

## تأثیرات عناصر روی (Zn) و منگنز (Mn) بر پویایی جمعیت، رشد، محتوای کلروفیل *a* و کاروتنوئیدها در جلبک سبز میکروسکوپی *Scenedesmus quadricauda*

امیدوار فرهادیان\*، حسین مولایی و احمدرضا پیرعلی زفره یی

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۸/۰۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۰۱/۱۹)

### چکیده:

عناصر روی و منگنز برای رشد جلبک های میکروسکوپی ضروری است اما افزایش بیش از حد آنها سبب مشکلات زیستی در ساختار جمعیت های جلبکی محیط های آبی می شود. در این تحقیق اثرات جداگانه غلظت های مختلف روی (۴۵۰، ۹۰۰ و ۱۳۵۰ میلی گرم در لیتر) و منگنز (۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی گرم در لیتر) و تأثیرات ترکیبی آنها (۷۵+۴۵۰، ۹۰۰+۱۵۰ و ۱۳۵۰+۲۲۵، از روی + منگنز بر حسب میلی گرم در لیتر) بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی، پویایی جمعیت، رشد، محتوای کلروفیل *a* و کاروتنوئیدها در جلبک سبز میکروسکوپی *Scenedesmus quadricauda* در دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی گراد، دوره نوری ۱۲ ساعت نور: ۱۲ ساعت تاریکی و شدت نور ۸۰ میکرو مول فوتون بر مترمربع بر ثانیه در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. آزمایش با سه تکرار در مدت ۲۲ روز در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام پذیرفت. نتایج نشان داد که اوج تراکم جمعیت در دوره رشد در غلظت ۹۰۰ میلی گرم در لیتر از روی، ۱۵۰ میلی گرم در لیتر از منگنز و ترکیب ۹۰۰ + ۱۵۰ میلی گرم در لیتر (روی + منگنز) به دست آمد. حداکثر مقدار رشد ویژه برای روی، منگنز و ترکیب آنها به ترتیب ۰/۰۶۰، ۰/۰۵۸ و ۰/۰۵۶ در روزه دست آمد. کمترین زمان دو برابر شدن جمعیت با مقدار ۱۱/۶ روز برای تیمار روی در غلظت ۹۰۰ میلی گرم در لیتر به دست آمد. حداکثر مقدار کلروفیل *a* و کل کاراتنوئید به ترتیب ۱/۸ و ۹۳/۲ میلی گرم در لیتر در غلظت ۹۰۰ میلی گرم در لیتر روی به دست آمد که اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نشان داد ( $P < 0.05$ ). یافته های این تحقیق نشان داد که افزایش میزان روی تا ۹۰۰ میلی گرم در لیتر و افزایش میزان منگنز تا ۱۵۰ میلی گرم در لیتر سبب بهبود جمعیت، رشد، کلروفیل و کاروتنوئید در جلبک سبز *S. quadricauda* می شود. به طور کلی، این مطالعه نشان داد که تغییرات غلظت روی و منگنز تأثیر معنی داری بر تراکم سلولی، کلروفیل *a* و کل کاراتنوئید می گذارد. تأثیر روی نسبت به منگنز بیشتر است و افزایش آن تا غلظت ۹۰۰ میلی گرم در لیتر سبب بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی در جلبک *S. quadricauda* می شود.

کلمات کلیدی: رشد، *Scenedesmus quadricauda*، روی، منگنز، کاروتنوئید، کلروفیل *a*

### مقدمه:

اکوسیستم دارند (Xia-li et al., 2007). فلزات کمیاب روی و منگنز از عناصر غذایی کم مصرف مورد نیاز جلبک ها می باشند اما در غلظت های بالا برای آنها سمی می باشند (Knauer et al., 1997). بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از قبیل فتوسنتز، تنفس، سنتز پروتئین و سنتز

جلبک های میکروسکوپی موجودات تک سلولی و از تولیدکنندگان اصلی در اکوسیستم های آبی می باشند که عمل فتوسنتز را انجام می دهند و به عنوان اولین حلقه زنجیره غذایی و تولیدکننده غذا برای سایر موجودات نقش مهمی در پایداری

\*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: omfarhad@cc.iut.ac.ir

صنعتی (معینی فیض آبادی، ۱۳۹۱، کوشا و همکاران، ۱۳۹۳، کیانی و همکاران، ۱۳۹۳) همواره از اهمیت بالایی برخوردار است. در این مطالعه بعضی از خصوصیات زیست‌شناختی این جلبک تک‌سلولی در غلظت‌های جداگانه و ترکیبی روی و منگنز با تأکید بر رشد و تراکم سلولی و همچنین میزان تغییرات در رنگ‌دانه‌های کلروفیلی و کاروتنوئیدی مورد بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها:

**جمع‌آوری و خالص‌سازی جلبک *S. quadricauda***  
جمع‌آوری جلبک *S. quadricauda* از آب استخرهای خاکی کارگاه پرورش کپور ماهیان مرکز تکثیر و پرورش اصفهان صورت گرفت. جلبک *S. quadricauda* پس از مشاهده با میکروسکوپ اینورت (مدل CETI، ساخت بلژیک) به کمک کلیدهای موجود شناسایی شد و با روش Lavens و Sorgeloos (۱۹۹۶) با کشت بر روی آگار خالص‌سازی گردید. برای این منظور ابتدا با استفاده از میکرو پیت سلول‌های فیتوپلانکتونی را به‌طور ناخالص جدا نموده و با بهره‌گیری از محیط کشت جامد آگار (Agar-Agar) و تجدید مداوم کشت ذخیره خالص جلبکی تهیه گردید. جهت تهیه محیط کشت جامد به ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر، ۲ گرم آگار جامد به محیط کشت (BBM (Bold Basal Medium) بر اساس Nichols (۱۹۷۳) اضافه شد.

ترکیب محیط کشت BBM شامل  $\text{NaNO}_3$  (۲۵ گرم)،  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (۱۰ گرم)،  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (۱۵ گرم)،  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (۷/۵ گرم)،  $\text{NaCl}$  (۲/۵ گرم)،  $\text{CaCl}_2$  (۲/۵ گرم)،  $\text{MnCl}_2$  متغیر،  $\text{ZnCl}_2$  متغیر،  $\text{MoO}_3$  (۰/۷۱ گرم)،  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (۰/۴۹ گرم)،  $\text{H}_3\text{BO}_4$  (۱۱/۴ گرم)،  $\text{KOH}$  (۳۱ گرم)،  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (۴/۹۸ گرم) و EDTA (۵۰ گرم) تماماً در یک لیتر آب مقطر بود (Nichols, 1973). pH محیط کشت قبل از اتوکلاو نمودن با استفاده از ۰/۱ HCl نرمال و یا ۰/۱ NaOH نرمال در ۶/۸ تنظیم گردید. محیط کشت تهیه‌شده در دمای ۱۲۱ درجه

کلروفیل، تغییرات در پروتئین‌ها، DNA و چربی‌های سلولی به‌شدت در غلظت‌های بالای فلزات تحت تأثیر قرار می‌گیرند (Valko et al., 2005). برای مثال، جلوگیری از سنتز زیستی کلروفیل و کاروتنوئیدها و کاهش فسفوریلاسیون اغلب از علائم عمده مسمومیت با فلزات سنگین است (Smirnoff, 1995; Poskuta et al., 1996; Prasad, 2004).

مطالعات گوناگون تأثیرات عناصر غذایی پرمصرف و کم‌مصرف مثل فلزات کمیاب بر جلبک‌های مختلف را بررسی نمودند. در مطالعه Qian و همکاران (۲۰۰۹) تأثیر ترکیبی مس و کادمیوم بر رشد و فتوسنتز جلبک *Chlorella vulgaris* بررسی شده است و نتایج آنها نشان می‌دهد که غلظت‌های ۰/۰۳۲ و ۰/۰۹۶ میلی‌گرم در لیتر مس و همچنین ۰/۱۱۲ و ۰/۲۲۴ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم رشد و محتوای کلروفیل را در جلبک *Chlorella* کاهش می‌دهد. همچنین، در مطالعه Knaure و همکاران (۱۹۹۷) تأثیر یون‌های مس و روی بر میزان رشد و تجمع فلزات در جلبک سبز *Scenedesmus subspicatus* مورد بررسی قرار گرفت و دامنه غلظت بهینه مس و روی را برای این جلبک به ترتیب ۰/۰۳۲ تا ۰/۰۹۶ و ۰/۱۱۲ تا ۰/۲۲۴ میلی‌گرم در لیتر بیان شد. در مطالعه دیگر Connan و همکاران در سال ۲۰۱۱ تأثیر مس بر میزان رشد، فتوسنتز و تجمع مس در دو گونه جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum* و *Fucus vesiculosus* مورد بررسی قرار دادند و نتایج آنها نشان داد که افزایش مس تأثیر منفی بر میزان رشد و فتوسنتز در هر دو گونه جلبک دارد.

یکی از مهم‌ترین گونه‌های جلبک‌های میکروسکوپی که به‌طور معمول در تمام آب‌های شیرین یافت می‌شود گونه جلبک سبز *S. quadricauda* است (Bellinger and Sigeo, 2010). این گونه به علت پراکنش گسترده، قابلیت پرورش در شرایط آزمایشگاهی و انبوه، ارزش غذایی مناسب به لحاظ اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه، تولید زی‌توده (Biomass) مناسب برای مصارف گوناگون از جمله تصفیه پساب‌های مختلف شهری، کشاورزی (حیدری و همکاران، ۱۳۹۰) و

روی و منگنز، تیمارهای جداگانه هر کدام دارای سطوح مختلف ۴۵۰، ۹۰۰ و ۱۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر از فلز روی (۳ تیمار) و ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم در لیتر از فلز منگنز (۳ تیمار) بود در حالی که تیمارهای حاصل از ترکیب دو فلز یعنی روی + منگنز شامل ۴۵۰ + ۷۵ میلی‌گرم در لیتر، ۹۰۰ + ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر و ۱۳۵۰ + ۲۲۵ میلی‌گرم در لیتر (۳ تیمار) در نظر گرفته شد. محیط کشت BBM به نسبت استاندارد مورد نیاز با غلظت متغیر روی (Zn) و منگنز (Mn) مطابق تیمارهای فوق در ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته و آنگاه به حجم رسانده شد (Phang and Chu, 1999). سپس pH آغازین ظروف آزمایشی با اضافه نمودن هیدروکسید سدیم و اسید کلریدریک با غلظت ۰/۱ نرمال با استفاده از pH متر (مدل Metrohm 744، ساخت سوئیس) در ۶/۹ تنظیم گردید. در این آزمایش از کلرید خالص فلزات روی و منگنز استفاده شد. به‌طور کلی آزمایش با ۱۰ تیمار و با سه تکرار در ۳۰ عدد ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری انجام گردید. آزمایش به صورت یک طرح کاملاً تصادفی در یک دوره ۲۲ روزه به منظور اطمینان از تأثیرات درازمدت در جمعیت جلبک *S. quadricauda* انجام شد.

در این تحقیق شمارش جلبک‌ها با استفاده از لام هموسیتومتری و با روش پیشنهاد شده توسط Martinez و Chakaroff (۱۹۷۵) بعد از تثبیت نمونه‌ها در محلول لوگل ایدین (مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر در هر ۳ میلی‌لیتر نمونه) انجام شد. میزان رشد ویژه (SGR) از رابطه  $SGR = (Ln N_t - Ln N_0) / T$  محاسبه شد (Omori and Ikeda, 1984) که در آن SGR = میزان رشد ویژه جمعیت جلبک *S. quadricauda* بر حسب در روز،  $N_t$  = جمعیت نهایی جلبک *S. quadricauda* بعد از زمان T، و  $N_0$  = جمعیت اولیه جلبک *S. quadricauda* در آغاز معرفی به محیط کشت. زمان دو برابر شدن جمعیت جلبک *S. quadricauda* با رابطه  $Dt = Ln 2 / SGR$  که در آن Dt برابر با زمان دو برابر شدن جمعیت جلبک *S. quadricauda* بر حسب روز، و SGR برابر با میزان رشد ویژه بر حسب در روز است مورد محاسبه قرار گرفت (Omori and Ikeda, 1984). برای اندازه‌گیری کلروفیل *a* و کل کاربوتنوئیدها، ۱۰۰ میلی‌لیتر از

سانتی‌گراد و فشار ۲/۵ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو (اتوکلاو مدل 121A، ساخت ایران) گردید. آنگاه محلول حاصل را به صورت مایع و تقریباً گرم و در شرایط ضد عفونی و استریل شده در پتری دیش‌های پلاستیکی (۵۰ میلی‌متری) ریخته و درب آن با پارافیلیم بسته شد. پس از آنکه محیط کشت تهیه شده در دمای اتاق به حالت جامد تبدیل شد، نمونه ناخالص جمع آوری شده از استخرهای پرورش ماهی را روی محیط کشت در اتاقک رشد با شرایط دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا کلنی‌های جلبکی ظرف ۲۰ روز تشکیل شود. در مرحله بعد مشاهده جلبک خالص‌سازی شده در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی  $\times 1000$  انجام شد و بعد از حصول اطمینان، کار پرورش آن با استفاده از محیط کشت مایع BBM انجام گردید.

بعد از کشت‌های متوالی در لوله‌آزمایش ۲۰ میلی‌لیتر و ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری و اطمینان از خالص بودن جلبک، پرورش جلبک در یک ارلن مایر ۵ لیتری با محیط کشت مناسب BBM انجام گردید تا ذخیره اولیه جلبک *S. quadricauda* جهت انجام آزمایش فراهم شود (Nichols, 1973). ظرف حاوی محیط کشت جلبک به همراه لوله‌های هوادهی و پنبه‌های کتانی مورد نیاز در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه اتوکلاو ضد عفونی و استریل گردید. پس از اتمام اتوکلاو و هم‌دمای شدن با دمای آزمایشگاه، محلول ویتامین B طبق دستورالعمل اختصاصی کشت این جلبک (Phang and Chu, 1999) به ظرف کشت اضافه گردید و سپس با رعایت شرایط استریل، به هم زده شد. از ذخیره جلبک سندسموس مقدار ۲۰ میلی‌لیتر (با غلظت  $10^6$  سلول در میلی‌لیتر) به محیط کشت دارای ویتامین اضافه گردید و در دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۸۰ میکرو مول فوتون بر مترمربع بر ثانیه، و در پروتکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داده شد (Nichols, 1973).

**نحوه انجام آزمایش:** آزمایش با ۱۰ تیمار (۹ تیمار اصلی و یک شاهد) در نظر گرفته شد. نمونه شاهد (کنترل) عاری از

*S. quadricauda* می‌شود.

در این پژوهش مقایسه میزان کلروفیل *a* و کل کاروتنوئیدها در تیمارهای عنصر روی، منگنز و ترکیب آن‌ها در شکل ۳ نشان داده شده است. یافته‌های تحقیق نشان داد که میزان کلروفیل *a* (شکل ۳-*a*) در غلظت ۹۰۰ میلی‌گرم در لیتر از عنصر روی، ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر از منگنز و ترکیب ۹۰۰+۱۵۰ به ترتیب ۱/۷۹، ۱/۶۷ و ۱/۴۸ میلی‌گرم در لیتر بود که تفاوت معنی‌داری را با سایر تیمارها و کنترل نشان داد اما بین آنها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. علاوه بر این، میزان کل کاروتنوئیدها در غلظت ۹۰۰، ۱۵۰ و ترکیب ۹۰۰+۱۵۰ به ترتیب ۹۳/۲، ۱۰۶/۸ و ۹۱/۹ میلی‌گرم در لیتر را نشان داد (شکل ۳-*b*). به‌طورکلی نتایج اندازه‌گیری کلروفیل *a* و کل کاروتنوئیدها نشان داد که افزایش عنصر روی تا غلظت ۹۰۰ و منگنز تا ۱۵۰ و ترکیب آن‌ها تا ۹۰۰+۱۵۰ سبب افزایش محتوای کلروفیل *a* و کل کاروتنوئیدها گردید درحالی‌که در سایر تیمارها کاهش می‌یابد.

#### بحث:

تاکنون مطالعات مختلفی در مورد اثر غلظت‌های مختلف فلزات با استفاده از رشد و تولیدمثل در جلبک‌های تک‌سلولی انجام گرفته است. همه مطالعات بر تأثیر منفی غلظت‌های بالای فلزات بر رشد و تولیدمثل دلالت دارند (Klaassen, 1996; Ouyang et al., 2002). همچنین، تأثیرات منفی ترکیبات فلزی بر ارگانسیم‌های فتوسنتز کننده به‌صورت اختلال در بسیاری از عملکردهای فیزیولوژیکی از قبیل جذب آب، تنفس و جذب عناصر غذایی است (Burzynski and Zurek, 2007).

تغییرات در شرایط زیستی و زیستگاهی اغلب به‌طور مشخصی و به‌سرعت توسط موجودات تک‌سلولی نظیر جلبک‌های میکروسکوپی قابل ارزیابی است و عکس‌العمل سریع‌تری نسبت به موجودات با ساختار پیچیده‌تر دارد (Jochem, 2000). ارزیابی تأثیرات سمیت ناشی از فلزات با استفاده از ریز جلبک‌ها سریع و کم‌هزینه است و می‌تواند به‌طور مؤثر در ارزیابی عناصر و ترکیبات سمی حتی در غلظت‌های بسیار کم سموم مورد استفاده قرار گیرد (Wong and Couture; 1986).

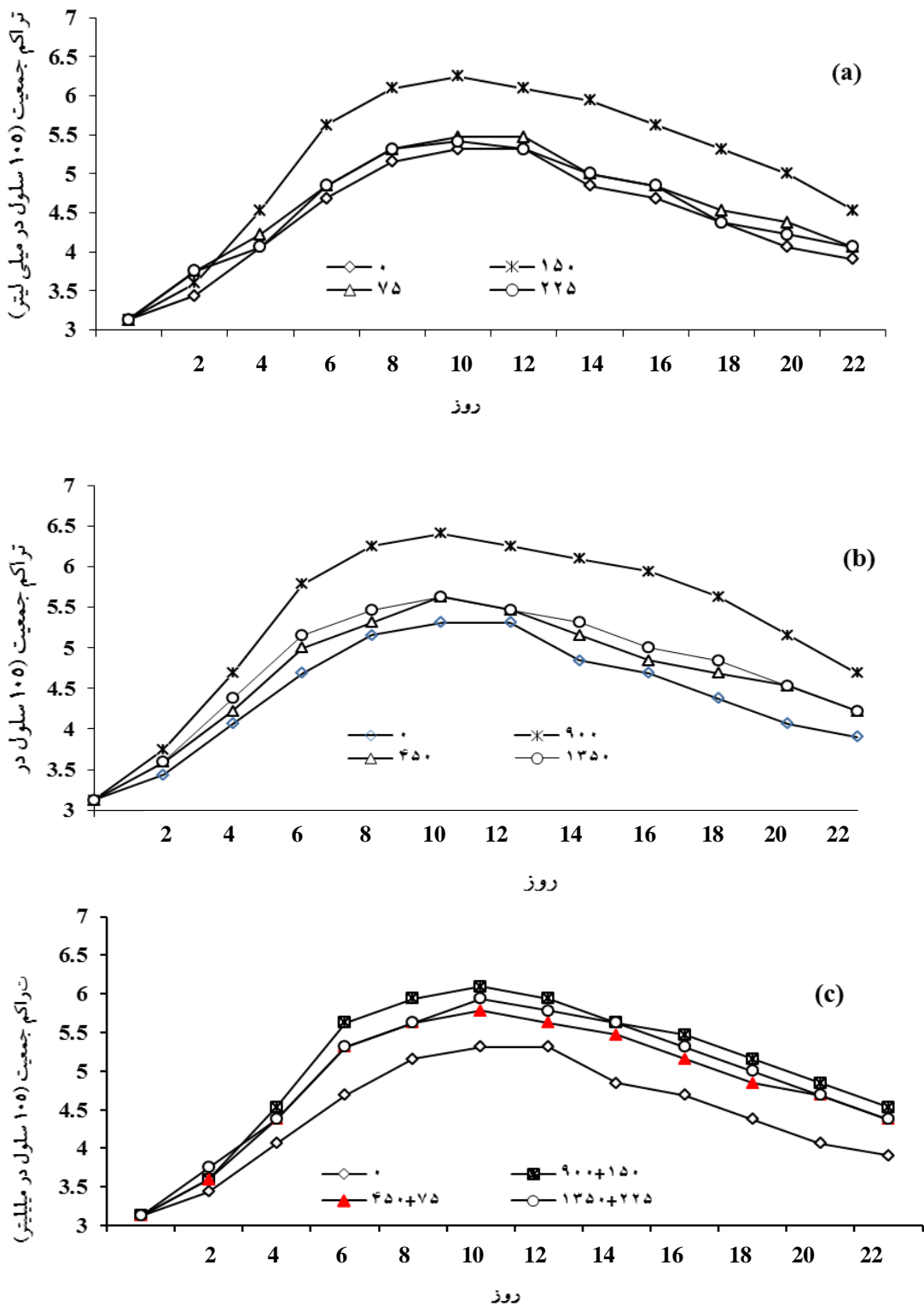
محلول جلبکی توسط کاغذ صافی واتمن فیلتر شده و سپس فیلترها به مدت ۲۴ ساعت درون استون ۹۰٪ نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با ۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شده و پس از آن میزان جذب نوری (OD= Optical Density) آن‌ها با اسپکتروفتومتر (مدل Jenway) در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۵۳ و ۶۶۶ نانومتر به روش شرح داده‌شده توسط Parsons و همکاران (۱۹۸۴) انجام شد.

برای آنالیز داده‌ها از تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و از آزمون توکی (Tukey's Test) جهت مشخص نمودن حد معنی‌دار بودن تیمارهای مختلف با ۹۵٪ با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 16 استفاده شد.

#### نتایج:

تأثیر جداگانه و ترکیبی غلظت‌های مختلف روی و منگنز بر تراکم سلولی در جلبک *S. quadricauda* در طول دوره آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که در غلظت ۹۰۰ میلی‌گرم در لیتر روی (شکل ۱-*a*)، در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر منگنز (شکل ۱-*b*) و در غلظت ترکیبی ۹۰۰+۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر از روی + منگنز (شکل ۱-*c*) بیشترین اوج تراکم سلولی است. به‌طور کلی نتایج شکل ۱ نشان داد که تأثیر روی بر تراکم سلولی بیشتر از فلز منگنز است و تأثیر جداگانه این فلزات نیز از تأثیر ترکیبی آنها بیشتر است.

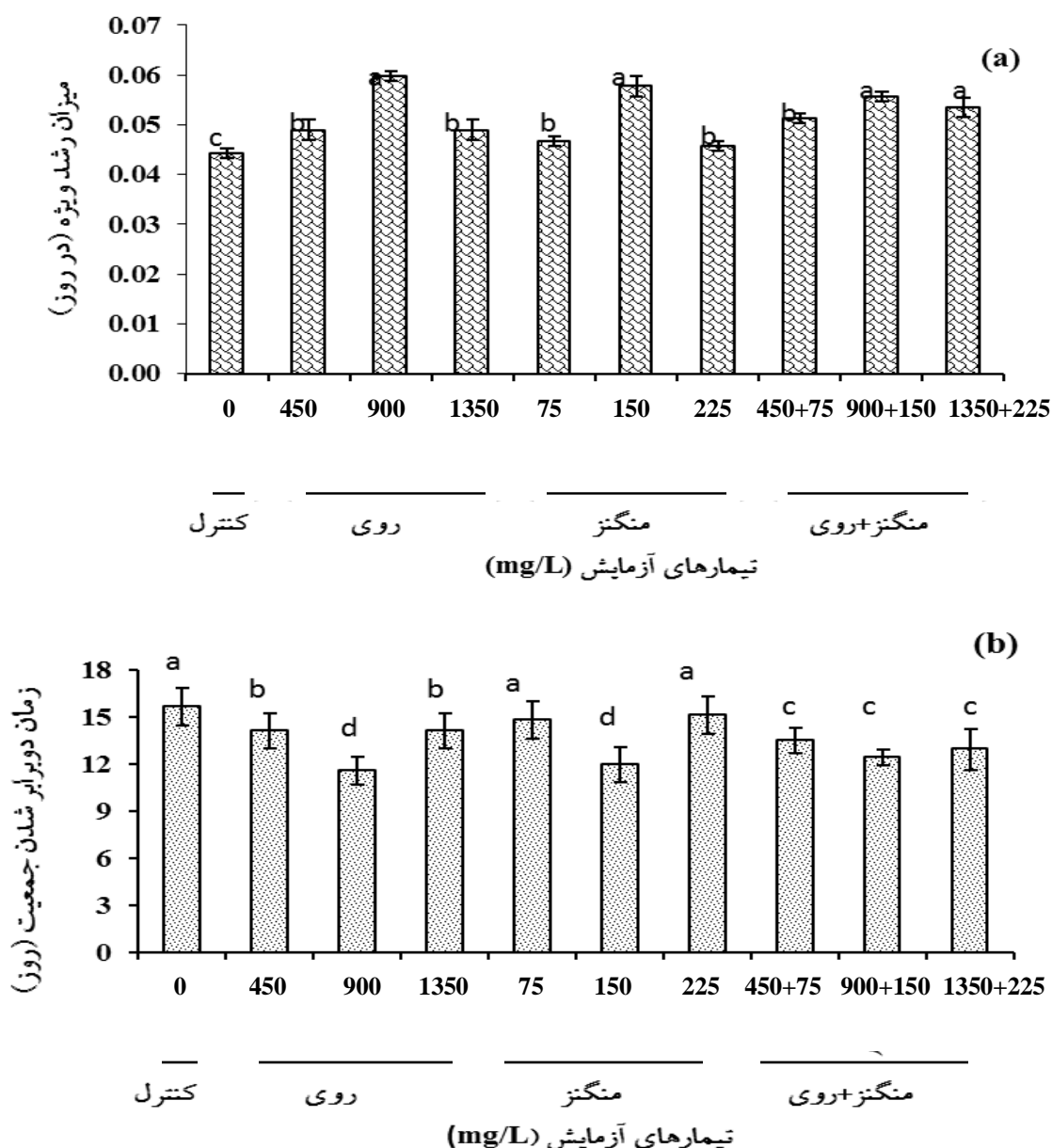
میزان رشد ویژه و زمان دو برابر شدن جمعیت جلبک *S. quadricauda* در غلظت‌های مختلف روی، منگنز و ترکیب آن‌ها در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تأثیر آن‌ها با افزایش میزان غلظت سبب افزایش میزان رشد ویژه جمعیت جلبک *S. quadricauda* می‌شود که بالاترین میزان آن در تمام تیمارهای آزمایشی ۰/۰۶ در روز ( $\text{day}^{-1}$ ) به دست آمد (شکل ۲-*a*). زمان دو برابر شدن جمعیت نیز دامنه‌ای از ۱۱/۵-۱۵/۷ روز در تیمارهای مختلف داشت (شکل ۲-*b*) که کمترین آن در تیمار ۹۰۰ میلی‌گرم در لیتر از عنصر روی و بیشترین آن در تیمار کنترل (۰ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده گردید. به‌طورکلی نتایج نشان داد که افزایش روی، منگنز و ترکیب آن‌ها سبب کاهش زمان رشد در جمعیت جلبک



شکل ۱- میانگین تأثیرات غلظت‌های مختلف عنصر روی، منگنز و ترکیب آنها بر پویایی جمعیت در دوره پرورش ۲۲ روزه: (a) روی، (b) منگنز، (c) ترکیب روی و منگنز در جلبک سبز *S. quadricauda* اعداد میانگین ۳ تکرار است.

تشکیل کمپلکس‌های درون‌سلولی انجام می‌دهند و مس و روی مازاد را با مکانیسم غیر متحرک‌سازی (Immobilization)

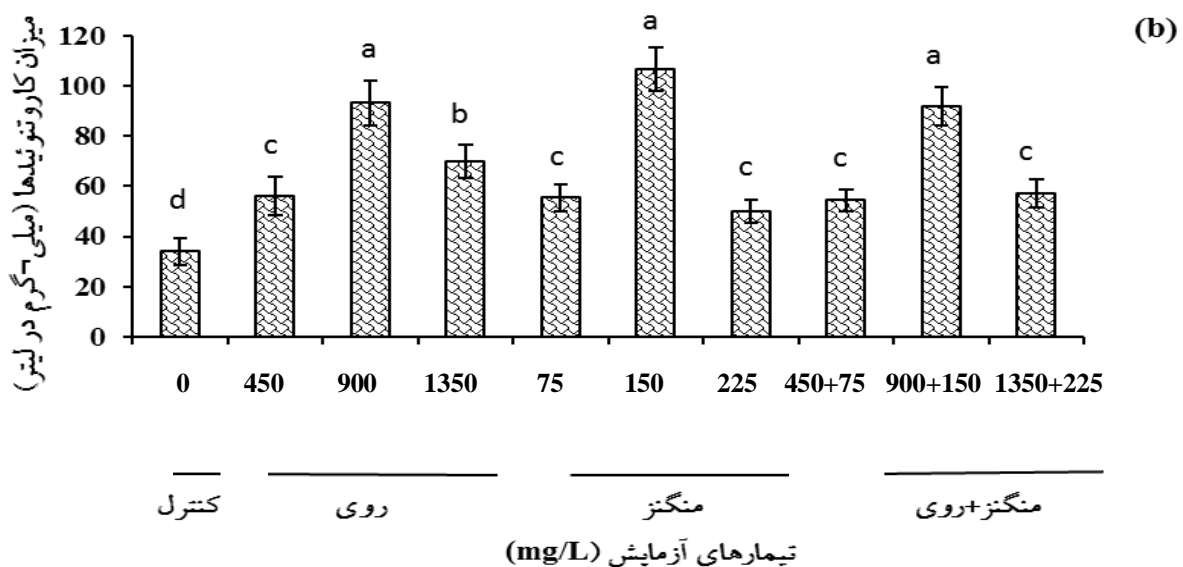
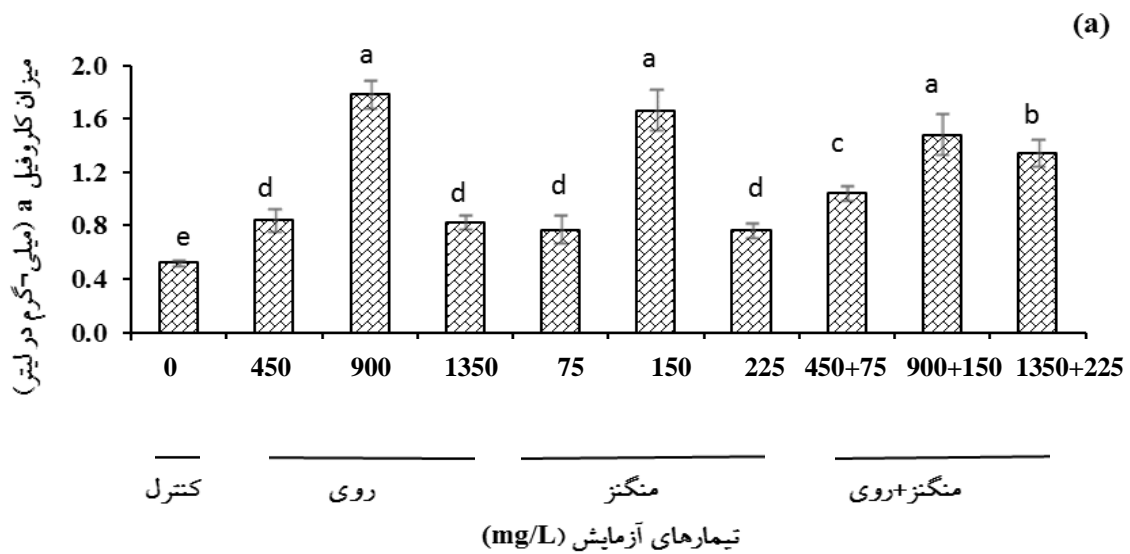
مطالعه Silverberg و همکاران (۱۹۷۶) نشان داده است که جلبک *Scenedesmus subspicatus*، سم زایی فلزات را با



شکل ۲- میانگین (±خطای استاندارد) تأثیرات غلظت‌های مختلف روی، منگنز و ترکیب آنها بر میزان (a) رشد ویژه و (b) زمان دو برابر شدن جمعیت در جلبک سبز *S. quadricauda*. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۵ درصد است.

کشت و شرایط پرورش آنها است. برای مثال سمیت عنصر کبالت بر جلبک *Chlamydomonas reinhardtii* در pH=۵، ۲/۵ تا ۵ برابر در مقایسه با pH=۶/۸ افزایش می‌یابد. جلبک‌های تک‌سلولی از گونه‌های جنس *Scenedesmus* را اغلب برای نشان دادن تغییرات فیزیکی شیمیایی در شرایط محیط زیست استفاده می‌نماید و همچنین برای حذف و جذب مواد مغذی یا سموم در سیستم‌های آبی بسیار کاربرد دارند.

حذف می‌نمایند. برای مثال فیتوچلترین (Phytochelatin) یک چلینت کننده فلزی درون سلولی است که القاء کننده مس در جلبک‌های آب شیرین و آب شور است. تأثیرات کادمیم، کبالت، عنصر روی و نیکل را در جلبک *Chlamydomonas reinhardtii* توسط Macfie و همکاران (۱۹۹۴) بررسی شده است و نتایج آنها نشان می‌دهد که میزان تأثیر سموم بر جلبک‌ها این عناصر تابع نقش دیواره سلولی جلبک‌ها و pH محیط



شکل ۳- میانگین (±خطای استاندارد) تأثیرات غلظت‌های مختلف روی، منگنز و ترکیب آنها بر کلروفیل (a) و کل کارتنوئید (b) در جلبک سبز *S. quadricauda*. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۵ درصد است. اعداد میانگین ۳ تکرار است.

تا ۹۰ میلی‌گرم در لیتر و افزایش عنصر منگنز تا ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر چه بصورت غیر ترکیبی و چه بصورت ترکیب با یکدیگر و حفظ نسبت‌ها به‌طور معنی‌داری سبب بهبود خصوصیات زیستی از قبیل تراکم جمعیت، رشد ویژه، زمان دو برابر شدن، کلروفیل a و محتوای کل کارتنوئیدها در جلبک سبز *S. quadricauda* می‌شود. به ترتیب با افزایش غلظت روی از

به عنوان مثال Muwafq و Bernd (۲۰۰۶) گزارش دادند که فلزات سنگین (کادمیوم، سرب و مس) باعث کاهش رشد در جلبک *S. quadricauda* می‌شود که شدت تأثیرات به نوع و غلظت فلزات مختلف و همچنین زمان و یا دوره تماس بستگی دارد. نتایج این پژوهش نشان داد که افزایش غلظت عنصر روی

۴۷/۹ و ۵۶/۶ درصد در زیست توده خشک در جلبک *S. quadricauda* گردید. بطور مشابهی در جلبک‌های *Anabaena* و *Chlorella vulgaris*، *Scenedesmus obliquus* *flos-aquae* کاهش تراکم به علت فلز سنگین روی به ترتیب ۲۷/۷-۷۱، ۱۳/۵-۵۷/۷ و ۱۲-۴۴ درصد گزارش گردید (سواری و همکاران، ۱۳۸۳). به طور کلی می‌توان بیان کرد که تاثیرات فلزات بر کاهش تراکم جمعیت، کلروفیل و زیست توده متفاوت است که بستگی به گونه جلبک، نوع فلز سنگین و غلظت مورد استفاده دارد.

به طور کلی غلظت‌های بسیار کم یا زیاد عنصر روی و منگنز موجب اختلال در خصوصیات فیزیولوژیکی جلبک سبز *S. quadricauda* می‌شود. همچنین تأثیر جداگانه عنصر روی و منگنز بیشتر از تأثیر ترکیبی این دو فلز است و تأثیر فلز روی بر جلبک سبز *S. quadricauda* نسبت به منگنز بیشتر است و باعث محدودیت بیشتری نسبت به منگنز می‌شود. به طور کلی از روی به‌عنوان جایگزین منگنز و بالعکس می‌توان استفاده نمود.

### تشکر و قدردانی:

از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه صنعتی اصفهان به لحاظ فراهم آوردن بودجه و امکان تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

۲: ۸۳-۹۰

کوشا، م.، فرهادیان، ا.، درافشان، س.، محبوبی صوفیانی، ن. ۱۳۹۳. بهینه سازی جذب مالاشیت گرین از محلول‌های آبی با استفاده از ریز جلبک‌های سبز. محیط شناسی ۴۰: ۱۷۴-۱۶۳.

کیانی، س.، فرهادیان، ا.، محبوبی صوفیانی، ن. (۱۳۹۳) تاثیر فلزهای سنگین (کادمیوم، مس، سرب، نیکل) بر کلروفیل a و زیست توده جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda*. علوم و فنون شیلات ۳: ۷۸-۶۷.

۹۰۰ میلی‌گرم در لیتر و منگنز از ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر تأثیر بازدارنده این فلزات بر خصوصیات فیزیولوژیکی جلبک سبز *S. quadricauda* نمایان می‌گردد. فلزات سنگین، اثرات سمی بر مسیرهای متابولیکی گیاهان دارند. مکانیسم‌های مسمومیت از طریق مسدود کردن گروه‌های عملکردی (Functional groups) در مولکول‌های مهم از قبیل آنزیم‌ها، پلی نوکلئوتیدها، سیستم‌های انتقال مواد مغذی ضروری و یون‌ها، جابجایی و یا جایگزینی با یون‌های ضروری از مکان‌های سلولی، دنا تورا سیون و غیرفعال شدن آنزیم‌ها، اختلال فیزیولوژیکی در سلول و غشاهای سلولی می‌باشد. علاوه بر این، تأثیرات فلزات از طریق تشکیل رادیکال‌های آزاد امکان‌پذیر است. رادیکال‌ها باعث اکسیداسیون مولکول‌های زیستی مانند اسیدهای نوکلئیک، پروتئین، و چربی می‌شوند و در نتیجه در ثبات سلولی و نفوذپذیری غشاء اختلال ایجاد می‌کنند (Rausser, 1995; Cobbett, 2000; Cobbett and Goldsbrough, 2002).

بررسی تأثیرات مس و روی بر رشد جلبک‌های آب شیرین توسط Knauer و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند که روی در غلظت‌های بسیار پایین لازم است و در غلظت‌های بالا سمی هستند. رشد بهینه جلبک‌ها در محیط‌های دارای مس و روی حدود ۶-۸ برابر تحمل آن‌ها را متفاوت می‌نماید. برای مثال، در مطالعه کیانی و همکاران در سال ۱۳۹۳ تأثیر کادمیوم، مس، سرب و نیکل به ترتیب سبب کاهش ۲/۲۴، ۱/۲۳، ۷/۳۶ و ۵/۳۵ درصد از کلروفیل a و همچنین سبب کاهش ۵/۵۱، ۲/۳۵،

### منابع:

حیدری، ص.، فرهادیان، ا.، محبوبی صوفیانی، ن. (۱۳۹۰) تولید زیست توده و حذف آمونیاک و نیتريت از پساب کارگاه پرورش ماهی بوسيله كشت جلبك سبز *Scenedesmus quadricauda* محیط شناسی ۵۹: ۲۸-۱۵.

سواری، ا.، فلاحي، م.، کوچین، پ. (۱۳۸۳) تاثیر فلز سنگین روی بر سه گونه جلبک کلرلا ولگاریس، سندسموس اوبلیکوس و انابنا فلوس -اکوا. مجله علمی شیلات ایران

- R.), Cambridge University Press, Cambridge.
- Omori, M. and Ikeda, T. (1984) *Methods in Marine Zooplankton Ecology*. John Wiley and Sons Inc., New York, 332pp.
- Ouyang, Y. Higman, J. Thompson, J. Toole, O. T. and Campbell, D. (2002) Characterization and spatial distribution of heavy metals in sediment from Cedar and Ortega Rivers sub-basin. *Journal of Contamination Hydrology* 54:19–35.
- Parsons, T. R., Maita, Y. and Lalli, C. M. (1984) *A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis*. Pergamon Press, Oxford.
- Phang, S. M. and Chu, W. L. (1999) *University of Malaya Algae Culture Collection (UMACC): Catalogue of Strains*. Institute of Postgraduate Studies & Research University of Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia, 77 p.
- 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.
- 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.
- Rausser W. E. (1995) Phytochelatins and related peptides: structure, biosynthesis and function. *Plant Physiology* 109:1141–1149.
- Silverberg, B. A. Stokes, P. M. and Ferstenberg, L. B. (1976) Intranuclear complexes in a copper-tolerant green alga. *Journal of Cell Biology* 69:210–214.
- Smirnov, N. (1995) *Environment and plant metabolism: flexibility and acclimation*. Oxford: BIOS Scientific.
- Valko, M. Morris, H. and Cronin, M. T. D. (2005) Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry* 12: 1161–1208.
- Wong, P. T. S. and Couture, P. (1986) Toxicity screening using phytoplankton. In: *Toxicity Testing using Microorganisms* (ed. Dutka, B. J., Bitton, G.). Pp. 79–100, CRC Press, Boca Raton.
- Xia-li, Y. Xiao-qing, Y. Yong-hong, L. and Yuan-yan, D. (2007) Effect of Bensulfuron-Methyl on growth of *Chlorella pyrenoidosa*. *Agricultural Sciences in China* 6: 316-321.
- معینی فیض آبادی، ا. (۱۳۹۱) حذف فلزات سنگین از محلول های آبی با استفاده از زیتوده جلبک سبز سندسموس کوادریکودا. پایان نامه کارشناسی ارشد مهندسی منابع طبیعی-محیط زیست، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان.
- Bellinger, E. G. Sigeo, D. C. (2010) *Freshwater Algae Identification and Use as Bioindicators*. John Wiley and Sons, Ltd, Publication, 271 p.
- Burzynski, M. and Zurek, A. (2007) Effects of copper and cadmium on photosynthesis in cucumber cotyledons. *Photosynthetica* 45:239–244.
- Cobbett, C. and Goldsbrough, P. (2002) Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annual Review of Plant Physiology* 53:159–182.
- Cobbett, C. S. (2000) Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiology* 123:825–832.
- Jochem, F. J (2000) Probing the physiological state of phytoplankton at the single-cell level. *Scientia Marine* 64:183-195.
- Klaassen, C. D. (1996) *Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons*, 5th ed., International Edition 712-714.
- Knaur, K. Behra, R. and Sigg, L. (1997) Effects of free Cu and Zn ions on growth and metal accumulation in freshwater. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16: 220-229.
- Lavens, P. and Sorgeloos, P. (1996) *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. FAO Fisheries Technical Report. Belgium.
- Macfie, S. M. Tarmohamed, Y. and Welbourn, P. M. (1994) Effects of cadmium, cobalt, copper, and nickel on growth of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*: The influences of the cell wall and pH. *Archiv Environmental Contamination and Toxicology* 27:454-458.
- Martinez, M. P. and Chakroff, J. B. P. (1975) Direct phytoplankton counting technique using the hemacytometer. *Philippine Agriculture Science* 59: 43-50.
- 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: *Handbook of Phycological Methods– Culture Methods and Growth Measurements* (ed. Stein, J.