های هوادهی انجام شد. نوردهی ۱۲:۱۲ ساعته (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) بود و برای حفظ کیفیت آب هر ۲ روز یکبار



شکل ۱: پروبیت تعیین LC50 24h اثر فلز نیکل بر روی آرتمیا اورمیا (Artemia urmiana) در سال ۱۳۸۹

بررسی روابط متقابل برخی شاخص‌های سرمی فیل ماهیان پرورش یافته در...

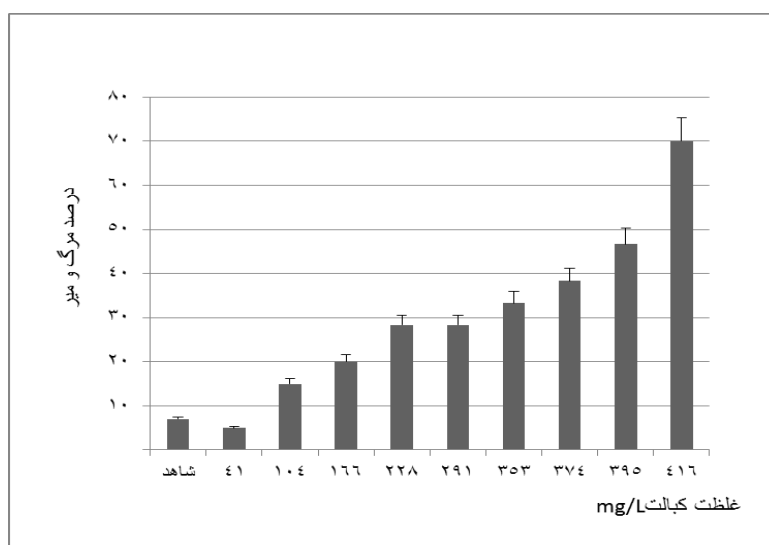


شکل ۲: پروبیت تعیین $Lc_{50} 24h$ اثر فلز کبالت بر روی آرتمیا اورمیان (Aurtemia urmiana) در سال ۱۳۸۹

با افزایش غلظت از ۴۱ تا ۴۱۶ میلی گرم در لیتر درصد مرگ و میر نیز افزایش پیدا کرد. فلز کبالت در غلظت‌های ۴۱ تا ۳۵۳ میلی گرم در لیتر، مرگ و میر کمتر نشان داده و به ۳۳ درصد رسید و در غلظت‌های ۳۷۴ و ۳۹۵ میلی گرم در لیتر، مرگ و میر در حد متوسط (۳۸ درصد و ۴۶ درصد) و در غلظت ۴۱۶ میلی گرم در لیتر مرگ و میر افزایش پیدا کرده و به ۷۰ درصد رسید (شکل ۳).

اثر غلظت‌های مختلف کبالت بر روی درصد مرگ و میر آرتمیا نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$) این اختلاف فقط بین غلظت‌های ۴۱، ۱۰۴ و ۱۶۶ میلی گرم در لیتر معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

بررسی درصد مرگ و میر در غلظت‌های مختلف کبالت نشان داد که در غلظت شاهد ۱۰ درصد مرگ و میر مشاهده شد.



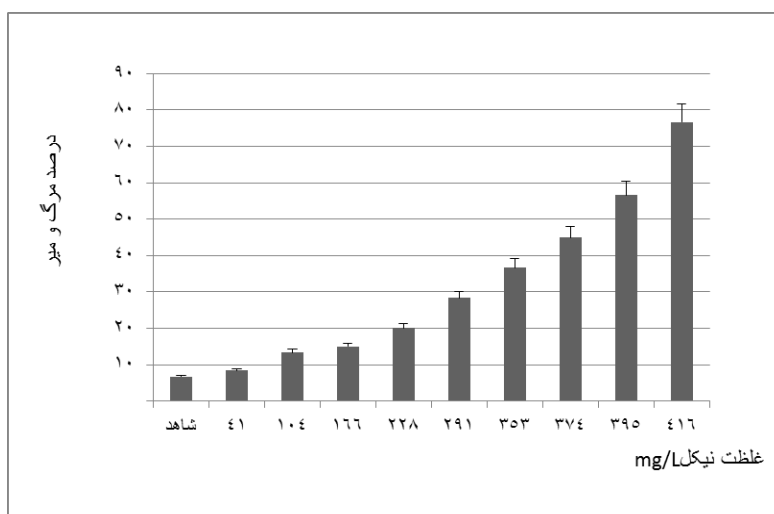
شکل ۳: درصد مرگ و میر آرتمیا اورمیان (Aurtemia urmiana) در غلظت‌های مختلف کبالت در سال ۱۳۸۹ (آنتنک‌ها انحراف معیار را نشان می‌دهند)

اثر غلظت‌های مختلف نیکل بر روی درصد مرگ و میر آرتمیا نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$). این اختلاف فقط در غلظت‌های ۴۱، ۱۰۴، ۱۶۷ و ۲۲۹ میلی گرم در لیتر معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

بررسی درصد مرگ و میر در غلظت‌های مختلف نیکل نشان داد که در غلظت شاهد ۱۰ درصد مرگ و میر مشاهده شد.

با افزایش غلظت از ۴۱ تا ۴۱۰ میلی گرم در لیتر درصد مرگ و میر افزایش پیدا کرد. در غلظت‌های فلز نیکل از ۴۱ میلی گرم در لیتر

تا ۲۹۲ میلی گرم در لیتر مرگ و میر کمتر مشاهده شد. به طوری که در ۲۹۲ میلی گرم در لیتر به ۲۸ درصد رسید و از غلظت ۳۵۴ تا ۳۹۶ میلی گرم بر لیتر مرگ و میر در حد متوسط (۳۶، ۴۵ و ۵۶ درصد) و در غلظت ۴۱۰ میلی گرم در لیتر مرگ و میر افزایش پیدا کرده و به ۷۶ درصد رسید (شکل ۴).



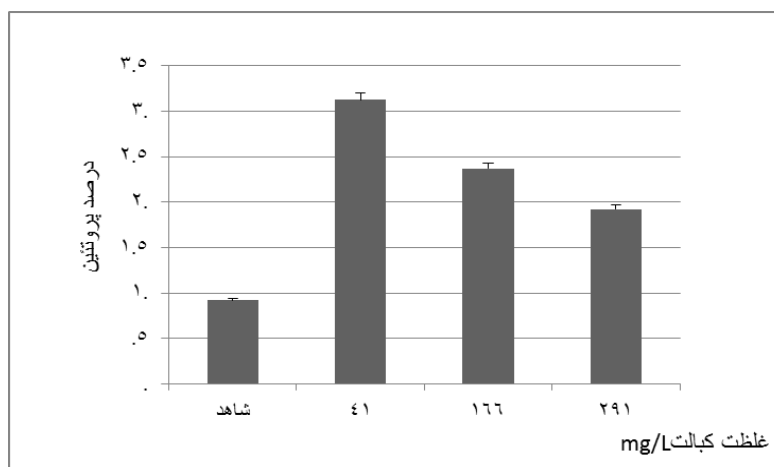
شکل ۴: درصد مرگ و میر آرتمیا اورمیانا (*Aurtemia urmiana*) در غلظت‌های مختلف نیکل در سال ۱۳۸۹ (آنتنک‌ها انحراف معیار را نشان می‌دهند)

در آزمایش اندازه‌گیری پروتئین آرتمیا در غلظت‌های مختلف کبالت اختلاف معنی‌داری در میزان پروتئین مشاهده شد ($P \leq 0.05$). این اختلاف بین غلظت شاهد و غلظت‌های ۱۶۶ و ۲۹۱ میلی گرم در لیتر و غلظت‌های ۱۶۶ و ۲۹۱ میلی گرم در لیتر معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

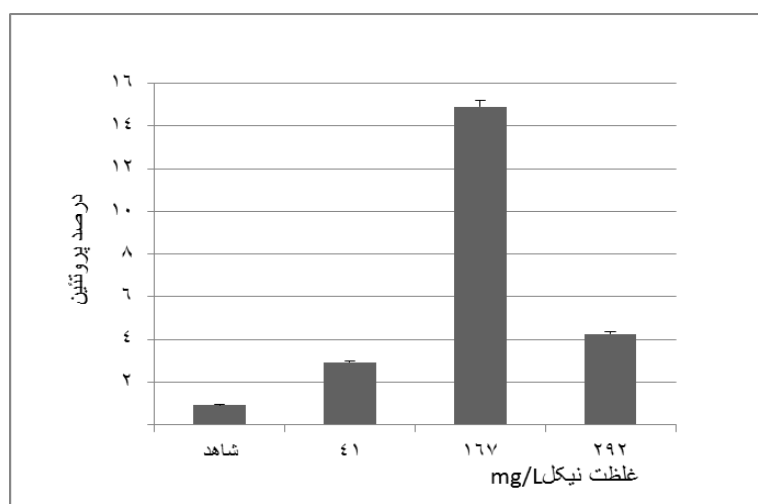
در غلظت شاهد میزان پروتئین ۰/۹۲ درصد بود، در غلظت‌های مختلف کبالت با مقادیر ۴۱ میلی گرم در لیتر، ۳/۱۳ درصد، در غلظت ۱۶۶ میلی گرم در لیتر، ۲/۳۷ درصد و در غلظت ۲۹ میلی گرم بر لیتر، ۱/۹۲ درصد محاسبه شد. بالاترین میزان پروتئین متعلق به ۴۱ میلی گرم در لیتر و در غلظت‌های مختلف کبالت میزان پروتئین افزایش یافته است (شکل ۵).

در آزمایش اندازه‌گیری پروتئین آرتمیا در غلظت‌های مختلف نیکل اختلاف معنی‌داری در میزان پروتئین مشاهده شد ($P \leq 0.05$). این اختلاف بین غلظت شاهد و ۴۱ میلی گرم در لیتر و غلظت ۴۱ و ۲۹۲ میلی گرم بر لیتر معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

در غلظت شاهد میزان پروتئین ۰/۹۲ درصد، در غلظت ۴۱ میلی گرم در لیتر نیکل ۲/۹۳ درصد، در غلظت ۱۶۷ میلی گرم در لیتر نیکل ۱۴/۹۱ درصد و در غلظت ۲۹۲ میلی گرم در لیتر نیکل ۴/۲۶ درصد بالاترین میزان پروتئین متعلق غلظت ۱۶۷ میلی گرم در لیتر نیکل بود، در غلظت‌های مختلف نیکل میزان پروتئین افزایش یافته است (شکل ۶).



شکل ۵: درصد پروتئین آرتمیا اورمیا (Aurtemia urmiana) در غلظت‌های مختلف فلز کبالت در سال ۱۳۸۹ (آنتنک‌ها انحراف معیار را نشان می‌دهند)



شکل ۶: درصد پروتئین آرتمیا اورمیا (Aurtemia urmiana) در غلظت‌های مختلف فلز نیکل در سال ۱۳۸۹ (آنتنک‌ها انحراف معیار را نشان می‌دهند)

دارد. تحقیق حاضر اثرات واضح سمی بودن فلزات سنگین روی مرگ و میر و یک پارامتر بیوشیمیایی مهم یعنی پروتئین آرتمیا اورمیا را نشان می‌دهد.

نتیجه این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت نیکل و کبالت بر میزان مرگ و میر آرتمیوها افزوده گردید و سمیت این فلزات وابسته به غلظت محیط بود، به طوری که در مورد نیکل از میانگین ۱۰ درصد در تیمار شاهد به ۷۶ درصد در تیمار ۴۱۰ میلی گرم در لیتر و در مورد فلز کبالت از ۱۰ درصد تیمار شاهد به ۷۰ درصد در تیمار ۴۱۶ میلی گرم در لیتر رسید. این مشاهده به مطالعات

بحث و نتیجه گیری

به نظر برخی از محققین گونه‌های آرتمیا موجوداتی هستند که مواد سمی را در خود تجمع می‌دهند، بدون این که بر دوره زندگی آن‌ها تاثیری داشته باشد. طبق گفته Sarabia و همکاران در سال ۱۹۹۸، گونه‌های آرتمیا نسبت به کادمیوم بسیار تحمل پذیرند و LC50 آن ۹۳/۳ تا ۲۸۰ میلی گرم بر لیتر است. مطالعاتی که توسط Kokkali و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام شد نشان داد که تجمع فلزات سنگین اثرات حاد بر روی فعالیت‌های بیولوژیک مانند تحرک ناپلی‌ها پس از ۲۴ ساعت

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، سنتر 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 اثر مهار 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.

مکانیسم اثر نیکل و کبالت مشابه سایر فلزات است. این فلزات با ماکرومولکول‌های حیاتی بدن به طور برگشت ناپذیر اتصال ایجاد می‌نمایند و موجب وقفه در فعالیت‌های بیولوژیکی سلول‌ها می‌شوند (احمدی زاده، ۱۳۷۶).

همچنین در کپور معمولی پروتئین سرم خون در تیمار نیکل کاهش پیدا کرده است (Sreedevi et al., 1992; Saxena et al., 2009).

در یک نتیجه گیری کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که در مورد LC50، گونه آرتمیا اورمیا نا نسبت به آرتمیا فرانسیسکانا مقاوم‌تر می‌باشد. این موجودات پس از یک هفته از بین می‌روند و تغییراتی را در میزان ترکیبات خود نشان می‌دهند. استفاده از این ناپلی‌ها به عنوان غذا برای موجودات دیگر باعث انتقال فلزات به سطوح بالاتر زنجیره غذایی از جمله انسان می‌گردد. از سوی دیگر و از دیدگاه زیست محیطی، تشخیص وجود ترکیبات سمی در محیط توسط اندازه گیری مرگ و میر و میزان پروتئین ناپلی‌ها در محیط سمی در مقایسه با مرگ و میر و میزان ترکیبات بیوشیمیایی این موجودات در محیط شاهد امکان پذیر است.

سپاسگزاری

بدین وسیله از تمامی کسانی که ما را در انجام این بررسی یاری نمودند، خصوصاً از سرکار خانم وکیلی صمیمانه تشکر و سپاسگزاری می‌گردد.

Gajbhiye و Hirota (۱۹۹۰) مشابهت دارد. به طوری که سمیت و درصد مرگ و میر ناپلی آرتمیا با زیاد شدن مقادیر سرب، کادمیوم، نیکل، مس، روی و آهن افزایش نشان داده است. همچنین Saliba و krzyz در ۱۹۷۶ افزایش مرگ و میر را در اثر فزونی یافتن غلظت مس در *Artemia salina* نشان دادند.

LC50 بدست آمده در این تحقیق در تیمار با فلز نیکل ۳۸۴ و فلز کبالت ۴۰۳/۷ میلی گرم در لیتر بود. طبق تحقیقات انجام شده در مورد اثر فلزات دیگر روی مرگ و میر گونه *Artemia urmiana* LC50 فلز روی ۴۸۰ میلی گرم در لیتر و فلز کادمیوم ۲۳۵ میلی گرم در لیتر (تقی زاده انصاری، ۱۳۸۵) به دست آمده است. به طوری که می‌توان نتیجه گرفت ترتیب سمیت فلزات در این گونه به صورت: $Cd > Ni > Co > Zn$ می‌باشد. در گونه *Artemia fransiscana* سمیت کادمیوم بیشتر از نیکل و روی بوده و ترتیب سمیت آن‌ها $Cd > Ni > Zn$ بدست آمده است (Gajbhiye and Hirota, 1990).

سخت‌پوستان برای بی‌اثر کردن سمیت فلزات سنگین در بدن دارای دو استراتژی می‌باشند. برخی فلزات را تا آستانه‌ای مشخص، به همان میزان جذب، از بدن دفع می‌کنند و سایرین فلزات را تا غلظت مشخصی در محیط، توسط پروتئین‌های خاصی به نام متالوتیونین‌ها در بدن خود غیر سمی می‌نمایند (تقی زاده انصاری، ۱۳۸۵).

متالوتیونین‌ها 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 در سال ۱۹۹۵ نشان دادند که میزان متالوتیونین‌ها در آرتمیا با گذشت زمان افزایش می‌یابند. سنتر متالوتیونین‌ها در آرتمیا بسیار زیاد بوده که یکی از دلایل مقاومت بالای این موجود نسبت به آلاینده‌ها می‌باشد.

Munshi و همکاران (۱۹۹۶) دریافتند که با افزایش غلظت کادمیوم و مس میزان پروتئین دو گونه میگو Penaeidae افزایش می‌یابد.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت کبالت تا ۴۱ و نیکل تا ۱۶۷ میلی گرم در لیتر میزان پروتئین افزایش داشته و سپس کاهش پیدا می‌کند.

منابع

- Lavens, P. and Sargeloos, P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper, Ghent, Belgium.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J.Biol.Chem, 193: 385-386.
- Munshi, A. B., Yong-quan, S., Shaojing, L. and Li-yu, H., 1996. Effect of cu, cd and cu:cd mixture on the biochemical composition of two Penaeid shrimp postlarvae. chin. j. oceanol. LIMNOL, 15:45-41.
- Novakova, J., Danova, D., Striskova, K., Hromada, R., Mickova, H. and Rabiskv, M., 2007. Zinc and Cadmium toxicity using a Biotest with *Artemia franciscana*. ACTAVET.BRNO, 76: 635-642.
- Rahimi, B. and Nejatkhah Manavi, P., 2010. Availability, Accumulation and Elimination of cadmium by *Artemia Urmiana* Different Salinities. J.BioL.ENVIRON.SCI, 12: 149-157.
- Saliba, L. J. and Krzyz, R. M., 1976. Acclimation and tolerance of *Artemia salina* to copper salts. marine biology, 138: 231-238.
- Sarabia, R., Torreblanca, A., Del Ramo, J.J. and 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.
- Saxena, M., Saxena, H. M., Sangha, G. K. and Kaur, K., 2009. Effect of heavy metal pollution of water on total plasma proteins and serum protein profiles of Common Carp fish (*Cyprinus carpio*). The Internet Journal of Veterinary Medicine, 5.
- Seebaugh, D. R., Goto, D. and Wallace, W. G., 2004. Bioenhancement of cadmium transfer along a multi-level food chain. Marin Environmental Research, 59: 473-491.
- Seixas, P., Coutinho, P., Ferreira, M. and Otero, A., 2009. Nutritional value of the Cryptophyte *Rhodomonas lens* for *artemia sp.* Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 381: 1-9.
- Sobha, K., Poornima, A., Harini, P. and Veeraiah, K., 2007. A Study 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, vol 1. no4.
- Sreedevi, P., Sivaramakrishna, B., Suresh, A. and Radhakrishnaiah, K., 1992. Effect of nickel on some aspects of protein metabolism in the gill and kidney of the freshwater fish, *Cyprinus carpio L.* . Environmental Pollution, 77: 59-63.
- احمدی زاده، م.، ۱۳۷۶. سم شناسی فلزات سنگین. نشر هزاران.
- اکبری حامد، ن.، ۱۳۸۳. بررسی اثر آلودگی فلزات سنگین روی و مس بر روی *Artemia urmiana*. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریایی.
- اویسی، ص.، ۱۳۸۳. ارزش غذایی آرتمیا و نقش آن در تغذیه آبزیان. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریایی.
- تقی زاده انصاری، ا.، ۱۳۸۵. بررسی اثر فلزات سنگین Zn و Cd بر روی رشد و بقا *Artemia urmiana*. پایان نامه کارشناسی ارشد بیولوژی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی.
- ثناپی، غ.، ۱۳۷۵. سم شناسی صنعتی. جلد اول، انتشارات دانشگاه تهران.
- حیدری، ع.، ۱۳۸۰. تعیین میزان تجمع برخی عناصر سنگین در مراحل مختلف زیست آرتمیای دریاچه ارومیه. پایان نامه کارشناسی ارشد بیولوژی دریا، دانشگاه تربیت مدرس.
- ربانی، م.، جعفرآبادی آشتیانی، ا. و مهرداد شریف، ا.، ۱۳۸۷. اندازه گیری میزان آلودگی ناشی از فلزات سنگین نیکل، سرب و جیوه در رسوبات خلیج فارس/ منطقه عملیاتی عسلویه. اکتشاف و تولید، شماره ۵۱، صفحات ۵۸-۵۳.
- Brix, K.V., Cardwell, R. D. and Adams, W.J., 2003. Chronic toxicity of arsenic to the great salt lake Brine shrimp, *Artemia franciscana*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 54: 169-175.
- Del Ramo, J., Torreblanca, A., Martínez, M., Pastor, A. and Díaz-Mayans, J., 1995. Quantification of cadmium-induced metallothionein in crustaceans by the silver-saturation method. Marine Environmental Research, 39 (1-4):121-125.
- Fichet, D. and Miramand, P., 1998. Vanadium toxicity to three marine invertebrates Larvae: *Crassostrea gigas*, *paracentrotus lividius* and *Artemia salina*. Chemosphere, 37: 1363-1368.
- Gajbhiye, S. N. and Hirota, R., 1990. Toxicity of heavy metals to Brine shrimp *Artemia*. Journal of Indian Fisheries association, 20: 43-50.
- Hadjispyrou, S., Kugolos, A. and Anagnostopoulos, A., 2001. Toxicity, Bioaccumulation and inter active effects of organotin, cadmium on *Artemia franciscana*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 49: 179-186.
- Kokkali, V., Katramados, I. and Newman, J. D., 2011. Monitoring the Effect of Metal Ions on the Mobility of *Artemia salina* Nauplii. Biosensors, 1: 36-45.

Determination of LC50 and protein level fluctuations in *Artemia urmiana* in different concentrations of cobalt and nickel

the effects of Cobalt and Nickel on LC5024h and protein of *Artemia urmiana* was investigated in this research in 2010. Nauplii were reared for 6 days at different concentrations of Nickle and Cobalt. They were fed with *Chlorella* and yeast. During the culture temperature was 20-28°C, salinity was 28 ppt and photoperiod was 12:12(light:dark) cycle. Naplii were harvested after 6 days experiment for protein extraction. Lowry method for protein assay was used. Protein level in the vicinity of different Cobalt and Nickel concentrations showed significant differences ($p < 0.05$). The most amount of the protein in the vicinity of Cobalt was 3.13 percent that belonged to 41 mg.l⁻¹ treatment. In the vicinity of nickel, it was 14.90 percent and belonged to 167 mg.l⁻¹ treatment. The level of LC5024h for *Artemia* was estimated 403.7 mg.l⁻¹ in the vicinity of Cobalt and 384 mg.l⁻¹ in the vicinity of nickel.

Key word: LC50, Nickle, Cobalt, protein, *Artemia urmiana*