



تأثیر حشره‌کش پرمترین و علف‌کش پاراکوات بر شاخص‌های رشدی و تراکم جمعیت روتیفر آب شیرین (*Brachionus calyciflorus*)

محمد آزاد^۱، جواد میردار هریجانی^{۱*}، احمد قرایی^۲، نرجس سنجولی^۳

^۱گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل

^۲گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، دانشگاه زابل

^۳گروه شیلات، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، دانشگاه زابل

چکیده

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۶/۰۹/۱۷

اصلاح: ۹۷/۰۱/۲۲

پذیرش: ۹۷/۰۱/۳۱

کلمات کلیدی:

پاراکوات

پرمترین

روتیفر

سمیت

نرخ رشد

در این تحقیق سمیت حاد علف‌کش پاراکوات و حشره‌کش پرمترین و تأثیر آن‌ها بر رشد و تولیدمثل روتیفر آب شیرین *Brachionus calyciflorus*، بر اساس دستورالعمل O.E.C.D مطالعه شد. میزان سمیت حاد (LC₅₀ 24h) سموم پاراکوات و پرمترین روی روتیفر آب شیرین به ترتیب ۵۴۱/۰ و ۸/۹۹۷ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. سطح پاسخ روتیفر نسبت به چهار غلظت مختلف از سم پاراکوات (۲۷/۰، ۵۴/۰، ۱۰۰/۰ و ۲۷۰/۰ میلی‌گرم در لیتر) و پرمترین (۴۴۹/۰، ۱۸۹۹/۰، ۱۷۹۹/۱ و ۴۴۹۸/۴ میلی‌گرم در لیتر) با سه تکرار به ازای هر غلظت طی مدت ده روز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که جمعیت و نرخ رشد ویژه روتیفرها با افزایش غلظت سموم در محیط کشت به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کاهش می‌یابد. بیشترین تراکم جمعیت برای پرمترین و پاراکوات به ترتیب $(56/6 \pm 1/5)$ روتیفر در تیمار حاوی غلظت ۴۴۹/۰ میلی‌گرم در لیتر و $(33/3 \pm 2)$ در تیمار حاوی غلظت ۲۷/۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. همچنین نرخ رشد ویژه روتیفرها برای پرمترین از ۲۳/۰ در تیمار شاهد به صفر در تیمارهای حاوی غلظت‌های ۱۷۹۹/۱ و ۴۴۹۸/۴ میلی‌گرم در لیتر و برای پاراکوات از ۱۴/۰ در تیمار شاهد به صفر در تیمارهای حاوی غلظت‌های ۱/۰ و ۲۷/۰ میلی‌گرم در لیتر رسید. نتایج این تحقیق نشان داد که سموم پاراکوات و پرمترین برای روتیفر به ترتیب در ردیف سموم با سمیت زیاد و سمیت متوسط قرار دارند.

مقدمه

کشاورزی مدرن به استفاده از مواد شیمیایی مختلف از جمله حشره‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها، علف‌کش‌ها و سایر آفت‌کش‌ها وابسته است. افزایش روزافزون استفاده از این مواد و ورود آن‌ها به محیط، خطر آلودگی محیط‌زیست را افزایش داده است. پساب کشاورزی، فرایند آبشویی و نیز استفاده‌ی مستقیم از آفت‌کش‌ها برای کنترل حشرات و گیاهان آبی باعث ورود آفت‌کش‌ها به محیط‌های آبی شده و تأثیرات مضر گسترده‌ای بر ارگانیسم‌های این محیط می‌گذارند. این آفت‌کش‌ها در درجه اول باعث کاهش کیفیت محیط و تأثیر بر کارایی اکوسیستم از طریق کاهش تنوع گونه‌ها و ساختارهای اجتماعی، تغییر و اثرگذاری بر زنجیره‌های غذایی، ایجاد تغییرات در الگوی جریان انرژی و گردش مواد و نیز تغییر ثبات، مقاومت و انعطاف‌پذیری اکوسیستم

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: Javadmirdar@uoz.ac.ir

می‌شوند (Pérez et al., 2011). پرمترین یک حشره‌کش از خانواده شیمیایی پیروتروئید (Pyrethroid) است که در بخش کشاورزی، در قسمت تأسیسات مسکونی و در بهداشت عمومی استفاده می‌شود. پرمترین برای دریا، رودخانه، ماهیان آب شیرین و دیگر جانداران آبی بسیار سمی است و هنگامی که پرمترین وارد یک سیستم آبی می‌شود، بخشی از آن در ستون آب توسط نور خورشید تخریب می‌شود درحالی‌که اکثریت آن به رسوبات متصل می‌شود (Sharom and Solomon, 1981). نیمه‌عمر متوسط برای پرمترین در ستون آب در حدود ۲۷-۱۹ ساعت است، باین‌حال پرمترین با جذب در رسوبات می‌تواند بیش از یک سال باقی بماند، پرمترین به احتمال زیاد آب‌های زیرزمینی را به دلیل حلالیت کم آن در آب و جذب قوی به خاک، آلوده نمی‌کند (Imgrund, 2003). علف‌کش پاراکوات از خانواده بای پیریدینیوم (Bipyridinium) می‌باشد که در اواسط سال ۱۹۵۰ به‌صورت تجاری تولید شدند و دارای دو حلقه پیریدین می‌باشد. این سم یکی از پرکاربردترین سموم تماسی و غیرانتخابی دفع آفات نباتی است که برای کنترل گیاهان هرز خشکی و گیاهان آبی در جهان گزارش شده است (Ye et al., 2002; Filizadeh, 2002). روتیفرها با نرخ افزایش جمعیت بالای خود نقش مهمی در چرخه مواد در زیستگاه‌های آبی دارند. این به این معناست که اگر جمعیت روتیفرها تحت تأثیر مضر سموم قرار گیرد ممکن است کارایی اکوسیستم آب شیرین دگرگون شود (Dahms et al., 2011). روتیفرهای monogononta بکرزایی کننده‌هایی هستند که در آب‌های شیرین زندگی می‌کنند. این روتیفرها در محیط تنوع فصلی دارند و معمولاً خصوصیات شبه جزیره‌ای (لکه‌ای) دارند. روتیفر monogononta گونه‌ی *B. calyciflorus* به دلیل داشتن برخی ویژگی‌ها از جمله تولیدمثل سریع، قابلیت نگهداری در محیط آزمایشگاه، تبدیل نسل سریع و پراکنش جهانی، به‌عنوان گونه‌ای استاندارد در مطالعات اکوتوکسیکولوژی معرفی شده است (Zhang et al., 2013). در این راستا، سمیت حاد و میزان انباشت زیستی اندوسولفان (Fernandez-Casalderrey et al., 1992)، اثر دی‌ازینون بر مراحل زندگی و قابلیت هج شدن تخم‌های خفته (Marcial and Hagiwara, 2007) و سطوح پاسخ رشد جمعیت و تولیدمثل (Huang et al., 2013) روتیفر آب شیرین مورد مطالعه قرار گرفته است.

از آنجایی که کمتر از ۱٪ آفت‌کش‌های مورد استفاده به هدف می‌رسد و ۹۹٪ وارد محیط می‌شود (مخصوصاً که اکثر آفت‌کش‌ها مسیر خود را به سمت منابع آبی پیدا می‌کنند و به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم وارد زنجیره غذایی می‌شوند) ضرورت دارد که میزان مجاز استفاده از آن‌ها در محیط (آب‌و‌خاک) تعیین شود (Mahdavi et al., 2009). از طرف دیگر اثر پرمترین و پاراکوات بر چرخه زندگی روتیفر *B. calyciflorus* که جزو حلقه‌های ابتدایی زنجیره‌های غذایی اکوسیستم‌های آبی محسوب می‌شوند ناشناخته مانده است. لذا هدف از مطالعه حاضر تعیین غلظت کشنده (LC₅₀ 24h) سموم پرمترین و پاراکوات و بررسی اثر آن بر رشد و تراکم روتیفر *B. calyciflorus* می‌باشد.

مواد و روش‌ها

استوک خالص جلبک *Chlorella vulgaris* تحت شرایط استریل در محیط کشت زایندر (Z-8±N) (۱۷،۱۴) در دمای ۲۵±۱ درجه سانتی‌گراد، نور ۳۰۰±۳۵۰ لوکس و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی به‌صورت نیمه انبوه در آزمایشگاه کشت داده شد (Ahmadifard, 2006). سپس به‌منظور دستیابی به تعداد کافی از روتیفر آب شیرین *B. calyciflorus* مورد نیاز جهت کشت در آزمایشگاه، نمونه‌برداری از استخرهای پرورش ماهی مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرم آبی زهک انجام شد. جهت نمونه‌برداری از تور پلانکتونی ۵۰ تا ۱۰۰ میکرونی استفاده شد. نمونه‌های آب در ظروف شیشه‌ای ۱/۵ تا ۱ لیتری جمع‌آوری و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید. با توجه به این‌که نمونه‌های آب، حاوی گونه‌های متعددی از موجودات آبی مختلف از جمله دافنی، کپه‌پود، کلادوسر، روتیفر و غیره بود، لذا به‌منظور جداسازی گونه روتیفر مورد نظر، پس از هم زدن نمونه‌ها، ۱ تا ۲ میلی‌لیتر از نمونه آب در پتری دیش با استفاده از استریومیکروسکوپ مشاهده و مطابق با کلید شناسایی (Pontin, 1978)، گونه *B. calyciflorus* شناسایی و جداسازی گردید. پس از آماده‌سازی اتافک کشت روتیفر و استریل نمودن محیط آزمایشگاه با استفاده از اشعه فرابنفش (UV) و اتانول ۹۶°، به‌منظور دستیابی به تراکم مورد نیاز جهت انجام آزمایش‌های مربوطه، روتیفر جداسازی شده در آزمایشگاه در شرایط مطلوب کشت داده شد. درجه حرارت محیط آزمایشگاه در طول مدت آزمایش ۲۵±۱ C° (Ramirez-Perez and Sarma, 2008; Sarma et al., 2000) و pH = ۷/۵

ثابت نگه داشته شد. جهت کشت روتیفر از محیط کشت EPA (حل کردن ۹۶ میلی‌گرم NaHCO_3 ، ۶۰ میلی‌گرم CaSO_4 ، ۴ میلی‌گرم MgSO_4 و ۴ میلی‌گرم KCl در یک لیتر آب مقطر دو بار تقطیر) (Weber, 1991) استفاده گردید. از کشت خالص روتیفر به‌عنوان استوک جهت انجام آزمایش‌ها استفاده شد و برای تأمین تعداد مورد نیاز روتیفر در طول مدت آزمایش، کشت روتیفر به‌طور پیوسته ادامه پیدا کرد. سم پرمترین مورد استفاده در این پژوهش با امولسیون ۲۵ درصد از شرکت تولید فراورده‌های شیمیایی ایران و سم پاراکوات مورد استفاده نیز از شرکت اکسیر کشاورزی (SL20%) تهیه گردید. سپس آزمایش‌ها به‌صورت ساکن و بر اساس روش استاندارد (OECD, 1984) انجام شد. به‌منظور تعیین سمیت حاد این سموم روی روتیفر آب شیرین آزمایش با تیمار و تکرارهای مختلف انجام شد که بر اساس تصاعد حسابی و تکرار مجدد آزمایش‌ها، تیمارهای نهایی برای هر سم در ۷ غلظت (۰/۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) برای پاراکوات و (۰/۶، ۰/۸، ۰/۹، ۱، ۱۱ و ۱۲ میلی‌گرم در لیتر) برای پرمترین و یک گروه شاهد به دست آمد. سرانجام آزمایش نهایی بر طبق این تیمارها و با سه تکرار به انجام رسید. پس‌از آن با استفاده از روش آماری Probit Analysis میزان LC_{10} ، LC_{50} و LC_{90} برای حشره‌کش پرمترین (permethrin) و علف‌کش پاراکوات (Paraquat) تعیین گردید. در نهایت، میزان حداکثر غلظت مجاز (میزان LC_{50} 24h تقسیم بر ۱۰) و درجه سمیت بر اساس شاخص O.E.C.D (TRC, 1989) مشخص شد.

جهت ادامه آزمایش‌ها، روتیفرها با ۴ غلظت مختلف از آفت‌کش‌های پرمترین (۰/۴۴۹، ۰/۸۹۹، ۱/۷۹۹ و ۴/۴۹۸ میلی‌گرم در لیتر) و پاراکوات (۰/۲۷، ۰/۵۴، ۰/۱، ۰/۲۷ و ۰/۲۷ میلی‌گرم در لیتر) تیمار شدند. این محدوده غلظت بر اساس LC_{50} به‌دست‌آمده برای سموم مورد نظر، تعیین و بر اساس مقدار ماده مؤثره از این سموم ساخته شد و به لوله‌های آزمایش ۵۰ میلی‌لیتری مخصوص کشت روتیفر اضافه گردید. سپس جلبک و روتیفر با تراکم مشخص به این لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت روتیفر افزوده شد. به‌طوری‌که به هر کدام از لوله‌های آزمایش ۱۰۰ عدد روتیفر ماده نوزاد با سن تقریبی ۲ ساعت معرفی گردید. برای آفت‌کش‌های پرمترین و پاراکوات ۴ غلظت (تیمار)، به ازای هر تیمار ۳ تکرار و یک تیمار عاری از آفت‌کش‌های مورد نظر با سه تکرار به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد و در مجموع گروه‌های آزمایشی شامل ۱۰ تیمار و ۳۰ تکرار (نمونه) آماده شدند. به‌طور روزانه پس از بررسی نمونه‌ها و ثبت شاخص‌های مربوط به رشد و تولیدمثل، محیط کشت روتیفرها در همه نمونه‌ها تعویض می‌شد (Sarma, et al., 2001b). جهت تغذیه روتیفرها جلبک کلرالی آب شیرین (*Chlorella vulgaris*) با تراکم $10^6 \times 1/5$ سلول در هر میلی‌لیتر به هر کدام از لوله‌های آزمایش اضافه گردید. به‌منظور 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 و جهت تعیین تراکم جلبکی از لام نئوبار و میکروسکوپ معمولی دوچشمی و جهت شمارش روتیفرها از لام سجویک و استریومیکروسکوپ استفاده شد. به‌طور روزانه پارامترهای مربوط به رشد روتیفر (تراکم و نرخ رشد ویژه) در همه تیمارها بررسی و نتایج ثبت گردید. از هر کدام از لوله‌های آزمایش پس از همگن‌سازی، ۳ نمونه یک میلی‌لیتری در زیر استریومیکروسکوپ بررسی شد. به‌منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف آفت‌کش‌های پرمترین و پاراکوات بر رشد روتیفرها، نرخ رشد جمعیت روتیفرها در هر روز برای هر یک از تیمارها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Kerbs, 1985):

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

در این فرمول، r نرخ رشد جمعیت روتیفرها بر حسب روز، N_t و N_0 به ترتیب تراکم اولیه و نهایی روتیفرها در هر تیمار و t تعداد روزهای آزمایش می‌باشد و 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 نرم‌افزار SPSS استفاده شد. همچنین جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

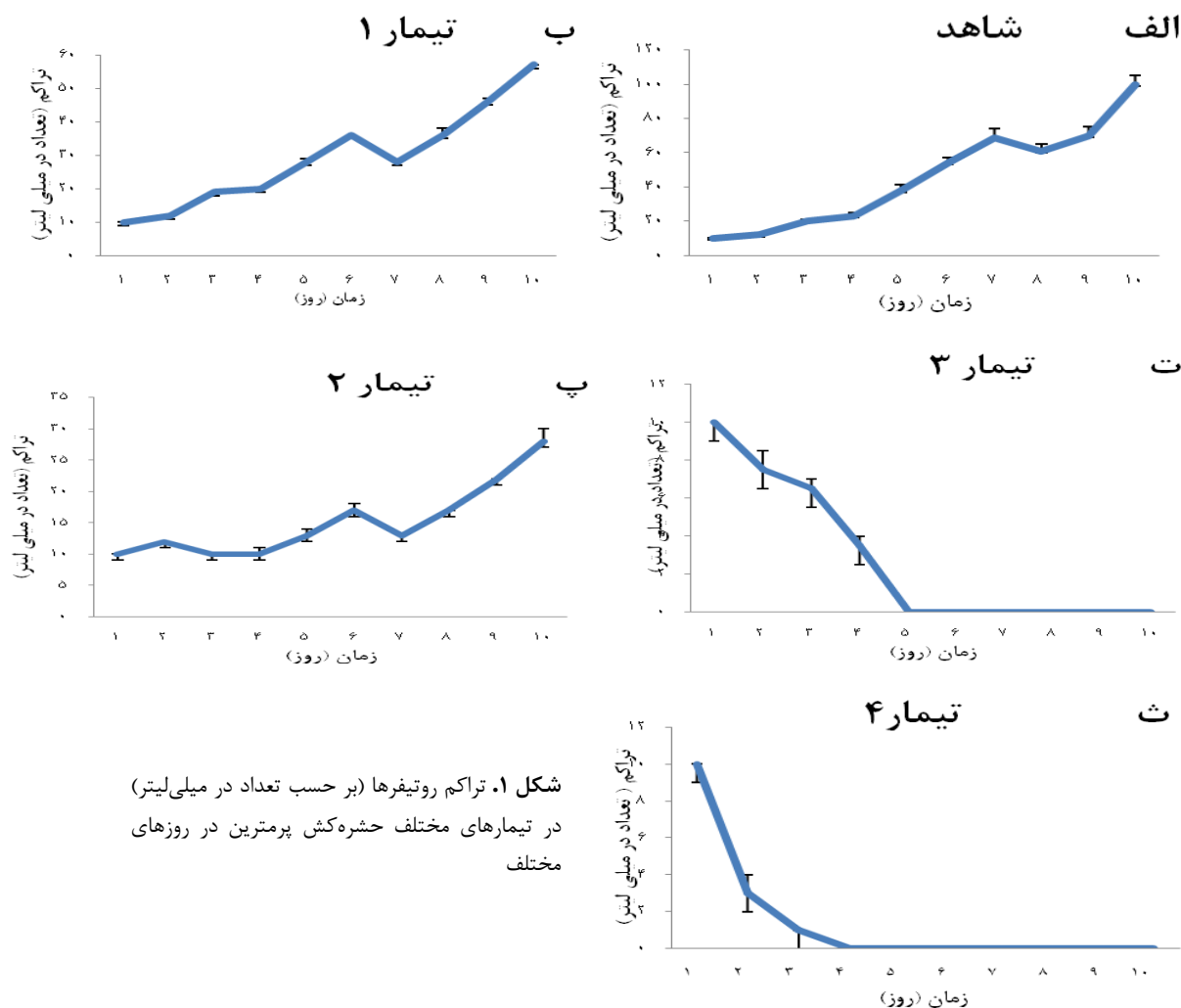
نتایج

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که (LC₅₀ 24h) سموم پرمترین (Permethrin) و پاراکوات (Paraquat) به ترتیب، ۸/۹ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد و در نتیجه حداکثر غلظت مجاز (Mac value) این سموم به ترتیب برابر ۵/۸۹، ۰/۰ میلی‌گرم در لیتر برای پرمترین و پاراکوات محاسبه شد (جدول ۱).

جدول ۱. غلظت‌های کشنده سموم پرمترین و پاراکوات طی ۲۴ ساعت در روتیفر آب شیرین

آفت‌کش	غلظت کشنده (mg l ⁻¹)	محدوده اطمینان ۹۵٪
پاراکوات	LC ₁₀	۰/۱۵
	LC ₅₀	۰/۵۳
	LC ₉₀	۱/۸۳
پرمترین	LC ₁₀	۶/۶۲
	LC ₅₀	۸/۹۵
	LC ₉₀	۱۲/۰۹

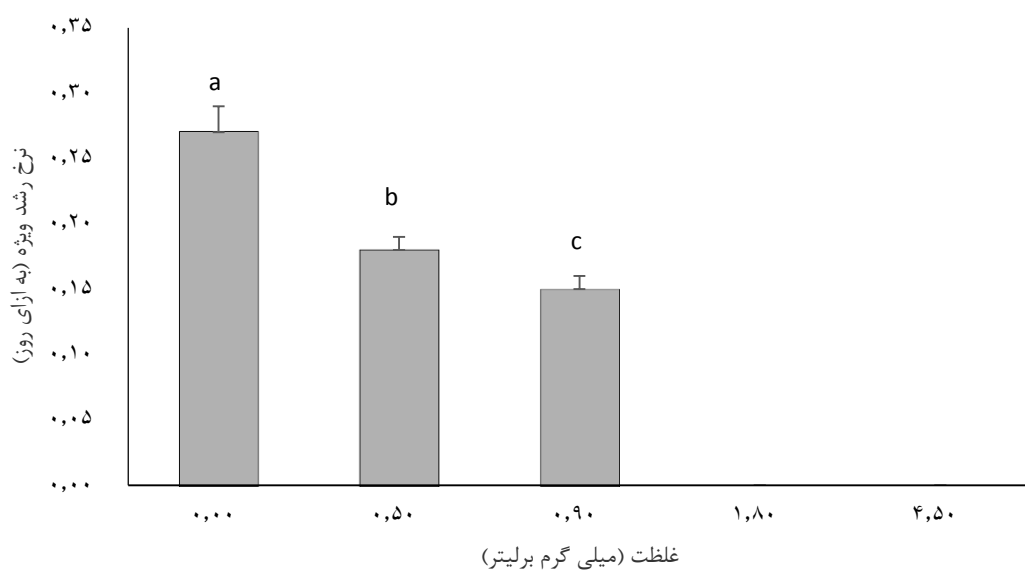
میانگین تراکم روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت‌های مختلف پرمترین و پاراکوات نشان داد که با افزایش غلظت این سموم تراکم روتیفرها به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کاهش می‌یابد. به‌طوری‌که در همه روزهای آزمایش (از روز دوم تا دهم) بین تیمار شاهد و تیمارهای حاوی غلظت‌های مختلف این سموم اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) مشاهده شد. برای حشره‌کش پرمترین بیشترین تراکم (4 ± 10) در روز دهم در تیمار شاهد مشاهده شد و کمترین تراکم (0 ± 0) مربوط به تیمار حاوی غلظت (۴/۴۹۸ میلی‌گرم بر لیتر) در روز چهارم ثبت شد و برای علف‌کش پاراکوات بیشترین تراکم (2 ± 4) مربوط به تیمار شاهد و کمترین تراکم (0 ± 0) برای تیمار حاوی غلظت (۲۷/۰ میلی‌گرم بر لیتر) در روز سوم به دست آمد. شکل‌های ۱-الف تا ۱-ث روند تغییر تراکم روتیفرها را در غلظت‌های مورد آزمایش آفت‌کش پرمترین از روز اول تا دهم نشان می‌دهد. در تیمار شاهد تراکم روتیفرها از روز اول تا روز هفتم افزایش یافت و به تراکم (4.8 ± 6.8) رسید و از روز هفتم تا روز هشتم تراکم کاهش یافت. این روند از روز هشتم تا روز دهم افزایشی بوده که در روز دهم به حداکثر میزان خود (4 ± 10) عدد در میلی‌لیتر) رسید (شکل ۱-الف). در روند تراکم روتیفرها در تیمار یک (غلظت ۴۴۹/۰ میلی‌گرم در لیتر) تراکم از روز یک تا روز ششم با شیب ملایمی افزایش یافت و به تراکم ۳۵ عدد در میلی‌لیتر رسید و از روز ششم تا هفتم کاهش یافت و به تراکم ۲۶ عدد در میلی‌لیتر رسید و از روز هفتم تا روز دهم افزایش یافت و به حداکثر تراکم خود (۵۶ عدد در میلی‌لیتر) رسید (شکل ۱-ب). در تیمار دو (غلظت ۸۹۹/۰ میلی‌گرم در لیتر) میانگین تراکم از روز اول تا روز دوم افزایش اندکی یافت و از روز دوم تا روز چهارم با شیب ملایمی کاهش یافت و به تراکم (1 ± 9.6) عدد در میلی‌لیتر رسید و از روز چهارم تا روز ششم افزایش یافت و به میانگین تراکم (1 ± 17) عدد در میلی‌لیتر رسید از روز ششم تا روز هفتم کاهش یافت و سپس تا روز دهم افزایش یافت و به میانگین تراکم (2 ± 28.6) عدد در میلی‌لیتر رسید (شکل ۱-پ). در تیمار سوم (غلظت ۷۹۹/۱ میلی‌گرم در لیتر) تراکم از روز یک تا روز پنجم با شیب تندی کاهش یافت و در روز پنجم به صفر رسید (شکل ۱-ت) و در تیمار چهارم (غلظت ۴۴۹۸/۴ میلی‌گرم در لیتر) تراکم از روز یک تا روز دوم کاهش یافت و به میانگین تراکم (5 ± 3) عدد در میلی‌لیتر رسید و سپس این روند تا روز چهارم با شیب ملایم‌تری ادامه یافت و در روز چهارم به صفر رسید (شکل ۱-ث). شکل‌های ۲-الف تا ۲-ث روند تغییرات تراکم روتیفرها را برای علف‌کش پاراکوات از روز اول تا روز دهم نشان می‌دهد. در تیمار شاهد تراکم روتیفرها از روز اول تا روز پنجم افزایش یافت و به میانگین تراکم (1.5 ± 34.5) عدد در میلی‌لیتر رسید و از روز پنجم تا روز هفتم کاهش یافت و به میانگین تراکم (0.5 ± 25.3) عدد در میلی‌لیتر رسید.



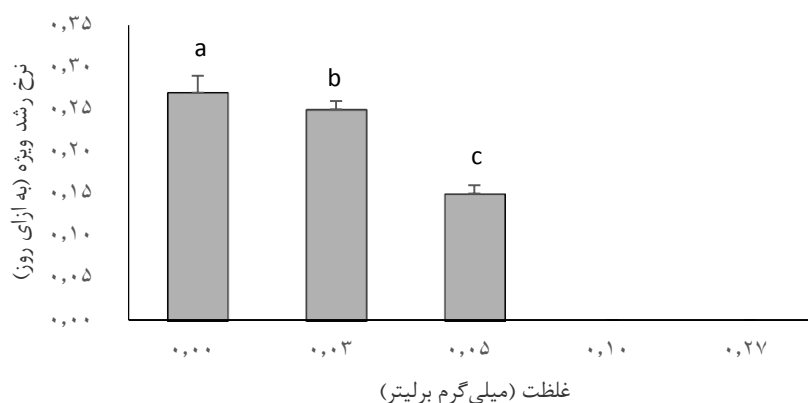
شکل ۱. تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در تیمارهای مختلف حشره کش پرمترین در روزهای مختلف

از روز هفتم تا روز دهم تراکم افزایش یافت و در روز دهم به میانگین تراکم $46/6 \pm 2$ عدد در میلی لیتر) رسید (شکل ۲-الف). در تیمار یک (غلظت $27/0$ میلی گرم در لیتر) تراکم از روز یک تا روز چهارم افزایش یافت و از روز چهارم تا روز پنجم میانگین تراکم در مقدار $(20/3 \pm 1/5)$ ثابت ماند. از روز پنجم تا روز هفتم تراکم کاهش یافت و به میانگین تراکم $(16/6 \pm 1/5)$ رسید و از روز هفتم تا روز نهم تراکم افزایش یافت و به 33 عدد در میلی لیتر رسید و بعد از آن تا روز دهم کاهش یافت و به میانگین تراکم $(22/3 \pm 2)$ رسید (شکل ۲-ب). در تیمار دو (غلظت $54/0$ میلی گرم در لیتر) تراکم از روز اول تا روز دوم با شیب ملایمی افزایش یافت و از روز دوم تا روز ششم با شیب تندتری افزایش یافت و به میانگین تراکم $26/6 \pm 2$ عدد در میلی لیتر) رسید. از روز ششم تا روز هفتم تراکم کاهش یافت و به 18 عدد در میلی لیتر رسید از روز هفتم تا روز هشتم تراکم افزایش یافت و بعد از روز هشتم تا روز دهم تراکم کاهش یافت و به میانگین تراکم $16/3 \pm 1$ عدد در میلی لیتر) رسید (شکل ۲-پ). روند تغییر تراکم برای تیمار سه (غلظت $1/0$ میلی گرم در لیتر) از روز اول تا روز پنجم به صورت کاهشی بود و در روز پنجم تراکم به صفر رسید (شکل ۲-ت). در تیمار چهار (غلظت $27/0$ میلی گرم در لیتر) تراکم از روز اول تا روز سوم با شیب نسبتاً زیادی کاهش یافت و در روز سوم به تراکم صفر رسید (شکل ۲-ث). همچنین نتایج مشخص نمود که با افزایش غلظت آفت کش های پرمترین و پاراکوات، نرخ رشد ویژه جمعیت روتیفرها کاهش می یابد. به طوری که برای حشره کش پرمترین از $23/0$ در تیمار شاهد به $17/0$ و $1/0$ به ترتیب در غلظت های $449/0$ و $899/0$ میلی گرم در لیتر و صفر در غلظت های $1/799$ و $498/4$ میلی گرم در لیتر رسید (شکل ۳).

برای علف کش پاراکوات نرخ رشد ویژه جمعیت از $14/0$ برای تیمار شاهد و $8/0$ ، $4/0$ به ترتیب برای غلظت های $27/0$ و $54/0$ میلی گرم در لیتر و صفر در غلظت های $1/0$ و $27/0$ میلی گرم در لیتر رسید (شکل ۴).



شکل ۳. نرخ رشد ویژه جمعیت روتیفرها (به ازای روز) در غلظت‌های مختلف حشره‌کش پرمترین. حروف مشابه روی نمودار نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$).



شکل ۴. نرخ رشد ویژه جمعیت روتیفرها (به ازای روز) در غلظت‌های مختلف علف‌کش پاراکوات. حروف مشابه روی شکل نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$).

بحث

تعیین مقدار عددی غلظتی از سم یا ماده شیمیایی که به‌طور میانگین سبب مرگ‌ومیر ۵۰ درصد از جانوران تحت آزمایش (LC_{50}) می‌شود. یکی از مهم‌ترین مبانی تعیین سمیت حاد، تحت‌کشنده و مزمن یک سم یا ترکیب شیمیایی است. پارامترهای متعددی از قبیل شرایط فیزیکی شیمیایی و زیستی محیط آزمایش و نیمه‌عمر سم در محیط در تعیین LC_{50} سم مؤثر هستند. برای مثال تجزیه کامل پاراکوات در محیط عاری از رسوب و گیاهان آبری حدود ۳۵ هفته، در محیط دارای رسوب ۶-۸ هفته و در محیط دارای رسوب و گیاهان آبری ۳-۴ هفته طول می‌کشد (Eisler, 1990). بر اساس نتایج این تحقیق مقدار LC_{50} سم پاراکوات و پرمترین به ترتیب ۰/۵، ۸/۹ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد. در تحقیقات دیگر میزان LC_{50} پاراکوات برای دافنی پولکس ۰/۲۴ میلی‌گرم در لیتر و برای دافنی مگنا ۳/۷ میلی‌گرم در لیتر به دست آمده است (Walker, 1971). این مطلب نشان می‌دهد که مقاومت روتیفر آب شیرین *B. calyciflorus* به پاراکوات نسبت به دافنی پولکس بیشتر و به دافنی مگنا کمتر است. در تحقیقات دیگر سمیت حاد سم پرمترین (permethrin) برای قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*) ۰/۶۲ میکروگرم بر لیتر اندازه‌گیری شده است (Kumaraguru and Beamish, 1981). همچنین میزان سمیت حاد (LC_{50} 96h) پرمترین برای قزل‌آلای قاتل (*Oncorhynchus clarkii hensawi*) و قزل‌آلای آپاچی (*Oncorhynchus gilae apache*) به ترتیب ۱/۶ و ۱/۷ میکروگرم بر لیتر به دست آمده است (Holdway and Dixon, 1988; Sappington et al., 2001). همچنین سمیت حاد (LC_{50} 48h) پرمترین برای دافنی مگنا نوجوان و بالغ به ترتیب ۰/۲ و ۰/۶ میکروگرم بر لیتر گزارش شده است (Stratton and Cork., 1981). نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر نشان‌دهنده مقاومت بالای روتیفر *B. calyciflorus* نسبت به سایر آبریان به حشره‌کش پرمترین است. حساسیت گونه‌های مختلف آبریان به سموم و مواد شیمیایی مختلف و احتمالاً شرایط محیطی، مهم‌ترین عوامل وجود چنین اختلافات قابل‌ملاحظه‌ای در مقدار LC_{50} این سموم می‌باشد. نحوه تعیین سمیت علف‌کش‌ها و حشره‌کش‌های مختلف در جدول ۲ آمده است. با توجه به سمیت حشره‌کش‌ها و علف‌کش‌های مختلف، غلظت سمیت سموم پرمترین و پاراکوات برای روتیفر *B. calyciflorus* به ترتیب در ردیف سمیت متوسط و سمیت زیاد قرار می‌گیرد.

جدول ۲. تعیین سمیت علف‌کش‌ها و حشره‌کش‌های مختلف (Piri et al., 1997)

درجه سمیت	LC ₅₀
>۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر	تقریباً غیر سمی
۱۰-۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر	سمیت کم
۱-۱۰ میلی‌گرم در لیتر	سمیت متوسط
۰/۱-۱ میلی‌گرم در لیتر	سمیت زیاد
۰/۱ میلی‌گرم در لیتر	سمیت خیلی زیاد

مطالعات مربوط به رشد جمعیت از مهم‌ترین جنبه‌هایی هستند که برای ارزیابی آفت‌کش‌ها، سموم و مواد شیمیایی سنتتیک در زئوپلانکتون‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (Arulvasu et al., 2010). روتیفرها نسبت به غلظت‌های تحت کشنده مواد آلاینده پاسخ‌های مختلفی از جمله تغییر در سرعت شنا، تغذیه و تنفس از خود نشان می‌دهند (Ramirez-Perez et al., 2004). در میان روتیفرهای جنس *Brachionus*، گونه‌های *B. calyciflorus*، *B. rubens* و *B. patulus* به‌طور وسیعی برای بررسی سمیت محیطی مطرح هستند (Juarez-Franco et al., 2007). غلظت‌های انتخابی برای سموم پرمترین و پاراکوات در آزمایش حاضر بر اساس غلظت نیمه کشنده (LC₅₀) به دست آمده در همین تحقیق انتخاب و با تصاعد حسابی سه غلظت به ترتیب ۵، ۱۰ و ۲۰ برابر کوچک‌تر از مقدار غلظت نیمه کشنده انتخاب شد. در بررسی‌های سمیت مزمن مواد سمی در زئوپلانکتون‌ها، نرخ رشد جمعیت یکی از متغیرهای بسیار حساس نسبت به سطوح مختلف مواد سمی می‌باشد (Forbes and Calow, 1999). در مواقعی که استرس ناشی از مواد سمی بسیار شدید باشد، حتی اگر تراکم روتیفرها در ابتدا کمی افزایش پیدا کند، ولی روی هم‌رفته نرخ رشد ویژه می‌تواند منفی باشد (Roex et al., 2000). چنین حالتی در برخی از جنس‌های روتیفرها از قبیل: *Asplanchna* (Sarma et al., 1998)، *Brachionus* (Luna-Andrade et al., 2002) و *Euchlanis dilatata* (Sarma et al., 2001a) گزارش شده است. در آزمایش حاضر با افزایش غلظت آفت‌کش‌های پرمترین و پاراکوات نرخ رشد ویژه روتیفر کاهش پیدا کرد. نتایج به دست آمده با یافته‌های Rios-Arana و همکاران (2007) بر روتیفر *Plationus patulus* و نتایج تحقیقات Li-Xia و همکاران (2009) روی روتیفر *B. calyciflorus* Pallas مطابقت دارد. همچنین گزارش شده که افزایش غلظت مواد سمی (آفت‌کش‌ها و غیره) تأثیر منفی شدیدی بر رشد جمعیت روتیفر *B. rubens* داشته است (Sarma et al., 2001a). بر اساس نتایج به دست آمده در این آزمایش، در رابطه با اثر پرمترین و پاراکوات بر تراکم و نرخ رشد روتیفر *B. calyciflorus*، با افزایش غلظت این آفت‌کش‌ها در پایین‌ترین غلظت (۰/۴۴۹ میلی‌گرم در لیتر برای پرمترین) و (۰/۲۷ میلی‌گرم در لیتر برای پاراکوات) تراکم و نرخ رشد روتیفرها کاهش یافت که با نتایج به دست آمده از بررسی اثر DDT و Dicofol بر *B. calyciflorus* در مطالعات Long xi و همکاران (2007) مطابقت دارد. تأثیرات سمی پاراکوات روی جلبک‌های میکروسکوپی که اولین حلقه از زنجیره غذایی در آب به شمار می‌روند نیز وجود دارد. توقف رشد جلبک سبز آبی *Gleocapsa* پس از تیمار با غلظت ۵ ppm پاراکوات مشاهده شده است (Hammouda, 1994). به نظر می‌رسد پاراکوات در آزمایش حاضر نیز بر بازماندگی جلبک *Chlorella vulgaris* تأثیر منفی داشته و به همین سبب روی نرخ رشد روتیفر نیز تأثیرگذار بوده است. نوسانات نمودارهای مربوط به تراکم روتیفرها در اشکال ۱ و ۲ مربوط به چرخه زندگی روتیفرها می‌باشد. به‌عنوان مثال کاهش تراکم روتیفرها در شکل ۱ در روزهای ششم و هفتم به دلیل پایان یک چرخه زندگی موجود و افزایش مجدد تراکم روتیفرها به دلیل شروع چرخه جدید می‌باشد که چنین روندی در نتایج به دست آمده از بررسی اثر جیوه بر ساختار جمعیت روتیفر *Brachionus calyciflorus* Pallas (Ramirez-Perez et al., 2004) نیز نشان داده شده است.

نتایج این تحقیق نشان‌دهنده حساسیت بالای روتیفر آب شیرین به علف‌کش پاراکوات است. همچنین مقاومت این روتیفر به پرمترین و تفاوت قابل توجه آن با سایر مطالعات انجام شده در این مورد می‌تواند نشان‌دهنده تأثیرپذیری این موجود از محیط باشد. همچنین با تعیین آستانه تحمل این گونه روتیفر در برابر سموم پرمترین و پاراکوات، می‌توان از آن به‌عنوان شاخص زیستی مناسبی در منابع آبی منطقه سیستان و سایر اکوسیستم‌های آبی استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

منابع مالی این تحقیق از محل پژوهانه شماره UOZ-GR-9517-59 معاونت پژوهشی دانشگاه زابل تأمین گردیده است که بدین‌وسیله تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- Ahmadifard, N. 2006. Effect of types and different concentrations of algae on the production and fatty acids composition of *Brachionus calyciflorus*, M.Sc. thesis, Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modarres University. 72 p. (in Persian)
- Arulvasu, C., Padmini, K., Tangaraju, N., Dinesh, D., Selamuthu, S. 2010. Evaluation of Cadmium toxicity on the Population growth of *Brachionus plicatilis* (O. F. Muler). Indian Journal of science and technology. 3(1): 90-93.
- Dahms, H.U., Hagiwara, A., Lee, J.S. 2011. Ecotoxicology, ecophysiology, and mechanistic studies with rotifers. Aquatic Toxicology. 101: 1-12.
- Eisler, R. 1990. Paraquat Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synoptic Review. Biological Report 85 (1.22), August 1990. U.S. Fish and Wildlife Service, Patuxent Wildlife Research Center Laurel, Maryland 20708. 1-38 p.
- Fernandez-Casalderry, A., Ferrando, M.D., Andreu-Moliner, E. 1992. Filtration and ingestion rates of *Brachionus calyciflorus* after exposure to endosulfan and diazinon. Comparative Biochemistry and Physiology. 103: 357-361.
- Filizadeh, Y. 2002. An Ecological Investigation into the Excessive Growth of Azolla in the Anzali Lagoon and its Control. Iranian Journal of Natural Research. 55(1): 65-82.
- Forbes, V.E., Calow, P. 1999. Is the per capita rate of increase a good measure of population level effects in ecotoxicology. Environmental Toxicology and Chemistry. 18: 1544-1556.
- Hammouda, O.H.E. 1994. Superoxide dismutase level in response to paraquat and high temperature in the cyanobacterium *Gloeocapsa* sp. Biologia Plantarum. 36: 229-236.
- Holdway, D.A., Dixon, D.G. 1988. Acute toxicity of permethrin or glyphosate pulse exposure to larval white sucker (*Catostomus commersoni*) and juvenile flagfish (*Jordanella floridae*) as modified by age and ration level. Environmental Toxicology and Chemistry. 7: 63- 68.
- Huang, L., Xi, Y.L., Zha, C.W. Zhao, L.L. 2013. Effect of aldrin on life history characteristics of rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 79: 524-528.
- Imgrund, H. 2003. Environmental fate of permethrin; California Department of Pesticide Regulation, Environmental Monitoring Branch: Sacramento. pp. 7-9.
- Juarez-Franco, F.M., Sarma, S.S.S., Nandini, S. 2007. Effect of cadmium and zinc on the population growth of *Brachionus havanaensis* (Rotifera: Brachionidae). Environmental Science and Health. 42: 1489-1493.
- Kerbs, C.J. 1985. Ecology. The Experimental Analysis of Distribution and Abundance. 3rd edn. Harper and Row. New York. 398 p.
- Kumaraguru, A.K., Beamish, F.W.H. 1981. Lethal toxicity of permethrin (NRDC-143) to rainbow trout, *Salmo gairdneri*, in relation to body weight and water temperature. Water Research. 15: 503-505.

- Li-Xia, K., Yi-Long, X., Chun-Wang, Z., Li-Li, D. 2009. Effects of three organophosphorus pesticides on population growth and sexual reproduction of rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Acta Ecologica Sinica*. 29: 182-185.
- Long xi, Y., Zhao xi, C., Xiao-ping, X. 2007. Effect of four organochlorine pesticides on the reproduction of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* pallas. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 26: 1695-1699.
- Luna-Andrade, A., Aguilar-Duran, R., Nandini, S., 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.
- Mahdavi, V., Ramezani, M.K., Ganjezadeh Kermani, F. 2009. An analysis of pesticide residue research in Iran. National seminar on half a century of pesticide use in Iran. Tehran, February. 580 p. (in Persian)
- Marcial, S.H., Hagiwara, A. 2007. Effect of diazinon on life stages and resting egg hatchability of rotifer *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia*. 593: 219-225.
- OECD. 1984. Algal growth inhibition test. OECD Guidelines for Testing Chemicals, No. 201, Organization for Economic Cooperation and Development, Geneva, Switzerland.
- Pérez, G.L., Solange Vera, M., Andrés Miranda, L. 2011. Effects of herbicide glyphosate and glyphosate-based formulations on aquatic ecosystems. In: Kortekamp, A. (ed.). *Herbicides and environment*. InTech, Argentina. pp. 343-368.
- Piri, M., Nezami, SH., Amini Ranjbar, GH. Ardeg, R. 1997. Ecotoxicology studies with *Daphnia magna* and determination of the effect of Saturn, Machete, Malathion, Diazinon on the organism. *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 23(3): 23-34. (in Persian)
- Pontin, R.M. 1978. A key to British freshwater planktonic rotifera. *Scientific purification freshwater biological association*. 527 p.
- Ramirez-Perez, T., 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). *Environmental Biology*. 29: 139-142.
- Ramirez-Perez, T., Sarma, S.S.S., Nandini, S. 2004. Effects of Mercury on the life table demography of the Rotifer *Brachionus calyciflorus* pallas (Rotifera). *Ecotoxicology*. 13: 535-544.
- Rios-Arana, J.V., Walsh, E.J., Ortiz, M. 2007. Interaction effects of multi-metal solutions (As, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn) on life history traits in the rotifer *Platyonus patulus*. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 42: 1473-1481.
- Roex, E.W.M., Van Gestel, C.A.M., VanWezel, A.P., Van Straalen, N. 2000. Ratios between acute aquatic toxicity and effects on population growth rates in relation to toxicant mode of action. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 19: 685-693.
- Sarma, S.S.S., Nandini, S., Fernández-Araiza, M.A. 1998. Effect of methyl parathion-treated prey (*Brachionus calyciflorus*) on the population growth of the predator *Asplanchna sieboldi* (Rotifera). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 61: 135-142.
- Sarma, S.S.S., Ramirez- Perez, T., Nandini, S. 2000. Comparision of the Sensitivity of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera) to Selective Heavy Metals Under low and high food (*Chlorella vulgaris*) levels. *Environmental Contamination and Toxicology*. 64: 735-739.
- Sarma, S.S.S., Nandini, S., Gama-Flores, J.L., Fernandez-Araiza, M.A. 2001a. Population growth of *Euchlanis dilatata* (Rotifera): Combined effects of methyl parathion and food (*Chlorella vulgaris*). *Journal of Environmental Science and Health, Part B-Pesticides Food*. 36(1): 43-54.
- Sarma, S.S.S., Nandini, S., Ramirez-Perez, T. 2001b. Combined Effects of Mercury and Algal food density on the Population dynamics of *Brachionus patulus* (Rotifera). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 67: 841-847.
- Sappington, L.C., Mayer, F.L., Dwyer, F.J., Buckler, D.R., Jones, J.R., Ellersieck, M.R. 2001. Contaminant sensitivity of threatened and endangered fishes compared to standard surrogate species. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20: 2869-2876.

- Sharom, M.S., Solomon, K.R. 1981 Adsorption-desorption, degradation, and distribution of permethrin in aqueous systems. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 29: 1122-1125.
- Stratton, G.W., Corke, C.T. 1981. Interaction of permethrin with *Daphnia magna* in the presence and absence of particulate material. *Environmental Pollution Series A*. 24(2): 135-144.
- TRC. 1989. OECD guideline for testing of chemicals. Section 2. Effects on Biotic Systems. 139 p.
- Walker, C.R. 1971. The toxicological effects of herbicides and weed control on fish and other organisms in the aquatic ecosystem. *Proceeding European Weed Research Council*, 3rd International Symposium Aquaculture Weeds. pp. 119-127.
- Weber, C.I. 1991. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. Cincinnati, Ohio: Environmental Monitoring Systems Laboratory, Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency. 197 p.
- Ye, C., Wang, X., Zheng, H. 2002. Biodegradation of acetanilide herbicides acetachlor and butachlor in soil. *Journal of Environmental Science*. 14(4): 524-529.
- Zhang, L., Niu, F., Li, Y., Wang, Y., Sun, D. 2013. Evaluating the sub-lethal toxicity of PFOS and PFOA using rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Environmental Pollution*. 180: 34-40.