فصلنامه علمی پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال ششم، شماره 21، بهار 1396، صفحه 95 83
تاریخ دریافت: 1394/05/11 – تاریخ پذیرش: 1395/02/21

# ارزیابی آثار حشره‌کش و علف‌کش‌های مختلف بر جمعیت جلبک سبز *سندسموس کواردیکودا (Scenedesmus quadricauda)*

**احمدرضا پیرعلی زفره ئی** *: دانشجوی دکتری تولید وبهره برداری آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،ایران، ahmadreza.pirali@gmail.com
**امید دوار فرهادیان:** دانشیار شیلات، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران، omfarhad@cc.iut.ac.ir

Archive of SID

## چکیده

**مقدمه:** ورود سموم کشاورزی به اکوسیستم‌های آبی که ممکن است به‌دلیل مصرف بی‌رویهٔ آنها باشد، می‌تواند باعث آثار مخربی بر جمعیت گونه‌های آبزی شود. جلبک‌ها به طیف وسیعی از آلودگی از قبیل علف‌کش‌ها، فلزات وآفت‌کش‌های ارگانوکلر و مواد آلی صنعتی حساسیت نشان می‌دهند؛ بنابراین استفاده از آنها برای بررسی این آلودگی‌ها مرسوم است. این پژوهش با هدف بررسی آثار سموم کشاورزی در دو گروه حشره کش (مالاتیون و دیازینون) وعلف کش (ماچتی و ساترن) در غلظت‌های مختلف بر جمعیت جلبک سبز *سندسموس کواردیکودا* (*Scenedesmus quadricauda*) به‌همراه تعیین غلظت مؤثر ($EC_{50}$96 ساعته) برای هرکدام است.

**مواد و روش‌ها:** آزمایش در مدت 96 ساعت با 4 غلظت و ۳ تکرار برای هر سم به همراه شاهد براساس روش استاندارد (O.E.C.D)، در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارها با محیط کشت BBMدر شرایط نوری 12 ساعت تاریکی و12 ساعت روشنایی و شدت نور 60 میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه در دمای 2±21 درجه سانتیگراد قرار داده شد.

**نتایج:** اختلاف معنی‌دار در رشد روزانه ($p<0/05$) بین برخی از غلظت‌های مختلف در هریک از سموم موردمطالعه مشاهده شد. به‌طوری که افزایش غلظت سموم باعث کاهش معنی‌داری در تراکم سلولی شد. بیشترین درصد تلفات در علف کش ها مربوط به ساترن در غلظت 52/81 میکروگرم بر لیتر و ماچتی در غلظت 58/36 میکروگرم بر لیتر، در حشره‌کش ها مربوط به مالاتیون در غلظت 63/73 میکروگرم بر لیتر و دیازینون در غلظت 6/087 میکروگرم بر لیتر است. همچنین میزان $EC_{50}$ 96ساعته به‌ترتیب برای دیازینون 174/234 میکروگرم بر لیتر، مالاتیون 9/858 میکروگرم بر لیتر، ماچتی 1/9 میکروگرم بر لیتر، ساترن 1/029 میکروگرم بر لیتر تعیین شد.

**بحث و نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج این مطالعه از (*Scenedesmus quadricauda*) می‌توان به‌عنوان یک شاخص بیولوژیکی در منابع آبی استفاده کرد؛ درنتیجه نیاز به مطالعات دقیق وگسترده‌تری دارد.

**واژه‌های کلیدی:** حشره‌کش، علف‌کش، $EC_{50}$، جلبک سبز، (*Scenedesmus quadricauda*)

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات

Copyright©2017, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0/), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

**مقدمه**

امروزه توسعهٔ کشاورزی، گسترش سطح زیر کشت و درنتیجه افزایش مصرف سموم کشاورزی باعث شده که منابع آبی در معرض خطر آلودگی سموم کشاورزی قرار گیرند که درنهایت این آلودگی‌ها به رودخانه‌ها، تالاب‌ها، دریاچه‌ها، دریاها و اقیانوس‌ها انتقال می‌یابند (1). هنگامی که محیط‌های آبی به طرق مختلف آلوده می‌شوند، آثار زیان‌بار این آلودگی‌ها پایه‌های اصلی در زنجیرهٔ غذایی یعنی فیتوپلانکتون‌ها و زئوپلانکتون‌ها را تهدید جدی می کنند (2). جلبک‌ها مواد آلی و انرژی موردنیاز بی‌مهرگان و ماهی ها را در بیشتر اکوسیستم‌های آبی فراهم می‌کنند، استفاده زیاد از سموم کشاورزی آثاری را بر ارگانیسم‌های غیرهدف ازجمله جلبک‌ها می‌گذارد و از طرفی واکنش جلبک‌ها به مواد شیمیایی سمی خیلی گسترده است (3). شناسایی آثار توکسیکولوژیکی یک مادهٔ شیمیایی در موجودات، تحت شرایط آزمایشگاهی اغلب راحت‌تر از شناسایی این آثار در جمعیت‌های موجود در طبیعت است؛ زیرا این آثار توسط شرایط فیزیولوژیکی موجود در سیستم‌های آزمایشگاهی کنترل می‌شود (4). به‌دلیل اینکه جلبک‌ها حساسیت خود را به طیف‌های وسیع آلودگی از قبیل علف‌کش‌ها، فلزات و آفت‌کش‌های ارگانوکلر و مواد آلی صنعتی نشان می‌دهند، از آنها برای بررسی این آلودگی‌ها استفاده می‌کنند (5). جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* قابلیت استفاده برای نشان‌دادن تأثیرات آلایندگی علف‌کش‌ها در محیط‌های آبی را دارد. مطالعاتی در ارتباط با سمیت ترکیبات ارگانیک و غیرارگانیک بر جلبک *Scenedesmus quadricauda* صورت گرفته است که علت آن فراوانی این جلبک در محیط‌های آب شیرین و اینکه از اجزای اصلی در زنجیرهٔ غذایی آب شیرین است (6). حساسیت‌های گوناگون در جلبک‌ها به سموم مختلف می‌تواند سبب تغییرات در جوامع جلبکی شود و ممکن است منجر به تغییرات در کارکرد و ساختارها در اکوسیستم‌های آبی بشود (7)؛ بنابراین از *Scenedesmus quadricauda* می‌توان به‌عنوان بیوانديکاتور مناسب برای آلایندگی سموم در محیط‌های آبی استفاده کرد (3). ارزیابی‌ها نشان می‌دهد که حداکثر یک‌درصد آفت‌کش‌های مصرفی، صرف ازبین‌بردن آفات می شود و درنتیجه مقادیر هنگفتی از آنها وارد محیط زیست می شوند و منابع آبی و خاکی را آلوده می کنند (8)؛ بنابراین شناسایی این سموم در آب و مواد غذایی و محیط زیست انسان خطری برای سلامتی او به شمار می‌رود (9). در حال حاضر، باقیماندهٔ آفت‌کش‌ها از آلاینده‌های مهم محیطی در تمامی نقاط دنیا شناخته شده است (10). سموم علف‌کش ازجملهٔ پرمصرف‌ترین آفت‌کش‌ها به حساب می آیند؛ به‌طوری که حدود 60درصد سموم مصرف‌شده را سموم علف‌کش به خود اختصاص می‌دهند. بعد از علف‌کش‌ها، حشره‌کش‌ها بیشترین سهم مصرف (25درصد) را دارند، قارچ‌کش‌ها از دیگر گروه‌های سموم آفت‌کش به حساب می‌آیند که در حدود 16درصد مصرف سالیانه را به خود اختصاص می‌دهند (11). از گروه حشره‌کش‌های ارگانوفسفره مالاتیون با فرمول شیمیایی $C_{10}H_{19}O_6PS_2$ را اولین بار در سال 1956 در امریکا و دیازینون با فرمول شیمیایی $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$ را در سال 1952 شرکت سوئیسی سیبا جیجی[1] به‌عنوان جایگزینی برای حشره‌کش DDT

Archive of SID

www.SID.ir

تولید کرد (12). ارگانوفسفره‌ها جزء نوروتوکسین‌های بسیار سمی هستند، مکانیسم سمیت این نوع ترکیبات به‌صورت مهار آنزیم استیل کولین‌استراز[2] است (12). با توجه به مصرف فراوان سموم ارگانوفسفره برای مقاصد کشاورزی و آثار مخرب این ترکیبات بر محیط زیست، خصوصاً اکوسیستم‌های آبی، شناسایی و اندازه‌گیری باقیماندهٔ این سموم در نمونه‌های آبی ضروری است (13). علف کش بوتاکلر (ماچتی) با فرمول شیمیایی $C_{17}H_{26}ClNO_2$ از گروه کلرواستامیدها و در سال 1968 را شرکت مونسانتو[3] در امریکا به صورت تجاری درآورد؛ بوتاکلر با نام تجاری ماچتی در ایران تولید شده و در سال 1351 برای برنج به ثبت رسیده است (14). علف‌کش ماچتی یک بازدارندهٔ رشد (تقسیم سلولی) ازطریق جلوگیری از سنتز پروتئین با جلوگیری از سنتز اسیدهای چرب با زنجیر بسیار بلند است و برای مبارزه با علف‌های هرز یک‌سالهٔ کشیده‌برگ و بعضی پهن‌برگ‌ها در زراعت برنج، قبل از رویش در مزارع به کار برده می‌شود. اثر این سم به میزان آبی که در دسترس گیاه بستگی دارد (15). ساترن (بنتیوکارب) با فرمول شیمیایی $C_{12}H_{16}ClNOS$ علف‌کشی است از گروه کاربامات‌ها و بازدارندهٔ آنزیم *استیل کوآنزیم آکربوکسیلاز*[4]، یکی از آنزیم‌های اولیه در ساخت اسیدهای چرب و با نام تجاری ساترن در کشورمان شناخته می شود که آن را در سال 1970 برای اولین بار شرکت کومیای[5] معرفی کرد (14). جنس *Scenedesmus* در زمینه‌های مختلف لیمنولوژی معادل موش‌های آزمایشگاهی مطرح و کاربرد فراوانی در علوم تحقیقاتی دارند. این جلبک‌ها معمولاً به‌عنوان میکروارگانیسم‌های استاندارد در بسیاری از تحقیقات آبی، تکنولوژی و مدیریت آب‌ها مطرح هستند (16).

آزمایش سمیت در جلبک‌ها را پیش از این در سال 1910 آلن و نلسون[6] استفاده کردند (17)؛ اما اولین روش استاندارد به‌وسیلهٔ جلبک‌های آب شیرین در سال 1960 توسعه داده شد. این روش با استفاده از گونهٔ *Selenastrum capricornutum* را اسکولبرگ[7] آغاز کرد (18) و بعدها آن را آژانس حفاظت محیط زیست امریکا[8] تحت‌عنوان پروتکل آزمایش جلبک به‌روش بطری[9] توسعه داد (19). امروزه آزمایش سمیت در جلبک‌ها با استفاده از روش استاندارد (O.E.C.D[10]) صورت می‌گیرد (20). باتوجه به مطالعات محدود در ایران در زمینهٔ تأثیر سموم کشاورزی بر جلبک‌ها، هدف از این پژوهش بررسی آثار این دسته از سموم مورداستفاده در مزارع کشاورزی و شالیزارها، در دو گروه حشره‌کش (مالاتیون ودیازینون)، علف‌کش (ماچتی و ساترن) بر جلبک سبز *سندسموس کواردیکودا Scenedesmus quadricauda* با تأکید بر برآورد پویایی جمعیت و رشد و تعیین غلظت مؤثره[11] برای هریک از سموم فوق است.

## مواد و روش‌ها

**تهیهٔ ذخیرهٔ اولیه و خالص‌سازی جلبک:** جلبک موردآزمایش *Scenedesmus quadricauda* متعلق به جنس *Scenedesmus* تیرهٔ Acenedesmaceae و راستهٔ Chlorochocales از جلبک‌های سبز Chlorophyta است (21). جمع‌آوری جلبک *S. quadricauda* از آب استخرهای خاکی کارگاه پرورش ماهیان مرکز تکثیر و پرورش اصفهان صورت گرفت. جلبک *سندسموس* پس از شناسایی، با کشت روی آگار خالص‌سازی شد. پس از اطمینان از خالص‌سازی، جلبک *Scenedesmus quadricauda* در ارلن مایرهای

Archive of SID

www.SID.ir

دولیتری با محیط کشت BBM[12] مخصوص جلبک های آب شیرین جهت ذخیرهٔ اولیهٔ کشت داده شد. ترکیب محیط کشت BBM مورداستفاده در این پژوهش شامل $NaNO_3$ (25 گرم)، $K_2HPO_4$ (10 گرم)، $KH_2PO_4$ (15 گرم)، $MgSO_4.\ 7H_2O$ (7/5 گرم)، NaCl (2/5 گرم)، $CaCl_2$ (2/5 گرم)، $MnCl_2$ (1/44 گرم)، $ZnSO_4$ (8/82 گرم)، $MoO_3$ (0/71 گرم)، $Co(NO_3)_2.\ 6H_2O$ (0/49 گرم)، $H_3BO_4$ (11/4 گرم)، KOH (31 گرم)، $FeSO_4.\ 7H_2O$ (4/98 گرم) و EDTA (50 گرم) که تماماً در یک لیتر آب مقطر ریخته شد و pH آن را قبل از اتوکلاو کردن با استفاده از HCl 0/1 نرمال و یا NaOH 0/1 نرمال در 6/8 تنظیم شد (22).

**تهیهٔ سموم موردآزمایش:** سموم استفاده‌شده در این پژوهش به‌ترتیب علف‌کش‌های ساترن 50درصد ساخت شرکت شیمیایی مشکفام فارس و ماچتی60درصد ساخت مجتمع صنعتی رجاشیمی، حشره‌کش‌های دیازینون60درصد و مالاتیون 57درصد ساخت آریاشیمی هستند. نظر به اینکه این سموم در مزارع کشاورزی و شالیزارها به‌طور وسیعی استفاده می‌شوند، برای این پژوهش تعیین و خریداری شد.

**نحوهٔ انجام آزمایش:** طول دورهٔ آزمایش تعیین غلظت مؤثره 96 ساعت است و میزان مرگ‌ومیر در زمان‌های 24، 48، 72 و 96 ساعت محاسبه می‌شود. شایان ذکر است محاسبهٔ غلظت مؤثره براساس بایومس (تراکم سلول‌ها) صورت گرفت که تعداد مرگ‌ومیر (تلفات) از زمان القای سم تا 24 ساعت، مرگ‌ومیر روز اول و بدین ترتیب تا روز چهارم محاسبه می‌شود. پس از آزمایش‌های اولیهٔ تیمارهای نهایی براساس تصاعد هندسی برای هر سم 4 تیمار و 1 شاهد تعین شد. شامل غلظت‌های 0، 60/87، 6/087، 0/6087 و 0/06087 میکروگرم بر لیتر برای حشره‌کش دیازینون، غلظت‌های 0، 63/73، 6/373، 0/6373 و 0/06373 میکروگرم بر لیتر برای حشره‌کش مالاتیون، غلظت‌های 0، 836/36، 5836/58، 0/5 و 0/05836 میکروگرم بر لیتر برای علف‌کش ماچتی، غلظت‌های 0، 52/81، 5/281، 0/5281 و 0/05281 میکروگرم بر لیتر برای علف‌کش ساترن با 3 تکرار در هر تیمار تعیین شد. تیمارها در لوله‌های آزمایش 10میلی لیتری همراه با محیط کشت BBM در شرایط نوری 12 ساعت تاریکی و 12 ساعت روشنایی و شدت نور 60 میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه در دمای 2±21 درجه سانتیگراد قرار داده شد. شمارش روزانهٔ جلبک‌ها از هر لوله به‌وسیلهٔ لام هموسایتومتر (0/2 × 0/0625 میلیمتر) و میکروسکوپ اینورت[13] براساس روش مارتینز و چاکروف در سال 1975 انجام شد (23). تعیین غلظت مؤثرهٔ نمونه‌ها با توجه به استاندارد O.E.C.D جهت ارزیابی سمیت در جلبک‌ها و آنالیز پروبیت[14] استفاده شد. میزان حداکثر غلظت مجاز[15] (میزان غلظت مؤثره 96ساعته تقسیم بر 10) که به‌عبارتی غلظت غیرمؤثر[16] نیز خوانده می‌شود و درجه سمیت طبق جداول استاندارد (2 3) مشخص شد (20).

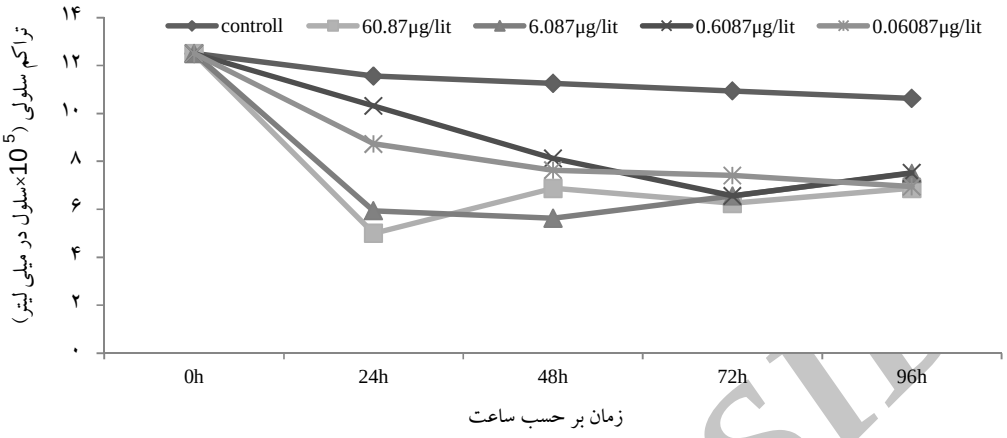
**آنالیز آماری:** آنالیز آماری داده‌ها با آزمون واریانس یک‌طرفه[17] و ارزیابی احتمال معنی‌داربودن میانگین داده ها با آزمون دانکن[18] در سطح اطمینان 95درصد ($p<0/05$) تعیین شد. کلیهٔ آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخهٔ ۱۶ و رسم نمودارها با استفاده از برنامهٔ Excell 2013 انجام شد.

## نتایج

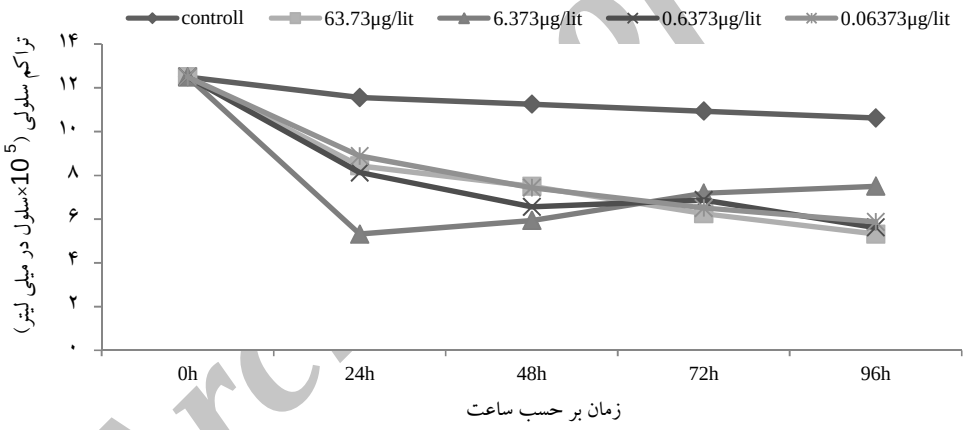
Archive of SID

www.SID.ir

نمودارهای پویایی جمعیت برحسب تراکم سلولی( ساعت) به‌ترتیب در شکل 1 4 آورده شده است.
از زمان القای سموم به هر تیمار تا 24، 48، 72 و 96



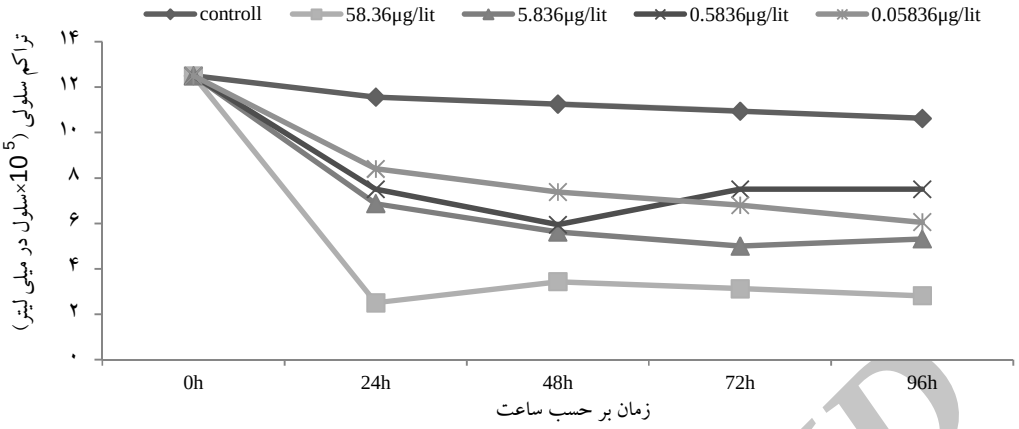

شکل 1 تغییرات پویایی جمعیت جلبک *S. quadricauda* در غلظت‌های مختلف دیازینون طی 96 ساعت



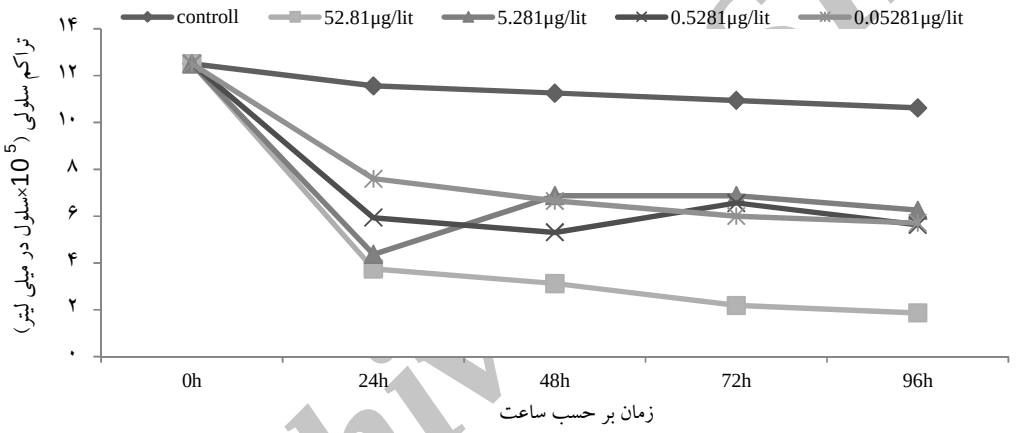

شکل 2 تغییرات پویایی جمعیت جلبک *S. quadricauda* در غلظت‌های مختلف مالاتیون طی 96 ساعت

Archive of SID

www.SID.ir




شکل3 تغییرات پویایی جمعیت جلبک *S. quadricauda* در غلظت‌های مختلف ماچتی طی96 ساعت




شکل4 تغییرات پویایی جمعیت جلبک *S. quadricauda* در غلظت‌های مختلف ساترن طی96 ساعت

بررسی نمودارهای پویایی جمعیت (شکل4 1) نشان می‌دهد بیشترین و کمترین تراکم سلول‌های جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* در حشره‌کش دیازینون مربوط به غلظت‌های 0/6087 میکروگرم در لیتر ($10/3\times10^5$سلول در هرمیلی لیتر) و 60/87 میکروگرم در لیتر ($5\times10^5$سلول در هر میلی‌لیتر) است. در حشره‌کش مالاتیون بیشترین و کمترین تراکم سلول‌های جلبک مربوط به غلظت‌های 0/0637 میکروگرم در لیتر ($8/88\times10^5$سلول در هر میلی‌لیتر) و 6/373 میکروگرم در لیتر ($5/3\times10^5$سلول در هر میلی‌لیتر) است. در علف‌کش ماچتی بیشترین و کمترین تراکم سلول‌های جلبک مربوط به غلظت‌های 0/05836 میکروگرم در لیتر ($8/4\times10^5$سلول در هر میلی‌لیتر) و 58/36 میکروگرم در لیتر ($2/5\times10^5$سلول در هر میلی‌لیتر) است. در علف‌کش ساترن بیشترین و کمترین تراکم سلول‌های جلبک مربوط به غلظت‌های 0/05281 میکروگرم در لیتر ($7/6\times10^5$سلول در هر میلی‌لیتر) و 52/81 میکروگرم در لیتر ($1/87\times10^5$ سلول در هر میلی‌لیتر) است. نتایج آنالیز آماری نیز نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار در رشد روزانه ($p<0/05$)

Archive of SID

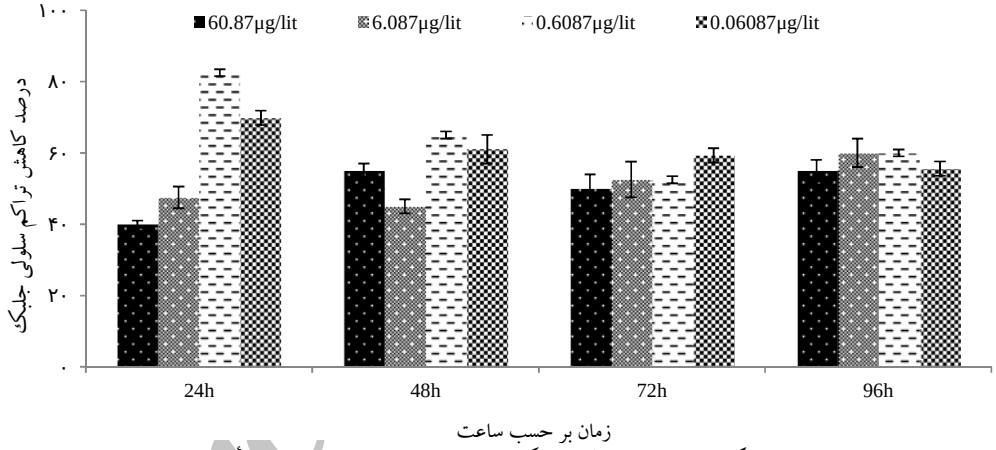
www.SID.ir

بین برخی از غلظت های مختلف در هر یک از سموم موردمطالعه بود. به طوری که افزایش غلظت سموم باعث تغییرات معنی‌داری ($p<0/05$) در تراکم سلولی می شود. در شکل‌های 4 و 5 به‌ترتیب میانگین درصد تغییرات سلول‌های جلبک سبز *سندسموس کواردیکودا* نسبت به سلول‌های اولیه تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف سموم موردمطالعه آورده شده است.

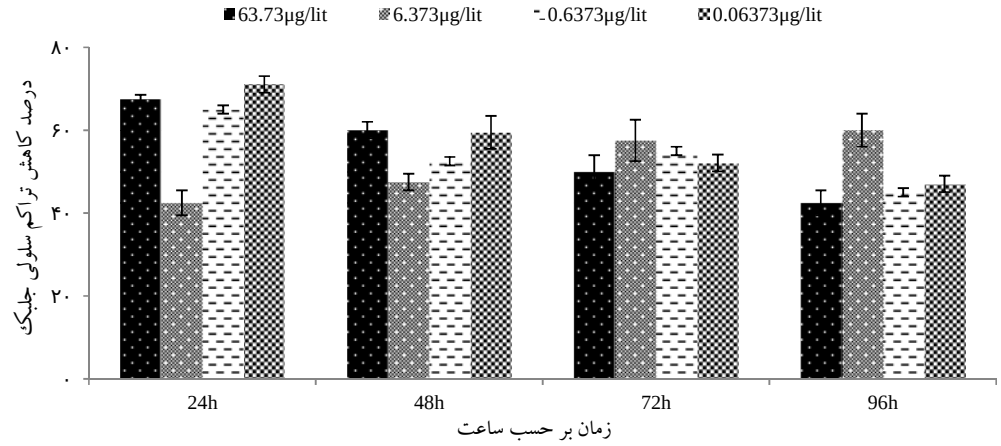
طبق شکل‌های 4 و 5 بیشترین کاهش سلول جلبک در گروه علف‌کش‌ها مربوط به ساترن در غلظت 52/81 میکروگرم بر لیتر و ماچتی در غلظت 58/36 میکروگرم بر لیتر، در گروه حشره‌کش‌ها مربوط به مالاتیون در غلظت 63/73 میکروگرم بر لیتر و دیازینون در غلظت 6/087 میکروگرم بر لیتر است. در جدول 1 غلظت‌های مؤثرهٔ 96ساعته هر یک از سموم گزارش شده است.

جدول 1 غلظت‌های مؤثرهٔ سموم

| سم | $EC_{50}$ 96ساعته 0 |
|---|---|
| دیازینون | 174/234 میکروگرم بر لیتر |
| مالاتیون | 9/858 میکروگرم بر لیتر |
| ماچتی | 1/9 میکروگرم بر لیتر |
| ساترن | 1/029 میکروگرم بر لیتر |

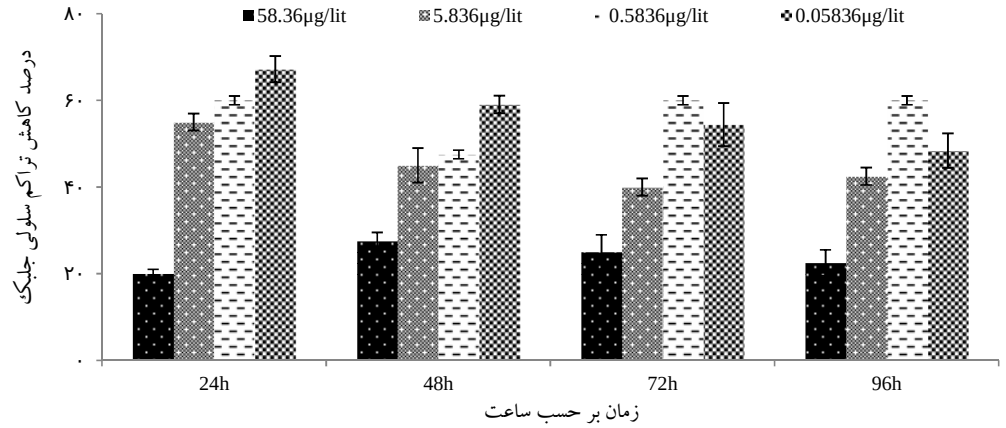



شکل 5 درصد تغییرات سلول‌های جلبک سبز *سندسموس کواردیکودا* نسبت به سلول‌های اولیه تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف دیازینون

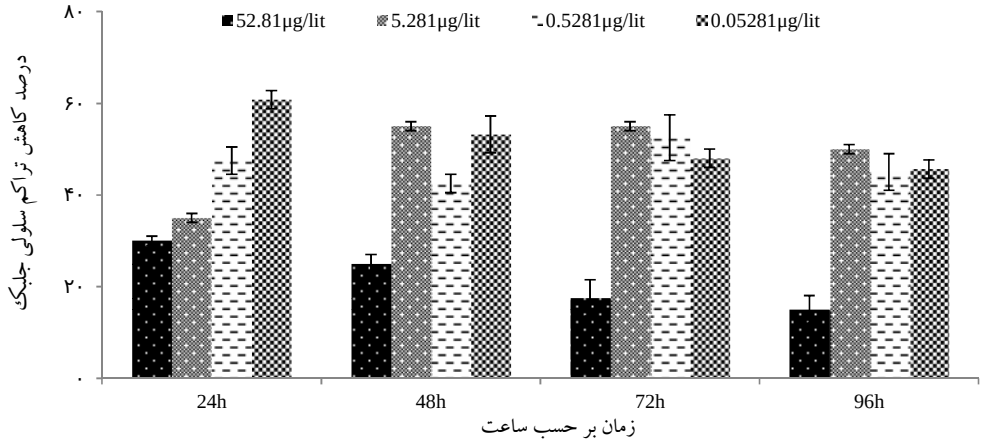



www.SID.ir

شکل 6 درصد تغییرات سلول‌های جلبک سبز *سندسموس کواردیکودا* نسبت به سلول‌های اولیه تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف مالاتیون




شکل 7 درصد تغییرات سلول‌های جلبک سبز *سندسموس کواردیکودا* نسبت به سلول‌های اولیه تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف ماچتی




شکل 8 درصد تغییرات سلول‌های جلبک سبز *سندسموس کواردیکودا* نسبت به سلول‌های اولیه تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف ساترن

براساس استاندارد آب آشامیدنی اتحادیهٔ اروپا حداکثر غلظت مجاز آفت‌کش‌ها در منابع آبی 0/5 میکروگرم بر لیتر است (24). میزان غلظت مؤثرهٔ دیازینون در طی چهار روز متوالی (96 ساعت) برای 50درصد از جمعیت جلبک *سندسموس کواردیکودا* 174/234 میکروگرم بر لیتر(جدول 1) و حداکثر غلظت مجاز این سم یا به‌عبارتی غلظت غیرمؤثر 17/423 میکروگرم بر لیتر به دست آمد. میزان غلظت مؤثرهٔ مالاتیون در طی چهار روز متوالی (96 ساعت) 9/858 میکروگرم بر لیتر و حداکثر غلظت مجاز آن 0/985 میکروگرم بر لیتر است. میزان غلظت مؤثرهٔ ماچتی در طی چهار روز متوالی (96 ساعت) 1/9 میکروگرم بر لیتر و حداکثر غلظت مجاز 0/19 میکروگرم بر لیتر است. میزان غلظت مؤثرهٔ ساترن در

www.SID.ir

طی چهار روز متوالی (96 ساعت) 1/029 میکروگرم بر لیتر و حداکثر غلظت مجاز 0/102 میکروگرم بر لیتر است.

**بحث و نتیجه‌گیری**

در مطالعه سمیت کوتاه‌مدت یا حاد[19] دو متغیر حائز اهمیت است؛ یکی میزان پاسخ موجود زنده به سم که به‌صورت مرگ‌ومیر اندازه‌گیری می‌شود و دیگری غلظت سم مورداستفاده یا غلظت‌های مختلف (13). امروزه با افزایش کاربرد بسیاری از ترکیبات شیمیایی در بخش‌های کشاورزی و صنعتی در دنیا ضروری است روش‌های سنجش و تعیین مقادیر سمیت این‌گونه ترکیبات نیز توسعه پیدا کند. در مرحلهٔ نخست، سمیت حاد این مواد بر جلبک‌ها، ماهی‌ها و دیگر موجودات زنده باید ارزیابی شود تا خطرهای ناشی از مواجهه با آنها مشخص شوند (25). بررسی میزان رشد جلبک *Scenedesmus quadricauda* طبق شکل 1 6 نشان می‌دهد جلبک *S. quadricauda* دربرابر حشره‌کش دیازینون در غلظت 60/87 میکروگرم بر لیتر بعد از 24ساعت و در غلظت 0/6087 میکروگرم بر لیتر بعد از 48 ساعت توانایی غلبه بر شرایط موجود را داشته و به رشد خود ادامه داده است. درمورد حشره‌کش مالاتیون نیز در غلظت‌های 6/373 و 0/6373 میکروگرم بر لیتر بعد از 24 ساعت مشابه حالت قبل، اقدام به بازسازی جمعیت خود با تقسیم سلولی و درنهایت رشد کرده است؛ از دلایل این امر جدا از مقاوم‌بودن جلبک *S. quadricauda* طبق مطالعهٔ حاضر[20]، می‌توان به حل‌نشدن این گروه از آفت‌کش‌های ارگانوفسفره در آب و عملکرد این گروه، مهارکنندهٔ آنزیم *استیل‌کولین‌استراز* در سیستم عصبی اشاره کرد. هرچند این نوع حشره‌کش‌ها برای جلبک‌ها از اکثر ارگانوکلره‌ها کمتر سمی‌اند (26)؛ اما استفادهٔ وسیع از سموم ارگانوفسفره و در معرض قرارگرفتن متعاقب با جمعیت‌های آبزی ممکن است تهدیدی جدی برای رشد جلبک‌ها و تنوع جمعیت ایجاد کند (27). در علف‌کش‌های ماچتی و ساترن نیز طی 24 و 48 ساعت به‌ترتیب در غلظت‌های 58/36، 5/836، 0/5836، 0/5281 و 0/05281 میکروگرم بر لیتر شاهد نوساناتی با توجه به نقش بازدارندگی رشد (تقسیم سلولی) توسط این علف‌کش‌ها در جمعیت جلبک *S. quadricauda* هستیم. در مطالعات جفروی[21] و همکاران علف‌کش فلومیگزانین[22] بطورشدیدی باعث بازدارندگی رشد *Scenedesmus obliquus* با کاهش تقسیم سلولی شده است(28). نتایج استفاده از علف کش اکسی فلورفن[23] و دیوران[24] در مطالعات جفروی وهمکاران نشان داد که شدیداً مانع رشد *Scenedesmus obliquus* شده است (29). در مطالعات ونگ[25] در حضور غلظت کم علف‌کش‌های 2,4 D یا گلیفسات[26] باعث تحریک رشد *S. quadricauda* شده است و در غلظت‌های بیشتر (200 و 20 میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب برای 2,4 D و گلیفسات) رشد کاملاً متوقف شد و درنتیجه کاهش یا افزایش در غلظت سم باعث تحریک یا توقف رشد جلبک می‌شود (6). سموم و علف‌کش‌های مختلف به‌گونه‌ای طراحی و ساخته می‌شوند که بتوانند به‌صورت انتشار از غشای سلولی عبور کنند. این مواد پس از ورود به سلول معمولاً فرآیندهای متابولیسمی سلول مانند فتوسنتز، تنفس و فرایندهای بیوسنتزی را هدف قرار می‌دهند (29). علف‌کش‌ها در غلظت‌های بالا باعث کاهش کلروفیل

Archive of SID

www.SID.ir

جلبک و غشای سلولی آن را متلاشی و تأثیر منفی بر رشد سلولی و فتوسنتز جلبک‌ها می‌گذارند. معمولاً سمیت سم در ارگانیسم هدف به دو عامل بستگی دارد: نفوذ ازطریق غشای بیولوژیکی و اثر متقابل سم در مکان اثر(30). جانقانز[۲۷] و همکاران مشاهده کردند تفاوت مقادیر غلظت مؤثره در علف‌کش‌های گروه کلرواستامید در جلبک سبز *Scenedesmus vacuolatus* به‌شدت با مولکول‌های لیپوفلیسیته (چربی‌دوست) علف‌کش‌ها در ارتباط است (31). همچنین در مطالعات بونت[۲۸] و همکاران مشخص شد که بین سمیت و آب‌گریزی در چند نوع علف‌کش و نحوهٔ اثرشان بر گیاهان آبزی و جلبک ارتباط معنی‌داری وجود دارد (32). سموم ارگانوفسفره به‌لحاظ ممانعت از فعالیت آنزیم *استیل کولین استراز*، سموم ارگانوکلره ازنظر امکان تجمع در بدن موجودات زنده و افزایش غلظت در زنجیرهٔ غذایی و سموم کارباماته به‌لحاظ آثار جهش‌زایی و تأثیر بر سیستم اعصاب مرکزی بسیار مهم هستند (10). طبق جداول 2 3 و با توجه به مقادیر حداکثر غلظت مجاز می‌توان درجهٔ سمیت سموم موردآزمایش برای جلبک *Scenedesmus quadricauda* در این مطالعه را تعیین کرد. بدین ترتیب سموم دیازینون، مالاتیون در درجهٔ غیرسمی، سموم ماچتی، ساترن در درجهٔ سمیت کم برای جلبک *سندسموس کواردیکودا* قرار می‌گیرند. متأسفانه اطلاعات چندانی دربارهٔ آثار سمیت حشره‌کش‌ها بر جلبک *S. quadricauda* در دسترس نیست. درمورد آزمایشات سمیت علف‌کش‌های مختلف بر گونه‌های جنس *سندسموس* (*Scenedesmus* spp.)، جانقانز و همکاران مقدار غلظت مؤثره برای علف‌کش متاکلر در جلبک *Scenedesmus vacuolatus* ۲۳۲ میکروگرم بر لیتر (31)، ما وهمکاران مقدار غلظت مؤثره برای علف‌کش بوتاکلر در جلبک *Scenedesmus quadricauda* 0/2 میلی‌گرم بر لیتر (7)، هی[۲۹] و همکاران مقدار غلظت مؤثره برای علف‌کش بوتاکلر در جلبک *Scenedesmus obliquus* 2/31 میلی‌گرم بر لیتر (33)، نیستروم[۳۰] و همکاران مقادیر غلظت مؤثره برای علف‌کش‌های کلروسولفورون و مت‌سولفورون‌متیل در جلبک *Scenedesmus obtusiusculus* به‌ترتیب 10 و 15 میکرومولار (34) و ایبراهیم[۳۱] مقادیر غلظت مؤثره برای علف‌کش گراماکسون در *Scenedesmus dimorphus* 39/8 میکروگرم بر لیتر به دست آورده‌اند (35). اختلاف در مقادیر غلظت مؤثره در آزمایش‌های سمیت در جلبک‌ها تحت‌تأثیر فاکتورهایی نظیر دما، pH، میزان و شدت نور، مدت‌زمان و نحوهٔ انجام آزمایش، تراکم جلبک، نوع سموم، محیط کشت و جلبک مورداستفاده است (36) که بخشی از تفاوت‌ها را توجیه می‌کند. در بررسی مقایسهٔ ارزیابی سمیت در سایر بیواندیکانورها می‌توان به مطالعهٔ اکوتوکسیکولوژی دافنی ماگنا *Daphina magna* تحت‌تأثیر سموم ماچتی، ساترن، دیازینون و مالاتیون که پیری و همکاران انجام داده‌اند اشاره کرد. مقادیر غلظت مؤثره در 24 ساعت برای سموم ذکرشده به‌ترتیب، 18/49، 4/46، 0/31 و 1/5 میلی‌گرم در لیتر به دست آمد و سموم حشره‌کش در کلاس خیلی سمی برای این ارگانیسم ارزیابی شد (37). مقایسه‌ای که پیری و اردگ بین سمیت دافنی ماگنا *Daphina magna* و جلبک *Selenastrum capricornutum* انجام دادند نشان داد حساسیت دافنی در برابر سموم شیمیایی کمتر است و در بین آنها سموم ریلف‌اچ و ساترن سمی‌ترین علف‌کش برای دافنی ماگنا ارزیابی شد

Archive of SID

www.SID.ir

(38). گونه‌های جنس *سندسموس* (*Scenedesmus* spp.) را اغلب برای نشان‌دادن تغییرات فیزیکوشیمیایی و شرایط زیست‌محیطی استفاده می‌کنند و همچنین برای حذف و جذب مواد مغذی یا سموم در اکوسیستم‌های آبی بسیار کاربرد دارد (39). تجزیهٔ آرام و بلندمدت آفت‌کش‌ها در طبیعت و انباشت تدریجی آنها در بدن جاندران یکی از مهم‌ترین مسائل شایانِ‌توجه در استفاده و توسعهٔ آفت‌کش‌ها است. در صورتی که هرگونه آفت‌کش با درنظرگرفتن ویژگی‌های شیمیایی آن به‌طور صحیح استفاده شود، می‌تواند در افزایش عملکرد محصولات کشاورزی و د نتیجه بهبود کیفیت زندگی انسان مؤثر واقع شود؛ در غیر این صورت، ضربات جبران‌ناپذیر بر پیکرهٔ طبیعت وارد خواهد کرد (40)؛ بنابراین با توجه به نتایج این مطالعه و اهمیت و نقش جلبک ها در زنجیرهٔ غذایی (41) در طبیعت و از طرفی تهدید جوامع آبزی با ورود سموم کشاورزی مختلف، مدیریت صحیح و نظارت بر مصرف همراه با کنترل سموم ضروری است. همچنین از *S. quadricauda* می‌توان به عنوان یک شاخص بیولوژیکی در منابع آبی به‌دلیل پاسخ‌های سریع به آلاینده‌ها استفاده کرد و درنتیجه نیاز به مطالعات دقیق و گسترده‌تری دارد.

جدول2 تقسیم‌بندی علف‌کش‌ها براساس میزان سمیت (برحسب میلی‌گرم بر لیتر) (42)

| سطح | درجه سمیت | $EC_{50}$ |
|---|---|---|
| A | غیرسمی | >500 |
| B | سمیت کم | 100 500 |
| C | سمیت متوسط | 10 100 |
| D | سمی | 1 9 |
| E | خیلی سمی | <1 |

جدول3 تقسیم‌بندی حشره‌کش‌ها براساس میزان سمیت (برحسب میلی گرم برلیتر) (43)

| سطح | درجه سمیت | $EC_{50}$ |
|---|---|---|
| A | تقریباً غیرسمی | >100 |
| B | سمیت کم | 10 100 |
| C | سمیت متوسط | 1 10 |
| D | سمیت زیاد | 0/1 1 |
| E | سمیت خیلی زیاد | <0/1 |

**تشکر و قدردانی**

از معاونت پژوهشی دانشگاه صنعتی اصفهان برای فراهم‌آوردن بودجه و امکان پژوهش و همچنین از کارشناسان محترم گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی که نهایت همکاری را در انجام این پژوهش به عمل آوردند، تشکر و سپاسگزاری می‌شود.

**References**

(1) Hela DG., Lambropoulou DA., Konstantinou IK., Albains TA. Environmental monitoring and ecological risk assessment for pesticide contamination and effects in Lake Pamvotis, northwestern Greece. *Environmental Toxicology and Chemistry* 2005; 24(6): 1548-56.

(2) Kardavani P. *Geo Hydrobiology*. Tehran: Tehran University Press; 1995.

(3) Ma J. Differential sensitivity to 30 herbicides among populations of two green alga *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa*. *Environmental Contamination and Toxicology* 2002; 68(1): 275–281.

(4) Kumar A. *Aquatic Environment and Toxicology*. Environment Biology Reserarch Unit. Dumaka: Dumaka University Press; 2003.

(5) Fairchild JF., Ruessler DS., Carlson AR. Comparative sensitivity of five species of macrophytes and six species of algae to atrazine, metribuzin, alachlor, and

Archive of SID

www.SID.ir

(9) FAO/ WHO. *Pesticide residue a food*.Joint FAO/WHO. Available from: http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/2008_JMPR_Evaluations.pdf; 2008.

(10) Abdel-Halim KY., Salama AK., El Khatceb EN., Bakrym NM. Organophosphates pollutants in aquatic environment at Damieta Governorate, Egypt: implication for monitoring and public Health Risks. Washington DC: World Research Institute; 2006.

(11) Edwards JW., Lee SG., Heath LM., Pisaniello DL. Worker exposure and a risk assessment of malathion and fenthion used in the control of Mediterranean fruit fly in South Australia. *Environmental Research* 2007; 103(1): 38 –45.

(12) Tomlin CDS. *The Pesticide Manual - World Compendium*. 11 th ed. British Crop. England:Protection Council Surrey; 1997.

(13) Elia AC., Galarini R., Taticchi MI., Dorr AJ., Mantilacci L. Antioxidant responses

(14) and bioaccumulation in Ictalurusmelas under mercury exposure. *Ecotoxicology and Environmental* Safety 2003; 55(1): 162–167.

(15) Weed Society of America. *Herbicide Handbook*. 6th edition. USA:Champaign IL; 1994.

(16) Zand A., Saremi H. *Herbicides, Biology and Application*. Zanjan: Zanjan University Press; 2002.

(17) Zachleder V., Wittenburg E., Abarzua S. Factors controlling the inhibitory effects of 3, 4-benzo (a) pyrene on the chlorococcal alga *Scenedesmus quadricauda*. *Archiv für Hydrobiologie* 1986; 43(1): 281-296.

(18) Allen EJ., Nelson EW. On the artificial culture of marine plankton organisms. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 1910; 8(1): 421-474.

(19) Skulberg OM. *Algal Problems Related to the Eutrophication of European Water Supplies and a Bio-Assay Method to Assess* metolachlor. *Environmental Toxicology and Chemistry* 1998; 17(1): 1830–1834

(6) Wong PK. Effects of 2,4-D glyphosate and paraquat on growth, photosynthesis and chlorophyll a synthesis of *Scenedesmus quadricauda*. *Chemosphere* 2000; 41(1): 177 182.

(7) Ma J., Lin F., Wang S., Xu L. Acute toxicity assessment of 20 herbicides to the green alga *Scenedesmus quadricauda*. *Environmental Contamination & Toxicology* 2004; 72(1): 1164–1171.

(8) Young AL. *Minimising the risk aociated with peticides minimizing the risk*. ragsdale N., kuhr RJ. (editors). Washington DC: American Chemical Society; 1987.
*Fertilizing Influences of Pollution on Inland Waters*. In: Algae and Man Ed. Jackson DF. NewYork: Plenum Press; 1964: 262-299.

(20) EPA Method 507. *Test Method for Drinking Water and Raw Source Water*. Pesticides Capillary Column. USA: EPA; 1987: 1-6.

(21) O.E.C.D. *Guideline for testing on chemicals. Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test*. USA: OECD; 2006.

(22) Hegewald E., Hanagata N. Validation of the new combinations of Coelastrella and Neodesmus and the description of the new subfamily Desmodesmoideae of the Scenedesmaceae

(23) (Chlorophyta). *Archiv für Hydrobiologie* 2002; 11(143): 7-9.

(24) Nichols HW. Growth media – freshwater. In: Stein JR, (editor). *Handbook of Phycological Methods– Culture Methods and Growth Measurements*. Cambridge: Cambridge University Press; 1973: 7–24.

(25) Martinez MP., Chakroff JBP. Direct phytoplankton counting technique using using the hemacytometer. *Philippine Agriculture Science* 1975; 59(1): 43-50.

Archive of SID

www.SID.ir

(26) Gray NF. *Drinking Water Quality problems and solutions*. NewYork: John Wiley and Sons; 1996.

(27) B rando C., Bohets HL., Vyver IE., Dierickx PJ. Correlation between the in vivo cytotoxicity to cultured fathead minnow fish cells and fish lethality data for 50 chemicals. *Chemosphere* 1992; 25(2): 553-62.

(28) Duttaa HM., Meijerb HJM. Sublethal effects of diazinon on the structure of the testis of bluegill, Lepomis macrochirus: a microscopic analysis. *Environmental Pollution* 2003; 4(1): 355–36.

(29) Doggett SM., Rhodes RG. Effects of a Diazinon Formulation on Unialgal Growth Rates and Phytoplankton Diversity. *Environmental contamination and toxicology* 1991; 47(1): 36-42.

(30) Geoffroy L., Frankart C., Eullaffroy P. Comparison of different physiological parameter responses in *Lemna minor* and *Scenedesmus obliquus* exposed to herbicide flumioxazin. *Environmental Pollution* 2004; 12(131): 234-241.

(31) Geoffroy L., Teisseire H., Couderchet M., Vernet G. Effect of oxyfluorfen and diuron alone and in mixture on antioxidative enzymes of *Scenedesmus obliquus Pesticide Biochemistry and Physiology* 2002; 12(72): 178–185.

(32) McFarland JW. On the parabolic relationship between drug potency and hydrophobicity. *Journal* of *Medicinal Chemistry* 1970; 13(1): 1192–1196.

(33) Junghans M., Backhaus T., Faust M., Scholze M., Grimme LH. Predictability of combined effects of eight chloroacetanilide herbicides on algal reproduction. *Pest Management Science* 2003; 8(59): 1101–1110.

(34) Bonnet JL., Bonnemoy F., Dusser M., Bohatier J. Assessment of the potential toxicity of herbicides and their degradation products to nontarget cells using two microorganisms, the bacteria *Vibrio fischeri* and the ciliate *Tetrahymena pyriformis*. *Environmental Toxicology* 2007; 12(1): 78–91.

(35) He H., Yu J., Chen G., Li W., He J., Li H. Acute toxicity of butachlor and atrazine to freshwater green alga *Scenedesmus obliquus* and cladoceran *Daphnia carinata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2012; 12(80): 91–96

(36) Nystrom B., Bjomsater B., Blanck H. Effects of sulfonylurea herbicides on non-target aquatic micro-organisms Growth inhibition of micro-algae and short-term inhibition of adenine and thymidine incorporation in periphyton communities *Aquatic Toxicology* 1999; 12(47): 9–22.

(37) Ibrahim EA. The influence of the herbicide paraquat gramoxon on growth and metabolic activity of three chlorophytes. *Water, Air & Soil Pollution* 1990; 51: 89–93.

(38) Lewis MA. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: A review. *Environmental Pollution* 1995; 12(87): 319–336.

(39) Piri M., Nezami SH., Ordog V. Ecotoxicology study of *Daphnia magna* and Effect of Machete , Saturn, Diazinon, Malathion on this organism. *Iranian Fisheries* 1998; 6(3): 23-34.

(40) Piri M., Ordog V. Effect of some herbicides commonly used in Iran on *Selenastrum carpricornutum* and *Daphnia magna*. *Iranian Fisheries* 1997; 6(2): 19-26.

(41) Trainor FR. The sequence of ecomorph formation in a phenotypicly plastic, multispined *Scenedesmus* species(Chlorophyceae). *Archiv für Hydrobiologie* 1995; 15(133): 161-171.

(42) Abedini M. *Environmental Chemistry*.Tehran: University Press Center; 2010.

(43) Naderi Farsani M., Meshkiniy S., Manaffar R., Asal Pishe Z. Response of growth, protein and fatty acid content of *Desmodesmus cuneatus* to the repletion and

Archive of SID

www.SID.ir

depletion of nitrogen. *Biological Journal of Microorganism* 2015; 3(12): 59- 68.

(44) Wasserweschadstoff-katalog H. Berlin, Germany: Von Institute für Wasserwirtschaft; 1975.

(45) Pesticide Dictionary Fertilizer Dictionary. *Farm Chemical Handbook*. American: Meister; 1993.

[1]- CIBA- Geigy
[2]- *AChE*
[3]- Monsanto
[4]- ACCase
[5]- Kumiai
[6]- Allen and Nelson
[7]- Skulberg
[8]- EPA
[9]- algal assay bottle test" protocol (AAP test)
[10]- Organisation for Economic Co-operation and Development
[11]- $EC_{50}$
[12]- Bold Basal Medium
[13]- Ceti Belgium
[14]- Probit Analysis
[15]- Mac value
[16]- NOEC
[17]- One- way ANOVA
[18]- Duncan
[19]- Acute *toxicity*
[20]- Ma
[21]- Geoffroy
[22]- flumioxazin
[23]- oxyfluorfen
[24]- diuron
[25]- Wong
[26]- Glyphosate
[27]- Junghans
[28]- Bonnet
[29]- He
[30]- Nystrom
[31]- Ibrahim

Archive of SID

www.SID.ir