

## Effects of different types of herbicides and insecticides on population of green microalgae *Scenedesmus quadricauda*

Ahmad Reza Pirali Zefrehei\*

Ph.D Student of Fisheries Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, ahmadreza.pirali@gmail.com

Omidvar Farhadian

Associate Professor of Fisheries Sciences, Isfahan University of Technology, Iran, omfarhad@cc.iut.ac.ir

### Abstract

**Introduction:** Agricultural pesticides into aquatic ecosystems of use discriminate eventually devastating impact on the populations of aquatic species. Sensitivity of algae to various pollutants such as herbicides, organochlorin, heavy metals and industrial organic matter has been shown in various studies. In addition to its application, checking the pollution is common. This study aimed to investigate the effects of different concentrations of two groups of herbicides, (machete and saturn), and insecticides (malathion and diazinon) on the population of green algae (*Scenedesmusquadricauda*) with 96 hour EC<sub>50</sub>.

**Materials and methods:** The experiment was conducted in a completely randomized design during 96 hours in 4 treatments (four levels of pesticide and control) and 3 replicates in accordance with the standard method, OECD. The exposure regime consisted of a 12-hour photoperiod with a 12:12 light-dark regime with intensity of 80  $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$  in BBM medium (Bold Basal Medium) at  $22 \pm 2$  °C.

**Results:** Statistical analysis of results also showed significant differences in daily growth rate ( $p < 0.05$ ) between some different concentrations of studied toxic material, as the significant changes in the cell density observed by increasing concentrations of toxins. The highest mortality rate caused by herbicides in 52.81  $\mu\text{g/L}$  of saturn and 58.36  $\mu\text{g/L}$  of machete, and by insecticides in 63.76  $\mu\text{g/L}$  of malathion and 6.087  $\mu\text{g/L}$ . Also, 96 hour EC<sub>50</sub> was determined, as 174.234  $\mu\text{g/L}$  for diazinon, 9.858  $\mu\text{g/L}$  formalathion, 1.9 $\mu\text{g/L}$  for machete and 1.029 $\mu\text{g/L}$  for Saturn.

**Discussion and conclusion:** According to the results of this study, (*Scenedesmus quadricauda*) can be used as a biological indicator in aquatic ecosystems while it needs more extensive and intensive studies.

**Key words:** Insecticides, Herbicides, EC<sub>50</sub>, Green Microalgae, *Scenedesmus quadricauda*

---

\* Corresponding author

**Received:** August 2, 2015/ **Accepted:** May 10, 2016

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

احمدرضا پیرعلی زفره‌ئی\* : دانشجوی دکتری تولید و بهره برداری آبیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران، ahmadreza.pirali@gmail.com  
امیدوار فرهادیان: دانشیار شیمیات، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران، omfarhad@cc.iut.ac.ir

### چکیده

**مقدمه:** ورود سموم کشاورزی به اکوسیستم‌های آبی که ممکن است به دلیل مصرف بی‌رویه آنها باشد، می‌تواند باعث آثار مخربی بر جمعیت گونه‌های آبی شود. جلبک‌ها به طیف وسیعی از آلودگی از قبیل علف‌کش‌ها، فلزات و آفت‌کش‌های 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 حشره‌کش (مالاتیون و دیازینون) و علف‌کش (ماچتی و ساترن) در غلظت‌های مختلف بر جمعیت جلبک سبز سندسموس کواردیکودا (*Scenedesmus quadricauda*) به همراه تعیین غلظت مؤثر ( $EC_{50}$  ۹۶ ساعته) برای هر کدام است.

**مواد و روش‌ها:** آزمایش در مدت ۹۶ ساعت با ۴ 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 BBM در شرایط نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و شدت نور ۶۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه در دمای  $21 \pm 2$  درجه سانتیگراد قرار داده شد.

**نتایج:** اختلاف معنی‌دار در رشد روزانه ( $p < 0.05$ ) بین برخی از غلظت‌های مختلف در هر یک از سموم مورد مطالعه مشاهده شد. به طوری که افزایش غلظت سموم باعث کاهش معنی‌داری در تراکم سلولی شد. بیشترین درصد تلفات در علف‌کش‌ها مربوط به ساترن در غلظت ۵۲/۸۱ میکروگرم بر لیتر و ماچتی در غلظت ۵۸/۳۶ میکروگرم بر لیتر، در حشره‌کش‌ها مربوط به مالاتیون در غلظت ۶۳/۷۳ میکروگرم بر لیتر و دیازینون در غلظت ۶/۰۸۷ میکروگرم بر لیتر است. همچنین میزان  $EC_{50}$  ۹۶ ساعته به ترتیب برای دیازینون ۱۷۴/۲۳۴ میکروگرم بر لیتر، مالاتیون ۹/۸۵۸ میکروگرم بر لیتر، ماچتی ۱/۹ میکروگرم بر لیتر، ساترن ۱/۰۲۹ 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؛ در نتیجه نیاز به مطالعات دقیق و گسترده‌تری دارد.

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

\* نویسنده مسئول مکاتبات

## مقدمه

امروزه توسعه کشاورزی، گسترش سطح زیر کشت و در نتیجه افزایش مصرف سموم کشاورزی باعث شده که منابع آبی در معرض خطر آلودگی سموم کشاورزی قرار گیرند که در نهایت این آلودگی‌ها به رودخانه‌ها، تالاب‌ها، دریاچه‌ها، دریاها و اقیانوس‌ها انتقال می‌یابند (۱). هنگامی که محیط‌های آبی به طرق مختلف آلوده می‌شوند، آثار زیان‌بار این آلودگی‌ها پایه‌های اصلی در زنجیره غذایی یعنی فیتوپلانکتون‌ها و زئوپلانکتون‌ها را تهدید جدی می‌کنند (۲). جلبک‌ها مواد آلی و انرژی مورد نیاز بی‌مهرگان و ماهی‌ها را در بیشتر اکوسیستم‌های آبی فراهم می‌کنند، استفاده زیاد از سموم کشاورزی آثاری را بر ارگانیسم‌های غیرهدف از جمله جلبک‌ها می‌گذارد و از طرفی واکنش جلبک‌ها به مواد شیمیایی سمی خیلی گسترده است (۳). شناسایی آثار توکسیکولوژیکی یک ماده 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 (۴). به دلیل 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 (۵). جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* قابلیت استفاده برای نشان دادن تأثیرات آلاینده‌گی 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 زنجیره غذایی آب شیرین است (۶). 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 (۷)؛ بنابراین از *Scenedesmus quadricauda* می‌توان به‌عنوان بیواندیکاتور مناسب برای آلاینده‌گی سموم در محیط‌های آبی استفاده کرد (۳). ارزیابی‌ها نشان می‌دهد که حداکثر یک‌درصد آفت‌کش‌های مصرفی، صرف از بین بردن آفات می‌شود و در نتیجه مقادیر هنگفتی از آنها وارد محیط زیست می‌شوند و منابع آبی و خاکی را آلوده می‌کنند (۸)؛ بنابراین شناسایی این سموم در آب و مواد غذایی و محیط زیست انسان خطری برای سلامتی او به شمار می‌رود (۹). در حال حاضر، باقیمانده آفت‌کش‌ها از آلاینده‌های مهم محیطی در تمامی نقاط دنیا شناخته شده است (۱۰). سموم علف‌کش از جمله پرمصرف‌ترین آفت‌کش‌ها به حساب می‌آیند؛ به طوری که حدود ۶۰ درصد سموم مصرف‌شده را سموم علف‌کش به خود اختصاص می‌دهند. بعد از علف‌کش‌ها، حشره‌کش‌ها بیشترین سهم مصرف (۲۵ درصد) را دارند، قارچ‌کش‌ها از دیگر گروه‌های سموم آفت‌کش به حساب می‌آیند که در حدود ۱۶ درصد مصرف سالیانه را به خود اختصاص می‌دهند (۱۱). از گروه حشره‌کش‌های ارگانوفسفره مالاتیون با فرمول شیمیایی  $C_{10}H_{19}O_6PS_2$  را اولین بار در سال ۱۹۵۶ در آمریکا و دیازینون با فرمول شیمیایی  $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$  را در سال ۱۹۵۲ شرکت سوئسی سیبا جیجی<sup>۱</sup> به‌عنوان جایگزینی برای حشره‌کش DDT تولید کرد (۱۲). ارگانوفسفره‌ها جزء نوروتوکسین‌های بسیار سمی هستند، مکانیسم سمیت این نوع ترکیبات به‌صورت مهار آنزیم

سال ۱۹۶۰ توسعه داده شد. این روش با استفاده از گونه<sup>۷</sup> *capricornutum Selenastrum* را اسکولبرگ<sup>۷</sup> آغاز کرد (۱۸) و بعدها آن را آژانس حفاظت محیط زیست امریکا<sup>۸</sup> تحت عنوان پروتکل آزمایش جلبک به روش بطری<sup>۹</sup> توسعه داد (۱۹). امروزه آزمایش سمیت در جلبک ها با استفاده از روش استاندارد (O.E.C.D)<sup>۱۰</sup> صورت می گیرد (۲۰). با توجه به مطالعات محدود در ایران در زمینه تأثیر سموم کشاورزی بر جلبک ها، هدف از این پژوهش بررسی آثار این دسته از سموم مورد استفاده در مزارع کشاورزی و شالیزارها، در دو گروه حشره کش (مالاتیون و دیازینون)، علف کش (ماچتی و ساترن) بر جلبک سبز سندسموس کواردیکودا (*quadricauda Scenedesmus*) با تأکید بر برآورد پویایی جمعیت و رشد و تعیین غلظت مؤثره<sup>۱۱</sup> برای هریک از سموم فوق است.

### مواد و روش ها

**تهیه ذخیره اولیه و خالص سازی جلبک:** جلبک مورد آزمایش *Scenedesmus quadricauda* متعلق به جنس *Scenedesmus* تیره *Acenedesmaceae* و راسته *Chlorochocales* از جلبک های سبز *Chlorophyta* است (۲۱). جمع آوری 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 خالص سازی شد. پس از اطمینان از خالص سازی، جلبک *quadricauda Scenedesmus* در ارلن مایرهای دولیتتری با محیط کشت <sup>۱۲</sup>BBM مخصوص جلبک های آب شیرین جهت ذخیره اولیه کشت داده شد. ترکیب محیط کشت BBM مورد استفاده در این پژوهش شامل  $\text{NaNO}_3$  (۲۵ گرم)،

استیل کولین استراز<sup>۱۲</sup> است (۱۲). با توجه به مصرف فراوان سموم ارگانوفسفره برای مقاصد کشاورزی و آثار مخرب این ترکیبات بر محیط زیست، خصوصاً اکوسیستم های آبی، شناسایی و اندازه گیری باقیمانده این سموم در نمونه های آبی ضروری است (۱۳). علف کش بوتاکلر (ماچتی) با فرمول شیمیایی  $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{ClNO}_2$  از گروه کلرواستامیدها و در سال ۱۹۶۸ را شرکت مونسانتو<sup>۱۳</sup> در امریکا به صورت تجاری درآورد؛ بوتاکلر با نام تجاری ماچتی در ایران تولید شده و در سال ۱۳۵۱ برای برنج به ثبت رسیده است (۱۴). علف کش ماچتی یک بازدارنده رشد (تقسیم سلولی) از طریق جلوگیری از سنتز پروتئین با جلوگیری از سنتز اسیدهای چرب با زنجیر بسیار بلند است و برای مبارزه با علف های هرز یک ساله کشیده برگ و بعضی پهن برگ ها در زراعت برنج، قبل از رویش در مزارع به کار برده می شود. اثر این سم به میزان آبی که در دسترس گیاه بستگی دارد (۱۵). ساترن (بنتیوکارب) با فرمول شیمیایی  $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{ClNOS}$  علف کشی است از گروه کاربامات ها و بازدارنده آنزیم استیل کوآنزیم آکریلوکسیلاز<sup>۱۴</sup>، یکی از آنزیم های اولیه در ساخت اسیدهای چرب و با نام تجاری ساترن در کشورمان شناخته می شود که آن را در سال ۱۹۷۰ برای اولین بار شرکت کومیای<sup>۱۵</sup> معرفی کرد (۱۴). جنس *Scenedesmus* در زمینه های مختلف لیمنولوژی معادل موش های آزمایشگاهی مطرح و کاربرد فراوانی در علوم تحقیقاتی دارند. این جلبک ها معمولاً به عنوان میکروارگانیسم های استاندارد در بسیاری از تحقیقات آبی، تکنولوژی و مدیریت آب ها مطرح هستند (۱۶). آزمایش سمیت در جلبک ها را پیش از این در سال ۱۹۱۰ آلن و نلسون<sup>۱۶</sup> استفاده کردند (۱۷)؛ اما اولین روش استاندارد به وسیله جلبک های آب شیرین در

۰/۵۸۳۶/۵۸۸۳۶/۳۶ و ۰/۵۸۳۶ میکروگرم بر لیتر برای علف کش ماچتی، غلظت‌های ۰، ۵۲/۸۱، ۵۲/۸۱، ۵۲/۸۱ و ۰/۵۲۸۱ میکروگرم بر لیتر برای علف کش ساترن با ۳ تکرار در هر تیمار تعیین شد. تیمارها در لوله‌های آزمایش ۱۰ میلی لیتری همراه با محیط کشت BBM در شرایط نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و شدت نور ۶۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه در دمای  $21 \pm 2$  درجه سانتیگراد قرار داده شد. شمارش روزانه جلبک‌ها از هر لوله به وسیله لام هموسایتومتر ( $0.2 \times 0.625$  میلیمتر) و میکروسکوپ اینورت<sup>۱۳</sup> براساس روش مارتینز و چاکروف در سال ۱۹۷۵ انجام شد (۲۳). تعیین غلظت مؤثره نمونه‌ها با توجه به استاندارد O.E.C.D جهت ارزیابی سمیت در جلبک‌ها و آنالیز پرویت<sup>۱۴</sup> استفاده شد. میزان حداکثر غلظت مجاز<sup>۱۵</sup> (میزان غلظت مؤثره ۹۶ ساعته تقسیم بر ۱۰) که به عبارتی غلظت غیر مؤثر<sup>۱۶</sup> نیز خوانده می‌شود و درجه سمیت طبق جداول استاندارد (۲-۳) مشخص شد (۲۰).

**آنالیز آماری:** آنالیز آماری داده‌ها با آزمون واریانس یک‌طرفه<sup>۱۷</sup> و ارزیابی احتمال معنی‌دار بودن میانگین داده‌ها با آزمون دانکن<sup>۱۸</sup> در سطح اطمینان ۹۵ درصد ( $p > 0.05$ ) تعیین شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ و رسم نمودارها با استفاده از برنامه Excell 2013 انجام شد.

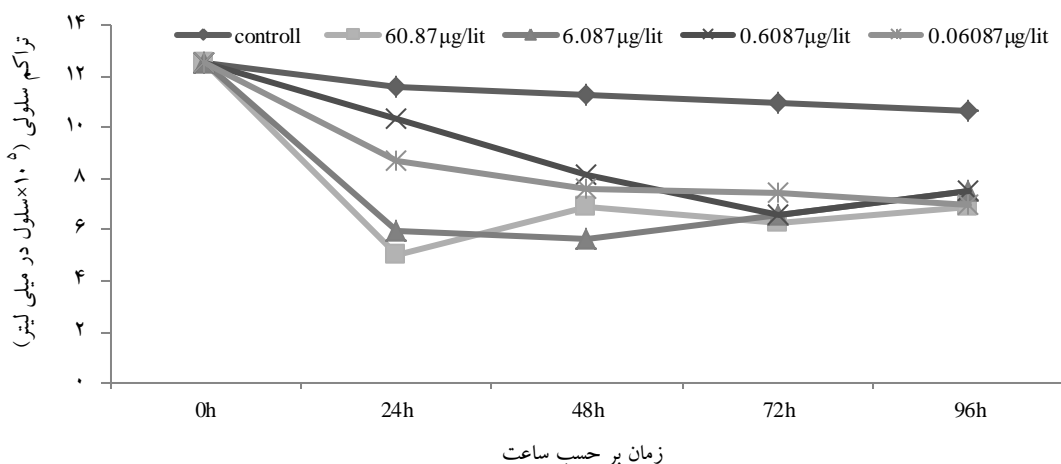
## نتایج

نمودارهای پویایی جمعیت بر حسب تراکم سلولی (از زمان القای سموم به هر تیمار تا ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) به ترتیب در شکل ۱-۴ آورده شده است.

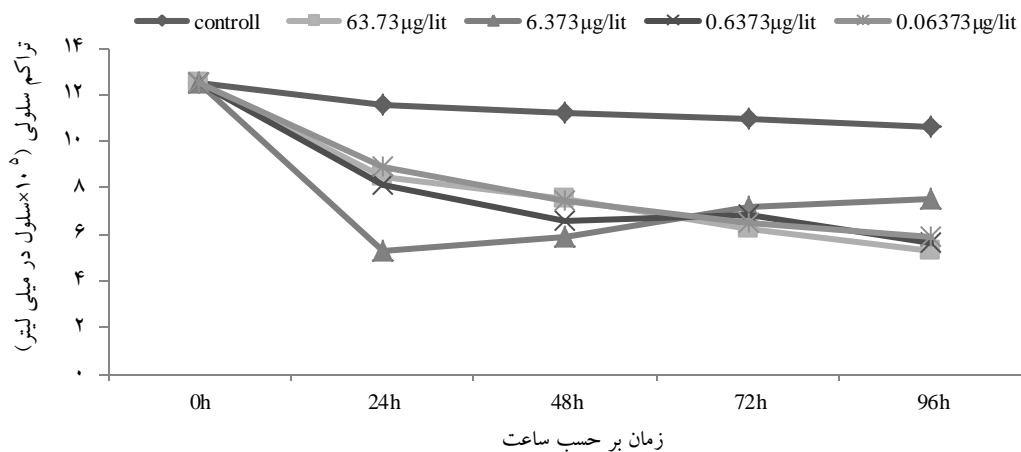
$K_2HPO_4$  (۱۰ گرم)،  $KH_2PO_4$  (۱۵ گرم)،  $MgSO_4$  (۷/۵ گرم)،  $NaCl$  (۲/۵ گرم)،  $CaCl_2$  (۲/۵ گرم)،  $MnCl_2$  (۱/۴۴ گرم)،  $ZnSO_4$  (۸/۸۲ گرم)،  $MoO_3$  (۰/۷۱ گرم)،  $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  (۰/۴۹ گرم)،  $H_3BO_4$  (۱۱/۴ گرم)،  $KOH$  (۳۱ گرم)،  $FeSO_4$  (۴/۹۸ گرم) و  $EDTA$  (۵۰ گرم) که تماماً در یک لیتر آب مقطر ریخته شد و pH آن را قبل از اتوکلاو کردن با استفاده از  $HCl$  ۰/۱ نرمال و یا  $NaOH$  ۰/۱ نرمال در ۶/۸ تنظیم شد (۲۲).

**تهیه سموم مورد آزمایش:** سموم استفاده شده در این پژوهش به ترتیب علف کش‌های ساترن ۵۰ درصد ساخت شرکت شیمیایی مشکفام فارس و ماچتی ۶۰ درصد ساخت مجتمع صنعتی رجاشیمی، حشره کش‌های دیازینون ۶۰ درصد و مالاتیون ۵۷ درصد ساخت آریاشیمی هستند. نظر به اینکه این سموم در مزارع کشاورزی و شالیزارها به‌طور وسیعی استفاده می‌شوند، برای این پژوهش تعیین و خریداری شد.

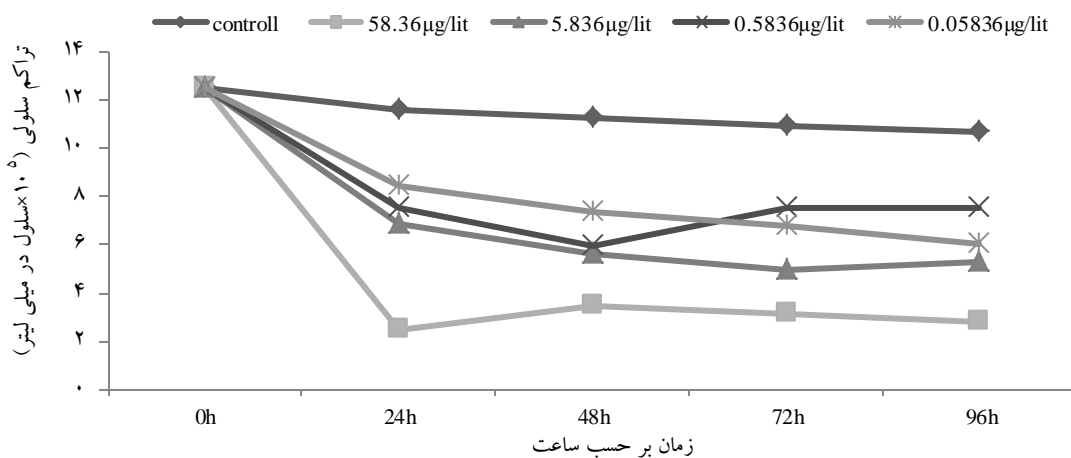
**نحوه انجام آزمایش:** طول دوره آزمایش تعیین غلظت مؤثره ۹۶ ساعت است و میزان مرگ و میر در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت محاسبه می‌شود. شایان ذکر است محاسبه غلظت مؤثره براساس بایومس (تراکم سلول‌ها) صورت گرفت که تعداد مرگ و میر (تلفات) از زمان القای سم تا ۲۴ ساعت، مرگ و میر روز اول و بدین ترتیب تا روز چهارم محاسبه می‌شود. پس از آزمایش‌های اولیه تیمارهای نهایی براساس تصاعد هندسی برای هر سم ۴ تیمار و ۱ شاهد تعیین شد. شامل غلظت‌های ۰، ۶/۰۸۷، ۶/۰۸۷، ۶/۰۸۷ و ۰/۶۰۸۷ میکروگرم بر لیتر برای حشره کش دیازینون، غلظت‌های ۰، ۶۳/۷۳، ۶۳/۷۳ و ۰/۶۳۷۳ میکروگرم بر لیتر برای حشره کش مالاتیون، غلظت‌های ۰،



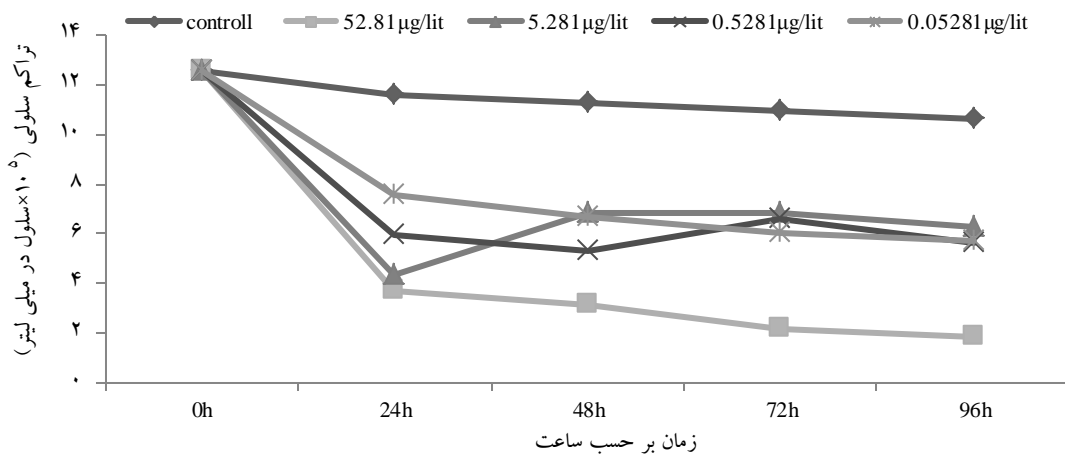
شکل ۱- تغییرات پویایی جمعیت جلبک *S. quadricauda* در غلظت های مختلف دیازینون طی ۹۶ ساعت



شکل ۲- تغییرات پویایی جمعیت جلبک *S. quadricauda* در غلظت های مختلف مالاتیون طی ۹۶ ساعت



شکل ۳- تغییرات پویایی جمعیت جلبک *S. quadricauda* در غلظت های مختلف مالیتی طی ۹۶ ساعت



شکل ۴- تغییرات پویایی جمعیت جلبک *S. quadricauda* در غلظت‌های مختلف ساترن طی ۹۶ ساعت

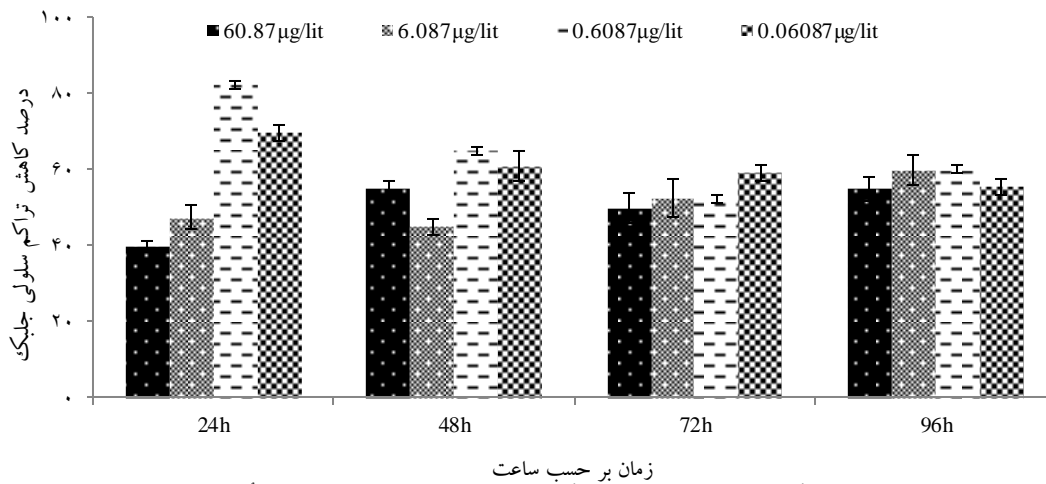
غلظت‌های مختلف در هر یک از سموم مورد مطالعه بود. به طوری که افزایش غلظت سموم باعث تغییرات معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) در تراکم سلولی می‌شود. در شکل‌های ۵-۸ به ترتیب میانگین درصد تغییرات سلول‌های جلبک سبز سندسموس کواردیکودا نسبت به سلول‌های اولیه تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سموم مورد مطالعه آورده شده است.

طبق شکل‌های ۵-۸ بیشترین کاهش سلول جلبک در گروه علف‌کش‌ها مربوط به ساترن در غلظت ۵۲/۸۱ میکروگرم بر لیتر و ماچتی در غلظت ۵۸/۳۶ میکروگرم بر لیتر، در گروه حشره‌کش‌ها مربوط به مالاتیون در غلظت ۶۳/۷۳ میکروگرم بر لیتر و دیازینون در غلظت ۶/۰۸۷ میکروگرم بر لیتر است. در جدول ۱ غلظت‌های مؤثره ۹۶ ساعته هر یک از سموم گزارش شده است.

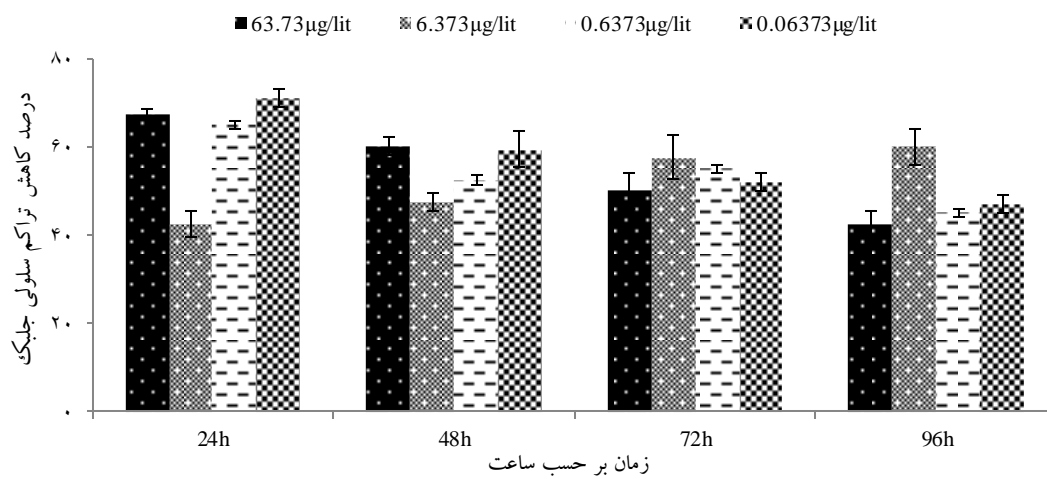
جدول ۱- غلظت‌های مؤثره سموم

سم	EC <sub>50</sub> ۹۶ ساعته .
دیازینون	۱۷۴/۲۳۴ میکروگرم بر لیتر
مالاتیون	۹/۸۵۸ میکروگرم بر لیتر
ماچتی	۱/۹ میکروگرم بر لیتر
ساترن	۱/۰۲۹ میکروگرم بر لیتر

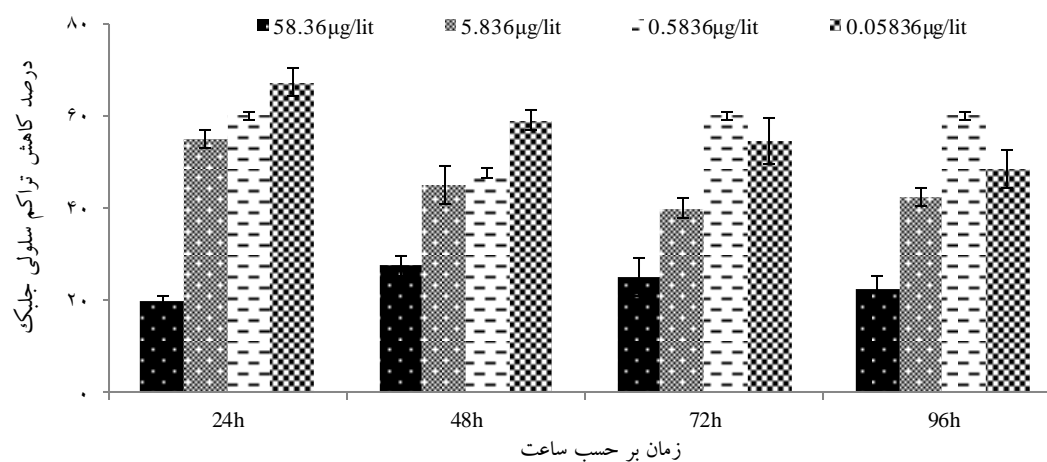
بررسی نمودارهای پویایی جمعیت (شکل ۴-۱) نشان می‌دهد بیشترین و کمترین تراکم سلول‌های جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* در حشره‌کش دیازینون مربوط به غلظت‌های ۰/۶۰۸۷ میکروگرم در لیتر ( $10^5 \times 10/3$  سلول در هر میلی لیتر) و ۶۰/۸۷ میکروگرم در لیتر ( $10^5 \times 5$  سلول در هر میلی لیتر) است. در حشره‌کش مالاتیون بیشترین و کمترین تراکم سلول‌های جلبک مربوط به غلظت‌های ۰/۰۶۳۷ میکروگرم در لیتر ( $10^5 \times 8/88$  سلول در هر میلی لیتر) و ۶/۳۷۳ میکروگرم در لیتر ( $10^5 \times 5/3$  سلول در هر میلی لیتر) است. در علف‌کش ماچتی بیشترین و کمترین تراکم سلول‌های جلبک مربوط به غلظت‌های ۰/۰۵۸۳۶ میکروگرم در لیتر ( $10^5 \times 8/4$  سلول در هر میلی لیتر) و ۵۸/۳۶ میکروگرم در لیتر ( $10^5 \times 2/5$  سلول در هر میلی لیتر) است. در علف‌کش ساترن بیشترین و کمترین تراکم سلول‌های جلبک مربوط به غلظت‌های ۰/۰۵۲۸۱ میکروگرم در لیتر ( $10^5 \times 7/6$  سلول در هر میلی لیتر) و ۵۲/۸۱ میکروگرم در لیتر ( $10^5 \times 1/87$  سلول در هر میلی لیتر) است. نتایج آنالیز آماری نیز نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در رشد روزانه ( $p < 0.05$ ) بین برخی از



شکل ۵- درصد تغییرات سلول های جلبک سبز سندسموس کواردیکودا نسبت به سلول های اولیه تحت تأثیر غلظت های مختلف دیازینون

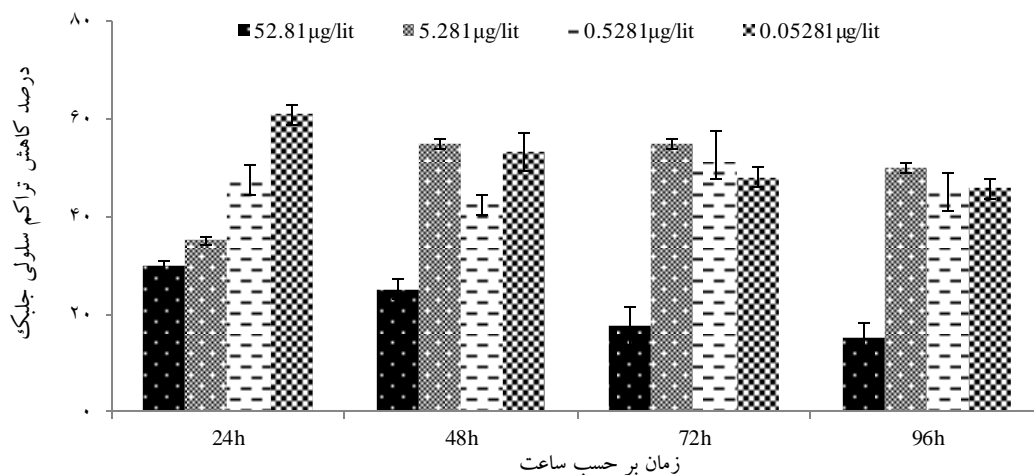


شکل ۶- درصد تغییرات سلول های جلبک سبز سندسموس کواردیکودا نسبت به سلول های اولیه تحت تأثیر غلظت های مختلف مالاتیون



شکل ۷- درصد تغییرات سلول های جلبک سبز سندسموس کواردیکودا نسبت به سلول های اولیه تحت تأثیر غلظت های مختلف ماچتی





شکل ۸- درصد تغییرات سلول‌های جلبک سبز سندسموس کواردیکودا نسبت به سلول‌های اولیه تحت تأثیر غلظت‌های مختلف ساترن

### بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه سمیت کوتاه‌مدت یا حاد<sup>۱۹</sup> دو متغیر حائز اهمیت است؛ یکی میزان پاسخ موجود زنده به سم که به‌صورت مرگ و میر اندازه‌گیری می‌شود و دیگری غلظت سم مورد استفاده یا غلظت‌های مختلف (۱۳). امروزه با افزایش کاربرد بسیاری از ترکیبات شیمیایی در بخش‌های کشاورزی و صنعتی در دنیا ضروری است روش‌های سنجش و تعیین مقادیر سمیت این گونه ترکیبات نیز توسعه پیدا کند. در مرحله نخست، سمیت حاد این مواد بر جلبک‌ها، ماهی‌ها و دیگر موجودات زنده باید ارزیابی شود تا خطرهای ناشی از مواجهه با آنها مشخص شوند (۲۵). بررسی میزان رشد جلبک *Scenedesmus quadricauda* طبق شکل ۱-۶ نشان می‌دهد جلبک *quadricauda* کد برابر حشره کش دیازینون در غلظت ۶۰/۸۷ میکروگرم بر لیتر بعد از ۲۴ ساعت و در غلظت ۰/۶۰۸۷ میکروگرم بر لیتر بعد از ۴۸ ساعت توانایی غلبه بر شرایط موجود را داشته و به رشد خود ادامه داده است. در مورد حشره کش مالاتیون

بر اساس استاندارد آب آشامیدنی اتحادیه اروپا حداکثر غلظت مجاز آفت‌کش‌ها در منابع آبی ۰/۵ میکروگرم بر لیتر است (۲۴). میزان غلظت مؤثره دیازینون در طی چهار روز متوالی (۹۶ ساعت) برای ۵۰ درصد از جمعیت جلبک سندسموس کواردیکودا ۱۷۴/۲۳۴ میکروگرم بر لیتر (جدول ۱) و حداکثر غلظت مجاز این سم یا به عبارتی غلظت غیر مؤثر ۱۷/۴۲۳ میکروگرم بر لیتر به دست آمد. میزان غلظت مؤثره مالاتیون در طی چهار روز متوالی (۹۶ ساعت) ۹/۸۵۸ میکروگرم بر لیتر و حداکثر غلظت مجاز آن ۰/۹۸۵ میکروگرم بر لیتر است. میزان غلظت مؤثره ماچتی در طی چهار روز متوالی (۹۶ ساعت) ۱/۹ میکروگرم بر لیتر و حداکثر غلظت مجاز ۰/۱۹ میکروگرم بر لیتر است. میزان غلظت مؤثره ساترن در طی چهار روز متوالی (۹۶ ساعت) ۱/۰۲۹ میکروگرم بر لیتر و حداکثر غلظت مجاز ۰/۱۰۲ میکروگرم بر لیتر است.

یا توقف رشد جلبک می شود (۶). سموم و علف کش های مختلف به گونه ای طراحی و ساخته می شوند که بتوانند به صورت انتشار از غشای سلولی عبور کنند. این مواد پس از ورود به سلول معمولاً فرایندهای متابولیسمی سلول مانند فتوسنتز، تنفس و فرایندهای بیوسنتزی را هدف قرار می دهند (۲۹). علف کش ها در غلظت های بالا باعث کاهش کلروفیل جلبک و غشای سلولی آن را متلاشی و تأثیر منفی بر رشد سلولی و فتوسنتز جلبک ها می گذارند. معمولاً سمیت سم در ارگانسیم هدف به دو عامل بستگی دارد: نفوذ از طریق غشای بیولوژیکی و اثر متقابل سم در مکان اثر (۳۰). جانقازن<sup>۲۷</sup> و همکاران مشاهده کردند تفاوت مقادیر غلظت مؤثره در علف کش های گروه کلرواستامید در جلبک سبز *Scenedesmus vacuolatus* به شدت با مولکول های لیپوفلیسیته (چربی دوست) علف کش ها در ارتباط است (۳۱). همچنین در مطالعات بونت<sup>۲۸</sup> و همکاران مشخص شد که بین سمیت و آب گریزی در چند نوع علف کش و نحوه اثرشان بر گیاهان آبی و جلبک ارتباط معنی داری وجود دارد (۳۲). سموم ارگانوفسفره به لحاظ ممانعت از فعالیت آنزیم استیل کولین استراز، سموم ارگانوکلره از نظر امکان تجمع در بدن موجودات زنده و افزایش غلظت در زنجیره غذایی و سموم کارباماته به لحاظ آثار جهش زایی و تأثیر بر سیستم اعصاب مرکزی بسیار مهم هستند (۱۰). طبق جداول ۲-۳ و با توجه به مقادیر حداکثر غلظت مجاز می توان درجه سمیت سموم مورد آزمایش برای جلبک *Scenedesmus quadricauda* در این مطالعه را تعیین کرد. بدین ترتیب سموم دیازینون، مالاتیون در درجه غیرسمی، سموم ماچتی، ساترن در درجه سمیت کم برای جلبک

نیز در غلظت های ۶/۳۷۳ و ۰/۶۳۷۳ میکروگرم بر لیتر بعد از ۲۴ ساعت مشابه حالت قبل، اقدام به بازسازی جمعیت خود با تقسیم سلولی و در نهایت رشد کرده است؛ از دلایل این امر جدا از مقاوم بودن جلبک *S. quadricauda* طبق مطالعه حاضر<sup>۲۰</sup>، می توان به حل نشدن این گروه از آفت کش های ارگانوفسفره در آب و عملکرد این گروه، مهار کننده آنزیم استیل کولین استراز در سیستم عصبی اشاره کرد. هر چند این نوع حشره کش ها برای جلبک ها از اکثر ارگانوکلره ها کمتر سمی اند (۲۶)؛ اما استفاده وسیع از سموم ارگانوفسفره و در معرض قرار گرفتن متعاقب با جمعیت های آبی می ممکن است تهدیدی جدی برای رشد جلبک ها و تنوع جمعیت ایجاد کند (۲۷). در علف کش های ماچتی و ساترن نیز طی ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب در غلظت های ۰/۵۲۸۱ و ۰/۵۲۸۱، ۰/۵۸۳۶، ۵/۸۳۶، ۵۸/۳۶ میکروگرم بر لیتر شاهد نوساناتی با توجه به نقش بازدارندگی رشد (تقسیم سلولی) توسط این علف کش ها در جمعیت جلبک *S. quadricauda* هستیم. در مطالعات جفروی<sup>۲۱</sup> و همکاران علف کش فلو میگزائین<sup>۲۲</sup> بطور شدیدی باعث بازدارندگی رشد *Scenedesmus obliquus* با کاهش تقسیم سلولی شده است (۲۸). نتایج استفاده از علف کش اکسی فلورفن<sup>۲۳</sup> و دیوران<sup>۲۴</sup> در مطالعات جفروی و همکاران نشان داد که شدیداً مانع رشد *Scenedesmus obliquus* شده است (۲۹). در مطالعات ونگ<sup>۲۵</sup> در حضور غلظت کم علف کش های ۲،۴-D یا گلیفوسات<sup>۲۶</sup> باعث تحریک رشد *S. quadricauda* شده است و در غلظت های بیشتر (۲۰۰ و ۲۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب برای ۲،۴-D و گلیفوسات) رشد کاملاً متوقف شد و در نتیجه کاهش یا افزایش در غلظت سم باعث تحریک

در کلاس خیلی سمی برای این ارگانیسم ارزیابی شد (۳۷). مقایسه‌ای که پیری و اردگک 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 (۳۸). گونه‌های جنس *Scenedesmus* در برابر سموم شیمیایی و شرایط زیست‌محیطی استفاده می‌کنند و همچنین برای حذف و جذب مواد مغذی یا سموم در اکوسیستم‌های آبی بسیار کاربرد دارد (۳۹). تجزیه آرام و بلندمدت آفت‌کش‌ها در طبیعت و انباشت تدریجی آنها در بدن جانوران یکی از مهم‌ترین مسائل شایان توجه در استفاده و توسعه آفت‌کش‌ها است. در صورتی که هرگونه آفت‌کش با در نظر گرفتن ویژگی‌های شیمیایی آن به‌طور صحیح استفاده شود، می‌تواند در افزایش عملکرد محصولات کشاورزی و در نتیجه بهبود کیفیت زندگی انسان مؤثر واقع شود؛ در غیر این صورت، ضربات جبران‌ناپذیر بر پیکره طبیعت وارد خواهد کرد (۴۰)؛ بنابراین با توجه به نتایج این مطالعه و اهمیت و نقش جلبک‌ها در زنجیره غذایی (۴۱) در طبیعت و از طرفی تهدید جوامع آبی با ورود سموم کشاورزی مختلف، مدیریت صحیح و نظارت بر مصرف همراه با کنترل سموم ضروری است. همچنین از *S. quadricauda* می‌توان به‌عنوان یک شاخص بیولوژیکی در منابع آبی به‌دلیل پاسخ‌های سریع به آلاینده‌ها استفاده کرد و در نتیجه نیاز به مطالعات دقیق و گسترده‌تری دارد.

*Scenedesmus quadricauda* قرار می‌گیرند. متأسفانه اطلاعات چندانی درباره آثار سمیت حشره‌کش‌ها بر جلبک *S. quadricauda* در دسترس نیست. در مورد آزمایشات سمیت علف‌کش‌های مختلف بر گونه‌های جنس *Scenedesmus* spp)، جانقاز و همکاران مقدار غلظت مؤثره برای علف‌کش متاکلر در جلبک *Scenedesmus vacuolatus* ۲۳۲ میکروگرم بر لیتر (۳۱)، ما و همکاران مقدار غلظت مؤثره برای علف‌کش بوتاکلر در جلبک *Scenedesmus quadricauda* ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر (۷)، هی<sup>۲۹</sup> و همکاران مقدار غلظت مؤثره برای علف‌کش بوتاکلر در جلبک *Scenedesmus obliquus* ۲/۳۱ میلی‌گرم بر لیتر (۳۳)، نیستروم<sup>۳۰</sup> و همکاران مقادیر غلظت مؤثره برای علف‌کش‌های کلروسولفورون و مت‌سولفورون متیل در جلبک *Scenedesmus obtusiusculus* به ترتیب ۱۰ و ۱۵ میکرومولار (۳۴) و ایبراهیم<sup>۳۱</sup> مقادیر غلظت مؤثره برای علف‌کش گراماکسون در *Scenedesmus dimorphus* ۳۹/۸ میکروگرم بر لیتر به دست آورده‌اند (۳۵). اختلاف در مقادیر غلظت مؤثره در آزمایش‌های سمیت در جلبک‌ها تحت تأثیر فاکتورهای نظیر دما، pH، میزان و شدت نور، مدت‌زمان و نحوه انجام آزمایش، تراکم جلبک، نوع سموم، محیط کشت و جلبک مورد استفاده است (۳۶) که بخشی از تفاوت‌ها را توجیه می‌کند. در بررسی مقایسه ارزیابی سمیت در سایر بیواندیکانورها می‌توان به مطالعه اکوتوکسیکولوژی دافنی ماگنا *Daphina magna* تحت تأثیر سموم ماچتی، ساترن، دیازینون و مالاتیون که پیری و همکاران انجام داده‌اند اشاره کرد. مقادیر غلظت مؤثره در ۲۴ ساعت برای سموم ذکر شده به ترتیب، ۱۸/۴۹، ۴/۴۶، ۰/۳۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد و سموم حشره‌کش

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 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.
- (9) FAO/ WHO. *Pesticide residue a food*. Joint FAO/WHO. Available from: [http://www.fao.org/fileadmin/templates/agp\\_home/documents/Pests\\_Pesticides/JMPR/2008\\_JMPR\\_Evaluations.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/agp_home/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 Damietta 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.

جدول ۲- تقسیم بندی علف کش ها بر اساس میزان سمیت (بر حسب

میلی گرم بر لیتر) (۴۲)

سطح	درجه سمیت	ه.EC
A	غیر سمی	>۵۰۰
B	سمیت کم	۱۰۰-۵۰۰
C	سمیت متوسط	۱۰-۱۰۰
D	سمی	۹-۱
E	خیلی سمی	<۱

جدول ۳- تقسیم بندی حشره کش ها بر اساس میزان سمیت (بر حسب

میلی گرم بر لیتر) (۴۳)

سطح	درجه سمیت	ه.EC
A	تقریباً غیر سمی	>۱۰۰
B	سمیت کم	۱۰۰-۱۰
C	سمیت متوسط	۱۰-۱
D	سمیت زیاد	۱- ۰/۱
E	سمیت خیلی زیاد	<۰/۱

### تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه صنعتی اصفهان برای فراهم آوردن 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 می شود.

### 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

- (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 *Ictalurismelas* 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 Fertilizing Influences of Pollution on Inland Waters*. In: Algae and Man Ed. Jackson DF. New York: 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 the hemacytometer. *Philippine Agriculture Science* 1975; 59(1): 43-50.
- (26) Gray NF. *Drinking Water Quality problems and solutions*. New York: 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 *Lemma 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 carpicornutum* and *Daphnia magna*. *Iranian Fisheries* 1997; 6(2): 19–26.
- (41) Trainor FR. The sequence of ecomorph formation in a phenotypically 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 Pische Z. Response of growth, protein and fatty acid content of *Desmodesmus cuneatus* to the repletion and 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<sub>50</sub>  
 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