

## اثرات سرب و کادمیم بر تراکم و رشد ویژه جمعیت آنتن‌منشعب آب شیرین

*Daphnia magna*

سپیده مردانی، امیدوار فرهادیان\* و نصرالله محبوبی صوفیانی

اصفهان، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۷

## چکیده

در این مطالعه تأثیر چهار غلظت فلز سرب (صفر، ۱۵، ۴۸/۶ و ۱۵۰ میکروگرم بر لیتر) و چهار غلظت فلز کادمیم (صفر، ۱/۲، ۳/۷ و ۶/۲ میکروگرم بر لیتر) بر میزان تراکم، رشد ویژه و زمان دو برابر شدن جمعیت آنتن‌منشعب آب شیرین *Daphnia magna* در دو سطح غذایی کم ( $2 \times 10^5$  سلول در هر میلی‌لیتر) و زیاد ( $6 \times 10^5$  سلول در هر میلی‌لیتر) از جلبک *Scenedesmus quadricauda* در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به مدت ۲۱ روز انجام گردید. نتایج نشان داد که افزایش فلز سرب و کادمیم باعث کاهش معنی‌داری در تراکم و رشد ویژه جمعیت *D. magna* می‌شود ( $P < 0.05$ ). بیشترین تراکم (۱۴۴ فرد در ۲۵۰ میلی‌لیتر)، میزان رشد ویژه (۰/۱۶ در روز) و کوتاه‌ترین زمان دو برابر شدن جمعیت (۴/۳ روز) آنتن‌منشعب *D. magna* در روز ۲۱ آزمایش برای هر دو فلز در غلظت صفر و تراکم جلبکی  $6 \times 10^5$  سلول در هر میلی‌لیتر به دست آمد. به‌طورکلی، افزایش غلظت سرب و کادمیم موجب کاهش رشد و تراکم جمعیت آنتن‌منشعب *D. magna* می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتن‌منشعب *D. magna*، میزان رشد ویژه، سرب، کادمیم.

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۱۳-۳۹۱۳۵۶۴، پست الکترونیکی: omfarhad@cc.iut.ac.ir

## مقدمه

فلزات سنگین در بیشتر نقاط دنیا در فرم‌های فیزیکی و شیمیایی گوناگون و در غلظت‌های متفاوت به‌عنوان آلوده‌کننده محیط‌زیست مطرح بوده و از طریق پساب‌های صنعتی، مصرف سوخت و تخلیه فاضلاب‌های شهری به محیط وارد می‌گردند (۲۷). فلز سرب در صنعت به خاطر خواص ویژه‌ای که دارد مصارف فراوانی پیدا کرده است. سرب در صنایع مختلف مانند رنگ‌سازی، حمل‌ونقل، پلاستیک و مواد شیمیایی مرتبط با آن، در ساخت انواع حشره‌کش‌ها، در صنعت نساجی و چاپ وجود دارد (۲۹). کادمیم در ساخت باتری‌ها به‌ویژه باتری‌های نیکل - کادمیم استفاده می‌گردد. همچنین جهت رنگ‌ها، پوشش‌ها،

امروزه در اثر فعالیت‌های مختلف انسانی به‌خصوص فعالیت‌های صنعتی مقادیر بسیار زیادی از آلاینده‌های گوناگون به محیط‌زیست وارد می‌شود. دسته‌ای از این آلاینده‌ها فلزات سنگین هستند که در غلظت‌های بالا آثار تخریبی بسیاری بر اکوسیستم‌های آبی دارند. آلودگی‌های محیط ناشی از فلزات سنگین اکنون مشکلی در مقیاس جهانی هستند (۳۲). این فلزات نظیر سرب، نیکل، جیوه و کادمیم برخلاف بسیاری از آلاینده‌ها، به‌صورت زیستی از بین نمی‌روند و به علت اثرات سمی، قابلیت جذب و تجمع بالا در گونه‌های مختلف آبزیان و پدیده بزرگنمایی زیست (Bioaccumulation) در طول زنجیره غذایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (۱).

آبکاری و به‌عنوان مواد ثبات‌بخش در پلاستیک‌ها به کار می‌رود (۳۴).

سمیت سرب و کادمیم برای ماهیان و سایر موجودات آبی تحت تأثیر کیفیت آب بوده و به قابلیت انحلال ترکیبات سرب و کادمیم و به غلظت‌های کلسیم و منیزیم در آب بستگی دارد (۲۰). فلزات سنگین سرب و کادمیم باعث اثرات مختلفی مانند، کاهش تولیدمثل، رشد، تغییر رفتار، تغییرات ژنتیکی و مرگ‌ومیر در آبزیان می‌گردد. این اثرات سبب زوال زیستی آبزیان می‌شود. نابودی یا کاهش تنوع گونه‌ای خاص سبب تغییر در اکوسیستم آبی گشته و توازن آن را برهم می‌زند (۲۲).

فلزات سنگین نه تنها، آب‌های قابل‌مصرف انسان و موجودات را به شدت آلوده می‌کنند، بلکه موجب آلوده شدن شدید خاک نیز می‌گردند. این فلزات قادرند مسافتی را به‌طور عمودی در خاک طی کرده و آب‌های زیرزمینی را نیز آلوده سازند (۱۴). در ستون آب، فلزات سنگین ابتدا توسط فیتوپلانکتون‌ها و زئوپلانکتون‌ها و موجودات زنده کوچک دیگر جذب می‌شوند. سپس توسط موجودات بزرگتر مصرف‌شده و در نهایت به بدن انسان وارد می‌شوند. این فلزات زمانی که به‌وسیله انسان مصرف می‌شوند، اغلب اثرات قوی و زیان‌باری را به همراه دارد (۲۶).

آنتن‌منشعب‌ها از مهم‌ترین مصرف‌کنندگان اولیه اکوسیستم‌های آبی هستند و در تولید ثانویه و انتقال انرژی و مواد در زنجیره غذایی نقش مهمی دارند (۳۰). این موجودات به لحاظ داشتن کالری بالا منبع غذایی مهمی برای تأمین انرژی آبزیان محسوب می‌شوند (۲۸). برای ارزیابی نقش آنتن‌منشعب‌ها در اکوسیستم‌های آبی لازم است دانش کافی در مورد رشد و توسعه آنها در دسترس باشد. فاکتورهای مهمی که رشد و تولیدمثل را در آنتن‌منشعب‌ها کنترل می‌کنند دما، کمیت و کیفیت غذایی، نور و آلاینده‌ها هستند (۳۶). جذب فلزات سنگین توسط گونه‌های پلانکتونی می‌تواند منجر به از بین رفتن

جمعیت‌های پلانکتونی شود و یا از طریق زنجیره غذایی به سطوح تغذیه‌ای بالاتر که بخش عمده‌ای از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند منتقل شده و سلامتی انسان را به خطر اندازد (۱۰).

در میان آنتن‌منشعب‌ها استفاده از *D. magna* به دلیل سهولت پرورش، برای پایش پساب خروجی و تعیین راندمان تصفیه‌خانه‌ها در کشورهای مختلف رواج دارد. ویلگاس و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که می‌توان از *D. magna* به‌عنوان شاخص سمیت و تصفیه فاضلاب‌های صنایع نساجی استفاده کرد (۴۰). آنتن‌منشعب‌ها معمولاً در آزمایش وجود سموم در آب، مورد استفاده قرار می‌گیرند. راحتی کار با این دسته از موجودات به دلیل جثه کوچک، طول عمر کم، باروری بالا، بکرزایی، مقرون به‌صرفه بودن و مزایای دیگر موجب گردیده است تا بتوان از آنتن‌منشعب‌ها به‌عنوان شاخص زیستی در ارزیابی شرایط کیفی اکوسیستم‌های آبی بهره برد (۲۳). در این مطالعه تأثیر دو فلز سنگین سرب و کادمیم بر میزان تراکم، رشد ویژه و زمان دو برابر شدن جمعیت آنتن‌منشعب آب شیرین *Daphnia magna* مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روشها

نمونه‌های زئوپلانکتون در فصل زمستان به‌صورت سیست از دریاچه سد حنا واقع در ۲۰ کیلومتری شهرستان سمیرم استان اصفهان جمع‌آوری گردید و سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان انتقال داده شد. افی‌پیوم‌های (تخم‌های نهان‌زی) آنتن‌منشعب *Daphnia magna* براساس کلید شناسایی (۳۸) تخم‌های نهان‌زی آنتن‌منشعب‌ها شناسایی شدند. ۵۰۰ میلی‌گرم افی‌پیوم خالص‌سازی شده در ۱ لیتر آب اتوکلاو شده و شرایط دمایی  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد مورد تفریح قرارگرفت. سپس گونه تفریح شده با استفاده از میکروپیت جداسازی و برای اطمینان از خلوص آن، درون بشر آزمایشگاهی با حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر کشت داده

لوگول آبودین (مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر در هر ۳ میلی‌لیتر نمونه) انجام شد (۲۴).

LC<sub>50</sub> ۴۸ ساعته سرب و کادمیم برای آنتن‌منشعب *D. magna* با استفاده از آنالیز پروبیت (۶) در این مطالعه به ترتیب ۱۵۶ و ۱۱/۸ میکروگرم بر لیتر بدست آمد. بر این اساس در این مطالعه تأثیر دو سطح تغذیه‌ای کم و زیاد (۲×۱۰<sup>۵</sup> و ۶×۱۰<sup>۵</sup> سلول در هر میلی‌لیتر) و چهار غلظت فلز سرب (صفر، ۱۵، ۴۸/۶ و ۱۵۰ میکروگرم بر لیتر) و چهار غلظت فلز کادمیم (صفر، ۱/۲، ۳/۷ و ۶/۲ میکروگرم بر لیتر) به‌طور جداگانه، به مدت دو دوره تولیدمثلی، در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار بر میزان تراکم، رشد و زمان دو برابر شدن آنتن‌منشعب آب شیرین *Daphnia magna* در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. با توجه به‌اندازه نسبتاً بزرگ و توانایی تولیدمثلی مناسب *D. magna* تعداد ۵ فرد به ازای هر واحد آزمایشی (حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر)، به‌طور تصادفی از استوک آماده‌شده *D. magna* جداسازی شد. آب مقطر مورد استفاده جهت انجام آزمایش، در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شد. تغذیه آنتن‌منشعب‌ها هر دو روز یک‌بار با استفاده از جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* انجام گردید. همچنین در هر واحد آزمایشی، جمع‌آوری پوسته‌ها و غذاهای رسوب‌کرده هر دو روز یک‌بار قبل از تغذیه صورت گرفت. آزمایش برای یک دوره ۲۱ روزه (سه دوره تولیدمثلی) تنظیم گردید و تلاش شد تا طی دوره آزمایش، غلظت فلزات سنگین در هر تیمار ثابت نگه‌داشته شود. میانگین دمای آب در طی دوره آزمایش ۲۴ درجه سانتی‌گراد و اکسیژن محلول حدود ۵ میلی‌گرم در لیتر بود. اکسیژن محلول و دما با استفاده از اکسیژن متر دارای دماسنج (مدل Oxi 3205) اندازه‌گیری شد. شمارش آنتن‌منشعب‌ها به‌صورت زنده و با خارج نمودن افراد از ظرف آزمایشی مورد نمونه‌برداری و با کمک ظرف باگاروف انجام شد. شمارش جمعیت، تعیین تراکم و

غذادهی با استفاده از جلبک سبز میکروسکوپی *Scenedesmus quadricauda* انجام شد. بشر آزمایشی محتوی گونه مورد مطالعه با جمع‌آوری پوسته‌ها و غذاهای رسوب‌کرده و خورده نشده هر دو روز یک‌بار قبل از تغذیه مورد مراقبت قرار گرفت. آنتن‌منشعب موردنظر تا سه نسل درون بشر تکثیر یافته و سپس برای افزایش تراکم، کشت خالص به ظروف ۱۰ لیتری انتقال یافت. بعد از ۶ هفته (حدود سه نسل)، ذخیره خالص به‌اندازه کافی جهت انجام آزمایش‌های موردنظر آماده شد.

جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* با استفاده از محیط کشت BBM در فلاسک‌های ۵ لیتری تهیه شد (۳۱). برای کشت جلبک، چهار لیتر آب مقطر در ارلن مایرهای شیشه‌ای ریخته و به آن مقدار ۴۰ میلی‌لیتر محیط کشت BBM اضافه شد و سپس با استفاده از Ph متر دیجیتال (مدل Inolab720)، pH آغازین کشت ۶/۸ تنظیم شد. در مرحله بعد ظروف حاوی محیط کشت جلبک به همراه لوله‌های هوادهی و پنبه‌های کتانی موردنیاز، در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه اتوکلاو (مدل 121A) ضدعفونی و استریل شد. ۲۰۰ میلی‌لیتر از ذخیره جلبک *S. quadricauda* به محیط کشت اضافه شد و در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. برداشت جلبک بعد از رسیدن به مرحله رشد سریع، در چهاردهمین روز کشت صورت گرفت.

جهت متراکم کردن و برداشت جلبک‌ها، از دستگاه سانتریفیوژ (مدل Centurion Scientific Ltd) در سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۳ دقیقه استفاده شد. جلبک‌ها بعد از جمع‌آوری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا در تغذیه *D. magna* استفاده گردند.

برای تعیین تراکم جلبک و کنترل میزان آن در دوره آزمایش، شمارش جلبک‌ها با استفاده از لام هماسایتمتری (۰/۲mm×۰/۶۲۵mm) و میکروسکوپ اینورت (مدل Ceti Belgium)، بعد از تثبیت نمونه‌ها با محلول

معنی‌داری بر تراکم جمعیت، میزان رشد ویژه و زمان دو برابر شدن جمعیت *D. magna* هستند ( $P < 0/05$ ). بیشترین تراکم، بیشترین میزان رشد ویژه و کوتاه‌ترین زمان دو برابر شدن جمعیت آنتن‌منشعب *D. magna* برای هر دو فلز در روز ۲۱ آزمایش به ترتیب برابر با  $9/9 \pm 144$  فرد در  $250$  میلی‌لیتر،  $0/16 \pm 0/100$  فرد در روز و  $4/3 \pm 0/09$  روز در غلظت صفر و تراکم جلبکی  $6 \times 10^5$  سلول در هر میلی‌لیتر به دست آمد. در غلظت  $6/2$  میکروگرم بر لیتر کادمیم و تراکم جلبکی  $2 \times 10^5$  سلول در هر میلی‌لیتر، همه افراد *D. magna* در همان هفته نخست از بین رفتند و این تیمار حذف گردید. تراکم جمعیت *D. magna* برای فلز سرب و فلز کادمیم به ترتیب دامنه‌ای از  $37$  تا  $144$  و  $15$  تا  $144$  فرد در  $250$  میلی‌لیتر در پایان روز ۲۱ آزمایش نشان داد. دامنه رشد ویژه جمعیت برای فلزات سرب و کادمیم به ترتیب از  $0/09$  تا  $0/16$  و از  $0/05$  تا  $0/16$  در روز بدست آمد.

### بحث

مطالعات تأثیر گوناگون فلزات سنگین با تأکید بر رشد و تراکم جمعیت زئوپلانکتون‌ها با وجود شرایط گوناگون آزمایشگاهی و میدانی تاکنون انجام شده است (۲، ۳ و ۵). در مطالعه حاضر،  $LC_{50}$  ۴۸ ساعته سرب و کادمیم برای جمعیت *D. magna* به ترتیب  $156$  و  $11/8$  میکروگرم بر لیتر برآورد گردید. التینداگ (۲۰۰۸) و بیسینگر (۱۹۷۲) مقدار  $LC_{50}$  ۴۸ ساعته سرب را برای جمعیت *D. magna* به ترتیب  $440$  و  $450$  میکروگرم بر لیتر بدست آوردند (۵ و ۹). باراتا و همکاران (۱۹۹۸) و هیکی و ویکرز (۱۹۹۲) مقدار  $LC_{50}$  ۴۸ ساعته کادمیم را برای *D. magna* به ترتیب  $27/8$  و  $37/9$  میکروگرم بر لیتر بدست آوردند (۷ و ۱۵). مقادیر گزارش شده در مقایسه با نتایج تحقیق حاضر بیشتر بود. بخشی از این تفاوت‌ها می‌تواند به لحاظ تفاوت در نژاد و سویه‌های مورد مطالعه و تفاوت در حساسیت نسبت به سمیت سرب و کادمیم باشد.

محاسبه رشد ویژه *D. magna* در هر واحد آزمایشی در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ از دوره آزمایش صورت گرفت.

میزان رشد ویژه در تیمارهای مختلف آزمایشی از طریق فرمول ارائه شده توسط اومری و ایکادا (۱۹۸۴) به شرح زیر محاسبه گردید (۳۳).

$$SGR = \frac{\ln Nt - \ln No}{t_2 - t_1}$$

SGR = میزان رشد ویژه جمعیت در روز

No = اندازه جمعیت اولیه آنتن‌منشعب‌ها در زمان  $t_1$

Nt = اندازه جمعیت نهایی آنتن‌منشعب‌ها در زمان  $t_2$

همچنین زمان دو برابر شدن جمعیت بر اساس فرمول ارائه شده توسط جیمز و الخرز (۱۹۸۶) به شرح زیر محاسبه شد (۱۷).

$$Dt = \frac{\ln 2}{SGR}$$

Dt = زمان دو برابر شدن جمعیت بر حسب روز

SGR = میزان رشد ویژه جمعیت در روز

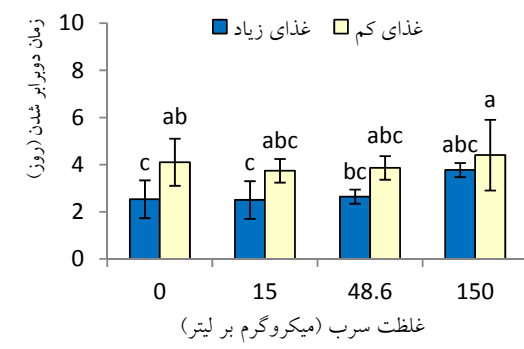
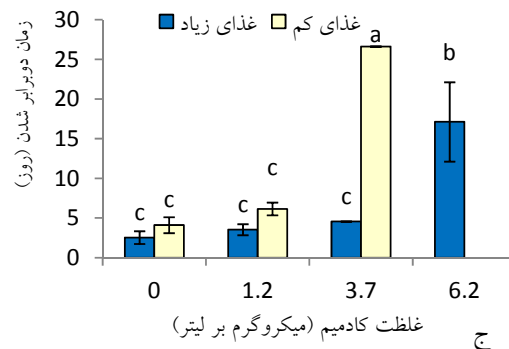
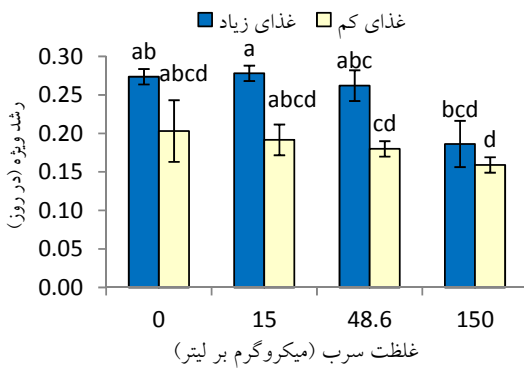
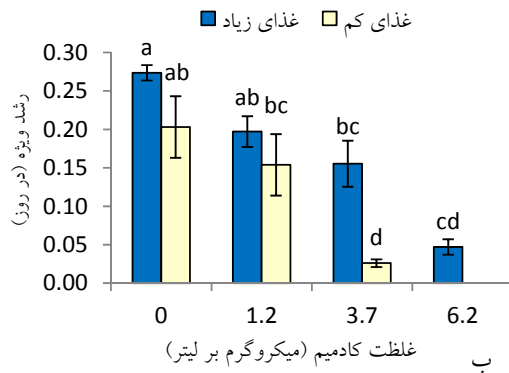
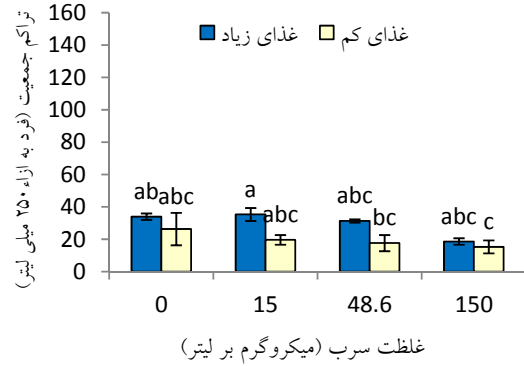
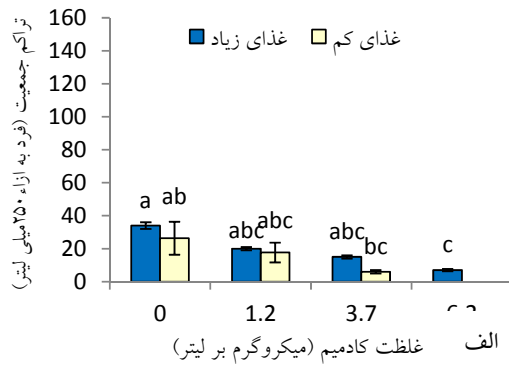
داده‌های حاصل از تیمارهای آزمایشی با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه مورد تجزیه آماری قرار گرفت. تفاوت بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح معنی‌دار  $5/0$  باهم مقایسه گردید. تمام تجزیه و تحلیل‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS, version 16 انجام شد (۴۱).

### نتایج

در مطالعه حاضر،  $LC_{50}$  ۴۸ ساعته سرب و کادمیم برای جمعیت *D. magna* به ترتیب  $156$  و  $11/8$  میکروگرم بر لیتر برآورد گردید. نتایج حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف سرب و کادمیم بر تراکم، رشد ویژه و زمان دو برابر شدن جمعیت *D. magna* در هفته اول، دوم و سوم آزمایش (شکل‌های ۱، ۲ و ۳) نشان داد که غلظت‌های مختلف فلز سرب و کادمیم و تراکم‌های متفاوت جیره غذایی دارای اثر

یکدیگر بسیار متفاوتند (۵). لبلنس (۱۹۸۲)  $LC_{50}$  ۴۸ ساعته سرب را برای *D. magna* ۱۵۰ میکروگرم بر لیتر گزارش نمود (۱۹) که این مقدار با یافته‌های این تحقیق تطابق بیشتری نشان داد.

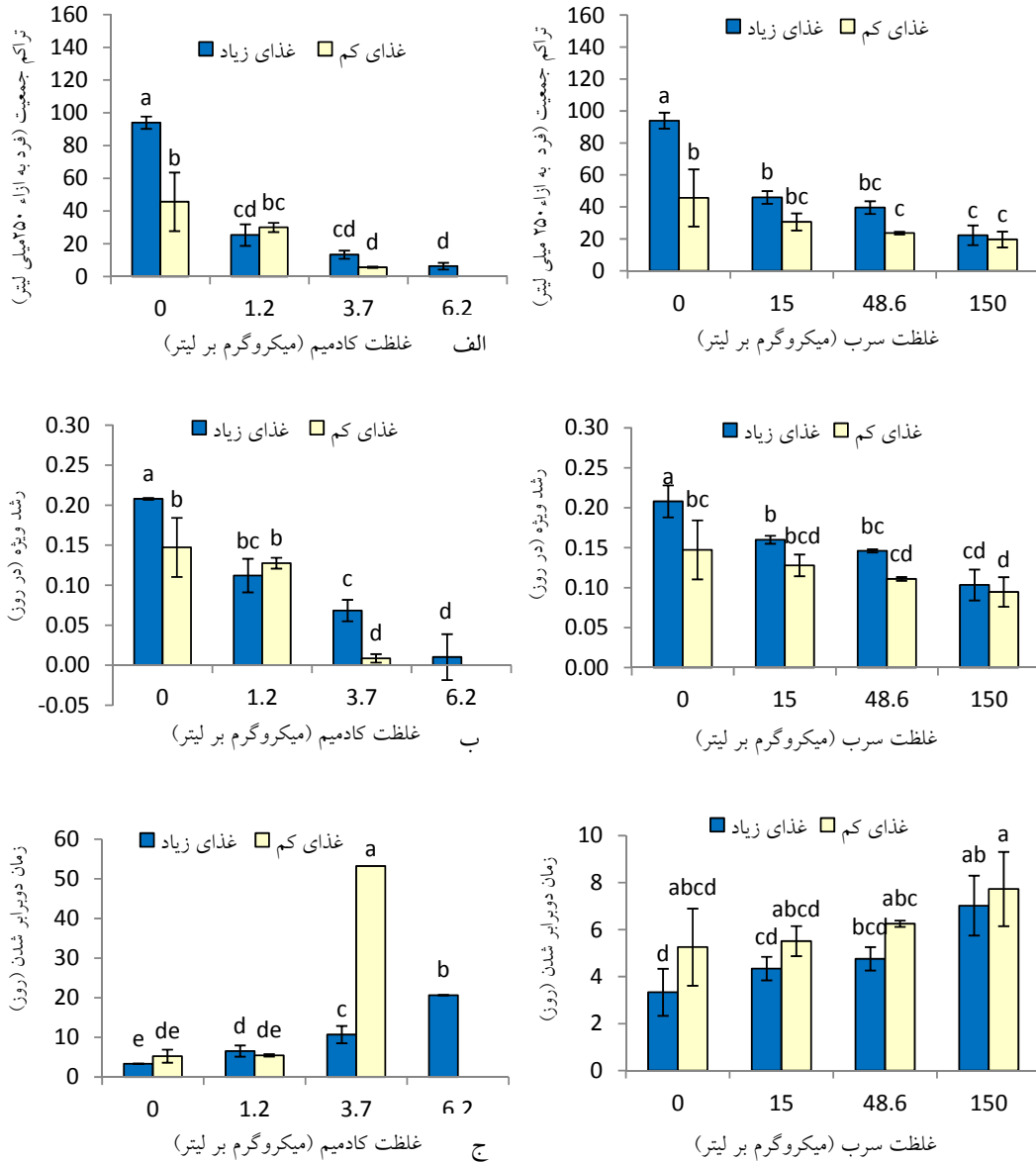
تیگالا و همکاران (۲۰۰۷) مقدار  $LC_{50}$  ۴۸ ساعته سرب را برای *D. pulex* ۴۰۰۰ میکروگرم بر لیتر تخمین زد (۳۹) که بسیار بیشتر از مقدار است که در این مطالعه بدست آمده است. این اختلاف فاحش می‌تواند به لحاظ تفاوت در گونه‌های آنتن‌منشعب‌ها باشد زیرا که از نظر ژنتیکی با



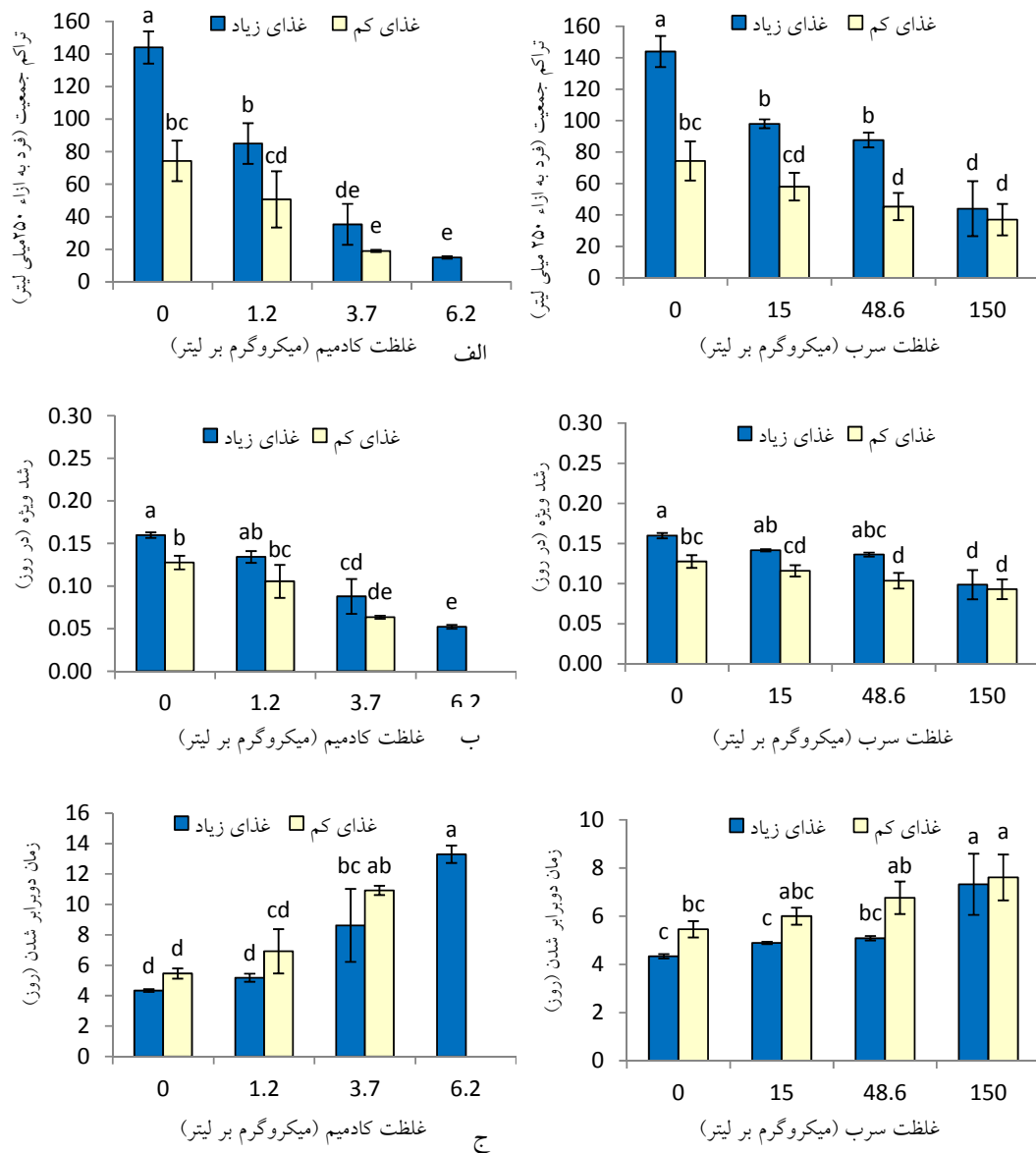
شکل ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف سرب و کادمیم بر پارامترهای رشد *D. magna* در غذای زیاد ( $6 \times 10^5$  سلول در هر میلی لیتر) و غذای کم ( $2 \times 10^5$  سلول در هر میلی لیتر) جلبکی در هفته اول آزمایش. (الف) تراکم جمعیت، (ب) رشد ویژه و (ج) زمان دوبرابر شدن. میانگین داده‌ها  $\pm$  خطای استاندارد. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد هستند.

محلول، دما و pH بستگی دارد، مقادیر  $LC_{50}$  بدست آمده در مطالعات مختلف با یکدیگر متفاوت است (۲۱).

از آنجا که مقدار  $LC_{50}$  به عوامل مختلفی از جمله نوع گونه آزمایشی، روش اندازه‌گیری سمیت و پارامترهای فیزیوشیمیایی محیط پرورش از قبیل سختی آب، اکسیژن



شکل ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف سرب و کادمیم بر پارامترهای رشد *D. magna* در غذای زیاد ( $6 \times 10^5$  سلول در هر میلی لیتر) و غذای کم ( $2 \times 10^5$  سلول در هر میلی لیتر) جلبکی در هفته دوم آزمایش. (الف) تراکم جمعیت، (ب) رشد ویژه و (ج) زمان دوبرابر شدن. میانگین داده‌ها  $\pm$  خطای استاندارد. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد هستند.



شکل ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف سرب و کادمیم بر پارامترهای رشد *D. magna* در غذای زیاد ( $6 \times 10^5$  سلول در هر میلی لیتر) و غذای کم ( $2 \times 10^5$  سلول در هر میلی لیتر) جلبکی در هفته سوم آزمایش. (الف) تراکم جمعیت، (ب) رشد ویژه و (ج) زمان دوبرابر شدن. میانگین داده‌ها  $\pm$  خطای استاندارد. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد هستند.

زیستی و تولیدمثلی در زئوپلانکتون‌ها هستند. در این مطالعه تاثیر غلظت‌های مختلف سرب و کادمیم و تراکم‌های متفاوت تغذیه‌ای در آنتن‌منشعب آب شیرین *D. magna* بررسی شد. نتایج نشان داد که بین تیمارهای آزمایشی از نظر میزان تراکم، رشد ویژه و زمان دو برابر شدن تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $P < 0.05$ ). نتایج

به‌طور کلی در این مطالعه و همچنین سایر مطالعات مشابه در آنتن منشعب‌ها، مقدار  $LC_{50}$  کادمیم بسیار کمتر از سرب بدست آمده است به این دلیل می‌توان گفت سمیت فلز کادمیم بسیار بیشتر از فلز سرب است (۵، ۷ و ۱۶).

فلزات سنگین از عوامل تاثیرگذار بر روند فعالیت‌های

مطالعات قبلی مبین آن است که وجود یا عدم وجود هرگونه آلودگی بر پویایی جمعیت، رشد، تولیدمثل و تکامل در آنتن‌منشعب‌ها تأثیر دارد (۸، ۱۲ و ۱۸).

در این تحقیق نتایج نشان داد که با افزایش غلظت فلزات سنگین، میزان تراکم و رشد ویژه در هر دو گونه به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد ( $P < 0.05$ ). در مطالعه‌ای که توسط برگلین و همکاران (۱۹۸۵) انجام گرفت، مشاهده شد که در غلظت‌های بالای سرب، رشد *D. magna* به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (۸). جانسن و همکاران (۲۰۰۷) آنتن‌منشعب *D. magna* را به مدت ۲۱ روز با جیره حاوی مس (۳۰۰۰ میکروگرم مس در هر گرم غذا) تغذیه کردند. نتایج آنها نشان داد که رشد، ۳۸ درصد و تولیدمثل، ۵۰ درصد در جمعیت تغذیه‌شده با جیره حاوی مس نسبت به گروه شاهد کاهش پیدا می‌کند (۱۸). فرانکو و همکاران (۲۰۰۷) اثر کادمیم و روی را بر رشد جوامع روتیفر *Brachinous havanaensis* مورد مطالعه قراردادند و مشاهده نمودند که افزایش غلظت این دو فلز در محیط کشت منجر به کاهش فراوانی جمعیت می‌شود (۱۲).

کیفیت و کمیت جلبک‌های مورداستفاده در تغذیه همواره بر میزان رشد و تولیدمثل در زئوپلانکتون‌ها تأثیر بسزایی دارد. فاکتور مهمی که با تغییر سطح غذایی تغییر می‌کند رشد ویژه جمعیت است. در این مطالعه نتایج نشان داد که غلظت غذا بر تراکم و میزان رشد ویژه جمعیت آنتن‌منشعب *D. magna* تأثیرگذار است به‌طوری‌که در غلظت یکسان از سرب یا کادمیم، غذای جلبکی با تراکم زیاد رشد بهتری را نشان می‌دهد. این امر می‌تواند به این علت باشد که شرایط نامناسب تغذیه‌ای اثر کنترلی بر فرایند تولیدمثل دارد و همچنین مقدار غذا یکی از عوامل مؤثر در نرخ فیلتراسیون به شمار می‌رود. به طوری‌که در تراکم‌های پایین مواد غذایی، *Daphnia* و آنتن‌منشعب‌های دیگر دارای بالاترین نرخ فیلتراسیون هستند و بیشترین انرژی را صرف گرفتن غذا می‌کنند (۱۱).

در این مطالعه مشاهده شد که در غلظت‌های پایین فلزات سنگین، تراکم بالای جلبک می‌تواند اثر سمیت سرب و کادمیم را تا حدی کاهش دهد. هاری و هورن (۲۰۰۴) نشان دادند که غلظت بالای غذای جلبکی می‌تواند اثر سمیت فلز مس را برای *Ceriodaphnia dubia* کاهش دهد. آنها علت را این‌گونه بیان کردند که ذرات جلبک قادرند فلزات سنگین را جذب و با خود ته‌نشین نمایند (۱۳). اردغان و ساواس (۲۰۰۶) در مطالعه‌ای، تأثیر تراکم غذای جلبکی *S. acuminatus* را بر رشد جمعیت *C. quadrangula* مورد بررسی قراردادند و بیشترین ضریب رشد جمعیتی (۰/۲۴ در روز) را در بالاترین تراکم جلبکی یعنی  $45 \times 10^4$  سلول در هر میلی‌لیتر بدست آوردند (۳۷). مایلی و همکاران (۲۰۰۴) از دو گونه جلبک سبز *S. quadricauda* و *S. acutus* در دو سطح (۱۳ و ۵۲ میلی‌گرم وزن خشک) جهت بررسی میزان رشد جمعیت چهار گونه زئوپلانکتون استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که غذای جلبکی با غلظت بالا در هر چهار گونه رشد بهتری را نشان می‌دهد (۲۵). بطور کلی عکس‌العمل گونه‌های آنتن‌منشعب به تغییرات غلظت غذایی با چندین متغیر از جمله ضریب مصرف غذا، میزان مصرف اکسیژن، رشد سوماتیک، رشد جمعیت و سن ویژه مرگ و میر می‌تواند مورد ارزیابی قرارگیرد. همچنین، آنتن‌منشعب‌ها در طبیعت شرایط بحرانی دسترسی به غذا را برای مدت نسبتاً کوتاهی تجربه می‌کنند. بنابراین استفاده از تراکم غذایی به‌عنوان فاکتور تأثیرگذار بر جمعیت آنتن‌منشعب‌ها به فهم دینامیک آنها کمک می‌کند. غلظت غذای جلبکی مورداستفاده برای رشد گونه‌های آنتن‌منشعب بایستی در حد اپتیمم باشد، حتی غلظت بالای غذا می‌تواند به گرسنگی آنتن‌منشعب منجر شود زیرا در این صورت انرژی زیادی را صرف تمیز کردن زوائد سینه‌ای مسدود شده خود می‌کنند (۳۵).

درحالی‌که در غلظت‌های بالای فلزات، جلبک تأثیر چندانی بر سمیت نداشت زیرا فلزات سنگین همواره تأثیرات



سرب و کادمیم تأثیر معنی‌داری بر تراکم جمعیت و زمان دو برابر شدن جمعیت آنتن‌منشعب *D. magna* داشت و موجب کاهش شدید تراکم جمعیت شد. در غلظت یکسان از سرب و کادمیم، غذای جلبکی با غلظت بالاتر رشد بهتری را ایجاد نمود که می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که آبهای با تولید اولیه جلبکی کم آسیب‌پذیرتر از آبهای با تولیدات جلبکی زیادتر هستند و محافظت بیشتری را به لحاظ مدیریت طلب می‌نماید.

### تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه صنعتی اصفهان به لحاظ فراهم نمودن بودجه و امکان تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

متقابلی بر جلبک‌های مورد استفاده در محیط کشت داشتند. این اثرات می‌تواند شامل تغییر شکل، ایجاد کلنی و تغییر در میزان فتوسنتز باشد (۴). این امر موجب می‌گردد تا جلبک از دسترس آنتن‌منشعب‌ها خارج شود. سفیان و همکاران (۲۰۰۷) با مطالعه اثر کادمیم بر آنتن منشعب *C. dubia* به این نتیجه رسیدند که غلظت بالای کادمیم می‌تواند منجر به کاهش تغذیه در *C. dubia* شود به طوری که بقا و تولید مثل به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (۳۸).

با توجه به نتایج بدست آمده، بیشترین تراکم در غلظت صفر و کمترین تراکم در بیشترین غلظت سرب و کادمیم مشاهده شد که این می‌تواند حاکی از تأثیر شدید سرب و کادمیم بر کاهش رشد و تراکم جمعیت آنتن‌منشعب *D. magna* باشد. در این مطالعه افزایش فلزات سنگین

### منابع

- ۱- افیونی، م.، ۱۳۷۹. آلودگی محیط‌زیست آب، خاک، هوا، انتشارات ارکان اصفهان، صفحه ۳۱۸.
- ۲- سیدی آب الوان، م.، غفاری، م.، و قرایی، ا.، ۱۳۹۲. اثر نیکل (Ni) بر رشد و تراکم جمعیت روتیفر آب شیرین *Brachionus calyciflorus* مجله پژوهش‌های جانوری (زیست‌شناسی ایران)، جلد ۲۸، صفحات ۲۲۳-۲۳۲.
- 3- سیدی آب الوان، م.، قرایی، ا.، و غفاری، م.، ۱۳۹۲. اثر فلز سنگین جیوه (Hg) بر رشد و تراکم جمعیت روتیفر آب شیرین *Brachionus calyciflorus* مجله پژوهش‌های جانوری (زیست‌شناسی ایران)، جلد ۲۸، صفحات ۳۴۳-۳۵۲.
- 4- Acharya, R., and Saify, T., 2012. Copper toxicity on cell morphology of *Senedesmus quadricauda* Chodat. Indian Journal Applied and pure Biology, 27, PP: 165-171.
- 5- Altindag, A., Borga, M., Yigit, S., and Baykan, O., 2008. The acute toxicity of lead nitrate on *Daphnia magna* Straus. African Journal of Biotechnology, 23(7), PP: 4298-4300.
- 6- APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association), and WEF (Water Environment Federation), 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater (21th ed.). Washington DC, USA.
- 7- Barata, C., Baird, D., and Markich, S., 1998. Influence of genetic and environmental factors on the tolerance of *Daphnia magna* Straus to essential and non-essential metals. Aquatic Toxicology, 42, PP: 115-137.
- 8- Berglin, R., Dave, G., and Sjobeck, M., 1985. The effects of lead on  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase activity, growth, hemoglobin content, and reproduction in *Daphnia magna*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 9, PP: 216-229.
- 9- Biesinger, K.E., Christensen, G.M., and Fiandt, J. T., 1972. Effects of metal salt mixtures on *Daphnia magna* reproduction. Ecotoxicology and Environmental Safety, 11, PP: 9-14.
- 10- Chale, F.M.M., 2002. Trace metal concentrations in water, sediments and fish tissue from Lake Tanganyika. Total Environment, 299, PP: 115 - 121.
- 11- Flores-Burgos, J., Sarma, S.S.S., and Nandini, S., 2003. Population growth of zooplankton (Rotifers and Cladocerans) fed *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* in different proportions. Acta hydrochim. Hydro-Boilogy, 31, PP: 240-248.
- 12- Franco, 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, PP: 1489-1493.
- 13- Hauri, J.F., and Horne, A.J., 2004. Reduction in labile copper in the 7-day *Ceriodaphnia dubia*

- toxicity test due to the interaction with zooplankton food. *Chemosphere*, 56, PP: 717-723.
- 14- He, Z.L.L., Yang, X.E., and Stoffella, P.J., 2005. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 19, PP: 125-140.
  - 15- Hickey, C., and Vickers, M., 1992. Comparison of the sensitivity to heavy metals and pentachlorophenol of the mayflies *Deleatidium spp.* and the cladoceran *Daphnia magna*. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 26(1), PP: 87-93.
  - 16- Hu, J., Wang, D., Wang, J., and Wang, J., 2012. Toxicity of lead on *Ceriodaphnia dubia* in the presence of nano-CeO<sub>2</sub> and nano-TiO<sub>2</sub>. *Chemosphere*, 89, PP: 536-541.
  - 17- James, C.M., and Al-Khars, A.M., 1986. Studies on the production of planktonic copepods for aquaculture. *Sylogus*, 58, PP: 333-340.
  - 18- Janssen, C.R., De Schamphelaere, K.A.C., Forrez, I., Dierckens, K., and Sorgeloos, P., 2007. Chronic toxicity of dietary copper to *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 81, PP: 409-418.
  - 19- Leblanc, G.A., 1982. Laboratory investigation into the development of resistance of *Daphnia magna* to environmental pollutants. *Environmental Pollution*, 27, PP: 309-322.
  - 20- Lidsky, T.I., and Schneider, J.S., 2003. Lead neurotoxicity in children: basic mechanisms and clinical correlates. *Brain*, 126, PP: 5-19.
  - 21- Mager, E.M., Esbaugh, A.J., Brix, K.V., Ryan, A.C., and Grosell, M., 2011. Influence of softwater chemistry on the acute toxicity of lead to *Pimephales promelas* and *Ceriodaphnia dubia*. *Toxicology and Pharmacology*, 153, PP: 82-90.
  - 22- Mance, G., 1990. Pollution threat of heavy metals in aquatic environments. Elsevier Applied Science. London. UK. 372p.
  - 23- Martins, J., Oliva, T.L., and Vasconcelos, V., 2007. Assays with *Daphnia magna* and *Danio rerio* as alert systems in aquatic toxicology. *Environment International*, 33(3), PP: 414-25.
  - 24- Martinez, M.P., and Chakroff, J.B.P., 1975. Direct phytoplankton counting technique using the hemacytometer. *Philippine Agricultural Scientist*, 59, PP: 43-50.
  - 25- Mayeli, S., Nandini, S., and Sarma, S.S.S., 2004. The efficacy of *Scenedesmus* morphology as a defense mechanism against grazing of cladocerans. *Aquatic Ecology*, 38, PP: 515-540.
  - 26- Mays, P.A., and Edwards, G.S., 2001. Comparison of heavy metal accumulation in a natural wetland and constructed wetlands receiving acid mine drainage. *Ecological Engineering*, 16, PP: 487-500.
  - 27- Monni, S.S., Alemma, M., and Millar, N., 2000. The tolerance of *Empetrum nigrum* to copper and nickel. *Environmental Pollution*, 109, PP: 221-229.
  - 28- Morris, J.E., and Mischke, C.C., 1999. Plankton management of fish culture ponds. Technical Bulletin Series. Iowa State University Agricultural Experiment Station, 114, PP: 1- 8.
  - 29- Mortada, W.I., Sobh, M.A., El-Defrawy, M.M., and Farahat, S.E., 2001. Study of lead exposure from automobile exhaust as a risk for nephrotoxicity among traffic policemen. *Nephrology*, 21, PP: 274-9.
  - 30- Murugan, N., and Sivaramakrishnan, K.J., 1973. The biology of *Simocephalus acutirostratus* King (Cladocera: Daphnidae) laboratory studies of lifespan, instar duration, egg production, growth and stages in embryonic development. *Freshwater Biology*, 3, PP: 77-83.
  - 31- Nichols, H.W., and Bold, H.C., 1965. *Trichorsarcina polymorpha* gen. *Journal of Physiology*, 1, PP: 34-38.
  - 32- Nriagu, J.O., and Pacyna, J.M., 1988. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature*, 333, PP: 134-139.
  - 33- Omori, M., and Ikeda, T., 1984. *Methods in Zooplankton Ecology*. John Wiley and Sons Inc., New York, USA, 332 p.
  - 34- Pais, I., and Jones, J.B., 2000. *The Handbook of Trace Elements*. St. Luice Press, Florida, 221p.
  - 35- Porter, K.G., Feig, Y., and Vetter, E., 1983. Morphology, flow regimes and filtering rates of *Daphnia*, *Ceriodaphnia* and *Bosmina* fed natural bacteria. *Oecology*, 58, PP: 56-163.
  - 36- Rose, R.M., Warne, M.S.J., and Lim, R.L., 2002. Some life history responses of the cladoceran *Ceriodaphnia dubia* to variations in population density at two different food concentrations. *Hydrobiologia*, 481, PP: 157-164.
  - 37- Savas, S., and Erdogan, O., 2006. The effect of food (*Scenedesmus acuminatus*) densities and temperature on the population growth of *Ceriodaphnia quadrangula* (Muller, 1785). *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 23, PP: 113-116.
  - 38- Sofyan, A., Price, D., and Birge, W., 2007. Effects of aqueous, dietary and combined exposures of cadmium to *Ceriodaphnia dubia*. *Science of the Total Environment*, 385, PP: 108-116.
  - 39- Theegala, C.S., Suleima, A.A., and Carriere, P.A., 2007. Toxicity and biouptake of lead and arsenic by *Daphnia pulex*. *Journal of Environmental Science and Health*, 42(1), PP: 27-31.

- 40- Villegas-Navarro, A., Gonzalez, M.C.R., Lopez, E.R., Aguilar, R.D., and Marcal, W.S., 1999. Evaluation of *Daphnia magna* as an indicator of toxicity and treatment efficacy of textile wastewaters. *Environment International*, 25(5), PP: 619-24.
- 41- Zar, J.H., 1984. *Biostatistical analysis*, 2nd edition. Prentice Hall in Englewood Cliffs, New York, USA, 718 p.

## Effects of lead and cadmium on population density and specific growth rate of fresh water cladoceran *Daphnia magna*

Mardani S., Farhadian O. and Mahboobi Soofiani N.

Natural Dept. Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, I.R. of Iran

### Abstract

In this study, the effects of four different concentrations of lead (0, 15, 48.6 and 150  $\mu\text{g/L}$ ) and four different concentrations of cadmium (0, 1.2, 3.7 and 6.2  $\mu\text{g/L}$ ) with low ( $2 \times 10^5$  cell/ml) and high ( $6 \times 10^5$  cell/ml) algal concentrations of *Scenedesmus quadricauda* on the density, specific growth rate (SGR) and doubling time (Dt) of fresh water cladoceran *Daphnia magna* were investigated. The experiment was carried out as a completely random design for 21 days with three replications. Results showed that the density and SGR were increased when concentrations of lead and cadmium decrease significantly ( $p < 0.05$ ). For lead and cadmium the maximum population density (144 ind./250 ml), maximum SGR (0.16 /day) and minimum Dt (4.3 days) were obtained at 0 concentration of lead and cadmium in high algal density ( $6 \times 10^5$  cell/ml). In overall, the increasing lead and cadmium concentrations was decreasing of population density and specific growth rate in *D. magna*.

**Key words:** *Daphnia magna*, specific growth rate, lead, cadmium