

بررسی تاثیر فلز سنگین روی بر سه گونه جلبک *Scenedesmus obliquus*، *Chlorella vulgaris* *Anabaena flos-aquae*

احمد سواری^(۱)، مریم فلاحی^(۲)، پریتا کوچنین^(۳)، میر قاسم ناصر علوی^(۴)

Savari53@yahoo.com

۱، ۲ و ۴_ دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی دانشگاه شهید چمران، خرمشهر صندوق پستی: ۶۶۹

۲- بخش بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات ماهیان استخوانی دریای خزر، بندرانزلی صندوق پستی: ۶۶

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 ۹۶ 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 EC_{10} ، EC_{50} ، EC_{90} تعیین شدند. مقدار EC_{50} جلبکهای فوق بترتیب $0/134$ ، $0/047$ و $0/093$ میلی گرم در لیتر محاسبه شد و مشخص گردید که جلبک *Scenedesmus obliquus* نسبت به سایر جلبکها از مقاومت بیشتری برخوردار می باشد.

غلظت حد مجاز فلز روی برای جلبکهای فوق $0/134$ ، $0/047$ و $0/093$ میلی گرم در لیتر بوده و ضریب همبستگی بین لگاریتم غلظت فلز و کاهش تراکم جلبک از ۹۲ تا ۹۸ درصد می باشد.

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

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 آنها رها می‌گردند (Jhingran, 1979).

از مضرترین نوع آلودگی آبی، آلودگی ناشی از وجود فلزات سنگین و ترکیبات آنها می‌باشد (امیدی، ۱۳۷۶). فلزات سنگین بعلاوه 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 و حتی تعدادی از آنها در بقاء موجودات زنده نقش مهمی را ایفا می‌کنند. با این وجود چنانچه میزان این عناصر بدلائل 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) EC₅₀ (Rechlin & Farran, 1974) تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر برای (۲۴ روز) EC₅₀ گزارش شده است (Maeda et al., 1990).

Muyssen & Janssen در سال ۲۰۰۱ میزان EC₅₀ ۷۲ ساعت را براساس بیوماس و نرخ رشد *Chlorella vulgaris* در شرایط استاندارد محیط کشت (شامل ۱/۴ میکروگرم روی در لیتر) بترتیب حدود ۳۴±۸ و ۱۵۳±۱۰ 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 EC₁₀ (غلظتی که در آن ۱۰ درصد از جلبک تحت تاثیر قرار می‌گیرد)، EC₅₀ و EC₉₀ همچنین غلظت مجاز فلز روی نسبت به جلبک‌های سبز و سبز-آبی تعیین شده است.

مواد و روش کار

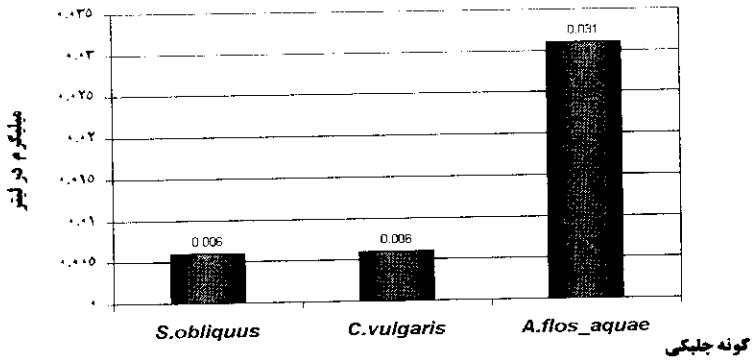
جلبک‌های تک سلولی *Chlorella vulgaris* و *Scenedesmus obliquus*, *Anabaena flos-aquae* بعنوان شاخص در آزمایش اثر روی مورد استفاده قرار گرفته و آزمایش براساس روش selenastrum bottle test (Miller et al., 1978) انجام گرفت. بدین صورت که ابتدا محلول ۱ گرم در لیتر از نمک فلز روی ($ZnCl_2$) با استفاده از آب 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 (خالص‌سازی شده در آزمایشگاه بیوتکنولوژی مرکز ماهیان استخوانی دریای خزر بندر انزلی) داخل اطاق استریل شده U.V اضافه گردید سپس در شرایط حرارتی 25 ± 2 درجه سانتیگراد و شدت نور 3500 ± 350 لوکس با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت 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 analysis (Finny, 1971) تجزیه و تحلیل شدند.

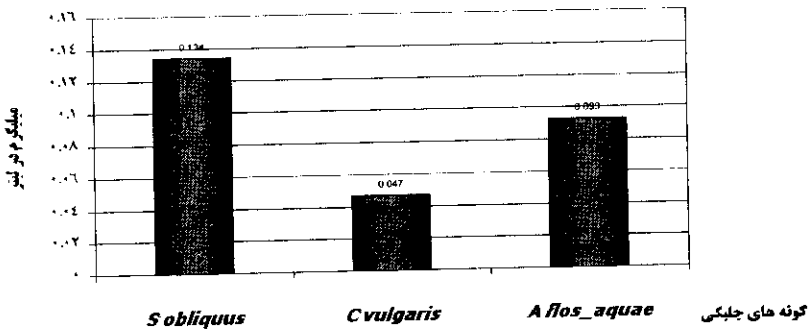
نتایج

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 ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بوده و غلظتی از فلز روی که سبب کاهش رشد جلبکها به مقدار ۵۰ درصد می‌گردد (EC_{50}) برای جلبکهای *C. vulgaris*, *S. obliquus*, *A. flos-aquae* بترتیب ۰/۰۰۱۳۴/۰۰۹۳، ۰/۰۰۴۷، ۰/۰۰۴۷، ۰/۰۰۹۳ است (شکل‌های ۱-۳) 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 (جدول ۱). ضریب همبستگی بین لگاریتم غلظت فلز روی و کاهش تراکم جلبک ها از ۹۲ تا ۹۸ درصد بود.

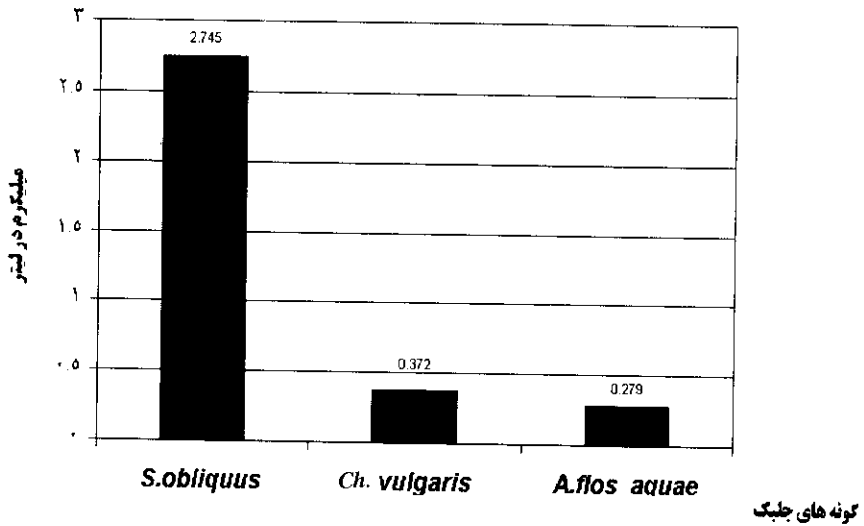


شکل شماره ۱- مقادیر EC10 برای سه گونه جلبک تحت تاثیر فلز روی



شکل شماره ۲- مقادیر EC50 برای سه گونه جلبک تحت تاثیر فلز روی

نمودار ۲: مقادیر EC ۵۰ برای سه گونه جلبک تحت تاثیر فلز روی



نمودار ۳: مقادیر ۹۰ Ec برای سه گونه جلبک تحت تاثیر فلز روی

جدول ۱: مقایسه Ec_{۵۰} و گونه های جلبکی در مقابل فلز سنگین روی

Zn	<i>S. obliquus</i>	<i>Ch. vulgaris</i>	فاکتور حساسیت $Ec_{50} \text{ Senedesmus} / Ec_{50} \text{ Cholrella}$
Ec_{50} میلی گرم / لیتر	۰/۱۳۴	۰/۰۴۷	۲/۸
	<i>S. obliquus</i>	<i>A. flos-aquae</i>	فاکتور حساسیت $Ec_{50} \text{ Senedesmus} / Ec_{50} \text{ Anabaena}$
Ec_{50} میلی گرم / لیتر	۰/۱۳۴	۰/۰۹۳	۱/۴
	<i>Ch. vulgaris</i>	<i>A. flos-aquae</i>	فاکتور حساسیت $Ec_{50} \text{ Anabaena} / Ec_{50} \text{ Cholrella}$
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 جلبک ها می باشد. طبق نتایج حاصل از محاسبه فاکتور حساسیت مشخص گردید که

جلبک *S. obliquus* در مقایسه با جلبک‌های *A. flos-aquae* و *Ch. vulgaris* در مقابل فلز سنگین روی ۱/۴ و ۲/۸ 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 ریشه‌ای *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 ۲۱۱۱ گرم بر میلی‌گرم اعلام نمودند، آنها همچنین اظهار داشتند که این غلظت از فلز روی باعث کاهش رشد، تثبیت CO_2 و مقدار ATP ۸ بترتیب به میزان ۵۰، ۳۶ و ۵۷ درصد می‌گردد.

در تحقیقات سال ۱۹۹۳ Voloshko & Gavriloa 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 فاضلاب‌های شهری، صنعتی، کشاورزی، سموم، شوینده‌ها و غیره 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.* 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.

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 شماره ۳ 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 Toxicology. 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-600/19 - 70 - 018 - Corvallis Ovegon, 126P.
- Mullick, S. and Konar, S. K. , 1991. Influence of detergent, petroleum product, pesticides, nitrogen and phosphate fertilizers on the toxic behavior of metals in water. Environ. Ecol. Vol. 9, pp.498-509.
- Muysen, 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).

- 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.