

## اثر نیکل (Ni) بر رشد و تراکم جمعیت روتیفر آب شیرین *Brachionus calyciflorus*

مصیب سیدی آب الوان<sup>۱</sup>، مصطفی غفاری<sup>۲\*</sup> و احمد قرایی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> زابل، دانشگاه زابل، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات

<sup>۲</sup> زابل، دانشگاه زابل، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۱/۱۴

### چکیده

روتیفر آب شیرین *Brachionus calyciflorus* یکی از مهمترین گونه‌های زئوپلانکتونی می‌باشد که در آبرزی پروری، زنجیره غذایی اکوسیستم‌های آبی و پایش‌های محیطی دارای اهمیت می‌باشد. نیکل یکی از آلاینده‌های محیطی پایدار در محیط بوده که از لحاظ شیمیایی، قابلیت شکستن به ترکیبات دیگر را ندارد و به کندی از محیط حذف می‌شود. در این تحقیق سطح پاسخ جمعیت روتیفر *B. calyciflorus* نسبت به شش غلظت مختلف از نیکل (۰، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر) با سه تکرار به ازای هر غلظت طی مدت ۸ روز مورد بررسی قرار گرفت. تراکم و نرخ رشد ویژه روتیفرها به طور روزانه در گروه شاهد و تیمارهای حاوی فلز نیکل محاسبه شد. نتایج نشان داد که رشد جمعیت روتیفرها با افزایش غلظت نیکل در محیط کشت به طور معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) کاهش یافت. بیشترین تراکم ( $49/15 \pm 0/05$  فرد در میلی‌لیتر) در روز هشتم مربوط به تیمار شاهد و کمترین تراکم ( $1/67 \pm 0$  فرد در میلی‌لیتر) مربوط به تیمار حاوی غلظت ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر فلز نیکل بدست آمد. همچنین نرخ رشد ویژه روتیفرها با افزایش غلظت این فلز به طور معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) کاهش یافت و از ۰/۵۶ در تیمار شاهد به ۰/۰۷ در غلظت ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر فلز نیکل رسید. نتایج این تحقیق نشان داد که روتیفر *B. calyciflorus* نسبت به فلز نیکل به شدت حساس می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: روتیفر *Brachionus calyciflorus*، نیکل، نرخ رشد ویژه، تراکم جمعیت.

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

### مقدمه

استفاده از روتیفرها بعنوان موجودات زیست‌سنج در مطالعات سم‌شناسی محیطی از قبیل: مطالعات ساختار جمعیت، مطالعات رفتاری، روابط شکار و شکارچی، الگوهای رشد جمعیت و غیره بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته است (۲۰، ۲۱، ۲۴، ۲۵). فلزات سنگین از جمله مهمترین آلاینده‌های محیطی هستند که حضور آنها در محیط تا حدودی بواسطه فرایندهای طبیعی و بمیزان زیادی بواسطه فاضلاب‌های صنعتی می‌باشند (۱۱). پلانکتون‌ها بواسطه انباشتگی زیستی، موجب افزایش مواد آلاینده در زنجیره غذایی موجودات آبرزی می‌شوند (۱۵) و بدین طریق غذا به شکل پلانکتونی منبع مهمی برای

روتیفرها غذای زنده با ارزشی برای پرورش مرحله لاروی اکثر گونه‌های ماهیان می‌باشند. چندین مشخصه روتیفرها از قبیل: اندازه بسیار کوچک، معلق ماندن در ستون آب، محتوای بالای مواد مغذی و حرکت نسبتاً آهسته موجب شده شکار بسیار مناسبی برای لاروهای فعال باشند (۹). این موجودات میکروسکوپی یکی از موجودات پلانکتونی اصلی در زیست‌بوم‌های آب شیرین هستند (۳۲). روتیفرها بویژه *Brachionus calyciflorus* و *Brachionus patulus* از جمله موجودات پلانکتونی هستند که به طور قابل توجهی بمنظور ارزیابی سمیت در محیط‌های آبی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳۳). در سال‌های اخیر، تمایل به

**کشت جلبک کلرلا ولگاریس:** جلبک خالص کلرلا ولگاریس از پژوهشکده آبی‌زی پروری آب‌های داخلی انزلی تهیه و تحت شرایط استریل در محیط کشت زایندر (Z-8±N) (۸، ۱۳) در دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتیگراد، نور  $3000 \pm 3500$  لوکس و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی به صورت نیمه انبوه کشت داده شد.

**نمونه برداری:** بمنظور 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 سیستم نمونه برداری صورت گرفت. جهت نمونه برداری از تور پلانکتونی ۵۰ میکرونی استفاده شد. نمونه‌های آب در ظروف شیشه‌ای ۰/۵ تا ۱ لیتری جمع‌آوری و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید.

**جداسازی و کشت روتیفر:** با توجه به این که نمونه‌های آب، حاوی گونه‌های متعددی از موجودات آبی مختلف از جمله دافنی، کپه پود، کلاوسر و روتیفر بودند، لذا بمنظور جداسازی گونه روتیفر مورد نظر، پس از هم زدن نمونه‌ها، ۱ تا ۲ میلی‌لیتر از نمونه آب در پتری دیش با استفاده از استریومیکروسکوپ با بزرگنمایی  $10 \times$  مشاهده و مطابق با کلید شناسایی (۱۸)، گونه *B. calyciflorus* شناسایی و جداسازی گردید. پس از آماده سازی اتاقت کشت روتیفر (نصب لامپ، پمپ هواده، ظروف مورد نیاز و میز کار) و استریل نمودن محیط آزمایشگاه با استفاده از اشعه فرابنفش (UV) و اتانول  $96^\circ$ ، بمنظور دست‌یابی به تراکم مورد نیاز (۵۰ فرد در هر میلی‌لیتر) جهت انجام آزمایش‌های مربوط به سمیت نیکل، روتیفر جداسازی شده در آزمایشگاه در شرایط مطلوب (که در ادامه ذکر شده اند)، کشت داده شد. درجه حرارت محیط آزمایشگاه در طول مدت آزمایش  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  (۲۱، ۳۰) و  $\text{pH} = 7.5$  (۲۱) ثابت نگه‌داشته شد. جهت کشت روتیفر از محیط کشت نیمه سخت EPA (۱) و جهت تغذیه روتیفرها در طی دوره آزمایش، از جلبک سبز تک سلولی کلرلای آب شیرین

انباشتگی فلزات سنگین در بدن ماهیان می‌باشد (۱۶). فلز نیکل از جمله فلزات سنگینی است که بطور وسیعی در صنایع مختلف از قبیل: استخراج معادن (معدن کاری)، صنایع آب‌کاری فلزات، و صنایع آلیاژی مورد استفاده قرار می‌گیرد. ترکیبات این فلز یکی از آلاینده‌های پایدار محیطی بوده که برخلاف آلاینده‌های سمی آلی، از لحاظ شیمیایی قابلیت شکستن به ترکیبات دیگر را ندارد و به کندی از محیط حذف می‌شود. بنابراین یک مشکل محیطی جدی در سطح جهانی محسوب می‌شود (۳۱). منابع آبی منطقه چاه-نیمه‌های سیستم (سه آبگیر طبیعی بزرگ و یک آبگیر مصنوعی) بواسطه حضور گونه‌های منحصر به فرد موجودات آبی از جمله ماهی سفیدک سیستم (*Schizothorax zarudnyi*) (۴) از اهمیت بالایی برخوردار است. از طرف دیگر، در رابطه با اثر فلز نیکل بر روتیفرها اطلاعاتی در دست نیست. در این راستا، با توجه به اهمیت روتیفرها در تغذیه لارو ماهیان و مشاهده آلودگی نیکل در منابع آبی منطقه چاه‌نیمه‌های سیستم، در مطالعه حاضر اثرات سمی نیکل بر تراکم و نرخ رشد جمعیت روتیفر آب شیرین *B. calyciflorus* جدا شده از منابع آبی چاه‌نیمه‌های سیستم مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روشها

**مواد مورد نیاز:** ۱- فرمالین، ۲- آب مقطر، ۳- محلول لوگل، ۴- اتانول ۹۶٪، ۵- اسید هیدروکلریک ۰/۰۱ نرمال، ۶- مواد شیمیایی  $\text{MgSO}_4$ ،  $\text{KCl}$ ،  $\text{NaHCO}_3$  و  $\text{CaSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  جهت تهیه محیط کشت روتیفر، ۸- کلرید نیکل ۹- مواد مورد نیاز جهت تهیه محیط کشت زایندر (Z-8±N) که شامل:

$\text{HCl}$ ،  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ،  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ،  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{NaNO}_3$ ،  $\text{KBr}$ ،  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{27} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ،  $\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{EDTA} \cdot \text{Na}$ ،  $\text{LiCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{Al}_2\text{SO}_4 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{KI}$ ،  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

معمولی دو چشمی و جهت شمارش روتیفرها از لام بوگاروف و استریومیکروسکوپ استفاده شد. بطور روزانه شاخص‌های 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 می‌شد.

**محاسبه نرخ رشد جمعیت روتیفرها در تیمارهای مختلف:** بمنظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف نیکل بر رشد ویژه و تراکم 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 (۷).

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

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 می‌باشد.

**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

میانگین تراکم روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت‌های مختلف فلز سنگین نیکل در روزهای مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است.

*Chlorella vulgaris*) با تراکم  $1 \times 10^6 - 1/5$  cells/ml استفاده گردید. کشت خالص روتیفر به عنوان استوک جهت انجام آزمایش استفاده گردید و برای تأمین تعداد مورد نیاز روتیفر در طول مدت آزمایش، کشت روتیفر به طور پیوسته تا پایان آزمایش ادامه پیدا کرد.

**تیماردهی روتیفرها با فلز سنگین نیکل:** جهت انجام آزمایش، روتیفرها (۱۵۰ عدد) با ۵ غلظت مختلف از فلز نیکل (۰/۲۵، ۰/۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۲ و ۰/۰۴ میلی‌گرم در لیتر) تیمار شدند. جهت تیماردهی، مقدار مورد نیاز از ترکیب شیمیایی کلرید نیکل با استفاده از ترازوی حساس توزین و به محیط کشت EPA پایه (غلظت یک گرم بر لیتر کلرید نیکل) با غلظت مشخص در ۱۰ عدد لوله‌ی آزمایش ۵۰ میلی‌لیتری مخصوص کشت روتیفر اضافه گردید. سپس جلبک و روتیفر (۱۰ عدد روتیفر ماده نوزاد با سن تقریبی ۲ ساعت در هر لوله آزمایش) به این لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت روتیفر معرفی گردید. غلظت‌های انتخابی بر اساس استاندارد فلز سنگین نیکل جهت اهداف شیلاتی (۱۴) و همچنین غلظت کشنده این فلز برای روتیفر آب شیرین *B. calyciflorus* (۳۳) انتخاب گردیدند. برای فلز نیکل 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 با محیط کشت جدید (تازه تهیه شده) تعویض می‌شد (۲۱، ۲۹). جهت تغذیه روتیفرها جلبک کلرلای آب شیرین با تراکم  $1 \times 10^6 - 1/5$  سلول در هر میلی‌لیتر به هر کدام از لوله‌های آزمایش اضافه گردید. بمنظور 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

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

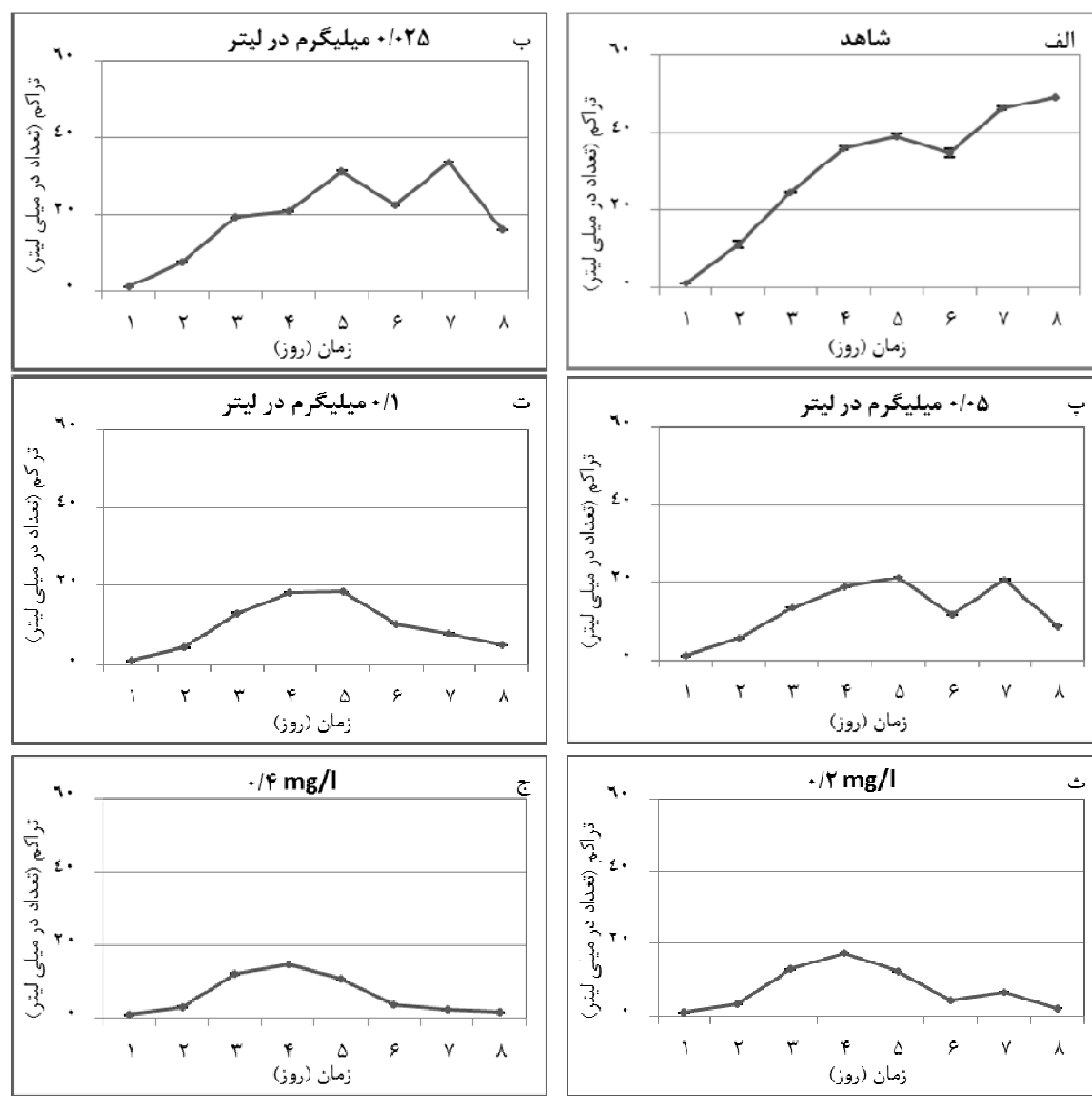
غلظت نیکل (میلیگرم در لیتر)	روز	۰/۴	۰/۲	۰/۱	۰/۰۵	۰/۰۲۵	*
۱±۰	۱±۰	۱±۰	۱±۰	۱±۰	۱±۰	۱±۰	۱±۰
۳±۰/۱۷ <sup>e</sup>	۳/۲۰±۰/۱۳ <sup>e</sup>	۴/۲۷±۰/۱۵ <sup>d</sup>	۵/۴۷±۰/۰۵۱ <sup>c</sup>	۷/۵۳±۰/۱۳ <sup>b</sup>	۱۱/۱۶±۰/۹۵ <sup>a</sup>	۲	
۱۲/۱۱±۰/۰۲ <sup>f</sup>	۱۲/۸۳±۰/۰۱ <sup>e</sup>	۱۳/۰۷±۰/۰۲ <sup>d</sup>	۱۳/۵۳±۰/۰۲ <sup>c</sup>	۱۹/۱۶±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۲۴/۵۹±۰/۰۶ <sup>a</sup>	۳	
۱۴/۶۶±۰/۰۳ <sup>e</sup>	۱۷/۴۴±۰/۰۱ <sup>d</sup>	۱۸/۴۴±۰/۰۱۱ <sup>c</sup>	۱۸/۷۸±۰/۰۲ <sup>c</sup>	۲۰/۶۷±۰/۱۶ <sup>b</sup>	۳۶±۰/۴۸ <sup>a</sup>	۴	
۱۰/۷۸±۰/۰۳ <sup>f</sup>	۱۲/۱۲±۰/۰۱۱ <sup>e</sup>	۱۸/۵۶±۰/۰۱ <sup>d</sup>	۲۱/۳۳±۰/۰۲ <sup>c</sup>	۳۱/۲۲±۰/۰۴ <sup>b</sup>	۳۹/۰۱±۰/۵۹ <sup>a</sup>	۵	
۳/۷۷±۰/۰۳ <sup>e</sup>	۴/۴۴±۰/۰۳ <sup>e</sup>	۱۰/۳۳±۰/۰۳ <sup>d</sup>	۱۱/۵۶±۰/۰۴ <sup>c</sup>	۲۲/۲۳±۰/۰۴ <sup>b</sup>	۳۴/۲۹±۱/۰۰۱ <sup>a</sup>	۶	
۲/۳۳±۰/۰۱ <sup>f</sup>	۶/۵۵±۰/۰۳۲ <sup>e</sup>	۷/۸۸±۰/۰۴۱ <sup>d</sup>	۲۰/۶۷±۰/۰۴ <sup>c</sup>	۳۳/۵۵±۰/۰۳ <sup>b</sup>	۴۶/۱۹±۰/۳۹ <sup>a</sup>	۷	
۱/۶۸±۰ <sup>f</sup>	۲/۱۱±۰/۰۳ <sup>e</sup>	۴/۸۹±۰/۰۱ <sup>d</sup>	۸/۶۷±۰/۰۴۱ <sup>c</sup>	۱۵/۸۹±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۴۹/۱۵±۰/۰۵ <sup>a</sup>	۸	

داده‌ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار هستند. حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

را نشان می‌دهد. بطوری که در تیمار شاهد و تیمارهای اول و دوم از روز اول تا روز پنجم تراکم روتیفرها افزایش و از روز پنجم تا روز ششم کاهش نشان داد. همچنین در تیمار شاهد از روز ششم تا روز هشتم روند افزایشی مشاهده شد. تراکم روتیفرها در تیمار سوم از روز اول تا چهارم روند افزایشی و از روز چهارم تا هشتم روند کاهشی داشت. در تیمار چهارم، تراکم روتیفرها از روز اول تا چهارم کاهش و از روز چهارم تا روز هشتم با روند نامنظمی کاهش یافت.

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت این فلز تراکم روتیفرها بطور معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) کاهش می‌یابد. بطوری که در همه روزهای آزمایش (از روز دوم تا هشتم) بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) مشاهده شد. بیشترین تراکم در روز هشتم ( $49/15 \pm 0/05$ ) مربوط به تیمار شاهد و کمترین تراکم ( $1/67 \pm 0$ ) مربوط به تیمار پنجم بود.

شکل‌های ۱- الف تا ۱- ج روند تغییر تراکم روتیفرها در غلظت‌های مورد آزمایش نیکل طی روزهای اول تا هشتم

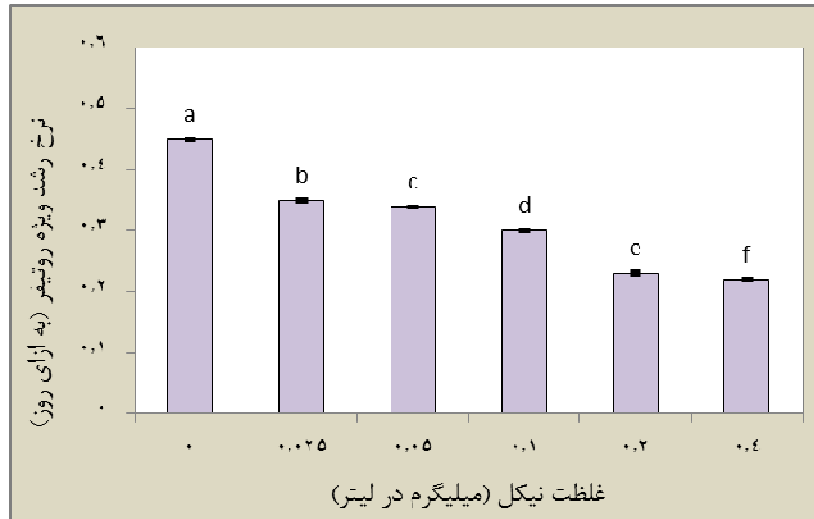


شکل ۱- تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در غلظت‌های مختلف فلز سنگین نیکل در روزهای مختلف.

مختلف آزمایش با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) مشاهده شد.

همچنین نتایج مشخص نمود که با افزایش غلظت فلز نیکل، نرخ رشد ویژه جمعیت روتیفرها کاهش می‌یابد و از ۰/۵۶ در تیمار شاهد به ۰/۰۷ در غلظت ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر فلز نیکل می‌رسد (شکل ۲).

روزهای دوم و ششم، بین تراکم روتیفرها در تیمارهای چهارم و پنجم و در روز چهارم آزمایش بین تیمارهای دوم و سوم اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) مشاهده نشد. در روزهای سوم، پنجم، هفتم و هشتم، بین تراکم روتیفرها در تیمار شاهد و تیمارهای آزمایش و همچنین بین تیمارهای



شکل ۲- نرخ رشد ویژه جمعیت روتیفرها (به ازای روز) در غلظت‌های مختلف فلز سنگین نیکل (Ni). حروف مشابه روی نمودار در هر روز، نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

موجب کاهش سمیت این فلزات در زئوپلانکتون‌ها شود (۳۰) و همچنین ثابت شده است که فیتوپلانکتون‌ها قادرند فلزات سنگین را از محیط جذب کرده و بدین‌طریق آن‌ها را از محیط حذف کنند (۱۷). روتیفرهای تغذیه شده با جلبک‌های حاوی فلز سنگین (جیوه) نرخ رشد کمتری را در مقایسه با شاهد نشان دادند (۲۸). نتایج به دست آمده در آزمایش حاضر با یافته‌های محققان (۲۲) در رابطه با اثرات متقابل فلزات سنگین آرسنیک، کروم، مس، نیکل، سرب و روی بر روتیفر *Platyonus patulus* مطابقت دارد. همچنین گزارش شده که افزایش غلظت مواد سمی (فلزات سنگین، آفت‌کش‌ها و غیره) تأثیر منفی شدیدی بر رشد جمعیت روتیفر *B. rubens* داشته است (۲۹). نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم (از ۰/۱ تا ۰/۷ میلی‌گرم در لیتر) بر رشد جمعیت روتیفر *B. plicatilis*

## بحث

فلزات سنگین با ورود به منابع آبی، میزان زنده‌مانی و تولیدمثل جنس‌های مختلف روتیفرها از قبیل *Brachionus Asplanchna* و *Keratella* را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۱۲). در مطالعه حاضر، روتیفر *B. calyciflorus* نسبت به غلظت‌های مختلف فلز نیکل حساسیت نشان داد و نتایج مربوط به رشد جمعیت این گونه روتیفر در رابطه با غلظت‌های مختلف فلز نیکل نشان داد که رشد جمعیت روتیفرها با افزایش غلظت این فلز به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد که می‌توان دلیل این امر را انباشتگی فلز در سلول‌های جلبکی و در نهایت تغذیه روتیفرها با این جلبک‌های آلوده نسبت داد. افزایش تراکم جلبکی می‌تواند بواسطه جذب زیستی فلزات سنگین،

محیط کشت روتیفر، نرخ رشد جمعیت کاهش پیدا کرد ولی همواره مثبت بود. در رابطه با اثر نیکل بر رشد روتیفرها مطالعات مشابهی دیده نشد. در آزمایش حاضر، در رابطه با اثر فلز نیکل بر تراکم و نرخ رشد روتیفر *B. calyciflorus*، با افزایش غلظت فلز حتی در کمترین غلظت (۰/۰۲۵ میلی‌گرم در لیتر کلرید نیکل) تراکم و نرخ رشد روتیفرها بطور معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) کاهش یافت که با نتایج بدست آمده از بررسی اثر جیوه بر رشد جمعیت *Brachionus patulus* (۲۹)، همچنین با یافته‌های محققان (۶) در رابطه با اثر سرب بر نرخ رشد جمعیت روتیفر *B. calyciflorus* مطابقت دارد.

### نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این تحقیق، کاهش شدید تراکم و نرخ رشد روتیفر *B. calyciflorus* با افزایش غلظت فلز نیکل، 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 نیکل در منابع آبی سیستان و احتمالاً سایر اکوسیستم‌های آبی کشور معرفی نمود. همچنین با تعیین آستانه تحمل این گونه روتیفر در برابر فلز نیکل، می‌توان از آن به عنوان شاخص زیستی در منابع آبی سود جست.

### سپاسگزاری

بدین وسیله نگارندگان از مدیریت محترم پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون به خاطر حمایت‌های مالی و از جناب آقای پروفیسور سارما (S. S. S. Sarma, National Autonomous University of Mexico, Campus Iztacala) و سرکار خانم پروفیسور 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.

نشان داد که با افزایش غلظت فلز سنگین، رشد جمعیت روتیفرها کاهش پیدا کرد (۲). روتیفرها نسبت به غلظت-های تحت کشنده مواد آلاینده پاسخ‌های مختلفی از جمله تغییر در سرعت شنا، تغذیه و تنفس از خود نشان می‌دهند (۲۰). روتیفرهای تغذیه شده با جلبک‌های حاوی فلز سنگین (جیوه) نرخ رشد کمتری را در مقایسه با شاهد نشان دادند (۲۸). افزایش غلظت فلز جیوه در محیط کشت موجب کاهش قدرت شنا در روتیفرها گردید، که این امر موجب پایین آمدن میزان تغذیه و در نهایت کاهش تراکم و نرخ رشد روتیفرها شد (۳). این احتمال وجود دارد که اثر نیکل بر روتیفر *B. calyciflorus* در این مطالعه به همین دلیل بوده باشد. در میان روتیفرهای جنس *Brachionus*، *B. calyciflorus*، *B. rubens* و *B. patulus* به طور وسیعی برای بررسی سمیت محیطی مطرح هستند (۳۳). در آزمایشات سمیت در گونه‌های کوچک موجودات از قبیل زئوپلانکتون‌ها، حداکثر تراکم جمعیت یک متغیر مهم و حساس نسبت به استرس ناشی از مواد سمی در موجود می‌باشد (۲۷). در شرایط استرس ناشی از مس، حداکثر تراکم جمعیت روتیفر *B. plicatilis* بطور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش پیدا کرد (۱۰). این یافته‌ها با نتایج بدست آمده در آزمایش حاضر مطابقت دارد. بطوری که با افزایش غلظت فلز نیکل، حداکثر تراکم جمعیت روتیفر *B. calyciflorus* کاهش پیدا کرد. در بررسی‌های سمیت مزمن مواد سمی در زئوپلانکتون‌ها، نرخ رشد جمعیت یکی از متغیرهای بسیار حساس نسبت به سطوح مختلف مواد سمی می‌باشد (۵، ۱۹). در مواقعی که استرس ناشی از مواد سمی بسیار شدید باشد، حتی اگر تراکم روتیفرها در ابتدا کمی افزایش پیدا کند، ولی روی هم رفته نرخ رشد ویژه می‌تواند منفی باشد (۱۰). چنین حالتی در برخی از جنس-های روتیفرها از قبیل: *Asplanchna* (۲۶)، *Brachionus* (۱۰)، *Euchlanis dilatata* (۲۷) گزارش شده است. در آزمایش حاضر با افزایش غلظت فلز سنگین نیکل در

### منابع

- 1- Anonymous. 1985. Methods of measuring the acute toxicity of effluents of freshwater and marine organisms. *US Environment Protection Agency*. EPA/600/4-85/013.
- 2- 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 technology*. 90-93.
- 3- Charoy, C.P., Persoone, C.R. and Clement, P. 1995. The swimming behavior of *Brachionus calyciflorus* (Ritifer) under toxic stress. 1. The use of automated trajectometry for determining sublethal effects of chemicals. *Aquat. toxicol.* 32: 271-288.
- 4- Coad, B. 2002. *Bony Fishes of Iran*, Canadian Journal of Musim. 12-27.
- 5- Forbes, V. E. and Calow, P. 1999. Is the per capita rate of increase a good measure of population level effects in ecotoxicology. *Environ. Toxicol. Chem.* 18: 1544-1556.
- 6- Grosel, M., Gerdes, R. M. and Briks, K. V. 2006. Chronic toxicity of Lead to three freshwater invertebrates *Brachionus calyciflorus*, *Chironomus tentans*, and *Lymnae stagnalis*. *Environmental toxicology and chemistry*. 25: 97-104.
- 7- Kerbs, C. J. 1985. Ecology. The Experimental Analysis of Distribution and Abundance. 3<sup>rd</sup> edn. *Harper and Row*. New York. 398 pp.
- 8- Komarek, J. 1973. Culture collections. In: Carr N.G. and Whitton B.A. The biology of blue-green algae. *Blackwell Scientific*. Publ. 519-524.
- 9- Lubzens, E., Tandler, A. and Minlof, G. 1989. Rotifers as food in Aquaculture. *Hydrobiologica*. 186/187: 387-400.
- 10- Luna-Andrade, A., Aguilar-Duran, R., Nandini, S. and Sarma, S. S. S. 2002. Combined effects of Copper and Microalgal (*Tetraselmis suecica*) concentration on the population growth of *Brachionus plicatilis* Muller (Rotifera). *Water, air and soil pollution*. 141: 143-153.
- 11- Mansour, A. A. and Sidky, M. M. 2002. Ecotoxicological studies: heavy metals contaminating water and fish from Fayoum Governorate. Egypt. *Food Chem.* 78: 15-22.
- 12- McDaniel, M and Snell, T. W. 1999. Probability distribution of toxicant sensitivity for freshwater rotifer species. *Environ. Toxicol.* 14:361-366.
- 13- Miller, D. E., Green, J. C. and shiroyama, T. 1978. The selenostrum capricornatum printz algal assay bottle test : Experimental design. application and interperation protocol. *US EPA*. 600 / 9. Pp.126.
- 14- NNEB (Notification of the National Environmental Board). 1994. published in the *Royal Government Gazete*. Vol. 111. Part 16. Dated Febriary 24. B.E. 2537.
- 15- 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 Oreochromis niloticus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 45: 291-295.
- 16- 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.
- 17- Pickhardt, P. C., Folt, C. L., Chen, C. Y., Klaue, B. and Blum, J. D. 2002. Algal blooms reduce the uptake of toxic methylmercury in freshwater food webs. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 296: 1109-1111.
- 18- Pontin, R. M. 1978. A key to British freshwater planktonic rotifera. *Scientific purification freshwater biological association*. 527pp.
- 19- 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.
- 20- 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.
- 21- 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.
- 22- 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.
- 23- 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.



- 24- Sarma, S. S. S., Brena-Bustamante, P. and Nandini, S. 2008. Body size and population growth of *Brachionus patulus* (Rotifera) in relation to heavy metal (copper and mercury) concentrations. *J. Environ. Sci. Health. Pt. A.* 43:547-553.
- 25- Sarma, S. S. S., Corral-Jacquez, F. I., Nandini, S. and Brend-Bustamante, P. B. 2010. Population level indicators of stress: Effects of two heavy metal (Copper and Mercury) on the growth of *Lecane quadridentata* (Ehrenberg, 1983)(Rotifera: Lecanidae). *Environ. Sci. health. Part A*, 45: 32-36.
- 26- 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.
- 27- 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.
- 28- 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.
- 29- Sarma, S. S. S., Nunez-Cruz, H. F. and Nandini, S. 2005. Effects on the population dynamics of *Brachionus rubens* (Rotifera) caused by mercury and cadmium and algal food administered through medium and algal food *Chlorella vulgaris*. *Acta. Zoologica. Sinica.* 51(1): 46-52.
- 30- Sarma, S. S. S., Ramirez- Perez, T. and Nandini, S. 2000. Comparison 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- Shakya, P. R. 2007. Nickel adsorption by wild type and nickel resistant isolate of *Chlorella* Sp. *Pak. J. Anal. Environ. Chem.* 8(1/2): 86-90.
- 32- Snell, T.W. and Moffat, B. D. 1992. A 2-D life-cycle test with the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Environ.. Toxicol. Chem.* 11: 1249-1257.
- 33- Snell, T. W. and Janssen, C. R. 1995. Rotifers in ecotoxicology: a review. *Hydrobiologica.* 313/314: 231-247.

## The effect of nickel (Ni) on the growth and population density of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus*

Seyyedi Abalvan M.<sup>1</sup>, Ghaffari M.<sup>2</sup> and Gharaei A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Fisheries Dept., Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, I.R. of Iran

<sup>2</sup> Fisheries Dept., Hamoun International Wetland Research Institute, University of Zabol, Zabol, I.R. of Iran

### Abstract

Freshwater rotifer *B. calyciflorus* is one of the major zooplanktic species that is important in aquaculture, aquatic ecosystem food chain and environmental monitoring. nickel is one of the stable environmental contaminants since it cannot be chemically degraded or destroyed. In present study, population response of rotifer *B. calyciflorus* to six different concentrations of nickel (0.025, 0.05, 0.1, 0.2, and 0.4 mg/l) with three replicates per concentration was studied for 8 days. Rotifer density and specific growth rate were calculated daily in the control and treatments containing nickel. Result showed that, rotifer population growth decreased significantly ( $p < 0.05$ ) with increasing Ni concentration in the medium. The maximum density in eighth day belongs to control ( $49.15 \pm 0.05$  ind/ml) and minimum density belongs to treatments containing concentration of 0.4 mg/l nickel (1.67 ind/ml). Also, the rotifer specific growth rate decreased significantly ( $p < 0.05$ ) (from 0.56 in control group to 0.07 in concentration of 0.4 mg/l) with increasing concentration of this metal. Results of this study showed that rotifer *B. calyciflorus* is severely sensitive to heavy metal nickel.

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