Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:47 +0430 on Wednesday August 5th 2020

# اثرات مزمن و حاد کبالت و نیکل بر میزان کلروفیل آ و کاروتنوئیدها در ریزجلبک سبز دریایی *Nannochloropsis oculata*

**مرتضی بیگی ملک‌آبادی**[۱]
**رسول زمانی‌احمدمحمودی**[۲*]
**روح‌الله رحیمی**[۳]
**هاجر ابراهیمی**[٤]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲، ۳. استادیار گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۴. دانش آموخته تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

***مسئول مکاتبات:**
rasoolzamani@yahoo.com

کد مقاله: ۱۳۹۷۰۱۰۶۲۱
تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۰۱
این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است.

## چکیده

جلبک‌ها از جمله آبزیانی هستند که در دهه‌های اخیر در معرض شدید آلودگی‌های رو به افزایش و نگران‌کننده اکوسیستم‌های دریایی قرار گرفته‌اند. میزان $EC_{50}$ نیکل و کبالت با توجه به پروتکل OECD 2011 از جمله ترکیباتی هستند که افزایش بیش از حد آن‌ها در محیط‌های آبی سبب بروز مشکلاتی در ساختار جمعیت‌های جلبکی این اکوسیستم‌ها شده است. در این بررسی میزان فلزات سنگین، میزان کلروفیل آ و کاروتنوئید جلبک *Nannochloropsis oculata* بررسی شده است. در این مطالعه، اثرات غلظت‌های مختلف نیکل (۱/۵، ۳، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۵ میلی‌گرم بر لیتر) و کبالت (۱/۵، ۲/۵، ۳، ۵، ۶، ۸، ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) به مدت ۷۲ ساعت به مدت ۷۲ ساعت در تیرماه ۱۳۹۶تعیین شد. نتایج آزمون‌های حاد نشان داد میزان $EC_{50}$ نیکل و کبالت به ترتیب ۶/۵ و ۵/۳ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. به‌طورکلی، نتایج این تحقیق نشان داد که نیکل در غلظت‌های بالاتری نسبت به کبالت باعث ایجاد سمیت می‌شود. همچنین فلزات سنگین کبالت و نیکل دارای اثر بازدارندگی قابل توجهی بر رشد و تولیدمثل *N.oculata* بودند، اما بر میزان کاروتنوئیدها تاثیر کمتری مشاهده شد.

**واژگان کلیدی:** عناصر سنگین، $EC_{50}$، کاروتنوئید، کلروفیل آ، *Nannochloropsis oculata*.

## مقدمه

ریزجلبک‌ها تولیدکنندگان اولیه پهنه‌های آبی می‌باشند که نقش مهمی در عملکرد طبیعی این اکوسیستم‌ها دارند. بررسی اثرات فلزات سنگین بر ریزجلبک‌ها نقش مهمی در ارزیابی مضرات زیست‌محیطی فلزات سنگین در اکوسیستم‌های آبی دارد. استفاده روزافزون از فلزات سنگین و پایداری بالای زیست‌محیطی آنها و به تبع آن آلودگی ناشی از آنها منجر به یکی از مهم‌ترین معضلات زیست‌محیطی جهان به‌ویژه در اکوسیستم‌های آبی شده است (Wang and Chen, 2006فلزات سنگین بر رشد، فتوسنتز و تنفس جلبک‌ها اثر گذاشته و باعث کاهش سنتز کلروفیل و کاروتنوئیدها می‌شوند (Smirnoff, 1995; Poskuta *et al.*, 1996; Prasad, 2004). کبالت از جمله عناصر تشکیل دهنده ویتامین $B_{12}$ و برخی از آنزیم‌ها بوده که دارای قابلیت تجمع پذیری نیز می باشد (ثنایی، ۱۳۷۵؛ رفیعی و همکاران، ۱۳۹۰). فلز نیکل نیز دارای استفاده‌های متعددی



www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:47 +0430 on Wednesday August 5th 2020

می‌باشد که از طریق فعالیت‌هایی از جمله معدن‌کاری، صنایع ذوب نیکل، و ... وارد محیط می‌شود (رفیعی و همکاران، ۱۳۹۰). این فلز پراکنش گسترده‌ای دارد و جزو فلزات ضروری برای عملکرد موجودات زنده می‌باشد، اما غلظت‌های بالای آن ممکن است برای موجودات زنده سمی باشد (Cavania, 2005). یکی از ویژگی‌های بارز سمیت فلزهای سنگین مسمومیت و غیرفعال کردن سیستم آنزیمی است. غلظت‌های بالای فلزات باعث تحت تاثیر قراردادن فتوسنتز، تنفس، سنتز پروتئین و سنتز کلروفیل می‌شوند (Rai *et al*., 1981; Valko *et al*., 2005؛ فرهادیان و همکاران، ۱۳۹۵).

مطالعات متعدد در ایران و برخی کشورهای دیگر، تأثیرات عناصر غذایی پرمصرف، کم‌مصرف و برخی از فلزات سنگین را روی جلبک‌های مختلف مطالعه کرده‌اند. نتایج حاصل از بررسی فلزات سنگین (کادمیوم، مس، سرب و نیکل) بر کلروفیل آ و زیست‌توده جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* (کیانی و همکاران، ۱۳۹۳) نشان داد که فلزات کادمیوم، مس، سرب و نیکل به ترتیب دارای بیشترین تا کمترین سمیت بر روی جلبک *S.quadricauda* هستند و همچنین فلزات سنگین باعث کاهش معناداری در میزان کلروفیل آ و زیتوده جمعیت این گونه می‌شوند. فرهادیان و همکاران (۱۳۹۵) با بررسی تأثیرات عناصر روی و منگنز در جلبک سبز *S.quadricauda* بیان کردند که افزایش میزان روی و منگنز به ترتیب تا ۹۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سبب بهبود جمعیت، رشد، کلروفیل آ و کاروتنوئید در جلبک سبز *S.quadricauda* می‌شود و به‌طور کلی تغییرات غلظت روی و منگنز تأثیر معنی‌داری بر تراکم سلولی، کلروفیل آ و کل کاروتنوئید می‌گذارد. بررسی جذب سطحی کادمیوم توسط توده غیرزنده جلبک *Scenedesmus sp.* از محلول‌های آبی (گرجیان عربی و همکاران، ۱۳۹۵)، نشان داد که جلبک *Scenedesmus sp.* قابلیت خوبی در حذف فلز کادمیوم دارد و می‌تواند به‌عنوان پیشنهادی مناسب جهت حذف کادمیوم از پساب مورد استفاده قرار گیرد. جوهری و همکاران (۱۳۹۵) با مطالعه اثر سمیت نانو ذرات نقره کلوئیدی بر ریز جلبک دریایی *Nannochloropsis oculata* ، نشان دادند که نانوذرات نقره حتی در کمترین غلظت مورد بررسی (۰/۰۰۵ میلی‌گرم در لیتر) باعث کاهش رشد ریز جلبک *Nannochloropsis oculata* می‌شوند. Debelius و همکاران در سال ۲۰۰۹، به بررسی اثر سرب و مس بر زیست توده و برآورد سمیت حاد در پنج ریزجلبک دریایی *N.gaditana* , *R.salina*, *I.galbana*, *T. chuii*, *Chaetoceros* sp پرداختند و پس از انجام تست‌های ۷۲ ساعته نتایج آنها نشان داد که *T. chuii* بیشترین تحمل و *R.salina* بیشترین حساسیت را نشان می دهد. همچنین در این بررسی ریزجلبک‌های *N.gaditana* , *R.salina*, *I.galbana*, *T. chuii* بیشترین حساسیت را نسبت به فلز سرب از خود نشان دادند. نتایج مطالعه Qian و همکاران (۲۰۰۹) در مورد تأثیر ترکیبی مس و کادمیوم بر رشد و فتوسنتز جلبک *Chlorella vulgaris* نشان می‌دهد که غلظت‌های ۰/۰۳۲ و ۰/۰۹۶ میلی‌گرم در لیتر مس و ۰/۱۱۲ و ۰/۲۲۴ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم باعث کاهش رشد و محتوای کلروفیل در این گونه جلبک می‌شود. در این مطالعه $EC_{50}$ (Half maximal effective concentration) (غلظتی که در آن در مقایسه با نمونه شاهد ۵۰ درصد بازدارندگی در رشد جلبک‌ها مشاهده می‌شود) (Satoh *et al*., 2005) عناصر سنگین نیکل و کبالت برای جلبک *N.oculata* به روش ذکر شده در پروتکل OECD (Organization for Economic Development) (OECD, 2011) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین ۰/۱ از $EC_{50}$ بدست آمده به منظور انجام تست مزمن در نظر گرفته شد.

## مواد و روش‌ها

محیط‌کشت BBM (Bold Basal's Medium) برای رشد و تکثیر ریزجلبک *N.oculata* استفاده شد. ترکیب محیط‌کشت استفاده شده شامل $NaNo_3$، $K_2HPO_4$ ، $KH_2PO_4$، $MgSO_4.7H_2O$، NaCl، $CaCl_2$، $MnCl_2$، $ZnCl_2$، $MoO_3$، $Co(NO_3)_2.6\ H_2O$، $H_3BO_4$، KOH، $FeSO_4$. و EDTA حل شده در یک لیتر آب مقطر بود (Nichols, 1973؛ فرهادیان و همکاران، ۱۳۹۵). پس از انجام آزمایش تست



www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:47 +0430 on Wednesday August 5th 2020

اولیه به منظور تعیین محدوده کشندگی، غلظت‌های مورد نیاز برای انجام آزمایش $EC_{50}$ به دست آمد. این مطالعه در تیرماه ۱۳۹۶ انجام شد. غلظت‌های مورد آزمایش فلز نیکل به ترتیب ۱/۵، ۳، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۵ میلی‌گرم بر لیتر و همچنین غلظت‌های مورد آزمایش فلز کبالت به ترتیب ۱/۵، ۲/۵، ۳، ۵، ۶، ۸، ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر در نظر گرفته شد.

پس از انجام آزمایش $EC_{50}$ و به دست آمدن $EC_{50}$ فلزها، اثرات مزمن فلزات سنگین بر جلبک سبز *N.oculata* بررسی شد. ۰/۱ از $EC_{50}$ به منظور انجام تست مزمن در نظر گرفته شد. برای هر تیمار تعداد ۳ عدد ارلن‌مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری تهیه گردید و تراکم سلول جلبکی در این آزمایش $۶/۵\times۱۰^{۵}$ سلول بر میلی لیتر محاسبه شد. آزمایش به مدت ۱۴ روز در محیط‌کشت BBM، دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی: ۱۲ ساعت تاریکی، شدت نور ۶۰ میکرومول‌فوتون بر مترمربع بر ثانیه و pH ۶/۹۱ انجام گرفت. جهت بررسی تاثیر مزمن فلزات سنگین بر جلبک *N.oculata* مقدار کلروفیل در ابتدا، اواسط و انتهای دوره آزمایش اندازه‌گیری شد. به منظور سنجش میزان کلروفیل پس از استخراج عصاره توسط استون نود درصد میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (DR 6000™, Hach, USA) در طول موج‌های ۶۳۰، ۶۴۷، ۶۶۴ و ۷۵۰ نانومتر قرائت شد (Jeffrey and Hamphrey, 1975) و میزان کلروفیل بر حسب میکرو گرم بر لیتر با استفاده از رابطه زیر اندازه‌گیری شد.

کلروفیل آ= (11.85*(E664-E750)-1.54*(E647-E750)-0.08(E630-E750))*Ve/L*Vf

L= خط سیرکوت به سانتی‌متر

Vf= حجم آب فیلتر شده به لیتر

Ve= حجم عصاره به میلی‌لیتر

غلظت‌ها در واحد میلی‌گرم در متر مکعب است.

برای سنجش میزان کاروتنوئیدها پس از استخراج عصاره توسط استون نود درصد میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۸۰و۷۵۰ نانومتر قرائت شد و میزان کاروتنوئیدها با استفاده از رابطه زیر اندازه‌گیری شد (Strickland and Parsons 1968).

کاروتنوئید =4.0 (E480-E750) *Ve/L*Vf if predominantly chlorophytes or cyanobacteria

L= خط سیرکوت به سانتی‌متر

Vf= حجم آب فیلتر شده به لیتر

Ve= حجم عصاره به میلی‌لیتر

غلظت‌ها در واحد میلی‌گرم در متر مکعب است.

آنالیز آماری داده‌ها با نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ و جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کلموگروف–اسمیرنوف استفاده شد. همچنین از آزمون پروبیت برای تعیین $EC_{50}$ عناصر و از آزمون T-test برای مقایسه نمونه شاهد با تیمارها در تست مزمن استفاده شد. همچنین از نرم افزار اکسل برای رسم نمودارها استفاده شد.



www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:47 +0430 on Wednesday August 5th 2020

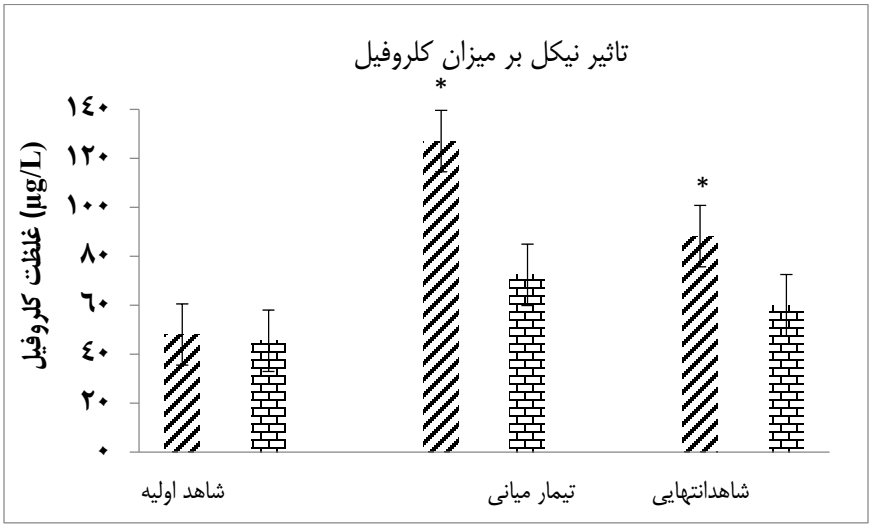
## نتایج

جدول ۱ نتایج حاصل از آنالیز پروبیت تاثیر نیکل و کبالت بر کشندگی حاد در جمعیت جلبک سبز *N.oculata* را نشان می‌باشد. همچنین $EC_{70}$ و $EC_{90}$ در جدول ۱ گزارش شده است. کبالت در غلظت ۵/۳۶ میلی‌گرم بر لیتر و نیکل در غلظت ۶/۵۱ میلی‌گرم بر لیتر باعث مرگ و میر ۵۰ درصدی در جمعیت جلبک سبز *N. oculata* شدند. نیکل در غلظت‌های بالاتری در مقایسه با کبالت باعث مرگ و میر جمعیت جلبک *N. oculata* می‌شود.

**جدول۱: آنالیز پروبیت فلزات سنگین کبالت و نیکل جهت تعیین $EC_{50}$ در جمعیت جلبک سبز *Nannochloropsis oculata*.**

| $EC_{90}$ (ppm) | $EC_{70}$ (ppm) | $EC_{50}$ (ppm) | Ec / فلز |
|---|---|---|---|
| ۲۸/۸۱ | ۱۰/۶۷ | ۵/۳۶ | Co |
| ۴۴/۲۵ | ۱۴/۲۶ | ۶/۵۱ | Ni |

شکل‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ اثرات مزمن فلزات سنگین نیکل و کبالت را بر میزان کلروفیل و کاروتنوئید ریزجلبک *N.oculata* نشان می‌دهند. با توجه به نتایج شکل ۱، بین میزان کلروفیل در تیمارها در بازه زمانی میانی و انتهایی در مقایسه با نمونه شاهد از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار وجود دارد ($P <۰/۰۵$)، درحالی‌که در ابتدای دوره، بین میزان کلروفیل در تیمار اولیه و نمونه شاهد هیچ گونه اختلاف معناداری مشاهده نگردید ($P >۰/۰۵$).



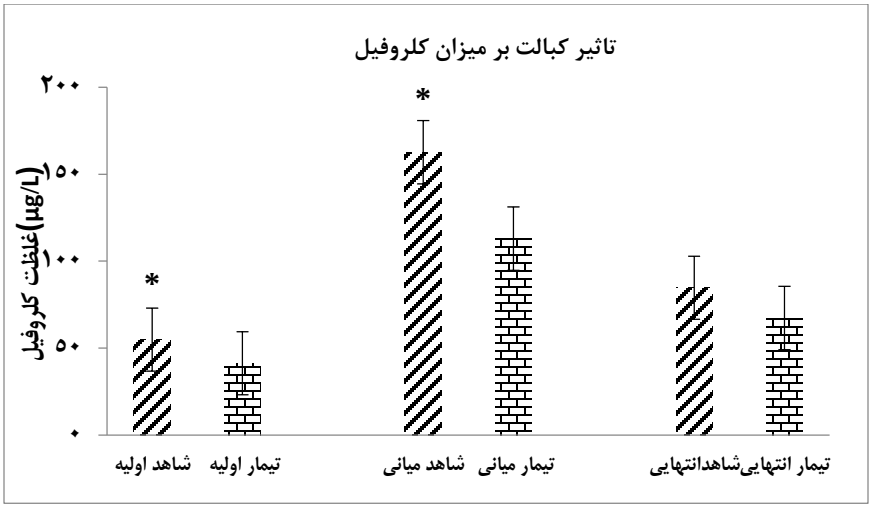

**شکل ۱: مقایسه محتوای کلروفیل، بین تیمار فلز نیکل و شاهد در جمعیت جلبک سبز *Nannochloropsis oculata*.**



www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:47 +0430 on Wednesday August 5th 2020

مطابق با نتایج ارائه شده در شکل ۲، بین میزان کلروفیل در تیمارها در بازه زمانی اولیه و میانی در مقایسه با نمونه شاهد از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار وجود دارد ($P < ۰/۰۵$)، در حالی که بین میزان کلروفیل انتهایی در تیمار و نمونه شاهد هیچ گونه اختلاف معناداری مشاهده نگردید ($P >۰/۰۵$).




**شکل ۲: مقایسه محتوای کلروفیل بین تیمار فلز کبالت و شاهد در جمعیت جلبک سبز *Nannochloropsis oculata*.**

بر اساس نتایج مندرج در شکل ۳، بین میزان کاروتنوئیدها در تیمارها در بازه زمانی اولیه، میانی و انتهایی در مقایسه با نمونه شاهد از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار وجود ندارد ($P> ۰/۰۵$).

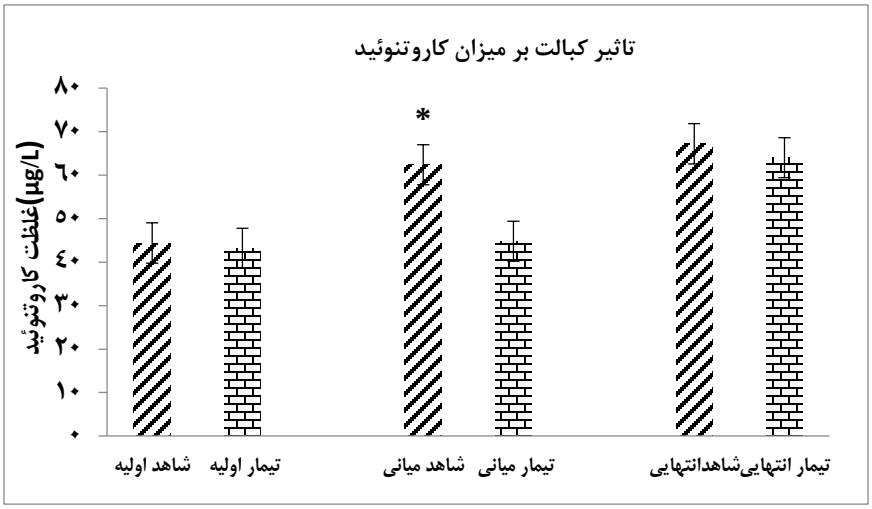
**شکل ۳: مقایسه میزان کاروتنوئیدها بین تیمار فلز نیکل و شاهد در جمعیت جلبک سبز *Nannochloropsis oculata*.**



www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:47 +0430 on Wednesday August 5th 2020

در شکل ۴، بین میزان کاروتنوئیدها در تیمارها در بازه زمانی میانی در مقایسه با نمونه شاهد از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار وجود دارد ($P<۰/۰۵$)، در حالی که بین میزان کاروتنوئیدها اولیه و انتهایی در تیمار و نمونه شاهد هیچ گونه اختلاف معناداری مشاهده نگردید ($P>۰/۰۵$).




**شکل ٤: مقایسه میزان کاروتنوئیدها بین تیمار فلز کبالت و شاهد در جمعیت جلبک سبز *Nannochloropsis oculata*.**

## بحث و نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر مطالعات زیادی به بررسی تاثیر آلاینده‌ها بر ریزجلبک‌ها پرداخته‌اند (Koppel *et al.*, 2017; Purbonegoro *et al.*, 2018; Martínez-macias *et al.*, 2019). مقایسه میزان $EC_{50}$ فلزات سنگین در ریزجلبک‌ها به دلیل تفاوت گونه‌ای، تراکم سلولی مختلف، استفاده از محیط‌کشت‌های متفاوت، شرایط محیطی مختلف از جمله میزان نور، دما و میزان زمان در تماس بودن با آلاینده دشوار است و باعث شده مقایسه نتایج با مطالعات دیگر دشوار باشد (Blank and Bjornsater, 1988). در مطالعه حاضر $EC_{50}$ به دست آمده در جلبک سبز *N.oculata* برای فلز نیکل ۶/۵۱ میلی‌گرم بر لیتر بود. Lin و همکاران در سال ۲۰۰۷ میانگین غلظت فلزات سنگین سرب و نیکل در جلبک *Nannochloropsis salina* در پساب‌های ورودی به دریا را به ترتیب ۰/۰۰۰۶ و ۰/۰۰۷۴ میلی‌گرم بر لیتر بیان نمودند. همچنین در این مطالعه بمیزان $EC_{50}$ فلزهای سرب و نیکل را در جلبک *N. salina* به ترتیب ۰/۶۸۰ و ۰/۴۱۰ میلی‌گرم بر لیتر گزارش نمودند.

میزان کلروفیلآ و کاروتنوئیدها جزء شاخص‌هایی هستند که در بررسی استرس‌ها می‌توان از آنها استفاده کرد. در این مطالعه با افزایش غلظت فلزات کبالت و نیکل در جلبک *N.oculata* میزان رشد و تولید مثل کاهش یافته و در نتیجه شاهد کاهش میزان زیست‌توده و کلروفیلآ بودیم. بر این اساس بیشترین میزان کلروفیلآ و زیست‌توده مربوط به گروه‌های شاهد در همه تیمارهای آزمایشی بود. در مطالعه حاضر میانگین میزان کلروفیل در طول آزمایش در جلبک سبز *N. oculata* در مواجهه با فلزات سنگین نیکل، کبالت، به ترتیب ۰/۰۵۹ میلی گرم بر لیتر و ۰/۰۷۳ میلی گرم بر لیتر بدست آمد. در مطالعه حاضر در ابتدا میزان کلروفیل در تماس با فلز نیکل تفاوت معناداری ایجاد نکرد، اما با افزایش زمان در تماس بودن جلبک *N.oculata* با فلز، در دوره میانی و انتهایی آزمایش، باعث کاهش معنادار در میزان کلروفیل اندازه‌گیری شده گردید. این نتیجه با نتایج سایر محققان که بیان داشتند شدت تاثیرها به زمان یا دوره تماس بستگی دارد، مطابقت دارد (Muwafq



www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:47 +0430 on Wednesday August 5th 2020

and Bernd, 2006). Arunakumara و همکاران (۲۰۰۷) ریزجلبک *Spirulina platensis* را تحت تاثیر فلز سرب قرار دادند و مشاهده کردند که در مواجهه با فلز سرب میزان رنگدانه‌ها کاهش پیدا کرد. در این مطالعه نیز میزان کلروفیل در سلول‌های جلبکی در مواجهه با فلزهای نیکل و کبالت کاهش پیدا کرد که با نتایج به دست آمده از مطالعه Arunakumara و همکارانش (۲۰۰۷) همخوانی دارد.

در میان تیمارهای آزمایشی بررسی شده برای فلزات کبالت و نیکل در هر سه دوره از نظر میزان کاروتنوئید، به جز در دوره میانی تیمار فلز کبالت، هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری در میزان کاروتنوئید تیمارها مشاهده نشد. یکی از دلایل این امر را می‌توان غلظت پایین فلزات بررسی شده (۰/۱ از غلظت کشندگی حاد) دانست. همچنین شدت تاثیرها به نوع و غلظت فلزات سنگین و زمان یا دوره تماس نیز بستگی دارد ( Muwafq and Bernd, 2006 ؛ فرهادیان و همکاران، ۱۳۹۵). کاروتنوئیدها از جمله آنتی اکسیدان‌های زیستی می‌باشند و نقش مهمی در حفاظت سلول‌ها و بافت‌ها در برابر آسیب‌های رادیکال‌های آزاد دارند (Di Mascio *et al*., 1989).

به‌طورکلی می‌توان بیان کرد که تاثیر فلزات سنگین نیکل و کبالت بر کاهش میزان کلروفیل، کاروتنوئیدها و زیست توده در جلبک متفاوت *N. oculata* است و کاهش میزان کلروفیل در مقایسه با کاهش میزان کاروتنوئید مشهودتر بود. همانطور که بسیاری از محققین ذکر کرده‌اند با توجه به نوع گونه جلبکی و غلظت‌های مورد استفاده تاثیر قلزات سنگین متفاوت است. یکی از مزایای استفاده از ریزجلبک‌ها به عنوان شاخص زیستی عکس العمل سریع آنها در مقایسه با سایر موجودات به تغییرات در شرایط زیستی و زیستگاهی می باشد ( Jochem 2000؛ فرهادیان و همکاران، ۱۳۹۵).

## سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه شهرکرد انجام شده است.

## منابع

**ثنایی، غ.، ۱۳۷۵.** سم‌شناسی صنعتی. جلد اول، انتشارات دانشگاه تهران. ۴۳۴ ص.

**جوهری، ع.، قادرسربازی، ژ. و سوری‌نژراد، ا.، ۱۳۹۵.** مطالعه اثر سمیت نانوذرات نقره کلوئیدی بر ریز جلبک دریایی *Nannochloropsis oculata*. مجله بوم‌شناسی آبزیان، شماره ششم، صفحات ۹۰-۸۳.

**رفیعی، ف.، اشجع اردلان، آ. و کمالی، ز.، ۱۳۹۰.** تعیین Lc ۵۰ و بررسی تغییرات سطوح پروتئین *Artemia urmiana* در غلظت های مختلف نیکل و کبالت. مجله علمی پژوهشی زیست شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، شماره چهارم، صفحات ۲۲-۱۱.

**فرهادیان، ا.، مولایی، ح. و پیرعلی زفره، ا. ر.، ۱۳۹۵.** تأثیر عناصر روی (Zn) و منگنز (Mn) بر پویایی جمعیت، رشد، محتوای کلروفیل a و کاروتنوئیدها در جلبک سبز میکروسکوپی *Scenedesmus quadricauda*. فرایند و کارکرد گیاهی، جلد ۵، شماره ۱۵، صفحات ۴۱-۳۳.

**کیانی، س.، فرهادیان، ا. و محبوبی صوفیانی، ن.، ۱۳۹۳.** تأثیر فلزهای سنگین (کادمیوم، مس، سرب و نیکل) بر کلروفیلa و زیست توده جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda*. فصلنامه علمی-پژوهشی علوم و فنون شیلات، دوره ۳، شماره ۳، صفحات ۷۸-۶۷.

**گرجیان عربی، م.ح.، حسینی، ع.، رضایی، ح. و مفتاح هلقی، م.، ۱۳۹۵.** جذب سطحی کادمیوم توسط توده غیرزنده جلبک *Scenedesmus sp.* از محلول‌های آبی: مطالعات ایزوترم، سینتیک و ترمودینامیک. مجله علمی-پژوهشی زیست‌شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، سال ۸، شماره ۳۰، صفحات ۶۲-۴۷.

**Arunakumara, K. K. I. U., Xuecheng, Z. and Yijing, Z., 2007.** Growth and Pigment biosynthesis of *Spirulina platensis* affected by $pb^{2+}$ concentrations. Bangladesh Journal of Botany, 36(2):177-179.

**Blank, H. and Bjornsater, B., 1988.** The algal microtest battery. Solna, Sweden7 Swedish National Chemicals Inspectorate. p. 27.



www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:47 +0430 on Wednesday August 5th 2020

**Burzynski, M. and Zurek, A., 2007** Effects of copper and cadmium on photosynthesis in cucumber cotyledons. Photosynthetica, 45:239–244.

**Cavania, A., 2005.** Breaking tolerance to nickel.Toxicology, 209 (2).119-121.

**Debelius, B., Forja, J. M. and Del V. ngel, L. L. M., 2009.** Toxicity and bioaccumulation of copper and lead in five marine microalgae. Ecotoxicology and Environmental Safety, 72(5): 1503–1513.

**Di Mascio, P., Kaiser, S. and Sies, H., 1989.** Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. Biochemical Biophysics, 274: 532-538.

**Jeffrey, S. W. and Hamphrey, G. F., 1975.** New Spectrophotometric Equations for determining chlorophylls a, b, $c_1$ and $c_2$ in Higher Plants, Algae and Natural Phytoplankton. Biochemie und Physiologie der Pflanze, 167: 191-194.

**Jochem, F. J., 2000.** Probing the physiological state of phytoplankton at the single-cell level. Scientia Marine, 64:183-195.

**Koppel, D. J., Gissi, F., Adams, M. S., King, C. K. and Jolley, D. F., 2017.** Chronic toxicity of five metals to the polar marine microalga Cryothecomonas armigera – Application of a new bioassay. Environmental Pollution. *228*: 211–221.

**Lin, K. Ch., Lee, Yu-L. and Chen, Ch. Y., 2007.** Metal toxicity to Chlorella pyrenoidos aassessed by a short-term continuous test. Journal of Hazardous Materials, 142(1–2): 236–241.

**Martínez-macias, M. R., Correa-murrieta, M. A. and Villegas-peralta, Y., 2019.** Uptake of copper from acid mine drainage by the microalgae Nannochloropsis oculata. Environmental Science and Pollution Research. 26:6311-6318.

**Muwafq, M. and Bernd, M., 2006.** Toxicity of heavy metals on *Scenedesmus quadricauda*(Turp.) de Brébisson in Batch Cultures (7 pp).Environmental Science and Pollution Research, 13: 98-104.

**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. p. 7-24.

**OECD, 2011.** OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2: Effects on Biotic Systems. Test No. 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test Organisation for Economic Co-Operation and Development, Paris (2011)

**Poskuta, J. W., Parys, E. and Romanowska, E., 1996.** Toxicity of lead to photosynthesis, accumulation of chlorophyll, respiration and growth of *Chlorella pyrenoidosa*. Protective role of dark respiration. Acta Physiological Plant, 18:165–171.

**Prasad, M. N. V., 2004.** Heavy metal stress in plants: from biomolecules to ecosystems. Berlin: Springer-Verlag.

**Purbonegoro, T., Suratno, Puspitasari, R. and Husna, N. A., 2018.** Toxicity of copper on the growth of marine microalgae Pavlova sp . and its chlorophyll- a content. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. Global Colloquium on GeoSciences and Engineering. https://doi.org/10.1088/1755-1315/118/1/012060

**Qian, H., Li, J., Sun, L., Chen, W., Sheng, G. D., Liu, W. and Fu, Z., 2009.** Combined effect of copper and cadmium on Chlorella vulgaris growth and photosynthesis related gene transcription. Aquatic Toxicology, 94: 56-61.

**Rai, L. C., Gaur, J. P. and Kumar, H. D., 1981.** Phycology and heavy metal pollution. Biological Reviews, 56: 99-151.

**Satoh, A., Vudikaria, L. Q., Kurano, N. and Miyachi, S., 2005.** Evaluation of the sensitivity of marine microalgal strains to the heavy metals, Cu, As, Sb, Pb and Cd. Environment International, 31(5): 713–722.

**Smirnoff, N., 1995.** Environment and plant metabolism: flexibility and acclimation. Oxford: BIOS Scientific.- Stratton, G.W., Giles, J., 1990. Importance of bioassay volume in toxicity tests using algae and aquatic invertebrates. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 44: 420–427.

**Strickland, H. and Parsons, P., 1968.** Spectrophotometric Determination of chlorophylls and total carotenoids. Pp. 185-206. In: A Practical Handbook of Seawater Analysis. Fisheries Research Board of Ottawa.

**Valko, M., Morris, H. and Cronin, M. T. D., 2005.** Metals, toxicity and oxidative stress. Current Medicinal Chemistry, 12: 1161-1208.

**Wang, J. and Chen, C., 2006.** Biosorption of metals by Sacharomyces Cerevisia: A review. Biotechnology Advances, 24:427-451.



www.SID.ir