بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد چهارم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹٤
http://japu.gau.ac.ir

تأثیر کشندگی سموم قارچ‌کش تیلت و بنومیل بر جمعیت جلبک سبز سندسموس کواردیکودا (*Scenedesmus quadricauda*)

***احمدرضا پیرعلی زفره‌ئی[1]، امیدوار فرهادیان[2] و مریم فلاح[3]**

[1]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران،
[2]دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، [3]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۱۱/۱۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱/۲۲

چکیده

محیط‌های آبی به‌علت پساب‌های صنعتی، کشاورزی و خانگی اغلب در معرض آلاینده‌های مختلف نظیر سموم کشاورزی هستند که مشکلات متعددی برای موجودات آبزی ایجاد کنند. گونه‌های جنس سندسموس (*Scenedesmus* spp.) را اغلب جهت نشان دادن تغییرات فیزیکو شیمیایی و شرایط زیست‌محیطی استفاده می‌کنند. این پژوهش با هدف بررسی اثرات سموم قارچ‌کش‌تیلت (پروپیکونازول) و بنومیل در غلظت‌های مختلف بر جمعیت جلبک‌سبز سندسموس‌کواردیکودا (*Scenedesmus quadricauda*) به‌همراه تعیین غلظت مؤثره EC_{50} ۹٦ ساعته بود. این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی و در مدت ۹٦ ساعت با ٤ غلظت (به‌همراه شاهد) باسه تکرار برای هر قارچ‌کش در محیط کشت BBM و براساس روش استاندارد O.E.C.D انجام شد. بیشترین درصد تلفات در قارچ‌کش‌های بنومیل و تیلت به‌ترتیب در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم برلیتر و ۲۸/٤۰ میکروگرم برلیتر بود. همچنین میزان EC_{50} ۹٦ ساعته به‌ترتیب ۰/۸۳٤ میلی‌گرم بر لیتر در بنومیل و ٦/٦۱۲ میکروگرم بر لیتر در تیلت تعیین گردید. نتایج آنالیز آماری نیز نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در رشد روزانه ($p<۰/۰۵$) بین برخی از غلظت‌های مختلف در هریک از سموم مورد مطالعه بود، به‌طوری که

*مسئول مکاتبه: ahmadreza.pirali@gmail.com

افزایش غلظت سموم باعث کاهش معنی‌داری در تراکم سلولی شد. به‌طور کلی نتایج این پژوهش بیانگر تخریب سلول‌های جلبک سبز (*S. quadricauda*) در قارچ کش بنومیل با درجه سمیت خیلی زیاد (وضعیت خطرناک) بود. همچنین استفاده از گونه (*S. quadricauda*) برای پایش بیولوژیکی در اکوسیستم‌های آبی به‌دلیل پاسخ‌های سریع به آلاینده‌ها توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: جلبک‌سبز، سموم کشاورزی، غلظت مؤثره (EC_{50})، محیط کشت، (*Scenedesmus quadricauda*)

مقدمه

شناسایی اثرات توکسیکولوژیکی یک ماده شیمیایی در موجودات، تحت شرایط آزمایشگاهی اغلب راحت‌تر از شناسایی این اثرات در جمعیت‌های موجود در طبیعت است، زیرا این اثرات توسط شرایط فیزیولوژیکی موجود در سیستم‌های آزمایشگاهی کنترل می‌شود (کومار[1]، ٢٠٠٣). به‌دلیل این‌که جلبک‌ها حساسیت خود را به طیف‌های وسیع آلودگی از قبیل علف‌کش‌ها، فلزات و آفت‌کش‌های ارگانوکلر و موادآلی صنعتی نشان می‌دهند از آن‌ها برای بررسی این آلودگی‌ها استفاده می‌کنند (فرچیلد[2] و همکاران، ١٩٩٨).

جنس *Scenedesmus* در زمینه‌های مختلف لیمنولوژی معادل موش‌های آزمایشگاهی مطرح و کاربرد فراوانی در علوم تحقیقاتی دارند. این جلبک‌ها معمولاً به‌عنوان میکروارگانیسم‌های استاندارد در بسیاری از تحقیقات‌آبی، تکنولوژی و مدیریت آب‌ها مطرح هستند (زاچلر[3] و همکاران، ١٩٨٦). جلبک‌سبز *Scenedesmus quadricauda* قابلیت استفاده برای نشان دادن تأثیرات آلایندگی سموم مختلف در محیط‌های آبی را دارد. علت آن فراوانی این جلبک در محیط‌های آب شیرین و این‌که از اجزای اصلی در زنجیره غذایی آب شیرین است (ونگ[4]، ٢٠٠٠). بنابراین از *Scenedesmus quadricauda* می‌توان به‌عنوان بیواندیکاتور مناسب برای آلایندگی سموم در محیط‌های آبی استفاده کرد (ما، ٢٠٠٢).

1- Kumar
2- Fairchild
3- Zachleder
4- Wong

ارزیابی‌ها نشان می‌دهد که حداکثر یک درصد آفت‌کش‌های مصرفی، صرف از بین بردن آفات شده و در نتیجه مقادیر قابل توجهی از آن‌ها وارد محیط‌زیست می‌گردند و منابع آبی و خاکی را آلوده می‌سازند (یانگ[1]، ۱۹۸۷). بنابراین شناسایی این سموم در آب و مواد غذایی و محیط‌زیست انسان به‌عنوان خطری برای سلامتی او حائز اهمیت می‌باشد (WHO و FAO، ۲۰۰۸). قارچ‌کش بنومیل با فرمول شیمیایی $C_{14}H_{18}N_4O_3$ اولین بار در ایالات متحده آمریکا در سال ۱۹٦۸ توسط شرکت دوپونت به ثبت رسیده و تولید شده است (ادوارد[2] و همکاران، ۱۹۹۱). بنومیل یک قارچ‌کش سیستمیک از خانواده Benzimidazole و برای طیف وسیعی از قارچ‌ها و کرم‌های خاکی سمی مورد استفاده است. از نظر عملکرد این قارچ‌کش باعث توقف تکثیر سلول می‌شود. سموم دفع آفاتی که به‌صورت سیستمیک هستند هنگامی‌که توسط اندام هوایی، ریشه یا ساقه جذب شوند از طریق شیره گیاهی به سایر اندام‌های گیاه رفته و اثرگذاری بیشتری دارند (تامسون[3]، ۱۹۹۷). تیلت (پروپیکونازول) با فرمول شیمیایی $C_{15}H_{17}Cl_2N_3O_2$ یکی از مشتقات تریازول است، این قارچ کش اولین بار در سال ۱۹۷۹ در بلژیک توسط کمپانی Janssen Pharmaceuticalis تولید گردید، پروپیکونازول سیستمیک بوده و از دی متیلاسیون استروئیدها جلوگیری می‌کند (تامسون، ۱۹۹۷).

اولین روش استاندارد به‌وسیله جلبک‌های آب شیرین در سال ۱۹٦۰ توسعه پیدا کرد. این روش با استفاده از گونه *Selenastrum capricornutum* توسط اسکولبرگ آغاز شد (اسکولبرگ[4]، ۱۹٦٤) و بعدها به‌وسیله آژانس حفاظت محیط‌زیست امریکا (EPA) تحت عنوان پروتکل آزمایش جلبک به روش بطری[5] توسعه پیدا کرد (EPA، ۱۹۸۷). امروزه آزمایش سمیت در جلبک‌ها با استفاده از روش استاندارد (O.E.C.D[6]) صورت می‌گیرد (O.E.C.D، ۲۰۰٦).

با توجه به مطالعات محدود در ایران در زمینه تأثیر سموم کشاورزی بر جلبک‌ها، هدف از این پژوهش بررسی اثرات قارچ‌کش‌های تیلت و بنومیل مورد استفاده در مزارع کشاورزی بر روی جلبک‌سبز سندسموس کواردیکودا *Scenedesmus quadricauda*، رشد و تعیین غلظت مؤثره EC_{50} برای هریک از سموم فوق بود.

1- Young
2- Edwards
3- Thomson
4- Skulberg
5- “algal assay bottle test” protocol (AAP test)
6- Organisation for Economic Co-operation and Development

مواد و روش‌ها

تهیه ذخیره اولیه و خالص‌سازی جلبک: جمع‌آوری اولیه نمونه‌های جلبکی از آب استخرهای پرورش ماهی اصفهان انجام گردید. پس از شناسایی با استفاده از میکروپیپت سلول‌های فیتوپلانکتونی را جدا نموده و با بهره‌گیری از محیط کشت جامد آگار و تجدید مداوم کشت استوک خالص تهیه گردید. پس از اطمینان از خالص‌سازی، جلبک *Scenedesmus quadricauda* در ارلن مایرهای دو لیتری با محیط کشت BBM[1] (ویژه جلبک‌های آب شیرین) جهت ذخیره اولیه کشت داده شد (نیکولز، ١٩٧٣).

نحوه انجام آزمایش: به‌منظور ارزیابی سمیت و تعیین غلظت مؤثره (EC_{50}) طول دوره آزمایش ٩٦ ساعت بوده و میزان مرگ و میر در زمان‌های ٢٤، ٤٨، ٧٢ و ٩٦ ساعت محاسبه شد. شایان ذکر است محاسبه EC_{50} براساس بایومس (تراکم سلول‌ها) صورت گرفت، که تعداد مرگ و میر (تلفات) از زمان القای سم تا ٢٤ ساعت، مرگ و میر روز اول و به‌این ترتیب تا روز چهارم محاسبه شد. پس از آزمایشات اولیه تیمارهای نهایی براساس تصاعد هندسی برای هر سم ٤ تیمار و ١ شاهد تعین گردید. شامل غلظت‌های ٠، ٢٨/٤٠، ٢/٨٤٠، ٠/٢٨٤٠ و ٠/٠٢٨٤٠ میکروگرم بر لیتر برای قارچ‌کش تیلت، غلظت‌های ٠، ٢/٥، ١/٥ ،١ و ٠/٥ میلی‌گرم بر لیتر برای قارچ‌کش بنومیل با ٣ تکرار در هر تیمار تعیین شد. تیمارها در لوله‌های آزمایش ١٠ سی‌سی همراه با محیط کشت BBM در شرایط نوری ١٢ ساعت تاریکی و ١٢ ساعت روشنایی و شدت نور ٦٠ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه در دمای ٢±٢١ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. شمارش روزانه جلبک‌ها از هر لوله به‌وسیله لام هموسایتومتری (mm ٠/٢ × mm ٠/٠٦٢٥) و میکروسکوپ اینورت (Ceti Belgium) بر اساس روش مارتینز و چاکروف[2] در سال ١٩٧٥ انجام شد. EC_{50} نمونه‌ها با توجه به استاندارد ٢٠١- O.E.C.D تعیین شد. میزان حداکثر غلظت مجاز[3] (میزان EC_{50}٩٦ h تقسیم بر ١٠) که به‌عبارتی غلظت غیر مؤثر[4] نیز خوانده می‌شود و درجه سمیت بر طبق جدول استاندارد (١) مشخص شد (O.E.C.D، ٢٠٠٦).

1- Bold Basal Medium
2- Martinez and Chakroff
3- Mac value
4- NOEC

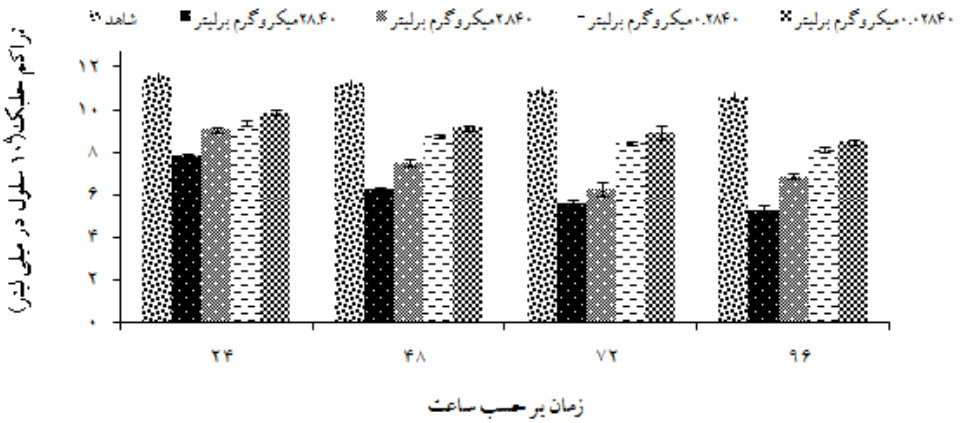
جدول ۱- تقسیم‌بندی قارچ‌کش‌ها براساس میزان سمیت استاندارد EPA (برحسب میلی‌گرم بر لیتر) (EPA.۲۰۰٦)

سطح	درجه سمیت	$EC_{۵۰}$
I	سمیت خیلی زیاد (وضعیت خطرناک)	۰ -۰/۲
II	سمیت زیاد (وضعیت هشدار)	۰/۲-۲
III	سمیت متوسط (وضعیت احتیاط)	۲-۲۰
IV	سمیت کم (وضعیت احتیاط)	>۲۰

آنالیز آماری: ارزیابی سمیت در جلبک‌ها با روش Probit و آنالیز آماری داده‌ها با تجزیه واریانس یک طرفه (One- way ANOVA) انجام شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزارآماری SPSS نسخه ۱٦ و رسم نمودارها به‌وسیله برنامه Excell, 2010 انجام شد.

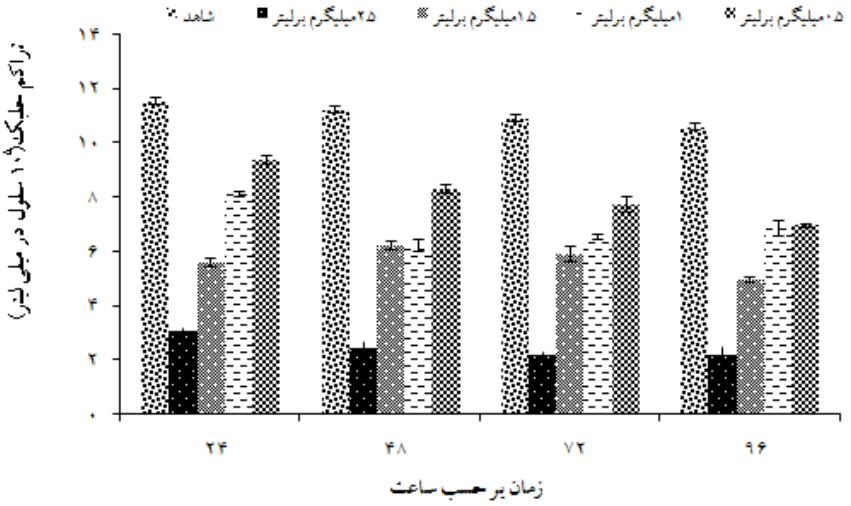
نتایج

بررسی شکل ۱ نشان می‌دهد بیشترین و کمترین تراکم سلول‌های جلبک در قارچ‌کش تیلت مربوط به غلظت‌های ۰/۰۲۸٤ میکروگرم در لیتر، ($۹/۸۸\times۱۰^{۵}$ سلول در هر میلی‌لیتر) و ۲۸/٤۰ میکروگرم در لیتر، ($۵/۳۱۲\times۱۰^{۵}$ سلول در هر میلی‌لیتر) می‌باشد.



شکل ۱- تغییرات تراکم جمعیت جلبک *S. quadricauda* در غلظت‌های مختلف سم تیلت طی ۹٦ ساعت.

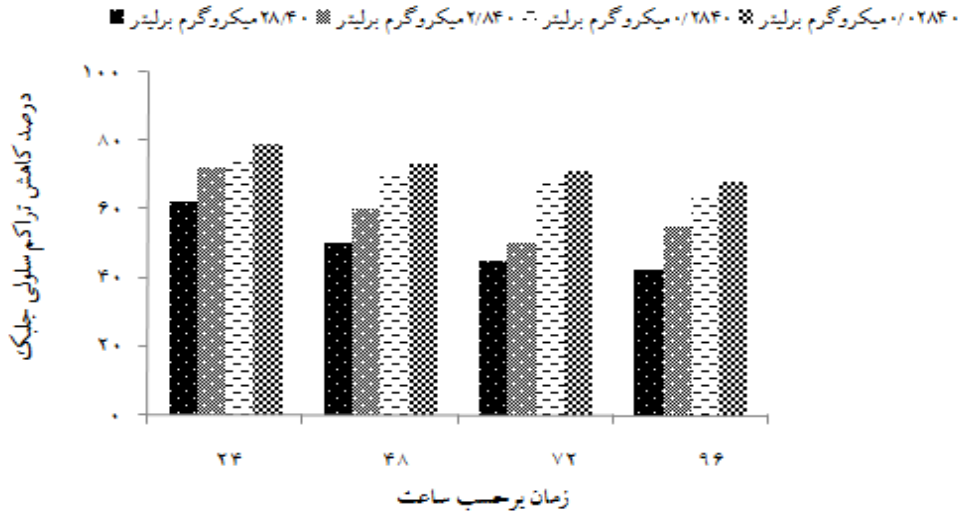
بر اساس شکل ٢ در قارچ‌کش بنومیل بیشترین و کمترین تراکم سلول‌های جلبک مربوط به غلظت‌های ٠/٥ میلی‌گرم در لیتر، (٩/٤×١٠^٥ سلول در هر میلی‌لیتر) و ٢/٥ میلی‌گرم در لیتر، (٢/١٨×١٠^٥ سلول در هر میلی‌لیتر) می‌باشد.



شکل ٢- تغییرات تراکم جمعیت جلبک *S. quadricauda* در غلظت‌های مختلف سم بنومیل طی ٩٦ ساعت.

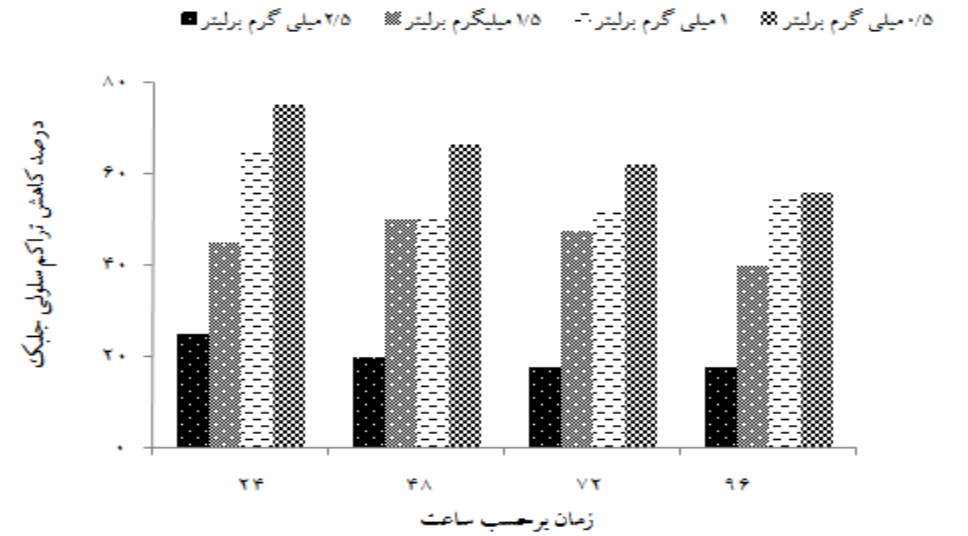
نتایج آنالیز آماری نیز نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در رشد روزانه ($p<٠/٠٥$) بین برخی از غلظت‌های مختلف در هریک از سموم مورد مطالعه بود به‌طوری که افزایش غلظت سموم باعث تغییرات معنی‌داری ($p<٠/٠٥$) در تراکم سلولی می‌شود.

در شکل‌های ٤-٣ به‌ترتیب میانگین درصد تغییرات سلول‌های جلبک سبز سندسموس کواردیکودا نسبت به سلول‌های اولیه تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سموم مورد مطالعه آورده شده است.



شکل ۳- درصد تغییرات سلول‌های جلبک سبز سندسموس کواردیکودا نسبت به سلول‌های اولیه تحت تأثیر غلظت‌های مختلف قارچ‌کش تیلت طی ۹٦ ساعت.

طبق شکل‌های ٤ و ۳ بیشترین کاهش سلول جلبک در قارچ‌کش بنومیل در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم برلیتر و تیلت ۲۸/٤۰ میکروگرم بر لیتر می‌باشد.



شکل ٤- درصد تغییرات سلول‌های جلبک سبز سندسموس کواردیکودا نسبت به سلول‌های اولیه تحت تأثیر غلظت‌های مختلف قارچ‌کش بنومیل طی ۹٦ ساعت.

در جدول ٢ غلظت‌های مؤثره (EC_{10}، EC_{50} و EC_{90} ٩٦ ساعته) هریک از سموم گزارش شده است.

جدول ٢- غلظت‌های مؤثره سموم ٩٦ ساعته.

قارچ‌کش	EC_{10}	EC_{50}	EC_{90}	
تیلت	٠/٠٠٢	٦/٦١٢	١/٨×١٠ ٣	میکروگرم بر لیتر
بنومیل	٠/٠٠١	٠/٨٣٤	١٠/١	میلی‌گرم بر لیتر

میزان غلظت مؤثره تیلت در طی چهار روز متوالی (٩٦ ساعت) برای ٥٠ درصد از جمعیت جلبک سندسموس کواردیکودا ٦/٦١٢ میکروگرم بر لیتر (جدول ٢) و حداکثر غلظت مجاز (MAC value) این سم یا به‌عبارتی غلظت غیر مؤثر (NOEC) ٠/٦٦١ میکروگرم بر لیتر به‌دست آمد. میزان غلظت مؤثره بنومیل نیز در طی چهارروز متوالی (٩٦ ساعت) ٠/٨٣٤ میلی‌گرم بر لیتر و حداکثر غلظت مجاز (MAC value) ٠/٠٨٣ میلی‌گرم بر لیتر بود.

بحث

ارزیابی تأثیرات سمیت با استفاده از ریز جلبک‌ها سریع و بسیار کم هزینه است و می‌تواند به‌طور مؤثر در ارزیابی عناصر و ترکیبات سمی حتی در غلظت‌های بسیار کم از سموم مورد استفاده قرار گیرند (ونگ و کویتر، ١٩٨٦). اگرچه عملکرد آفت‌کش‌ها بر جلبک‌ها و ارگانیسم‌ها مهم است اما نقش کلیدی را که در فعالیت‌های کشاورزی ایفا می‌کنند اهمیت آن‌ها را چندین برابر می‌نماید. استفاده زیاد از سموم کشاورزی اثراتی را بر روی ارگانیسم‌های غیرهدف از جمله جلبک‌ها می‌گذارد (ما، ٢٠٠٢). بررسی میزان رشد جلبک *Scenedesmus quadricauda* طبق شکل ١-٢ نشان می‌دهد قارچ‌کش بنومیل نسبت به قارچ‌کش تیلت اثر شدیدتری بر روی رشد جلبک *S. quadricauda* داشته است. با توجه به نقش بازدارندگی رشد (تقسیم سلولی) توسط این نوع قارچ‌کش قابل انتظار می‌باشد. بررسی سطوح مختلف قارچ‌کش بنومیل نشان می‌دهد در ٢٤ ساعت اولیه آزمایش شدت اثر سم در مقایسه با سم تیلت بیشتر است و این روند طبق شکل ١ در روزهای بعدی نیز ادامه دارد و در سطوح ١/٥ و ١ میلی‌گرم در لیتر حاکی از مقابله جلبک *S. quadricauda* عملکرد سم بنومیل و کاهش اثر آن بوده است.

ما (۲۰۰۲) نیز نشان داد که تأثیر ۳۰ نوع علف‌کش گوناگون برای جلبک، *Scenedesmus obliquus* دامنه گسترده و تحمل بیشتری در مقایسه با جلبک *Chlorella pyrenoidosa* داشت. در قارچ‌کش تیلت نیز شاهد نوساناتی در جمعیت جلبک *S. quadricauda* بودیم. در ٢٤ ساعت اولیه با کاهش رشد در تمام تیمارها مواجه بوده و از روز دوم تا پایان آزمایش این روند با شیب کمتری صورت گرفته است که نشان‌دهنده مکانیسم جلبک *S. quadricauda* در برابر قارچ‌کش تیلت بود.

با مقایسه بین تیمارهای مختلف این روند در سطوح ۲۸/٤۰ و ۲/۸٤۰ میکروگرم بر لیتر به‌دلیل اثرگذاری شدید قارچ‌کش تیلت کمتر بوده است. در مطالعات جفروی و همکاران ۲۰۰٤ علف‌کش فلوگزامین[1] به‌طور شدیدی باعث بازدارندگی رشد *Scenedesmus obliquus* با کاهش تقسیم سلولی شده است، در حقیقت این علف‌کش باعث جلوگیری از فرایند کلروفیل شده است (جفروی و همکاران، ۲۰۰٤). نتایج استفاده از علف‌کش اکسی فلورن[2] و دیوران[3] در مطالعات جفروی و همکاران در ۲۰۰۲ نشان داد که به‌طور شدیدی مانع رشد *S. obliquus* شده است (جفروی و همکاران، ۲۰۰۲). به‌طور معمول سمیت سم در ارگانیسم هدف به دو عامل بستگی دارد، نفوذ از طریق غشاء بیولوژیکی و اثر متقابل سم در مکان اثر (مک فارلند[4]، ۱۹۷۰). همچنین در مطالعات بونت[5] و همکاران (۲۰۰۷) مشخص شد که بین سمیت و آب گریزی در چند نوع آفت کش و نحوه اثرشان بر گیاهان آبزی و جلبک ارتباط معنی‌داری وجود دارد (بونت و همکاران، ۲۰۰۷).

براساس جدول ۲ و باتوجه به مقادیر (MAC value) می‌توان درجه سمیت سموم مورد آزمایش برای جلبک *S. quadricauda* در این مطالعه را تعیین کرد. به‌این ترتیب قارچ‌کش تیلت در درجه سمیت کم و بنومیل در درجه سمیت خیلی زیاد (وضعیت خطرناک) برای جلبک سندسموس کواردیکودا قرار می‌گیرند. میزان EC_{50} ۹٦ ساعته به‌ترتیب ۰/۸۳٤ میلی‌گرم بر لیتر در بنومیل و ٦/٦۱۲ میکروگرم بر لیتر در تیلت تعیین گردید.

1- Flumioxazin
2- Oxyfluorfen
3- Diuron
4- McFarland
5- Bonnet

براساس استاندارد آب آشامیدنی اتحادیه اروپا حداکثر غلظت مجاز آفت‌کش‌ها در منابع آبی ٠/٥ میکروگرم بر لیتر می‌باشد (گرای[1]، ١٩٩٦). متأسفانه اطلاعات چندانی در مورد مطالعه اثرات سمیت قارچ‌کش‌ها بر روی گونه‌های جنس سندسموس (*Scenedesmus* spp.) در دسترس نیست. جانقز[2] و همکاران (٢٠٠٣) مقدار EC_{50} برای علف‌کش متاکلر[3] در جلبک *S. vacuolatus* ٢٣٢ میکروگرم بر لیتر، ما و همکاران (٢٠٠٤) مقدار EC_{50} برای علف‌کش بوتاکلر[4] در جلبک *S. quadricauda* ٠/٢ میلی‌گرم بر لیتر، هی[5] و همکاران (٢٠١٢) مقدار EC_{50} برای علف‌کش بوتاکلر در جلبک *S. obliquus* ٢/٣١ میلی‌گرم بر لیتر، نیستروم[6] و همکاران (١٩٩٩) مقادیر EC_{50} برای علف‌کش‌های کلروسولفورون[7] و مت سولفورون متیل[8] در جلبک *S. obtusiusculus* به‌ترتیب ١٠ و ١٥ میکرومولار و ایبراهیم[9] (١٩٩٠) مقادیر EC_{50} برای علف‌کش گراماکسون[10] در *S. dimorphus* ٣٩/٨ میکروگرم بر لیتر به‌دست آورده‌اند. اختلاف در مقادیر EC_{50} در آزمایش‌های سمیت در جلبک‌ها تحت تأثیر فاکتورهایی نظیر دما، pH، میزان و شدت نور، مدت زمان و نحوه انجام آزمایش، تراکم جلبک، نوع سموم، محیط کشت و جلبک مورد استفاده می‌باشد (لویس[11]، ١٩٩٥) که بخشی از تفاوت‌ها را توجیه می‌نماید.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج بیانگر تخریب سلول‌های جلبک سبز *S. quadricauda* و شدت اثرگذاری بیشتر سم بنومیل نسبت به تیلت بر این تولیدکنندگان اولیه در منابع آبی می‌باشد. بنومیل دارای سمیت خیلی زیاد (خطرناک) نسبت به تیلت بود و با توجه به طولانی بودن نیمه عمر ترکیبات سمی برخی از آفتکش‌ها و ذخیره شدن در پیکره موجودات آبزی می‌توانند بر حیات سایر آبزیان و به‌دنبال آن انسان‌ها تأثیرگذار باشد، بنابراین باتوجه به نتایج این مطالعه و تهدید جوامع آبزی با ورود سموم کشاورزی

1- Gray
2- Junghans
3- Methacholor
4- Butachlor
5- He
6- Nystrom
7- Chlorsulfuron
8- Metsulfuron-methyl
9- Ibrahim
10- Gramaxon
11- Lewis

مختلف، مدیریت صحیح و نظارت بر مصرف همراه با کنترل سموم ضروری است، بنابراین می‌توان از سموم جایگزین بادرجه سمیت کمتر استفاده کرد. همچنین براساس نتایج این پژوهش و سایر مطالعات انجام گرفته می‌توان از *S. quadricauda* به‌دلیل عملکرد قابل قبول به‌عنوان یک شاخص بیولوژیکی در منابع آبی استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه صنعتی اصفهان به لحاظ فراهم آوردن بودجه و امکان پژوهش و همچنین از کارشناسان محترم گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی که نهایت همکاری را در انجام این پژوهش به عمل آوردند تشکر و سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1. Bonnet, J.L., Bonnemoy, F., Dusser, M., Bohatier, J. 2007. Assessment of the potential toxicity of herbicides and their degradation products to nontarget cells using two microorganisms, the bacteria *Vibrio fischeri* and the ciliate *Tetrahymena pyriformis*. Environmental Toxicology; 1: 78–91.
2. Edwards, I.R., Ferry, D.G., and Temple, W.A. 1991. Fungicides and related compounds, In: Handbook of Pesticide Toxicology. Hayes, W.J., and Laws, ER., Eds. Academic Press, New York, Vol., 3, Pp: 1409–1470.
3. Environmental Protection Agency, EPA. 2006. DCNA (Dicloran) Reregistration Eligibility Decision (RED) Fact Sheet. EPA 738-F-06-013, July.
4. EPA Method 507. 1987. Pesticides, Capillary Column. EPA, Test Method for Drinking Water and Raw Source Water: Pp: 1-6.
5. Fairchild, J.F., Ruessler, D.S., and Carlson, A.R. 1998. Comparative sensitivity of five species of macrophytes and six species of algae to atrazine, metribuzin, alachlor, and metolachlor. Environmental Toxicology and Chemistry 17: 1830–1834.
6. FAO/ WHO. 2008. Pesticide residue a food. Joint FAO/WHO. Available from: http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/2008_JMPR_Evaluations.pdf.
7. Geoffroy, L., Frankart, C., and Eullaffroy, P. 2004. Comparison of different physiological parameter responses in *Lemna minor* and *Scenedesmus obliquus* exposed to herbicide flumioxazin. Environmental Pollution; 131: 234-241.
8. Geoffroy, L., Teisseire H., Couderchet M., and Vernet G. 2002. Effect of oxyfluorfen and diuron alone and in mixture on antioxidative enzymes of *Scenedesmus obliquus*. Pesticide Biochemistry and Physiology; 72: 178–185.

9. Gray, NF. 1996. Drinking Water Quality problems and solutions. John Wiley and Sons. ltd.
10. He, H., Yu J., Chen, G., Li, W., He, J., Li, H. 2012. Acute toxicity of butachlor and atrazine to freshwater green alga *Scenedesmus obliquus* and cladoceran *Daphnia carinata*, Ecotoxicology and Environmental Safety; 80: 91–96.
11. Ibrahim, E.A. 1990. The influence of the herbicide paraquat ‘‘gramoxon” on growth and metabolic activity of three chlorophytes. Water, Air and Soil Pollution; 51: 89–93.
12. Junghans, M., Backhaus, T., Faust, M., Scholze, M., Grimme, L.H. 2003. Predictability of combined effects of eight chloroacetanilide herbicides on algal reproduction. Pest Management Science; 59: 1101–1110.
13. Kumar, A. 2003. Aquatic Environment and Toxicology, Environment Biology Reserarch Unit. P.S.K.University, Dumaka- 814101.
14. Lewis, MA. 1995. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: A review. Environmental Pollution; 87: 319–336.
15. Ma, J. 2002. Differential sensitivity to 30 herbicides among populations of two green alga *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa*. Environmental Contamination and Toxicology. 68: 275–281.
16. Ma, J., Lin, F., Wang, S., and Xu, L. 2004. Acute toxicity assessment of 20 herbicides to the green alga *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. Environmental Contamination and Toxicology; 72: 1164–1171.
17. Martinez, M.P., Chakroff, J.B.P. 1975. Direct phytoplankton counting technique using using the hemacytometer. Philippine Agriculture Science; 59: 43-50.
18. McFarland, J.W. 1970. On the parabolic relationship between drug potency and hydrophobicity. Journal of Medicinal Chemistry; 13: 1192–1196.
19. Nichols, H.W. 1973. Growth media– freshwater. In: Stein, J.R., (Editor), Handbook of Phycological Methods– Culture Methods and Growth Measurements, Cambridge University Press Cambridge, Pp: 7–24.
20. Nystro¨m B., Bjo¨msater, B., Blanck, H. 1999. Effects of sulfonylurea herbicides on non-target aquatic micro-organisms Growth inhibition of micro-algae and short-term inhibition of adenine and thymidine incorporation in periphyton communities. Aquatic Toxicology. 47: 9–22.
21. O.E.C.D. 2006. Guideline for testing on chemicals. Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test OECD.
22. Skulberg, OM. 1964. Algal Problems Related to the Eutrophication of European Water Supplies, and a Bio-Assay Method to Assess Fertilizing Influences of Pollution on Inland Waters. In: Algae and Man Ed. D.F. Jackson. Plenum Press. New York: 262-299.
23. Thomson, WT. 1997. Agricultural Chemicals. Book IV: Fungicides. 12th edition. Thomson Publications, Fresno, CA.

24. Wong, PTS., Couture, P. 1986. Toxicity screening using phytoplankton. In: Dutka BJ, Bitton G Toxicity Testing using Microorganisms. CRC, Boca Raton, Pp: 79–100.
25. Wong, PK. 2000. Effects of 2,4-D glyphosate and paraquat on growth, photosynthesis and chlorophyll a synthesis of *Scenedesmus quadricauda* Berb 614. Chemosphere 41: 177-182.
26. Young, A.L. 1987. Minimising the risk aociated with peticides minimizing the risk. ragsdale N.and kuhr R.J. (Eds).
27. Zachleder, V., Wittenburg, E., and Abarzua, S. 1986. Factors controlling the inhibitory effects of 3, 4-benzo (a) pyrene on the chlorococcal alga *Scenedesmus quadricauda*. Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement 43: 281-296.