**مدیریت تحصیلات تکمیلی**

**دانشکده منابع طبیعی**

**گروه شیلات**

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته شیلات

# بررسی اثر مس، جیوه و نیکل بر رشد و تولید مثل روتیفر آب شیرین جدا شده از منابع آبی سیستان

**اساتید راهنما :**

دکتر مصطفی غفاری

دکتر احمد قرایی

**اساتید مشاور**:

مهندس رضا دهمرده بهروز

مهندس حلیمه پیری

**تهیه و تدوین :**

مصیب سیدی آب الوان

**بهمن ۱۳۹۰**

**تقدیم به روح پاک و بی آلایش پدر مهربانم**

که با مردانگی، سخاوت، پاکی، سکوت و مهربانی، راهم در زندگی بود.

از نگاهش صلابت، رفتارش محبت و از صبرش ایستادگی آموختم

**تقدیم به مادر عزیزم**

آن دریای بیکران فداکاری و عشق که با آغوش گرمش بالنده ام ساخت

با شیره جانش مرا پرورانده و عشق بی دریغش را نثارم ساخت

جان و عمرش را به من بخشید، اشک ها دزدید و به من خندید

وجودم برایش همه رنج بود و وجودش برایم همه مهر

**تقدیم به برادران خوبم و خانواده محترمشان**

آنان که مهربانی و محبتشان بی دریغ، بی منت و بی ریا، وجودشان دلگرمی و حضورشان سراسر امید است

آنان که سختی ها را به جان خریدند و حاصل دستان خسته شان رمز موفقیتم شد

**تقدیم به خواهران مهربانم**

به خاطر تمام لحظاتی که از آن ها دریغ کردم

و تقدیم به استاد خردمند و فرزانه ام **جناب آقای دکتر مصطفی غفاری**

که سختی رعایت این سپاس و احترام، مرا به این سادگی وامی دارد

**و تقدیم به خدایی که آفرید**

جهان را، انسان را، عقل را، علم را، معرفت را و عشق را

**و به کسانی که عشقشان را در وجودم دمید**

## سپاسگزاری

سپاس و ستایش مر خدای را جل و جلاله که آثار قدرت او بر چهره روز روشن، تابان است و انوار حکمت او در دل شب تار، درفشان. سپاس خدایی را که راه سپاسگزاری و شکر گزاری اش را به ما الهام کرد و ما را به اخلاص در توحید و یگانگی اش راهبری کرد و از الحاد و شک در کار خودش دور ساخت. آفریدگاری که خویشتن را به ما شناساند و درهای علم را بر ما گشود و عمری و فرصتی عطا فرمود تا بدان، بنده ضعیف خویش را در طریق علم و معرفت بیازماید. سپاس ایزد منان که به من این فرصت را داد تا به این مرحله از علم رسیده و بتوانم در راه ارتقای دانش خویش گامی بردارم و از هیچ محبتی دریغ نکرد و در تمام مراحل زندگیم مراقوت قلب بود.

تلاش بی دریغ تمامی سرورانی که مرا در به ثمر رساندن این پایان نامه یاری نمودند، ارج نموده و از خداوند متعال کمال بهروزی و موفقیت برای ایشان خواستارم. از اساتید بزرگوار و فرزانه ام **جناب آقای دکتر مصطفی غفاری و جناب آقای دکتر احمد قرایی** که در طول انجام این تحقیق از رهنمودهای علمی و عملی ارزشمندشان بهره مند شدم از صمیم قلب کمال سپاس و تشکر را دارم. از جناب آقای مهندس دهمرده، سرکار خانم مهندس پیری و اعضای محترم هیأت علمی و کارکنان محترم پژوهشکدهٔ تالاب بین المللی هامون به پاس محبت های بی دریغ و نکته های بی شائبه شان کمال تشکر و قدردانی را دارم. از **جناب آقای دکتر سید محسن موسوی نیک** که زحمت داوری پایان نامه را بر عهده داشتند و نیز از **جناب آقای دکتر عین اله روحی مقدم** به عنوان نماینده تحصیلات تکمیلی متشکرم. همچنین از جناب آقای **پروفسور سارما و سرکار خانم پروفسور نادینی** به خاطر تجارب ارزنده شان متشکرم. و از مدیریت و معاونت محترم مرکز تکثیر ماهیان گرمابی و بومی شهرستان زهک جناب آقای مهندس عبدالعلی راهداری و جناب آقای مهندس نجفی، همچنین از حراست محترم دانشگاه زابل به پاس زحمات بیکران شان کمال تشکر و قدردانی دارم. در پایان از خانواده و دوستان عزیز و گرامی ام، سرکار خانم مهندس اسماء یاراحمدی و آقای علیرضا شاکری عبدالملکی که صمیمانه در تمامی مراحل این دانش نامه یار و غمخوارم بودند، همچنین از دوستان خوبم محمدصدیق جسور، احمد چوپانی، محمد بوستانیان، محمدرضا جرگه، سعید خواجوی، محمد کامیاب، هادی کیانی و کلیه دوستانی که در سختی های راه وجودشان باعث دلگرمی این حقیر بوده تشکر و قدردانی می نمایم.

**مصیب سیدی آب الوان**

**بهمن ۱۳۹۰**

**چکیده**

**در سال‌های اخیر، استفاده از روتیفرها در پرورش مرحله لاروی ماهیان و همچنین در مطالعات سم شناسی محیطی به طور قابل توجهی افزایش یافته است. این تمایل زیاد، بواسطه نقش مهم روتیفرها در زنجیره غذایی، زمان نسل آوری کوتاه، کشت آسان، حساسیت نسبت به آلاینده‌های متداول، در دسترس بودن تخم‌های خفته به صورت تجاری و وجود پروتوکل‌های قابل اعتماد و استاندارد می‌باشد. در این تحقیق سطح پاسخ جمعیت روتیفر *Brachionus calyciflorus* نسبت به پنج غلظت مختلف از مس (۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ میلیگرم در لیتر سولفات مس)، جیوه معدنی (۰/۰۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۴ و ۰/۰۰۸ میلیگرم در لیتر کلرید جیوه) و نیکل (۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ میلیگرم در لیتر کلرید نیکل) با سه تکرار به ازای هر غلظت در دمای c °۱±۲۵ مورد بررسی قرار گرفت. یک تیمار عاری از فلز سنگین با سه تکرار به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. جهت تغذیه روتیفرها از جلبک *Chlorella vulgaris* با تراکم $۱/۵\times۱۰^{۶}$-۱ سلول در هر میلی لیتر استفاده شد. پارامترهای مربوط به تراکم جمعیت (به طور روزانه)، نرخ رشد ویژه (به ازای روز)، نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم و نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در تیمار شاهد و تیمارهای حاوی فلزات سنگین مس، جیوه و نیکل مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی با افزایش غلظت فلزات سنگین مس، جیوه و نیکل در محیط کشت، رشد جمعیت روتیفر *B.calyciflorus* به طور معنی داری (P<۰/۰۵) کاهش پیدا کرد. بطوریکه بیشترین تراکم (۵۵ عدد روتیفر در هر میلی لیتر) مربوط به تیمار شاهد بود. در حالی که در تیمارهای حاوی فلزات سنگین مس، جیوه و نیکل ، تراکم روتیفرها بسته به غلظت فلز از ۰/۰۵±۱۱/۴۴ تا ۰/۰۳±۳۳/۵۵ متغیر بود. همچنین نرخ رشد جمعیت با افزایش غلظت فلزات سنگین، به طور معنی داری (P<۰/۰۵) کاهش یافت و بسته به نوع و غلظت فلز سنگین از ۰/۰۷ تا ۰/۵۶ متغیر بود. در هر سه فلز سنگین مس، جیوه و نیکل به طور معنی داری (P<۰/۰۵) نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم و نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در جمعیت روتیفرها تحت تأثیر قرار گرفت. مس با غلظت ۰/۲ میلیگرم در لیتر (روز دوم) و ۰/۴ میلیگرم در لیتر (روز سوم) و جیوه با غلظت‌های ۰/۰۰۴ و ۰/۰۰۸ میلیگرم در لیتر (روز سوم) و نیکل با غلظت ۰/۴ میلیگرم در لیتر (روز ششم) به طور معنی داری (P<۰/۰۵) نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم را افزایش داد. مس با غلظت ۰/۲ میلیگرم در لیتر (روز سوم) و ۰/۴ میلیگرم در لیتر (روزهای دوم و سوم)، جیوه با غلظت‌های ۰/۰۰۰۵ و ۰/۰۰۱ میلیگرم در لیتر (روز پنجم) و ۰/۰۰۲ میلیگرم در لیتر (روز چهارم) و همچنین نیکل با غلظت ۰/۱ میلیگرم در لیتر (روز ششم) و غلظت ۰/۲ میلیگرم در لیتر (روز هفتم) به طور معنی داری (P<۰/۰۵) نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک را افزایش داد.**

**کلمات کلیدی:** روتیفر براکینوس کلسی فلوروس، فلزات سنگین، نرخ رشد ویژه، تراکم جمعیت

**فهرست مطالب**

**عنوان** **صفحه**


**فصل اول: مقدمه و کلیات ..... ۱**

**۱- ۱- مقدمه ..... ۲**

۱-۱-۱- ضرورت انجام تحقیق ..... ۵

**۱-۲- کلیات ..... ۶**

۱-۲-۱- بیولوژی و سیستماتیک روتیفرها ..... ۶

۱-۲-۲- ریخت شناسی روتیفرها ..... ۸

۱-۲-۳- تغذیه روتیفرها ..... ۱۱

۱-۲-۴- چرخه زندگی و تولید مثل روتیفرها ..... ۱۳

۱-۲-۵- پراکنش، شناسایی و بیولوژی گونه *B. calyciflorus* ..... ۱۷

۱-۲-۶- مشخصات بیولوژیکی جلبک سبز کلرلا (*Chlorella* sp.) ..... ۱۸

۱-۲-۷- فلزات سنگین ..... ۲۰

**۲-۲- مروری بر مطالعات گذشته ..... ۲۷**

**۳-۱- محل انجام آزمایش ..... ۳۶**

**۳-۲- روتیفر ..... ۳۶**

**۳-۳- مواد مورد نیاز ..... ۳۷**

**۳-۴- وسایل و تجهیزات مورد نیاز ..... ۳۷**

**۳-۵- روش‌ها ..... ۳۷**

۱-۵-۳- ضد عفونی ظروف و تجهیزات مورد نیاز جهت کشت جلبک و روتیفر ..... ۳۷

۱-۱-۵-۳- استریل نمودن ظروف شیشه‌ای ..... ۳۸

۲-۵-۳- آماده سازی محیط کشت جلبک سبز کلرلا ولگاریس ..... ۳۹

۱-۲-۵-۳- روش ساخت محلول‌های غذایی جهت تهیه محیط کشت زاندر (Z-8±N) ..... ۳۹

۳-۵-۳- کشت جلبک ..... ۴۲

۴-۵-۳- برآورد تراکم سلولی جلبک کلرلا ولگاریس ..... ۴۴

۵-۵-۳- نمونه برداری ..... ۴۷

۶-۵-۳- شناسایی، جداسازی و کشت روتیفر گونه *B. calyciflorus* ..... ۴۷

۷-۵-۳- تیماردهی روتیفرها با فلزات سنگین مس، جیوه و نیکل ..... ۵۰

**۴-۱- نتایج ..... ۵۶**
۴-۱-۱- اثر فلز سنگین مس بر رشد روتیفر *B. calyciflorus* ..... ۵۶
۴-۱-۱-۱- اثر مس بر تراکم روتیفر ..... ۵۶
۴-۱-۱-۲- اثر فلز سنگین مس بر نرخ رشد ویژهٔ روتیفر *B.calyciflorus* ..... ۶۱
**۴-۱-۲- اثر فلز سنگین مس (Cu) بر تولید مثل روتیفر آب شیرین *B.calyciflorus* ..... ۶۲**
۴-۱-۲-۱- اثر فلز سنگین مس بر نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم در جمعیت روتیفر *B.calyciflorus* ..... ۶۲
۴-۱-۲-۲- اثر فلز سنگین مس بر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در جمعیت روتیفرهای *B.calyciflorus* ..... ۶۹
۴-۱-۳- اثر فلز سنگین جیوه بر رشد روتیفر *B. calyciflorus* ..... ۷۶
۴-۱-۳-۱- اثر جیوه بر تراکم روتیفر ..... ۷۶
۴-۱-۳-۲- اثر فلز سنگین جیوه بر نرخ رشد ویژهٔ روتیفر *B.calyciflorus* ..... ۸۱
۴-۱-۴- اثر فلز سنگین جیوه (Hg) بر تولید مثل روتیفر آب شیرین *B.calyciflorus* ..... ۸۲
۴-۱-۴-۱- اثر فلز سنگین جیوه بر نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم در جمعیت روتیفر *B.calyciflorus* ..... ۸۲
۴-۱-۴-۲- اثر فلز سنگین جیوه بر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در جمعیت روتیفرهای *B.calyciflorus* ..... ۸۸
۴-۱-۵- اثر فلز سنگین نیکل (Ni) بر رشد روتیفر آب شیرین *B.calyciflorus* ..... ۹۴
۴-۱-۵-۱- اثر فلز سنگین نیکل بر تراکم روتیفر *B.calyciflorus* ..... ۹۴
۴-۱-۵-۲- اثر فلز سنگین نیکل بر نرخ رشد روتیفر *B.calyciflorus* ..... ۱۰۰
۴-۱-۶- اثر فلز سنگین نیکل بر تولید مثل روتیفر *B. calyciflorus* ..... ۱۰۰
۴-۱-۶-۱- اثر فلز سنگین نیکل بر نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم در جمعیت روتیفر *B.calyciflorus* ..... ۱۰۰
۴-۱-۶-۲- اثر فلز سنگین نیکل بر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در جمعیت روتیفرهای *B.calyciflorus* ..... ۱۰۸
**۴-۲- بحث ..... ۱۱۴**
۴-۲-۱- تجزیه و تحلیل نتایج مربوط به اثر مس، جیوه و نیکل بر رشد روتیفر *B. calyciflorus* ..... ۱۱۶
۴-۲-۲- تجزیه و تحلیل نتایج مربوط به اثر مس، جیوه و نیکل بر تولید مثل روتیفر *B. calyciflorus* ..... ۱۲۱
۴-۳- نتیجه گیری کلی ..... ۱۲۷

۴-۴- پیشنهادها..... ۱۲۷

**فهرست منابع ..... ۱۲۹**

## فهرست جداول

**عنوان** **صفحه**

جدول ۱- ۴: تراکم روتیفرها (برحسب تعداد در میلی لیتر) در غلظت‌های مختلف فلز سنگین مس در روزهای مختلف..... ۵۷

جدول ۲-۴: نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم، در روتیفرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف فلز سنگین مس در روزهای مختلف..... ۶۳

جدول ۳- ۴: نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک، در روتیفرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف فلز سنگین مس در روزهای مختلف..... ۷۰

جدول۴- ۴- تراکم روتیفرها (برحسب تعداد در میلی لیتر) در غلظت‌های مختلف فلز سنگین جیوه در روزهای مختلف..... ۷۷

جدول ۵- ۴- نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم، در روتیفرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف فلز سنگین جیوه در روزهای مختلف..... ۸۴

جدول ۶- ۴: نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک، در روتیفرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف فلز سنگین جیوه در روزهای مختلف..... ۸۹

جدول ۷- ۴: تراکم روتیفرها (برحسب فرد در میلی لیتر) در غلظت‌های مختلف فلز سنگین نیکل در روزهای مختلف..... ۹۵

جدول ۸- ۴: نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم، در روتیفرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف فلز سنگین نیکل در روزهای مختلف..... ۱۰۳

جدول ۹- ۴: نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک ، در روتیفرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف فلز سنگین نیکل در روزهای مختلف..... ۱۰۹

## فهرست شکل ها

**عنوان** **صفحه**

شکل ۱-۱: نمای شماتیکی از اندامهای داخلی و خارجی روتیفر ..... ۱۱

شکل۲-۱- جایگاه روتیفرها در زنجیره غذایی..... ۱۲

شکل ۳-۱– چرخه تولیدمثلی روتیفر..... ۱۴

شکل۴-۱- روتیفر گونه *B. calyciflorus* ۱۸
شکل۵-۱- تقسیم چهار قسمتی جلبک کلرلا ولگاریس ۱۹
شکل۶-۱- نمایی از سلولهای جلبک کلرلا ولگاریس بر روی لام هموسایتومتر ۲۰
شکل ۱-۳– نمونه برداری از آب چاه نیمه ۳۶
شکل۲-۳- افزودن جلبک به محیط کشت زیر هود لامینار ۴۳
شکل۳-۳- کشت جلبک در شرایط مطلوب در فایکولب ۴۳
شکل۴-۳- کشت جلبک کلرلا ولگاریس ۴۴
شکل۵-۳- روتیفر گونه *B. calyciflorus* ۴۸
شکل۶-۳- کشت روتیفر در لوله آزمایش ۱۵ میلی لیتری ۴۹
شکل۷-۳- کشت جلبک (ظروف ۱ لیتری) و کشت روتیفر (ظروف ۱۰۰ میلی لیتری) ۵۰
شکل۸-۳- تیماردهی روتیفرها با فلزات سنگین مس، جیوه و نیکل ۵۱
شکل ۱-۴- تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در تیمار شاهد فلز سنگین مس در روزهای مختلف. ۵۸
شکل ۲-۴- تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در غلظت ۰/۰۲۵ میلیگرم در لیتر فلز سنگین مس در روزهای مختلف. ۵۸
شکل ۳-۴-تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در غلظت ۰/۰۵ میلیگرم در لیتر فلز سنگین مس در روزهای مختلف. ۵۹
شکل ۴-۴- تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در غلظت ۰/۱ میلیگرم در لیتر فلز سنگین مس در روزهای مختلف. ۵۹
شکل ۵-۴- تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در غلظت ۰/۲ میلیگرم در لیتر فلز سنگین مس در روزهای مختلف. ۶۰
شکل ۶-۴- تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در غلظت ۰/۴ میلیگرم در لیتر فلز سنگین مس در روزهای مختلف. ۶۰
شکل ۷-۴- نرخ رشد ویژۀ جمعیت روتیفرها (به ازای روز) در غلظت‌های مختلف فلز سنگین مس(Cu).. ۶۲
شکل ۸-۴- نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم در تیمار شاهد در روتیفرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف فلز سنگین مس(Cu) در روزهای مختلف. ۶۵

شکل ۹-۴- نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم در غلظت ۰/۰۲۵ میلیگرم در لیتر در روتیفرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف فلز سنگین مس(Cu) در روزهای مختلف. ۶۵

شکل ۱۰-۴- نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم در غلظت ۰/۰۵ میلیگرم در لیتر در روتیفرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف فلز سنگین مس(Cu) در روزهای مختلف. ۶۶

شکل ۱۱-۴- نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم در غلظت ۰/۱ میلیگرم در لیتر در روتیفرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف فلز سنگین مس(Cu) در روزهای مختلف. ۶۶

شکل ۱۲-۴- نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم در غلظت ۰/۲ میلیگرم در لیتر در روتیفرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف فلز سنگین مس(Cu) در روزهای مختلف. ۶۷

شکل ۱۳-۴- نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم در غلظت ۰/۴ میلیگرم در لیتر در روتیفرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف فلز سنگین مس(Cu) در روزهای مختلف. ۶۷

شکل ۱۴-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیمار شاهد فلز سنگین مس(Cu) طی روزهای آزمایش. ۷۲

شکل ۱۵-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیمار دهی شده با غلظت ۰/۰۲۵ میلیگرم در لیترفلز سنگین مس(Cu) طی روزهای آزمایش. ۷۳

شکل ۱۶-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۰۵ میلیگرم در لیتر فلز سنگین مس(Cu) طی روزهای آزمایش. ۷۳

شکل ۱۷-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۱ میلیگرم در لیتر فلز سنگین مس(Cu) طی روزهای آزمایش. ۷۴

شکل ۱۸-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۲ میلیگرم در لیتر فلز سنگین مس(Cu) طی روزهای آزمایش. ۷۴

شکل ۱۹-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۴ میلیگرم در لیتر فلز سنگین مس(Cu) طی روزهای آزمایش. ۷۵

شکل ۲۰-۴- روند تغییر تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در تیمار شاهد فلز سنگین جیوه (Hg) طی روزهای آزمایش. ۷۸

شکل ۲۱-۴- روند تغییر تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در غلظت ۰/۰۰۰۵ میلیگرم در لیتر فلز سنگین جیوه (Hg) طی روزهای آزمایش. ۷۸

شکل ۲۲-۴- روند تغییر تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در غلظت ۰/۰۰۱ میلیگرم در لیتر فلز سنگین جیوه (Hg) طی روزهای آزمایش. ۷۹

شکل ۲۳-۴- روند تغییر تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در غلظت ۰/۰۰۲ میلیگرم در لیتر فلز سنگین جیوه (Hg) طی روزهای آزمایش. ۸۰

شکل ۲۴-۴- روند تغییر تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در غلظت ۰/۰۰۴ میلیگرم در لیتر فلز سنگین جیوه (Hg) طی روزهای آزمایش. ۸۰

شکل ۲۵-۴- روند تغییر تراکم روتیفرها (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در غلظت ۰/۰۰۸ میلیگرم در لیتر فلز سنگین جیوه (Hg) طی روزهای آزمایش. ۸۱

شکل ۲۶-۴- نرخ رشد ویژۀ جمعیت روتیفرها (به ازای روز) در غلظت‌های مختلف فلز سنگین جیوه (Hg). ۸۲

شکل ۲۷-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم در روتیفرهای تیمار شاهد فلز سنگین جیوه طی روزهای آزمایش. ۸۵

شکل ۲۸-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم روتیفرها در غلظت ۰/۰۰۰۵ میلیگرم در لیتر فلز سنگین جیوه طی روزهای آزمایش. ۸۵

شکل ۲۹-۴-روند تغییر نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم روتیفرها در غلظت ۰/۰۰۱ میلیگرم در لیتر فلز سنگین جیوه طی روزهای آزمایش. ۸۶

شکل ۳۰-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم روتیفرها در غلظت ۰/۰۰۲ میلیگرم در لیتر فلز سنگین جیوه طی روزهای آزمایش. ۸۶

شکل ۳۱-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم روتیفرها در غلظت ۰/۰۰۴ میلیگرم در لیتر فلز سنگین جیوه طی روزهای آزمایش. ۸۷

شکل ۳۲-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم روتیفرها در غلظت ۰/۰۰۸ میلیگرم در لیتر فلز سنگین جیوه طی روزهای آزمایش. ۸۷

شکل ۳۳-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیمار شاهد فلز سنگین جیوه (Hg) طی روزهای آزمایش. ۹۰

شکل ۳۴-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۰۰۰۵ میلیگرم در لیتر فلز سنگین جیوه (Hg) طی روزهای آزمایش. ۹۰

شکل ۳۵-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۰۰۱ میلیگرم در لیتر فلز سنگین جیوه (Hg) طی روزهای آزمایش..... ۹۱

شکل ۳۶-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۰۰۲ میلیگرم در لیتر فلز سنگین جیوه (Hg) طی روزهای آزمایش..... ۹۱

شکل ۳۷-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۰۰۴ میلیگرم در لیتر فلز سنگین جیوه (Hg) طی روزهای آزمایش..... ۹۲

شکل ۳۸-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۰۰۸ میلیگرم در لیتر فلز سنگین جیوه (Hg) طی روزهای آزمایش..... ۹۲

شکل ۳۹-۴- روند تغییر تراکم (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در روتیفرهای تیمار شاهد فلز سنگین نیکل (Ni) طی روزهای مختلف..... ۹۶

شکل ۴۰-۴- روند تغییر تراکم (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۰۲۵ میلیگرم در لیتر فلز سنگین نیکل (Ni) طی روزهای مختلف..... ۹۶

شکل ۴۱-۴- روند تغییر تراکم (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۰۵ میلیگرم در لیتر فلز سنگین نیکل (Ni) طی روزهای مختلف..... ۹۷

شکل ۴۲-۴- روند تغییر تراکم (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۱ میلیگرم در لیتر فلز سنگین نیکل (Ni) طی روزهای مختلف..... ۹۷

شکل ۴۳-۴- روند تغییر تراکم (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۲ میلیگرم در لیتر فلز سنگین نیکل (Ni) طی روزهای مختلف..... ۹۸

شکل ۴۴-۴- روند تغییر تراکم (بر حسب تعداد در میلی لیتر) در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۴ میلیگرم در لیتر فلز سنگین نیکل (Ni) طی روزهای مختلف..... ۹۸

شکل ۴۵-۴- نرخ رشد ویژهٔ جمعیت روتیفرها (به ازای روز) در غلظت‌های مختلف فلز سنگین نیکل..... ۱۰۰

شکل ۴۶-۴-روند تغییر نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم در روتیفرهای تیمار شاهد فلز سنگین نیکل طی روزهای آزمایش..... ۱۰۴

شکل ۴۷-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۰۲۵ میلیگرم در لیتر فلز سنگین نیکل طی روزهای آزمایش..... ۱۰۴

شکل ۴۸-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۰۵ میلیگرم در لیتر فلز سنگین نیکل طی روزهای آزمایش..... ۱۰۵

شکل ۴۹-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۱ میلیگرم در لیتر فلز سنگین نیکل طی روزهای آزمایش..... ۱۰۵

شکل ۵۰-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۲ میلیگرم در لیتر فلز سنگین نیکل طی روزهای آزمایش..... ۱۰۶

شکل ۵۱-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های دارای تخم به ماده‌های بدون تخم در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۴ میلیگرم در لیتر فلز سنگین نیکل طی روزهای آزمایش..... ۱۰۶

شکل ۵۲-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیمار شاهد فلز سنگین نیکل طی روزهای آزمایش. ..... ۱۱۰

شکل ۵۳-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۰۲۵ میلیگرم در لیتر فلز سنگین نیکل طی روزهای آزمایش..... ۱۱۱

شکل ۵۴-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۰۵ میلیگرم در لیتر فلز سنگین نیکل طی روزهای آزمایش..... ۱۱۲

شکل ۵۵-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۱ میلیگرم در لیتر فلز سنگین نیکل طی روزهای آزمایش..... ۱۱۲

شکل ۵۶-۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۲ میلیگرم در لیتر فلز سنگین نیکل طی روزهای آزمایش..... ۱۱۳

۵۷- ۴- روند تغییر نسبت ماده‌های میکتیک به ماده‌های آمیکتیک در روتیفرهای تیماردهی شده با غلظت ۰/۴ میلیگرم در لیتر فلز سنگین نیکل طی روزهای آزمایش..... ۱۱۳

# فصل اول
# مقدمه و کلیات

**۱- ۱- مقدمه**

امروزه نیاز روز افزون جمعیت رو به رشد جهان به مواد غذایی، بویژه پروتئین حیوانی، سبب شده بشر از همه امکانات و زمینه‌ها جهت تامین آن استفاده نماید. از زمینه‌های مهم تامین غذای سالم، آبزی‌پروری است، که هم اکنون در سرتاسر جهان پیشرفت قابل توجهی کرده است.

یکی از نیازهای بسیار ضروری و اولیه آبزی‌پروری تأمین لارو با کیفیت بالا است. توسعه کمی و کیفی لاروها از موضوعاتی است که بشر آن را جستجو می‌کند. در مراکز تکثیر و پرورش ماهی در بخش پرورش لارو تدابیر خاصی در رابطه با غذا، بهداشت، بیماری، کیفیت، کمیت آب و ...اتخاذ می-شود تا دستیابی به لارو با کیفیت بالا امکان پذیر گردد. لارو ماهیان در مراحل اولیه بسیار حساس بوده و کمیت، کیفیت غذا و اندازه غذا بر روی رشد و نمو آن‌ها تاثیر به سزایی دارد و ضروری است در هر مرحله از رشد غذای خاصی مطابق گونه مورد نظر در اختیار لارو قرار گیرد (زنده بودی، ۱۳۷۴). در این رابطه پایان یافتن تغذیه از کیسه زرده مرحله‌ای بحرانی در دوره لاروی ماهی است. لارو ماهی نیاز به مواد مغذی مناسب و اختصاصی دارد (Rabelahatra, 1982; Jungwirth *et al*, 1989).

یکی از تنگناها و مشکلات پرورش دهندگان ماهی، تأمین تعداد کافی بچه ماهی انگشت قد 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 وابستگی کامل دارد (Arimoro, 2006). غذای زنده در پرورش گونه‌های زیادی از ماهیان پرورشی اهمیت بسزایی دارد ( Opuszynski *et al*, 1984; Whyte *et al* 1989; Santiago *et al*, 1989). روتیفرها غذای زنده با ارزشی برای تغذیه مرحله لاروی بیشتر گونه‌های ماهیان می‌باشند. چندین مشخصه روتیفرها از جمله اندازه بسیار کوچک ، معلق ماندن در ستون آب، سرعت تولید مثل

بالا و رسیدن به تراکم بالا در محیط کشت آزمایشگاهی و محیط کشت انبوه و حرکت نسبتاً آهسته (که باعث شده شکار خوبی برای لاروهای فعال باشند)، موجب شده تا مورد توجه پرورش دهندگان قرار گیرند (Lubzens *et al*, 1989). این موجودات از گروه‌های زئوپلانکتونی عمده آب‌های شیرین و زیست بوم‌های ساحلی دریایی در سراسر جهان بوده و موجودات مناسبی برای بررسی تأثیرات مواد آلاینده از جمله فلزات سنگین، ترکیبات ارگانوفسفره و آفت‌کش‌ها به شمار می‌روند. 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 (Kefuku & Ikenou, 1983; Snell *et al* 1987). روتیفرها همچنین می‌توانند با انواع غذاهای حاوی اسیدهای چرب ضروری غنی سازی شوند. این موجودات به صورت غیر انتخابی آب را فیلتر می‌کنند و به همین دلیل مواد آلاینده خصوصاً فلزات سنگین به راحتی در بدن آنها ذخیره می‌شوند. با توجه به اهمیت زئوپلانکتون‌ها به ویژه روتیفرها در هر پیکره آبی، طی مطالعه‌ای به شناسایی فون زئوپلانکتونی مخازن آبی چاه‌نیمه‌های سیستان پرداخته شد. در این مطالعه روتیفر گونه *B. calyciflorus* نیز در این مخازن شناسایی شد(قرایی و همکاران، ۱۳۸۹). این گونه روتیفر یکی از گونه‌هایی است که جهت تغذیه لارو ماهیان مطرح است (Mitchel and Joubert, 1986).

مطالعات زیادی در زمینه بررسی اثرات فلزات سنگین بر اجتماعات پلانکتونی خصوصاً روتیفرها صورت گرفته است (Luna-Andrade *et al*, 2002; Muyssen & Janssen, 2002; Grosel *et al*, 2006; Arulvasu *et al* 2010; Sarma *et al*, 2010).

فلزات سنگین عناصری هستند که بواسطه عواملی از قبیل فرسایش و هوازدگی به طور طبیعی در اکوسیستم‌های آبی یافت می‌شوند. فلزات سنگینی که بیشترین نقش را در آلودگی آب‌ها دارند شامل روی، مس، سرب، کادمیوم، جیوه، نیکل و کروم می‌باشند (Abel, 1989., Seymore, 1994., Viljoen,

1999). این فلزات از طریق زنجیره‌های غذایی منتقل شده و باعث تجمع زیستی در بافت‌های مختلف آبزیان و نهایتاً مرگ و میر آبزیان می‌شوند (Farkas *et al*, 2002). غذا به فرم پلانکتونی منبع مهمی برای غنی سازی فلزات سنگین در بدن ماهیان می‌باشد (Novelli *et al*, 1998)، به طوری که به واسطه انباشتگی زیستی باعث افزایش آلاینده‌ها در زنجیره غذایی می‌شود (Nogami *et al*, 2000). حضور فلزات سنگین در محیط‌های آبی تا حدودی بواسطه پروسه‌های طبیعی و تا حدود زیادی ناشی از پساب‌های صنعتی می‌باشد (Mansour and Sidky, 2002). به هر حال روتیفرها به خاطر روابط اکولوژیکی، ویژگی‌های زیستی و قابلیت دستکاری (عملی بودن)، موجودات جالبی برای بررسی سمیت در محیط‌های آبی هستند. روتیفرهای جنس *Brachionus* بویژه *B. calyciflorus* بواسطه پراکنش جهانی، تولید مثل سریع، دوره تولید مثلی کوتاه، کشت آسان و دسترسی آسان به تخم‌های نهفته آن-ها، به طور ویژه به عنوان موجودات آزمایشگاهی جهت مطالعات سم شناسی محیطی مطرح هستند (Halbach *et al*, 1983). به طور کلی روتیفرها یکی از اجزاء اصلی زیست بوم‌های آب شیرین هستند (Snell and Maffat, 1992). در میان زئوپلانکتون‌ها، روتیفرها به کرات برای پایش فلزات سنگین به کار رفته‌اند (Luna-Andrade *et al*, 2002). این موجودات همچنین بواسطه طول عمر نسبتاً کوتاه، هماوری بالا و نرخ رشد بالای آن‌ها، برای آزمایشات سمیت مزمن مطلوب هستند (Sarma, 2000). روتیفر گونه *B.calyciflorus* توسط جامعه مواد و آزمایش آمریکا به منظور تعیین استانداردهای آلودگی، به عنوان موجود زیست سنج استاندارد مورد استفاده قرار گرفت (Snell and Janssen, 1995). در تحقیق حاضر سعی شد تا اثر فلزات سنگین مس، جیوه و نیکل بر رشد و تولید مثل روتیفر آب شیرین *B.calyciflorus* مورد بررسی قرار گرفته و به سؤال‌های زیر پاسخ داده شود.

آیا سرعت رشد و تولید مثل روتیفر آب شیرین *B.calyciflorus* تحت تأثیر فلزات سنگین مس، جیوه و نیکل قرار می‌گیرد؟

کدامیک از این عناصر تأثیر بیشتری بر رشد و تولید مثل این گونه خواهد داشت؟

بر اساس این سؤالات فرضیه‌های زیر مطرح می‌شود:

غلظت‌های متفاوت فلزات سنگین مس، جیوه و نیکل، اثر معنی‌داری بر رشد و تولید مثل روتیفر آب شیرین *B. calyciflorus* خواهد داشت.

میزان سمیت فلزات سنگین مس، جیوه و نیکل بر رشد و تولید مثل *B.calyciflorus* یکسان نیست.

با انجام این آزمایش‌ها در پایان آزمایش اهداف زیر نایل خواهد شد:

بررسی میزان حساسیت روتیفر آب شیرین *B.calyciflorus* نسبت به فلزات سنگین مس، جیوه و نیکل

بررسی اثر دوزهای متفاوت این فلزات بر نرخ رشد و تولید مثل این موجود

**۱-۱-۱- ضرورت انجام تحقیق**

روتیفرها از گروه‌های زئوپلانکتونی عمده آب‌های شیرین و اکوسیستم‌های ساحلی دریایی در سراسر جهان بوده و نشانگرهای مناسبی برای بررسی تأثیرات مواد آلاینده از جمله فلزات سنگین، ترکیبات ارگانوفسفره و آفت‌کش‌ها به شمار می‌روند. در کارگاه‌های تکثیر ماهی و میگو، روتیفرها به عنوان کپسول‌های غذایی زنده (کپسول‌های زیستی)، که مواد غذایی ماکرو و میکرو، ویتامین‌ها و حتی آنتی‌بیوتیک‌ها را به لارو ماهی‌ها انتقال می‌دهند، مورد توجه قرار دارند. روتیفر آب شیرین *B.calyciflorus* غذای مناسبی برای لارو ماهیان زینتی و گونه‌های متعددی از ماهی‌های خوراکی پرورشی آب شیرین است. این گونه روتیفر نسبت به مواد آلاینده و سمی حساس بوده و یکی از موجودات شاخص محیط‌های آبی به شمار می‌رود. بدین ترتیب با توجه به اهمیت روتیفر به عنوان

غذای زنده، کاربرد آن به عنوان غذای ماهی و نهایتاً مصرف ماهی توسط انسان، بررسی حساسیت این موجودات به عنوان شاخص آلودگی در محیط‌های آبی امری ضروری است.

## ۲-۱- کلیات

### ۱-۲-۱- بیولوژی و سیستماتیک روتیفرها

شاخه روتیفرها شامل ۳ رده، ۱۲۰ جنس و حدود ۲۰۰۰ گونه است. اندازه آن‌ها دامنه‌ای از ۱۰۰ تا ۲۵۰ میکرون دارد. این موجودات در زیستگاه‌های آبزی و نیمه آبزی که ۹۰٪ آن آب شیرین است، زندگی می‌کنند (آذری تاکامی و امینی چرمهینی، ۱۳۸۷). روتیفرهای نر از نظر اندازه بدنی کوچکتر از ماده‌ها و از نظر تکاملی رشد کمتری نسبت به ماده‌ها از خود نشان داده‌اند، به طوری که برخی از آن‌ها حدود ۶۰ میکرون اندازه گیری شده‌اند (حافظیه و حسین پور، ۱۳۸۶). اغلب گونه‌ها دارای شنای آزاد وگیاه خوار، باکتری خوار یا شکارچی‌اند. روتیفرها اغلب به وسیله شنا کردن یا خزیدن حرکت می‌کنند، اما برخی چسبنده بوده و به صورت دائمی به گیاهان می‌چسبند (آذری تاکامی و امینی چرمهینی، ۱۳۸۷). این موجودات قبلاً به عنوان روتاتوریا (چرخان تنان) شناخته می‌شدند و شامل گروه‌های کوچکی از بی مهرگان آبزی با تقارن دوطرفی می‌باشند. اگرچه روتیفرها از نظر اندازه کوچک بوده ولی در محیط‌های آب شیرین فوق العاده با اهمیت می‌باشند و بیش از ۳۰٪ بیومس کل پلانکتونی را شامل می‌شوند .روتیفرها با مصرف باکتری‌ها و یا جلبک‌ها بین تولید کنندگان اولیه و مصرف کنندگان ثانویه یا شکارچیانی از قبیل لارو حشرات و ماهیان ارتباط برقرار می‌کنند ( STø ttrup and McEvoy, 2003).

Ricci و Balsamo (2000) روتیفرها را به صورت زیر طبقه‌بندی کرده‌اند.

شاخه روتیفرها (Rotifera) شامل سه رده می‌باشد

رده Monogononta که حدوداً شامل ۱۸۰۰ گونه می‌باشد.

رده Bdelloidea که حدوداً شامل ۳۶۰ گونه می‌باشد.

رده Seisonidae که شامل ۲ گونه می‌باشد.

روتیفر آب شیرین *B. calyciflorus* مربوط به راسته Ploima می‌باشد که بزرگترین راسته از رده Monogononta می‌باشد. روتیفرهای راسته Ploima دو نوع ماده دارند که به طور ظاهری قابل تشخیص است. ماده‌های آمیکتیک[1] که در بیشتر طول سال توانایی تولید مثل دارند و بیشتر از طریق بکرزایی تخم‌های ۲n کروموزومی تولید می‌کنند. ماده‌های میکتیک[2] فقط دوره کوتاهی از سال دیده می‌شوند و تخم‌های n کروموزومی تولید می‌کنند که بعد از باروری تخم‌های ۲n کروموزومی تولید می‌شود که به نام تخم‌های نهفته معروف است. اگر ماده‌های میکتیک بارور نشوند تخم‌های نر تولید می‌شود که این تخم‌ها هاپلوئید بوده و به سرعت هچ شده و نرها تولید می‌گردند (احمدی فرد، ۱۳۸۵).

رده Seisionidae انواع دریایی غیر معروفند و رده Bdeloidea گروهی کرمی شکل بوده و تولید مثل آن‌ها کاملاً غیر جنسی است (تولید مثل جنسی در آن‌ها دیده نمی‌شود). *B. calyciflorus* و *B. rubens* مهمترین گونه‌های رده Monogononta (تک تخمکان) هستند (آذری تاکامی و امینی چرمهینی، ۱۳۸۷). راسته Ploima شامل ۷ خانواده مهم می‌باشد که خانواده Brachionidae از آن جمله است. این خانواده شامل ۶ جنس از روتیفرهای معمول است که جنس *Brachionus* با حدود ۲۵ گونه از روتیفرهای پلانکتونی و لیتورالی در آن جای دارد (احمدی فرد، ۱۳۸۵).

[1]- Amictic female
[2]- Mictic female