



Effect of Different Concentrations of Diuron Herbicide on Chlorophyll a and Growth Rate of Blue-green Algae; *Anabaena flos-aquae*

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Fallahi Kapourchali M.* PhD,
Rahbary SH.¹ MSc,
Shamsaei M.¹ PhD

How to cite this article

Fallahi Kapourchali M, Rahbary SH, Shamsaei M. Effect of Different Concentrations of Diuron Herbicide on Chlorophyll a and Growth Rate of Blue-green Algae; *Anabaena flos-aquae*. Journal of Fisheries Science and Technology. 2018;7(2):95-100.

*Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSR), Agriculture Research Education & Extension Organization (AREEO), Bandar-e Anzali, Iran

¹Science & Technology Wood & Fisheries Department, Natural Resources & Environment Faculty, Science & Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Correspondence

Address: Natural Resources & Environment Faculty, Floor 3, Ibn Sina Building Science & Research Branch, Islamic Azad University, Shohadaye Hesarak Boulevard, Islamic Azad university Square, Shahid Sattari Highway, Tehran, Iran.
Postal code: 1477893855
Phone: +98 (13) 34533721
Fax: +98 (13) 34533722
m_fallahi2011@yahoo.com

Article History

Received: January 30, 2018
Accepted: August 1, 2017
ePublished: June 21, 2018

ABSTRACT

Aims The aim of this study was to investigate the effect of Diuron in vitro on the growth rate of *Anabaena flos-aquae* in order to determine the toxicity of diuron by calculating EC_{10} , EC_{50} , EC_{90} and MAC value for this alga to control flourishing in this phytoplankton.

Materials & Methods In this experimental research, the growth rate of *Anabaena flos-aquae* was investigated under the influence of diuron. This experiment was conducted in 96 days with 6 treatments (0.0005, 0.009, 0.016, 0.03, 0.054, and 0.01 mg/l), 1 control group, and 3 repetitions of the treatments in 500cc Erlenmeyer flasks. The growth rate was measured, using cell counting, turbidimetric measurement, and chlorophyll a measurement methods. Then, achieved quantities of EC were used in four 500cc Erlenmeyer flasks and the concentration of algae was evaluated through cell counting in 24-hours periods during 96 hours. Using SPSS 17 software, one-way ANOVA was used to compare the increase percentages between different treatments.

Findings Quantities of EC_{10} , EC_{50} , EC_{90} , and Mac value of this toxicant for the algae according to chlorophyll a concentration were reported 0.006, 0.01, 0.05, and 0.001 mg/l, respectively. The frequency of *Anabaena flos-aquae* was significantly different in presence of concentrations obtained from EC indices and decreased sharply in EC_{90} quantities.

Conclusion The use of diuron in the proposed concentrations reduces its risk from the perspective of toxicity and contamination of other components of the ecosystem and it is more effective in this group of algae.

Keywords *Anabaena flos-aquae*; Diuron; Growth Rate; Chlorophyll a

CITATION LINKS

[1] Biological control of excessive phytoplankton growth and the enhancement of aquacultural production [2] N:P ratios, Light and predictions of cyanobacterial dominance in a subtropical lake impacted by non-point source nutrient pollution [3] Food and Agriculture Organization of the United Nations ... [4] Rapid mineralization of the phenylurea herbicide diuron by *Variovorax* sp. SRS16 in pure culture and within a two-member consortium [5] Do cyanobacteria dominate in eutrophic lakes because they fix atmospheric nitrogen? [6] Physiological effects of sublethal doses of atrazine on *lemna minor* L. III. effect on soluble proteins and nucleic acids [7] Some aspects of the chemistry and acute toxicity of the iron ore flotation agent dimethyl ammonium alkyl hydroxamate and some related compounds to brook trout [8] Algal growth inhibition test, no. 201 [Internet]. Paris: OECD Guideline for Testing of Chemicals; 1984 [9] Effect of some herbicide commonly used in Iranian agriculture on aquatic food chain [10] OECD guidelines for the testing of chemicals, section 2, effects on biotic systems test [11] Standard practices for measurement of chlorophyll content of algae in surface waters (ASTM D3731-87) [12] Comparative toxicity of organotin compounds to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) yolk sac fry [13] Effects of cadmium on plasma catecholamines in the American eel, *Anguilla rostrata* [14] Microalgal sensitivity varies between a diuron-resistant strain and two wild strains when exposed to diuron and irgarol [15] The interactive effects of binary mixtures of three antifouling biocides and three heavy metals against the marine algae *Chaetoceros gracilis* [16] Assessment of toxicity thresholds in aquatic environments: Does benthic growth of diatoms affect their exposure and sensitivity to herbicides? [17] Performance evaluation of safety and protection Isomaltooligosaccharide prebiotics in reducing histopathological common carp (*Cyprinus carpio*) of different concentrations Pretilachlor

اثر غلظت‌های مختلف علف‌کش دیورون بر میزان کلروفیل a و رشد جلبک سبز- آبی *Anabaena flos-aquae*

مریم فلاحی کپورچالی * PhD

پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندر انزلی، ایران

شورا رهبری MSc

گروه علوم و صنایع چوب، کاغذ و شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

مهدی شمسایی PhD

گروه علوم و صنایع چوب، کاغذ و شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

اهداف: هدف تحقیق حاضر بررسی اثر سم دیورون در شرایط آزمایشگاهی بر نرخ رشد جلبک *Anabaena flos-aquae* (آکوا) بود تا با محاسبه مقادیر EC_{10} ، EC_{50} و EC_{90} و حد مجاز این سم برای این جلبک سبز- آبی، سمیت علف‌کش دیورون به‌منظور کنترل شکوفایی در این فیتوپلانکتون مشخص شود.

مواد و روش‌ها: در این آزمایش تجربی نرخ رشد جلبک سبز- آبی *Anabaena flos-aquae* تحت تأثیر علف‌کش دیورون بررسی شد. این مطالعه طی ۹۶ ساعت در ۶ تیمار ($0/0005$ ، $0/0009$ ، $0/0016$ ، $0/003$ ، $0/054$ و $0/1$ میلی‌گرم در لیتر) و شاهد و در ۳ تکرار داخل ارلن‌مایر های ۵۰۰ سی‌سی انجام شد. اندازه‌گیری نرخ رشد با روش‌های سلولی، سنجش کدورت و تعیین میزان کلروفیل a صورت گرفت. سپس مقادیر به‌دست‌آمده از شاخص‌های EC در ۴ ارلن ۵۰۰ سی‌سی اعمال شد و در دوره‌های ۲۴ ساعته طی ۹۶ ساعت تراکم این جلبک از طریق شمارش سلولی ارزیابی شد. با استفاده از نرم‌افزار SPSS 17 از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه به‌منظور مقایسه درصد افزایش بین تیمارهای مختلف استفاده شد.

یافته‌ها: مقادیر EC_{10} ، EC_{50} و EC_{90} و حد مجاز این سم، براساس میزان کلروفیل a برای جلبک مذکور به‌ترتیب $0/0006$ ، $0/01$ ، $0/05$ و $0/1$ میلی‌گرم بر لیتر تعیین شدند. فراوانی سلولی این جلبک سبز- آبی در حضور غلظت‌های به‌دست‌آمده از شاخص‌های EC اختلافات معنی‌داری داشت و در مقادیر EC_{90} بسیار کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: کاربرد دیورون در غلظت‌های کنترلی پیشنهاد شده، خطر آن را از بابت سمیت و آلودگی سایر اجزای اکوسیستم کاهش می‌دهد و بیشتر بر این گروه از جلبک‌ها موثر است.

کلیدواژه‌ها: جلبک *Anabaena flos-aquae*، آکوا، دیورون، نرخ رشد، کلروفیل a

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۱۰

*نویسنده مسئول: m_fallahi2011@yahoo.com

سبز- آبی در محیط پرورشی ماهیان گرمابی استفاده می‌شود، علف‌کش دیورون است که یک علف‌کش با حلقه فنیل اوره به حساب می‌آید^[3]. دیورون که معمولاً تحت نام تجاری کارمکس (Karmex)، دیرکس (Direx) و دیورون (Diuron) فروخته می‌شود، به‌طور گسترده‌ای برای کنترل پوشش گیاهی استفاده می‌شود. کاربردهای مهم آن شامل کنترل علف‌های هرز در باغ‌های مرکبات و ریشه یونجه است. دیورون در کنترل علف‌های هرز در مناطق زراعی و همچنین در آکواریوم‌های خانگی و استخرها برای جلوگیری از رشد جلبک‌ها و کنترل علف‌های هرز اطراف ساختمان‌ها، خطوط راه‌آهن و مسیرهای عبور و مرور کاربرد گسترده‌ای دارد و در مناطق شهری و صنعتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین به‌عنوان یک ماده فعال در رنگ‌های عایق ضدعفونی در چشمة و آبی‌پروری استفاده می‌شود^[4].

برخی محققان مانند فیر و همکاران و بیومونت و همکاران فراوانی جمعیت جلبک سبز- آبی *Oscillatoria چلیبا* (*Oscillatoria chalybea*) را در حضور دیورون به روش استاتیک در مدت ۹۶ ساعت، $0/2$ میلی‌گرم بر لیتر برآورد کردند^[5]. این شاخص برای جلبک سبز- آبی *اسپیروولینا پلاتنسیس* (*Spirulina platensis*)، $0/008$ میلی‌گرم بر لیتر بر رشد جمعیت این جلبک تعیین شد^[7].

زیمبا و همکاران در سال ۲۰۰۱ تأثیر کوتاه‌مدت دیورون را بر اکولوژی استخرهای گربه‌ماهی (Catfish) مورد ارزیابی قرار دادند و طی ۹ هفته، ۸ استخر $4/4$ هکتاری در مجاورت دیورون و ۷ استخر را به‌عنوان شاهد در نظر گرفتند. نتایج نشان داد که در مجاورت $0/1$ میلی‌گرم بر لیتر دیورون، جمعیت جلبک‌های سبز- آبی توسط دیاتومه‌ها جایگزین شده بودند. در مورد زئوپلانکتون‌ها، ناپلیوس کوبه‌پودها و کلادوسرها رو به کاهش رفته و جمعیت روتیفرها افزایش پیدا کرد^[8].

هدف تحقیق حاضر، بررسی اثر سم دیورون در شرایط آزمایشگاهی بر نرخ رشد جلبک *Anabaena flos-aquae* (آکوا) بود تا با محاسبه مقادیر غلظت موثر 10% بازدارنده رشد (EC_{10})، غلظت موثر 50% بازدارنده رشد (EC_{50}) و غلظت موثر 90% بازدارنده رشد (EC_{90}) و حد مجاز این سم برای این جلبک سبز- آبی، سمیت علف‌کش دیورون به‌منظور کنترل شکوفایی در این فیتوپلانکتون مشخص شود.

مواد و روش‌ها

در مطالعه تجربی حاضر، آزمایشات تعیین اثر سم بر جلبک، براساس روش استاندارد سازمان همکاری اقتصادی و توسعه انجام گرفت^[9]. نرخ رشد سلولی جلبک معیاری در برآورد اندازه‌گیری تأثیرات سم دیورون بود. ابتدا استوک جلبک سبز- آبی *Anabaena flos-aquae* آکوا ایزوله‌شده، در مقادیر 500 سی‌سی از پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی ایران تهیه شد و از محیط زاینده در کشت این جلبک استفاده شد. به‌منظور بررسی اثرات سمیت علف‌کش دیورون، ۶ تیمار پایه با غلظت‌های مختلف ($0/0005$ ، $0/0009$ ، $0/0016$ ، $0/003$ ، $0/054$ و $0/1$ میلی‌گرم بر لیتر) و یک شاهد در نظر گرفته شد. محیط کشت زاینده به میزان 250 میلی‌لیتر در ارلن‌مایرهای 500 میلی‌لیتری تقسیم شد. این آزمایش دارای ۳ تکرار بود و به روش ساکن (Static) اجرا شد. با توجه به جدول سطوح سمیت علف‌کش‌های مختلف (جدول ۱)، محدوده مناسبی از غلظت سم دیورون انتخاب و غلظت‌های مربوط به هر تیمار براساس محاسبات لگاریتمی تعیین شد. این مقادیر برای هر تیمار، بعد از ۳ بار تکرار آزمایش، برای جلبک سبز- آبی *Anabaena flos-aquae* بین $0/1$ - $0/005$ میلی‌گرم

مقدمه

بررسی زنجیره‌های غذایی در اکوسیستم‌های آبی برای تهیه و تولید غذای زنده، یکی از موضوعات اساسی است که توجه متخصصان زیادی را به خود معطوف داشته و آنها مایلند به روش‌هایی دست پیدا کنند که با فراهم‌نمودن شرایط محیطی مناسب، غذاهای طبیعی لازم را برای آبزیان پرورشی تولید نمایند. یکی از این روش‌ها استفاده از مواد بارورکننده (کودها) در استخرهای پرورش ماهی است^[1].

سیانوباکترها در تراکم‌های بالا در رنگ آب تغییر ایجاد می‌کنند و باعث بروز طعم و بو در آب می‌شوند؛ به کیفیت مطلوب آب اکوسیستم آسیب رسانده و به دلیل شرایطی که پس از تجزیه‌شدنشان به وجود می‌آید (کاهش اکسیژن محلول و غلظت آمونیوم بالا) یا با تولید سم، سبب آسیب به دیگر جانداران آبی می‌شوند. در مناطق ساحلی دریاچه کم‌عمق، نسبت N: P به‌طور بالقوه سبب ریزش سیانو باکتری‌های تثبیت‌کننده ازت می‌شود^[2]. یکی از موادی که به‌منظور کنترل پدیده شکوفایی جلبک‌های

برای افزودن جلبک به محیط کشت درون ارلن‌ها، مقدار جلبک مورد نظر بر مبنای وزن توده خشک یک میلی‌گرم جلبک در لیتر محاسبه شد [10]. پس از کشت و پیش از انتقال ارلن‌ها به میز کشت، ۲ میلی‌لیتر نمونه از هر تیمار و شاهد برای شمارش اولیه جلبک‌ها برداشت و توسط فرمالین ۳۷٪ فیکس شد. سپس با قراردادن پیپت‌های هوا بر در ارلن‌ها، آنها را به میز کشت جلبک که به لامپ‌های فلورسنت مجهز بود، منتقل کرده تا در شرایط آزمایشگاهی مناسب رشد جلبک‌ها (میزان نور 350 ± 350 لوکس که به‌صورت ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی تنظیم شده و درجه حرارت $20 \pm 2^\circ\text{C}$) قرار داده شود. آزمایشات تعیین سمیت حاد، طی ۹۶ ساعت انجام پذیرفت که پس از سپری شدن این زمان، عمل هوادهی قطع و برای شمارش پس از ۹۶ ساعت جلبک‌ها، ۲ میلی‌لیتر نمونه از تمامی تیمارها برداشت و توسط فرمالین ۳۷٪ فیکس شد [11].

جدول ۱) سطوح سمیت علف‌کش‌های مختلف [17]

رده سمیت	غلظت (میلی‌گرم در لیتر)	کیفیت سمیت
A	> 500	غیرسمی
B	$100-500$	کمی سمی
C	$10-100$	سمی متوسط
D	$1-9$	سمی
E	< 1	خیلی سمی

برای اندازه‌گیری نرخ رشد از ۳ روش شمارش سلولی، سنجش کدورت و تعیین میزان کلروفیل a استفاده شد. در روش اول، از لام توما و میکروسکوپ نوری نیکون مدل E200 (NIKON؛ ژاپن) استفاده شد. برای شمارش تعداد سلول‌های جلبک در نمونه‌های اولیه (پیش از ۹۶ ساعت) و ثانویه (پس از ۹۶ ساعت)، یک قطره توسط پیپت از هر نمونه برداشت و روی مربع بزرگ ریخته شد و روی هر قطره یک لامل قرار گرفت [10]. سپس تعداد کل جلبک سبز- آبی در مربع بزرگ شمارش و با توجه به حجم مربع میزان در یک‌سی‌سی محاسبه می‌شود.

در روش دوم، پس از ۹۶ ساعت و برداشت نمونه ۲ میلی‌لیتری برای شمارش، از هر ارلن به میزان ۱۰ میلی‌لیتر برداشت شد تا مقدار کدورت موجود در هر یک از نمونه‌ها، توسط دستگاه اسپکتوفتومتر مدل 2000-DR (HACH؛ ایالات متحده) در طول موج ۷۵۰ نانومتر (برای اندازه‌گیری کدورت) خوانده شود. بدین ترتیب، میزان جذب نوری ناشی از کدورت در هر نمونه محاسبه شد.

در روش سوم، برای اندازه‌گیری کلروفیل a از روش استاندارد ASTM استفاده شد [12]. برای این کار، نمونه‌های ۳ تکرار از هر تیمار و شاهد با هم ادغام شدند. سپس هر کدام از نمونه‌های فیتوپلانکتونی توسط کاغذ فیلتر G.F.F (قطر کاغذ ۴۵/۴۵ میکرون است) روی پمپ خلا فیلتر شد. کاغذ مذکور از پمپ خارج و داخل یک لوله آزمایش قرار داده شد و ۱۰ سی‌سی الکل اتیلک به آن اضافه شد. در مرحله بعد لوله آزمایش در هم‌زن (shaker) قرار داده شد. پس از هم‌گن‌شدن به بن‌ماری منتقل شد و دمای بن‌ماری پس از گذشت ۲۰ دقیقه به $75-78^\circ\text{C}$ رسید. پس از این زمان کلروفیل از الکل استخراج شد. نمونه را سانتریفیوژ نموده و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل 2000 UV (Hitachi؛ ژاپن)، یک‌بار توسط اسید کلریدریک ۲ نرمال و یک‌بار بدون اسید با جذب در طول موج‌های ۷۵۰ و ۶۶۵ نانومتر خوانده و در فرمول زیر جاگذاری شد. در پایان، میزان کلروفیل a بر حسب میکروگرم بر

$$\frac{V}{V'} \times (A - A) - (b - b)$$

جذب محلول قبل از افزایش اسید = ۶۶۵ b

جذب محلول قبل از افزایش اسید = ۷۵۰ b

جذب محلول بعد از افزایش اسید = ۶۶۵ A

جذب محلول بعد از افزایش اسید = ۷۵۰ A

حجم الکل به سی‌سی = V، حجم آب فیلترشده به لیتر = V'

مقادیر EC_{10} (غلظت موثر ۱۰٪ بازدارنده رشد)، EC_{50} (غلظت موثر ۵۰٪ بازدارنده رشد)، EC_{90} (غلظت موثر ۹۰٪ بازدارنده رشد) و حد مجاز (MAC value) این سم برای این جلبک براساس روش شمارش سلولی و تعیین میزان کلروفیل a تعیین شد. در مرحله بعدی آزمایشات طی مطالعه‌ای، در ۳ ارلن حاوی جلبک سبز- آبی *آنابنا فلوس* که در حد شکوفایی (تغییر رنگ ملموس و واضح) قرار داشتند و مقادیر EC_{10} ، EC_{50} ، EC_{90} در ارلن‌ها اعمال شد. نمونه‌برداری به‌منظور شمارش سلولی برای هر کدام از ارلن‌های حاوی جلبک مورد آزمایش، طی زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعته انجام پذیرفت.

با توجه به اینکه داده‌های درصد افزایش دارای توزیع نرمال بودند (آزمون شاپیرو- ویلک)، با استفاده از نرم‌افزار SPSS 17 از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه به‌منظور مقایسه درصد افزایش بین تیمارهای مختلف استفاده شد.

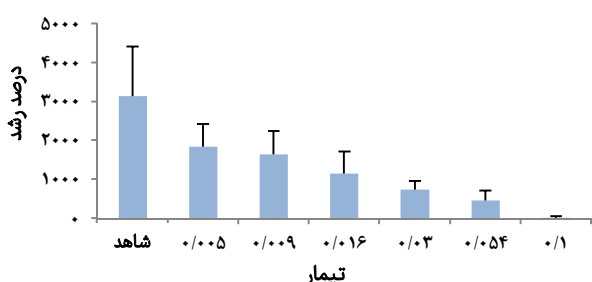
یافته‌ها

حجم توده زیستی جلبک سبز *آنابنا فلوس* در حضور علف‌کش دیورون کاهش یافت. مقادیر EC_{10} ، EC_{50} و EC_{90} با دو روش شمارش سلولی و تعیین میزان کلروفیل a محاسبه شدند. در روش کدورت‌سنجی، تنها روند کاهشی جمعیت جلبک‌ها در هر یک از تیمارها تایید شد. با مقایسه مقادیر متفاوت از هر کدام از این روش‌ها، شاخص‌های مورد نظر در این مطالعه براساس اندازه‌گیری کلروفیل a در نظر گرفته شد.

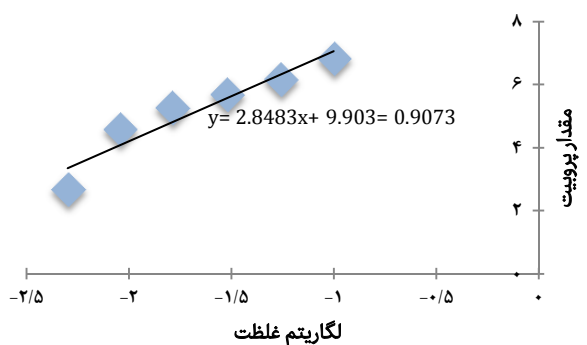
نتایج براساس شمارش سلولی: مقادیر موثر سم دیورون بر جلبک سبز- آبی *آنابنا فلوس* ارایه شد (جدول ۲). حد مجاز دیورون برای این جلبک 0.0009 میلی‌گرم بر لیتر بود. در شاهد بیشترین درصد رشد و در غلظت 0.1 میلی‌گرم بر لیتر کمترین رشد مشاهده شد (نمودار ۱).

جدول ۲) مقادیر موثر سم دیورون بر جلبک *آنابنا فلوس* براساس شمارش سلولی (مقادیر به میلی‌گرم در لیتر)

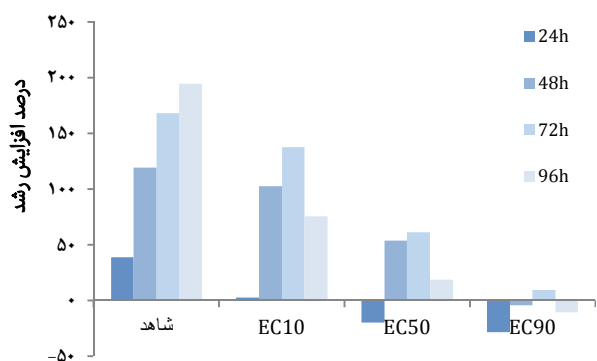
نام علف‌کش	حداقل غلظت آلوئولی	EC_{10}	EC_{50}	EC_{90}
سم دیورون	0.0009	0.002	0.009	0.043



نمودار ۱) درصد افزایش کلروفیل نسبت به آغاز در جلبک *آنابنا فلوس* در حضور دیورون براساس شمارش سلولی



نمودار ۴) معادله خط و ضریب هم بستگی و را بطة لگاریتمی غلظت با مقدار پروبیت در تاثیر علفکش دیورون بر تراکم زیستی آنابنا فلوس براساس اندازه گیری کلروفیل a



نمودار ۵) ارزیابی رشد جلبک آنابنا فلوس در هر دوره ۲۴ ساعته طی ۹۶ ساعت براساس شمارش سلولی

بحث

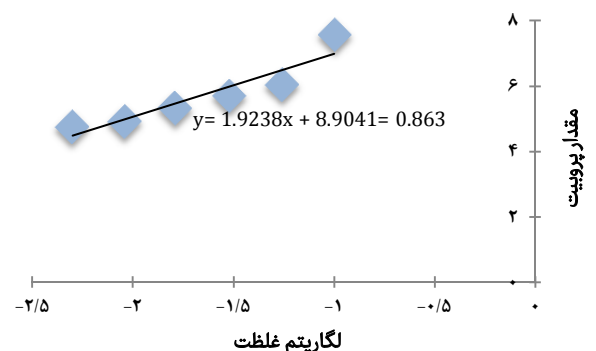
با مقایسه مقدار به دست آمده برای EC_{10} با اعداد جدول سطوح سمیت علفکش های مختلف، می توان دریافت که علفکش دیورون برای جمعیت جلبک سبز- آبی آنابنا فلوس بسیار سمی است و در رده E این جدول واقع می شود و چنانچه به میزان بیشتری از EC_{10} وارد اکوسیستم های آب شیرین شود، قطعاً جمعیت این جلبک در اکوسیستم های پرورشی، آسیب جدی خواهد دید. البته با توجه به اهداف موجود در این مطالعه، می توان گفت که این ماده اثر لازم برای کنترل شکوفایی جمعیت این جلبک را دارد.

نمودار خط رگرسیونی غلظت های تاثیرگذار علفکش دیورون در تیمارهای مورد مطالعه بر روند نزولی رشد با افزایش غلظت دیورون تاکید داشته است. همچنین تیمار شاهد بیشترین رشد را داشته و در حضور دیورون، تیمار ۱ رشد بیشتر و تیمار ۶ رشد کمتری را نسبت به سایر تیمارها دارند. این نتایج در هر دو روش اندازه گیری

رشد (شمارش سلولی و تعیین میزان کلروفیل a) مشاهده شد. مقایسه مقادیری که برای شاخص های EC از دو روش شمارش سلولی و اندازه گیری کلروفیل a به دست آمد نشان می دهد که اعداد حاصل از روش دوم سطح بالاتری از دوزهای تاثیرگذار دیورون را نسبت به روش شمارش سلولی به خود اختصاص داده است. طول رشته سلول های آنابنا فلوس در تیمار اول نسبت به شاهد کوچک تر شده و اندازه هتروسیست های آن نیز کاهش یافته است که این روند با افزایش غلظت دیورون در تیمارهای بعد افزایش پیدا کرد، به طوری که در تیمار نهایی، تعداد سلول در هر رشته از آنابنا به میزان ۴ تا ۶ عدد رسید و رشد آن کاسته شد.

در ارزیابی های ۲۴ ساعته در حضور دیورون، نتایج زیر مورد توجه

بین تیمارهای مورد بررسی از نظر درصد افزایش رشد اختلاف مشاهده نشد ($F=2/750$; $p=0/056$) بین تیمارهای ذیل به صورت جفتی از نظر میانگین اختلاف معنی دار مشاهده شد (شاهد - ۰/۱) (شاهد - ۰/۵۴) (شاهد - ۰/۰۳). همبستگی بین مقدار پروبیت و لگاریتم غلظت نشان داده شد ($n=6$; $r=0/93$; $p=0/007$; نمودار ۲). بین فاکتور مقدار پروبیت و لگاریتم غلظت رابطه رگرسیون خطی برقرار است ($p>0/05$; نمودار ۲).



نمودار ۲) معادله خط و ضریب هم بستگی و رابطه لگاریتمی غلظت با مقدار پروبیت در تاثیر علفکش دیورون بر تراکم زیستی آنابنا فلوس براساس شمارش سلولی

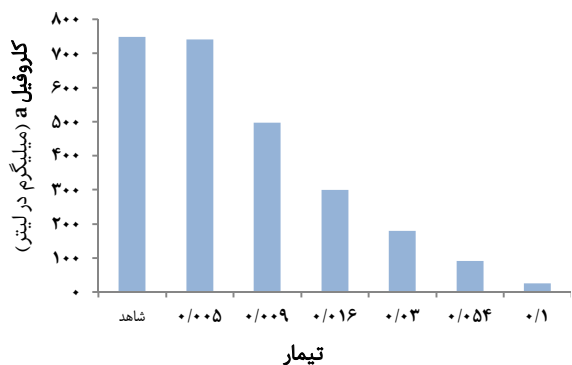
نتایج براساس میزان کلروفیل a: مقدار حد مجاز دیورون بر جلبک آنابنا فلوس، ۰/۰۰۱ میلی گرم بر لیتر بوده و مقادیر EC های مختلف آن ارایه شد (جدول ۳). همچنین درصد افزایش رشد این جلبک براساس کلروفیل a تحت تاثیر دیورون در شاهد بیشترین و در ۰/۱ میلی گرم بر لیتر کمترین مقدار بود (نمودار ۳).

همبستگی بین Probit value و لگاریتم غلظت نشان داده شد ($n=6$; $r=0/95$; $p=0/007$; نمودار ۴). بین فاکتور مقدار پروبیت و لگاریتم غلظت رابطه رگرسیون خطی برقرار است ($p<0/01$).

میزان رشد جلبک طی ۲۴ ساعت اول تحت تاثیر دیورون به شدت کاهش یافت ولی در زمان ۴۸ و ۷۲ ساعت از شروع آزمایش بالا رفت و سپس در ۹۶ ساعت کاهش یافت. در حالی که در شاهد که عاری از دیورون بود از ۲۴ ساعت تا ۹۶ ساعت به تدریج افزایش یافت (نمودار ۵).

جدول ۳) مقادیر موثر سم دیورون بر آنابنا فلوس براساس اندازه گیری کلروفیل a (مقادیر به میلی گرم در لیتر)

نام علفکش	حد اقل غلظت آلئولی	EC_{10}	EC_{50}	EC_{90}
سم دیورون	۰/۰۰۱	۰/۰۰۶	۰/۰۱	۰/۰۵



نمودار ۳) میزان کلروفیل a در جلبک آنابنا فلوس در حضور دیورون

سالیستیرانس (*Chaetoceros calcitrans*) و *تتراسلمیس* *سوسیکا* (*Tetraselmis suecica*) از شاخه دیاتومه‌ها نداشته است [15]. لذا در مقایسه با نتایج مطالعه حاضر مشاهده می‌شود که میزان ۰/۰۰۲ میلی‌گرم دیورون ۱۰٪ از تراکم *آنابنا فلوس* را کاهش می‌دهد. همچنین ۰/۰۰۶ میلی‌گرم از دیورون به میزان ۱۰٪ از مقدار کلروفیل a این جلبک را کاهش داده است. مقایسه این دو تحقیق نشان می‌دهد که جلبک‌های *چائتوسروس سالیستیرانس* و *تتراسلمیس سوسیکا* در مقایسه با جلبک *آنابنا فلوس* نسبت به دیورون مقاوم‌تر هستند و تاثیر این ماده بر جلبک‌های سبز- آبی بیش از دیاتومه‌ها است.

اثرات دیورون بر فیتوپلانکتون در تعدادی از مطالعات گزارش شده است. کوتسافتیس و آیوما مقدار LC50 (غلظت کشنده ۵۰٪) دیورون بر رشد جلبک *چائتوسروس گراسیلیس* (*Chaetoceros gracilis*) را ۳۶ میکروگرم گزارش نمودند [15].

با توجه به نتایج کنونی میزان EC50 دیورون برای جلبک *آنابنا فلوس* ۹ میکروگرم است. همچنین طبق نتایج مطالعه حاضر میزان EC50 دیورون بر مقدار کلروفیل جلبک *آنابنا فلوس*، ۱۰ میکروگرم بوده که در مقایسه با نتایج این محققان نشان‌دهنده حساسیت زیادتر و مقاومت کمتر جلبک سبز- آبی *آنابنا فلوس* نسبت به دیورون است.

لارس و همکاران حساسیت دیاتومه‌های بنتیکی را نسبت به دیورون در شرایط پلانکتونی و بنتیکی مورد ارزیابی قرار دادند [16]. آنها مقدار EC50 را برای شرایط پلانکتونی و بنتیکی به ترتیب ۴/۲۷ و ۹/۵۰ میکروگرم بر لیتر براساس نرخ رشد ۲۴ ساعته تخمین زدند. لذا مقایسه رقم دیورون روی دیاتومه‌های پلانکتونی با نتایج این تحقیق روی جلبک سبز- آبی *آنابنا فلوس* نشان می‌دهد که دیاتومه‌ها نسبت به دیورون مقاوم‌تر هستند.

با توجه به محدودیت‌های اعتباری بررسی نتایج حاصله در محیط‌های بزرگتر مانند استخرها صورت نگرفت.

پیشنهاد می‌شود اثر دیورون در استخرهای پرورش ماهیان مورد بررسی و تاثیر آن بر جلبک‌های سبز- آبی مطالعه شود. همچنین پیشنهاد می‌شود اثر دیورون بر سایر شاخه‌های فیتوپلانکتونی و ژئوپلانکتونی و نیز ماهیان مورد مطالعه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

دیورون از علف‌کش‌های جایگزین‌شده با ساختمان اوره است که می‌تواند در صنعت پرورش ماهیان گرمابی برای کنترل بلوم‌های جلبک‌های سبز- آبی مضر به کار گرفته شود. زیرا این جلبک‌ها تنها دارای کلروفیل a بوده و این ماده نیز بیشترین تاثیر را بر تخریب این کلروفیل دارد. بنابراین کاربرد دیورون در غلظت‌های کنترلی پیشنهاد شده، خطر آن را از بابت سمیت و آلودگی سایر اجزای اکوسیستم بسیار کاهش می‌دهد و بیشتر بر این گروه از جلبک‌ها موثر است.

تشکر و قدردانی: بدینوسیله از همکاران بخش شیمی و آزمایشگاه کشت جلبک پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی بندر انزلی به‌علت همکاری در کشت جلبک و اندازه‌گیری کلروفیل تشکر و قدردانی می‌شود.

تاییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است

تضاد منافع: این پژوهش، تعارضی با منافع حقیقی یا حقوقی ندارد.

قرار می‌گیرند: رشد منفی در اولین روز قرارگیری در معرض دیورون برای این جلبک سبز- آبی که در دو شاخص EC50 و EC90 به وجود آمده و در روز دوم این میزان برای شاخص‌های EC10 و EC50 رشد صعودی را نشان می‌دهد. در روز سوم هر سه شاخص افزایش رشد داشتند. در روز آخر با پایان یافتن ۹۶ ساعت، این روند در شاخص EC90 کاهش چشمگیری پیدا کرد، در صورتی که در دو شاخص دیگر رشد همچنان در حال افزایش بود و بیانگر این مطلب است که در مقدار نزدیک به شاخص EC90 دیورون می‌تواند از رشد و شکوفایی این جلبک جلوگیری کند.

همان طور که قبلاً ذکر شد مقدار ۰/۰۲ میلی‌گرم بر لیتر از علف‌کش دیورون در کنترل رشد جلبک سبز- آبی *آنابنا فلوس*، مورد تایید قرار گرفت. این میزان که از روش تعیین کلروفیل a به دست آمده است، بیانگر تاثیرگذاری ۷۰ درصدی بر رشد جمعیت جلبک سبز- آبی *آنابنا فلوس* است.

در همین راستا *زیمبا* و همکاران تاثیر کوتاه‌مدت دیورون را بر اکولوژی استخر گربه‌ماهی (Catfish) در مجاورت ۰/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر دیورون مورد ارزیابی قرار دادند [8]. نتایج حضور دیورون به‌منظور کنترل رشد جلبک‌های سبز- آبی در محیط طبیعی استخر پرورش ماهی نشانگر این بود که این ماده از طریق کاهش زیست‌توده جلبک‌های سبز- آبی، ترکیب فیتوپلانکتونی استخر را تغییر داده ولی تغییرات محسوس برای متغیرهای کیفی آب ایجاد نکرده است. جمعیت جلبک‌های سبز- آبی به‌تدریج توسط دیاتومه‌ها جایگزین شده بودند و ناپلی‌های کوبه پودا رو به کاهش رفته و جمعیت روتیفرها افزایش پیدا کردند که با نتایج این مطالعه هم‌خوانی دارد. *دووریس* و همکاران در سال ۱۹۹۱ طی آزمایشی فراوانی جمعیت جلبک سبز- آبی *آنابنا فلوس* در حضور علف‌کش سیمازین را به‌مدت ۵ روز مورد مطالعه قرار دادند [13]. در این تحقیق که به روش استاتیک انجام شد، شاخص EC50 برای این جلبک ۰/۰۳۶ میلی‌گرم بر لیتر گزارش شد. این رقم در تحقیق حاضر برای دیورون ۰/۰۰۹ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد که بیانگر تاثیرگذاری بیشتر علف‌کش دیورون نسبت به علف‌کش سیمازین در کنترل رشد و ازدیاد جمعیتی این جلبک سبز- آبی است.

یک سال بعد در مطالعه‌ای دیگر فراوانی جمعیت جلبک سبز- آبی *آنابنا فلوس* طی ۶ روز به روش استاتیک در برابر دیازینون ۶۰٪ بررسی شد و برای شاخص‌های EC10، EC50 و EC90 به ترتیب اعداد ۰/۰۴۳، ۰/۰۵۵۹ و ۰/۰۷۱۵ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد [14]. با مقایسه این فاکتورها و اعداد به‌دست‌آمده برای دیورون متوجه می‌شویم که غلظت تاثیرگذاری ۹۰ درصدی دیورون بر رشد سلولی این جلبک طی ۴ روز با غلظت ۱۰ درصدی دیازینون طی ۶ روز برابری می‌کند. با در نظر گرفتن مدت‌زمان این آزمایش درمی‌یابیم که باز هم علف‌کش دیورون نسبت به علف‌کش دیازینون تاثیرگذاری بیشتری برای جلبک سبز- آبی مورد مطالعه دارد.

بیومونت و همکاران فراوانی جمعیت جلبک سبز- آبی *اسیلاتوریا چلیبا* را در حضور دیورون به روش استاتیک به‌مدت ۹۶ ساعت، ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر برآورد کردند [6]. با مقایسه این عدد با نتایج به‌دست‌آمده برای جلبک‌های مورد مطالعه برای این تحقیق درمی‌یابیم که با وجود نزدیکی بسیار زیاد این عدد با شاخص EC50 *آنابنا فلوس آکو*، دیورون بر این جلبک موثرتر از جلبک *اسیلاتوریا* عمل کرده است.

نتایج مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۶ نشان داد که دیورون به میزان ۰/۵ میکروگرم بر لیتر تاثیری بر جلبک‌های *چائتوسروس*

Chemicals; 1984 [cited 2016 July 20]. Available from: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948257.pdf>.

9- Piri Z. Effect of some herbicide commonly used in Iranian agriculture on aquatic food chain [Dissertation]. Gyor: Széchenyi István University; 1997. pp. 19-130. [Hungarian]

10- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). OECD guidelines for the testing of chemicals, section 2, effects on biotic systems test. Paris: OECD Guideline for Testing of Chemicals; 1984.

11- ASTM International. Standard practices for measurement of chlorophyll content of algae in surface waters (ASTM D3731-87) [Internet]. Montgomery: ASTM International; 1998 [cited 2017 May 15]. Available from: <https://www.astm.org/DATABASE.CART/HISTORICAL/D3731-87R98.htm>.

12- De Vries H, Penninks AH, Snoeijs NJ, Seinen W. Comparative toxicity of organotin compounds to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) yolk sac fry. *Sci Total Environ*. 1991;103(2-3):229-43.

13- Gill TS, Eppler A. Effects of cadmium on plasma catecholamines in the American eel, *Anguilla rostrata*. *Aquat Toxicol*. 1992;23(2):107-17.

14- Dupraz V, Coquillé N, Ménard D, Sussarellu R, Haugarreau L, Stachowski-Haberkorn S. Microalgal sensitivity varies between a diuron-resistant strain and two wild strains when exposed to diuron and irgarol, alone and in mixtures. *Chemosphere*. 2016;151:241-52.

15- Koutsafitis A, Aoyama I. The interactive effects of binary mixtures of three antifouling biocides and three heavy metals against the marine algae *Chaetoceros gracilis*. *Environ Toxicol*. 2006;21(4):432-9.

16- Larras F, Montuelle B, Bouchez A. Assessment of toxicity thresholds in aquatic environments: Does benthic growth of diatoms affect their exposure and sensitivity to herbicides?. *Sci Total Environ*. 2013;463-464:469-77.

17- Hedayati A, Forouhar Vajargah M, Darabitarab F, Mohammadi Yalsuei A, Sahraei H. Performance evaluation of safety and protection Isomaltooligosaccharide prebiotics in reducing histopathological common carp (*Cyprinus carpio*) of different concentrations Pretilachlor. *Zanko J Med Sci*. 2016;16(51):61-72. [Persian]

سهم نویسندگان: مریم فلاحی کپورچالی (نویسنده اول)، پژوهشگر اصلی / تحلیلگر آماری / نگارنده بحث (50%); شورا رهبر (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه / پژوهشگر کمکی / نگارنده بحث (40%); مهدی شمسایی (نویسنده سوم)، نگارنده مقدمه (10%);

منابع مالی: این پژوهش توسط منابع مالی نویسنده دوم و نیز پشتیبانی مالی پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی صورت گرفته است.

منابع

- 1- Smith DW. Biological control of excessive phytoplankton growth and the enhancement of aquacultural production. *Can J Fish Aquat Sci*. 1985;42(12):1940-5.
- 2- Havens KE, James RT, East TL, Smith VH. N:P ratios, Light and predictions of cyanobacterial dominance in a subtropical lake impacted by non-point source nutrient pollution. *Environ Pollut*. 2003;122(3):379-90.
- 3- Kumar D, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fish culture in undrainable ponds: A manual for extension. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 1992.
- 4- Sørensen SR, Albers CN, Aamand J. Rapid mineralization of the phenylurea herbicide diuron by *Variovorax* sp. SRS16 in pure culture and within a two-member consortium. *Appl Environ Microbiol*. 2008;74(8):2332-40.
- 5- Feber LR, Levine SN, Lini A, Livingston GP. Do cyanobacteria dominate in eutrophic lakes because they fix atmospheric nitrogen?. *Freshw Biol*. 2004;49(6):690-708.
- 6- Beaumont G, Bastin R, Therrien HP. Physiological effects of sublethal doses of atrazine on *lemna minor* L. III. effect on soluble proteins and nucleic acids. *Le Naturaliste Canadien*. 1978;105:103-13. [French]
- 7- Fletcher GL, Addison RF. Some aspects of the chemistry and acute toxicity of the iron ore flotation agent dimethyl ammonium alkyl hydroxamate and some related compounds to brook trout. *Bull Environ Contam Toxicol*. 1972;7(2-3):147-59.
- 8- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). Algal growth inhibition test, no. 201 [Internet]. Paris: OECD Guideline for Testing of