اثر فلز سنگین جیوه (Hg) بر رشد و تراکم جمعیت روتیفر آب شیرین *Brachionus calyciflorus*

مصیب سیدی آب الوان[۱]، احمد قرایی[۱*] و مصطفی غفاری[۲]

[۱] زابل، دانشگاه زابل، پژوهشکده تالاب بین المللی هامون و دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات

[۳] چابهار، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، دانشکده علوم دریایی، گروه بهداشت و بیماری های آبزیان

تاریخ دریافت: ۹۲/۶/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱/۲۶

چکیده

روتیفرها به واسطه طول عمر کوتاه، زادآوری بالا و نرخ بالای رشد جمعیت، برای آزمایشات سمیت مزمن در محیط‌های آبی مطلوب می‌باشند. جیوه یکی از فلزات سنگینی است که برای موجودات آبزی بویژه زئوپلانکتون‌های آب شیرین که روتیفرها گروه مهمی از آن‌ها هستند، بسیار سمی است. در این تحقیق سطح پاسخ جمعیت روتیفر *Brachionus calyciflorus* نسبت به شش غلظت مختلف از جیوه (۰، ۰/۰۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۴ و ۰/۰۰۸ میلیگرم درلیتر) با سه تکرار به ازای هر غلظت طی مدت ۱۲ روز مورد بررسی قرار گرفت. تراکم و نرخ رشد ویژه روتیفرها به طور روزانه در تیمار شاهد و تیمارهای حاوی جیوه محاسبه شد. نتایج نشان داد که جمعیت روتیفرها با افزایش غلظت جیوه در محیط کشت به طور معنی‌داری ($P<0/05$) کاهش یافت. بیشترین تراکم (۰/۰۷±۴۵/۸۷ عدد درمیلی‌لیتر) در روز دوازدهم مربوط به تیمار شاهد و کمترین تراکم (۰/۰۳±۶/۰۲ عدد درمیلی‌لیتر) مربوط به تیمار حاوی غلظت ۰/۰۰۸ میلی‌گرم در لیتر جیوه بدست آمد. همچنین نرخ رشد ویژه روتیفرها با افزایش غلظت این فلز به طور معنی‌داری ($P<0/05$) کاهش یافت و از ۰/۳۵ در تیمار شاهد به ۰/۱۶ در غلظت ۰/۰۰۸ میلیگرم در لیتر فلز جیوه رسید. نتایج این تحقیق نشان داد که روتیفر *B. calyciflorus* نسبت به فلز جیوه به شدت حساس می‌باشد.

واژه های کلیدی: روتیفر *Brachionus calyciflorus*، جیوه، نرخ رشد ویژه، تراکم جمعیت

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۴۲۲۲۵۱۵۲۱ ، پست الکترونیکی: agharaei551@gmail.com

مقدمه

روتیفرها از گروه‌های زئوپلانکتونی عمده آب‌های شیرین و اکوسیستم‌های ساحلی دریایی در سراسر جهان بوده و موجودات مناسبی برای بررسی تأثیرات مواد آلاینده از جمله فلزات سنگین، ترکیبات ارگانوفسفره و آفت‌کش‌ها به شمار می‌روند. این موجودات زنده پلانکتونی با توجه به اندازه کوچک و مناسب، کیفیت بالای مواد مغذی و رفتارهای ویژه، به طور انبوه برای تغذیه لارو ماهیان کشت داده می‌شوند (۱۲، ۳۵). غذا به فرم پلانکتونی منبع مهمی برای انباشتگی فلزات سنگین در بدن ماهیان می‌باشد (۲۱) و بدین طریق پلانکتون‌ها بواسطه انباشتگی زیستی، موجب افزایش مواد آلاینده در زنجیره غذایی می‌شوند (۲۰).

روتیفرها بویژه *B. calyciflorus* و *Brachionus patulus* از جمله موجودات پلانکتونی هستند که به طور قابل توجهی به منظور ارزیابی سمیت در محیط‌های آبی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳۴).

برخی فلزات سنگین از قبیل: روی، جیوه و کادمیوم برای فعالیت‌های زیستی موجودات زنده سودمند نیستند و در غلظت‌های خیلی پایین (میکروگرم در لیتر) برای ارگانیسم-ها سمی هستند (۱۵). اگر چه گفته شده که میزان جیوه در طبیعت خیلی ناچیز است، با این حال مقادیر قابل توجهی از آن در سراسر جهان گزارش شده است (۷). انتشار جیوه تا حدود زیادی به واسطه استخراج معادن، کارخانجات

Archive of SID

www.SID.ir

ساخت تجهیزات الکتریکی و صنایع چاپ می‌باشد همچنین این فلز یکی از معدود فلزاتی است که می‌تواند در بافت‌های موجودات زنده ذخیره شود و باعث تجمع زیستی شود. جیوه به آسانی در بدن موجودات زنده از حالت ترکیب معدنی و دارای سمیت کم، به صورت ترکیبات آلی با سمیت بالا تغییر شکل می‌دهد(۱۸). در این راستا، با توجه به اهمیت منابع آبی چاه‌نیمه‌های سیستان بواسطه حضور گونه‌های منحصر به فرد موجودات آبزی از جمله ماهی سفیدک سیستان (۸) و حضور گونه های متعدد روتیفرها از جمله گونه *B. calyciflorus* در این منابع آبی(۴)، در مطالعه حاضر اثرات سمی جیوه بر تراکم و نرخ رشد جمعیت روتیفر آب شیرین *B. calyciflorus* جدا شده از منابع آبی چاه‌نیمه‌های سیستان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

کشت جلبک *Chlorella vulgaris* : استوک خالص جلبک *Chlorella vulgaris* از پژوهشکده آبزی پروری آب‌های داخلی انزلی تهیه و تحت شرایط استریل در محیط کشت زایندر (Z-8±N)(۱۷،۱۴) در دمای ۱±۲۵ درجه سانتیگراد، نور ۳۰۰±۳۵۰۰ لوکس و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی به صورت نیمه انبوه کشت داده شد (۱).

نمونه برداری: به منظور دستیابی به تعداد کافی از روتیفر آب شیرین *B. calyciflorus* مورد نیاز جهت کشت در آزمایشگاه، در اواخر فروردین سال ۱۳۹۰ از منابع آبی چاه‌نیمه‌های سیستان نمونه برداری صورت گرفت. جهت نمونه برداری از تور پلانکتونی ۵۰ میکرونی استفاده شد. نمونه‌های آب در ظروف شیشه‌ای ۰/۵ تا ۱ لیتری جمع آوری و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید.

جداسازی و کشت روتیفر: با توجه به این که نمونه‌های آب، حاوی گونه‌های متعددی از موجودات آبزی مختلف از جمله دافنی، کپه پود، کلادوسر، روتیفر و غیره بوده است، لذا به منظور جداسازی روتیفر گونه مورد نظر، پس از هم زدن نمونه ها، ۱ تا ۲ میلی‌لیتر از نمونه آب در پتری دیش با استفاده از استریومیکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰X مشاهده و مطابق با کلید شناسایی (۲۲)، گونه *B. calyciflorus* شناسایی و جداسازی گردید. پس از آماده سازی اتاقک کشت روتیفر و استریل نمودن محیط آزمایشگاه با استفاده از اشعه فرابنفش (UV) و اتانول ۹۶°، به منظور دستیابی به تراکم مورد نیاز جهت انجام آزمایش-های مربوط به سمیت فلزات سنگین، روتیفر جداسازی شده در آزمایشگاه در شرایط مطلوب کشت داده شد. درجه حرارت محیط آزمایشگاه در طول مدت آزمایش ۱±۲۵ c° (۲۴، ۳۰) و pH =۷/۵ (۲۴) ثابت نگه داشته شد. جهت کشت روتیفر از محیط کشت نیمه سخت EPA (حل کردن ۹۶ میلیگرم $NaHCo_3$، ۶۰ میلیگرم $CaSo_4$، ۶۰ میلیگرم $MgSo_4$ و ۴ میلیگرم KCl در یک لیتر آب مقطر دو بار تقطیر)(۵) و جهت تغذیه روتیفرها در طی دوره آزمایش، از جلبک سبز تک سلولی کلرلای آب شیرین (*Chlorella vulgaris*) با تراکم $۱/۵\times۱۰^{۶}$ cells/ml – ۱ استفاده گردید. کشت خالص روتیفر به عنوان استوک جهت انجام آزمایشات سمیت فلزات سنگین استفاده گردید و برای تأمین تعداد مورد نیاز روتیفر در طول مدت آزمایش، کشت روتیفر به طور پیوسته ادامه پیدا کرد.

تیماردهی روتیفرها با فلز سنگین جیوه: جهت انجام آزمایش، روتیفرها با ۵ غلظت مختلف از فلز جیوه (۰/۰۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۴ و ۰/۰۰۸ میلیگرم درلیتر) تیمار شدند. جهت تیماردهی، مقدار مورد نیاز از ترکیب شیمیایی کلرید جیوه با استفاده از ترازوی حساس توزین و به محیط کشت پایه (غلظت ۱۰۰۰ میلیگرم بر لیتر) با غلظت مشخص در لوله‌های آزمایش ۵۰ میلی لیتری مخصوص کشت روتیفر اضافه گردید. سپس جلبک و روتیفر با تراکم مشخص به این لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت روتیفر افزوده شد. به طوری که به هر کدام از

Archive of SID

www.SID.ir

لوله‌های آزمایش ۱۰ عدد روتیفر ماده نوزاد با سن تقریبی ۲ ساعت معرفی گردید. دوزهای انتخابی بر اساس استاندارد فلز سنگین جیوه جهت اهداف شیلاتی (۱۹) و همچنین غلظت کشنده این فلز برای روتیفر آب شیرین *B.calyciflorus* (۳۴) انتخاب گردیدند. برای فلز جیوه ۵ غلظت (تیمار)، به ازای هر تیمار ۳ تکرار و یک تیمار عاری از فلز سنگین با سه تکرار به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و در مجموع گروه‌های آزمایشی شامل ۶ تیمار و ۱۸ تکرار (نمونه) آماده شدند. به طور روزانه پس از بررسی نمونه‌ها و ثبت شاخص‌های مربوط به رشد و تولید مثل، محیط کشت روتیفرها در همه نمونه‌ها تعویض می شد (۳۲،۲۴). جهت تغذیه روتیفرها جلبک کلرلای آب شیرین (*Chlorella vulgaris*) با تراکم $۱-۱/۵\times۱۰^{۶}$ سلول در هر میلی‌لیتر به هر کدام از لوله‌های آزمایش اضافه گردید. به منظور تعویض محیط کشت، محتوی لوله‌های آزمایش با استفاده از توری پلانکتونی ۵۰ میکرونی فیلتر شده و با استفاده از محیط کشت از قبل آماده شده ، به لوله‌های جدید منتقل شدند. جهت تعیین تراکم جلبکی از لام نئوبار و میکروسکوپ معمولی دو چشمی و جهت شمارش روتیفرها از لام بوگاروف و استریومیکروسکوپ استفاده شد. به طور روزانه پارامترهای مربوط به رشد روتیفر (تراکم و نرخ رشد ویژه) در همه تیمارها بررسی و نتایج ثبت گردید. تا روز سوم پس از شروع آزمایش، به دلیل پایین بودن تراکم روتیفرها و به منظور کاهش خطای آزمایش، تمام حجم نمونه‌ها بررسی و از روز سوم تا پایان آزمایش، از هر کدام از لوله‌ها پس از همگن سازی، ۳ نمونه یک میلی‌لیتری بررسی می شد.

محاسبه نرخ رشد جمعیت روتیفرها در تیمارهای مختلف: به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف فلز سنگین جیوه بر رشد روتیفر، پس از تیماردهی روتیفرها با غلظت‌های متفاوت فلز سنگین و ثبت داده‌های خام، نرخ رشد جمعیت روتیفرها در هر روز برای هر یک از تیمارها با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۱۳).

$$r = (\ln N_t - \ln N_0)/t$$

در این فرمول، r نرخ رشد جمعیت روتیفرها بر حسب روز، N_0 و N_t به ترتیب تراکم اولیه و نهایی روتیفرها در هر تیمار و t تعداد روزهای آزمایش می باشد.

آنالیز آماری: پس از ثبت داده‌ها، ابتدا از آزمون لون و کولموگروف- اسمیرنوف، نرمال بودن داده‌ها بررسی شد و برای مقایسه کلی بین تیمارها از آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (one way ANOVA) و برای مقایسه میانگین بین تیمارها و بررسی روند معنی‌داری از آزمون دانکن تحت نرم افزار SPSS (نسخه ۱۹) استفاده شد. همچنین جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

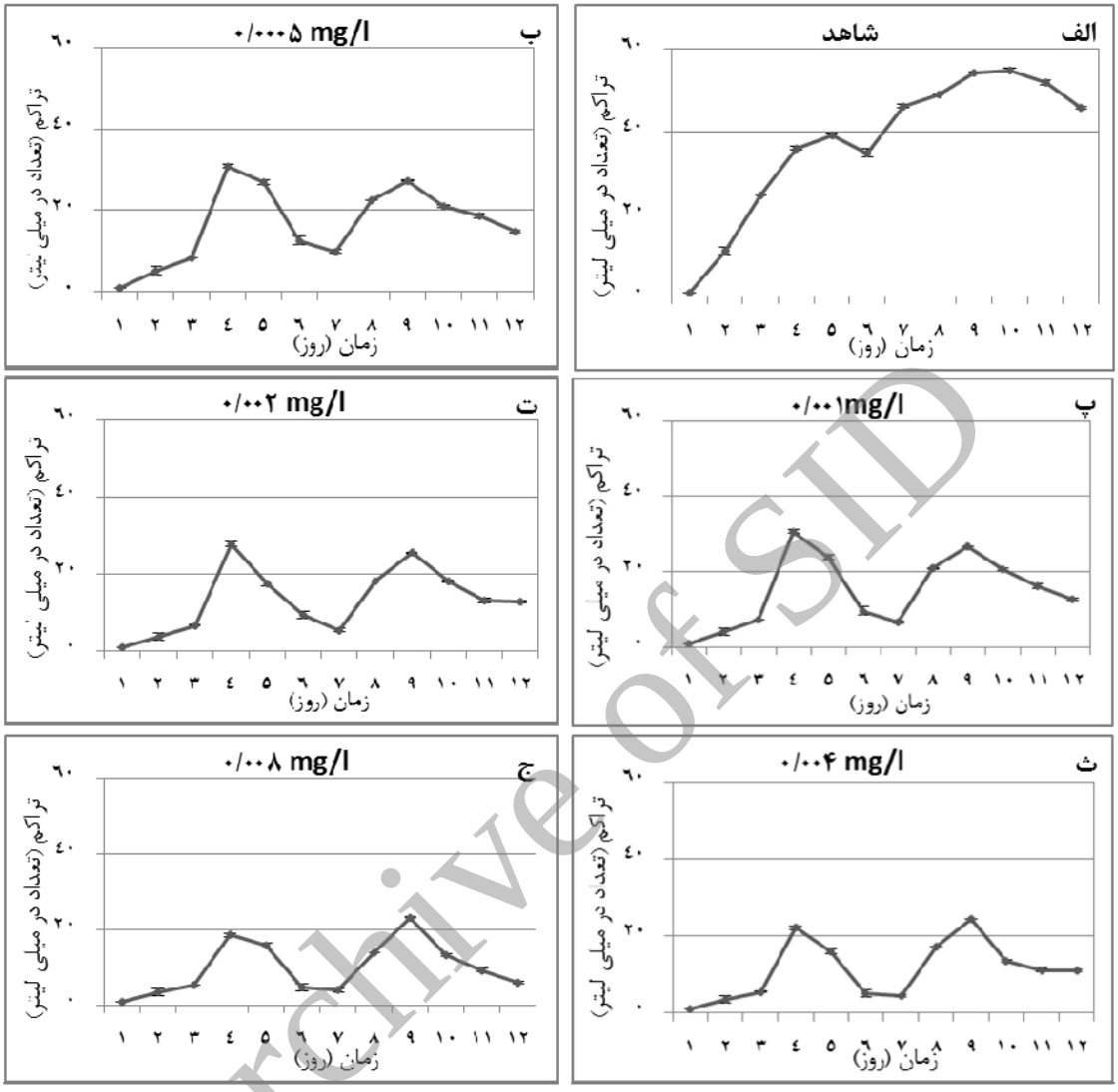
نتایج

بررسی اثر فلز جیوه بر تراکم روتیفرها: میانگین تراکم روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت‌های مختلف فلز سنگین جیوه در روزهای مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت این فلز تراکم روتیفرها به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) کاهش می یابد. به طوری که در همهٔ روزهای آزمایش (از روز دوم تا دوازدهم) بین تیمار شاهد و تیمارهای حاوی غلظت‌های مختلف فلز جیوه اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) مشاهده شد. بیشترین تراکم (۰/۴۰±۵۵ عدد در میلی لیتر) در روز دهم در تیمار شاهد مشاهده شد. بیشترین تراکم (۰/۰۷±۴۵/۸۷ عدد در میلی لیتر) در روز آخر مربوط به تیمار شاهد و کمترین تراکم (۰/۰۳±۶/۰۲ عدد در میلی لیتر) مربوط به تیمار حاوی غلظت ۰/۰۰۸ میلیگرم در لیتر فلز جیوه بود. شکل-های ۱- الف تا ۱- ج روند تغییر تراکم روتیفرها را در غلظت‌های مورد آزمایش جیوه طی روزهای اول تا دوازدهم نشان می‌دهد. به طوری که در تیمار شاهد میانگین تراکم از روز اول تا روز پنجم افزایش یافت و در

Archive of SID

www.SID.ir

روز پنجم به ۰/۶۰±۳۹/۰۱ عدد روتیفر در هر میلی‌لیتر رسید.



شکل۱- تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در غلظت‌های مختلف فلز سنگین جیوه در روزهای مختلف.

از روز پنجم تا روز ششم تراکم کاهش یافت. از روز ششم تا روز دهم تراکم با شیب تقریباً یکنواختی افزایش یافت به طوری که در روز دهم به حداکثر میزان خود (۵۵ عدد روتیفر در هر میلی‌لیتر) رسید و از روز دهم تا دوازدهم کاهش یافت (شکل ۱- الف).

در روند تراکم روتیفرها در همه تیمارهای حاوی غلظت-های مختلف فلز سنگین جیوه دو پیک در روزهای چهارم و نهم مشاهده گردید (شکل ۱- ب تا ۱- ج). در همه تیمارهای حاوی غلظت‌های فلز جیوه، در مقایسه با تیمار شاهد تراکم کاهش پیدا کرد (شکل ۱- ب تا ۱- ج). به طور کلی در هر روز با افزایش غلظت فلز تراکم روتیفرها کاهش پیدا کرد و در روز دوازدهم از ۰/۰۳±۱۴/۸۹عدد روتیفر در هر میلی‌لیتر در غلظت ۰/۰۰۰۵ میلیگرم در لیتر فلز جیوه به ۰/۰۳±۶/۰۲ عدد روتیفر در هر میلی‌لیتر در غلظت ۰/۰۰۸ میلیگرم در لیتر فلز جیوه رسید.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱- تراکم روتیفرها (برحسب تعداد در میلی لیتر) در غلظت‌های مختلف فلز سنگین جیوه در روزهای مختلف.

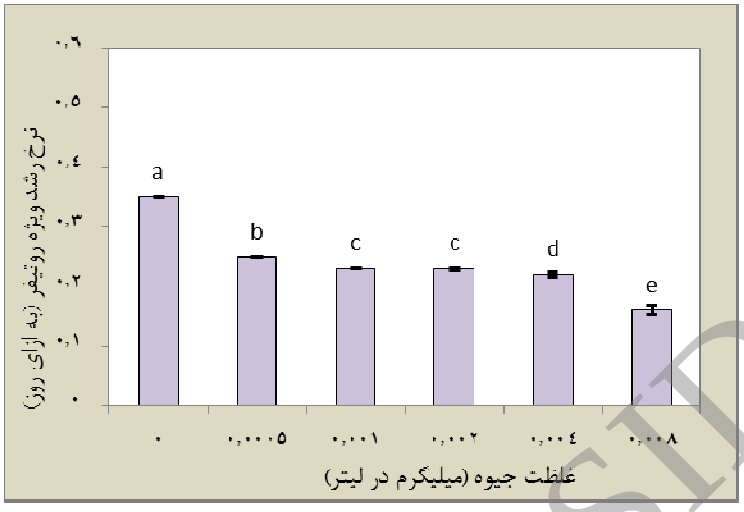
زمان (روز) / غلظت (میلیگرم در لیتر)	۰	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۴	۰/۰۰۸
۱	۱±۰	۱±۰	۱±۰	۱±۰	۱±۰	۱±۰
۲	۱۱/۱۶±۰/۵۵ ^{a}	۵/۲۰±۰/۱ ^{b}	۴/۲۷±۰/۱۸ ^{c}	۳/۸۰±۰/۲۳ ^{c}	۳/۵۸±۰/۳۱ ^{c}	۳/۵۳±۰/۱۶ ^{c}
۳	۲۴/۵۹±۰/۰۳ ^{a}	۸/۳۳±۰/۰۶ ^{b}	۷/۲۲±۰/۱۹ ^{c}	۶/۶۶±۰/۰۸ ^{d}	۵/۴۴±۰/۲۱ ^{e}	۵/۳۱±۰/۱۳ ^{e}
۴	۳۶±۰/۲۷ ^{a}	۳۰/۸۹±۰/۲۴ ^{b}	۳۰/۶۷±۰/۲۲ ^{b}	۲۷/۷۸±۰/۵ ^{c}	۲۲/۰۳±۰/۱۲ ^{d}	۱۸/۵۶±۰/۱۳ ^{e}
۵	۳۹/۰۱±۰/۳۴ ^{a}	۲۷±۰/۱۸ ^{b}	۲۴±۰/۱۳ ^{c}	۱۷/۴۵±۰/۱۹ ^{d}	۱۵/۸۹±۰/۲۱ ^{e}	۱۵/۷۷±۰/۱۸ ^{e}
۶	۳۴/۷۹±۰/۲۳ ^{a}	۱۲/۵۶±۰/۱۸ ^{b}	۹/۶۷±۰/۰۷ ^{c}	۹/۳۳±۰/۱۴ ^{c}	۵±۰/۲۴ ^{d}	۴/۵۶±۰/۱۴ ^{d}
۷	۴۶/۱۹±۰/۲۲ ^{a}	۹/۸۹±۰/۱۷ ^{b}	۶/۶۲±۰/۱۲ ^{c}	۵/۳۹±۰/۱۹ ^{d}	۴/۴۴±۰/۱۲ ^{e}	۳/۹۳±۰/۲۱ ^{e}
۸	۴۹/۱۵±۰/۰۴ ^{a}	۲۲/۴۱±۰/۰۴ ^{b}	۲۰/۸۹±۰/۲۳ ^{c}	۱۸/۰۹±۰/۰۸ ^{d}	۱۷/۲۲±۰/۱۷ ^{e}	۱۳/۷۸±۰/۱۶ ^{f}
۹	۵۲/۳۹±۰/۱ ^{a}	۳۷/۳۳±۰/۲۳ ^{b}	۲۶/۷۸±۰/۱۶ ^{c}	۲۵/۴۵±۰/۱۹ ^{d}	۲۴/۴۵±۰/۱۶ ^{e}	۲۳/۱۷±۰/۱۶ ^{f}
۱۰	۵۵±۰/۲۳ ^{a}	۲۱±۰/۳۱ ^{b}	۲۰/۷۴±۰/۱۹ ^{b}	۱۸±۰/۱۶ ^{c}	۱۳/۴۴±۰/۱۹ ^{d}	۱۳/۲۲±۰/۱۳ ^{d}
۱۱	۵۴±۰/۱ ^{a}	۱۸/۶۷±۰/۱۵ ^{b}	۱۶/۳۳±۰/۱۳ ^{c}	۱۳±۰/۲۳ ^{d}	۱۱/۱۱±۰/۲۵ ^{e}	۹/۲۲±۰/۰۶ ^{f}
۱۲	۴۵/۸۷±۰/۰۴ ^{a}	۱۴/۸۹±۰/۰۲ ^{b}	۱۲/۷۸±۰/۰۵ ^{c}	۱۲/۶۷±۰/۱ ^{c}	۱۰/۸۹±۰/۰۵ ^{d}	۶/۰۲±۰/۰۲ ^{e}

داده‌ها نشان دهنده میانگین ± خطای معیار هستند. حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار است ($P < 0/05$).

Archive of SID

www.SID.ir

همچنین نتایج مشخص نمود که با افزایش غلظت فلز جیوه، نرخ رشد ویژهٔ جمعیت روتیفرها کاهش می یابد و از ۰/۳۵در تیمار شاهد به ۰/۱۶در غلظت ۰/۰۰۸ میلیگرم در لیتر فلز جیوه می رسد (شکل ۲).



شکل ۲- نرخ رشد ویژهٔ جمعیت روتیفرها (به ازای روز) در غلظت‌های مختلف فلز سنگین جیوه (Hg). حروف مشابه روی نمودار در هر روز، نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < ۰/۰۵$).

بحث

مطالعات مربوط به رشد جمعیت از مهمترین جنبه‌هایی هستند که برای ارزیابی اثرات سمیت فلزات سنگین و آفت‌کش‌ها در زئوپلانکتون‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (۶). روتیفرها نسبت به غلظت‌های تحت کشنده مواد آلاینده پاسخ‌های مختلفی از جمله تغییر در سرعت شنا، تغذیه و تنفس از خود نشان می‌دهند (۲۵). در میان روتیفرهای جنس *Brachionus*، *B. calyciflorus*، *B. rubens* و *B. patulus* به طور وسیعی برای بررسی سمیت محیطی مطرح هستند (۱۱). بر اساس مطالعات انجام شده جهت تعیین غلظت کشنده جیوه در روتیفرها، غلظت کشنده این فلز برای گونه‌های مختلف بین ۲۷ تا ۶۱ میکروگرم در لیتر تعیین شد (۳۲). در مطالعات گذشته غلظت کشنده جیوه برای گونه *B. calyciflorus*، ۰/۰۶ میلیگرم در لیتر تعیین شد (۳۴). غلظت‌های انتخابی برای فلز جیوه در آزمایش حاضر بر اساس این غلظت کشنده تعیین گردید. به طوری که بالاترین غلظت انتخابی ۷/۵ برابر کوچکتر از غلظت کشنده و بقیه غلظت‌ها با نسبت مشخص پایین‌تر از این غلظت انتخاب شدند. همچنین غلظت‌ها به گونه‌ای انتخاب شدند که غلظت میانه (۰/۰۰۲ میلیگرم در لیتر) برابر با استاندارد فلز جیوه جهت اهداف آبزی پروری باشد. غلظت‌های مورد استفاده برای فلز جیوه در این آزمایش در محدوده غلظتی گزارش شده در منابع آبی آلوده شده با فلزات سنگین بوده است (۲۸). سیانوباکتری‌های رشته‌ای مثل جلبک‌های سبز-آبی *Anabaena flos- aquae* و *Oscillatoria africanum* به دلیل مزاحمت‌های مکانیکی، داشتن ترکیبات سمی و عدم خوش خوراکی، جهت تغذیه زئوپلانکتون‌های علفخوار نامناسب می‌باشند (۲). از طرفی جلبک تک سلولی *Chlorella vulgaris* منبع غذایی مناسبی جهت ارزیابی الگوهای رشد در روتیفرها معرفی شده است (۳۳)، لذا در تحقیق حاضر از این جلبک جهت تغذیه روتیفرها استفاده گردید. در بررسی‌های سمیت مزمن مواد سمی در زئوپلانکتون‌ها، نرخ رشد جمعیت یکی از متغیرهای بسیار حساس نسبت به سطوح مختلف مواد سمی می‌باشد (۲۳،۹). در مواقعی که استرس ناشی از مواد سمی بسیار شدید باشد، حتی اگر تراکم روتیفرها در ابتدا کمی افزایش

Archive of SID

www.SID.ir

پیدا کند، ولی روی هم رفته نرخ رشد ویژه میتواند منفی باشد (۲۷). چنین حالتی در برخی از جنس‌های روتیفرها از قبیل: *Asplanchna* (۲۹)، *Brachionus* (۱۶)، *Euchlanis dilatata* (۳۱) گزارش شده است. در آزمایش حاضر با افزایش جیوه در محیط کشت روتیفر *B. calyciflorus* ، نرخ رشد جمعیت کاهش پیدا کرد ولی همواره مثبت بود. این گونه روتیفر نسبت به غلظت‌های مختلف جیوه حساسیت نشان داد و نتایج بدست آمده نشان داد که رشد جمعیت روتیفرها با افزایش غلظت این فلز کاهش پیدا می کند. نتایج به دست آمده با یافته‌های Rios-Arana و همکاران (۲۶) بر روی روتیفر *Plationus patulus* مطابقت دارد. همچنین گزارش شده که افزایش غلظت مواد سمی (فلزات سنگین، آفت کش‌ها و غیره) تأثیر منفی شدیدی بر رشد جمعیت روتیفر *B. rubens* داشته است (۳۲). بر اساس نتایج به دست آمده در این آزمایش، در رابطه با اثر فلز جیوه بر تراکم و نرخ رشد روتیفر *B. calyciflorus* ، با افزایش غلظت فلز حتی در کمترین غلظت (۰/۰۰۰۵ میلیگرم در لیتر کلرید جیوه) تراکم و نرخ رشد روتیفرها کاهش یافت، که با نتایج بدست آمده از بررسی اثر جیوه بر رشد جمعیت *Brachionus patulus* (۳۲)، نتایج بدست آمده از بررسی اثر فلز نیکل بر تراکم و نرخ رشد روتیفر *B. calyciflorus* (۳)، همچنین با یافته‌های Grosell و همکاران (۱۰) در رابطه با اثر سرب بر نرخ رشد جمعیت روتیفر *B. calyciflorus* مطابقت دارد. نوسانات نمودارهای مربوط به تراکم روتیفرها در شکل ۱ مربوط به چرخه زندگی روتیفرها می باشد. به عنوان مثال کاهش تراکم روتیفرها در شکل ۱ در روزهای ششم و هفتم به دلیل پایان یک چرخه زندگی موجود و افزایش مجدد تراکم روتیفرها به دلیل شروع چرخه جدید می باشد که چنین روندی در نتایج بدست آمده از بررسی اثر جیوه بر ساختار جمعیت روتیفر *Brachionus calyciflorus Pallas* (۲۵) نیز نشان داده شده است.

نتیجه گیری کلی

بر اساس نتایج این تحقیق، کاهش شدید تراکم و نرخ رشد روتیفر *B. calyciflorus* با افزایش غلظت فلز جیوه، نشان دهنده حساسیت بالای این گونه روتیفر نسبت به فلز مذکور می‌باشد. بنابراین می‌توان روتیفر آب شیرین *B. calyciflorus* را به عنوان نماینده جهت بررسی و پایش فلز جیوه در منابع آبی سیستان و احتمالاً سایر اکوسیستم-های آبی کشور معرفی نمود. همچنین با تعیین آستانه تحمل این گونه روتیفر در برابر فلز جیوه، می توان از آن به عنوان شاخص زیستی در منابع آبی سود جست.

سپاسگزاری

بدین وسیله نگارندگان از مدیریت محترم پژوهشکدهٔ تالاب بین المللی هامون به خاطر حمایت‌های مالی و از جناب آقای پروفسور سارما (S. S. S. Sarma, National Autonomous University of Mexico,Campus Iztacala) و سرکار خانم پروفسور ناندینی (S. Nandini, National Autonomous University of Mexico,Campus Iztacala) به خاطر متذکر شدن نکات کلیدی و در اختیار قرار دادن مقالات و دستورالعمل‌های لازم برای انجام آزمایش سمیت، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

۱- احمدی فرد، ن. ۱۳۸۵. تأثیر نوع و غلظت‌های متفاوت جلبک‌ها در تولید و ترکیب اسیدهای چرب روتیفر آب شیرین (*Brachionus calyciflorus*). پایان نامه کارشناسی ارشد دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس. ۷۲ صفحه.

۲- پیری، ح. عنایت غلامپور، ط. ۱۳۹۲. بررسی نقش جلبک‌های سبز- آبی آنابنافلوس- آکوا (*Anabaena flos- aquae*) و اسیلاتوریا آفریکانوم (*Oscillatoria africanum*) در تغذیه دافنی ماگنا (*Daphnia magna*). مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست شناسی ایران). جلد ۲۶. شماره ۳. ص ۲۷۲.

Archive of SID
www.SID.ir

۳- سیدی آب الوان، م. غفاری، م. قرایی، ا. ۱۳۹۲. اثر نیکل (Ni) بر رشد و تراکم جمعیت روتیفر آب شیرین *Brachionus calyciflorus*. مجله زیست شناسی ایران. (آماده انتشار).

۴- قرایی، ا. غفاری، م. احمدی فرد، ن. سیدی آب الوان، م. ۱۳۸۹. شناسایی فون زئوپلانکتونی مخازن آبی چاه‌نیمه‌های سیستان. شانزدهمین کنفرانس سراسری و چهارمین کنفرانس بین‌المللی زیست‌شناسی ایران. دانشگاه فردوسی مشهد.

5- Anonymous. 1985. Methods of measuring the acute toxicity of effluents of freshwater and marine organisms. *US Environment Protection Agency*. EPA/600/4-85/013.

6- Arulvasu, C., Padmini, K., Tangaraju, N., Dinesh, D. and Selamuthu, S. 2010. Evaluation of Cadmium toxicity on the Population growth of *Brachionus plicatilis* (O. F. Muler). *Indian Journal of science and tech*nology. 90-93.

7- Chapman, P. M., Wang, F. Y., Janssen, C. R., Gouletm, R. R. and Camunde, C. N. 2003. Conducting ecological risk assessments of inorganic metals and metalloids: Curent status. *Human Ecol. Risk Asse*. 9: 641-697.

8- Coad, B. 2002. Bony Fishes of Iran. *Canadian Journal of Musim*.12-27.

9- Forbes, V. E. and Calow, P. 1999. Is the per capita rate of increase a good measure of populationlevel effects in ecotoxicology. *Environ. Toxicol. Chem*. 18: 1544–1556.

10- Grosel, M., Gerdes. R. M. and Briks, K. V. 2006. Chronic toxicity of Lead to three freshwater invertebrates *Brachionus calyciflrus*, *Chironomus tentans*, and *Lymnae stagnalis*. *Environmental toxicology and chemistry*. 25: 97-104.

11- Juarez-Franco, F.M., Sarma, S.S.S. and Nandini, S. 2007. Effect of cadmium and zinc on the population growth of Brachionus havanaensis (Rotifera: Brachionidae). *Environmental Science and Health*. 42: 1489-1493.

12- Kafuku, T. and Ikenoue, H. 1983. Modern methods of aquaculture in Japan. Development in Aquaculture and Fisheries Science. Volume 11, *Elsevier, Kodamsha Ltd*. Tokyo, 216 p.

13- Kerbs, C. J. 1985. Ecology. The Experimental Analysis of Distribution and Abundance. 3rd edn. *Harper and Row*. New York. 398 pp.

14- Komarek, J. 1973. Culture collections. In: Carr N.G. and Whitton B.A. The biology of blue-green algae. *Blackwell Scientific*. Publ. 519-524.

15- Langston, W. J. and Bebianno, M. J. (Eds). 1998. Metal metabolism in Aquatic Environments. *Ecotoxicology*. (7). Sprlinger, New York.

16- Luna-Andrade, A., Aguilar-Duran, R., Nandini, S. and Sarma, S. S. S. 2002. Combined effects of Copper and Microalgal (*Tetraselmis suesica*) concentration on the population growth of *Brachionus plicatilis Muller* (Rotifera). *Water, air and soil pollution*. 141: 143-153.

17- Miller, D. E.,Green. J. C. and shiroyama, T. 1978. The selenustrum capricornatum printz algal assay bottle test : Experimental design. application and interperation protocol. *US EPA*. 600 / 9. Pp.126.

18- Newman, M. C. and Clements, W. H. 2007. Ecotoxicology: A Comprehensive Treatment. *CRC Press*, Boca Raton.

19- NNEB (Notification of the National Environmental Board). 1994. published in the *Royal Government Gazete*. Vol. 111. Part 16. Dated Febriary 24. B.E. 2537.

20- Nogami, E. M., Kimura, C. C. M., Rodrigues, C., Malagutti, A. R., Lenzi, E. and Nozaki, J. 2000. Effects of dietary cadmium and its bioconcentration in Tilapia Orechromis niloticus. *Ecotoxicol. Environ. Saf*. 45: 291-295.

21- Novelli, E. L. B., Vieira, E. P., Rodrigues, N. L. and Ribas, B. O. 1998. Risk Assessment of Cadmium toxicity on hepatic and renal tissue of rats. *Environ. Res*, 79:102-105.

22- Pontin, R. M. 1978. A key to British freshwater planktonic rotifera. *Scientific purification freshwater biological association*. 527pp.

23- Preston, B. L., Snell, T. W., Roberston, T. L. and Dingmann, B. J. 2000. Use of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* in screening assay for potential endocrine disruptors. *Environ Toxicol Chem*. 19: 1097–1101.

24- Ramirez-Perez, T. and Sarma, S. S. S. 2008. Combined effects of heavy metal (Hg) concentration and algal (*Chlorella vulgaris*) food density on the population growth of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera: Brachionidea). *Environ. Biol*. 29: 139-142.

25- Ramirez-Perez, T., Sarma, S. S. S. and Nandini, S. 2004. Effects of Mercury on the life table demography of the Rotifer *Brachionus calyciflorus pallas* (Rotifera). *Ecotoxicology*. 13: 535-544.

Archive of SID

www.SID.ir

26- Rios-Arana, J. V., Walsh, E. J. and Ortiz, M. 2007. Interaction effects of multi-metal solutions (As, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn) on life history traits in the rotifer Plationus patulus. J. *Environ. Sci. Health*. Part A. 42: 1473-1481.

27- Roex, E. W. M., Van Gestel, C. A. M., VanWezel, A. P. and Van Straalen, N. 2000. Ratios between acute aquatic toxicity and effects on population growth rates in relation to toxicant mode of action. *Env. Toxicol. Chem*. 19: 685–693.

28- Salmonons, W., Forstner, U. and Mader, P. (Eds). 1995. Heavy metals. Problems and solutions. *Springer-Berlin*.

29- Sarma, S. S. S., Nandini, S. and Fernández-Araiza, M. A. 1998. Effect of methyl parathion-treated prey (Brachionus calyciflorus) on the population growth of the predator Asplanchna sieboldi (Rotifera). *Bull. Environ. Contam. Toxicol*. 61: 135–142.

30- Sarma, S. S. S., Ramirez- Perez, T. and Nandini, S. 2000. Comparision of the Sensitivity of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera) to Selective Heavy Metals Under low and high food (*Chlorella vulgaris*) levels. *Environ. Contam. Toxicol*. 64: 735-739.

31- Sarma, S. S. S., Nandini, S., Gama-Flores, J. L. and Fernandez-Araiza, M. A. 2001a. Population growth of Euchlanis dilatata (Rotifera): Combined effects of methyl parathion and food (Chlorella vulgaris). J. *Environ. Sci. Health*. Part B-Pesticides Food Contam. Agre. Wastes. 36: 43-54.

32- Sarma, S. S. S., Nandini, S. and Ramirez-Perez, T. 2001b. Combined Effects of Mercury and Algal food density on the Population dynamics of *Brachionus patulus* (Rotifera). *Bull. Environ. Contam. Toxicol*. 67: 841-847.

33- Sarma, S. S. S., Maria-Isabet, R. A. and Nandini, S. 2006. Population dynamics of littoral rotifers (*Lecane inermis* and *Lepadella rhomboids*)(rotifera) in relation to algal(*Chlorella vulgaris*) food density. Inter. J. *Ecol. Environ. Sci*. 32: 271-276.

34- Snell, T. W. and Janssen, C. R. 1995. Rotifers in ecotoxicology: a review. *Hydrobiologica*. 313/314: 231-247.

35- Snell, T. W., Childress, M. J., Boyer, E. M. and Holf, F. H. 1987. Assessing the status of rotifer mass culture. J. *World Aquaculture scocity*. 18: 270-276.

Archive of SID

www.SID.ir

The effect of heavy metal mercury (Hg) on the population growth of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus*

Seyyedi Abalvan M.[1], Gharaei A.[1] and Ghaffari M.[2]

[1] **Fisheries Dept., Faculty of Natural resources and International Hamoon Wetland Research Institute, University of Zabol, I.R. of Iran**

[2] **Fisheries Dept., Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, I.R. of Iran**

Abstract

Rotifers due to their relatively short lifespan, high fecundity and high rate of population increase are ideal for chronic toxicity tests. Mercury is one of the heavy metals highly toxic to aquatic organisms particularly freshwater zooplankton of which rotifers are an important group. In peresent study, population response of rotifer *Brachionus calyciflorus* to six different concentrations of mercury (0.0005, 0.001, 0.002, 0.004, and 0.008 mgL^{-1}) with three replicates per concentration was studied for 12 days. Rotifer density and specific growth rate was calculated daily in the control and treatments containing mercury. Result showed that, rotifer population growth decreased significantly ($p< 0.05$) with increasing Hg concentration in the medium. The maximum density in twelve day belongs to control (45.87± 0.07 ind/ml) and minimum density belongs to treatments containing concentration of 0.008 mg L^{-1} mercury (6.02±0.03 ind/ml). Also, the rotifer specific growth rate decreased significantly ($p< 0.05$) (from 0.35 in control group to 0.16 in concentration of 0.008 mg L^{-1}) with increasing concentration of this metal. Results of this study showed that rotifers *B. calyciflorus* are severely sensitive to heavy metal mercury.

Key words: rotifer *Brachionus calyciflorus*, Mercury, specific growth rate, population density

Archive of SID

www.SID.ir