Archive of SID

بررسی تاثیرفلزسنگین روی بر سه گونه جلبک *Scenedesmus obliquus ،Chlorella vulgaris* و *Anabaena flos-aquae*

احمد سواری[۱]، مریم فلاحی[۲]، پریتا کوچنین[۳]، میر قاسم ناصر علوی[۴]

Savari53@yahoo.com

۱، ۳ و ٤_ دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی دانشگاه شهید چمران، خرمشهر صندوق پستی:٦٦٩

۲- بخش بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات ماهیان استخوانی دریای خزر، بندرانزلی صندوق پستی: ٦٦

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۸۲

چکیده

در این تحقیق دو جلبک *Chlorella vulgaris ,Scenedesmus obliquus* از شاخه جلبکهای سبز و جلبک *Anabaena flos-aquae* از شاخه جلبکهای سبز- آبی بصورت خالص و انفرادی در شرایط نوری و حرارتی برای مدت ۹٦ ساعت تحت تاثیر فلز سنگین روی قرار گرفتند. پس از مدت مذکور با استفاده از لام هماسیتومتر جلبکها شمارش گردیدند و براساس روش probit analysis مقادیر EC۱۰ ، EC۵۰ ، EC۹۰ تعیین شدند. مقدار EC۵۰ جلبکهای فوق بترتیب ۰/۱۳٤، ۰/۰٤۷ و ۰/۰۹۳ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد و مشخص گردید که جلبک *Scenedesmus obliquus* نسبت به سایر جلبکها از مقاومت بیشتری برخوردار می‌باشد.

غلظت حد مجاز فلز روی برای جلبکهای فوق ۰/۰۱۳٤، ۰/۰۰٤۷ و ۰/۰۰۹۳ میلی‌گرم در لیتر بوده و ضریب همبستگی بین لگاریتم غلظت فلز و کاهش تراکم جلبک از ۹۲ تا ۹۸ درصد می‌باشد.

لغات کلیدی : روی، EC، *Anabaena flos-aquae ،Chlorella vulgaris ،Scenedesmus obliquus*

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

سیستم‌های آبی پیوسته مواجه با مشکلات ناشی از آلاینده‌هایی هستند که از منابع مختلف مانند فاضلاب‌های صنعتی، پسابهای کشاورزی و فاضلابهای شهری وارد آنها می‌شوند. این آلاینده‌ها (فلزات سنگین، سموم و فرآورده‌های نفتی) برای سیستم‌های زیستی محیط‌های آبی بیگانه و زیان آور بوده و اکثراً بدون هیچ تصفیه‌ای به آبها رها می‌گردند (Jhingran, 1979).

از مضرترین نوع آلودگی آبی، آلودگی ناشی از وجود فلزات سنگین و ترکیبات آنها می‌باشد (امیدی، ۱۳۷۶). فلزات سنگین بعلت اثرات سمی و توان تجمع‌زیستی در گونه‌های مختلف آبزیان و حتی به دلیل وارد شدن در زنجیره غذایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشند. بسیاری از فلزات سنگین بطور طبیعی از اجزاء متشکله اکوسیستم‌های آبی بحساب می‌آیند وحتی تعدادی از آنها در بقاء موجودات زنده نقش مهمی را ایفا می‌کنند. با این وجود چنانچه میزان این عناصر بدلایل گوناگون از حدود معینی فراتر رود سبب اختلال حیات آبزیان می‌گردند زیرا سریعاً سبب بهم خوردن تعادل بوم شناختی شده و موجبات زوال زیستی را فراهم می‌سازند (امینی رنجبر، ۱۳۷۳).

روی یک عنصر نادر ضروری برای تمام موجودات زنده می‌باشد. همچنین بعنوان یک کوفاکتور در آنزیم‌ها است. با این وجود غلظت روی ممکن است باعث صدمه رساندن به بافت‌های داخل سلولی و محدود شدن فرآیندهای سوخت و ساز می‌شود (Price & Morel, 1994). گونه‌های مختلف فیتوپلانکتونی بنظر می‌رسد حساسیت‌های متفاوتی نسبت به روی دارند. برای مثال برای گونه *Chlorella vulgaris* محدوده‌ای از ۲/۴ میلی‌گرم بر لیتر برای (۹۶ ساعت) EC۵۰ (Rechlin & Farran, 1974) تا ۱۰۰ میلیگرم بر لیتر برای (۲۴روز) EC۵۰ گزارش شده است (Maeda *et al.*, 1990).

Muyssen & Jansson در سال ۲۰۰۱ میزان EC۵۰ ۷۲ ساعت را براساس بیوماس و نرخ رشد *Chlorella vulgaris* در شرایط استاندارد محیط کشت (شامل ۱/۴ میکروگرم روی در لیتر) بترتیب حدود ۸±۳۴ و ۱۰±۱۵۳ میکروگرم در لیتر روی گزارش نمودند و در محیط کشت حاوی ۶۵ میکروگرم روی در لیتر به ترتیب ۱۴±۱۰۵ و ۱۸±۲۶۰ میکروگرم روی در لیتر اعلام کردند. این دو محقق همچنین اعلام نمودند که موجودات که در محیط کشت پرورش می‌یابند نسبتاً به غلظت بالای فلز کمتر حساس می‌باشند.

تحقیق حاضر به بررسی اثر فلز سنگین روی بر سه گونه از جلبکهای تک سلولی سبز و سبز- آبی می‌پردازد. در این بررسی‌ها EC۱۰ (غلظتی که در آن ۱۰ درصد از جلبک تحت تاثیر قرار می‌گیرد)، EC۵۰ و EC۹۰ همچنین غلظت مجاز فلز روی نسبت به جلبک‌های سبز و سبز - آبی تعیین شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش کار

جلبکهای تک سلولی *Scenedesmus obliquus*، *Anabaena flos-aquae* و *Chlorella vulgaris* بعنوان شاخص در آزمایش اثر روی مورد استفاده قرار گرفته و آزمایش براساس روش bottle test (selenastrum Miller *et al.*, 1978) انجام گرفت. بدین صورت که ابتدا محلول ۱ گرم در لیتر از نمک فلز روی (Zncl2) با استفاده از آب مقطر تهیه گردید، سپس دامنه‌ای از غلظت فلزات سنگین بصورت فرضی جهت تعیین دامنه غلظت مؤثر در نظر گرفته شد که این دامنه براساس محاسبه لگاریتمی به ۹ تیمار و یک شاهد تقسیم گردید. پس از تعیین دامنه غلظت مؤثر آزمایش با سه تکرار در ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری با محلول غذایی Z-8 در شرایط کاملاً استریل انجام گرفت. در تمامی ارلن مایرها یک میلی‌گرم در لیتر جلبک (خا لص‌سازی شده در آزمایشگاه بیوتکنولوژی مرکز ماهیان استخوانی دریای خزر بندر انزلی) داخل اطاق استریل شده U.V اضافه گردید سپس در شرایط حرارتی ۲±۲۵ درجه سانتیگراد و شدت نور ۳۵۰±۳۵۰۰ لوکس با ۱۲ ساعت روشنایی و۱۲ساعت تاریکی در اتاق کشت جلبک نگهداری شد (Piri & Ordog, 1997).

۹۶ ساعت پس از تاثیر فلز سنگین روی بر جلبک‌های مورد آزمایش، مقدار ۵ میلی‌لیتر از جلبکها برداشت شده و با لام هماسیتومتر شمارش گردید که نهایتاً کلیه داده‌ها با استفاده از روش آماری probit anlysis (Finny, 1971) تجزیه و تحلیل شدند.

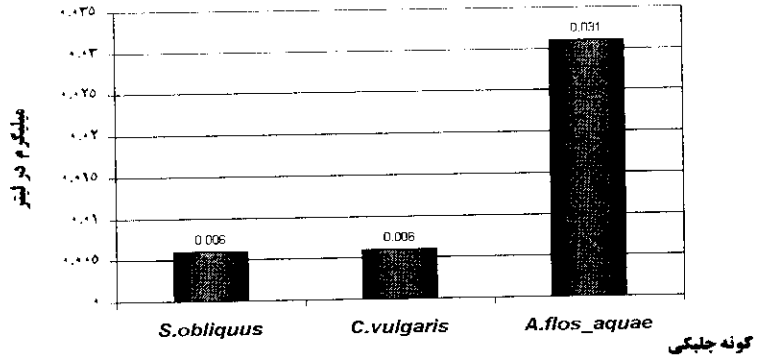
نتایج

نتایج اثر فلز روی بر جلبک‌های تک سلولی *Chlorella vulgaris*، *Scenedesmus obliquus* و *Anabaena flos-aquae* نشان داد که غلظت مؤثر این فلز برای جلبک های فوق ۰/۱ تا ۱۰میلی‌گرم در لیتر بوده و غلظتی از فلز روی که سبب کاهش رشد جلبکها به مقدار ۵۰ درصد می‌گردد (EC۵۰) برای جلبکهای *C. vulgaris* ، *S. obliquus* ، *A. flos-aquae* بترتیب ۰/۰۱۳۴/۰۹۳، ۰/۰، ۰/۰۴۷میلی‌گرم در لیتر است (شکلهای ۳-۱) و حداکثر غلظت مجاز فلز روی برای هر یک از جلبک‌های فوق بترتیب ۰/۰۰۹۳، ۰/۰۱۳۴ و ۰/۰۰۴۷ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد.

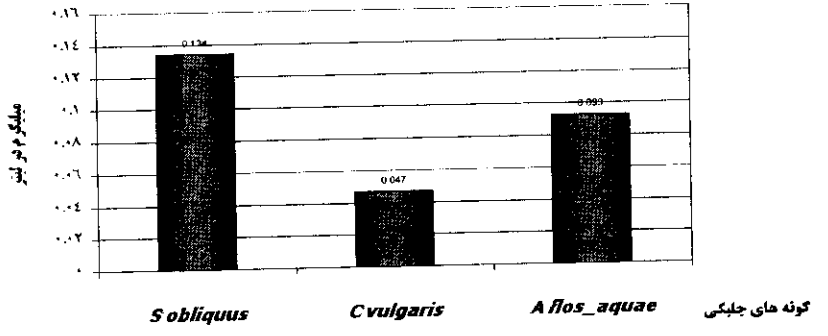
برای مقایسه تاثیر فلز روی بر سه گونه جلبک مورد آزمایش، فاکتور حساسیت محاسبه گردید (جدول۱). ضریب همبستگی بین لگاریتم غلظت فلز روی و کاهش تراکم جلبک ها از ۹۲ تا ۹۸ درصد بود.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل شماره ۱– مقادیر Ec۱۰ برای سه گونه جلبک تحت تاثیر فلز روی

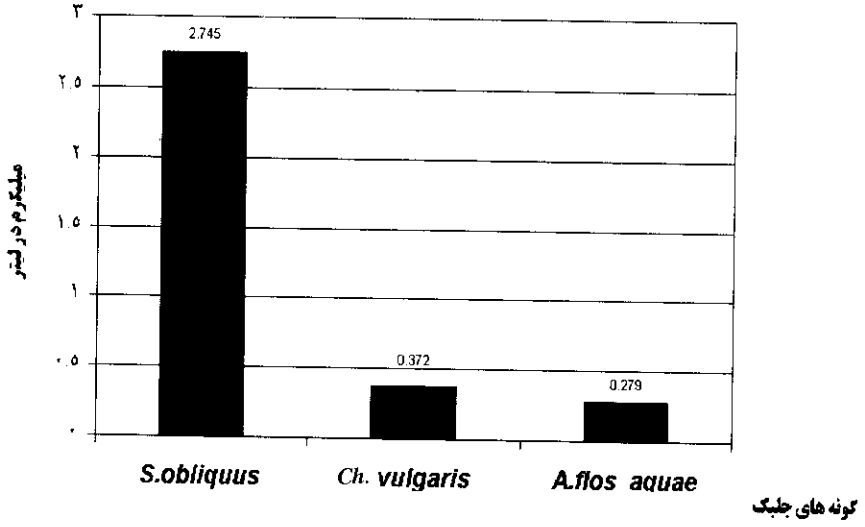


شکل شماره ۲– مقادیر EC۵۰ برای سه گونه جلبک تحت تاثیر فلز روی

نمودار۲: مقادیر EC ۵۰ برای سه گونه جلبک تحت تاثیر فلز روی

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۳: مقادیر Ec_{90} برای سه گونه جلبک تحت تاثیر فلز روی

جدول ۱: مقایسه Ec_{50} و گونه‌های جلبکی در مقابل فلز سنگین روی

Zn	*S. obliquus*	*Ch. vulgaris*	فاکتور حساسیت Ec_{50} *Senedesmus* / Ec_{50} *Cholrella*
Ec_{50} میلی گرم/لیتر	۰/۱۳۴	۰/۰۴۷	۲/۸
	S. obliquus	*A. flos-aquae*	فاکتور حساسیت Ec_{50} *Senedesmus* / Ec_{50} *Anabaena*
Ec_{50} میلی گرم/لیتر	۰/۱۳۴	۰/۰۹۳	۱/۴
	Ch. vulgaris	*A. flos-aquae*	فاکتور حساسیت Ec_{50} *Anabaena* / Ec_{50} *Cholrella*
Ec_{50} میلی گرم/لیتر	۰/۰۴۷	۰/۰۹۳	۱/۹

بحث

نتایج آزمایشات نشان داد که فلز روی از سمیت بالایی برخوردار است و تاثیر آن بر جلبک *Ch. vulgaris* بیشتر از سایر جلبک‌ها می‌باشد. طبق نتایج حاصل از محاسبه فاکتور حساسیت مشخص گردید که

www.SID.ir

Archive of SID

جلبک *S. obliquus* در مقایسه با جلبک‌های *A. flos-aquae* و *Ch. vulgaris* در مقابل فلز سنگین روی ۱/۴ و۲/۸ مرتبه مقاوم‌تر می‌باشد.

بررسیهای کمی جلبکها نشان می‌دهد که با افزایش غلظت فلز روی میزان تراکم جلبکها نسبت به شاهد کاهش می‌یابد بطوریکه برای جلبک *S. obliquus* درصد تراکم نسبت به شاهد در غلظتهای ۰/۱، ۰/۱۷ و ۰/۵۶ میلی‌گرم در لیتر بترتیب ۷۱، ۳۱/۱ و ۲۷/۷ درصد می‌باشد و برای جلبک *Ch. vulgaris* درصد تراکم نسبت به شاهد در غلظتهای ۰/۱، ۰/۱۷ میلی‌گرم در لیتر، ۵۷/۷، ۱۳/۵ درصد می‌باشد که مقایسه این دو جلبک سبز دلالت بر مقاومت بیشتر جلبک *S. obliquus* نسبت به *Ch. vulgaris* دارد. همچنین در جلبک ریسه‌ای *A. flos-aquae* فلز روی باعث کاهش تراکم می‌گردد بطوریکه در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۴۴ میلی‌گرم در لیتر درصد تراکم نسبت به شاهد ۱۲ و ۴۴ درصد است که مقایسه آن با جلبک *S. obliquus* نشان می‌دهد که جلبک آنابنا از مقاومت کمتری برخوردار است.

Rai *et al.*، در سال ۱۹۹۱ در تحقیقات خود بر فتوسنتز و سیستم‌های انتقال الکترونی جلبک *Ch. vulgaris* که تحت شرایط استرس حاصل از فلزات سنگین انجام دادند غلظتی از فلز روی که باعث کاهش رشد ۵۰ درصدی جمعیت جلبک می‌گردد را ۲μ گرم بر میلی‌گرم اعلام نمودند، آنها همچنین اظهار داشتند که این غلظت از فلز روی باعث کاهش رشد، تثبیت Co2 و مقدار ATP بترتیب به میزان ۵۰، ۳۶ و ۵۷ درصد می‌گردد.

در تحقیقات سال ۱۹۹۳ Voloshko & Gavrilova بر روی جلبک *Anabaena variabilis* که دارای حساسیت زیاد نسبت به یون Zn می‌باشد نشان داد که غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر از فلز روی رشد جلبک را متوقف و باعث تغییرات در مورفولوژی جلبک می‌گردد. مقادیر فوق نسبت به نتایج بدست آمده از آزمایش کمتر می‌باشد که با توجه به متفاوت بودن شرایط آزمایش و نوع گونه این تفاوت قابل توجیه است.

در این تحقیق فقط اثر فلز روی بر گونه‌های جلبکی مورد ارزیابی قرار گرفت حال آنکه در سیستم‌های آبی، انواع فاضلاب های شهری، صنعتی، کشاورزی، سموم، شوینده‌ها وغیره وارد می‌شوند که می‌توانند بر میزان سمیت فلزات سنگین اثر مستقیم داشته باشد .

Mullick & Konar در سال ۱۹۹۱ اعلام نمودند که میزان سمیت مخلوط فلزات سنگین در حضور شوینده‌ها ۳۹/۲ درصد افزایش می‌یابد.

Paulsson *et al.*، 2002 در سال ۲۰۰۲ طی تحقیقات خود روی تأثیر فلز روی بر دسترسی فسفر برای اجتماعات پری‌فیتونی مطالعاتی را انجام دادند و نتیجه گرفتند که افزایش فلز روی در محیطهایی که فسفر عامل محدود کننده است می‌تواند باعث کاهش دسترسی فسفات و کاهش بیوماس پری‌فیتون گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

بنابراین لازم است در تحقیقات آینده مخلوط آلاینده‌ها بر جلبک‌ها مورد بررسی قرار گیرد، همچنین با نظارت مستمر از ورود فاضلابهای صنعتی و شهری به تالابها، دریاچه‌ها و سایر اکوسیستم‌های آبی جلوگیری شود.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر پیری ریاست وقت مرکز تحقیقات ماهیان استخوانی دریای خزر، کارشناسان بخش بیوتکنولوژی، اطلاعات علمی و کتابخانه این مرکز که همکاری صمیمانه در اجرای این پروژه داشتند کمال تشکر را داریم.

منابع

امیدی. س. ، ۱۳۷۶. بررسی میزان فلزات سنگین در آبهای ساحلی استان بوشهر. مرکز تحقیقات شیلاتی خلیج فارس - بوشهر.

امینی رنجبر،ع. ، ۱۳۷۳. بررسی میزان تجمع فلزات سنگین در رسوبات تالاب انزلی.مجله علمی شیلات ایران ،سال سوم شماره۳ پاییز، مؤسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران. صفحات ۵ تا ۲۶.

Finny, D. , 1971. Probit analysis ambridge, Cambrige Univ. Press. pp.1-33.

Jhingran,V.G. , 1979. Some aspect of capture and culture fisheries of inland waters of India relation to environmental pollution. proceeding of international symposium of Environmental Pollution and Toxicicology. Today and Tommorrow, Printers and publishers, New Delhi, India. pp.183-190.

Maeda, S. ; Nizoguchi, M ; Ohki, A. and Takeshita, T. , 1990. Bioaccumulation of zinc and cadmium in freshwater algae. *Chlorella vulgaris*. Part 1. Toxicity and accumulation. Chemosphere 21, pp.953-963.

Miller, W.E. ; Green, J.C. and Shiroyama,T. , 1978. The *Selenastrum capricornatum* Printz algal assay bottle test EPA-60019 – 70 – 018 – Corvalis Ovegon, 126P.

Mullick, S. and Konar, S. K. , 1991. Influence of detergent, petroleum produ-ct, pesticides, nitrogen and phosphate fertilizers on the toxi behavior of metals in water. Environ. Ecol. Vol. 9, pp.498-509.

Muyssen, B.T.A. and Jansson, C.R.R. , 2001. Multi-generational zinc acclimation and tolerance in *Daphnia magna*:implications for water quality guidelines and ecological risk assessment. Environ.Toxicol. Chem, pp.507-514 (in press).

www.SID.ir

Archive of SID

Paulsson, M. ; Mansson,V. and Blanck. H , 2002. Effects of zinc on the phosphorus availability to periphyton communities from the river Gota Alv.Aquatic toxicology. Vol. 56, pp.103-113.

Piri, Z. M. and Ordag, V. , 1997. Effect of some herbicides commonly used in Iranian agriculture on aquatic food chain ph.D.Thesis to the Hungarian academy of science. pp.9-30.

Price, N.M. and Morel, F.M.M. , 1994. Trace metal nutrition and toxicity in phytoplankton. *In*: Rai., Gaur. J.P., Soeder. J. (Eds), Algae and water pollution, Heft 42.Verlag,Stuttgart, Germany, pp.79-97.

Rai, L.C. ; Singh, A.K. and Mallick, N. , 1991. Studies on photosynthesis ,the associated electron transport system and some physiological variables of *Chlorella vulgaris* under heavy metal stress. Journal of PLANT-PHYSIOL. Vol. 137, No. 4, pp.319-424.

Rechlin, J.W. and Farran, M. , 1974. Growth response of the green algae *Chlorella vulgaris* to selective concentrations of zinc. Water res. Vol. 8, pp.575-577.

Voloshko, L.N. and Gavrilova, O.V. , 1993. Response of *Anabaena variabilis* kuets to the toxic effect of zinc ions. GIDROBIOL.-ZH.-HYDROBIOL. Journal Vol. 29, No. 2, pp. 34-37.

www.SID.ir