

آزمون سمیت پساب یک کارخانه نساجی با عدسک آبی Lemnagibba

سمیه باقری^{۱*}، طاهره ولدبیگی^۲، مجتبی تاران^۳ و صادق علی یان^۴

*- نویسنده مسئول، کارشناسی ارشد اکولوژی دانشگاه رازی کرمانشاه bagheri.Somayeh872@gmail.com

۲- عضو هیئت علمی دانشگاه ایلام

۳- عضو هیئت علمی دانشگاه رازی کرمانشاه

۴- کارشناس زیست شناسی عمومی دانشگاه پیام نور ایلام

تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۳۰

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۲۴

چکیده

فاضلاب صنعتی یک کارخانه نساجی بدون هیچ گونه تیماری به رودخانه گاماسیاب ریخته می شود. به منظور ارزیابی اثرات سم شناسی پسماند این کارخانه نساجی یک مجموعه از آزمون های سم شناسی گیاهی با عدسک آبی Lemna gibba صورت پذیرفت. در این مطالعه عدسک آبی در محیط کشت "هولگند" به مدت هفت روز در معرض پنج غلظت متفاوت از پساب نساجی قرار داده شد. واکنش عدسک آبی از طریق اندازه گیری میزان رشد (بر حسب تعداد فروند) و همچنین میزان کلروفیل (کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b) مشخص شد. بر اساس اطلاعات به دست آمده از واکنش وابسته به تراکم عدسک آبی، میزان مرگ و میر +۵ در صد (MC₅₀) در دوره های آزمون سه، پنج و هفت روزه محاسبه شد. بر این اساس MC₅₀ در روز سوم ۷۷/۷۷ ml/l، روز پنجم ۵۹/۷ ml/l و روز هفتم ۶۹/۳۴ ml/l. نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که میزان کلروفیل a و کلروفیل کل در تمام غلظت ها تفاوت معنادار (P ≤ ۰/۰۵) با داشت. به همین ترتیب تفاوت تعداد فروندها در غلظت های مختلف تنها در روز هفتم معنادار (P ≤ ۰/۰۵) بود.

کلید واژه ها: پساب، پاسخ رشدی، فروند، MC₅₀.

Phytotoxicity Tests of a Textile Factory Effluent with Common Duckweed (*Lemnagibba*)

S. Bagheri¹, T. valadbiegi², M. Taran³ and S. Aliyan⁴

1- M.A Degree of Ecology Kermanshah University

2- Assistant Professor, Department of Biology, Ilam University

3- Assistant Professor, Department of Biology, Kermanshah University

4- Expert of biology, Department of Biology, Payam Noor University, Ilam

Received: 14 June 2012

Accepted: 20 May 2013

Abstract

A textile factory discharges its effluent into Gamasiab River without any treatment. In order to evaluate environmental side effects of this factory a routine phyto test was conducted with the common duckweed (*Lemnagibba*). The duckweed in the Hogland solution was exposed to series of concentration of the factory effluent. In this study *Lemnagibba* was exposure to five different concentration of textile effluent for 7 days. Plant growth response was measured by two methods: counting the number of fronds and measuring the chlorophyll content (chlorophyll a, b and total chlorophyll) of the duckweed. MC₅₀ values was calculating in 3, 5 and 7 days. 3 days: 77.77 ml/l, 5 days 59.7 ml/l, 7 days 69.34 ml/l. Single factor analysis of variance (ANOVA) showed that in all of concentrations, difference in the values of total chlorophyll content and chlorophyll a were significantly (0.05 ≥ 0) different with those of control. Similarly, difference number of fronds was significant (0.05 ≥ 0) only in 7 day.

Keyword: Effluent, Growth response, Frond, MC₅₀

مقدمه

ارزیابی سمیت پارامتر مهمی در پایش کیفیت پساب محسوب می‌شود. چون دیدی کلی درباره سمیت آب سطحی و حجم سمیتی که وارد سیستم می‌شود و همچنین تصویری از وضعیت رودخانه فراهم می‌آورد. مطالعه پساب‌ها نشان می‌دهد که آزمون‌های سمیت در پایش کیفیت آب نقش مهمی دارند. ارزیابی گیاهی^۱ یک ابزار تشخیصی است که می‌تواند برای محیط‌های خشکی و آبی به کار رود. گیاهان آوندی اعضای ضروری این اکوسیستم‌ها هستند و درستی عملکرد آن‌ها مهم است. در مورد حساسیت نسبی بیشتر گونه‌های گیاهی آوندی به سموم مختلف و مواد خطرناک به طور گسترده مطالعه نشده و در این مورد فهم کامل و درستی وجود ندارد. یکی از دلایل این کاستی، ناقص بودن اطلاعات مربوط به گذشته است. در گذشته جلبک‌ها را به‌عنوان گونه جایگزین در آزمون‌های سمیت برای گیاهان آوندی در نظر می‌گرفتند. ترکیبات رنگی به دلیل توانایی جذب نور می‌توانند مانع رشد جلبک‌ها شوند که این مسئله مربوط به عملکرد سمیت آنها نیست و این می‌تواند اندازه گیری سمیت و در نتیجه اندازه گیری خطرات ترکیبات شیمیایی^۲ را مختل سازد. استفاده از دیگر تولیدکنندگان ابتدایی به عنوان جایگزینی برای سم شناسی جلبک‌ها مورد توجه بوده است. از اوایل ۱۹۹۰ تاکنون مطالعات ارزیابی گیاهی توسعه یافته است و اطلاعات مفیدی در دسترس است که فوائد و زیان‌های استفاده از جلبک‌ها و گیاهان آوندی را برای بررسی سمیت آلاینده‌های مختلف توصیف می‌کند (واتین^۳، ۱۹۹۵). چندین گونه از گیاهان آوندی تا کنون برای ارزیابی گیاهی محیطی در آزمایشگاه استفاده شده اند مانند: *Potamogeton percolates*، *Elodea*، *Myriophyllum spectrum*، *Valisneria Americana*، *Canadensis*. معیار انتخاب برای تعیین یک گونه گیاهی مناسب توجه و تمرکز بر قابلیت دسترسی، روش‌های کشت و حساسیت شیمیایی آن می‌باشد. برای چندین سال آزمون‌های زیستی با *Lemna* (ماکروفیت‌های آبی شناور) به‌عنوان کامل کننده یا جایگزینی برای آزمون مهار رشد جلبک مورد استفاده قرار گرفته اند (بی نام ۲۰۰۰). جلبک‌ها تنها دامنه محدودی از تغییرات pH را می‌توانند تحمل کنند، در حالی که *Lemna* در دامنه وسیعی از pH توانایی رشد دارد. این ویژگی *Lemna* آنها را برای کاربرد در سم‌شناسی پساب‌هایی مانند پساب نساجی که معمولاً pH بسیارقلیایی دارند مناسب ساخته است (کلوورس و راته^۴، ۲۰۰۲) در بین گیاهان آبی عدسک آبی (*Lemna sp.*) به علت سادگی کشت، رشد سریع، قابلیت دسترسی و حساسیت به چندین ماده سمی، بیشتر مورد توجه است. سایر گیاهان آوندی ریشه‌دار کمتر از عدسک‌های آبی در آزمون‌های سمیت استفاده شده‌اند. (آراجو و مونتیرو^۵، ۲۰۰۵) سمیت پساب‌های نساجی را به روی رشد دو گونه عدسک آبی بررسی کردند. بعد از پنج روز تحت غلظت‌های بیش از ۳۸ گرم در لیتر اثرات زیان آور پساب در رشد و

مرگ و میر این دو گونه مشاهده شد. (روسا و همکاران^۶، ۲۰۰۷) آزمون‌های سمیت کوتاه مدت فاضلاب نساجی تثبیت شده و تازه بر روی موجودات مختلفی از جمله جلبک *Scenedesmus subspicatus* و گیاه عالی *Brassica oleraceae* انجام دادند. رشد جلبک به وسیله پساب‌ها کاهش یافت. همچنین پساب تازه جوانه زنی *Brassica* را مهار می‌کند و رشد بیومس توسط پساب تثبیت شده افزایش می‌یابد. سمیت فاضلاب‌های نساجی (تیمار شده و تیمار نشده) به روی پاسخ‌های رشد و میزان مرگ و میر عدسک آبی توسط شارما و همکاران^۷، (۲۰۰۷) بررسی شد (گارج و کووشیک^۸، ۲۰۰۸) غلظت‌های متفاوتی از فاضلاب صنایع نساجی را بر جوانه زنی، شاخص تأخیر در رشد، پارامترهای رشد فیزیکی و رنگدانه‌های *Lemna minor* بررسی کردند. در غلظت‌های پایین، اثر مهاری بر رشد گیاه مشاهده نشد، ولی در غلظت‌های بالای پساب گیاهان برای مدت طولانی زنده نماندند. (گومز و همکاران^۹، ۲۰۰۸) نمونه‌های گیاهی موجود در بالادست و پایین دست یک کارخانه نساجی را به‌طور فصلی مورد جمع‌آوری، بررسی و مقایسه قرار دادند که نتایج نشان داد گیاهان پایین دست کارخانه نساجی از نظر میزان تولید بیومس و از نظر چگالی افزایش نشان داده اند اما غنای گونه ای در آنها کاهش یافته است. سنجش زیستی با *Duckweed* روش سم‌شناسی استاندارد برای بسیاری از سازمان‌های بین المللی است. از این رو، آژانس حفاظت محیط ایالات متحده^{۱۰} دستور العمل‌هایی را برای آزمون سمیت گیاهی با استفاده از *Lemna spp.* تعیین کرده است (بی نام، ۱۹۹۶).

به‌علاوه، سازمان همکاری‌های اقتصادی^{۱۱} دستورالعمل‌ها را برای آزمون‌های سمیت با *Lemna* کامل نموده است (بی نام، ۲۰۰۰) که برای مواد مشکل‌سازی مانند سوسپانسیون‌ها و مواد رنگی و کدر توسعه یافته است. همچنین مجمع مواد و آزمون‌های آمریکا (بی نام، ۱۹۹۱)، APHA (بی نام، ۱۹۹۲) و انیستیتی استاندارد سویس (بی نام، ۱۹۹۵) آزمون با *Lemna* را به‌عنوان روش استاندارد برای اندازه گیری سمیت در نظر دارند. از میان گونه‌های مختلف عدسک آبی گونه *L. gibba* توصیه شده (بی نام، ۱۹۹۲) و در بررسی نتایج از میان ویژگی‌های ساختاری و ظاهری، بیشترین توجه به تغییرات در تعداد فروندها معطوف شده است.

هدف ما ارزیابی مهار رشد *Lemna gibba* به عنوان نمونه‌ای ساده، مقرون به‌صرفه، و روشی دقیق برای ارزیابی سم‌شناسی گیاهی پساب این کارخانه نساجی می‌باشد که بدون هیچ گونه تیماری به رودخانه گاماسیاب تخلیه می‌شود. *L. gibba* به دامنه وسیعی از آلاینده‌ها حساس است، که این مزیتی در ارزیابی سمیت محسوب می‌شود. *L. gibba* توانایی رشد در دامنه وسیعی از pH، از ۳/۵ تا ۱۰/۵ را داراست. بنابراین، به شکل گسترده‌ای برای مطالعات

6- Rosa et al.

7- Sharma et al.

8- Garg and Kaushi

9- Gomez et al.

10- USEPA

11- OECD

1- Phytoassessment

2- Cleuvers, 2001

3- Whitten

4- Cluvers and Ratte

5- Araujo and Monteiro

Inhibition Index که شاخص مهار رشد است طبق فرمول‌های زیر محاسبه شدند (Saadi, Guerbet and Garnier, 2001) :

$$\text{Morbidity Index} = (\text{Nm}/\text{Nt}) \times 100$$

که Nm: تعداد فروندهای آسیب دیده و Nt: تعداد کل فروندهاست.

$$\text{Growth Index} = (\text{Nt}-\text{Nm}) / (\text{Ntc}-\text{Nmc}) \times 100$$

که Nt: تعداد کل فروندها، Nm تعداد فروندهای آسیب دیده، Ntc تعداد کل فروندهای شاهد یا کنترل و Nmc تعداد فروندهای آسیب دیده در شاهد است.

پس از محاسبه شاخص‌های مرگ و میر و رشد، از طریق رسم منحنی لگاریتمی و رابطه نمایی $\text{Nt} = \text{No}e^{rt}$ (نمای رابطه ضریب زاویه خطی است که کاهش بقا را در آزمون نشان می‌دهد). $\text{Mc}50$ (غلظتی از ماده آلاینده که سبب مرگ ۵۰٪ فروندها می‌شود) $\text{Ic}50$ (غلظتی از ماده آلاینده که سبب مهار رشد به میزان ۵۰ درصد می‌شود) تعیین گردید.

روش اندازه گیری میزان کلروفیل

برای اندازه گیری میزان کلروفیل از روش پورا^۵ (۱۹۸۹) استفاده شد.

$$22.5 \times D_{650} + 4 \times D_{665} = \text{Total Chlorophyll} \quad (۱)$$

$$27.05 \times D_{653} - 11.31 \times D_{666} = \text{Chlorophyll b} \quad (۲)$$

$$15.65 \times D_{666} - 7.43 \times D_{653} = \text{Chlorophyll a} \quad (۳)$$

روش محاسبه تغییرات طول ریشه

برای محاسبه تغییرات طول ریشه عدسک‌ها از رابطه زیر استفاده شد.

$$\text{Index of root elongation} = \text{TR}_t - \text{T}_c / \text{TR}_t \times 100$$

$$\text{TR}_t = \text{طول ریشه کل در تیمار}$$

$$\text{TR}_c = \text{طول ریشه کل در کنترل.}$$

برای تجزیه و تحلیل نهایی داده‌های به‌دست آمده از زیست آزمون‌ها از نرم افزار SPSS استفاده شد.

اکوتاکسیکولوژیکی به کار می‌رود (وانگ^۱، لویس^۲، ۱۹۹۰؛ لویس^۳، ۱۹۹۵). جهت بررسی سم شناسی گیاهی پساب، فاکتورهایی مانند شاخص مرگ و میر، شاخص مهار رشد، طول ریشه، تعداد فروندها و میزان کلروفیل اندازه گیری شد.

مواد و روش ها

عدسک‌های آبی (Lemna gibba) در مهر ماه ۱۳۸۸ از آب‌های محلی در روستای طلسم واقع در ۱۵ کیلومتری شهر کرد در استان کرمانشاه جمع آوری و سپس به آزمایشگاه اکولوژی منتقل شد و در آنجا به منظور حفظ و نگهداری و اطمینان از عدم آلودگی قبلی نمونه‌ها در محیط کشت حاوی محلول غذایی هوگلدن قرار داده شد که حاوی عناصر لازم و ضروری برای رشد و بقاء گیاه بود. محیط کشت برای آزمون‌ها شامل مجموعه‌ای از ظروف شیشه‌ای استوانه‌ای شکل با حجم ۲۰۰ سی سی و به ارتفاع نه سانتی‌متر و قطر داخلی هفت سانتی‌متر بود. قبل از آغاز زیست آزمون‌ها از خلوص ژنتیکی عدسک‌های آبی با کمک متخصصان زیست‌شناسی گیاهی حاضر در آزمایشگاه رازی اطمینان حاصل شد. مدت زمان نگهداری نمونه‌ها در مرحله خزان و در مرحله رشد هر کدام به مدت یک هفته صورت گرفت. عدسک‌های آبی در زمان زیست آزمون‌ها در مرحله سه برگی بودند. محلول غذایی هوگلدن^۴ ۵۰ درصد به حجم ۱۵۰ سی سی سی به هر یک از ظروف کشت اضافه شد و سپس حجم‌های اولیه‌ای از مواد آلاینده مورد آزمایش (۰، ۲۵/۵، ۵۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ سی سی) تهیه و به ظروف کشت اضافه شد. حجم‌های مختلف پساب بر اساس توصیه‌های آژانس حفاظت محیط (EPA) انتخاب شدند. تکرارهای سه گانه‌ای از محیط‌های کشت و حجم‌های تعیین شده از مواد آلاینده تهیه و از خزان کشت عدسک‌ها تعداد ۱۵ فروند (فروند ساختار برگی شکل در گیاه عدسک آبی است) سالم از گیاه را مطابق توصیه‌های آژانس حفاظت محیط (EPA) (بی نام، ۱۹۹۶) به هر محیط کشت اضافه نموده، سپس ظروف در اتاق رشد قرار داده شد.

در این آزمون‌ها تعداد کل فروندها، تعداد فروندهای سالم و آسیب دیده، طول ریشه و میزان کلروفیل (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل) مورد ارزیابی قرار گرفت (لویس^۴، ۱۹۹۹؛ بی نام، ۱۹۹۶). برای هر کدام از زیست آزمون‌های مورد نظر، جهت اطمینان از صحت زیست آزمون‌ها نمونه‌های شاهد نیز در نظر گرفته شد. عدسک‌های آبی در برخی از حجم‌های تعیین شده‌ی پساب تکثیر داشتند. ابتدا طول ریشه در عدسک‌های آبی قبل از قرارگیری در محیط کشت آزمون اندازه گیری و ثبت شد. مشاهدات و شمارش تعداد عدسک‌ها در روزهای سوم، پنجم و هفتم انجام شد. سپس در پایان دوره طول ریشه عدسک‌ها و میزان کلروفیل در هر ظرف کشت اندازه گیری شد. واکنش عدسک‌های آبی بر حسب Mortality Index یا Morbidity Index که شاخص آسیب پذیری و یا مرگ فروندهاست و

1 - Wang

2 - Lewis

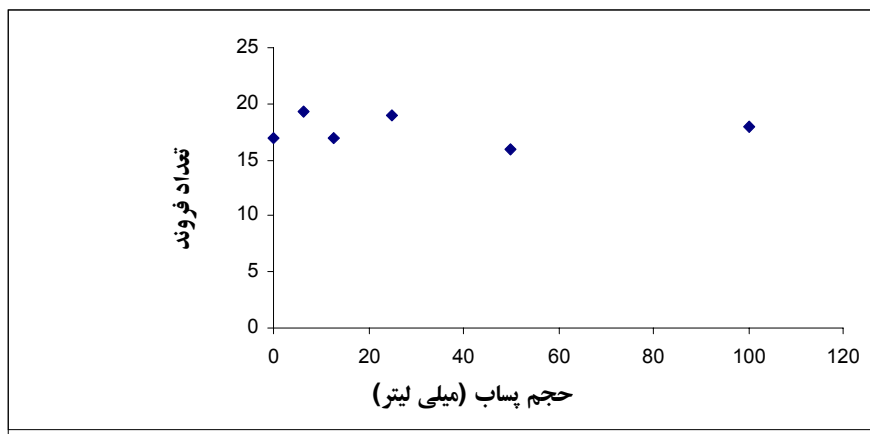
3 - Hulf Hoagland

4- Lewis

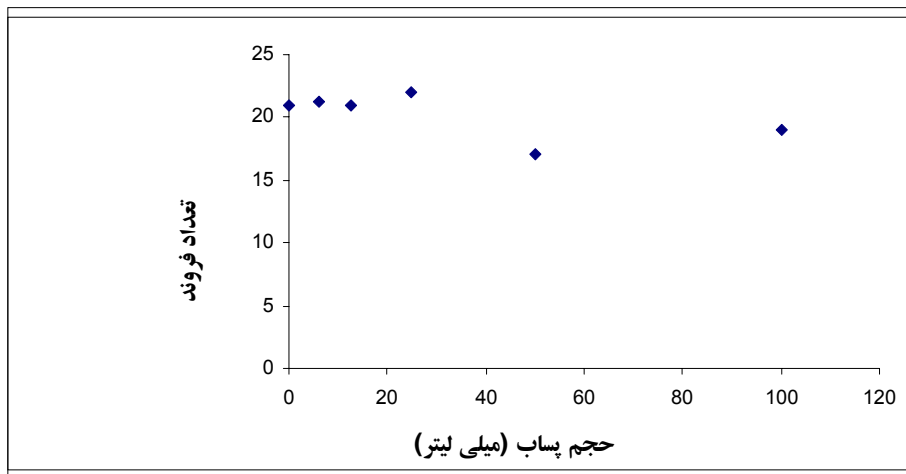
جدول ۱- درصد رشد تعداد فروندها در مقایسه با کنترل (میانگین و خطای (استاندارد)

حجم (میلی لیتر)	روز سوم	روز پنجم	روز هفتم
۰	1/6±17 ^{ab}	۲/۳±۲۱ ^a	1/7±25 ^{cd}
۶/۲۵	۰/۷±۱۹/۳۳ ^{bc}	۰/۷۵±۲۱/۳۳ ^a	1/4±23/66 ^{bcd}
۱۲/۵	۱±۱۷ ^{ab}	۱/۶±۲۱ ^a	1/7±21 ^{abc}
۲۵	۱/۲±۱۹/۶۶ ^c	۱/۴±۲۲/۶۶ ^a	1±26/33 ^d
۵۰	۰/۷۵±۱۶/۶۶ ^a	۱/۳±۱۷ ^a	1/6±18/66 ^a
۱۰۰	۱/۲±۱۸/۳۳ ^{ab}	۱/۲±۱۹/۳۳ ^a	1/5±20/33 ^{ab}

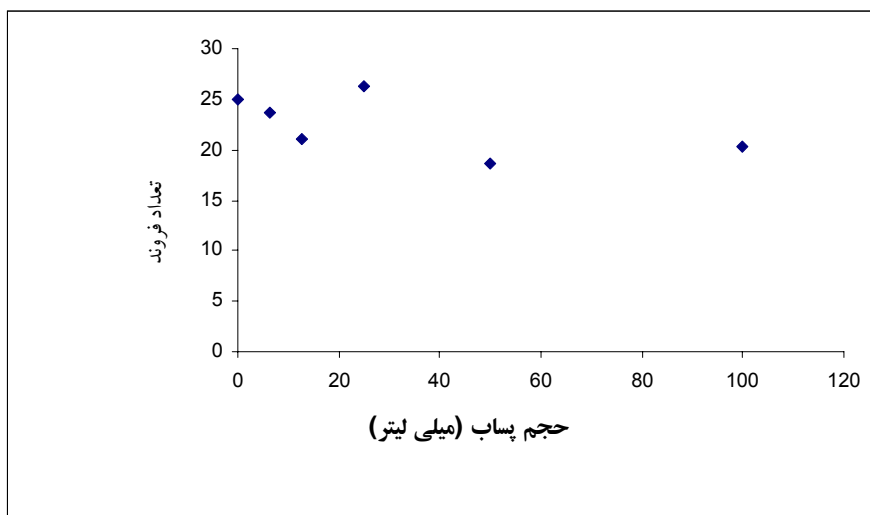
a,b,c: میانگین های دارای حروف غیر مشابه در هر ستون تفاوت معناداری (P≤0/05) را نشان می دهند



شکل ۱- درصد رشد تعداد فروندها (روز سوم)



شکل ۲- درصد رشد تعداد فروندها (روز پنجم)



شکل ۳ - درصد رشد تعداد فروندها (روز هفتم)

جدول ۲ - درصد رشد طول ریشه در روز پنجم در مقایسه با کنترل

حجم (میلی لیتر)	۰	۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰
طول ریشه (میلی متر)	^d ۱/۲۴ ± ۱۴/۶۶	^c ۱/۲۴ ± ۸/۸۳	^{bc} ۱/۲۴ ± ۵/۶۶	^{ab} ۱/۲۴ ± ۲/۶۶	^{ab} ۱/۲۴ ± ۲/۶۶	^a ۱/۲۴ ± ۱

a, b, c: میانگین های دارای حروف غیر مشابه در هر ستون تفاوت معناداری ($P \leq 0/05$) را نشان می دهند

نتایج و بحث

غلظت های بالای نمک در محیط های آبی تأثیر زیانباری بر رشد گیاهان داشته و غلظت های بیش از حد نمک باعث مرگ گیاهان می شود (میرو و همکاران^۱، ۲۰۰۰). (رامولیا و همکاران^۲، ۲۰۰۴) بیان می کنند که غلظت های بالای نمک باعث تأخیر در رشد گیاهان می شود. گونه های گیاهی مختلف در حساسیت یا تحمل به استرس نمک متفاوتند. غلظت بالای نمک می تواند باعث کاهش پتانسیل اسمزی محیط شده و در نتیجه فراهمی آب در گیاه کاهش می یابد. Duckweed پراکنش گسترده ای در آب های شیرین اغلب نواحی جهان دارند. پساب نساجی حاوی غلظت های بالایی از نمک می باشد. پساب این کارخانه نساجی نیز محتوی مقادیر بالای نمک بوده و نتایج حاصل از آزمایش ها و مقایسه ای آن با رشد عدسک های شاهد تأثیر منفی شوری را بر رشد عدسک ها تأیید می کند. (دیویس و همکاران، ۲۰۰۵) با بررسی اثر رنگ آزو^۳ موجود در پساب صنایع نساجی بر روی گونه گیاهی آبری *Phragmites australis* مشاهده نمودند که رنگ آزو به مقدار زیادی جذب بافت های مختلف این گیاه می شود. آزمون های بیولوژیکی روی عدسک آبی پتانسیل یوتروف پساب کارخانه ی نساجی را آشکار ساخت. یکی از رنگ هایی که به مقدار زیاد در پساب این کارخانه وجود دارد رنگ آزو می باشد

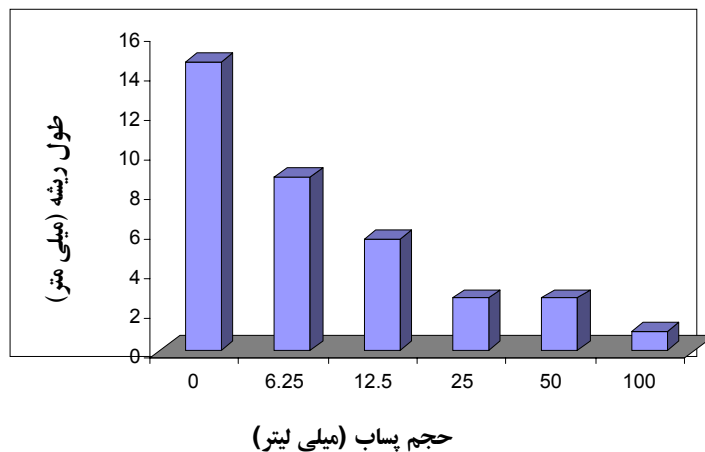
همچنین میزان سمیت رنگ ها، اسیدها، قلیاها، نمک و فلز مس در پساب این کارخانه نساجی بسیار بالا است. درصد رشد تعداد فروندها در طول روزهای سوم، پنجم و هفتم در پنج حجم پساب متفاوت با کنترل مقایسه شد (جدول ۱ و نمودارهای ۲، ۳ و ۴).

طبق نتایج، تغییرات تعداد فروندها تنها در روز هفتم معنادار ($P \leq 0/50$) بود. تغییرات طول ریشه نیز مورد بررسی قرار گرفت و با کنترل مقایسه شد. نتایج در جدول (۲) و شکل (۴) نشان داده شده است.

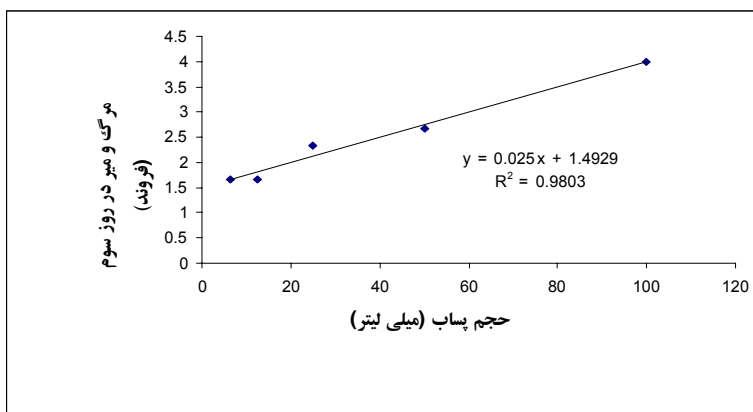
طبق نتایج به دست آمده تغییرات طول ریشه در تمامی حجم ها در مقایسه با کنترل معنادار ($P \leq 0/50$) بود. جدول (۲) و شکل (۴) نتایج مربوط به طول ریشه را نشان می دهد. طول ریشه با افزایش یافتن حجم پساب از ۲۰ میلی متر به ۱ میلی متر و کمتر کاهش یافت. همچنین ریشه های گیاهانی که در معرض پساب قرار گرفته بودند به طور قابل ملاحظه ای نازک تر از گیاهان کنترل بودند. یکی از دلایل این امر می تواند مربوط به مقادیر بالای فلز سنگین موجود در پساب باشد. از جمله ی این فلزات می توان به کروم اشاره نمود که به میزان فراوان در رنگ های به کار رفته توسط این کارخانه ی نساجی وجود دارد. مطالعات مورفولوژیک گیاه نشان داد که طول ریشه از متوسط ۲۰ میلی متر به یک میلی متر و کمتر با افزایش حجم پساب کاهش می یابد. دان و همکاران^۴، (۲۰۰۶) اثرات سمی پساب را بر رشد سلول های ریشه عدسک آبی بررسی کردند مشخص شد که

1- Mer et al.
2- Ramoliya et al.
3- AZO

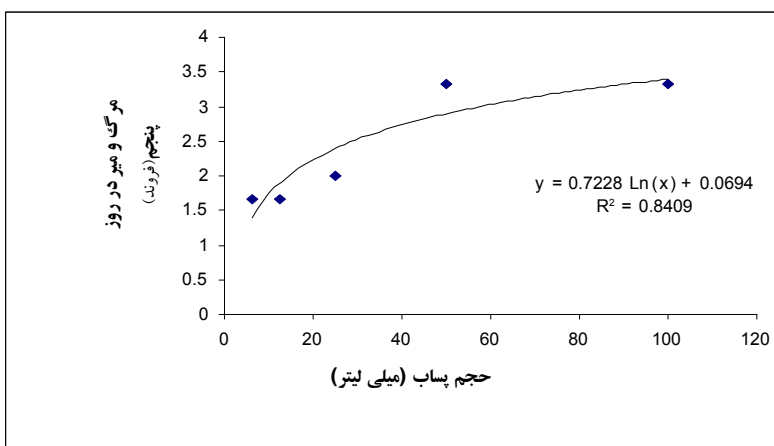
4- Dane et al.



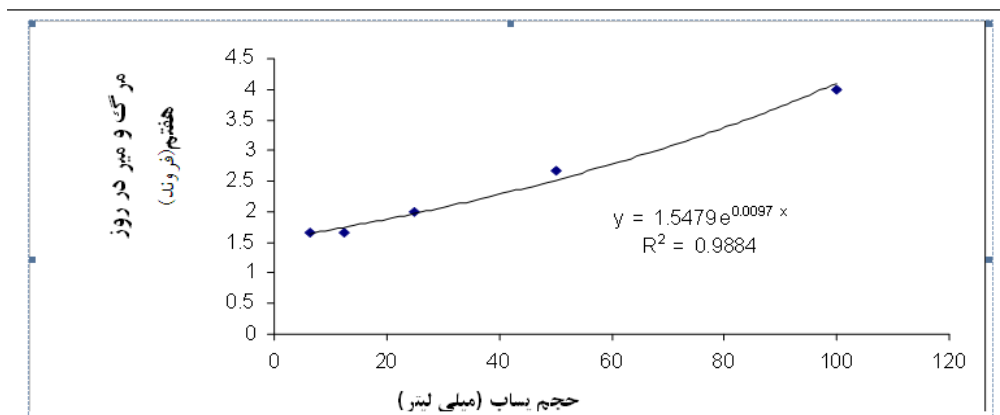
شکل ۴- تغییرات طول ریشه در روز پنجم



شکل ۵- میزان مرگ و میر در روز سوم



شکل ۶- میزان مرگ و میر در روز پنجم



شکل ۷- میزان مرگ و میر در روز هفتم

جدول ۳- مقادیر EC50 و MC50 بر حسب میلی گرم بر لیتر

زمان (روز)			
فاکتور	۳	۵	۷
MC50 (ml/l)	۷۷/۷۷	۵۹/۷	۶۹/۳۴
EC50 (ml/l)	۵۷/۵۵	۲۵/۹۴	۴۲/۲

جدول ۴ - میانگین شاخص مرگ و میر

حجم (میلی لیتر)	روز سوم	روز پنجم	روز هفتم
۰	1/6±17 ^{ab}	2/3±21 ^a	1/7±25 ^{cd}
۶/۲۵	0/7±19/33 ^{bc}	0/75±21/33 ^a	1/4±23/66 ^{bcd}
۱۲/۵	1±17 ^{ab}	1/6±21 ^a	1/7±21 ^{abc}
۲۵	1/2±19/66 ^c	1/4±22/66 ^a	1±26/33 ^d
۵۰	0/75±16/66 ^a	1/3±17 ^a	1/6±18/66 ^a
۱۰۰	1/2±18/33 ^{ab}	1/2±19/33 ^a	1/5±20/33 ^{ab}

a,b,c: میانگین های دارای حروف غیر مشابه در هر ستون تفاوت معناداری (P≤0/05) را نشان می دهند

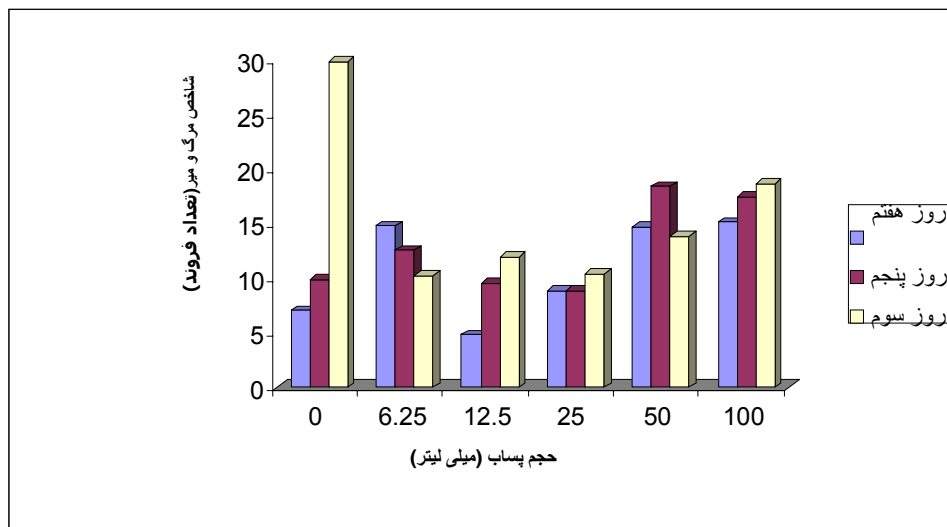
جدول ۵ - میانگین شاخص مهار رشد

روز هفتم	روز سوم	روز پنجم	روز هفتم
۰	0/75±50/33 ^a	1±49 ^a	1/31±48 ^a
۶/۲۵	1/07±64/66 ^b	0/98±66/66 ^b	2/06±68/57 ^{bc}
۱۲/۵	1/07±69/33 ^{bc}	2/27±67/23 ^b	1/72±72/38 ^{cd}
۲۵	1/74±65/33 ^b	2/21±64/97 ^b	0/90±65/23 ^b
۵۰	1/86±72 ^c	1/60±76/83 ^c	1/57±77/14 ^d
۱۰۰	2/03±71 ^c	0±72/88 ^c	1/72±76/66 ^d

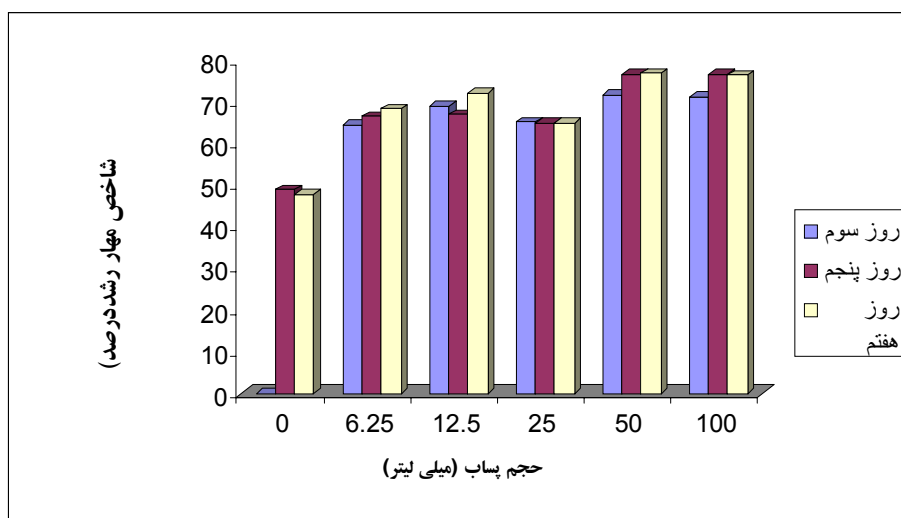
a,b,c: میانگین های دارای حروف غیر مشابه در هر ستون تفاوت معناداری (P≤0/05) را نشان می دهند

مقادیر EC50 و MC50 بر حسب میلی گرم/لیتر محاسبه شد. نتایج در جدول (۳) نشان داده شده است. شکل (۸) شاخص مرگ و میر و شکل (۹) شاخص مهار رشد عدسکها را در پنج حجم متفاوت پساب در روزهای سوم، پنجم و هفتم نشان می دهد. جداول ۴ و ۵ نیز شاخص مرگ و میر و شاخص مهار رشد را در عدسکها از طریق مقایسه میانگین ها نشان می دهد.

حجم های پایین پساب اثر مثبتی بر رشد سلول های ریشه دارد. در مطالعه حاضر نیز نتیجه ی مشابهی حاصل شد. جهت محاسبه مقادیر EC50 و MC50 ابتدا درصد مرگ و میر عدسکها را در روزهای سوم، پنجم و هفتم محاسبه شد (شکل ۵، ۶، ۷).



شکل ۸- شاخص مرگ و میر در پنج حجم متفاوت پساب در روز سوم، پنجم و هفتم

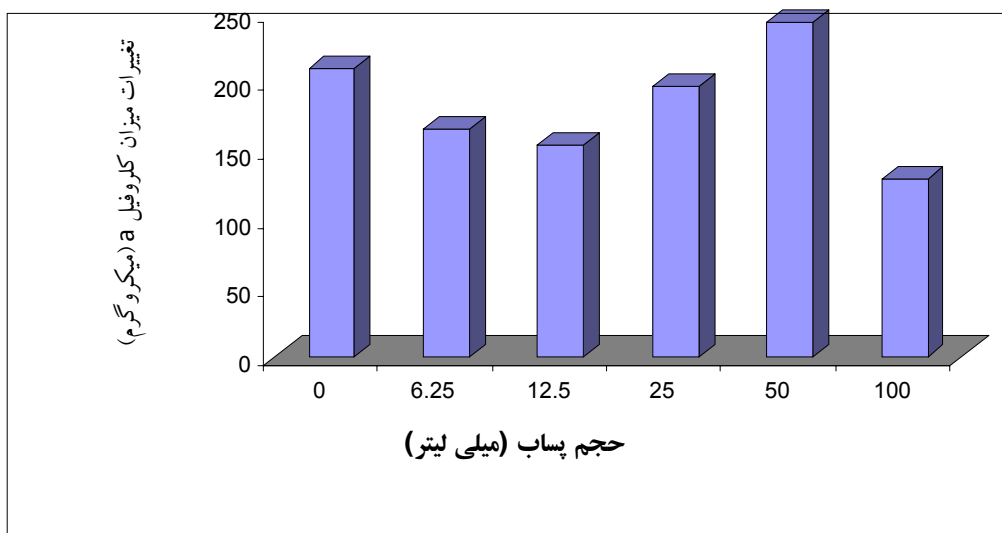


شکل ۹- میانگین شاخص مهار رشد در پنج حجم متفاوت پساب

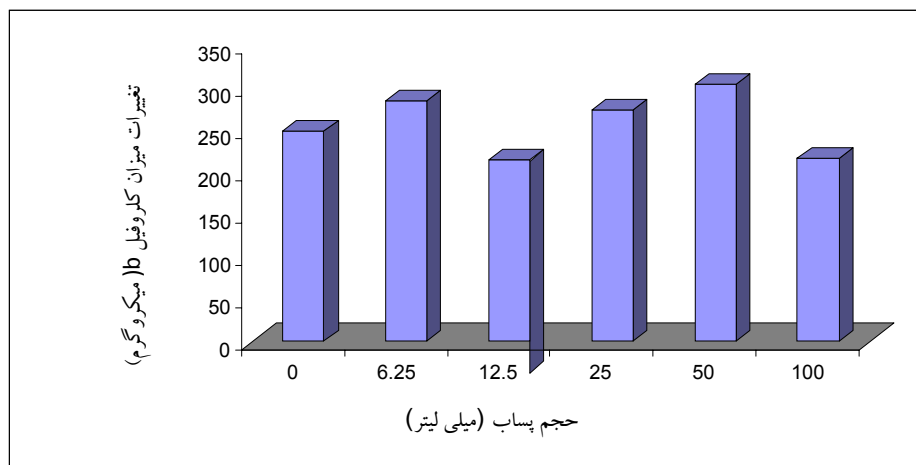
جدول ۶- غلظت کلروفیل (میلی لیتر/میکروگرم) در پنج حجم متفاوت پساب در روزهای سوم، پنجم و هفتم

حجم (میلی لیتر)	کلروفیل a	کلروفیل b	
۰	5/73±209/60bc	9/26±249/46a	^a ۳۴۹/۴۶ ± ۹/۲۶
۶/۲۵	6/10±175/26ab	6/02±302/99a	^a ۳۰۲/۹۹ ± ۶/۰۲
۱۲/۵	6/66±153/77ab	7/14±214/65a	^a ۲۱۴/۶۵ ± ۷/۱۴
۲۵	4/72±196/62bc	7/14±214/65a	^a ۲۱۴/۶۵ ± ۷/۱۴
۵۰	5/11±263/37c	4/05±278/92a	^a ۲۷۸/۹۲ ± ۴/۰۵
۱۰۰	5/78±129/51a	7/07±217/3a	^a ۲۱۷/۷۳ ± ۷/۰۷

a,b,c: میانگین های دارای حروف غیر مشابه در هر ستون تفاوت معناداری (P≤0/05) را نشان می دهند



شکل ۱۰- تغییرات میزان کلروفیل a



شکل ۱۱- تغییرات میزان کلروفیل b

رشد جلبک به‌وسیله غلظت‌های مختلف پساب تحت تأثیر قرار گرفت و کاهش یافت.

تغییرات غلظت کلروفیل نیز در انتهای آزمایش در حجم‌های متفاوت پساب با کنترل مقایسه شد.

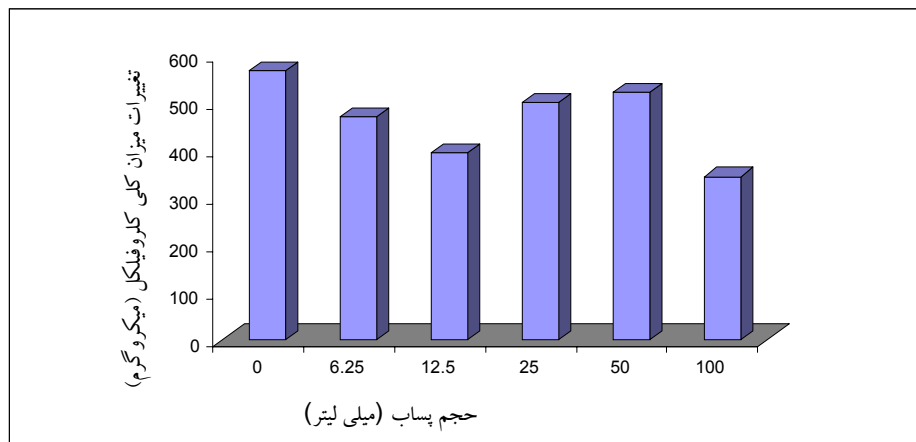
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها با نرم افزار SPSS نشان داد که میزان کلروفیل a و کلروفیل کل در تمام غلظت‌ها تفاوت معنادار ($P \leq 0/50$) با شاهد از خود نشان داده است (اشکال ۱۰ و ۱۱).

تفاوت میزان کلروفیل b در هیچ کدام از غلظت‌ها معنادار نبود. غلظت کلروفیل (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل) با افزایش تدریجی میزان پساب افزایش یافت ولی در غلظت بالاتر از ۵۰ درصد

و نیز و همکاران^۱ (۲۰۱۰) اثر پساب نساجی را بر جوانه زنی و رشد Vignamungo بررسی کردند، سرعت جوانه زنی و رشد در حجم‌های پایین‌تر نسبت به کنترل بیشتر بود، ولی با افزایش حجم پساب نرخ جوانه زنی و رشد کاهش یافت. بهترین نرخ جوانه زنی و رشد در غلظت ۲۵ درصد پساب مشاهده شد. در غلظت بالای ۲۵ درصد پساب طول ریشه و ساقه کاهش یافت. در مطالعه‌ی حاضر نیز در حجم‌های بالای ۲۵ میلی‌متر میزان رشد عدسک‌ها در مقایسه با عدسک‌های شاهد کاهش یافت. باش و والش^۲ (۱۹۸۰) اثر پساب یک کارخانه نساجی را روی جلبک آب شیرین *Selenastrum Capricornutum* بررسی نمودند، نتایج نشان داد که

1- Wins et al.

2- Walsh and Bahner



شکل ۱۲- تغییرات میزان کلروفیل کل

سمی هم در میزان کلروفیل و رشد و هم در اندازه ی طول ریشه مشاهده شد.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج حاصل از مطالعه ی حاضر، پساب نساجی بر بسیاری از ویژگی های عدسک آبی دارای اثر منفی بود. مثلاً طول ریشه ی عدسک آبی در حجم های بالای پساب به کمتر از دو میلی متر، میزان رشد به کمتر از ۵۰ درصد و تعداد فروند به ۱۰ تا ۱۵ درصد نسبت به نمونه ی شاهد کاهش یافت. برخلاف ویژگی های ذکر شده میزان کلروفیل در برخی از حجم های پساب به ویژه در حجم ۵۰ میلی لیتر پساب افزایش اندکی از خود نشان می داد.

میزان کلروفیل کاهش پیدا نمود. حضور فلزات از جمله منیزیم در پساب نساجی می تواند یکی از دلایل افزایش نسبی میزان کلروفیل باشد. یکی دیگر از دلایل افزایش میزان کلروفیل مربوط به مقادیر بالای نیتروژن موجود در رنگ های به کار رفته در کارخانه نساجی می باشد، چرا که نیتروژن یکی از عناصر اصلی در ترکیب رنگ های نساجی است که منجر به افزایش تقسیمات سلولی خواهد شد (باپت و همکاران^{۲۳}، ۲۰۰۸) همچنین کاهش رشد و ریشه زایی، کاهش رنگدانه های فتوسنتزی و نهایتاً مرگ گیاه به مقادیر بالای کروم موجود در ساختار رنگ های به کار رفته در نساجی مرتبط است و نتایج حاصل از آزمایش ها ما تایید کننده ی کار واجبایی و همکاران^{۲۴} (۱۹۹۹) بود.

ناگاجیوتی و همکاران^{۲۵} (۲۰۰۸) مشاهده کردند که در غلظت ۲۵ درصد پساب نساجی محتوای کلروفیلی عدسک آبی (a, b) و کلروفیل کل (افزایش یافت. ناز و همکاران^{۲۶} (۲۰۱۰) نشان دادند که محتوای کلروفیلی عدسک های آبی با افزایش میزان پساب تا غلظت ۵۰ درصد افزایش می یابد. مقادیر پایین کروم اثر تحریکی بر فعالیت های متابولیکی مختلف از جمله محتوای کلروفیل های a, b و کل داشتند. در حالیکه مقادیر بالای آن تاثیر مهاری داشتند. در مطالعه ی حاضر به دلیل قلیایی بودن ترکیب کلی پساب نساجی افزایش تدریجی حجم پساب قلیایی باعث کاهش تدریجی میزان رشد و محتوای کلروفیلی شد. در حجم های ۲۵ تا ۵۰ میلی لیتر پساب، رشد و میزان کلروفیل افزایش نشان دادند و در حجم های بالاتر اثرات

1- Buapet et al.
2 - Vajpaye et al.
3 - Nagajyoti et al.
4- Nazz et al.

منابع

- 1- Anonymous .1991. Conducting static toxicity tests with Lemna gibba. Annual Book of ASTM Standards, Section 11. Water and Environmental Technology. ASTM, Philadelphia, PA. Guide E:1415-91.
- 2- Anonymous, 2000. Testing and assessment: guidance document on aquatic toxicity testing of difficult substances and mixtures. Organization for Economic Cooperation and Development, Paris, France.
- 3- Anonymous,1995. Water quality Determination of growth inhibition (7-d) Lemna minor, Duckweed SS 02 82 13, Swedish Institute of Standards, Stockholm, Sweden.
- 4- Anonymous. 1992. Toxicity standard methods for, examination of water and wastewater 18Th Ed Anonymous, Part 8000 8-32-8-39.
- 5- Anonymous.1996. Ecological effects test guidelines OPPTS 850.4400, Aquatic Plant Toxicity Test Using Lemna gibba., Tiers I and II, EPA 712-C-96- 156.
- 6- Araujo, A. S.and R.T. Monteiro, 2005. Plant bioassays to Assess toxicity of textile sludge compost. Science Agricultural (Piracicaba, Braz) , 62: 286-290.
- 7- Bahner, H. and G.E. Walsh, 1980. Toxicity of the textile mill effluents to freshwater and estuarine Algae, Crustaceans and fishes. Environmental Pollution, 21: 162-179.
- 8- Cleuvers, M. 2001. Analysis und bewertung phytotoxischen Potentials Xenobiotic—Modification. Ph.D. Thesis, Aachen University of Technology, Aachen, Germany.
- 9- Cleuvers, M. and H. T. Ratte, 2002b. An alternative to the algal growth inhibition test. Chemosphere, 49:9-15.
- 10- Cleuvers, M. and H.T Ratte.2002a. Phytotoxicity of coloured substances: is Lemna Duckweed. Chemosphere, 13:12-18.
- 11- Davies, L. C., Carias, C. C., Novais, J. M. Martins. 2005. Phytoremediation of textile effluents containing azo dye by using Phragmites australis in a vertical flow intermitten feeding constructed wetland. Ecological Engineering, 25: 594-605.
- 12- EPA, 1996. Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.4400. Aquatic Plant Toxicity Test using Lemna spp., Tiers I and II, EPA 712-C-96- 156.
- 13- Garg, V. K. and P. Kaushik. 2008. Influence of textile wastewater irrigation on the growth of Sorghum cultivars. Ecology and Environmental Research, 6 (2): 1-12.
- 14- Gomez, N., Sierra, M.V., Cortelezzi, A. and A. Capitulo, 2008. Effects of discharges from the textile industry on the biotic integrity of benthic assemblages. Ecotoxicology and Environmental Saefty, 69: 472-479.
- 15- Lewis, M. A. 1995. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: A review. Environment Pollution, 87 : 319–336.
- 16- Mer, R. K., Prajith, P. K., Pandya, D. H. and A.N. Pandey, 2000. Effect of salts on germination of seeds and growth of young plants of Hordeum vulgare, Triticumaestivum, Cicerarietinum and Brassica juncea. Journal of Agronomy and Crop Science. 185:209–217.
- 17- Porra, L. 1989. Standard methods for the examination of water and wastewater . APHA, AWWA, WEF, Washington, DC., Toxicity Part 8000 8-32-8-39.
- 18- Ramoliya, P. J., Patel, H. M. and A.N. Pandley, 2004. Effect of salinization of soil on growth and macro and micro nutrient accumulation in seedlings of Salvadora persica (Salvadoraceae). Forest Ecological Management, 202 :181–193.

- 19- Rosa, V. C., Giuradelli, M., Correa, X. P., Prig, L.R., Schwingel, P. R., Resgalla, C. and M. Radetski, 2007. Ecotoxicological evaluation of the short term effects of fresh and stabilized textile sludges before application in forest soil restoration. *Environmental Pollution*, 146: 463-469.
- 20- Sharma, K. P. Sharma, S., Singh, P. K., and S. Kumar. S. 2007. A comparison characterization of textile wastewaters (untreated and treated) toxicity by chemical and biological tests. *Chemosphere*, 69: 48-54.
- 21- Wang, W. 1990. Literature review on duckweed toxicity testing. *Environment Research*, 52: 7-22.
- 22- EPA, 1996. Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.4400. Aquatic Plant Toxicity Test using *Lemna* spp., Tiers I and II, EPA 712-C-96- 156.
- 23- Walsh, G.E and Bahner, H. 1980. Toxicity of the textile mill effluents to freshwater and estuarine Algae, Crustaceans and fishes. *Environmental Pollution*, 21: 162-179.
- 24- Wang, W. 1990. Literature review on duckweed toxicity testing. *Environment Research*, 52: 7-22.
- 25- Wins, A., Sani, R.K. 2010. High rate biodegradation of 3-and 4 nitroaniline. *Chemosphere*. 39: 2325-2346.
- 26- Porra, L. 1989. Standard methods for the examination of water and wastewater .18th Ed APHA, AWWA, WEF, Washington, DC., Toxicity Part 8000 8-32-8-39.