

تأثیر ترکیبی علف کش متری بوزین و سختی آب بر برخی خصوصیات جمعیت جلبک

Scenedesmus quadricauda سبز

امیدوار فرهادیان*، احمدرضا پیرعلی زفره‌یی و حسین مولایی

اصفهان، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده منابع طبیعی

تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱/۲۶

چکیده

علف کش متری بوزین از گروه تریازینون‌ها است که بطور گسترده‌ای در کنترل علف‌های هرز استفاده دارد و به سادگی به محیط‌های آبی وارد می‌شود. متری بوزین تأثیرات متفاوت زیست‌شناختی بر جلبک‌ها در آب‌های باسختی مختلف دارد. در این تحقیق اثرات ترکیبی سختی‌های مختلف (غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کربنات کلسیم) و علف کش متری بوزین (صفر، ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) بر پویایی جمعیت، رشد و میزان کلروفیل *a* در جلبک سندسموس کوادریکودا (*Scenedesmus quadricauda* Berb) در شرایط آزمایشگاهی دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، فتوپریود ۱۲ ساعت نور ۱۲: ساعت تاریکی و شدت نور ۸۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه بررسی گردید. آزمایش در مدت ۱۴ روز با ۱۶ تیمار و سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. نتایج نشان داد که بالاترین تراکم جمعیت در سختی ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر از غلظت‌های صفر، ۱ و ۵ میلی‌گرم در لیتر از متری بوزین است در حالیکه مقدار کلروفیل *a* $6/73$ میلی‌گرم در لیتر در سختی ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد ($P < 0.05$). محتوای کلروفیل *a* تفاوت معنی‌داری در غلظت‌های مختلف صفر، ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر از متری بوزین در سختی صفر (کنترل) نشان نداد در حالیکه کاهش قابل ملاحظه و معنی‌داری در ارتباط سختی‌های مختلف مشاهده گردید. بطورکلی سختی مناسب برای جلبک *S. quadricauda* ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر از کربنات کلسیم بدست آمد. همچنین این مطالعه نشان داد که جلبک *S. quadricauda* توانایی رشد را در غلظت بالای متری بوزین در آب‌های با سختی اندک (یا بدون سختی) دارد.

واژه‌های کلیدی: علف کش متری بوزین، سختی آب، جلبک *Scenedesmus quadricauda*

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۱۳۳۹۱۳۵۶۴، پست الکترونیکی: omfarhad@cc.iut.ac.ir

مقدمه

علف کش‌ها اختصاص دارد (۲۰). در ایران بر اساس زند و همکاران ۱۳۸۸ در حال حاضر بیشترین علف کش‌ها به ترتیب به بازدارنده‌های فتوستتزر در فتوسیستم II با ۲۳ علف کش و بازدارنده‌های استیل کوانزیم آ کربوکسیلاز با ۱۶ علف کش می‌باشد (۳).

علف کش‌ها به طور مداوم از طریق رواناب‌های سطحی به محیط‌های آبی تخلیه می‌شوند. مطالعات نشان داده است که گیاهان و جلبک‌های سبز واکنش‌های مشابهی

علف کش‌ها از جمله مواد شیمیایی هستند که به طور معمول برای کنترل علف‌های هرز و فعالیت‌های کشاورزی به طور وسیعی استفاده می‌شوند. علی‌رغم برخی مشکلات زیست‌محیطی که به لحاظ مصرف علف کش‌ها گزارش شده است، امروزه به منظور مدیریت علف‌های هرز در تمام دنیا استفاده می‌شود. در سالیان اخیر سهم مصرف علف کش‌ها از کل سموم آفت کش در دنیا بیشتر بوده است. برای مثال در سال ۱۹۹۳ حدود ۶۸ درصد از سموم فروش رفته در بخش کشاورزی آمریکا به

برای جلبک‌های سبز *Scenedesmus* و *Selenastrum* چندان سمی نیست (۱۹).

از مهمترین علف‌کش‌ها متری‌بوزین است که نام آن 4-amino-6-tert-butyl-3-methylthio-1,2,4-triazin-5(4H)-on و فرمول شیمیایی $C_8H_{14}N_4OS$ می‌باشد و به منظور دفع آفات در مزارع کشاورزی استفاده می‌شود (۲۴). علف‌کش متری‌بوزین از گروه تریازینون‌ها می‌باشد که بطور گسترده‌ای برای کنترل علف‌های هرز و در مراحل کشت سویا، نیشکر، گندم و سیب‌زمینی استفاده می‌شود. این علف‌کش بالاترین سمیت را در گیاهان آبی و جلبک‌های آب شیرین دارد (۶). متری‌بوزین مشابه دیگر علف‌کش‌های تریازین و تریازونین در رواناب‌های سطحی وجود دارد. قابلیت حلالیت مناسب در آب (۱۲۲۰ میلی‌گرم در لیتر) و زمان اثربخشی آن در خاک (۳۰ روز) از مهمترین ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی آن است (۶). متری‌بوزین با پروتئین D1 کمپلکس PSII (Photosystem) پیوند برقرار نموده و به عنوان بازدارنده فتوسنتز شناخته می‌شود (۹).

جلبک سبز سندسموس کوادریکودا (*Scenedesmus quadricauda*) از متداولترین جلبک‌های آب شیرین است که قابلیت استفاده برای نشان دادن تاثیرات آلاینده‌های علف‌کش‌ها در محیط‌های آبی را دارد. مطالعات زیادی در ارتباط با سمیت ترکیبات آلی و معدنی بر جلبک *S. quadricauda* صورت گرفته است که می‌تواند به علت فراوانی این جلبک در محیط‌های آب شیرین و همچنین به لحاظ نقش آن در زنجیره غذایی آب شیرین است (۲۵). ارزیابی گونه‌های جلبکی استفاده شده نشان می‌دهد که واکنش جلبک‌ها نسبت به مواد شیمیایی خیلی گسترده است. حساسیت‌های گوناگون ترکیب‌گونه‌های جلبک می‌تواند سبب تغییرات در جوامع جلبکی شود. بدین وسیله ممکن است منجر به تغییرات در کارکرد و ساختارها در اکوسیستم‌های آبی بشود (۱۱).

نسبت به حضور مواد شیمیایی مختلف دارند. گزارش‌های زیادی در مورد اثرات سمیت علف‌کش‌ها بر گونه‌های مختلف جلبک صورت گرفته است (۲۵). اگرچه عملکرد علف‌کش‌ها بر جلبک‌ها و ارگانیسم‌ها مهم است اما نقش کلیدی را که در فعالیت‌های کشاورزی ایفا می‌کنند اهمیت آنها را چندین برابر می‌نماید. استفاده زیاد از علف‌کش‌ها اثراتی را بر ارگانیسم‌های غیرهدف از جمله جلبک‌های میکروسکوپی آنها می‌گذارد. جلبک‌ها مواد آلی و انرژی مورد نیاز بی‌مهرگان و ماهی‌ها را در بیشتر اکوسیستم‌های آبی فراهم می‌کنند. از طرفی دیگر واکنش جلبک‌ها به مواد شیمیایی سمی خیلی گسترده است (۱۰).

در محیط‌های آب شیرین جلبک‌ها از پایه‌های اساسی در زنجیره‌های غذایی هستند این تولیدکنندگان اولیه از نور به عنوان منبع انرژی استفاده می‌کنند و CO_2 را به مواد آلی تبدیل می‌کنند که منبع اصلی غذا برای مصرف‌کنندگان اولیه است (۹). جلبک‌ها حساسیت خود را به طیف‌های وسیع آلودگی از قبیل علف‌کش‌ها، فلزات و آفت‌کش‌های ارگانوکلر و مواد آلی صنعتی نشان می‌دهند. بنابراین استفاده از جلبک‌ها برای بررسی این آلودگی‌ها مرسوم می‌باشند (۶). از آنجاییکه انرژی نورانی بوسیله کلروفیل در ارگانیسم‌های فتوسنتزکننده جذب می‌شود. بنابراین جلوگیری از آسیب به فتوسنتز در برابر آلودگی‌های زیست‌محیطی همواره یکی از پژوهش‌های مهم در علوم زیست‌محیطی می‌باشد (۱۲).

از سوی دیگر کاربردهای اکولوژیک بسیاری در خصوص حساسیت گسترده جلبک‌ها به آفت‌کش‌ها متفاوت وجود دارد. در اکوسیستم‌های آب شیرین، جلبک‌ها غذا را برای جوامع زئوپلانکتونی و بیمهرگان صافی‌خوار فراهم می‌نمایند. بسته به نوع علف‌کش آلودگی محیط‌های آبی متفاوت است. برای مثال، دیکوات (Diquat) برای جلبک‌های سبز-آبی و دیاتوم‌ها به شدت سمی است در حالیکه

S. quadricauda در ارلن مایرهای دو لیتری با محیط کشت BBM بطور انبوه کشت داده شد. ترکیب محیط کشت BBM مورد استفاده در این تحقیق شامل NaNO_3 (۲۵ گرم)، K_2HPO_4 (۱۰ گرم)، KH_2PO_4 (۱۵ گرم)، CaCl_2 (۲/۵ گرم)، $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (۷/۵ گرم)، NaCl (۲/۵ گرم)، ZnSO_4 (۸/۸۲ گرم)، MnCl_2 (۱/۴۴ گرم)، MoO_3 (۰/۷۱ گرم)، $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (۰/۴۹ گرم)، H_3BO_4 (۱۱/۴ گرم)، KOH (۳۱ گرم)، $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (۴/۹۸ گرم) و EDTA (۵۰ گرم) که تماماً در یک لیتر آب مقطر ریخته و pH آن را قبل از اتوکلاو نمودن با استفاده از HCl ۰/۱ نرمال و یا NaOH ۰/۱ نرمال در ۶/۸ تنظیم گردید (۱۴).

نحوه انجام آزمایش: جهت بررسی اثرات ترکیبی سختی (صفر، ۵۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر کربنات کلسیم) و غلظت متری بوزین (صفر، ۵، ۱۰ و ۱۰ میلی گرم در لیتر) آزمایش با ۱۶ تیمار بصورت کاملاً تصادفی طرح گردید. خلاصه ای از تیمارها در جدول ۱ ارایه شده است. علف کش متری بوزین از شرکت ژکم ساخت کشور چین با درجه خلوص ۷۰٪ تهیه گردید که در این آزمایش به صورت ۱۰۰٪ محاسبه و لحاظ گردید. تمامی تیمارهای مورد استفاده در این تحقیق در محیط کشت پایه BBM و ذخیره اولیه با مقدار ثابت جلبک در نظر گرفته شد.

آزمایش در دمای آب 21 ± 2 درجه سانتی گراد در شرایط نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و شدت نور ۶۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه بمدت ۱۴ روز نگهداری شد.

در این تحقیق شمارش جلبک‌ها با استفاده از لام هموسیتومتری و با روش پیشنهاد شده توسط Martinez و Chakaroff (۱۹۷۵) بعد از تثبیت نمونه‌ها در محلول لوگل ایدین (مقدار ۰/۱ میلی لیتر در هر ۳ میلی لیتر نمونه) انجام شد (۱۳). میزان رشد ویژه (SGR) از رابطه $SGR = (\ln N_t - \ln N_0) / T$ محاسبه شد (۱۷)، که در آن $SGR =$ میزان رشد

با توجه به اینکه تاثیرات سمی علف کش‌ها بر اساس سختی آب متفاوت است لذا مطالعات در ارزیابی اثرات سختی آب (کلسیم یا منیزیم) بر سمیت فلزات بر جلبک‌های تک سلولی نشان داده که سمیت فلزات بواسطه سختی آب کاهش پیدامی کند و در واقع یونهای کلسیم و منیزیم برای باند شدن در سطح دیواره سلولی جلبک‌ها با هم رقابت می‌کنند (۵). هدف از این مطالعه بررسی تاثیرات ترکیبی علف کش متری بوزین و سختی آب بر عملکرد جلبک سبز *S. quadricauda* با تاکید بر پویایی جمعیت، میزان رشد و تغییرات میزان کلروفیل *a* است.

مواد و روشها

تهیه ذخیره اولیه جلبک: جمع‌آوری اولیه نمونه‌های جلبکی از آب استخرهای خاکی پرورش ماهی انجام گردید. سپس با استفاده از میکروپیپت سلول‌های فیتوپلانکتونی را جدا نموده و با بهره‌گیری از محیط کشت جامد و تجدید مداوم کشت ذخیره خالص اولیه تهیه گردید. جهت تهیه محیط کشت جامد ۲ گرم آگار-آگار (Agar) Agar جامد به ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر و محیط کشت BBM اضافه شد. محیط کشت تهیه شده در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو گردید. نمونه ناخالص تهیه شده از استخرهای پرورش ماهی را روی محیط کشت قرار داده تا کلنی‌های جلبکی بعد از ۵ روز تشکیل شوند. پس از تشکیل کلونی‌ها و مشاهده آنها در زیر میکروسکوپ، کلونی‌های جلبک به محیط کشت مایع منتقل گردید. جلبک‌ها بعد از کشت‌های متوالی در محیط کشت مایع خالص گردید. برای اطمینان از خالص‌سازی ۱ میلی لیتر از نمونه جلبکی در غلظت‌های 10^{-1} تا 10^{-6} رقیق گردید و سپس بر روی محیط کشت جامد نوترینت آگار (NA) کشت داده شد. سپس از هر کلونی بر روی محیط کشت NA، کشت صورت گرفت و نمونه‌ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی گراد نگهداری شد. پس از اطمینان پرورش جلبک

شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ صورت گرفت.

نتایج

تغییرات در پویایی جمعیت جلبک: پویایی جمعیت جلبک *S. quadricauda* در تیمارهای مختلف از ترکیب سم متری بوزین و سختی آب در شکل ۱ ارائه شده است. بالاترین تراکم سلولهای جلبک *S. quadricauda* در غلظت های صفر، ۱ و ۵ میلی گرم در لیتر متری بوزین در سختی ۲۰۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب 1.39×10^6 ، 1.48×10^6 و 1.34×10^6 سلول در هر میلی لیتر در روز ۸ پرورش بدست آمد در حالیکه بالاترین تراکم جلبک *S. quadricauda* (1.48×10^6 سلول در هر میلی لیتر) در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر از متری بوزین در سختی ۵۰ میلی گرم در لیتر در روز ۱۰ پرورش بدست آمد.

نتایج ارائه شده در شکل ۱ همچنین نشان داد که جمعیت جلبک سندسموس در تمام تیمارها (صفر، ۱ و ۵ میلی گرم در لیتر) به استثنای ۱۰ میلی گرم در لیتر از متری بوزین با افزایش سختی آب در روز ۸ پرورش نشان می دهد. در حالیکه در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر سختی آب تاثیر مثبت بر تراکم جمعیت در ۵۰ میلی گرم در لیتر سختی در روز ۱۰ پرورش دارد.

در طی ۱۴ روز پرورش دو پیک در رشد جمعیت جلبک *S. quadricauda* در روزهای مختلف در تیمارهای آزمایشی (شکل ۱) رخ داد که پیک اصلی و ماکزیمم جمعیت در حد فاصل روزهای ۸ و ۱۰ پرورش به وقوع پیوست.

میزان رشد ویژه و کلروفیل a: بیشترین میزان رشد ویژه (تقریباً ۰/۲۱-۰/۲۰ در روز) برای جلبک سندسموس به ترتیب در صفر، ۱ و ۵ میلی گرم در لیتر از متری بوزین در سختی ۲۰۰ میلی گرم در لیتر، در حالیکه بالاترین رشد در

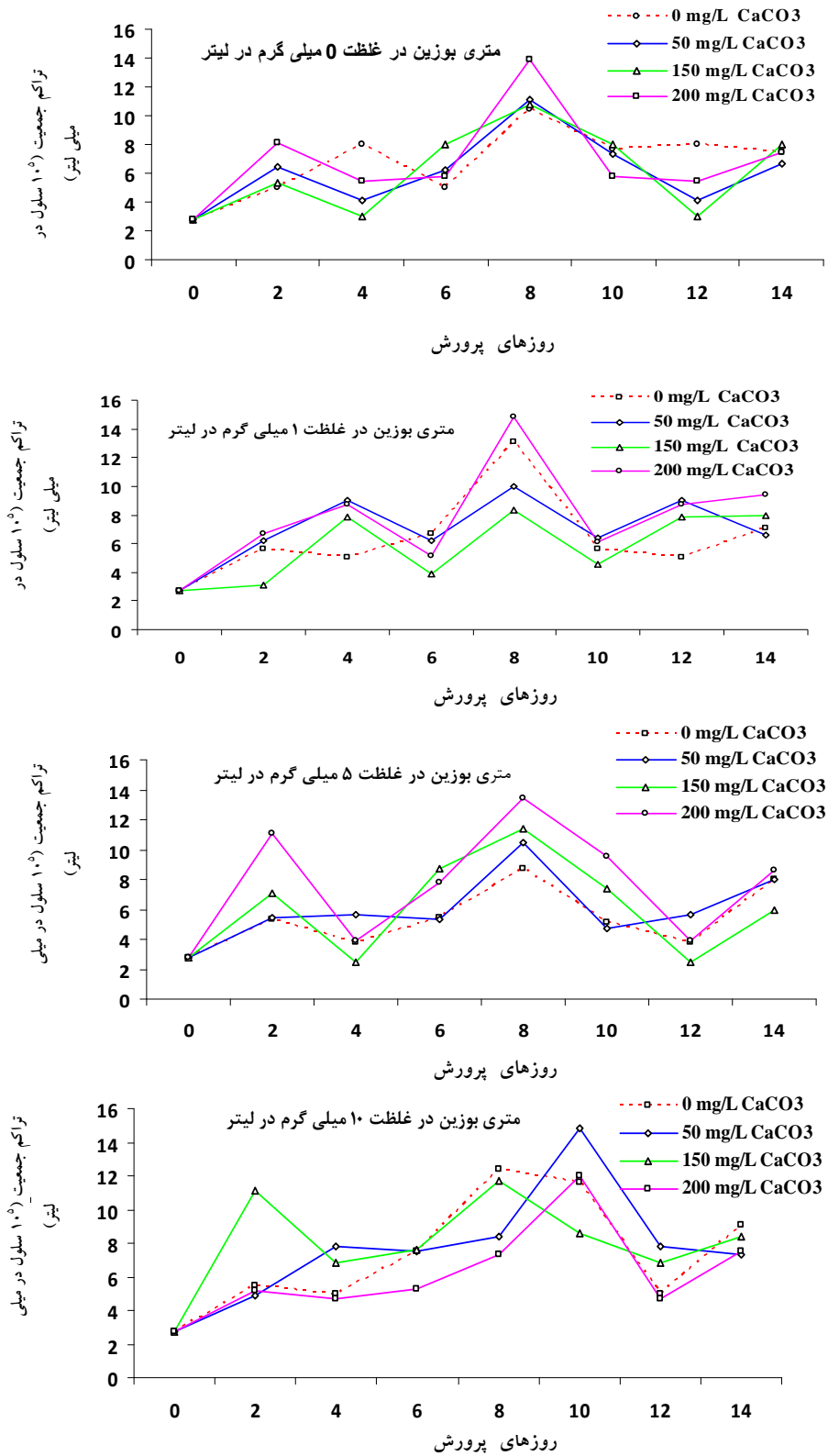
ویژه جمعیت جلبک *S. quadricauda* بر حسب در روز، N_t = جمعیت نهایی جلبک *S. quadricauda* بعد از زمان T ، و N_0 = جمعیت اولیه جلبک *S. quadricauda* در آغاز معرفی به محیط کشت. برای اندازه گیری کلروفیل a ۱۰۰ میلی لیتر از محلول جلبکی توسط کاغذ صافی واتمن فیلتر شده و سپس فیلترها به مدت ۲۴ ساعت درون استون ۹۰٪ نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با ۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شده (Centurion Scientific Ltd) و پس از آن میزان جذب نوری (OD= Optical Density) آن‌ها با اسپکتروفتومتر (مدل جنوی) در طول موج های ۴۷۰، ۶۵۳ و ۶۶۶ نانومتر به روش شرح داده شده توسط Parsons و همکاران (۱۹۸۴) انجام شد (۱۸).

جدول ۱- مقادیر ترکیبی سختی آب و غلظت متری بوزین در محیط کشت BBM برای تیمارهای مختلف آزمایشی.

تیمارها	میزان سختی آب (mg/L)	میزان متری بوزین (mg/L)	محیط کشت پایه
۱	صفر	صفر	BBM
۲	۵۰	صفر	BBM
۳	۱۵۰	صفر	BBM
۴	۲۰۰	صفر	BBM
۵	صفر	۱	BBM
۶	۵۰	۱	BBM
۷	۱۵۰	۱	BBM
۸	۲۰۰	۱	BBM
۹	صفر	۵	BBM
۱۰	۵۰	۵	BBM
۱۱	۱۵۰	۵	BBM
۱۲	۲۰۰	۵	BBM
۱۳	صفر	۱۰	BBM
۱۴	۵۰	۱۰	BBM
۱۵	۱۵۰	۱۰	BBM
۱۶	۲۰۰	۱۰	BBM

آنالیز آماری: آنالیز آماری داده ها با تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) انجام شد. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی دار ۵ درصد انجام

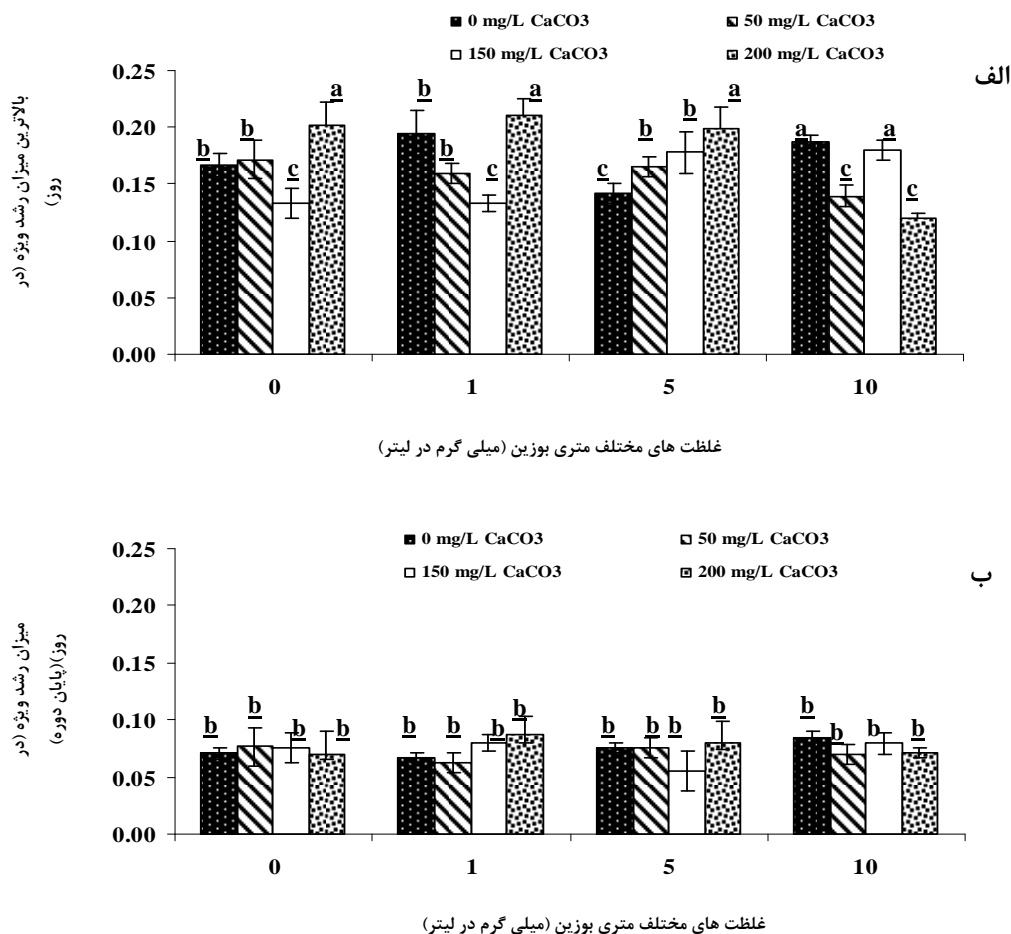
غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر از متری بوزین در سختی صفر بدست آمد (شکل ۲-الف).



شکل ۱- میانگین تراکم تغییرات جمعیت در جلبک *S. quadricauda* در غلظت‌های مختلف از متری بوزین و سختی‌های مختلف

آب تأثیرات کاهشی بر میزان رشد ویژه نشان داد (شکل ۲-الف). در پایان دوره آزمایش (روز ۱۴) تفاوت معنی داری در رشد ویژه جمعیت سندسموس مشاهده نگردید (شکل ۲-ب).

بطور کلی نتایج نشان داد که در غلظت‌های پایین از متری‌بوزین یعنی صفر، ۱ و ۵ میلی‌گرم در لیتر تأثیرات سختی آب بر رشد ویژه جمعیت افزایشی است در حالی‌که در غلظت‌های ۱۰ میلی‌گرم در لیتر متری‌بوزین سختی

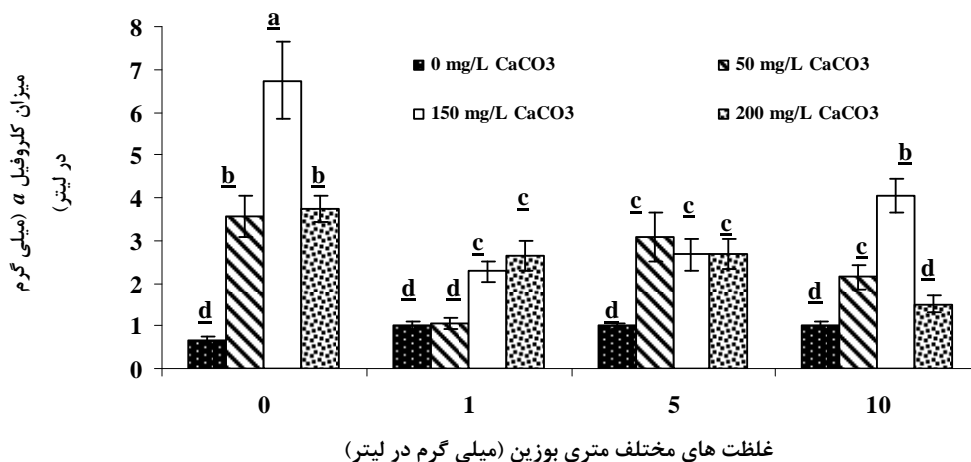


شکل ۲: میانگین (\pm خطای استاندارد) میزان رشد ویژه در جمعیت جلبک *S. quadricauda* در غلظت‌های مختلف از متری‌بوزین و سختی‌های مختلف. الف: رشد ویژه در پیک جمعیت، ب: رشد ویژه جمعیت در پایان دوره پرورش. میانگین‌های دارای لافل یک حرف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد باهم اختلاف معنی داری ندارند.

سختی صفر تفاوت معنی داری در محتوای کلروفیل *a* در غلظت‌های مختلف صفر، ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر از متری‌بوزین وجود نداشت در حالی‌که روند کاهشی قابل ملاحظه و معنی داری در غلظت‌های مختلف سموم

تغییرات میزان کلروفیل *a* در پایان دوره آزمایش مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آن بصورت اندازه‌گیری کلروفیل *a* در شکل ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که تفاوت معنی داری بین میزان کلروفیل *a* به لحاظ غلظت‌های مختلف متری‌بوزین و سختی آب وجود دارد. در

مشاهده گردید. بطورکلی نتایج مبین این است که کاهش کلروفیل *a* در جمعیت رخ داده است.



شکل ۳- میانگین (\pm خطای استاندارد) میزان کلروفیل *a* در جمعیت جلبک *S. quadricauda* در غلظت‌های مختلف از متری بوزین و سختی‌های مختلف. میانگین‌های دارای لااقل یک حرف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد باهم اختلاف معنی‌داری ندارند.

ژنتیک تشریح نمود. مثلاً ضخامت دیواره سلولی و محتوای چربی سلولی در جلبک‌ها را می‌توان از عوامل القاءکننده در نظر گرفت (۱۵ و ۱۶). از آنجائیکه نوسانات رشد و دینامیک جمعیت، زمان پیک تولید مثلی جمعیت و میزان کلروفیل همواره در جلبک‌های میکروسکوپی متأثر از شرایط زیستی و محیطی است لذا در این پژوهش تأثیرات سختی آب و غلظت‌های متفاوت علف کش متری بوزین مورد بررسی قرار گرفت.

در این مطالعه با افزایش غلظت علف کش متری بوزین، توانایی رشد جلبک *S. quadricauda* در تیمار بدون سختی (کنترل) وجود داشت. اما در غلظت‌های پایین سم متری بوزین، جلبک *S. quadricauda* بیشترین رشد را در سختی‌های بالا نشان داد. مهدی نژاد و همکاران (۱۳۹۰) (۴) بیان نمودند که افزایش غلظت سم اکسایدازیل به صورت تصاعدی باعث کاهش جمعیت در جلبک

بحث

جلبک‌ها از نظر اقتصادی در تولید مواد پروتئینی اهمیت زیادی دارند، آنها بطور مستقیم یا غیر مستقیم در زنجیره غذایی آبزیان، بخصوص ماهی‌ها و همچنین انسان قرار می‌گیرند. جلبک‌ها با عمل فتوسنتز بر اکسیژن محیط افزوده، از این راه موجب تصفیه آب‌های آلوده و فاضلاب‌ها می‌شوند (۲). عواملی نظیر دما، pH و به خصوص سختی آب تأثیرات کاملاً معنی‌داری بر مقاومت و حساسیت موجودات آبی در مقابل آفت‌کشها دارند (۱). حساسیت با آفت‌کش‌ها و یا علف‌کش‌ها یا بطور کلی آلودگی‌ها نه تنها به فیلوژنی گیاهی مرتبط است بلکه به نوع پارامترهای مورد بررسی و قابل اندازه‌گیری بستگی دارد (۲۲). تفاوت‌ها در حساسیت ارگانیسم‌های فتوسنتزکننده به مواد شیمیایی بخصوص و معین را می‌توان از طریق تفاوت‌ها در خصوصیات از قبیل مرفولوژی، فیزیولوژی و

سلولهای جلبک سندسموس است که می‌تواند بدلیل اثرآنتاگونیسم بین سختی و متری بوزین باشد.

علاوه بر جذب سم متری بوزین توسط جلبک سندسموس کاملاً منطقی است که استنباط کنیم بخشی از سختی آب نیز از طریق جذب از محیط کشت حذف گردد که این میزان در سختی‌های بالاتر بیشتر است. بطور نسبتاً مشابهی، Sivasubramanian و همکاران در سال ۲۰۱۲ (۲۳) در بررسی استفاده از جلبک در کاهش سختی کل آب در فاضلاب‌های صنعتی و پساب‌ها گزارش دادند که جلبک *Chlorococcum humicola* حدود ۷۱ درصد باعث کاهش سختی کل محیط کشت شده است و میزان کلسیم و منیزیم را به طور معنی‌داری کاهش یافت. علاوه بر این، Amanda و همکاران در سال ۲۰۰۲ (۵) بیان کردند که کلسیم می‌تواند بیشتر از منیزیم تاثیر سمیت فلزات در آب شیرین را کاهش دهد.

از آنجاییکه گمان می‌رود که عملکرد علف‌کش متری بوزین سبب اختلال در فرآیندهای فتوسنتز گیاهان می‌شود لذا با بررسی میزان کلروفیل *a* در تیمارهای مختلف، انتظار تفاوت‌های قابل ملاحظه وجود دارد. چنین تفاوت‌هایی نشان‌دهنده تغییرات مشهود سختی و سم متری بوزین بر فتوسنتز نسبت به تراکم سلولی و رشد در جلبک *S. quadricauda* می‌باشد. یافته‌های این تحقیق نشان داد که بطور کلی سختی ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کربنات کلسیم سبب افزایش میزان کلروفیل *a* می‌شود که در واقع به اثر بازدارندگی سختی آب بر عملکرد سم متری بوزین در جلبک *S. quadricauda* می‌تواند مرتبط باشد. Wong در سال ۲۰۰۰ (۲۵) بیان نمود که غلظت کم علف‌کش‌های 2,4-D glyphosate و پاراکوات باعث تحریک رشد *S. quadricauda* می‌شود که به ترتیب در غلظت‌های ۲۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر رشد را کاملاً متوقف می‌نمایند. بعبارت دیگر، کاهش یا افزایش در غلظت سم باعث تحریک یا توقف رشد جلبک می‌شود. همچنین در مطالعه

Scenedesmus sp. نمی‌شود، هرچندکه غلظت‌های بالا می‌تواند اثراتی شدیدتر را در محیط آبی بگذارد. Ma و همکاران (۲۰۰۲) (۱۱) نیز نشان دادند که تاثیر ۳۰ نوع علف‌کش گوناگون برای جلبک *Scenedesmus obliquus* دامنه گسترده و تحمل بیشتری در مقایسه با جلبک *Chlorella pyrenoidosa* داشت. همچنین Fairchild و همکاران در سال ۱۹۹۸ (۶) تخمین زدند که سمیت حاد متری بوزین در ۱۰ گونه غیرهدف جلبک و ماکروفیت در غلظت‌های بین ۱۴-۱۵۲ میکروگرم در لیتر است و میانگین سمیت متری بوزین در گیاهان آبی ۳۱ میکروگرم در لیتر بوده است. علاوه بر این آنها سمیت متری بوزین را بیشتر از دیگر علف‌کش‌های مانند آترازین، آلاکلر و متاکلر بیان نمودند.

Rai و همکاران در سال ۱۹۸۱ (۲۱) گزارش کردند که غلظت کل فلزات سنگین در محلول بواسطه کربنات و یا کمپلکس‌های هیدروکسید نامحلول که عمدتاً سختی محسوب شده سبب کاهش سمیت فلزات سنگین از قبیل روی می‌شود. در مطالعات Amanda و همکاران در سال ۲۰۰۲ (۵) به ارزیابی سختی آب بر سمیت اورانیوم در جلبک آب شیرین *Chlorella sp.* پرداختند و مشاهده کردند میزان رشد *Chlorella sp.* با افزایش اورانیوم به هیچ وجه کاهش پیدا نمی‌کند چون سمیت اورانیوم با افزایش سختی کاهش پیدا می‌کند. در این پژوهش میزان رشد ویژه در ۷ روز اول نسبت به ۷ روز دوم بیشتر بود و تقریباً روند تغییرات مشابه تراکم جمعیت جلبک *S. quadricauda* بود. در طی ۷ روز دوم آزمایش و روزهای پایانی با توجه به تراکم کشت و محدودیت در عناصر غذایی برای تولید مثل (به لحاظ مصرف در آغاز دوره پرورش) رشد ویژه جمعیت کاهش یافت. با بررسی آنالیزهای آماری اختلاف معنی‌داری در رشد ویژه بین تیمارهای مختلف با شاهد (صفر میلی‌گرم در لیتر علف‌کش و سختی) مشاهده نشد که بیانگر عدم تخریب

سموم مورد استفاده قرار گیرد. جلبک سبز *S. quadricauda* گونه‌ای با دامنه تحمل وسیع نسبت به تغییرات علف کش ها و فاکتورهای محیطی مانند سختی است که این تاثیرات ترکیبی را در خصوص جلبک های میکروسکوپی برای استفاده در خودپالایی سیستم های آبی همواره باید در نظر داشت. در این مطالعه مشخص گردید که در ترکیب سختی و سم متری بوزین نقش هر دو عامل مهم است اما سختی تاثیر مهم تری در رشد، پویایی جمعیت و کلروفیل دارد و مناسب ترین سختی ۱۵۰ میلی گرم در ایتر از کربنات کلسیم می باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان به لحاظ فراهم آوردن بودجه و امکان تحقیق سپاسگزاری می شود.

دیگری، Fargaova در سال ۱۹۹۴ (۷) هم به مقاوم بودن *S. quadricauda* در برابر آلودگی های آب در مقایسه با گروههای دیگر فیتوپلانکتونی پرداخت و بیان نمود که چنین این تغییرات در پویایی جمعیت و رشد و میزان کلروفیل تحت تاثیر تعدادی از فاکتورهای محیطی و تغذیه ای نظیر دما، pH، دسترسی به منبع کربن و میزان هوادهی، میزان و شدت نور می باشد که می تواند بخشی از تفاوت ها را توجیه نماید.

بعنوان نتیجه گیری کلی می توان بیان نمود که تغییرات در شرایط زیستی و زیستگاهی اغلب به طور مشخصی و به سرعت توسط موجودات تک سلولی نظیر جلبک های میکروسکوپی قابل ارزیابی است و عکس العمل سریع تری نسبت به موجودات با ساختار پیچیده تر دارد. ارزیابی تاثیرات سمیت ناشی از سموم با استفاده از ریز جلبک ها سریع و کم هزینه است و می تواند به طور مؤثر در ارزیابی عناصر و ترکیبات سمی حتی در غلظت های بسیار کم

منابع

۱. پیری، م. نظامی بلوچی، ش. و اوردوگ و. ۱۳۷۷. بررسی سموم دیازینون و مالاتیون و ماچتی و ساترن بر روی مرگ و میرماهی سفید، مجله شیلات ایران، سال هفتم، شماره ۴، صص ۹-۱۹.
۲. حیدری، ص.، فرهادیان، ا. و محبوبی صوفیانی، ن. ۱۳۹۰. اثرات سطوح مختلف نیترات و آمونیوم در محیط کشت برای رشد جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda*، مجله منابع طبیعی ایران، دوره ۶۴، شماره ۱، صص ۲۹-۴۰.
۳. زند، ا.، باغستانی، م.ع.، نظام آبادی، ن.، مین باشی معینی، م. هادی زاده، م.ح. ۱۳۸۸. مروری بر آخرین فهرست علف کش ها و علف های هرز مهم ایران. مجله پژوهش علف های هرز، جلد ۱، شماره ۲، صص ۸۳-۱۰۰.
۴. مهدی نژاد، ک.، مهدی نژاد، م. و شریعتی فیض آبادی، ف. ۱۳۹۰. بررسی اثرات سمی غلظت های مختلف علف کش اکسادیارژیل مزارع برنج بر جلبک سبز سندسموس در منابع آبی، مجله علوم زیستی واحد لاهیجان، سال پنجم، شماره دوم، صص ۹۵-۱۰۵.
5. Amanda, L., Charles S.J., Markich, J. L., and Stauber, L.F. 2002. The effect of water hardness on the toxicity of uranium to a tropical freshwater alga (*Chlorella* sp.). *Aquatic Toxicology* 60: 61-73
6. Fairchild, J.F, Ruessler, D.S. and Carlson, A.R. 1998. Comparative sensitivity of five species of macrophytes and six species of algae to atrazine, metribuzin, alachlor, and metolachlor. *Environmental Toxicology and Chemistry* 17:1830-1834
7. Fargaova, A. 1994. Toxicity determination of plant growth hormones on aquatic alga, *Scenedesmus quadricauda*. *Environmental Contamination and Toxicology* 52:706-711
8. Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical, 295pp.
9. Lurling, M. and Roessink, I. 2006. On the way to cyanobacterial blooms: Impact of the herbicide metribuzin on the competition between a green alga (*Scenedesmus*) and a

- cyanobacterium (*Microcystis*). *Chemosphere* 65:618–626
10. Ma, J., 2002. Differential sensitivity to 30 herbicides among populations of two green alga *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa*. *Environmental Contamination and Toxicology* 68: 275–281.
 11. Ma, J., Lin, F., Wang, S. and Xu, L., 2004. Acute toxicity assessment of 20 herbicides to the green alga *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. *Environmental Contamination & Toxicology* 72: 1164–1171
 12. Mallick, N. and Mohn, F.H. 2003. Use of chlorophyll fluorescence in metal-stress research: a case study with the green microalga *Scenedesmus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 55: 64–69
 13. Martinez, M.P., Chakroff, J.B.P. 1975. Direct phytoplankton counting technique using using the hemacytometer. *Philippine Agriculture Science* 59: 43-50.
 14. Nichols, H.W. 1973. Growth media–freshwater. In: Stein, J. R. (Editor), *Handbook of Phycological Methods–Culture Methods and Growth Measurements*, Cambridge University Press Cambridge, p. 7–24.
 15. Kasai, F., Hatakeyama, S. 1993. Herbicide susceptibility in two green algae, *Chlorella vulgaris* and *Selenastrum capricornutum*. *Chemosphere* 27: 899-904.
 16. Kent, R.A., Currie, D. 1995. Predicting algal sensitivity to a pesticide stress. *Environmental Toxicology and Chemistry* 14: 983-991.
 17. Omori, M., Ikeda, T. 1984. *Methods in Marine Zooplankton Ecology*. John Wiley and Sons Inc., New York, 332pp.
 18. Parsons, T.R. Maita, Y., Lalli, C.M. 1984. *A manual of chemical and biological methods for seawater analysis*. Pergamon Press, Oxford, 173 pp.
 19. Peterson, H.G., Boutin, C., Martin, P.A., Freemark, K.E., Ruecker, N.J. and Moody, M.J. 1994. Aquatic phyto-toxicity of 23 pesticides applied at expected environmental concentrations. *Aquatic Toxicology* 28: 275–292.
 20. Prado, R. D., Jorin, J. and Torres, L.G. 1997. *Weed and Crop Resistance to Herbicide*. Kluwer Academic Publishers.
 21. Rai, L.C., Gaur, J. P. and Kumar, H. D .1981. Phycology and heavy metal pollution. *Biological Reviews* 56: 99-151.
 22. Rojickova-Padrtova, R., Marsalek, B. 1999. Selection and sensitivity comparisons of algal species for toxicity testing. *Chemosphere* 38: 3329-3338.
 23. Sivasubramanian, V., Subramanian, V., Muthukumar, M. and Murali, R. 2012. Algal technology for effective reduction of total hardness in wastewater and industrial effluents. *Phykos* 42: 51– 58
 24. Weed Society of America. 1994. *Herbicide Handbook*, 6th ed. Champaign, IL, USA.
 25. Wong, P.K. 2000. Effects of 2, 4-D glyphosate and paraquat on growth, photosynthesis and chlorophyll a synthesis of *Scenedesmus quadricauda* Berb. *Chemosphere* 41:177-182

The Combined Effect of Water Hardness and Metribuzin Herbicides on Some Population Parameters of Microalgae *Scenedesmus quadricauda*

Farhadian O., Pirali Zeferei A.R. and Molaei H.

Natural Resources Dept., Isfahan University of Technology, Isfahan, I.R. of Iran

Abstract

Metribuzin (Met) is a triazinone herbicide that is widely used for the control of grasses and easily arrived to aquatic ecosystems. Met has different biological effects in the various waters with different water hardness. In this research, combined effects of different water hardness (0, 50, 150, and 200 mg/l as CaCO₃) and Met (0, 1, 5 and 10 mg/l) were investigated on population dynamic, growth, and chlorophyll *a* in green microalgae *Scenedesmus quadricauda* under laboratory conditions of temperature of 22±2 °C, photoperiod of 12 hours light : 12 hours dark, and light intensity of 80 μmol photons/m²/s. The experiment was carried out as completely randomized design with three replications for a 14 days period. Results showed that the maximum population density was obtained at hardness of 200 mg/L CaCO₃ and 0, 1 and 5 mg/l of Met while the highest amount of chlorophyll *a* was 6.73 mg/L at hardness of 150 mg/L CaCO₃ and 0 mg/l of Met that had significant differences with other treatments. For chlorophyll *a* content, there were not significant differences among 0, 1, 5 and 10 mg/l of Met at hardness of 0 while significant and considerable reduction was observed due to different hardness. Generally, the suitable hardness for *S. quadricauda* was obtained 150 mg/L CaCO₃. In addition, this study illustrated that *S. quadricauda* has capability of growth on high concentration of Met and low (or without) water hardness.

Key words: Metribuzin, Water Hardness, Green algae, *Scenedesmus quadricauda*