✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۴۷، تابستان ۱۳۷۹

بررسی اثر غلظت فلزات سنگین بر میزان کلروفیل a در برگ سه گونه از گیاهان آبزی تالاب انزلی

● غلامرضا امینی رنجبر، دانشیار و عضو هیأت علمی دانشگاه و وزارت جهادسازندگی
● عباس حسن پور، کارشناس ارشد شیلات
● سیدحجت‌اله خداپرست، کارشناس ارشد مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان
تاریخ دریافت: تیر ماه ۱۳۷۸

چکیده
در این تحقیق هدف بررسی و اندازه‌گیری میزان فلزات سنگین (Zn, Cr, Cd, Cu) و رابطه آن با غلظت کلروفیل a در برگهای سه گونه از گیاهان آبزی تالاب انزلی شامل هیدروکوتیل و تراپا (گونه‌های شناور) و تیفا (گونه حاشیه‌ای) که نقش بسزایی در چرخه غذائی و اکوسیستم تالاب دارند، می‌باشد. بعد از انتخاب ایستگاهها در منطقه سیاه کشیم و پیر بازار، در اواخر تابستان سال ۷۶ نمونه‌برداری از گونه‌های مزبور و عصاره‌گیری کلروفیل به منظور اندازه‌گیری میزان غلظت کلروفیل a در برگ و روش هضم‌تر (هضم اسیدی با استفاده از مخلوط اسید نیتریک و اسیدپرکلریک) جهت اندازه‌گیری فلزات مورد بررسی به کار گرفته شد. میزان کلروفیل a و غلظت فلزات به ترتیب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (U.V.) مدل U-2000 هیتاچی و دستگاه جذب اتمی شعله‌ای (F.A.A.S.) مدل AA-680 شیماتزو اندازه‌گیری شد و از روش بررسی آماری برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده گردید.
کلید واژه‌ها: فلزات سنگین، کلروفیل a، گیاهان آبزی، دستگاه جذب اتمی، تالاب انزلی.

✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 47
PP:136-138

A survey on the effect of concentration of heavy metals on the amount of chlorophyll on three species of aquatic macrophytes from Anzali wetland

By: Amini Ranjbar Gh., Member of Scientific Board of Jahade Sazandegi Ministry and university; Hassanpour A. & Khodaparast S.H.; Gilan Fisheris Research Center

The objective of this project was measurement of heavy metal (Zn, Cr, Cd and Cu) in leaves of three species of aquetic macrophytes (Hydrocotyle sp., Trapa sp. and Typha sp.) from Anzali Wetland. Moreover effects of selected metals on Chlorophll α concentration in the leaves were assessed. After selection of sampling sites in Siah-Keshim and Pirbazar region, samples were digested (wet digstion) using mixture of nitric and perchloric acid Concentration of Chlorophyll α and heavy metals were dtermined using spectrophotometer and FAAS, respectively. In order to interpretation of data, different statistical methods were used.

Key words: Heavy metals, Chlorophylla, Aquatic macrophytes, Atomic absorption spectrophotometry (AAS), Anzali wetland.

مقدمه

بشر با ایجاد و توسعه صدها نوع صنایع جدید، گسترش استفاده از فلزات و تولید هزاران نوع ماده شیمیایی سمی که بسیاری از آنها سبب آلودگی محیط زیست و منابع آبی می‌گردند باعث بروز مشکلات زیست محیطی و برهم زدن تعادل اکولوژیکی محیط گشته است. یکی از اقدامات مختل کننده سیر طبیعی مواد توسط انسان بدین صورت است که انسان در اثر فعالیتهای خود مواد مسموم کننده (مانند جیوه،کادمیم، سرب و بسیاری دیگر از مواد رادیواکتیو) را به چرخه عناصر اصلی وارد می‌کند و فعالیتهایی که مواد مصنوعی و مواد فعال بیولوژیکی مانند حشره‌کشهای دارای ترکیبات آلی بی فنیل پلی کلره (PCB) و مواد از بین برنده گیاهان هرز که ثابت شده است برای موجودات زنده خطرناک هستند را وارد چرخه مواد طبیعی می‌کند (۴).فرزات سنگین از طریق پسابها و ضایعات صنعتی و آلودگیهای نفتی و سموم دفع آفات و ... وارد محیطهای آبی می‌شوند و در بافتهای مختلف ماکروفیتها و موجودات دیگر آبزی تجمع می‌یابند. گیاهان سبز مهمترین تولید کنندگان در زنجیره غذایی اکوسیستمها می‌باشند و حیات موجودات زنده به آنها وابسته است. بر طبق نظریه Wood well (۱۹۷۰) فقط ۱٪ انرژی دریافتی زمین از خورشید به سیستم‌های زنده هدایت می‌شود. این بخش از انرژی در فتوسنتز گیاهان سبز ذخیره می‌شود و این فرآیند فقط با حضور کلروفیل انجام می‌گیرد. کلروفیل مهمترین ماده در عالم گیاهی است و بقاء حیات در طبیعت و دریاها به وجود آن بستگی دارد و این خود اهمیت این کار تحقیقی را بیشتر آشکار می‌سازد (۸). به مخاطره افتادن حیات گیاهان آبزی، در واقع حیات کل موجودات زنده را تهدید و نابودی اکوسیستم‌ها را در بر می‌گیرد وتلاش در جهت حفظ اکوسیستمهای آبی به ویژه حفظ حیات گیاهان آبزی از جمله اقدامات زیربنایی می‌باشد. به نحوی که می‌تواند حیات اکوسیستم‌های مختلف را به نوعی تضمین نماید.

مواد و روشها

۱- اسید نیتریک ۶۵ درصد Merck آلمان
۲-اسید پرکلریک ۷۰ درصد Merck آلمان
۳- آب مقطر دوباره تقطیرشده
۴- استانداردهای PPM ۱۰۰۰ فلزات مورد نظر
۵- کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲

نمونه‌برداری از گیاهان آبزی مورد بررسی *Typhala tiolfia, Hydrocotyle vulgaris* *Trapana Itans* در اوایل شهریور ماه سال ۱۳۷۶ از دو منطقه سیاه کشیم و رودخانه پیربازار انجام گردید. پس از نمونه‌برداری از ایستگاههای مربوطه به منظور سنجش غلظت فلزات سنگین و میزان غلظت کلروفیل

A در برگ گیاهان دو روش آزمایشگاهی زیر اتخاذ گردیده است:

الف) عصاره گیری کلروفیل با استن ۹۰٪:

۰/۵ گرم MgCo را به هر نمونه برگ (۵gr-۴) اضافه کرده و به تدریج ۲۰ میلی‌لیتر از استن ۹۰٪ به آن می‌افزاییم (در هاون) و کاملاً می‌سائیم. سپس نمونه‌ها را سانتریفوژ کرده و صاف می‌کنیم. آنگاه ۹ میلی‌لیتر دیگر از استن را در لوله آزمایش ریخته و یک میلی‌لیتر از عصاره کلروفیل صاف شده به آن اضافه می‌کنیم و آنگاه آن را خوب به هم‌زده و سپس میزان جذب را با دستگاه اسپکتروفتومتر (U.V) در طول موجهای ۶۳۰، ۶۴۵، ۶۶۳ و ۷۵۰ نانومتر قرائت می‌کنیم و با استفاده از فرمول ذیل، میزان غلظت کلروفیل a برگ محاسبه می‌شود.

ب) هضم نمونه‌ها: در این مرحله نمونه‌های برگ خشک را در هاون می‌سائیم و بااستفاده از روش هضم‌تر (هضم اسیدی، مخلوط اسیدنیتریک و اسیدپرکلریک) به نسبت (۳:۱)، به منظور تجزیه شیمیائی نمونه‌های به کار گرفته و سپس غلظت فلزات (Cu, Cd, Cr, Zn) نمونه‌های هضم شده برگ توسط دستگاه جذب اتمی (A.A.S) قرائت می‌گردد.

فرمول محاسبه کلروفیل a:

$$\frac{CaxV1}{Lx1000xW}xV_2 = mg/gr$$

V_1: حجم نمونه عصاره استخراج شده بر حسب میلی لیتر V=10ml

V_2: حجم نمونه فیلتر شده برحسب میلی‌لیتر

L: طول سل یا کووت برحسب سانتیمتر L=1 cm

W: وزن برگ گیاه برحسب گرم W= 5gr

جدول شماره ۱- شرایط دستگاهی به‌کار رفته برای تعیین فلزات

شرایط عنصر	پهنای شکاف nm	شعله	طول‌موج جذبی nm	طول شکاف مشعل cm	شدت‌جریان mA
Cu	۰/۵	هوا- استیلن	۳۲۴/۸	۱۰	۳
Cd	۰/۳	هوا-استیلن	۲۲۸/۸	۱۰	۴
Cr	۰/۵	هوا-استیلن	۳۵۷/۹	۱۰	۵
Pb	۰/۳	هوا-استیلن	۲۱۷/۰	۱۰	۷
Zn	۰/۵	هوا-استیلن	۲۱۳/۹	۱۰	۴

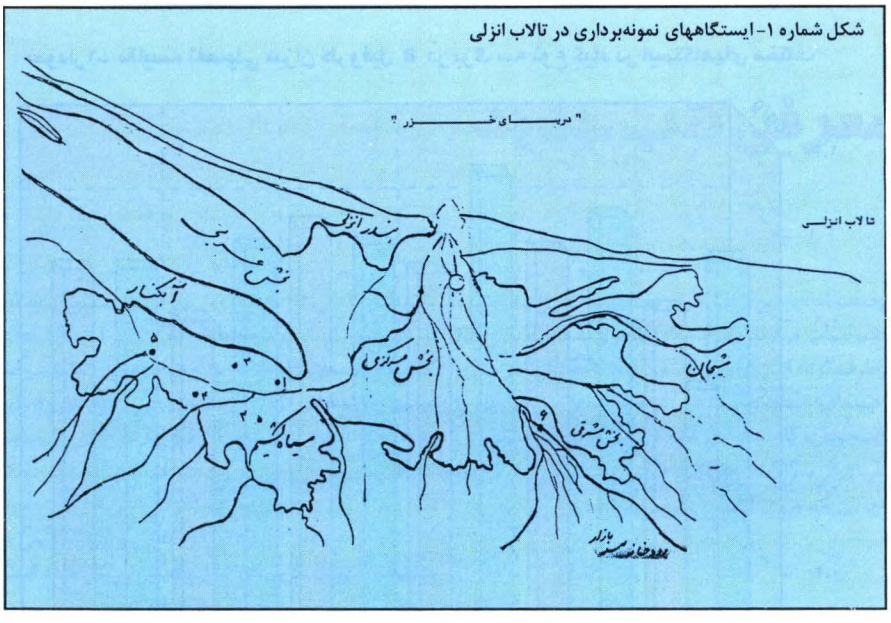
جدول شماره ۲- میانگین کلروفیل a (mg/gr) و فلزات (ppm) برحسب مناطق مورد بررسی

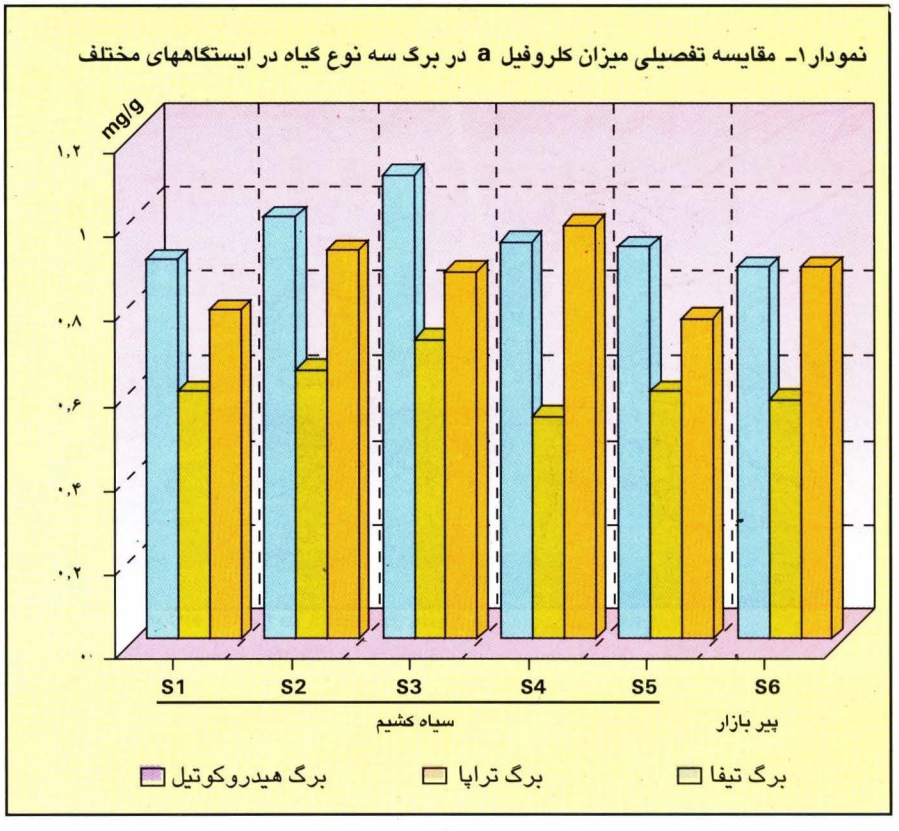
گیاه	فاکتور	سیاه کشیم	پیربازار
برگ هیدروکوتیل	کلروفیل a	۰/۹۸۲	۰/۸۹
	مس	۸/۵۵	۱۱/۰۸
	کروم	۵/۹۶۶	۹/۱۶۶
	روی	۳۷/۱۳۳	۴۱/۵
	کادمیم	۰/۷۵	۰/۸۳۳
برگ تراپا	کلروفیل a	۰/۶۷۹	۰/۵۸۲
	مس	۸/۳۸۳	۸/۲۵
	کروم	۶/۴۳۳	۸/۵
	روی	۱۹/۱۵	۲۵/۵
	کادمیم	۰/۶۶۶	۱/۱۵
برگ تیفا	کلروفیل a	۰/۸۶۴	۰/۸۸
	مس	۳/۶۱۶	۲/۳۳
	کروم	۳/۴۳۳	۷/۱۶۶
	روی	۱۲/۱۳۳	۸/۰۸۳
	کادمیم	۰/۴۳۷	۰/۶۶۶

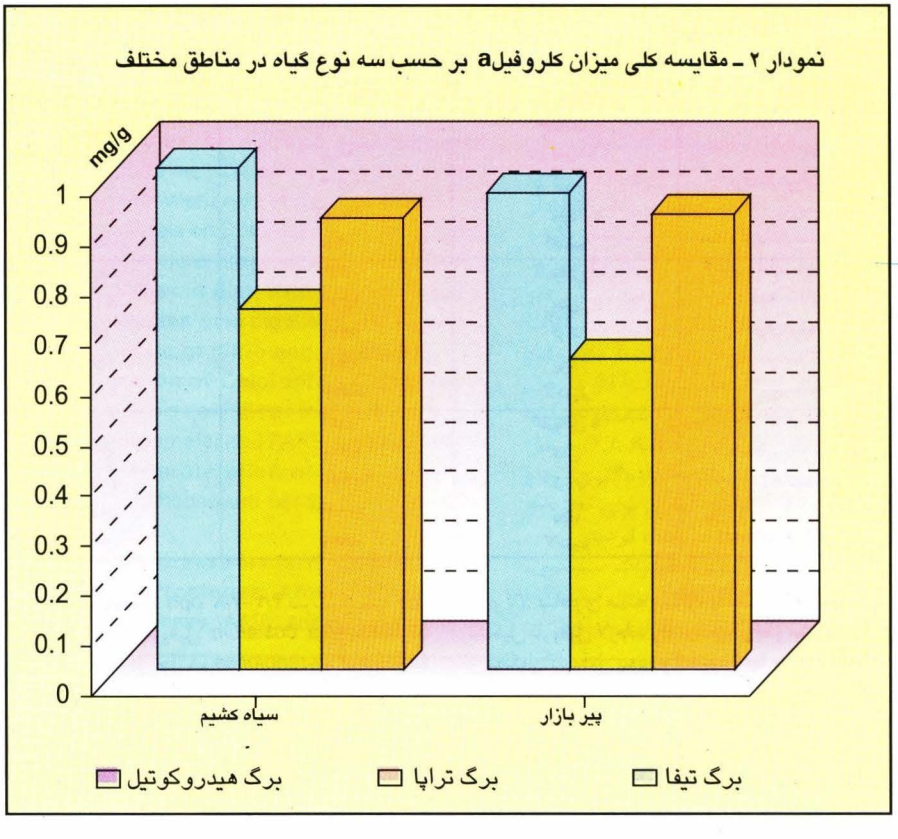
بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که از لحاظ میزان کلروفیل a در ایستگاههای مختلف تفاوت معنی‌دار وجود ندارد، ولی در سه گیاه تیفا،تراپا و هیدروکوتیل تفاوت معنی‌دار می‌باشد. بررسی میانگین کلروفیل a درگیاهان مورد بررسی در منطقه سیاه‌کشیم بیشتر از منطقه پیربازار است که می‌توان به صورت تراپا، تیفا، هیدروکوتیل نمایش داد، در این تحقیق میزان کم تجمع مس (جدول شماره یک) در برگ تیفا نسبت به دو گیاه دیگر به خوبی در تمامی ایستگاهها قابل مشاهده است و براساس تحقیقات پژوهشگران مبنی براینکه، کمی قدرت جابه‌جایی مس در گیاه باعث می‌شود که نشانه‌های کمبود مس در بافتهای جوان ظاهر شود و زیادی مس باعث از بین رفتن کلروفیل می‌شود (۱) و با توجه به اینکه گیاه تیفابه ارتفاع ۲-۱ متر می‌رسد لذا داده‌های حاصل از این تحقیق، کاهش میزان تجمع مس در برگ تیفا را توجیه می‌کند. از طرف دیگر در آبهای نمونه ساحلی انزلی تا ۰/۰۲pp مس گزارش شده که این مقدار می‌تواند موجب کاهش فتوسنتز گیاهان آبزی گردد (۳) و همینطور در منبع دیگری ۵۰ppb کروم باعث افزایش در طول جوانه و با افزایش غلظت میزان فتوسنتز را ٪۸۰-۶/۴ کاهش می‌داد و میزان تجمع کروم در جوانه ۶۰ppm بود(۹). فلزات سنگین در غلظتهای مختلف، تأثیرات متفاوتی را بر روی گیاهان اعمال می‌دارند به طوریکه ۴/۴-۷/۸ppb سرب، سبب ۵۰٪ کاهش در میزان کلروفیل *Skeletonema costatum* شده است (۵). در جلبک *Chlofrella pyrenoidosa* معلوم می‌شود که در غلظتهای ۱-۰/۱ PPm سمیت فلز مس بیشتر از کروم و نیکل بوده است و حضور یکی از سه فلز سنگین با دو فلز دیگر در ترکیبات دو فلزی مختلف بر روی رشد، فتوسنتز و سنتز کلروفیل a جلبک به نحوی بوده که به طور سازگار، به هم تأثیر می‌گذاشتند (۶ و ۷). عناصری مانند منگنز، پتاسیم، روی و مس در تشکیل کلروفیل لازم‌اند و همینطور ازت و منیزیم جزئی از مولکول کلروفیل بوده و کمبود آنها سرعت ساخته شدن کلروفیل راکاهش می‌دهد (۱). بررسی میانگین میزان تجمع فلزات سنگین در دو منطقه سیاه‌کشیم و پیربازار نشان می‌دهد که میانگین تجمع فلزات سنگین مورد بررسی در گیاهان مذکور در منطقه پیربازار (آلوده‌ترین ایستگاه مورد مطالعه) بیشتر از غلظت این

شکل شماره ۱- ایستگاههای نمونه‌برداری در تالاب انزلی







فلزات در ایستگاههای مورد نظر سیاه‌کشیم می‌باشد. همچنین براساس آنچه که در نمودارهای ۱ و ۲ مشاهده می‌گردد، غلظت کلروفیل a در سه نوع گیاه مورد مطالعه در ایستگاه پیربازار کمتر از مقادیر آنها در گیاهان مشابه در منطقه سیاه‌کشیم می‌باشد. براساس این بررسیها می‌توان نتیجه گرفت که میزان غلظت و تجمع فلزات سنگین می‌تواند یکی از فاکتورهای محدود کننده برای غلظت کلروفیل a در گیاهان آبزی باشد. به طور کلی درصد همبستگی بین تجمع فلزات مورد بررسی و کلروفیل a در برگ گیاهان مذکور مشخص می‌کند که کاهش یاافزایش هر کدام از فلزات در کنار میزان کلروفیل a از روند خاصی تابعیت نکرده است. با توجه به اینکه کلروفیل a به عنوان یک عامل اصلی در جذب نور برای عمل فتوسنتز و مهمترین ترکیبی که باعث تبدیل انرژی نورانی به شیمیایی می‌شود، مطرح می‌باشد(۲) هرگونه اختلال در سنتز مولکول کلروفیل a مستقیماً تأثیرات منفی در فتوسنتز گیاه را باعث شده و سیر نزولی این روند تغییرات، عواقب ناهنجاری رابه دنبال خواهد داشت، به طوری که کاهش فتوسنتز به نوعی حیات موجودات زنده کره زمین را به مخاطره خواهد انداخت.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از مرکز تحقیقات شیلات استان گیلان که امکانات انجام این پروژه تحقیقاتی را فراهم آوردند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

۱- احمدی، نعمت الله، ۱۳۶۷. فیزیولوژیکی (فتوسنتز و تغذیه) انتشارات دانشگاه تهران، ص۱۹۸ - ۱۷.

۲- ربانی چادگانی عذرا. مبانی بیوشیمی، شماره مسلسل ۳۳۲۳، انتشارات دانشگاه تهران، ص ۲۴۵-۲۳۹.

۳- شمس الیاس، امینی رنجبرغلامرضا، ۱۳۷۲. مطالعه فلزات سنگین در رسوبات سطحی تالاب انزلی به روش اسپکتروسکوپی جذب اتمی، انتشارات دانشگاه تربیت مدرس.

4- Ehrlich Pul R. Ehrlich. Ann H. Holdren. John H., 1977. Ecoscience: Population resources. Environment. San Fransisco. W.H. Freeman Company.

5- Unep. G., 1985. Cadmium, lead and tin in the marine environment. Regional Seas Reports and Studies. No.PP. 10. 15.41.42.

6- Stanley R.A., 1974. The toxicity of heavy metals and salts to euroasian water milfoil (*Myriophyllum spicatum* L.), 2:331- 341.

7- Wong. P.K., Chang. L., 1997. Effects of copper, chromium and nickel on growth, photosynthesis and chlorophylla synthesis of *Chlorella pyrenoidosa* Environ. Pollut. 72.2, (127-139).

8- Wood Well & George U., 1970. The energy cycle of the biosphere. Scientific American (New York). Vol.223, No. 3, Sep. PP: 64-74.