تأثیرات عناصرروی (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: ۱۳۹٤/۰۱/۱۹)

چکیده:

عناصرروی 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 غلظت‌های مختلف روی (٤٥٠، ۹۰۰ و ۱۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر) و منگنز (۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌گرم در لیتر) و تأثیرات ترکیبی آن‌ها (٤٥٠+۷۵، ۹۰۰+۱۵۰ و ۱۳۵۰+۲۲۵ ، از روی+ منگنز برحسب میلی‌گرم در لیتر) بربرخی خصوصیات فیزیولوژیکی، پویایی جمعیت، رشد، محتوای کلروفیل *a* و کاروتنوئیدها در جلبک سبز میکروسکوپی *Scenedesmus quadricauda* در دمای ۲± ۲۲ درجه سانتی‌گراد، 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 میلی‌گرم در لیتر از روی، ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر از منگنز و ترکیب ۹۰۰ + ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر (روی + منگنز) به دست آمد. حداکثر مقدار رشد ویژه برای روی، منگنز و ترکیب آن‌ها به ترتیب ۰/۰٦۰، ۰/۰۵۸ و ۰/۰۵٦ در روزبه دست آمد. کمترین زمان دو برابر شدن جمعیت با مقدار ۱۱/٦ روز برای تیمار روی در غلظت ۹۰۰ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. حداکثر مقدار کلروفیل *a* و کل کاراتنوئید به ترتیب ۱/۸و ۹۳/۲ میلی‌گرم در لیتر در غلظت ۹۰۰ میلی‌گرم در لیتر روی به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵). یافته‌های این تحقیق نشان داد که افزایش میزان روی تا ۹۰۰ میلی‌گرم در لیتر و افزایش میزان منگنز تا ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سبب بهبود جمعیت، رشد، کلروفیل و کارتنوئید در جلبک سبز *S. quadricauda* می‌شود. به‌طورکلی، این مطالعه نشان داد که تغییرات غلظت روی و منگنز تأثیر معنی‌داری بر تراکم سلولی، کلروفیل *a* و کل کاراتنوئید می‌گذارد. تأثیر روی نسبت به منگنز بیشتر است و افزایش آن تا غلظت ۹۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی در جلبک *S. quadricauda* می‌شود.

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

مقدمه:

جلبک‌های میکروسکوپی موجودات تک‌سلولی و از تولیدکنندگان اصلی در اکوسیستم‌های آبی می‌باشند که عمل فتوسنتز را انجام می‌دهند و به‌عنوان اولین حلقه زنجیره غذایی و تولیدکننده غذا برای سایر موجودات نقش مهمی در پایداری اکوسیستم دارند (Xia-li *et al*., 2007). فلزات کمیاب روی و منگنز از عناصر غذایی کم‌مصرف موردنیاز جلبک‌ها می‌باشند اما در غلظت‌های بالا برای آن‌ها سمی می‌باشند (Knauer *et al*., 1997). بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از قبیل فتوسنتز، تنفس، سنتز پروتئین و سنتز

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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.6.9]

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 می دهد که غلظت‌های ۰/۰۳۲ و۰/۰۹٦ میلی‌گرم در لیتر مس و همچنین۰/۱۱۲ و ۰/۲۲٤ 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* موردبررسی قرار گرفت و دامنه غلظت بهینه مس و روی را برای این جلبک به ترتیب ۰/۰۳۲تا ۰/۰۹٦و ۰/۱۱۲ تا۰/۲۲٤میلی‌گرم 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* موردبررسی 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 به‌طورمعمول در تمام آب‌های شیرین یافت می‌شود گونه جلبک سبز *S. quadricauda* است (Bellinger and Sigee, 2010). این‌گونه 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 ازجمله تصفیه پساب‌های مختلف شهری، کشاورزی (حیدری و همکاران، ۱۳۹۰) و 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 موردبررسی 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 (مدلCETI، ساخت بلژیک) به کمک کلیدهای موجود شناسایی شد و با روش Lavens و Sorgeloos (۱۹۹٦) با کشت بر روی آگار خالص‌سازی گردید. برای این منظور ابتدا با استفاده از میکرو پیپت 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 $NaNO_3$ (۲۵ گرم)، K_2HPO_4(۱۰ گرم)، KH_2PO_4 (۱۵ گرم)، $MgSO_4.\ 7H_2O$ (۷/۵ گرم)، NaCl (۲/۵ گرم)، $CaCl_2$ (۲/۵ گرم)، $MnCl_2$ متغیر، $ZnCl_2$ متغیر، MoO_3 (۰/۷۱ گرم)، $Co(NO_3)_2.\ 6H_2O$ (۰/٤۹ گرم)، H_3BO_4 (۱۱/٤ گرم)، KOH (۳۱ گرم)، $FeSO_4.\ 7H_2O$ (٤/۹۸ گرم) و EDTA (۵۰ گرم) تماما در یک لیتر آب مقطر بود (Nichols, 1973). pH محیط کشت قبل از اتوکلاو نمودن با استفاده از ۰/۱HCl نرمال و یا NaOH ۰/۱ نرمال در ٦/۸ تنظیم گردید. محیط کشت تهیه‌شده در دمای ۱۲۱ درجه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.6.9]

سانتی‌گراد و فشار ۲/۵ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو (اتوکلاو مدل 121A، ساخت ایران) گردید. آنگاه محلول حاصل را به‌صورت مایع و تقریباً گرم و در شرایط ضدعفونی و استریل شده در پتری دیش‌های پلاستیکی (۵۰ میلی‌متری) ریخته و درب آن با پارافیلم بسته شد. پس‌ازآنکه محیط کشت تهیه‌شده در دمای اتاق به حالت جامد تبدیل شد، نمونه ناخالص جمع آوری‌شده از استخرهای پرورش ماهی را روی محیط کشت در اتاقک رشد با شرایط دمای ۲۲ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا کلنی‌های جلبکی ظرف ۲۰ روز تشکیل شود. در مرحله بعد مشاهده جلبک خالص‌سازی شده در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی × ۱۰۰۰ 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 مایرهای۲۵۰ 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 موردنیاز در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه اتوکلاو ضدعفونی و استریل گردید. پس از اتمام اتوکلاو و هم‌دما 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 10^5سلول در میلی‌لیتر) به محیط کشت دارای ویتامین اضافه گردید و در دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و شدت نور۸۰ میکرو مول فوتون بر مترمربع بر ثانیه، و در پروتکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی قرار داده شد (Nichols, 1973).

نحوه انجام آزمایش: آزمایش با ۱۰تیمار (۹ تیمار اصلی و یک شاهد) در نظر گرفته شد. نمونه شاهد (کنترل) عاری از روی و منگنز، تیمارهای جداگانه هرکدام دارای سطوح مختلف ۴۵۰، ۹۰۰ و ۱۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر از فلز روی (۳ تیمار) و ۷۵، ۱۵۰و ۲۲۵ میلی‌گرم در لیتر از فلز منگنز (۳ تیمار) بود در حالی‌که تیمارهای حاصل از ترکیب دو فلز یعنی روی + منگنز شامل۴۵۰ + 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 موردنیاز 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 اسیدکلریدریک با غلظت ۰/۱ نرمال با استفاده ازpH متر (مدل 744 Metrohm، ساخت سوئیس) در ۶/۹ تنظیم گردید. در این آزمایش از کلرید خالص فلزات روی و منگنز استفاده شد. به‌طورکلی آزمایش با ۱۰تیمار و با سه تکرار در ۳۰ عدد ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری انجام گردید. آزمایش به‌صورت یک طرح کاملاً تصادفی دریک دوره ۲۲ روزه به‌منظور اطمینان از تأثیرات درازمدت در جمعیت جلبک *S. quadricauda* انجام شد.

در این تحقیق شمارش جلبک‌ها با استفاده از لام هموسیتومتری و با روش پیشنهادشده 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 $SGR= (Ln\ N_t\text{-}Ln\ N_o)\ /T$ 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 $Dt = Ln2/SGR$ 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 کارتنوئیدها، ۱۰۰میلی‌لیتر از

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.6.9]

محلول جلبکی توسط کاغذ صافی واتمن فیلتر شده و سپس فیلترها به مدت ۲٤ ساعت درون استون ۹۰٪ نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰دقیقه با ٤۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شده و پس‌ازآن میزان جذب نوری (OD= Optical Density) آن‌ها با اسپکتروفتومتر (مدل Jenway) در طول‌موج‌های ٤۷۰، ٦٥۳ و ٦٦٦ نانومتر به روش شرح داده‌شده توسط Parsons و همکاران (۱۹۸٤) 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 ۹٥٪ 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 شکل۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که در غلظت ۹۰۰ میلی‌گرم در لیتر روی (شکل۱– a) ، در غلظت ۱٥۰ میلی‌گرم در لیتر منگنز (شکل۱–b) و در غلظت ترکیبی ۹۰۰ + ۱٥۰ میلی‌گرم در لیتر از روی + منگنز (شکل۱–c) بیشترین اوج تراکم سلولی است. به طور 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 ۰/۰٦ در روز (day^{-1}) به دست آمد (شکل ۲–a). زمان دو برابر شدن جمعیت نیز دامنه‌ای از ۱۱/٥–۱٥/۷ 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 *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 ، ۱٥۰ میلی‌گرم در لیتر از منگنز و ترکیب ۹۰۰+ ۱٥۰ به ترتیب ۱/۷۹، ۱/٦۷ و ۱/٤۸ میلی‌گرم در لیتر بود که تفاوت معنی‌داری را با سایر تیمارها و کنترل نشان داد اما بین آنها تفاوت معنی داری مشاهده نشد. علاوه بر این، میزان کل کاروتنوئیدها در غلظت ۹۰۰ ، ۱٥۰ و ترکیب ۹۰۰+۱٥۰ به ترتیب ۹۳/۲، ۱۰٦/۸ و ۹۱/۹ میلی‌گرم در لیتر را نشان داد (شکل۳–b). به‌طورکلی نتایج اندازه‌گیری کلروفیل *a* و کل کاروتنوئیدها نشان داد که افزایش عنصر روی تا غلظت ۹۰۰ و منگنز تا ۱٥۰ و ترکیب آن‌ها تا ۹۰۰+ ۱٥۰ سبب افزایش محتوای کلروفیل *a* و کل کارتنوئیدها گردید درحالی‌که در سایر تیمارها کاهش می یابد.

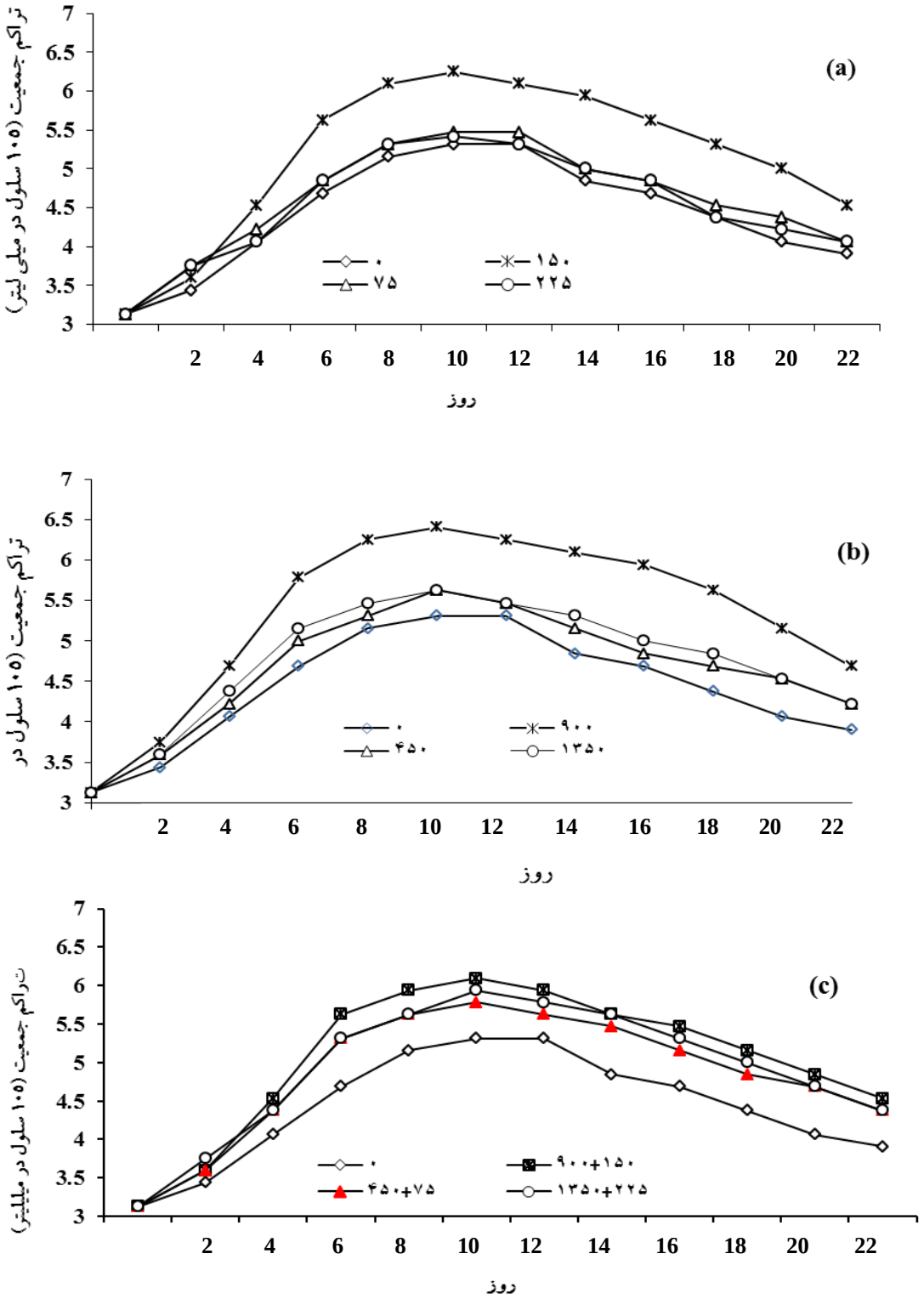
بحث:

تاکنون مطالعات مختلفی در مورد اثر غلظت‌های مختلف فلزات با استفاده از رشد و تولیدمثل در جلبک‌های تک‌سلولی انجام‌گرفته 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 ارگانیسم‌های 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 مورداستفاده قرار گیرد (Wong and Couture; 1986).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

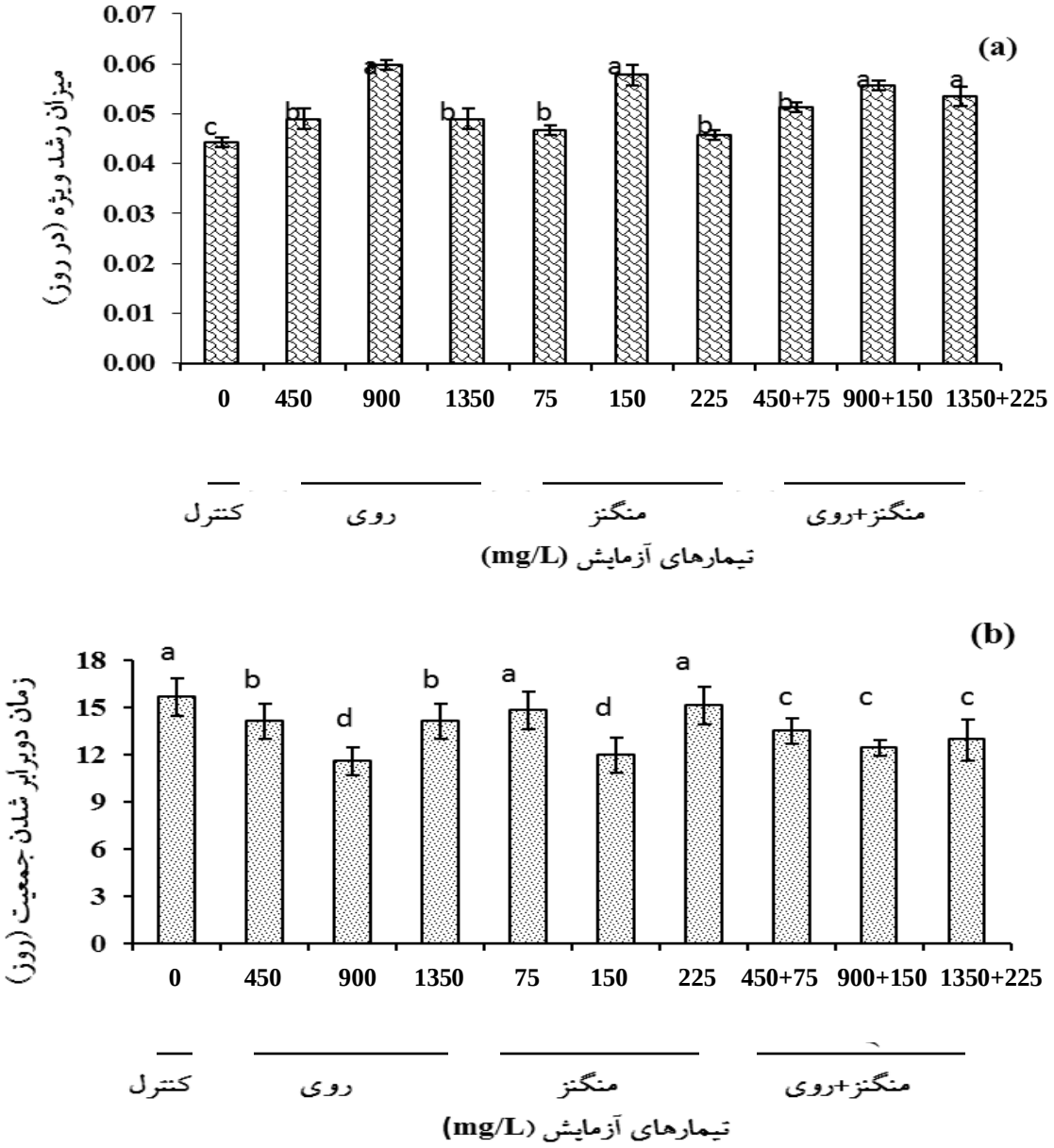
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.6.9]



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.

مطالعه Silverberg و همکاران (۱۹۷۶) نشان داده است که جلبک *Scenedesmus subspicatus*، سم زایی فلزات را با تشکیل کمپلکس‌های درون‌سلولی انجام می‌دهند و مس و روی مازاد را با مکانیسم غیر متحرک‌سازی (Immobilization)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.6.9]

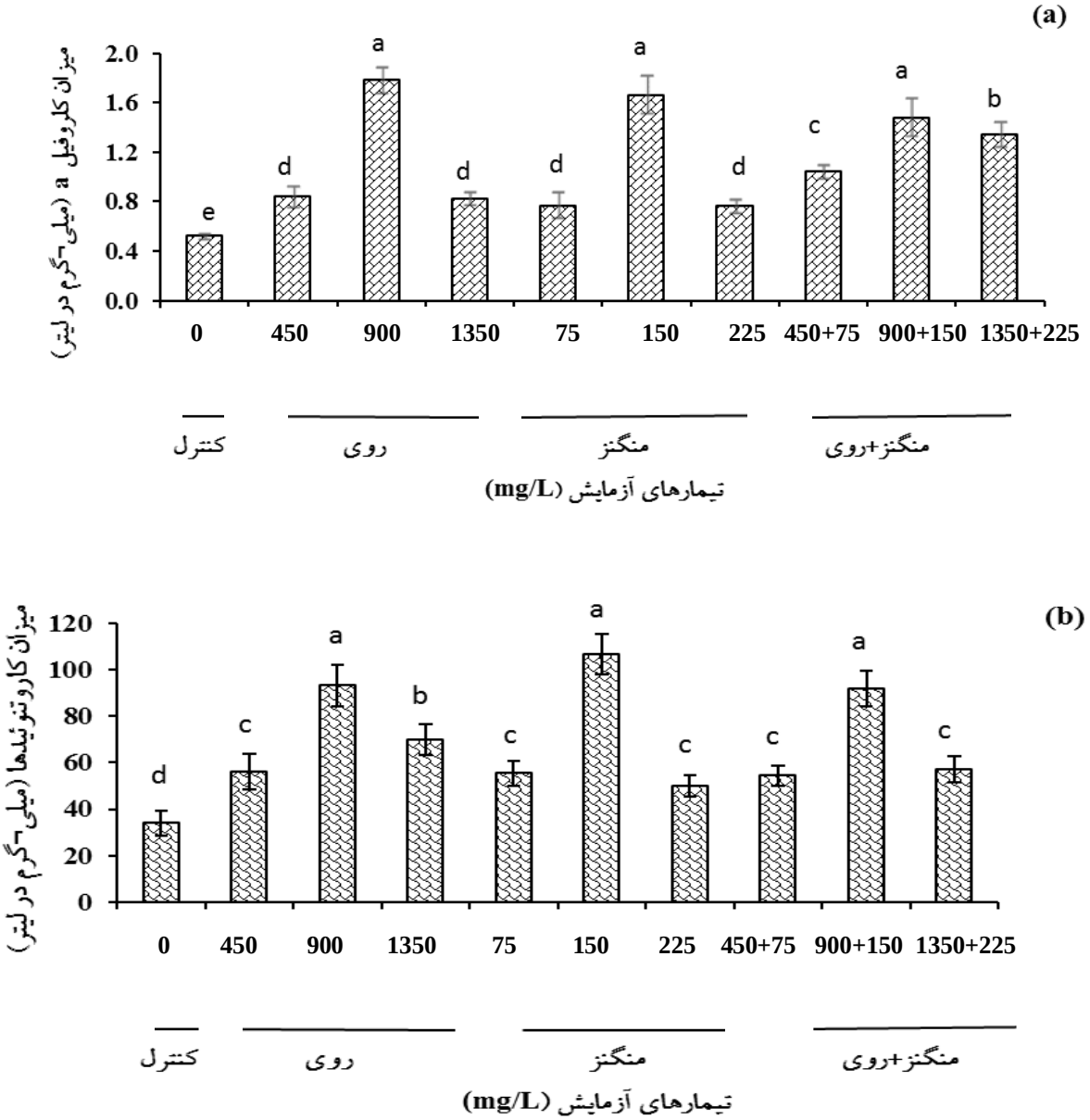


شکل۲- میانگین (±خطای استاندارد) تأثیرات غلظت‌های مختلف روی، منگنز و ترکیب آنها بر میزان (a) رشد ویژه و(b) زمان دو برابر شدن جمعیت در جلبک سبز *S. quadricauda* حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۵ درصد است.

حذف می‌نمایند. برای مثال فیتوچلیتین (Phytochelatin) یک چلیت کننده فلزی درون‌سلولی 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 (۱۹۹٤) بررسی شده است و نتایج آنها نشان می‌دهد که میزان تاثیرسموم بر جلبک ها این عناصر تابع نقش دیواره سلولی جلبک ها و pH محیط 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=٦/٨ 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.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.6.9]



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.

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 تا۹۰۰ میلی‌گرم در لیتر و افزایش عنصرمنگنز تا ۱۵۰میلی‌گرم در لیتر چه بصورت غیرترکیبی 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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.6.9]

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، دناتوراسیون 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 درنتیجه در ثبات سلولی و نفوذپذیری غشاء اختلال ایجاد می‌کنند (Rauser, 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 ٦–۸ برابر تحمل آن‌ها را متفاوت می‌نماید. برای مثال، در مطالعه کیانی و همکاران در سال ۱۳۹۳تاثیر کادمیوم، مس، سرب و نیکل به ترتیب سبب کاهش۲٤/۲، ۲۳/۱، ۳٦/۷ و۳۵/۵ درصد از کلروفیل *a* و همچنین سبب کاهش ۵۱/۵، ۳۵/۲، ٤۷/۹ و ٥٦/٦ درصد در زیست توده خشک درجلبک *S. quadricauda* گردید. بطور مشابهی در جلبک‌های *Scenedesmus obliquus* ، *Chlorella vulgaris* و *Anabaena flos-aquae* کاهش تراکم به علت فلز سنگین روی به ترتیب ۷۱–۲۷/۷ ، ۵۷/۷–۱۳/۵ و ٤٤–۱۲ 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.

منابع:

حیدری، ص.، فرهادیان، ا.، محبوبی صوفیانی، ن. (۱۳۹۰) تولید زیست توده و حذف آمونیاک و نیتریت از پساب کارگاه پرورش ماهی بوسیله کشت جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* محیط شناسی ۵۹: ۲۸–۱۵.

سواری، ا.، فلاحی، م.، کوچین، پ. (۱۳۸۳) تاثیر فلز سنگین روی بر سه گونه جلبک کلرلا ولگاریس، سندسموس اوبلیکوس و انابنا فلوس –اکوا. مجله علمی شیلات ایران ۲: ۹۰–۸۳.

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 ٤۰: ۱۷٤–۱٦۳.

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: ۷۸–٦۷.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.6.9]

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. Sigee, 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 Doulls 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. Archiev Environmental Contamination and Toxicology 27:454-458.

Martinez, M. P. and Chakroff, J. B. P. (1975) Direct phytoplankton counting technique using 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. 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 Riverssub-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.

Rauser 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.

Smirnoff, 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.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.6.9]