بررسی تغییرات اسیدیته محیط کشت جلبک سبز (*Scenedesmus quadricauda*) تحت تنش های شیمیایی

احمدرضا پیرعلی زفره ئی
گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۳/۲۸

چکیده

فاکتور های زیستی، فیزیکی و شیمیایی از مهم ترین عواملی است که تاثیر بسزایی در فیزیولوژی جلبک های آبزی دارند. تغییر این عوامل، سبب اختلال در چرخه‌ی زندگی و همچنین خصوصیات فیریولوژیکی جلبک ها می گردد. در این پژوهش تغییرات اسیدیته محیط کشت در جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* (Turp.)Bréb. در سه محیط مختلف، تحت‌تنش‌های شیمیایی علف‌کش‌متری بوزین و سختی‌آب بررسی گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی طی ۲۱ روز انجام پذیرفت. تغییرات اسیدیته در محیط الف و ب به ترتیب با سختی آب و علف‌کش در ارتباط مستقیم بود. نتایج تغییرات اسیدیته در محیط الف، حاکی از ارتباط مستقیم با مقادیر کلروفیل a،b وکارتنوئید است. نتایج‌آنالیز واریانس داده‌ها نیز وجود اختلاف معنی‌دار در برخی از تیمارها در محیط‌های مختلف را تایید می نماید($P<0/05$). بیشترین مقدار کارتنوئید در سطح ۱۵۰ میلی گرم کلسیم کربنات مشاهده شد. در مجموع می‌توان بیان نمود که جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* گونه‌ای با دامنه تحمل زیاد نسبت به تغییرات اسیدیته محیط کشت، همزمان با تنش های شیمیایی سختی و علف‌کش متری بوزین است.

واژگان کلیدی: اسیدیته، تنش شیمیایی، جلبک سبز، *Scenedesmus quadricauda* ، کلروفیل a

***نگارنده پاسخگو: ahmadreza.pirali@gmail.com**

مقدمه

جلبک ها از نظر اقتصادی در تولید مواد پروتئینی اهمیت زیادی دارند، زیرا بطور مستقیم یا غیر مستقیم در زنجیره غذایی آبزیان، بخصوص ماهی ها و همچنین انسان قرار می گیرند. همچنین این گروه با عمل فتوسنتز بر اکسیژن محیط افزوده، از این راه سبب تصفیه آب‌های آلوده و فاضلاب ها می شوند(حیدری و همکاران،۱۳۹۰). عواملی نظیر دما، pH و سختی آب، باعث تاثیرات کاملاً معنی داری بر مقاومت و حساسیت موجودات در مقابل آفت کش ها می شود(پیری و همکاران، ۱۳۷۷). تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد که مقادیر مختلف اسیدیته می‌تواند بر روی رشد جلبک‌ها به طور معنی داری اثرگذار باشد، البته تحمل انواع گوناگون جلبک‌ها نسبت به کاهش اسیدیته متفاوت می‌باشد(Penderson & Hensen, 2003). ارزیابی گونه‌های جلبکی نشان می‌دهد که واکنش جلبک ها نسبت به موادشیمیایی خیلی گسترده است. حساسیت های مختلف گونه های جلبک می‌تواند سبب تغییرات در جوامع زیستی شود. بدین وسیله ممکن است منجر به تغییرات در کارکرد و ساختارها در اکوسیستم‌های‌آبی گردد(Ma *et al*., 2004). گوناگونی در میزان اسیدیته به طرق مختلف، انتشار انواع اشکال کربن دی‌اکسید و مقدار کربن در دسترس، مقدار فلزات سنگین و تغییر مواد مغذی ضروری و در سطوح اسیدیته ی بسیار بالا آثار فیزیولوژیکی مستقیمی را بر جلبک ها بر جا گذارد (Krauss, 1958). بیشتر مطالعات تأثیر اسیدیته بر رشد جلبک ها، در محیط های آب شیرین انجام شده است که سیستم بافری کربنات در آن ضعیف تر از آب‌شور است و اسیدیته می تواند نوسانات شدیدی داشته باشد (Lavens & Sorgeloos, 1996). استفاده زیاد از علف‌کش های کشاورزی اثراتی را بر روی ارگانیسم‌های غیرهدف از جمله جلبک ها می‌گذارد. علف‌کش متری بوزین از گروه تریازینون ها با فرمول شیمیایی $C_8H_{14}N_4OS$ برای دفع آفات در مزارع استفاده می‌شود (Weed Society of America, 1994). این علف‌کش بالاترین‌سمیت را در گیاهان‌آبزی و جلبک‌های‌آب‌شیرین دارد(Fairchild *et al*., 1998). متری‌بوزین با پروتئین D1 کمپلکسPSII (Photosystem) پیوند برقرار نموده، که خود دومین پذیرنده الکترون PSIIمی‌باشد و به عنوان بازدارنده فتوسنتز شناخته می شود (Lurling *et al*., 2006). از طرف دیگر تاثیرات سمی علف‌کش ها با توجه به میزان سختی‌آب متفاوت است. مطالعات در ارزیابی اثرات سختی‌آب (کلسیم یا منیزیم) بر سمیت فلزات برجلبک های تک‌سلولی نشان داده است که سمیت فلزات بوسیله کلسیم و منیزیم کاهش پیدا می‌کند و با هم برای باند شدن در سطح سلول دیواره جلبک به رقابت می پردازند(Amanda *et al*., 2002).گونهٔ مورد آزمایش.Bréb(Turp.) *Scenedesmus quadricauda*متعلق به جنس *Scenedesmus* تیره Acenedesmaceae و راسته Chlorochocales از جلبک‌های سبز Chlorophytaمی باشد. سندسموس یک جلبک سبز کوچک، غیرمتحرک، فاقد تاژک، کلونی دار و دارای دیواره سلولی حاوی سلولز است (Hegewald & Hanagata, 2002). جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda*قابلیت استفاده برای نشان دادن تاثیرات آلایندگی علف‌کش ها در محیط‌های آبی را دارد. تاکنون مطالعات بسیاری در ارتباط با سمیت ترکیبات ارگانیک و غیرارگانیک بر جلبک*S. quadricauda* صورت گرفته است. علت آن فراوانی این جلبک در محیط‌های آب شیرین و اینکه از اجزای اصلی در زنجیره غذایی آب شیرین است، می باشد (Wong, 2000). این مطالعه با هدف بررسی اثرات اکوفیزیولوژیکی تغییرات اسیدیته محیط کشت در جلبک سبز *S. quadricauda* تحت تنش های شیمیایی مختلف سختی آب و علف‌کش متری بوزین (محدوده pHاسیدی تا قلیایی) همراه با برآورد تغییرات کلروفیل aوb و کارتنوئیدها می باشد.

مواد و روش ها

تهیه ذخیره اولیه جلبک

جمع‌آوری اولیه نمونه‌های جلبکی از آب استخرهای خاکی پرورش ماهی انجام گردید. سپس 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. برای تهیه محیط کشت جامد، ۲ گرم آگار-Agar) (Agar جامد به ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر و محیط کشت BBM (Bold BasalMedium) اضافه شد. محیط‌کشت تهیه شده در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو گردید. آنگاه محلول بصورت مایع و تقریبا گرم و در شرایط ضدعفونی و استریل شده درپتری دیش‌های پلاستیکی ریخته و درب آن با پارافیلم بسته شد. پس از تشکیل کلونی و مشاهده آنها در زیر میکروسکوپ، کلونی‌های جلبک به محیط کشت مایع منتقل گردید. جلبک‌ها بعد از کشت‌های‌متوالی در محیط‌کشت مایع‌خالص گردید. پس از اطمینان از خالص

سازی، جلبک *S . quadricauda* در ارلن مایرهای دو لیتری با محیط کشت BBM بطور انبوه کشت داده شد. ترکیب محیط کشت BBM مورد استفاده در این تحقیق 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)، $MnCl_2$ (۱/۴۴ گرم)، $ZnSO_4$ (۸/۸۲ گرم)، MoO_3 (۰/۷۱ گرم)، $Co(NO_3)_2, 6H_2O$ (۰/۴۹ گرم)، H_3BO_4 (۱۱/۴ گرم)، KOH (۳۱ گرم)، $FeSO_4, 7H_2O$ (۴/۹۸ گرم) و EDTA (۵۰ گرم) بود که تماما در یک لیتر آب مقطر ریخته شد و pH آن قبل از اتوکلاو با استفاده از HCl ۰/۱ نرمال و NaOH ۰/۱ نرمال در ۶/۸ تنظیم گردید (Nichols, 1973).

روش انجام آزمایش

برای بررسی اثرات اکوفیزیولوژیکی تغییرات اسیدیته محیط کشت در جلبک سبز سندسموس کوادریکودا تحت تنش‌های شیمیایی سه محیط الف- تنش سختی‌آب (سطوح مختلف ۰، ۵۰، ۱۵۰و۲۰۰ میلی گرم در لیتر کلسیم کربنات)،
ب- تنش علف کش متری بوزین(سطوح مختلف ۰/۱، ۵ و۱۰ میلی گرم در لیتر) و
ج- تنش توام سختی آب و متری بوزین (سطوح ترکیبی محیط های قبلی) قرار گرفت. آزمایش با سه تکرار در ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی لیتری با استفاده از استوک خالص جلبک سندسموس کوادریکودا و محیط کشت BBM در مدت ۲۱ روز در قالب طرح کاملاً تصادفی و شرایط آزمایشگاهی(دمای ۲± ۲۲، فتوپریود ۱۲ ساعت نور : ۱۲ ساعت تاریکی و شدت نور ۸۰ میکرومول فوتون برمتر مربع بر ثانیه) انجام پذیرفت. علف کش متری‌بوزین از شرکت ژکم ساخت کشور چین با درجه خلوص ۷۰ درصد تهیه گردید که در این آزمایش به صورت ۱۰۰ درصد محاسبه و لحاظ شد.

سنجش پارامترهای اکوفیزیولوژیکی

مقادیر اسیدیته روزانه در تیمارهای مختلف بوسیله pH متر دیجیتال (Metrohm مدل ۷۴۴۰)، اندازه گیری شد. به منظور محاسبه مقادیر کلروفیل *a* و*b*، کارتنوئیدها برحسب میلی گرم در لیتر در روز پایانی، ۱۵۰ میلی لیتر از هر تیمار را با عبور از کاغذ صافی واتمن ۴۱ توسط پمپ وکیوم فیلتر و در آون در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد بمدت ۱ ساعت خشک شد. سپس هر نمونه را در لوله‌های آزمایش همراه با استون ۹۶ درصد بصورت در بسته بمدت یک شبانه روز انکوبات شد، سپس نمونه ها در سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۵ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ (Centurion Scientific Ltd)قرار داده شد. مایع رویی هر نمونه جدا و میزان جذب آن بوسیله دستگاه اسپکتوفتومتری(مدل جنوی) در طول موج های ۶۵۴، ۵۹۲،۶۱۸، ۶۶۶، ۶۴۵، ۴۷۰،۶۵۳، ۴۵۵ نانومتر قرائت شد و بر اساس رابطه زیر برای مقادیر مورد نظر محاسبه شد(Parsons *et al*., 1984).

$$\text{Chl a}=15.65A_{666}-7.34A_{653}$$
$$\text{Chl } b=27.05-11.21A_{666}$$
$$\text{Total Carotene}=1000A_{470}-2.860\text{Chl } a-129.2\text{Chl } b/245$$

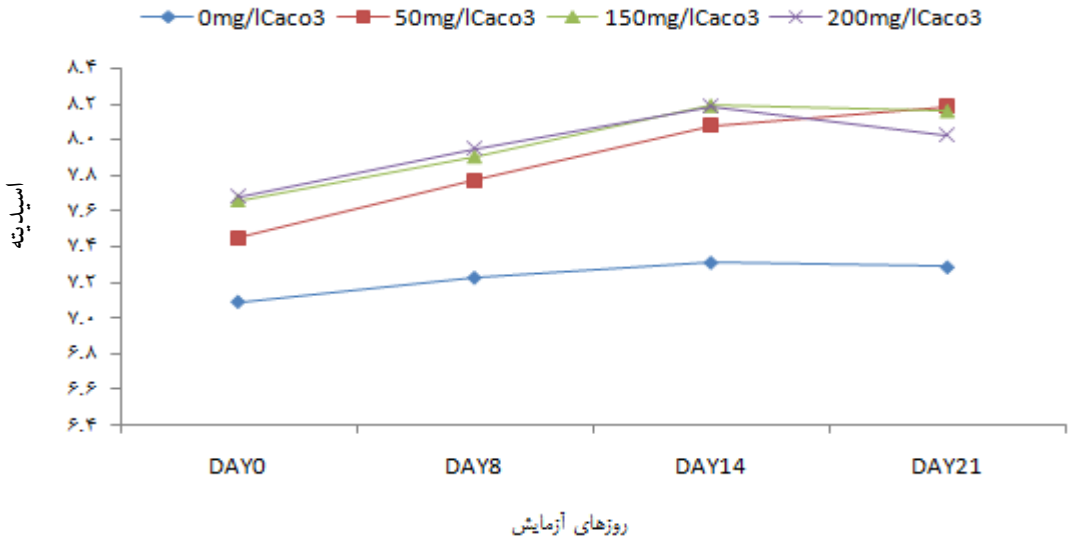
A=مقدار جذب قرائت شده

آنالیز آماری

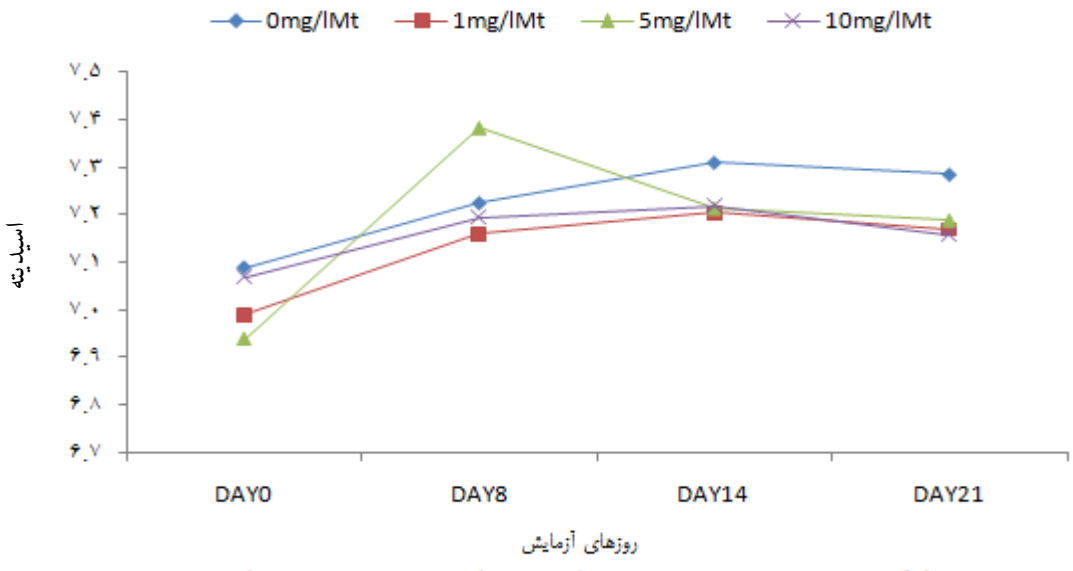
آنالیز آماری داده ها با تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) انجام شد. برای مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن درسطح معنی دار ۵ درصد استفاده شد وکلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزارآماریSPSS نسخه۱۶صورت گرفت.

نتایج

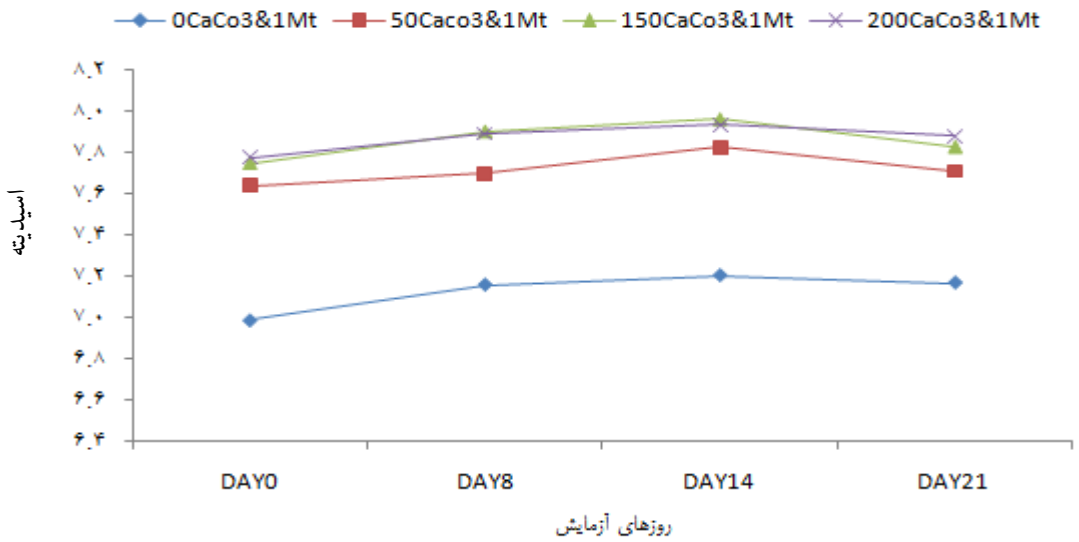
تغییرات اسیدیته (در پایان هر هفته) در سطوح مختلف تیمارهای آزمایش در شکل های (۱ الی ۵) آورده شده است. تغییرات اسیدیته در محیط الف در یک دوره۲۱ روزه حاکی از آنست که با افزایش سختی‌آب، pH افزایش پیدا کرده است، اما در هفته سوم این روند معکوس و در این بین گروه شاهد بیشترین کاهش را داشته است، در سطوح دیگر تقابل تنش سختی و اسیدیته باعث گردید این روند تاثیرکمتری داشته باشد(شکل۱). در محیط ب، با توجه به خاصیت اسیدی سموم، کمترین pH در سطح ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر علف کش متری بوزین و بیشترینpH در سطح در تیمار شاهد قابل مشاهده است(شکل۲). در محیط ج، بیشترینpH در سطح ۵میلی‌گرم بر لیتر علف کش متری بوزین ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سختی و کمترین pH در سطح ۱۰میلی گرم بر لیتر علف کش متری بوزین +۵۰ میلی گرم بر لیتر سختی قابل مشاهده است(شکل۳ الی۵).



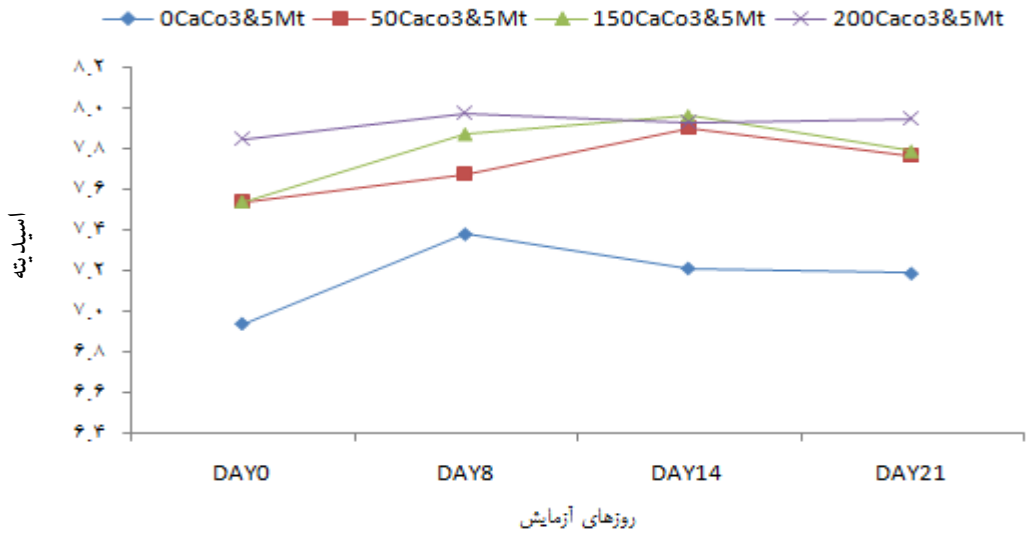
شکل۱- تغییرات اسیدیته در سطوح مختلف سختی آب- محیط الف



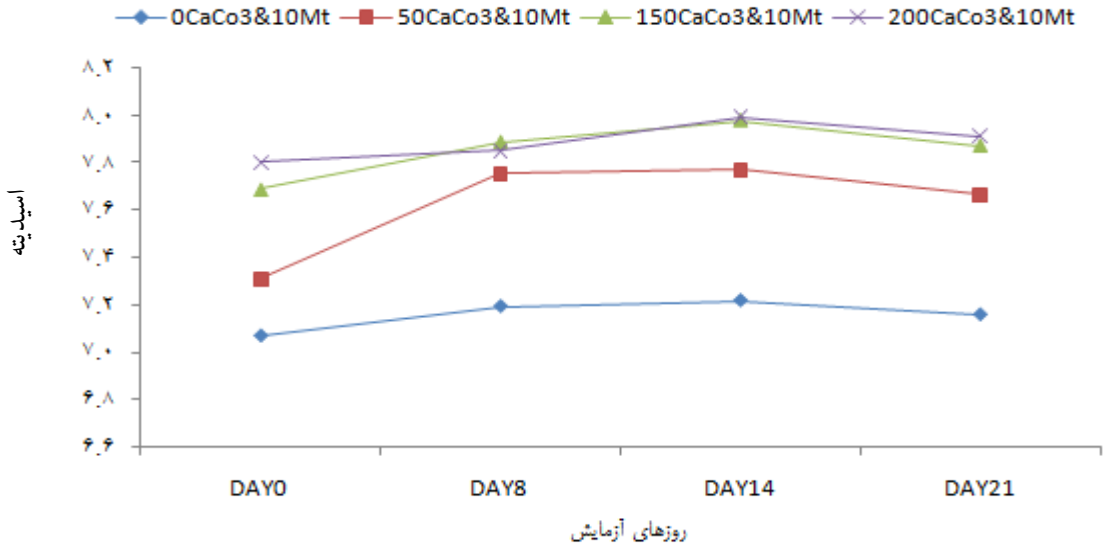
شکل۲- تغییرات اسیدیته در سطوح مختلف متری بوزین- محیط ب



شکل۳- تغییرات اسیدیته‌در سطوح مختلف سختی آب و سطح۱میلی گرم برلیترمتری بوزین- محیط ج

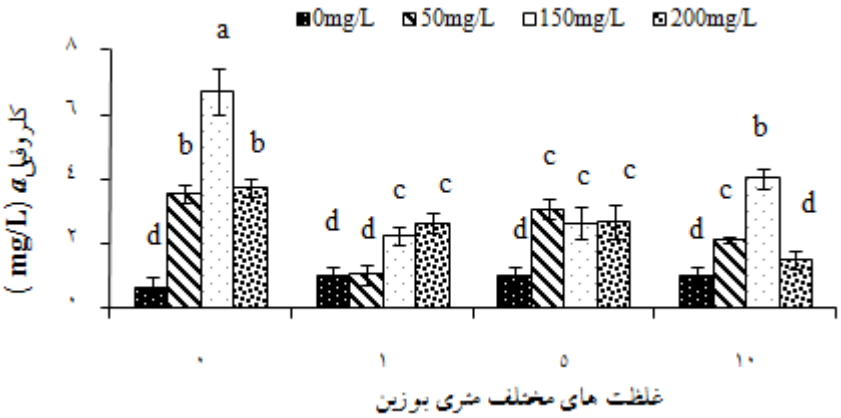


شکل۴- تغییراتاسیدیته در سطوح مختلف سختی آب و سطح۵میلی گرم برلیترمتری بوزین- محیط ج

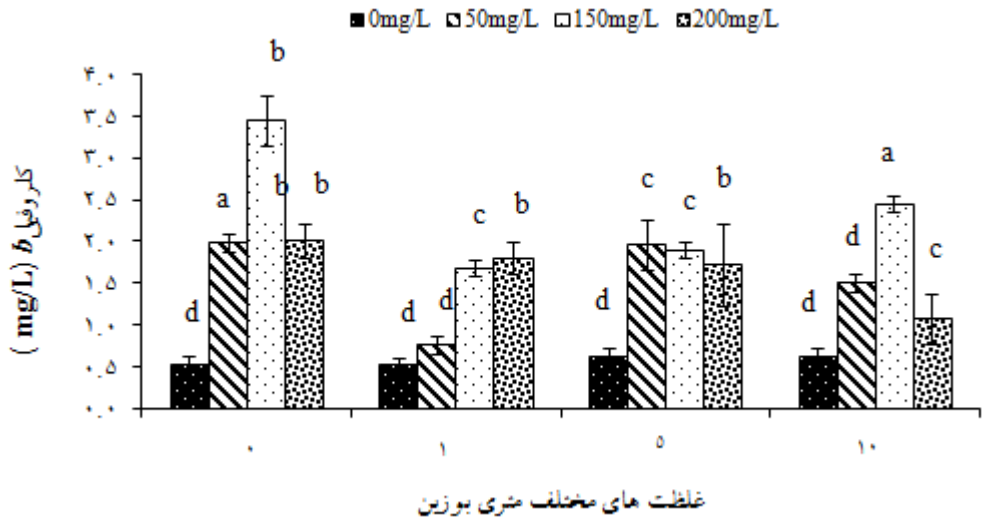


شکل۵- تغییرات اسیدیته در سطوح مختلف سختی آب و سطح ۱۰ میلی گرم بر لیترمتری بوزین- محیط ج

تغییرات مقادیر کلروفیل a وb، در تنش های مختلف شیمیایی در شکل (۶ و ۷) قابل مشاهده است. با بررسی مقادیر کلروفیل a، تیمار شاهد در مقایسه با تیمارهای هر سه محیط کمترین مقدار را دارد(۰/۶۶۴ میلی گرم بر لیتر)، سطح ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سختی بیشترین میزان کلروفیلa را در محیط الف(۶/۷۳ میلی گرم بر لیتر)، به ترتیب سطوح ۱۰ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر علف‌کش متری بوزین بیشترین مقدار کلروفیل a در محیط ب(۱/۰۱۶و۱/۰۱۲ میلی گرم بر لیتر)، به ترتیب تیمارهای ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر علف کش متری بوزین +۱۵۰ میلی گرم بر لیتر سختی و ۵ میلی‌گرم بر لیتر علف‌کش متری بوزین+۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سختی در محیط ج، بیشترین مقادیر کلروفیلa را بخود اختصاص داده اند(۴/۰۳و۳/۰۸ میلی گرم بر لیتر)، که نشان دهنده بر هم کنش بین سختی‌آب و علف کش متری بوزین می‌باشد. در رابطه با مقادیرکلروفیل b نیز همین شرایط بطور نسبی مشاهده می‌شود (شکل۴). نتایج آنالیز واریانس داده ها نیز وجود اختلاف معنی دار($P<۰/۰۵$) در برخی از تیمارها در محیط های مختلف را تایید می‌نماید.



شکل ۶- تغییرات مقادیر کلروفیلa در تنش های مختلف شیمیایی



شکل۷- تغییرات مقادیر کلروفیل b در تنش های مختلف شیمیایی

در جدول(۱) مقادیر کارتنوئید طی تغییرات اسیدیته در سطوح مختلف سختی آب و علف‌کش متری بوزین نمایش داده شده است. کمترین مقدار کارتنوئید در هر سه محیط الف، ب و ج به ترتیب شامل سطوح شاهد(۱۰۰/۷۱ میلی گرم بر لیتر)، ۱۰ میلی گرم بر لیتر علف‌کش‌متری بوزین(۹۱/۰۶ میلی گرم بر لیتر)، ۱میلی گرم بر لیتر علف‌کش متری‌بوزین ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سختی آب(۱۰۰/۰۷ میلی گرم بر لیتر) می باشد، از طرفی بیشترین مقدار کارتنوئید نیز مربوط به سطح ۱۵۰میلی‌گرم بر لیتر سختی در محیط الف(۶۲۶/۱۱ میلی گرم بر لیتر)، ۱ میلی گرم بر لیتر علف‌کش متری‌بوزین در محیط ب(۱۰۵/۲۲ میلی گرم بر لیتر)، و به ترتیب سطوح ۱۰میلی‌گرم بر لیتر علف کش متری بوزین + ۱۵۰میلی‌گرم بر لیتر سختی(۳۵۶/۲۵ میلی گرم بر لیتر) و۵ میلی‌گرم بر لیتر علف‌کش متری بوزین۵۰میلی‌گرم بر لیتر سختی آب (۲۶۷/۳۲ میلی گرم بر لیتر) می باشد.

جدول۱- مقادیر رنگدانه ها طی تغییرات اسیدیته در سطوح مختلف سختی آب و متری بوزین

تیمار	کارتنوئیدها (برحسب میلی گرم بر لیتر)
محیط الف	۰ میلی گرم بر لیتر کلسیم کربنات	۱۰۰/۷۱۸
	۵۰میلی گرم بر لیتر کلسیم کربنات	۳۴۳/۹۶
	۱۵۰میلی گرم بر لیتر بر لیتر کلسیم کربنات	۶۲۶/۱۱
	۲۰۰میلی گرم بر لیتر کلسیم کربنات	۳۵۶/۷۴
محیط ب	۰میلی گرم بر لیتر علف کش	۱۰۰/۷۱۸
	۱میلی گرم بر لیتر علف کش	۱۰۵/۲۲
	۵میلی گرم بر لیتر علف کش	۱۰۱/۵۱
	۱۰میلی گرم بر لیتر علف کش	۱۳۹/۶۰
محیط ج	۱ میلی گرم بر لیتر علف کش +۵۰ میلی گرم بر لیتر سختی	۱۰۰/۰۷۶
	۱ میلی گرم بر لیتر علف کش +۱۵۰ میلی گرم بر لیتر سختی	۲۱۸/۶۳
	۱ میلی گرم بر لیتر علف کش +۲۰۰ میلی گرم بر لیتر سختی	۲۴۸/۹۶
	۵ میلی گرم بر لیتر علف کش +۵۰ میلی گرم بر لیتر سختی	۲۶۷/۳۲
	۵ میلی گرم بر لیتر علف کش +۱۵۰ میلی گرم بر لیتر سختی	۲۱۲/۷۸
	۵ میلی گرم بر لیتر علف کش +۲۰۰ میلی گرم بر لیتر سختی	۲۰۸/۲۹
	۱۰ میلی گرم بر لیتر علف کش +۵۰ میلی گرم بر لیتر سختی	۲۱۰/۸۶
	۱۰ میلی گرم بر لیتر علف کش +۱۵۰ میلی گرم بر لیتر سختی	۳۵۶/۲۵
	۱۰ میلی گرم بر لیتر علف کش +۲۰۰ میلی گرم بر لیتر سختی	۱۳۹/۶۰

بحث و نتیجه گیری

مقایسه نتایج حاصل از تغییرات اسیدیته با مقادیر کلروفیل aوb و کارتنوئید در محیط الف حاکی از ارتباط مستقیم بین اسیدیته و مقادیر کلروفیل a وb و کارتنوئید می باشد. تغییرات اسیدیته در تنش سختی، نشاندهنده ارتباط مستقیم با افزایش سختی‌آب در محیط الف است، از طرفی برهم‌کنش سختی و اسیدیته باعث تحریک *Scenedesmus quadricauda* گردیده است بطوریکه بیشترین مقدار کارتنوئید در سطح ۱۵۰ میلی گرم کربنات کلسیم می باشد. در محیط ب، تغییرات اسیدیته در تنش علف‌کش متری بوزین، باعث گردیده کلروفیل a وb به عنوان شاخص فتوسنتز در سطوح ۱۰ و۱ میلی گرم بر لیتر علف کش متری بوزین بیشترین مقدار و در سطح۱ میلی گرم بر لیتر علف کش متری بوزین بیشترین مقدار کارتنوئید مشاهده گردد. این نتایج در واقع توانایی فتوسنتز جلبک *Scenedesmus quadricauda* را نشان می‌دهد. در مطالعه کسایی‌و همکاران(۱۳۹۱) با افزایش غلظت آلومینیوم، pH نیز افزایش داشت و تیمارهای آزمایش نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری داشتند. Rai و همکاران (۱۹۸۶) گزارش کردند غلظت کل فلزات در محلول از طریق فرم‌های‌حل‌نشدنی کربنات و یا کمپلکس هیدروکسید کاهش یافته و منجر به کاهش سمیت فلزات کمیاب می شود (Amanda *et al.*, 2002). در محیط ج، در تنش توام سختی آب و علف کش متری بوزین در مجموع نشان دهنده برهم کنش سختی آب و علف‌کش متری بوزین است، بطوریکه مقادیر کلروفیل a وb در سطح ۵ میلی گرم بر لیتر علف‌کش متری بوزین + ۲۰۰میلی گرم بر لیترسختی، بیشترین مقدار را داشته باشد. البته می توان گفت علاوه بر توانایی جلبک سندسموس، سختی هم در تحریک شدن خود جلبک برای تقسیم سلولی و فتوسنتز بی‌تاثیر نبود و همچنین تحت تاثیر تعدادی از فاکتورهای محیطی و تغذیه ای مانند دما، pH، دسترسی به منبع کربن و میزان هوادهی، میزان و شدت نور می‌باشد(پیرعلی و همکاران، ۱۳۹۳). Ma (۲۰۰۲) نیز نشان داد که تاثیر ۳۰ نوع علف کش گوناگون

برای جلبک*Scenedesmus obliquus* دامنه گسترده و تحمل بیشتری در مقایسه باجلبک *Chlorella pyrenoidosa* داشت. یافته های تحقیق حاضر نشان می دهد که مقادیر بالای‌سختی(۲۰۰ و۱۵۰میلی‌گرم در لیتر کلسیم کربنات در این مطالعه)در اکثر تیمارها سبب افزایش میزان‌کلروفیل a وb می‌شود که در واقع اثر باز دارندگی سختی بر عملکرد سم متری‌بوزین در توانایی فتوسنتز جلبک است. بررسی تغییرات اسیدیته هم ارتباط مستقیم بین میزان کلروفیل *a* و*b* را با این پارامتر نشان داد. از طرفی رشد جلبک *S. quadricauda* تا پایان هفته دوم نیز می تواند به طور متناسبی سبب افزایش pH محیط کشت در کلیه تیمارها شده باشد. به طور کلی جلبک *S. quadricauda* در محدوده ی اسیدیته ی ۷ تا ۸ بهترین عملکرد را در این سطح اسیدیته دارد. در مطالعات Wongدر سال ۲۰۰۰ در حضور غلظت‌کم علف‌کش های 2,4-D یاglyphosate باعث تحریک رشد*S. quadricauda* شد و در سختی های بیشتر (۲۰۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب برای 2,4-D وglyphosate) رشد کاملا متوقف گردید و در نتیجه کاهش یا افزایش در غلظت سم باعث تحریک یا توقف رشد جلبک شد. بنابراین از*Scenedesmus quadricauda* می توان به عنوان بیواندیکاتور مناسب برای آلاینده علف کش در محیط های آبی استفاده کرد. به طور کلی می‌توان بیان نمود که جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* گونه ای با دامنه تحمل وسیع نسبت به تغییرات محیطی مانند اسیدیته و همزمان تنش های شیمیایی سختی و علف کش متری بوزین است و با توجه به ویژگی های منحصر بفرد این جلبک می توان آن را در خودپالایی سیستم های آبی موثر دانست.

منابع

پیرعلی زفره یی، ا. ر.، فرهادیان، ا. و مولایی، ح. ۱۳۹۳. تاثیرسختی های مختلف آب بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی در ریز جلبک سبز سندسموس کواردیکودا. سومین کنفرانس ملی فیزیولوژی گیاهی- دانشگاه صنعتی اصفهان.

پیری، م.، نظامی بلوچی، ش. و اوردوگ، و. ۱۳۷۷. بررسی سموم دیازینون و مالاتیون و ماچتی و ساترن بر روی مرگ و میرماهی سفید. مجله *شیلات ایران*،۷(۴):۹-۱۹.

حیدری، ص.، فرهادیان، ا. و محبوبی صوفیانی، ن. ۱۳۹۰. اثرات سطوح مختلف نیترات وآمونیوم در محیط کشت برای رشد جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* ، *مجله منابع طبیعی ایران*،۶۴(۱): ۲۹-۴۰.

کسایی، م.، سروش نسب، ل. و ساطعی، آ. ۱۳۹۱. اثر آلومینیوم بر رشد، pH ، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، اسمولیت ها و تجمع آن در جلبک کلرلا ولگاریس(*Chlorella vulgaris*). *فصلنامه پژوهش های علوم گیاهی*،۷(۲۶):۵۹-۶۷.

Amanda, L., Charles, S.J., Markich, J. L. & Stauber, L.F. 2002.The effect of water hardness on the toxicity of uranium to a tropical freshwater alga (*Chlorella* sp.). *Aquatic Toxicology*, 60: 61–73.

Fairchild, J.F., Ruessler, D.S. & 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.

Hegewald, E. & Hanagata, N. 2002. Validation of the new combinations of Coelastrella and Neodesmus and the description of the new subfamily Desmodesmoideae of the Scenedesmaceae(Chlorophyta). *Archiv für Hydrobiologie*, Supplement 143 [*Algological Studies*] 105: 7-9.

Krauss, R.W. 1958. Physiology of the freshwater algae. *Annual Review of Plant Physiology*, 9: 207-44.

Lavens, P. & Sorgeloos, P. 1996. Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Fisheries Technical. Rome.

Lurling, M. & Roessink, I. 2006. On the way to cyanobacterial blooms: Impact of the herbicide metribuzin on the competition between a green alga (*Scenedesmus*) and a cyanobacterium (*Microcystis*). *Chemosphere*, 65:618–626.

Ma, J. 2002. Differential sensitivity to 30 herbicides among populations of two

Parsons, T.R., Maita, Y. & Lalli, C.M. 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamum Press. Oxford.

Pendersen, M.F. & Hensen, P.J. 2003. Effects of high pH on the growth and survival of six marine heterotrophic protests. *Marine Ecology Progress Series*, 260: 33–41

Weed Society of America. 1994. Herbicide Handbook. 6th ed. Champaign. IL, USA.

Wong, P.K. 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.

green alga *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa*. *Environmental Contamination and Toxicology*, 68: 275–281.

Ma, J., Lin, F., Wang, S. & Xu, L. 2004. Acute toxicity assessment of 20 herbicides to the green alga *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. *Environmental Contamination& Toxicology*, 72: 1164–1171.

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.

Study of pH Changes of Culture Medium of Green Microalgae (*Scenedesmus quadricauda*) under Chemical Stresses

Pirali Zefrei, A. R.
Dept. of Fisheries, Faculty of fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan

Abstract

Biological, chemical and physical factors influence on physiology of aquatic microalgae. Changes in these factors effect and disturb the life cycle of microalgae as well as their physiological parameters. In this study the changes of pH in the culture medium of green algae *Scenedesmus quadricauda* (Turp.)Bréb. In three different culture media under chemical stresses using herbicideMetribuzin and water hardness, was investigated. The experiment was conducted in a completely randomized design for a period of 21 days. Change in acidity of culture media A and B had direct relationship with water hardness and presence of herbicide. Results of pH changes in medium A suggest a direct correlation with the amount of chlorophyll *a*, *b* and carotenoid. According to the results of analysis of variance, there are also significant differences ($P < 0.05$) in some treatments in different media. The greatest amount of carotenoid was observed at 150 mg/L $CaCO_3$. In general, it can be said that the green algae, *Scenedesmus quadricauda* species, had high tolerance to changes in the acidity of the medium, along with chemical stresses caused by water hardness and presence of herbicide Metribuzin.

Keywords :pH, Chemical stresses, Green algae, Scenedesmus *quadricauda*, Chlorophyll *a*
*** Corresponding author: ahmadreza.pirali@gmail.com**