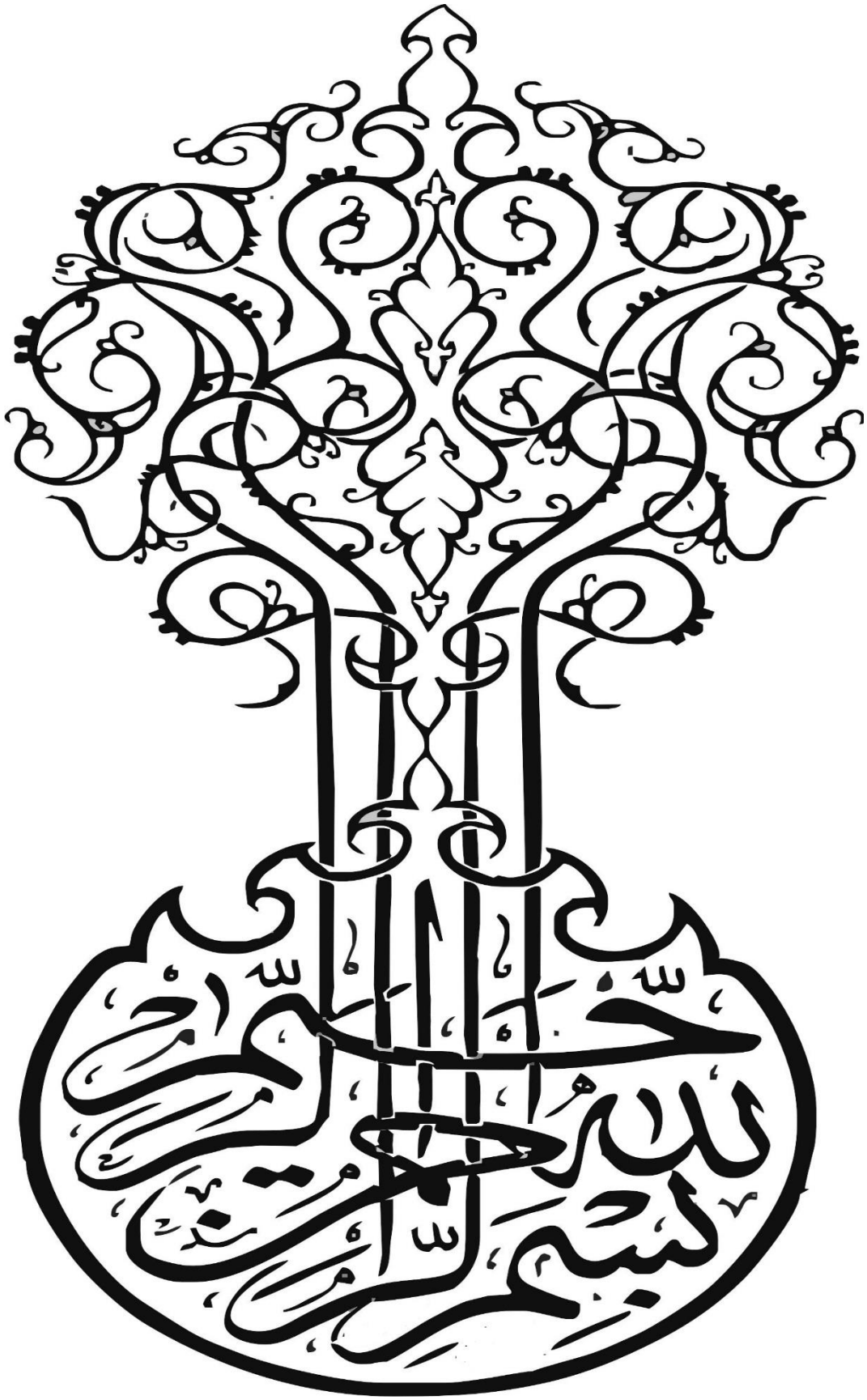

بسم الله الرحمن الرحيم

مدیریت تحصیلات تکمیلی

دانشکده منابع طبیعی

گروه شیلات

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته مهندسی شیلات

تعیین غلظت کشنده (LC_{50} 24h) سموم علف کش پاراکوات و حشره کش پرمترین و بررسی تاثیر آن ها بر تولید مثل و رشد جمعیت روتیفر آب شیرین (*Brachionus calyciflorus*)

اساتید راهنما:

دکتر جواد میردار هریجانی

دکتر احمد قرایی

استاد مشاور:

مهندس نرجس سنچولی

تهیه و تدوین:

محمد آزاد

پاییز ۹۳

تقدیم به:

پدر بزرگوار و مادر مهربانم

آنان که به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگان

به پاس عاطفه سرشار و گرمای امیدبخش وجودشان که در این سردترین روزگاران بهترین پشتیبان است

به پاس قلب های بزرگشان که فریاد رس است و سرگردانی و ترس در پناهشان به شجاعت می گراید

و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند

با تقدیر و تشکر شایسته از اساتید فرهیخته و فرزانه ام جناب آقایان دکترجواد میردار هریجانی و دکتر احمد قرایی که با نکته های دلاویز و گفته های بلند ، صحیفه های سخن را علم پرور نمودند و همواره راهنما و راه گشای نگارنده در اتمام واکمال پایان نامه بوده اند.

با امتنان بیکران از مساعدت های بی شائبه ی سرکار خانم مهندس نرجس سنچولی به عنوان استاد مشاور

با سپاس بی دریغ خدمت دوستان گران مایه ام که مرا صمیمانه و مشفقانه یاری داده اند.

با تشکر از دکتر Mario Alfredo Fernandez-Araiza استاد دانشگاه ملی مستقل مکزیک به جهت متذکر شدن نکات ارزشمند و راهنمایی‌های راه‌گشای ایشان در انجام این پروژه

و با تشکر خالصانه خدمت همه کسانی که به نوعی مرا در به انجام رساندن این مهم یاری نموده اند

فهرست مطالب

۱- فصل اول ۱

۱-۱- مقدمه ۱

۱-۱-۱ - اهداف ۵

۱-۱-۲ - ضرورت انجام تحقیق ۵

۱-۲- کلیات ۶

۱-۲-۱ - استفاده از روتیفرها در اکوتوکسیکولوژی ۶

۱-۲-۲ - سیستماتیک روتیفر ها ۶

۱-۲-۳ - زیست شناسی و ریخت شناسی روتیفر ها ۸

۱-۲-۴ - تولید مثل روتیفر ۱۱

۱-۲-۵- شناسایی و بیولوژی گونه (*Brachionus calyciflorus*) ۱۶

۱-۲-۶ - اثرات آفت‌کش‌ها بر زئوپلانکتون‌های آب شیرین ۱۶

۱-۲-۷ - آفت کش های گروه بای پیریدیلیوم ۱۷

۱-۲-۸ - پاراکوات با نام تجاری گراماکسون ۱۸

۱-۲-۹ - پیریتروئیدهای مصنوعی ۱۹

۱-۲-۱۰ - پرمترین با نام تجاری Ambush ۲۰

۲ - فصل دوم ۲۲

۲-۱-۱ - مطالعات انجام شده در خارج از کشور ۲۲

۲-۱-۲ - مطالعات انجام شده در داخل کشور ۲۹

۳- فصل سوم ۳۱

۳-۱-۱ - مواد ۳۲

۳-۱-۲ - مواد مصرفی ۳۲

۳-۱-۳ - وسایل غیر مصرفی ۳۲

۳-۲- روش‌ها ۳۲

۳-۲-۱ - روش کشت جلبک ۳۲

۳-۲-۲ - تعیین توده زنده و شمارش جلبک ۳۷
۳-۲-۳ - شرایط کشت روتیفر ۳۹
۳-۲-۴ - محل انجام آزمایش و نمونه برداری ۳۹
۳-۲-۵ - جداسازی و کشت روتیفر..... ۳۹
۳-۲-۶ - آزمایش تعیین غلظت کشنده(LC_{50}) ۴۱
۳-۲-۷ - تخمین میزان رشد..... ۴۳
۳-۲-۸ - آنالیز آماری ۴۴
۴- فصل‌چهارم ۴۵
۴-۱- نتایج ۴۶
۴-۱-۱ - نتایج آزمایشات تعیین غلظت کشنده ۴۶
۴-۱-۲ - اثر آفت‌کش پاراکوات بر رشد روتیفر *B.calyciflorus* ۴۶
۴-۱-۳ - اثر آفت کش پاراکوات بر تولیدمثل روتیفر آب شیرین *B.calyciflorus* ۵۰
۴-۱-۴ - اثر آفت‌کش پرمترین بر رشد روتیفر *B.calyciflorus* ۶۰
۴-۱-۵- اثر آفت کش پرمترین بر تولیدمثل روتیفر *B.calyciflorus* ۶۳
۴-۲- بحث ۷۲
۴-۲-۱ - تجزیه و تحلیل نتایج مربوط به اثر پاراکوات و پرمترین بر رشد روتیفر *B.calyciflorus*..... ۷۳
۴-۲-۲- تجزیه و تحلیل نتایج مربوط به اثر پاراکوات و پرمترین بر تولیدمثل روتیفر *B.calyciflorus*..... ۷۷
۴-۳- نتیجه‌گیری کلی..... ۸۰
۴-۴- پیشنهادات ۸۱
۵ - فهرست منابع..... ۸۲

فهرست اشکال

شکل ۱-۱ طبقه بندی روتیفر ها..... ۸
شکل ۱-۲ شکل شماتیکی از اندام های داخلی و خارجی روتیفر ها (Hyman, 1951) ۱۰

شکل ۱-۳ چرخه زندگی جنسی وغیر جنسی روتیفرها..... ۱۴
شکل ۱-۴ روتیفر آمیکتیک *Brachionus calyciflorus* (حامل یک تخم آمیکتیک) ۱۴
شکل ۱-۵ روتیفر میکتیک *Brachionus calyciflorus* (حامل یک عدد تخم میکتیک) ۱۵
شکل ۱-۶ ساختار مولکولی پاراکوات (Paraquat)..... ۱۹
شکل ۱-۷ ساختار مولکولی پرمترین (Permethrin) ۲۰
شکل ۳-۱ کشت جلبک سبز *Chlorella vulgaris*..... ۳۷
شکل ۴-۱ روند تغییر تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی‌لیتر) در گروه شاهد و تیمارهای مختلف آفت‌کش پاراکوات طی روز های آزمایش. ۴۹
شکل ۴-۲ نرخ رشد ویژه جمعیت روتیفرها (به ازای روز) در غلظت‌های مختلف آفت‌کش پاراکوات. حروف مشابه روی نمودار نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار می باشد ($p <$ ۰/۰۵). ۵۰
شکل ۴-۳ روند تغییر نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم، در روتیفرهای گروه شاهد و تیمار های مختلف آفت‌کش پاراکوات در طی روزهای آزمایش. ۵۴
شکل ۴-۴ روند تغییر ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک، در روتیفر های گروه شاهد و تیمار های مختلف آفت‌کش پاراکوات در طی روزهای آزمایش..... ۵۹
شکل ۴-۵ روند تغییر تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در گروه شاهد و تیمار های مختلف آفت‌کش پرمترین طی روزهای آزمایش ۶۲
شکل ۴-۶ نرخ رشد ویژه جمعیت روتیفرها (به ازای روز) در غلظت‌های مختلف آفت‌کش پرمترین. حروف مشابه روی نمودار نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p <$ ۰/۰۵). ۶۳
شکل ۴-۷ روند تغییر نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم، در روتیفرهای گروه شاهد و تیمارهای مختلف آفت‌کش پرمترین در طی روزهای آزمایش. ۶۷

شکل ۴-۸ روند تغییر ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک، در روتیفر های گروه شاهد و تیمار های مختلف آفت‌کش پرمترین در طی روزهای آزمایش. ۷۱

فهرست جداول

جدول ۳-۱؛ مواد تشکیل دهنده محلول شماره یک برای ساخت محیط کشت زایندر ۳۴
جدول ۳-۲ مواد تشکیل دهنده محلول شماره ۲ برای ساخت محیط کشت زایندر ۳۴
جدول۳-۳؛ مواد تشکیل دهنده محلول A برای ساخت محیط کشت زایندر ۳۴
جدول ۳-۴؛ مواد تشکیل دهنده محلول B برای ساخت محیط کشت زایندر ۳۵
جدول ۳-۵؛ مواد تشکیل دهنده محلول ۴ برای ساخت محیط کشت زایندر ۳۵
جدول ۴-۱؛ غلظت کشنده آفت کش های پاراکوات و پرمترین برای روتیفر آب شیرین *B.calyciflorus* ۴۶
جدول ۴-۲؛ تراکم روتیفر ها (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در غلظت‌های مختلف آفت‌کش پاراکوات در روز های مختلف. داده ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار هستند. حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است ($p<$ ۰/۰۵). ۴۸
جدول ۴-۳؛ نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم،در روتیفرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف آفت‌کش پاراکوات در روزهای مختلف. داده ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار هستند.حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است (۰/۰۵> p). ۵۳
جدول ۴-۴؛ نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک، در روتیفرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف آفت‌کش پاراکوات در روزهای مختلف. داده ها نشان دهنده میانگین ± انحراف

معیار هستند.حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است (۰/۰۵> p). ۵۷

جدول ۴-۵؛ تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی‌لیتر) در غلظت‌های مختلف آفت‌کش پرمترین در روزهای مختلف. داده ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار هستند. حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است (۰/۰۵> p). ۶۱

جدول ۴-۶؛ نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم،در روتیفرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف آفت‌کش پرمترین در روزهای مختلف. داده ها نشان‌دهنده میانگین ± انحراف معیار هستند.حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است (۰/۰۵> p). ۶۵

جدول ۴-۷؛ نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک، در روتیفر های تیمار شده با غلظت‌های مختلف آفت‌کش پرمترین در روزهای مختلف. داده ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار هستند.حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است (۰/۰۵> p). ۷۰

جدول ۴-۸؛ تعیین سمیت علف‌کش‌ها و حشره‌کش‌های مختلف (پیری و همکاران، ۱۳۷۶) ۷۳

چکیده

روتیفرها گروهی از زئوپلانکتون‌ها می‌باشند که به دلیل حساسیت به موادشیمیایی، موقعیت مرکزی‌شان در زنجیره‌های غذایی، تولیدمثل سریع، مدت کوتاه تولید نسل و پراکنش گسترده جهانی در مطالعات اکوتوکسیکولوژی از اهمیت بالایی برخوردار هستند. یکی از مهم‌ترین عواملی که امروزه با توجه به روند رو به رشد صنعت کشاورزی و تکنولوژی خطرات آن احساس می‌شود سموم آفت‌کش است که با ورود به اکوسیستم‌های آبی می‌توانند موجبات تخریب جوامع آبزیان را فراهم کنند. از این رو غلظت کشنده (LC_{50} 24h) سموم علف‌کش پاراکوات و حشره‌کش پرمترین که از آفت‌کش های پر مصرف می‌باشند تعیین و تاثیر آن‌ها بر تولید مثل و رشد جمعیت روتیفر آب شیرین (***Brachionus calyciflorus***) مورد بررسی قرار گرفت. روتیفرها به منظور سازگاری با محیط و بدست آوردن میزان مورد نیاز تخم خفته به مدت حداقل سه ماه در آزمایشگاه، در شرایط مناسب پرورش داده شدند و توسط جلبک تک‌سلولی کلرلا(***Chlorella vulgaris***) تغذیه شدند. غلظت کشنده ۲۴ ساعته(LC_{50}24h) سموم علف‌کش پاراکوات و حشره‌کش پرمترین بر اساس روش استاندارد .O.E.C.D برای روتیفر آب شیرین بدست آمد. میزان غلظت کشنده (LC_{50}) آفت‌کش های پاراکوات و پرمترین برای روتیفر آب شیرین ***B.calyciflorus*** به ترتیب ۰/۵۴۱ $mg\ l^{-1}$ و ۸/۹۹۷ $mg\ l^{-1}$ تعیین شد. بر اساس این غلظت‌ها، تیمارهای مختلف انتخاب و سطح پاسخ جمعیت روتیفر ***B.calyciflorus*** نسبت به چهار غلظت مختلف از آفت‌کش های پاراکوات (۰/۰۲۷، ۰/۰۵۴، ۰/۱ و۰/۲۷ mgl^{-1}) و پرمترین (۰/۴۴۹، ۰/۸۹۹، ۱/۷۹۹ و ۴/۴۹۸ mgl^{-1}) به همراه یک تیمار شاهد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اختلاف تراکم روتیفرها در تمام تیمارها، در روز دهم آزمایش با گروه شاهد معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). برای علف‌کش پاراکوات در غلظت ۰/۰۲۷ mgl^{-1} نرخ رشد ویژه (به ازای روز) با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت(p<۰/۰۵). نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های فاقد تخم و نسبت ماده‌های میکتیک به آمیکتیک در تمام غلظت‌های هر دو آفت‌کش در مقایسه با نمونه‌های شاهد به طور معنی داری تحت تاثیر قرار گرفت. افزایش نسبت ماده‌های میکتیک به آمیکتیک در روزهای آخر آزمایش و با افزایش غلظت آفت‌کش ها نشان دهنده غالب شدن تولید مثل جنسی در چرخه زندگی روتیفر است. برای غلظت ۰/۲۷ mgl^{-1} پاراکوات و غلظت ۴/۴۹۸ $mg\ l^{-1}$ پرمترین به علت توقف رشد و تولید مثل، شاخص نسبت ماده‌های میکتیک به آمیکتیک تعریف نشد. بر اساس نتایج این تحقیق آفت کش های پاراکوات و پرمترین به ترتیب جزو سموم با سمیت زیاد و سمیت متوسط طبقه بندی می شوند و نرخ ویژه رشد حساسترین شاخص به افزایش غلظت این آفت کش ها بود.

کلمات کلیدی: پاراکوات، پرمترین، روتیفر، ***Brachionus calyciflorus***، LC_{50}

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه

بدنه‌ی آب‌های سطحی به وسیله بسیاری از مواد شیمیایی مصنوعی آلوده شده اند که این مواد شیمیایی می‌توانند جمعیت‌های طبیعی آب‌ها را تحت تاثیر قرار دهند (Hanazato, 2001).کشاورزی مدرن به انواع مواد شیمیایی مصنوعی شامل علف‌کش‌ها، حشره کش‌ها، قارچ کش‌ها و سایر آفت کش‌ها[1] وابسته است. آفت کش‌ها برای اقتصاد کشاورزی مفید هستند اما از طریق ریزش باران و پسماندهای کشاورزی وارد محیط‌های آبی می‌شوند. محیط آبی غالبا مخزن نهایی آلاینده‌های شیمیایی محسوب می‌شوند. آفت کش‌ها از آلاینده‌های محیطی عمده بوده که در حال حاضر به طور وسیع در محیط‌های آبی پخش شده اند و ارگانیسم‌های غیر هدف را تحت تاثیر قرار می‌دهند. آن‌ها با ایجاد اختلال در زنجیره‌های غذایی باعث تغییر شیکه‌های غذایی می‌شوند، لذا سبب ناهماهنگی و عدم تعادل در کل اکوسیستم می‌گردند (Zhou, 1992). گزارش شده است که آفت کش‌ها و پسماندهای آن‌ها از جمله مهم‌ترین عوامل تخریب و انهدام اکوسیستم‌های آبی می‌باشند (Hanazato, 2001). مقادیر قابل توجهی از آفت کش‌ها متعلق به گروه آفت کش‌های فرموله شده پیریتروئیدها[2] و بای پیریدیلیوم‌ها[3] بوده که بطور گسترده در مناطق زراعی، محیط‌های شهری و خانگی مورد استفاده هستند. علف‌کش پاراکوات[4] با فرمول شیمیایی (1,1-dimethyl-4,4-bipyridininum ion) یکی از پرکاربردترین سموم تماسی و غیرانتخابی دفع آفات نباتی است که برای کنترل گیاهان هرز خشکی‌زی و گیاهان آبزی در کشورهای مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد و وجود آن در بسیاری از منابع آبی جهان گزارش شده است (Ye *et al*., 2002; Filizadeh, 2002). علف‌کش پاراکوات به راحتی می‌تواند از طریق آب، خاک و هوای آلوده موجودات زنده را تحت تاثیر قرار دهد. این سم در خاک غیر فعال است و در اثر واکنش میان یون‌های مثبت علف‌کش و یون‌های منفی کانی‌های رسی

[1] Pesticides
[2] Pyrethroid
[3] Bipyridininum
[4] Paraquat

، در لایه‌های سطحی خاک به دام می‌افتد، همین امر سبب افزایش ماندگاری این سم در خاک می‌شود (Fryer, 1977; Eizadi-Mood *et al*., 2011; Ada *et al*., 2012). این سم پس از ورود به آب توسط میکروارگانیسم‌ها و نیز تحت شرایط فیزیکی وارد روند تجزیه زیستی و فتوشیمیایی می‌شود و به متیل آمین و یون ۴-کربوکسی ۱-متیل پیریدیوم تجزیه می‌شود (Kearney *et al*. 1985; Eisler, 1990). با این وجود، تجزیه ۵۰ درصدی فتوشیمیایی پاراکوات در خاک‌های سطحی حداقل به سه هفته زمان نیاز دارد. این در حالی است که در محیط‌های آب شیرین، نیمه عمر این سم در ایده آل‌ترین حالت، ۳۶ ساعت می‌باشد و در طی حداقل چهار هفته، سم به طور کامل تجزیه می‌شود و نیمه عمر پاراکوات در محیط‌های دریایی کمتر از ۲۴ ساعت است (Eisler, 1990). در طی این مدت، ممکن است در اثر تجمع زیستی پاراکوات در بدن آبزیان،بویژه ماهی‌ها جلبک‌ها و ماکروفیت‌ها و نیز جذب آن توسط رسوبات و ذرات معلق در آب، زمینه‌ی تاثیر این سم بر موجودات غیر هدف را فراهم نماید (Gabryelak and Klekot 1985). تاثیر مرگ بار پاراکوات بر انواع مختلف آبزیان، نظیر ماهی‌ها، سخت‌پوستان و نرم‌تنان به ویژه گونه‌های کفزی وابسته به گیاهان به اثبات رسیده است (PAN, 2003). پرمترین[1] یک حشره‌کش از خانواده شیمیایی پایروتروئید است.نام شیمایی آن (IUPAC) (dichlorovinyl2-2 hi di methyl 2-2 cyclopropanecarboxylate)[2]می‌باشد. پایروتروئیدها ترکیبات مصنوعی ساخته شده به تقلید از pyrethrins هستند که از گل داودی جدا شده‌اند (Tomlin, 2006). پرمترین در ابتدا در سال ۱۹۷۹ برای استفاده توسط آژانس حفاظت از محیط زیست ایالات متحده (U.S. EPA)[3] به ثبت رسید(Washington, DC, 2006). پرمترین در بخش کشاورزی در کنترل پشه، و در قسمت تاسیسات مسکونی در بهداشت عمومی استفاده می‌شود، پرمترین برای دریا رودخانه، ماهیان آب شیرین و دیگر جانداران آبزی بسیار سمی است (Washington, DC, 2006).

[1] Permethrin
[2] International Union of Pure and Applied Chemistry
[3] United States Environmental Protection Agency

هنگامی که پرمترین وارد یک سیستم آبزی می‌شود، برخی از آن در ستون آب توسط نور خورشید تخریب می‌شود در حالی که اکثریت آن به صورت محکم به رسوب متصل می‌شود. Sharom and) Solomon, 1981). در آب، پرمترین توسط تجزیه شیمیایی بر اثر نیروی تابشی به اسید phenoxybenxzoic (PBA) و الکل dichlorovinyl (DCVA) شکسته می‌شود. نیمه عمر متوسط برای پرمترین در ستون آب در حدود ۲۷-۱۹ساعت است، با این حال پرمترین با جذب به 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).

زئوپلانکتون‌ها غالبا در آزمایشات اکوتوکسیکولوژی[1] مورد استفاده قرار می‌گیرند زیرا یکی از حساس ترین گروه ها در برابر مواد شیمیایی سمی می‌باشند و یک موقعیت مرکزی را در زنجیره غذایی آب‌های راکد اشغال می‌کنند(Havensa,1994). از بین زئوپلانکتون‌ها[2]، روتیفرها به ویژه *Brachionus calyciflorus* و *B.plicatilis* به دلیل گسترش جهانی، اندازه کوچک، چرخه زندگی ساده، تولید مثل سریع، مدت کوتاه تولید نسل، حساسیت بالا در برابر اغلب سموم، سهولت پرورش و قابلیت تولید تجاری تخم‌های خفته آن‌ها، جانوران آزمایشی مناسب برای سم شناسی آبزیان هستند (Snell and jansen, 1995; Snell and Persoone, 1989; Halbach *et al*., 1983). روتیفرها[3] به عنوان جانوران آزمایشگاهی، جهت پایش و ارزیابی سمیت‌های حاد و مزمن فلزات سنگین، آفت‌کش‌ها و سایر آلاینده‌ها مورد استفاده می‌باشند (Snell and Janssen 1995).

پایان یافتن تغذیه ازکیسه زرده مرحله ای بحرانی در دوره لاروی زندگی ماهی است. لارو ماهی نیاز به مواد مغذی مناسب و اختصاصی دارد (Rabelahatra, 1982; Joungwirth *et al*., 1989). موفقیت

[1] Ecotoxicology
[2] zooplankton
[3] Rotifer

در پرورش لارو اغلب ماهیان مستلزم استفاده از زئوپلانکتون کوچک به عنوان غذای آغازین[1] می‌باشد (Arimoro and Ofojekwu, 2003). روتیفرها به دلیل داشتن ویژگی‌های منحصر به فرد منبع غذایی اصلی مورد استفاده در پرورش لاروی ماهیان آب‌های شور هستند (Lubzens, 1987). این موجودات زنده پلانکتونی با توجه به اندازه کوچک و مناسب، کیفیت بالای مواد مغذی و رفتارهای ویژه به طور انبوه برای تغذیه لارو ماهیان کشت داده می‌شوند (Theilacker and Mc.master, 1971; Woynarovich and Horvath, 1980; Gatesoup and Luquest, 1981; Kefuku and Ikenoue, 1983; Snell *et al*., 1987). با توجه به اینکه روتیفرها زنجیره غذایی طبیعی بین جلبک ها و زئوپلانکتون خوارهایی همچون ماهی هستند (Wallace *et al*., 1991)، بنابراین در فراهم آوردن انرژی جهت رشد و متابولیسم ماهی‌ها نقش مهمی دارند از این رو فعالیت مواد سمی علاوه بر خود روتیفرها برای سایر زنجیره‌های غذایی نیز دارای اهمیت است.

در تحقیق حاضر سعی می‌شود تا اثر غلظت‌های مختلف پاراکوات و پرمترین بر رشد و تولید مثل روتیفر *B.calyciflorus* جداسازی شده از منابع آبی سیستان مورد بررسی قرار گرفته و به سوال زیر پاسخ داده شود:

آیا غلظت های مختلف علف‌کش پاراکوات و حشره‌کش پرمترین تاثیری بر روند رشد و تولید مثل روتیفر آب شیرین *B.calyciflorus* دارد؟

بر اساس این سوال فرضیه زیر مطرح می‌شود:

غلظت‌های مختلف سموم پاراکوات و پرمترین تاثیر معنی داری بر روی روند رشد جمعیت و تولید مثل روتیفر آب شیرین *B.calyciflorus* ندارد.

[1] Starting food

۱-۱-۱ -اهداف

هدف از انجام این تحقیق بررسی میزان حساسیت روتیفر آب شیرین *B.calyciflorus* نسبت به آفت کش‌های پاراکوات و پرمترین و بررسی اثرات غلظت‌های مختلف این آفت‌کش‌ها بر نرخ رشد و تولید مثل این موجود می‌باشد.

۱-۱-۲ -ضرورت انجام تحقیق

یکی از مشکلات پرورش دهندگان ماهی، عدم تامین تعداد کافی بچه ماهی انگشت قد[1] به علت مرگ و میر در مراحل اولیه زندگی ماهیان است. در این رابطه، تولید موفق بچه ماهی به تهیه غذای مناسب و با کیفیت بستگی دارد (Arimoro, 2006). روتیفرها غذای زنده با ارزشی برای تغذیه مرحله لاروی بیشتر گونه های ماهیان می‌باشند. چندین مشخصه رو تیفرها از جمله اندازه بسیار کوچک، معلق ماندن در ستون آب، تولید مثل بالا و توانایی رسیدن به تراکم بالا در محیط کشت‌های آزمایشگاهی و محیط کشت‌های انبوه و همچنین حرکت نسبتا آهسته روتیفرها (که باعث شده شکار خوبی برای لاروهای فعال باشند)، موجب شده تا مورد توجه پرورش دهندگان قرار گیرند (Lubzens *et al.*, 1989). روتیفرها همچنین می‌توانند با انواع مواد مغذی غنی‌سازی شوند. این موجودات به صورت غیر انتخابی آب را فیلتر می‌کنند و به همین دلیل مواد آلاینده به راحتی در بدن آنها ذخیره می‌شوند. پس با توجه به این امر که روتیفرها در انتقال ماده و انرژی بین سطوح مختلف زنجیره غذایی در محیط های آبی نقش دارند و همچنین به عنوان یکی از مهمترین غذاهای آغازین خوراکی برای لارو بسیاری از آبزیان در محیط‌های آبی می‌باشند. نتایج این تحقیق می‌تواند در تقویت و بازسازی ذخایر ماهیان در محیط‌های آبی طبیعی نقش بسزایی داشته باشند. علاوه بر این با تعیین آستانه تحمل این روتیفر در برابر آفت‌کش‌هایی همچون پاراکوات و پرمترین می‌توان از آن برای تعیین استانداردهای زیست محیطی در منابع آبی سود برد و از روتیفر آب شیرین *B.calyciflorus*

[1] Fingerling

به عنوان نماینده جهت بررسی و پایش مواد آلاینده خصوصا آفت‌کش‌ها در منابع آبی منطقه سیستان و سایر اکوسیستم‌های آبی کشور استفاده کرد.

۱-۲- کلیات

۱-۲-۱ -استفاده از روتیفرها در اکوتوکسیکولوژی

از سال ۱۹۹۰ اسنفاده از روتیفرها در مطالعات اکوتوکسیکولوژی به طور قابل توجهی افزایش یافته است (Snell and Jansen, 1995). در طی سه دهه ۱۹۹۵-۱۹۶۵ بیشتر آزمایشات و ارزیابی‌های سمیت فقط بر یک شاخه از کلادوسرها[1] تکیه داشت علاوه بر این استفاده از دافنی‌ها[2] نیز در معدودی از آزمایشات سمیت بی‌مهرگان آب شیرین توسط USEP، EEC و OECD رسما تصویب شده بود (Persoon and Janssen, 1993). در اوایل دهه ۱۹۷۰ روتیفرها به عنوان جانوران آزمایشگاهی پیشنهاد شدند (Schaeffer and Pipes, 1973; Buikema *et al*., 1974)، اما از سال ۱۹۹۰ و بویژه در سال‌های اخیر، استفاده از روتیفرها برای مطالعات اکوتوکسیکولوژی به طور قابل توجهی افزایش یافته است. روتیفرها بدلیل نقش مرکزی شان در اجتماعات پلانکتونی آب‌های شیرین، سهولت و سرعت اندازه گیری‌های کمی مرگ و میر و تولید مثل، حساسیت آن‌ها به آلاینده‌های رایج، ارزش اقتصادی بالای سیست‌های آن‌ها و وجود پروتکل‌های استاندارد و معتبر برای استفاده از آن‌ها در آزمایشات سمیت، به عنوان مدل‌هایی در اکوتوکسیکولوژی سودمند هستند (Snell and Janssen, 1995).

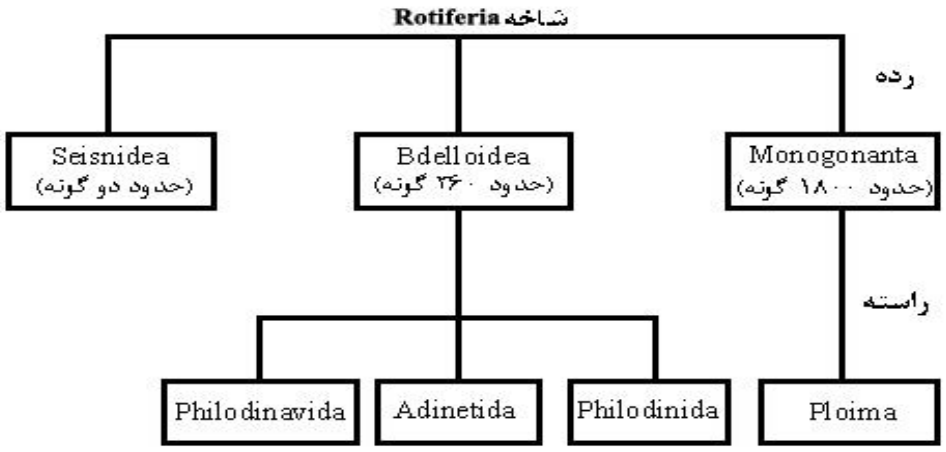
۱-۲-۲ -سیستماتیک روتیفر ها

روتیفرها متعلق به شاخه گردان تنان یا روتیفرا هستند که توسط جانورشناسان کمتر مطالعه شده اند. جانورشناسان در طبقه بندی و جایگاه این گروه هم عقیده نیستند (حسینی و جلالی، ۱۳۸۸).

[1] Cladosera
[2] Daphnia

شاخه گردان تنان یا روتیفرا پست ترین شاخه جانوری بوده و دارای خویشاوندی نزدیکی با کرم‌های گرد هستند. سه رده از روتیفرها وجود دارد: ۱- Seisionidea که انواع دریایی غیر معروف‌اند. منحصر به روتیفرهای دریایی بوده، دارای بدن معمولا بزرگ، تاج کوچک و تحلیل رفته می‌باشند و یک جنس تحت عنوان Sesion دارد. ۲-Bdelloidea که گروهی کرمی‌شکل بوده و به طور کاملا غیر جنسی تولید مثل می‌کنند به آن ها زالوسانان یا جفت تخمکان[1] گفته می شود. انتهای قدامی بدن تا حدودی تیز بوده و حالت انقباضی دارد و شامل دو صفحه چرخان است. در این رده آسیابک (Mastax) به همراه یک جفت صفحه‌ی پهن برای خرد کردن و خوردن مواد غذایی به آن کمک می‌کند. غدد جنسی معمولا جفت بوده و دارای بدن استوانه‌ای و تلسکوپی است. در این رده گونه‌های شناگر و همچنین خزنده وجود دارد. ۳- تک تخمکان[2]، که این رده شامل *Brachionus plicatilis*، *B.calyciflorus* و *B.rubenus* است (Wallace and Snell *et al*., 1991). تک تخمکان چرخه‌ی زندگی بکرزایی دوره‌ای (چرخه‌ای) دارند که شامل مراحل جنسی و غیر جنسی است. رده‌ی تک تخمکان به طور کلی ۹۰ درصد گونه‌های روتیفر را به خود اختصاص می‌دهد که شامل بیش از ۱۶۰۰ گونه در تقریبا ۹۰ جنس‌کفزی، دارای شنای آزاد و چسبیده می‌باشد. در این رده یک غده جنسی وجود دارد و آسیابک اگرچه برای خرد کردن و له کردن مواد اختصاص یافته است ولی از لحاظ ساختاری شبیه رده‌ی قبلی هستند. خانواده *Brachionidae* شامل ۶ جنس از روتیفرهای معمولی می‌باشد که جنس *Brachionus* دارای ۲۵ گونه‌ی ساحلی و پلانکتونی می‌باشد (حسینی و جلالی، ۱۳۸۸). Ricci و Balsama (۲۰۰۰) روتیفرها را به صورت زیر طبقه بندی کرده‌اند:

[1] Bdelloidea
[2] Monogononta



شکل ۱-۱؛طبقه بندی روتیفر ها

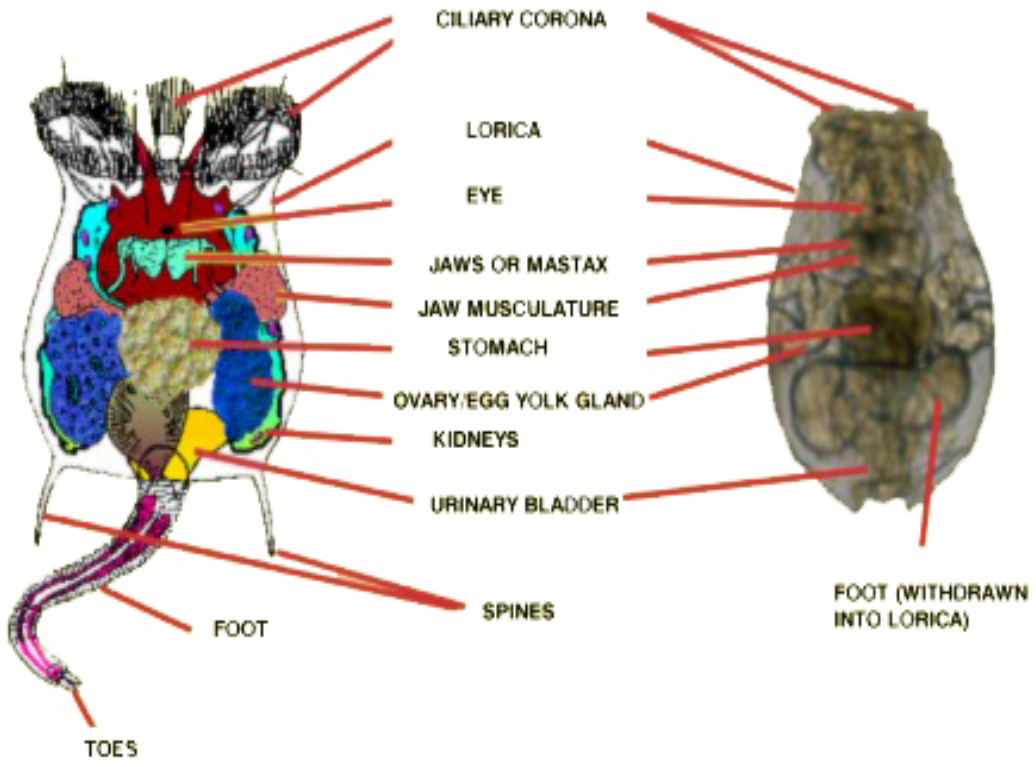
۱-۲-۳ -زیست شناسی و ریخت شناسی روتیفر ها

روتاتوریا[1] یا گردان‌تنان (روتیفرا) از کوچکترین متازوآها[2] هستند که حدودا ۱۰۰۰ گونه از آن‌ها تاکنون توصیف شده‌اند. ۹۰ درصد آن‌ها در زیستگاه‌های آب شیرین زندگی می‌کنند (حافظیه و حسین پور، ۱۳۸۶). روتیفرها هم بصورت پلانکتونی و هم بصورت موجودات میکروبنتوزی دیده می‌شوند.در محیط‌های مختلف سازگار شده و در آن‌شنا می‌کنند. تعداد کمی از آن‌ها نیز بصورت انگل بیرونی می‌باشند. برخی از گونه‌ها دسته جمعی هستند، برخی شنا می‌کنند و آزادند و بقیه ثابت هستند. روتیفرها دارای شکل و رنگ مشخص هستند و حرکات سریعی دارند. این جانوران در آب شیرین، دریاچه‌ها، استخرها و نهرهای آرام در جوی‌های گلی کنار جاده، ناودانک لب بام، آبراهه‌های شیروانی و خیابان فراوانند و حتی در کناره های برگ خزه ها نیز یافت می‌شوند. نام‌های عمومی این گروه همه به مژک‌های مواج انتهای قدامی بدن اشاره می‌نماید.که وجود ناحیه مژک‌دار

[1] Rotatoria
[2] Metazoa

مزبور و عدم وجود مژک‌های انتهای بدن و حرکات حلق جونده در مدت زندگی، روتیفرها را از دیگر جانوران کوچک آبزی متمایز می‌گرداند. رشد روتیفر نسبت به زمان سه مرحله خاص دارد، مرحله اول مرحله ظهور است و اندازه روتیفر با گذشت زمان هیچ تغییری نمی‌کند. زیرا مواد ذخیره شده در تخم استفاده شده و مواد جدید هنوز قابلیت دسترسی ندارند. مرحله دوم مرحله توسعه است که جانور شروع به تغذیه می‌کند و با گذشت زمان اندازه آن نیز بزرگتر می‌شود. این زمان ۲۴ ساعت به طول می انجامد و تا شروع تکثیر ادامه دارد و جانور به حداکثر رشد خود می‌رسد. مرحله سوم که مرحله تکثیر است ۴۸ ساعت پس از تفریخ[1] شروع و در اینجا رشد متوقف می‌گردد. اندازه آن ثابت مانده و شروع به تکثیر می‌کند. طول عمر روتیفر به طور طبیعی ۱۵-۱۰ روز و حتی در شرایط پرورشی به ۲۰ روز می‌رسد. به طور کلی طول دوره زندگی وابستگی زیادی به درجه حرارت دارد. روتیفرها عمدتا ریزه خوارند و توسط مژه‌های واقع بر روی سر جریان کوچکی از آب در اطراف دهان ایجاد کرده و ذرات مناسب غذایی را از این طریق تصفیه کرده و به طرف معده خود حرکت می‌دهند. رنگ روتیفرها به شدت تحت تاثیر غذای مصرفی آن‌ها قرار دارد. از آن‌جا که روتیفرها عضو مخصوصی جهت تنفس ندارند اکسیژن از تمام سطوح داخلی و خارجی بدن جذب می‌شود. روتیفرها اغلب انتشار جهانی داشته و در محیط‌های متفاوت وجود دارند. تخم‌های خفته[2] روتیفرها پس از شکل‌گیری، توسط پرندگان، حیوانات و باد به مناطق مختلف برده می‌شوند و به دلیل مقاوم بودن شرایط خشکی محیط را تحمل نموده و تا مساعد شدن شرایط محیطی به صورت نهفته باقی می‌مانند. حداکثر تراکم روتیفرها بر اساس تعداد آن‌ها در لیتر یا تعداد آن‌ها در واحد سطح، بستگی زیادی به میزان غذا در محیط دارد (حسینی و جلالی، ۱۳۸۸).

[1] Hatch
[2] Resting eggs



شکل ۱-۲ شکل شماتیکی از اندام های داخلی و خارجی روتیفر ها (Hyman, 1951)

طول روتیفرها به ندرت به ۲ میلی‌متر می‌رسد. نرها از نظر اندازه بدنی کوچکتر از ماده‌ها و از نظر تکاملی رشد کمتری نسبت به ماده‌ها از خود نشان داده‌اند. بدن همه گونه‌ها از تعداد ثابتی سلول تشکیل شده است. البته نمی توان سلولها را بصورت انفرادی مورد شناسایی قرار داد بلکه به شکل منطقه پلاسمایی شناخته شده اند. آپیدرمیس[1] شامل لایه سخت و متراکم پروتئینی شبه کراتینی است که لوریکا[2] نامیده می شود. شکل لوریکا و نمای خارجی خارها و تزیینات آن شاخص هایی است که گونه‌ها و ریخت های مختلف با کمک آن تعیین و شناسایی می‌شوند. بدن روتیفرها از سه بخش کاملا متمایز سر، تنه و پا تشکیل شده است. سر، اندام چرخان را حمل می‌کند که به راحتی

[1] Epidermis
[2] Lorica