مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست شناسی ایران) جلد ۳۸، شماره ۱، ۱۴۰۴
مقاله پژوهشی، صفحات۴۶-۳۲ DOI: 10.22034/jar.2024.8374.1964

تأثیر مالاشیت‌گرین بر تراکم، رشد، بقاء، تولید نئونات و پوست‌اندازی در آنتن‌منشعب‌های آب شیرین *Daphnia magna* و *Ceriodaphnia quadrangula*

امیدوار فرهادیان*، فاطمه سادات احمدی، صفی اله حیدری

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

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۰۹

چکیده

آفت‌کش‌ها از آلاینده‌های محیطی اصلی‌اند که موجودات زنده غیر هدف محیط‌های آبی و به ویژه جمعیت‌های پلانکتونی را از بین می‌برند و از طریق تجمع در زنجیره غذایی سلامت انسان را نیز به خطرمی‌اندازد. در این مطالعه تأثیر غلظت‌های مختلف مالاشیت‌گرین بر رشد، تراکم، بقاء، پوست‌اندازی و تولید نئونات در دو گونه آنتن‌منشعب آب شیرین *Daphnia magna* و *Ceriodaphnia quadrangula* مورد ارزیابی قرارگرفت. آزمایش‌ها به‌صورت طرح کامل تصادفی با پنج تیمار از مالاشیت‌گرین شامل غلظت‌های صفر، ۰/۱، ۰/۳، ۰/۵ و ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر در سه تکرار در دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد مورد ارزیابی قرار گرفتند. آنتن‌منشعب‌ها با استفاده از جلبک *Scenedesmus quadricauda* و *Chlorella vulgaris* تغذیه شدند. نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف مالاشیت‌گرین تأثیر معنی‌داری بر بقاء، تراکم جمعیت، رشد ویژه، تعداد نئونات و دفعات پوست‌اندازی در *C. quadrangula* و *D. magna* دارد (P<۰/۰۵). کمترین دفعات پوست‌اندازی، تعداد نئونات، درصد بقاء، تراکم جمعیت و رشد ویژه *C. quadrangula* به ترتیب ۲۱/۷ نوبت، ۴۰/۳ فرد، ۵۳/۳ درصد، ۱۰/۸ فرد و ۳/۶ بر روز در غلظت ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر از مالاشیت‌گرین بود. متناظراً، شاخص‌های مذکور برای *D. magna* ۱۲ نوبت، ۳۳/۳ فرد ، ۳۷/۳ درصد ، ۱۶/۱ فرد و ۱/۸ بر روز در غلظت ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر از مالاشیت‌گرین حاصل شد. بر اساس تفاوت‌های معنی‌دار بین تیمارهای حاوی مالاشیت‌گرین و فاقد آن (تیمار شاهد، صفر میلی‌گرم در لیتر) می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مالاشیت گرین باعث کاهش عملکرد تولیدمثلی، رشد و پوست‌اندازی در زئوپلانکتون‌های آبی می‌شود.

واژه های کلیدی: آنتن منشعب‌ها، پوست‌اندازی، تولید مثل، رشد، مالاشیت گرین

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۱۳۳۹۱۳۵۶۴ ، پست الکترونیکی: omfarhad@iut.ac.ir

مقدمه

آب‌های سطحی به‌وسیله بسیاری از مواد شیمیایی مصنوعی و انسان‌ساخت آلوده شده‌اند که این مواد می‌توانند جمعیت‌های طبیعی آب‌ها را تحت تأثیر قرار دهند. آفت‌کش‌ها از عمده‌ترین آلاینده‌های محیطی هستند که با تأثیر بر موجودات زنده غیرهدف و ایجاد اختلال در شبکه‌های غذایی باعث عدم تعادل در کل اکوسیستم می‌گردند (۷). از بین موجودات زنده، زئوپلانکتون‌ها به‌عنوان یکی از موجودات حساس در برابر مواد شیمیایی سمی غالباً در آزمایش‌های سم‌شناسی مورد استفاده قرار می‌گیرند. زئوپلانکتون‌ها شاخص‌های بسیار مناسب از شرایط محیطی هستند زیرا میزان اکسیژن محلول آب، مقدار مواد غذایی، آلودگی‌های سمی و حتی صید زیاد بر پراکنش آن‌ها تأثیر می‌گذارد (۲ و ۸). از بین زئوپلانکتون‌ها، آنتن‌منشعب‌ها (Cladocera) به لحاظ قابلیت دسترسی در اکوسیستم‌های آبی، وجود اندازه‌های متفاوت، سرعت تکثیر، ارزش غذایی مناسب، محتوای آنزیم‌های گوارشی، انرژی زیاد، قابلیت پرورش ارزان و تحمل به تغییرات محیطی از قبیل دما و دوره نوری باعث شده تا

DOI: 10.22034/jar.2024.8374.1964

به‌عنوان یکی از گزینه‌های بسیار مهم در مطالعات زیست‌شناختی و آبزی‌پروری مورد استفاده قرار گیرند (۱). فاکتورهای مؤثر بر رشد و تولیدمثل آنتن منشعب‌ها شامل دما، کمیت و کیفیت مواد غذایی، نور و آلاینده‌ها هستند (۱ و ۲۲). یکی از مهم‌ترین گروه آلاینده‌ها، آلاینده‌های آلی کم‌مقدار و آلاینده‌های نوظهور شامل آفت‌کش‌ها، حشره-کش‌ها، قارچ‌کش‌ها هستند که بیشترین میزان مصرف را دارند. یکی از آفت‌کش‌هایی که به‌طور گسترده در صنعت آبزی‌پروری برای مقابله با عفونت‌های باکتریایی، قارچی و انگلی در تخم و لارو ماهیان به ویژه در مراحل انکوباسیون تخم و لارو مورداستفاده قرار می‌گیرد، مالاشیت‌گرین (تری فنیل متان یا سبز بازی ۴، بدون عنصر روی) است (۲۵). مالاشیت‌گرین دارای ثبات زیست‌محیطی و سمیت حاد برای بسیاری از جانوران آبزی و خشکی‌زی است، زیرا مشخص‌شده که برای سلول‌های پستانداران سمی بوده و ممکن است موجب تشکیل تومور کبدی گردد (۵). مالاشیت‌گرین و فرم احیایی آن یعنی لوکومالاشیت‌گرین در بافت‌های خوراکی ماهیان به مدت طولانی باقی می‌ماند؛ ازاین‌رو مشکلات زیست‌محیطی و سلامتی انسانی در مورد تجمع مالاشیت‌گرین در اکوسیستم‌های آبی و خشکی وجود دارد (۱۰ ، ۱۸). آثار زیان‌آور متعددی از قبیل سرطان‌زایی، جهش‌زایی، شکست کروموزوم و کاهش درصد لقاح مولدین در قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از استفاده مالاشیت گرین برای کنترل عفونی مشاهده شده است (۱۸). تغییر شکل کروموزومی در تخم ماهیان آب شیرین، کاهش شدید بازماندگی تخم‌ها، تأخیر زمان هچ تخم‌ها و ناهنجاری در نخاع، سر، باله و دم در لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان تفریخ شده از تخم‌های تیمار شده با مالاشیت گرین وجود دارد. مالاشیت گرین به‌صورت یک سم برای آنزیم تنفسی عمل کرده و موجب مشکلات شدید تنفسی در قزل‌آلای رنگین‌کمان و تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) گردیده است (۱۵). اگرچه استفاده از مالاشیت گرین به خاطر خطرات احتمالی آن برای مصرف‌کنندگان شامل تأثیرات آن بر سیستم ایمنی و تولیدمثلی و نیز نقش آن در سرطان‌زایی و ویژگی سمیت ژنومی آن در برخی کشورها ممنوع شده است، اما امروزه در بسیاری از کشورها از آن در صنعت آبزی‌پروری استفاده می‌گردد که ازیک‌طرف به خاطر ارزانی، موثربودن و دسترسی آسان به مالاشیت‌گرین به‌عنوان یک آفت‌کش بوده و از طرف دیگر به علت افزایش رو به رشد استفاده از رنگ است که خود معلول رشد چشمگیر صنعتی شدن جوامع و علاقه انسان‌ها به رنگ است (۱۳). بررسی تأثیرات مالاشیت‌گرین بر بی‌مهرگان آبزی از قبیل آنتن‌منشعب‌ها می‌تواند اطلاعات مهمی را در خصوص چگونگی تأثیرات آن بر رشد، بقاء، پوست‌اندازی و تولیدمثل به ارمغان بیاورد. این مطالعه با هدف بررسی اثرات مالاشیت‌گرین بر رشد، بقاء، پوست‌اندازی، تراکم جمعیت و تولید نئونات (نوزاد آنتن‌منشعب) در دو گونه آنتن‌منشعب معمول در آب‌های شیرین *Daphnia magna* و *Ceriodaphnia quadrangula* انجام شد.

مواد و روشها

پرورش آنتن‌منشعب‌ها: آنتن‌منشعب‌های استفاده شده در این آزمایش به‌صورت زنده همراه با سایر زئوپلانکتون‌ها از دریاچه سد حنا واقع در ۲۰ کیلومتری شهرستان سمیرم، استان اصفهان با تور پلانکتون‌گیری با اندازه چشمه ۴۰ میکرون جمع‌آوری و سپس به آزمایشگاه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه انتقال داده شد. آنتن‌منشعب‌ها به مدت دو روز در همان آب جمع‌آوری‌شده از محل نمونه‌برداری با شرایط دمایی ثابت و هوادهی برای جلوگیری از استرس نگه‌داری شد و سپس بر اساس کلید شناسایی متداول آب شیرین جداسازی شد. دو استوک خالص از *D. magna* و *C. quadrangula* تهیه و سپس تحت شرایط کنترل‌شده شامل دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد، شرایط نوری ۱۲:۱۲، آب فیلتر و اتوکلاو شد و با هوادهی مناسب به ظروف ۱۰ لیتری انتقال یافت. در طی این دوره غذای

مقاله پژوهشی، صفحات۴۶-۳۲
DOI: 10.22034/jar.2024.8374.1964

مخلوط *S. quadricauda* و *C. vulgaris* (با نسبت ۵۰:۵۰ برحسب تعداد) برای تغذیه زئوپلانکتون‌ها مورد استفاده قرار گرفت. جلبک‌های سبز *Scenedesmus quadricauda* و *Chlorella vulgaris* با استفاده از محیط کشت BBM (Bold`s Basal Medium) در ارلن مایرهای ۵ لیتری کشت داده شدند (۱ و ۴). جلبک‌ها در مرحله رشد سریع، از طریق سانتریفیوژ کردن مورد برداشت قرار گرفتند و بعد از سانتریفیوژ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا جهت تغذیه آنتن‌منشعب‌های *C. quadrangula* و *D. magna* مورد استفاده قرار گیرند. هر روز قبل از تغذیه، با استفاده از پیپت، نمونه‌های زئوپلانکتونی از محیط پرورش جدا شد و آب محیط پرورش با استفاده از قیف جداکننده تمیز شد و باقی‌مانده غذا از محیط خارج شد. تعویض کامل آب محیط کشت به‌صورت هفتگی انجام شد.

روش انجام آزمایش: استوک مالاشیت گرین به‌وسیله انحلال **۰/۱گرم** از ماده جامد کریستالی نمک اگزالات مالاشیت گرین (Merck, Germany) در یک لیتر آب مقطر تهیه گردید. سایر محلول‌های مورداستفاده در این تحقیق با رقیق‌سازی استوک اولیه مالاشیت گرین در گستره غلظت ۱/۸-۰/۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه و در آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفت. در این تحقیق تیمارها با پنج غلظت از مالاشیت گرین شامل صفر، ۰/۱، ۰/۳، ۰/۵و ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر و با سه تکرار انجام گرفت. آزمایش در ویال‌های شفاف ۵۰ میلی‌لیتری انجام و به ازای هر ۱۰ میلی‌لیتر یک زئوپلانکتون بالغ به‌طور تصادفی از استوک اولیه در ویال‌ها قرار داده شد. شرایط نوری (۱۲ ساعت نور/ ۱۲ ساعت تاریکی)، دمایی (۲۱ درجه سانتی‌گراد) و تغذیه جلبکی مخلوط برای کلیه تیمارها یکسان بود. با توجه به دمای آب و همچنین شرایط نوری آزمایش برای یک دوره ۲۰ روزه در نظر گرفته شد تا آنتن‌منشعب‌های موردنظر بتوانند اندازه جمعیت خود را برای لااقل سه دوره تولیدمثلی افزایش دهند (۱۱، ۲۵). شرایط دمایی در دوره آزمایش ثابت و در محدوده دمایی ۲۱ درجه سانتی‌گراد حفظ شد. آزمایش به‌صورت جمعیتی انجام شد، بدین‌صورت که بالغین و نئونات‌های (نوزادان تازه متولدشده زئوپلانکتون‌ها) حاصل از تولیدمثل غیرجنسی در کنار هم تا پایان دوره آزمایش نگه‌داری شدند. پس از شمارش نئونات‌ها، تعداد تلفات و دفعات پوست‌اندازی، نئونات‌ها و بالغین همراه یکدیگر در ویال‌های آزمایش نگهداری گردید. در طول دوره آزمایش سعی بر این شد که دما، میزان غذادهی، غلظت و حجم محلول آزمایش، شرایط نوری و کیفیت آب برای تمامی تیمارها به‌صورت پایداری حفظ گردد. تیمارها هر دو روز یک‌بار بررسی و در هر بررسی، تعداد زئوپلانکتون‌های بالغ، تعداد نئونات‌ها، تعداد تلفات، دفعات پوست‌اندازی و تعداد کل زئوپلانکتون‌های زنده در محیط پرورش شمارش و ثبت گردید. پس از ثبت و شمارش شاخص رهای موردنظر، باقی‌مانده غذای جلبکی، مواد دفعی و تکه‌های حاصل از پوست‌اندازی از محلول محیط کشت با استفاده از قیف جداکننده از محیط خارج و پس از بررسی‌های انجام‌شده، غذادهی صورت گرفت.

میزان رشد ویژه یا SGR (Specific Growth Rate) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد(۱۶)؛

$$SGR=(lnN2-lnN1)/t$$

که در این رابطه: *N2*: تعداد جلبک در انتهای آزمایش، *N1*: تعداد جلبک در ابتدای آزمایش و *t*: مدت‌زمان انجام آزمایش.

دفعات پوست‌اندازی با جمع‌آوری پوست‌های موجود در ویال‌ها مورد شناسایی و شمارش قرار گرفت. در شمارش و شناسایی پوست‌ها از یک لوپ آزمایشگاهی با بزرگنمایی ۲۵ استفاده شد.

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها: نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف–اسمیرنوف بررسی شد. داده‌های حاصل از تیمارهای آزمایشی با استفاده از تجزیه واریانس یک‌طرفه ANOVA مورد تحلیل آماری قرار گرفت. تفاوت موجود

DOI: 10.22034/jar.2024.8374.1964 مقاله پژوهشی، صفحات۴۶-۳۲

در بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن با هم مقایسه گردید. تمام آنالیزها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS, version 16 انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم گردید.

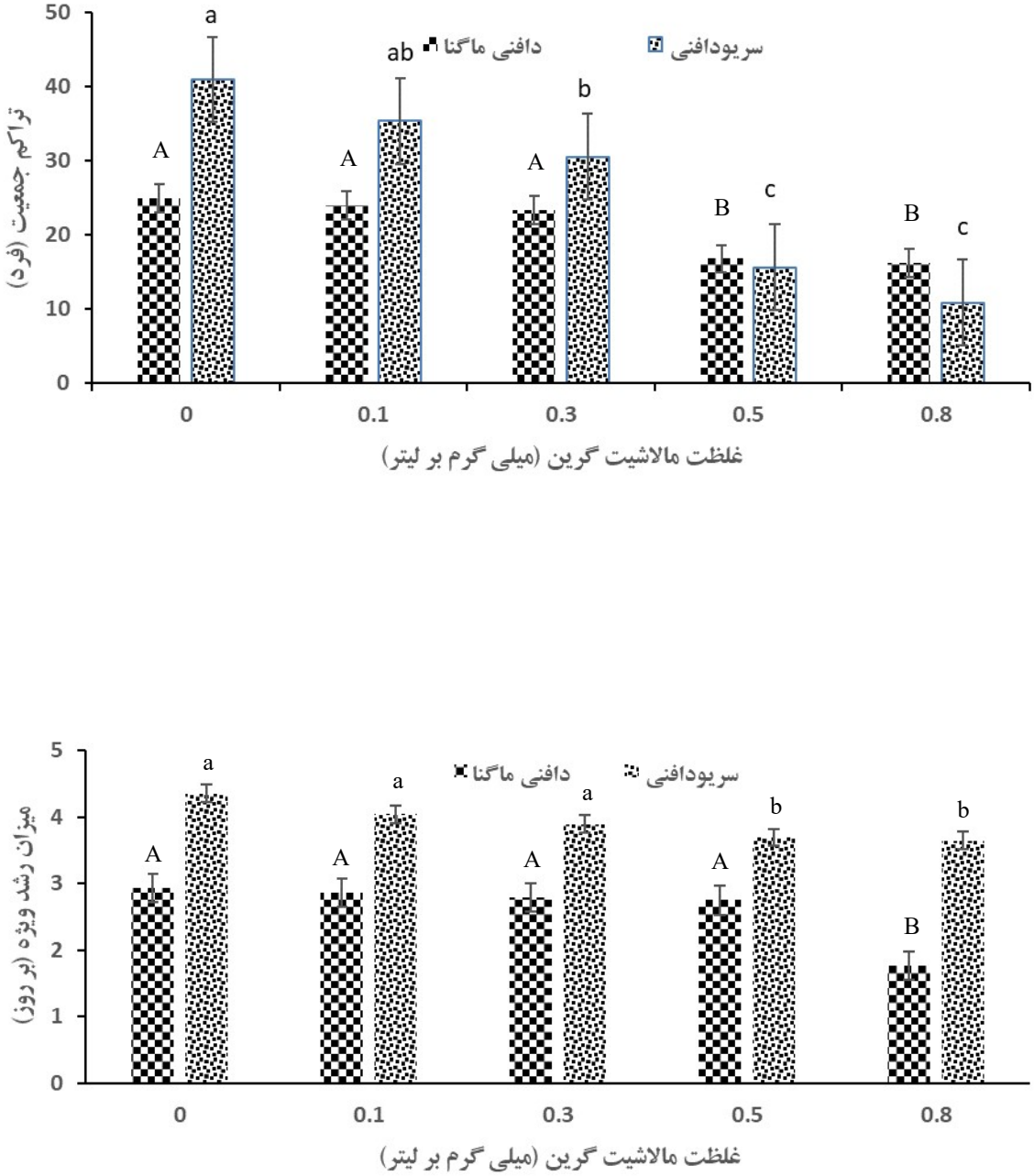
نتایج

تأثیرمالاشیت گرین بر تراکم و رشد ویژه جمعیت: تراکم و رشد ویژه جمعیت آنتن منشعب‌ها در تیمارهای مختلف در نمودار ۱ ارائه گردیده است. نتایج نشان داد که تیمارهای مختلف آزمایشی بر مشخصه‌های مختلف اندازه‌گیری شده تأثیر معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵). بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در انتهای آزمایش برای *C. quadrangula*، بیشترین تراکم جمعیت (۴۰/۹۷ فرد) و بیشترین میزان رشد ویژه (۴/۳۵ بر روز) در تیمار شاهد با مقدار مالاشیت‌گرین صفر میلی‌گرم بر لیتر و کمترین تراکم جمعیت (۱۰/۸۵ فرد) و کمترین میزان رشد ویژه (۳/۶۵ بر روز) در تیمار ۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر مالاشیت‌گرین مشاهده شد. همچنین در انتهای آزمایش برای *D. magna*، بیشترین تراکم جمعیت (۲۴/۹۰ فرد) و بیشترین میزان رشد ویژه (۲/۹۳ بر روز) در تیمار شاهد با مقدار مالاشیت‌گرین صفر میلی‌گرم بر لیتر و کمترین تراکم جمعیت (۱۶/۱۷ فرد) و کمترین میزان رشد ویژه (۱/۷۶ بر روز) در تیمار ۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر مالاشیت‌گرین مشاهده شد. به‌این‌ترتیب اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد و تیمار ۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر مالاشیت‌گرین وجود داشت (نمودار ۱).

تأثیر مالاشیت گرین بر میزان بقاء و تولید نئونات: میزان بقاء و تولید نئونات آنتن منشعب‌ها در تیمارهای مختلف در نمودار ۲ ارائه گردیده است. نتایج تجزیه‌وتحلیل واریانس یک‌طرفه در طول آزمایش نشان داد که تیمارهای مختلف آزمایشی بر مشخصه‌های مختلف اندازه‌گیری شده تأثیر معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵). بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در انتهای آزمایش برای *C. quadrangula*، بیشترین میزان بقاء (۷۳/۳۳ درصد) و بیشترین تولید نئونات (۸۷/۶۷ فرد) در تیمار شاهد با مقدار مالاشیت‌گرین صفر میلی‌گرم بر لیتر و کمترین میزان بقاء (۵۷/۳۳ درصد) و کمترین تولید نئونات (۴۰/۳۳ فرد) در تیمار ۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر مالاشیت‌گرین مشاهده شد. همچنین در انتهای آزمایش برای *D. magna*، بیشترین میزان بقاء (۶۲/۰۰ درصد) و بیشترین تولید نئونات (۴۹/۰۰ فرد) در تیمار شاهد با مقدار مالاشیت‌گرین صفر میلی‌گرم بر لیتر و کمترین میزان بقاء (۳۷/۳۳ درصد) و کمترین تولید نئونات (۳۳/۳۳ فرد) در تیمار ۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر مالاشیت‌گرین مشاهده شد. به‌این‌ترتیب اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد و تیمار ۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر مالاشیت‌گرین وجود داشت (نمودار ۲).

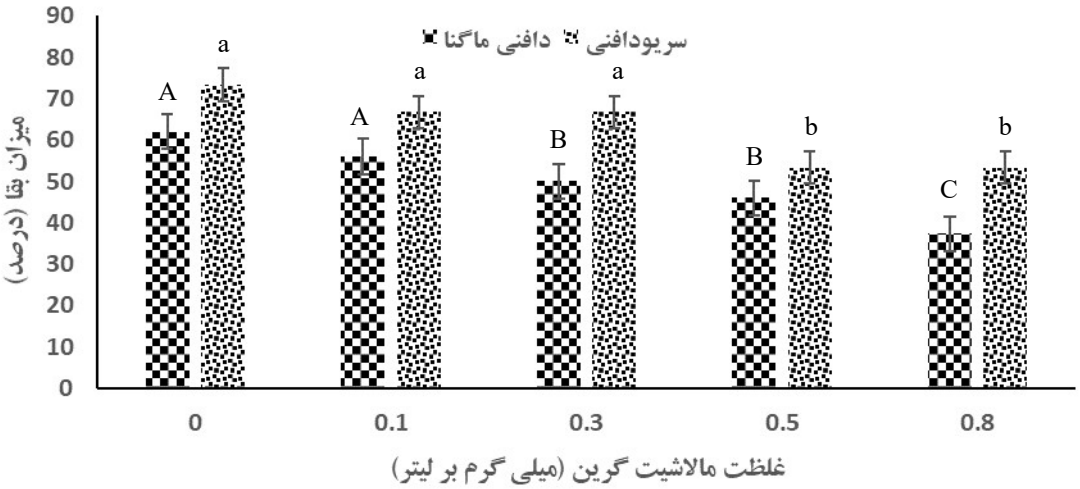
تأثیر مالاشیت گرین بر دفعات پوست‌اندازی: دفعات پوست‌اندازی آنتن منشعب‌ها در تیمارهای مختلف در نمودار ۳ ارائه گردیده است. نتایج تجزیه‌وتحلیل واریانس یک‌طرفه در طول آزمایش نشان داد که تیمارهای مختلف آزمایشی بر مشخصه‌های مختلف اندازه‌گیری شده تأثیر معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵). بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در انتهای آزمایش برای *C. quadrangula*، بیشترین دفعات پوست‌اندازی (۲۸/۶۷ بار) در تیمار شاهد با مقدار مالاشیت‌گرین صفر میلی‌گرم بر لیتر و کمترین دفعات پوست‌اندازی (۲۱/۶۷ درصد) در تیمار ۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر مالاشیت‌گرین مشاهده شد. همچنین در انتهای آزمایش برای *D. magna*، بیشترین دفعات پوست‌اندازی (۲۷/۶۷ بار) در تیمار شاهد با مقدار مالاشیت‌گرین صفر میلی‌گرم بر لیتر و کمترین دفعات پوست‌اندازی (۱۲/۰۰ بار) در تیمار ۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر مالاشیت‌گرین مشاهده شد. به‌این‌ترتیب اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد و تیمار ۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر مالاشیت‌گرین وجود داشت (نمودار ۳).

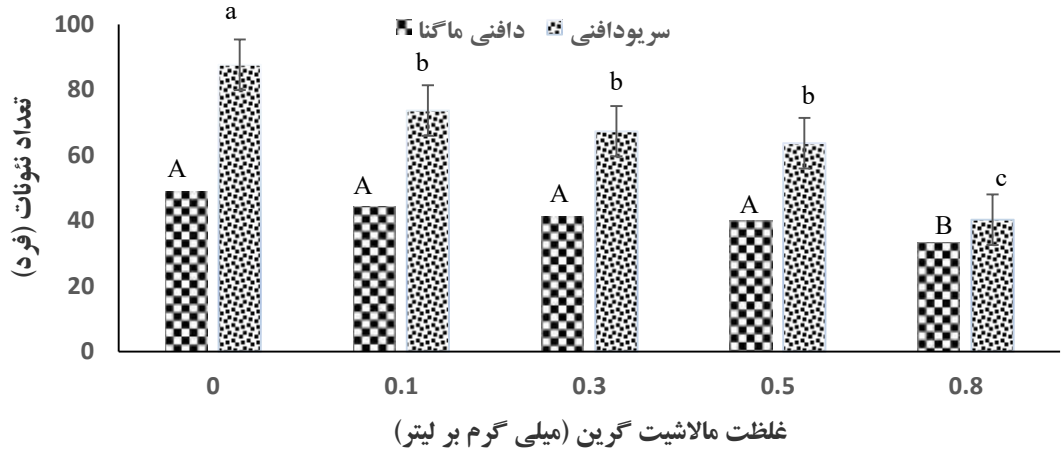
مقاله پژوهشی، صفحات۴۶-۳۲
DOI: 10.22034/jar.2024.8374.1964



نمودار ۱: میانگین (± خطای استاندارد) اثر غلظت‌های مختلف مالاشیت‌گرین بر تراکم جمعیت (الف) و میزان رشد ویژه (ب) آنتن‌منشعب‌های *Cquadrangula* و *Dmagna*. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد باهم اختلاف معنی‌داری ندارند (P<۰/۰۵).

DOI: 10.22034/jar.2024.8374.1964 مقاله پژوهشی، صفحات۴۶-۳۲





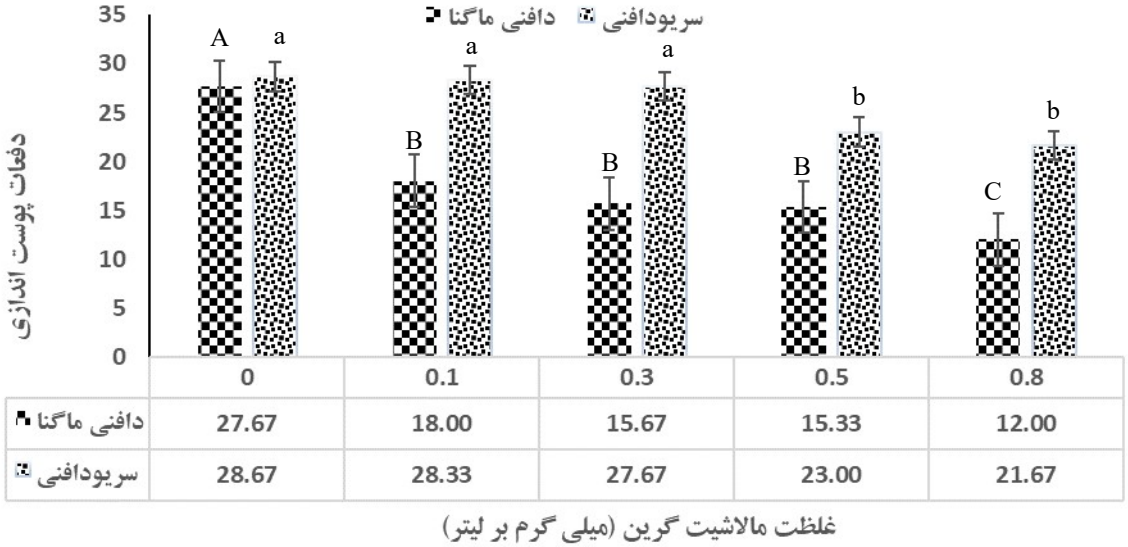
نمودار ۲: میانگین (± خطای استاندارد) اثر غلظت‌های مختلف مالاشیت‌گرین بر میزان بقاء (الف) و تعداد نئونات (ب) آنتن‌منشعب‌های *C. quadrangula* و *Dmagna*. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری ندارند (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه گیری

رشد، بقاء و تراکم جمعیت: مقایسه تراکم جمعیت در دو گونه موردبررسی در این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت مالاشیت گرین میزان تراکم جمعیت کاهش پیدا می‌کند. به نظر می‌رسد کاهش بقا در تیمارهای حاوی مالاشیت‌گرین را می‌توان به دلیل تأثیرات منفی کاهش تغذیه، کاهش نرخ فیلتراسیون، تأثیر منفی مالاشیت گرین بر غذای جلبکی و کلونی کردن آن و مهار اثرات غدد درون‌ریز دانست. مطالعه Pereira و Goncalves نشان داد که زئوپلانکتون‌ها به شرایط تنش محیطی، استرس و تغییرات میزان دسترسی به غذا پاسخ می‌دهند (۱۹). Sancho و همکاران در بررسی خود نشان دادند که قارچ‌کش‌ها باعث کاهش نرخ رشد طبیعی و بقا *D. magna* می‌گردند (۲۴).

مقاله پژوهشی، صفحات۴۶-۳۲
DOI: 10.22034/jar.2024.8374.1964

همچنین Sancho و همکاران بیان کردند که میزان فیلتراسیون و مصرف خوراکی *D. magna* بعد از در معرض تیبوکونازول قرارگرفتن به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (۲۳). Nishikawa و همکاران در بررسی افزایش تراکم جمعیت بر رشد و بقاء *D. pulex* بیان کردند که تغذیه دافنی تحت تأثیر افزایش تراکم جمعیت ممکن است رشد و تولیدمثل را تغییر دهد. همچنین آن‌ها بیان کردند که در تراکم بالای جمعیت میزان تغذیه کاهش پیدا می‌کند و تراکم جمعیت می‌تواند میزان متابولیسم و یا کارایی جذب در دافنی را کاهش دهد (۱۴).



نمودار ۳: میانگین (± خطای استاندارد) اثر غلظت‌های مختلف مالاشیت‌گرین بر دفعات پوست‌اندازی آنتن‌منشعب‌های *C quadrangula* و *D magna*. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد باهم اختلاف معنی‌داری ندارند (P<۰/۰۵).

با توجه به مکانیسم عمل مالاشیت گرین که به‌صورت مهار آنزیم‌های تنفسی میتوکندریایی است (۳)، قارچ‌کش‌ها باعث القای mRNA از ژن‌های کدگذاری برای سنتتاز ATPو آنزیم‌های دخیل در گلیکولیز در زنجیره تنفسی می‌گردند (۱۹). همچنین می‌توان گفت که مصرف مالاشیت‌گرین توسط *D. magna* مانع حرکت آن‌ها در ستون آب می‌گردد و با کم کردن سرعت و کاهش غوطه‌وری باعث کاهش رشد آن‌ها می‌شود. بررسی رشد ویژه در *D. magna* و *C. quadrangula* نشان داد که با افزایش غلظت مالاشیت گرین رشد ویژه کاهش پیدا می‌کند. تأثیر منفی مالاشیت گرین بر رشد ویژه در گونه *D. magna* بیشتر بود و با افزایش غلظت مالاشیت گرین رشد ویژه کاهش بیشتری نشان داد. Sancho و همکاران مشاهده کردند که تغذیه *D. magna* پس از قرار گرفتن در معرض قارچ‌کش تیبوکونازول مهار شد (۲۳). این نتایج نشان داد که قارچ‌کش‌ها علاوه بر مختل کردن سیستم غدد درون‌ریز بر تغذیه زئوپلانکتون‌ها تأثیر گذاشته و با کاهش یا مهار تغذیه باعث کاهش رشد جمعیت می‌شوند. در این مطالعه بطور ظاهری مشاهده شد که تجمع رنگ سبز مالاشیت در بدن آنتن‌منشعب‌های *C. quadrangula* و *D. magna* رخ می دهد و این تجمع رنگ پس از دو الی سه روز کم رنگ و یا بیرنگ و غیر قابل مشاهده میشود. این مورد بطور مشابهی توسط Kanhere و همکاران نیز برای گونه *D. magna* گزارش شده است (۹).

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۶-۳۲
DOI: 10.22034/jar.2024.8374.1964

تعداد نئونات: میانگین تعداد نئونات در *D. magna* و *C. quadrangula* در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان داد. Kast-Hutcheson و همکاران در بررسی تأثیرات قارچ‌کش پروپیکونازول در یک دوره ۲۱ روزه بر *D. magna* بیان کردند که پروپیکونازول در غلظت-های بالای ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر موجب بروز ناهنجاری-های رشدی و مرگ جنین‌ها شد. قرار گرفتن *D. magna* بالغ در معرض پروپیکونازول باعث انتقال قارچ‌کش به جنین‌ها و بروز سمیت در طول دوره جنینی می‌شود (۱۱). Mazurava و همکاران بیان کردند که اثر سمی یک آفت‌کش می‌تواند باعث اختلال در غدد درون‌ریز شود (۱۲). Palma و همکاران گزارش دادند که باروری و توسعه آنتن‌منشعب‌ها به‌طور مستقیم به ارگان مانديبول مسئول ترشح هورمون متیل فارسنوئات (MT) مربوط می-شود (۱۷). با توجه به کاهش نئونات آنتن‌منشعب‌های موردبررسی تحت تأثیر مالاشیت‌گرین و نتایج مطالعات گذشته به نظر می‌رسد که مالاشیت گرین باعث مهار گیرنده‌های متیل فارسنوئات و یا اختلال در هورمون متیل فارسنوئات می‌گردد. هم‌چنین به نظر می‌رسد مالاشیت‌گرین با ایجاد اختلال در غدد درون‌ریز، باعث مهار و یا کاهش تعداد نئونات در آنتن‌منشعب‌ها می‌شود. در بررسی انجام‌شده در غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر مالاشیت گرین، افی‌پیوم مشاهده شد. به نظر می‌رسد که حضور مالاشیت گرین باعث القای شرایط نامناسب محیطی و تولید افی‌پیوم می‌شود.

پوست‌اندازی: نتایج بررسی‌ها نشان داد که به‌طورکلی مالاشیت گرین باعث کاهش دفعات پوست‌اندازی در زئوپلانکتون‌های مورد بررسی می‌گردد. Gaete و همکاران مشاهده کردند که حشره‌کش متومیل باعث کاهش پوست‌اندازی *D. magna* می‌گردد (۶). هم‌چنین Rodriguez و همکاران بیان کردند که آفت‌کش‌ها باعث مهار پوست‌اندازی و اختلال غدد درون‌ریز در سخت‌پوستان می‌شوند (۲۱). Mazurova و همکاران بیان کردند که کاهش پوست‌اندازی می‌تواند به دلیل تغییر در ارگان-X که ترشح هورمون ممانعت از پوست‌اندازی MIH (Molting inhibitory hormone) را بر عهده دارد، باشد و همچنین می‌تواند به دلیل مهار تولید هورمون اگزیستروئید که از ارگان-*Y* ترشح می‌شود و یک هورمون مؤثر بر پوست‌اندازی است، باشد (۱۲). Pereira و همکاران بیان کردند که ساختارهای کوتیکولی در سخت‌پوستان که پروتئین کوتیکولار و کیتین دیازکتیل‌ها را کدگذاری می-کنند در واکنش به مواد شیمیایی به‌شدت تحت تأثیر قرار می‌گیرند و می‌توانند تأثیر مستقیم بر دفعات پوست‌اندازی داشته باشند (۲۰). با توجه به کاهش دفعات پوست‌اندازی به نظر می‌رسد مالاشیت‌گرین کدگذاری مواد موردنیاز برای پوست‌اندازی را مختل کرده و دفعات پوست‌اندازی در آنتن منشعب‌ها را کاهش می‌دهد. بر اساس نتایج این مطالعه، مالاشیت گرین باعث ناهنجاری در پوست‌اندازی می‌شود. در غلظت‌های زیاد مالاشیت گرین، ناهنجاری جدا نشدن کامل پوسته از آنتن منشعب مشاهده شد که تأثیرات منفی مالاشیت گرین بر چرخه پوست‌اندازی را نشان می-دهد. با افزایش غلظت مالاشیت گرین دفعات پوست‌اندازی در کل دوره به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش داشت.

مالاشیت گرین با کاهش میزان تراکم و اندازه جمعیت، کاهش میزان بقا، کاهش تعداد نئونات و اختلال در دفعات و زمان پوست‌اندازی باعث کاهش عملکرد تولیدمثلی، رشد و پوست‌اندازی در دو گونه آنتن‌منشعب آب شیرین *Daphnia magna* و *Ceriodaphnia quadrangula* می‌شود.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه صنعتی اصفهان برای فراهم نمودن شرایط و امکانات لازم برای انجام این تحقیق و از آقایان دکتر سعید اسدالهی و دکتر ابراهیم متقی تشکر و قدردانی می‌گردد.

DOI: 10.22034/jar.2024.8374.1964 مقاله پژوهشی، صفحات۴۶-۳۲

منابع

۱. تقوی، د.، فرهادیان، ا.، محبوبی‌صوفیانی، ن.، و کیوانی، ی. ۱۳۹۳. تاثیر رژیم‌های نوری و جیره های غذایی جلبکی بر رشد و تولید در آنتن منشعب آب شیرین *Ceriodaphnia quadrangula*. مجله پژوهش های جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، جلد ۲۷، شماره ۲، صفحات ۱۹۴-۲۰۶.

۲. فرهادیان، ا.، کولیوند، س.، ابراهیمی درچه، ع. و محبوبی‌صوفیانی، ن. ۱۳۹۲. پراکنش و ساختار جامعه سخت پوستان مزوزئوپلانکتونی تالاب حنا، استان اصفهان. مجله پژوهش های جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، جلد ۲۶، شماره ۴، صفحات ۴۵۹-۴۴۳.

3. Barata, C., Porte, C., and Baird, D.J., 2004. Experimental designs to assess endocrine disrupting effects in invertebrates a review. Ecotoxicology, 13(6), 511-517.
4. Bold, H.C., and Wynne, M.J., 1985. *Introduction to the Algae*. 720 pp.
5. Daneshvar, N., Ayazloo, M., Khataee, A.R., and Pourhassan, M., 2007. Biological decolonization of dye solution containing malachite green by microalgae *Cosmarium* sp. Bioresource Technology, 98, 1176–1182.
6. Gaete, H., Olivares, Y., and Escobar, C., 2013. Assessment of the effect of a commercial formulation of methomyl on reproduction of *Daphnia obtusa* Kürz (1874)/ Evaluacion del efecto de una formulación comercial de Metomil sobre la reproducción de *Daphnia obtusa* Kurz (1874). Latin American Journal of Aquatic Research, 41(5), 979-986.
7. Hanazato, T., 2001. Pesticide effects on freshwater zooplankton: an ecological perspective. Environmental Pollution, 112(1), 1-10.
8. Jayatunga, Y.N.A., 1986. The influence of food and temperature on the life cycle characteristics of tropical cladoceran species from Kalaweewa Reservoir, Sri Lanka (Doctoral dissertation, University of London). 414 pp.
9. Kanhere, J., Gopinathan, R., and Banerjee, J., 2014. Cytotoxicity and genotoxicity of malachite green on non-target aquatic organisms: *Chlorella pyrenoidosa* & *Daphnia magna*. Water, Air, & Soil Pollution, 225(9), 1-8.
10. Kannan, C., Sundaram, T., and Palvannan, T., 2008. Environmentally stable adsorbent of tetrahedral silica and non-tetrahedral alumina for removal and recovery of malachite green dye from aqueous solution. Journal of Hazardous Materials, 157, 137–145.
11. Kast-Hutcheson, K., Rider, C.V., and LeBlanc, G.A., 2001. The fungicide propiconazole interferes with embryonic development of the crustacean *Daphnia magna*. Environmental Toxicology and Chemistry, 20(3), 502-509.
12. Mazurova, E., Hilscherova, K., Triebskorn, R., Kohler, H.R., Marsalek, B., and Blaha, L., 2008. Endocrine regulation of the reproduction in crustaceans: identification of potential targets for toxicants and environmental contaminants. Biologia, 63(2), 139-150.
13. Mohan S.V., Roa C.N., Prasad K.K., and Karthikeyan J., 2002. Treatment of simulated reactive yellow 22 (Azo) dye effluents using *Spirogyra* species. Waste Management, 22, 575–582.
14. Nishikawa, J., and Ban, S., 1998. Effect of high population density on growth and reproduction of *Daphnia pulex* DeGeer. Plankton Biology & Ecology, 45(1), 55-60.
15. Omoregie, E., Ofojekwu, P.C., Anosike, J.C., and Adeleye, A.O., 1998. Acute toxicity of malachite green to the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Journal of Aquaculture in the Tropics, 13(4), 233-237.
16. Omori, M., and Ikeda, T., 1984. Methods in Zooplankton Ecology. John Wiley & Sons Inc. New York, USA, 332P.
17. Palma, P., Palma, V., Matos, C., Fernandes, R., Bohn, A., Soares, A., and Barbosa, I., 2009. Effects of atrazine and endosulfan sulphate on the ecdysteroid system of *Daphnia magna*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 72, 344-350.
18. Parshetti, G., Kalme, S., Sartale, G., and Govindwar, S., 2006. Biodegradation of malachite green by *Kocuria rosea* MTCC 1532. Analytica Chimica Acta, 53, 492–498.
19. Pereira, J., and Goncalves, F., 2007. Effects of food availability on the acute and chronic toxicity of the insecticide Methomyl to *Daphnia* spp. Science of the Total Environment, 386, 9-20.
20. Pereira, J.L., Hill, C.J., Sibly, R.M., Bolshakov, V.N., Gonçalves, F., Heckmann, L.H., and Callaghan, A., 2010. Gene transcription in *Daphnia magna*: effects of acute exposure to a carbamate insecticide and an acetanilide herbicide. Aquatic Toxicology, 97(3), 268-276.

مقاله پژوهشی، صفحات۴۶-۳۲ DOI: 10.22034/jar.2024.8374.1964

21. Rodriguez, E., Medesani, D., and Fingerman, M., 2007. Endocrine disruption in crustaceans due to pollutants: a review. Comparative Biochemistry and Physiology (Part A), 146, 661-671.
22. Rose, R.M., Warne, M.S.J., and Lim, R.P., 2002. Some life history responses of the cladoceran *Ceriodaphnia dubia* to variations in population density at two different food concentrations. Hydrobiologia, 481(1), 157-164.
23. Sancho, E., Villarroel, M.J., Andreu, E., and Ferrando, M.D., 2009. Disturbances in energy metabolism of *Daphnia magna* after exposure to tebuconazole. Chemosphere, 74(9), 1171-1178.
24. Sancho, E., Villarroel, M.J., and Ferrando, M.D., 2016. Assessment of chronic effects of tebuconazole on survival, reproduction and growth of *Daphnia magna* after different exposure times. Ecotoxicology and Environmental Safety, 124,10-17.
25. Tsai, W.T., and Chen, H.R., 2010. Removal of malachite green from aqueous solution using low-cost *Chlorella*-based biomass. Journal of Hazardous Materials, 175(1), 844-849.

Effect of malachite green on density, growth, survival, neonate production and molting of freshwater cladocerans, *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia quadrangula*

Farhadian O., Ahmadi F.S. and Heidari S.

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

Abstract

Pesticides are the main environmental pollutants that destroy non-target living organisms in aquatic environments, especially planktonic populations, and endanger human health through the food chain. In this study, the effects of different concentrations of malachite green (MG) on growth, density, survival, molting and neonate production of two species of freshwater cladocerans, *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia quadrangula* were evaluated. A completely randomized experimental design with five treatments of MG, including concentrations of 0, 0.1, 0.3, 0.5 and 0.8 mg/L in triplicates at a temperature of 21 °C were evaluated. The cladocerans were fed with algae *Scenedesmus quadricauda* and *Chlorella vulgaris*. The results showed that different concentrations of MG have a significant effect on survival, population density, specific growth, number of neonates and molting production in *C. quadrangula* and *D. magna* ($P<0.05$). The lowest molting, number of neonates, percentage of survival, population density and specific growth of *C. quadrangula* were 21.7 times, 40.3 individuals, 53.3 percent, 10.8 individuals and 3.6 per day at 0.8 mg/L of MG, respectively. Correspondingly, those mentioned parameters for *D. magna* were obtained 12 times, 33.3 individuals, 37.3 percent, 16.1 individuals and 1.8 /day at a concentration of 0.8 mg/L of MG, respectively. Based on the significant differences between the treatments containing MG and those without MG (0 mg/L MG, control treatment), it can be concluded that MG causes a decrease in reproductive performance, growth and molting in examined aquatic zooplankton.

Key words: Cladoceran, molting, reproduction, growth, malachite green (MG)