

## دیاتومه های اپلیتیک و نقش آن در تعیین کیفیت آب رودخانه تجن، استان مازندران

ناهید مسعودیان<sup>۱\*</sup>، فتح اله فلاحیان<sup>۲</sup>، طاهر نژاد ستاری<sup>۳</sup>، اسداله متاجی<sup>۴</sup>، رمضانعلی خاوری نژاد<sup>۵</sup>

۱. استادیار سیستماتیک گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان
۲. استاد قارچ شناسی، گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران
۳. دانشیار علوم گیاهی، گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران
۴. استادیار جنگلداری، گروه جنگلداری، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران
۵. استاد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

مکان انجام تحقیق: گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان

\* مسؤول مکاتبات: دکتر ناهید مسعودیان، دامغان، کیلومتر ۱ جاده چشمه علی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، گروه زیست شناسی، تلفن ۵۲۳۶۸۱۴-۰۲۳۲، پست الکترونیکی: n.masoudian@damghaniau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۸

تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۳

### چکیده

تجن یکی از رودخانه های منشاء گرفته از رشته کوه های البرز است. این مطالعه از فروردین تا اسفند ۸۶ انجام شد. نمونه برداری از دیاتومه های سطح سنگ ها و رسوبات رودخانه به صورت ماهیانه انجام گرفت. نمونه ها در محل توسط فرمالین ۴ درصد فیکس شدند و توسط روش پاتریک و ریمر از آنها لام تهیه شد و تشخیص گونه های دیاتومه ای توسط میکروسکوپ نوری و کلیدهای تخصصی انجام گرفت. برای مطالعه دیاتومه های اکوسیستم آبی، از روش شمارش استفاده شد، زیرا در این روش، جوامع و تغییرات مورفولوژیکی گونه ها بهتر مشخص می شود. در این تحقیق، عوامل فیزیکی-شیمیایی آب، مثل دما، اکسیژن محلول، هدایت الکتریکی، pH، اکسیژن مورد نیاز بیولوژیکی، اکسیژن مورد نیاز شیمیایی، سدیم، پتاسیم، کلر، آمونیوم، کلسیم، منیزیم، سیلیس، نترات، فسفات، سولفات و کل مواد محلول آب اندازه گیری شد. در این بررسی، ۹۵ گونه متعلق به ۲۳ جنس از دیاتومه های اپی لیت شناسایی شد. برای تفسیر اثر فاکتورهای آب روی گونه ها، آنالیزهای چند متغییره شامل TWINSpan (آنالیز دوطرفه گونه های معرف) و CCA (آنالیز تطبیقی متعارفی) روی دیاتومه های اپی لیت انجام شد. آنالیزها نشان دهنده رابطه کمی بین اجتماعات دیاتومه ای و متغیرهای محیطی هستند و می توان با استفاده از برخی تاکسون های جمعیت دیاتومه ای، تیپ های مختلف آب رودخانه ها را مورد مقایسه قرار داد.

واژه های کلیدی: دیاتومه های اپلیتیک، آنالیز دوطرفه گونه های معرف، آنالیز تطبیقی متعارفی، رودخانه تجن

### مقدمه

شرایط زودگذر و کم دوام که توسط متدهای شیمیایی اندازه گیری می شوند، منعکس می کنند (۱). دیاتومه ها به عنوان معرف های شرایط محیطی مطرح هستند و می توانند به صورت موفقیت آمیزی در روشن کردن وضعیت شرایط زیست محیطی مورد استفاده قرار گیرند (۲). دیاتومه ها جمعیت های

دیاتومه ها می توانند به عنوان معرف های خوب شرایط اکولوژیکی سطحی عمل کنند. معیارهای سنجش های زیستی برخلاف سنجش های شیمیایی، دارای فواید زیادی هستند، چرا که وابسته به اثرات محیطی اند و شرایط مشخص و پایدار را به جای

مطلوبی برای مشخص کردن کیفیت آب به شمار می‌آیند (۳).

در بسیاری از مطالعات و تحقیق‌ها با استفاده از جمعیت‌های دیاتومه‌ای اپی‌لیت، کیفیت آب‌های جاری مورد ارزیابی قرار گرفته است، بدین صورت که با ارزیابی ترکیب گونه‌ای، رابطه آن را با کیفیت آب سنجیده‌اند (۴-۱۰).

سنجش شرایط زیست محیطی می‌تواند بر اساس بررسی گونه‌ای خاص (۱۱) یا بررسی گروهی از گونه‌های معرف (۱۲، ۱۳) و یا بررسی تمامی گونه‌های دیاتومه‌ای داخل آب (۱۴، ۱۵) صورت گیرد. در کشورهای مختلف همچنین ارتباط اجتماعات دیاتومه‌ای با متغیرهای محیطی مورد بررسی قرار گرفته است که هدف مطالعه و آزمایش الگوهای گونه‌های دیاتومه‌ای در ارتباط با متغیرهای محیطی در آب جاری است. در این مطالعات از آنالیزهای TWINSpan و CCA نیز برای مشخص ساختن رابطه بین اجتماعات دیاتومه‌ای و متغیرهای محیطی استفاده شده است که می‌توان به مطالعات Descy در سال ۱۹۹۱ و Donald در سال ۲۰۰۶، Pan & Stevenson در سال ۲۰۰۰ اشاره کرد (۱۶-۱۸).

### مواد و روش‌ها

تجن یکی از رودخانه‌هایی است که در نهایت به دریای خزر می‌ریزد. این رودخانه از کوه هزار جریب و پشت کوه رشته کوه البرز سرچشمه می‌گیرد. تجن ۱۲۰ کیلومتر طول داشته و حوضه آبریز تجن در حدود ۲۰۰۰ کیلومتر مربع وسعت دارد. این حوضه آبریز در فاصله ۳۶ تا ۲۲ عرض شمالی از مدار استوا و ۳ تا ۵۳ طول شرقی از نصف‌النهار گرینویچ قرار دارد. سرشاخه‌های رودخانه تجن را سفید رود، رودخانه تجن و زارم رود تشکیل می‌دهند. رودخانه تجن از میانه شهر ساری می‌گذرد، اما قبل از ورود به شهر ساری، از مسیرهای جنگلی، روستایی و از کنار زمین‌های کشاورزی روستاییان و از کنار چندین کارخانه در ساری عبور می‌کند. رودخانه تجن در محل شهرستان ساری وارد پهنه ساحلی خزر شده و در ناحیه خزرآباد به دریای خزر می‌ریزد. در طول

رودخانه تجن ۱۰ ایستگاه برای نمونه‌برداری از دیاتومه‌های اپی‌لیت انتخاب شد. این ایستگاه‌ها تمام طول رودخانه، تقریباً از ابتدا تا محل ورود رودخانه به دریا را تحت پوشش قرار می‌دهند، معیار انتخاب این ایستگاه‌ها، فاصله تقریباً هم‌اندازه آنها با همدیگر، امکان دسترسی آسان به آن در زمان نمونه‌برداری، ارتباط آن با منابع آلوده‌کننده رودخانه و محل عبور رودخانه از مناطق مختلف جنگلی، کشاورزی، روستایی، شهری و شرایط آلوده اکولوژیک تقریباً یکسان در اطراف رودخانه است (۱۹).

نمونه‌برداری از ۱۰ ایستگاه موردنظر در طول رودخانه از فروردین ماه تا اسفند ماه ۱۳۸۶ ماهیانه در طول روز انجام گرفت. برای دیاتومه‌های اپی‌لیت یا دیاتومه‌های سطح سنگ رودخانه در هر ایستگاه در عرض رودخانه، سه سنگ انتخاب و از آنها نمونه‌برداری شد. سنگ‌ها از آب خارج و سطح مجاور سنگ با آب، توسط کاردک تراشیده شد و به داخل ظروف نمونه‌برداری منتقل گردید (۲۰). از سطحی معادل ۱۶ سانتی‌متر مربع، نمونه‌برداری در سه تکرار به عمل آمد (۲۱). نمونه‌ها در محل توسط فرمالین ۴ درصد تثبیت شدند (۲۲). سپس، محتویات سلولی دیاتومه‌ها توسط اسید کلریدریک و آب اکسیژنه (روش پاتریک و ریمر) تمیز و از آنها لام تهیه شد. مشاهده لام‌های آماده شده دیاتومه‌ها توسط میکروسکوپ نوری صورت گرفت. شناسایی و تشخیص گونه‌های دیاتومه‌ای با استفاده از کلیدهای شناسایی تخصصی صورت گرفت (۲۳-۲۵).

همزمان با نمونه‌برداری از دیاتومه‌های اپی‌لیت، یک لیتر آب از هر ایستگاه برای اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی و شیمیایی جمع‌آوری شد. دما، pH، EC، DO و T.D.S در محل نمونه‌برداری سنجیده شدند. سایر فاکتورها شامل  $\text{Na}^+$ ،  $\text{K}^+$ ،  $\text{Ca}^{2+}$ ،  $\text{Mg}^{2+}$ ،  $\text{Cl}^-$ ،  $\text{NO}_3^-$ ،  $\text{SO}_4^{2-}$ ،  $\text{PO}_4^{3-}$ ،  $\text{SiO}_2$ ، BOD (اکسیژن موردنیاز بیولوژیکی)، COD (اکسیژن موردنیاز شیمیایی) و  $\text{NH}_4^+$  پس از انتقال نمونه آب رودخانه به آزمایشگاه با استفاده از روش‌های استاندارد سنجیده شدند (۲۶).

۳ مشخص شده است. در این ۵ گروه در میزان متغیرها تفاوت زیادی وجود دارد. برای تفسیر بهتر نتایج آنالیز CCA، این آنالیز روی گونه‌ها دو بار انجام گرفت. بار اول، شامل همه ایستگاه‌ها و بار دوم، همه ایستگاه‌ها به غیر از ایستگاه‌های گروه A. زیرا با توجه به جدول ۳، متغیرهای آب در این گروه، تفاوت زیادی با سایر گروه دارد و از آن بالاتر است که این امر مانع می‌شود گونه‌ها در آنالیز CCA به خوبی از هم جدا شوند. با توجه به جدول ۴ که در رابطه با خلاصه نتایج CCA1 است. محور اول دارای مقدار ویژه ۰/۳۱۴ است و ۱۲/۶ درصد تغییرات را توجیه می‌کند و همبستگی بین این محور با متغیرها ۰/۹۸ است. محور دوم دارای مقدار ویژه ۰/۱۸ است و ۷/۲ درصد از تغییرات را توجیه می‌کند و همبستگی بین این محور با متغیرها ۰/۸۶ است. محور اول دارای همبستگی منفی با هدایت الکتریکی، TDS، پتاسیم، منیزیم، سیلیس، فسفات، سولفات و آمونیوم است و دارای همبستگی مثبت با نترات و DO است و محور دوم دارای همبستگی منفی با اسیدیته است (جدول ۶).

تصویر ۲ نمایانگر نتیجه حاصل از CCA1 است در این شکل، گونه *Achnanthes Reim. deflexa* در سمت منفی محور اول قرار گرفته است و در ایستگاه‌هایی که میزان کلر، سولفات و آمونیوم قابل توجه است حضور دارد و گونه‌های *Grun. Nitzschia Grun. و Navicula salinarum vermicularis* (Grun.)Cleve و *halophila* تا حدودی با این گونه همراه هستند.

گونه‌های *Surirella angustata* Kutz. و *Achnanthes linearis* Smith. در سمت منفی محور دوم قرار دارند و با میزان اکسیژن محلول رابطه عکس دارند. گونه *Cymbella Cleve. angustata* در سمت مثبت محور دوم قرار دارد و با میزان اکسیژن محلول رابطه مستقیم دارد.

تصویر ۳ نمودار حاصل از CCA2 را روی گونه‌ها نشان می‌دهد. با توجه به جدول ۵، محور اول دارای مقدار ویژه ۰/۲۰۸ است و ۹/۱ درصد تغییرات را توجیه می‌کند و همبستگی بین این محور با متغیرها ۰/۹۱ است. محور دوم دارای مقدار ویژه ۰/۱۶ است و

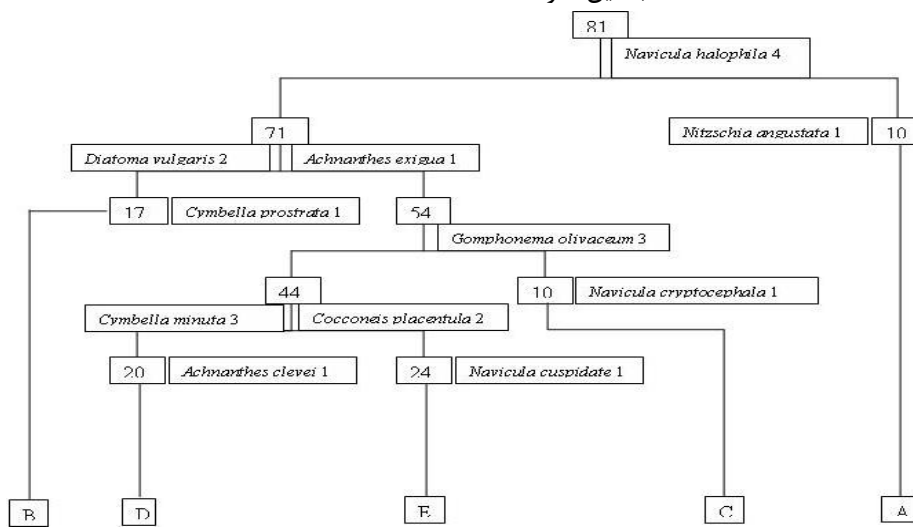
تجزیه و تحلیل اطلاعات دیاتومه‌ای مربوط به ایستگاه‌های مورد مطالعه، با نرم‌افزار PC-ORD و به روش TWINSpan انجام شد. در این روش، هر گروه از ایستگاه‌ها توسط گروهی از گونه‌های تفریقی مشخص می‌شوند. این گونه‌ها در یک جدول دوطرفه قرار می‌گیرند. در واقع، ایستگاه‌ها بر اساس وجود یا عدم وجود گونه‌ها با هم مقایسه شده و ایستگاه‌هایی که دارای تشابه بیشتری هستند در کنار هم قرار می‌گیرند (۲۷). آنالیز تطبیقی متعارفی یا CCA توسط اکولوژیست هلندی به نام Terbraak معرفی شده است (۲۸). در این آنالیز از داده‌های مربوط به ماتریس گونه‌ها در ایستگاه به همراه داده‌های ماتریس عوامل محیطی در ایستگاه استفاده می‌شود و رسته‌بندی همزمانی از گونه‌ها همراه با عوامل محیطی مربوطه، تهیه و نتایج در دیاگرامی دوپلاتی نشان داده می‌شود که تغییرات محیطی و به موازات آن، تغییرات داده‌های گونه‌ای را نشان می‌دهد. در دیاگرام دوپلاتی گونه-محیط، نقاط، ارائه‌دهنده گونه‌ها و فلش‌ها ارائه‌دهنده هر کدام از متغیرهای محیطی است که جهت فلش، تغییر عامل محیطی را در سرتاسر دیاگرام نشان می‌دهد.

## نتایج

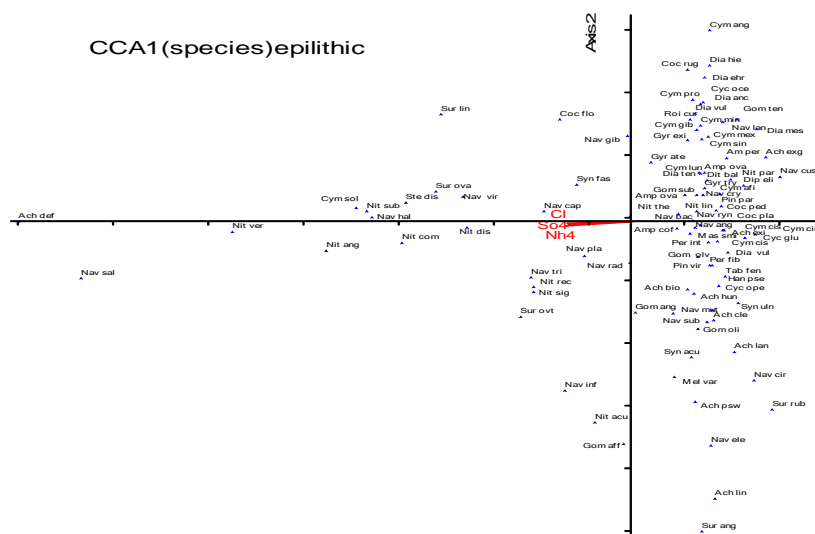
در این تحقیق، ۲۳ جنس و ۹۵ گونه متعلق به دیاتومه‌های اپی‌لیت شناسایی شد که نام جنس‌ها و تعداد گونه‌های آن در جدول ۱ مشخص شده است. با استفاده از آنالیز TWINSpan، ۸۱ ایستگاه مورد مطالعه، در قالب ۵ گروه A, B, C, D, E و تقسیم‌بندی شدند (تصویر ۱، جدول ۲). با توجه به شکل ۱ گونه معرف *Nitzschia Grun. angustata* مربوط به گروه A، گونه معرف *Cymbella (Berck.) Cleve. prostrate* مربوط به گروه B، گونه‌های معرف *Cymbella minuta* (Hilse.)Mann. و *Cocconeis placentula* Ehr. مربوط به گروه C، گونه معرف *Achnanthes clevei* Grun. و گونه معرف *Navicula* مربوط به گروه E هستند. میانگین متغیرهای آب در ۵ گروه مذکور در جدول

*Achnanthes* Grun. گونه‌های همراه هستند. گونه‌های *Surirella robusta* Ehr. و *hungarica* در سمت منفی محور دوم و یا در ایستگاه‌هایی که میزان pH بالاتر باشد حضور دارند. محور اول دارای همبستگی منفی با هدایت الکتریکی، TDS، کلر، سدیم، پتاسیم، منیزیم، فسفات، سولفات، نیتрат، دما و آمونیوم و دارای همبستگی مثبت با اسیدیته است و محور دوم، با DO همبستگی مثبت دارد.

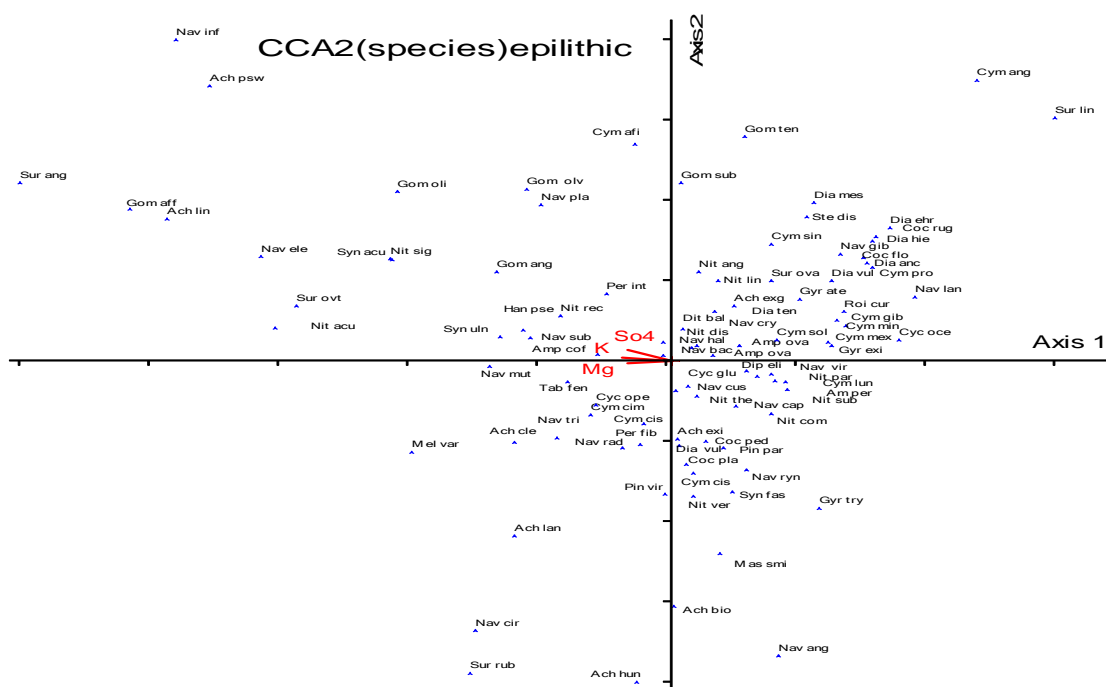
۷ درصد تغییرات را توجیه می‌کند و همبستگی بین این محور با متغیرها ۰/۸۴ است. محور اول دارای همبستگی منفی با هدایت الکتریکی، TDS، پتاسیم، منیزیم، سیلیس، فسفات، سولفات و آمونیوم و دارای همبستگی مثبت با نیترات و DO است و محور دوم، با اسیدیته همبستگی منفی دارد (جدول ۷). در این تصویر، گونه *Surirella angustata* Kutz. در سمت منفی محور اول قرار دارند و در ایستگاه‌هایی که پتاسیم، منیزیم و سولفات بالاست، حضور دارند و گونه‌های *Gomphonema affine* Kutz. و *Achnanthes linearis* Smith. با این گونه



تصویر ۱- نمودار طبقه‌بندی ایستگاه مورد مطالعه بر اساس نتایج TWINSpan



تصویر ۲- نمودار حاصل از CCA1.



تصویر ۳- نمودار حاصل از CCA2.

جدول ۱- جنس های اپی لیٹیک و تعداد گونه های آنها.

جنس ها ( به ترتیب تعداد گونه ها)	تعداد گونه ها
	۱۹
<i>Navicula</i> Bory	۱۱
<i>Nitzschia</i> Hassal	۱۰
<i>Cymbella</i> Agardh	۹
<i>Achnanthes</i> Grun	۶
<i>Diatoma</i> Ehr	۶
<i>Gomphonema</i> Kutz	۵
<i>Gyrosigma</i> Hassal	۵
<i>Surirella</i> Turpin	۵
<i>Cocconeis</i> Ehr	۴
<i>Synedra</i> Ehr	۳
<i>Cyclotella</i> (Kutz.) Breb	۳
<i>Amphora</i> Ehr	۳
<i>Peronia</i> Part	۳
<i>Pinullaria</i> Ehr	۲
<i>Diploneis</i> Kutz	۲
<i>Cymatopleura</i> W.Sm	۲
<i>Melosira</i> Hust	۱
<i>Mastoglogia</i> Thw	۱
<i>Hantzschia</i> Kutz	۱
<i>Tabellaria</i> Ehr	۱
<i>Roicosphenia</i> Grun	۱
<i>Fragillaria</i> Lyn	۱
<i>Stephanodiscus</i> Ehr	۱



جدول ۳- میانگین متغیرهای آب برای ۵ گروه A, B, C, D, E و

So4	PO <sub>4</sub>	Sio2	Cl	Mg	Ca	K	Na	TDs	pH	EC	
۳۷۴/۶۸	۰/۱۳۶	۱۲/۲۴	۳۰۶/۶۲	۵۸/۶۵	۹۵/۵	۱۹/۷۹	۲۶۷/۳۵	۲۶۲۶/۶	۷/۴۹	۲۹۵۰/۶	A
۸۴/۳۱	۰/۰۴۹	۹/۵	۳۳/۵۴	۲۶/۸۶	۶۸/۵۲	۲/۹۸۷	۲۵/۰۴	۳۱۴/۸۲	۷/۳۱۷	۶۴۱/۰۵	B
۱۳۱/۰۹	۰/۰۶۴	۱۰/۵۲	۷۹/۷۴	۴۶/۰۹	۸۰/۰۴	۸/۱۵	۶۶/۷	۴۰۳	۷/۷۷۶	۸۱۸	C
۷۴/۹۷	۰/۰۵۳	۹/۷۵	۶۲/۹۹	۳۳/۴	۶۰/۷۵	۴/۰۰۶	۴۷/۵۸	۳۳۰	۷/۸۰۲	۶۸۰/۸۵	D
۸۴/۴۶	۰/۰۴۵	۹/۵۵	۳۵/۲۹	۳۴/۸۹	۶۹/۸۵	۴/۷۵	۲۶/۶۵	۳۴۶/۳	۷/۸۰۸	۶۹۵/۳۷	E

جدول ۴- خلاصه نتایج CCA1

	Axis 1	Axis 2	Axis 3
Eigenvalue	0.314	0.179	0.114
Variance in species data			
% of variance explained	12.6	7.2	4.5
Cumulative % explained	12.6	19.7	24.3
Pearson Correlation, Spp-Envt*	0.978	0.859	0.865

جدول ۵- خلاصه نتایج CCA2

	Axis 1	Axis 2	Axis 3
Eigenvalue	0.208	0.159	0.111
Variance in species data			
% of variance explained	9.1	7.0	4.8
Cumulative % explained	9.1	16.1	20.9
Pearson Correlation, Spp-Envt*	0.919	0.848	0.864

جدول ۶- میزان همبستگی محورها با متغیرهای آب در CCA1

	متغیرهای آب	محور اول	محور دوم	محور سوم
1	EC	-0.917	-0.087	-0.006
2	pH	0.345	0.37	0.094
3	TDS	-0.898	0.052	0.002
4	Na	-0.923	-0.100	0.154
5	K	-0.897	-0.258	0.112
6	Ca	-0.644	-0.355	-0.090
7	Mg	-0.662	-0.476	0.088
8	Cl	-0.929	-0.088	0.143
9	SiO <sub>2</sub>	-0.444	-0.221	0.066
10	PO <sub>4</sub>	-0.470	-0.102	-0.011
11	SO <sub>4</sub>	-0.950	-0.143	0.049
12	NO <sub>3</sub>	-0.678	0.107	-0.0138
13	DO	0.220	0.229	-0.120
14	BOD	-0.274	-0.384	-0.470
15	COD	-0.088	-0.292	-0.428
16	TEMP	-0.284	-0.083	0.020
17	NH <sub>4</sub>	-0.940	-0.059	0.009

جدول ۷- میزان همبستگی محورها با متغیرهای آب در CCA2.

	متغیر های آب	محور اول	محور دوم	محور سوم
1	EC	-0.675	-0.106	0.064
2	pH	0.015	-0.076	0.050
3	TDS	-0.655	-0.182	0.175
4	Na	-0.295	0.202	-0.369
5	K	-0.873	0.100	-0.052
6	Ca	-0.462	0.021	0.573
7	Mg	-0.712	-0.042	0.021
8	Cl	-0.324	0.266	-0.411
9	SiO <sub>2</sub>	-0.294	-0.87	-0.228
10	PO <sub>4</sub>	-0.123	-0.88	-0.044
11	SO <sub>4</sub>	-0.715	0.264	0.337
12	NO <sub>3</sub>	0.237	-0.149	0.006
13	DO	0.237	0.014	0.185
14	BOD	-0.322	-0.318	0.456
15	COD	-0.216	-0.327	0.423
16	TEMP	-0.091	0.122	0.373
17	NH <sub>4</sub>	-0.654	0.156	0.136

### بحث

*Navicula cuspidata* گونه‌های شاخص گروه D و E یا بخش‌های میانی رودخانه هستند که در این ایستگاه‌ها با افزایش آلودگی میزان BOD و COD افزایش می‌یابد، پس این دو گونه، شاخص نقاط آلوده رودخانه است. این دو گونه برای نقاطی از رودخانه با آلودگی بالا در مطالعات Atici و همکارانش در سال ۲۰۰۸ گزارش شده اند (۳). بر اساس این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که آنالیزها نشان‌دهنده رابطه‌ای کمی، بین اجتماعات دیاتومه‌ای و متغیرهای محیطی هستند و می‌توان با استفاده از برخی تاکسون‌های جمعیت دیاتومه‌ای، تیپ‌های مختلف آب رودخانه‌ها را مورد مقایسه قرار داد. ساختار جمعیت دیاتومه‌ای و حساسیت خاص برخی از گونه‌ها می‌تواند در ارتباط با درجه کیفیت آب باشد. فراوانی برخی از گونه‌های دیاتومه‌ای خاص می‌تواند به عنوان معرف‌های زیستی برای آلودگی‌ها و آشفتگی‌های آب‌ها مورد استفاده قرار گیرد. گسترش متدهای بیولوژیکی در تشریح آلودگی آب جاری، یکی از اهداف مهم در تحقیقات دیاتومه‌ای در چند سال گذشته بوده است. تغییرات کیفیت آب در طول رودخانه تجن در طی این مطالعه مشاهده شد، که این تغییرات روی ترکیب جمعیتی دیاتومه‌های اپی‌لیت تاثیرگذار بوده است، به طوری که تغییر ساختار جمعیت و فراوانی گونه‌ای، به‌عنوان یک

جنس‌های *Navicula Bory*، *Nitzschia*، *Achnanthes*، *Cymbella* Agardh، *Hassal*، *Gomphonema* و *Diatoma Ehr*، *Grun*، *Kutz* به ترتیب با داشتن ۱۹، ۱۱، ۱۱، ۹، ۶ و ۶ گونه، حضور بیشتری در ایستگاه‌های مختلف نسبت به سایر جنس‌ها داشتند در بررسی‌های فلوریستیکی انجام شده در رودخانه‌های دنیا چنین وضعیتی مشاهده شده است (۲۹-۲۷).

با توجه به نتایج، گونه شاخص اپی‌لیت گروه A، *Nitzschia angustata* است، گروه A شامل ایستگاه‌هایی است که دارای املاح و شوری بالا هستند و این نتایج، همسو با نتایجی است که اظهار می‌دارند گونه‌های جنس *Nitzschia Hassal* در آبی با میزان املاح و نمک بالا غالب هستند (۲۸). گونه شاخص اپی‌لیت گروه B، *Cymbella prostrata* است این گونه در ایستگاهی با آلودگی کشاورزی و صنعتی، افزایش می‌یابد. نتایج به‌دست آمده توسط محققان در سال ۲۰۰۶ این امر را تأیید می‌کند (۸). گونه *Navicula cryptocephala* گونه شاخص گروه C است. این امر مطابق با نتایجی است که بیان می‌دارد، این گونه در مناطقی از رودخانه که آلوده باشد، افزایش قابل‌توجهی دارد (۱۶). گونه‌های *Achnanthes clevei* و



### تقدیر و تشکر

بدین وسیله از زحمات بی‌شائبه جناب آقای مهندس محمد نادرپور به دلیل مساعدت در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

معرف در توصیف تغییرات عناصر آب مورد استفاده قرار گرفت. در پایان پیشنهاد می‌شود که چون روی رودخانه تجن همانند اکثر رودخانه‌های دائمی سد ساخته شده است، این مطالعه در مورد دیاتومه‌های موجود در دریاچه پشت سد هم صورت گیرد.

### منابع مورد استفاده

1. جمالو، ف. ۱۳۸۴. فلور دیاتومه ای رودخانه جاجرود، رساله دکتری، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی.
2. APHA. 1985. Standard methods for the examination of water and wastewater. 16<sup>th</sup>ed. Portcity press. Baltimore, Maryland. Pp. 1268.
3. Atici, T., Ahiska, S., Altinda, A., Aydin, D., 2008. Ecological effects of some heavy metals (Cd, Pb, Hg, Cr) pollution of phytoplanktonic algae and zooplanktonic organisms in Sarlyar Dam Reservoir in Turkey. African Journal of Biotechnology 7: 1972-1977.
4. Bate, G., Smailes, P., Adans, J., 2004. A water quality index for use with diatoms in the assessment of rivers. Water S A 40: 493-502.
5. Cholnoky, B. J., 1970. Bacillariophyceae from the Bangweulu Swamps Cercle Hydrobiologique de Bruxelles, Brussels.
6. Cox, E. J., 1991. What is the basis for using diatoms as monitors of river quality? In: Whitton BA, Rott E and Friedrich G (eds.) Use of algae for monitoring rivers. Institut für Botanik, Universität in Innsbruck. Pp. 33.
7. Descy, J. P., Coste, M., 1991. A test of methods for assessing water quality based on diatoms. Verhandlung Internationale Vereinigung de Limnologie 24: 2112-2116.
8. Donald, F., 2006. Large-scale regional variation in diatom-water chemistry-relationships: rivers of the eastern United States. Hydrobiologia 561: 27-57.
9. Hill, M. O., 1979. TWINSpan A FORTRAN program for arranging multivariate data in an ordered two-way table by classification of the individuals and attributes. Section of Ecology and Systematics. Cornell University, Ithaca, New York, USA.
10. Hustedt, F., 1976. Kieselagen (Diatomeen). Kosmos, Stuttgart. Pp. 70.
11. Juttner, I., Rothfritz, H., Ormerod, S. J., 1996. Diatoms as indicators of rivers water quality in the Nepalese Middle Hills with consideration of the effects of habitats-species sampling. Freshwater Biol 36: 475-486.
12. Kelly, M. G., Whitton, B. A., 1995. The Trophic Diatom Index: a new index for monitoring eutrophication in rivers. J Appl Phycol 7: 433-444.
13. Kelly, M. G., 1998. Recommendations for the routine sampling of diatoms for water assessments in Europe. Journal of Applied Phycology 10: 215-224.
14. Krammer, K., Lange-Bertalot, H., 1985. Naviculaceae Neue und weing bekannet Taxa, neue Kombination und Synonyme sowie Bemerkungen zu einigen Gattungen. Bibliotheca Diatomologia 9: 230-235.
15. Lowe, R. L., Pan, Y. D., 1996. Benthic Algal Communities as Biological Monitors. in: R. J. Stevenson, M. L. Bothwell and R. L. Lowe (eds.), Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystem, Academic Press Inc., San Diego. pp. 705-739.
16. Ndiritu G. G., Gichuki N. N., Kaur P., Triest L., 2003. Characterization of environmental gradients using physico-chemical measurements and diatom densities in Nairobi River, Kenya. Aquat Ecosyst Health Manage 6: 343-354.
17. Pan, Y., Stevenson, R. J., 2000. Spatial pattern and determinants of

- benthic algal assemblages in mid-atlantic stream USA. *J Phycol* 35: 460-468.
18. Patick, R., Reimer, C. W., 1966. The diatoms of the United States second printing, printing in United States of America, pp. 673.
  19. Patrick, R., 1977. Ecology of fresh water diatoms and diatom communities. In: Werner, D. (ed) *The biology diatoms*. Botanical Monographs 13: 284-332.
  20. Round, F. E., 1991. Use of diatoms for monitoring rivers. In: Whitton, B. A. E., Rott G., Friedrich (eds), *Use of Algae for Monitoring Rivers* Düsseldorf: 25-32.
  21. Raschke R. L., 1993. Diatom (Bacillariophyta) community response to phosphorus in Everglades National Park, USA. *J Phycol* 32: 48-58.
  22. Sahin. B., 2002. Epipellic and epilithic algae of Yedigoller lakes (Erzurum-Turkey). *Turk J Biol* 26: 221-228.
  23. Salmoni, S. E., 2006. Epilithic diatoms as indicators of water quality in the Gravata river Rio Grande do sul, Brazil. *Hydrobiologia* 559: 233-246.
  24. Schoeman, F. R., 1976. Diatom indicator groups in the assessment of water quality in the Jukskei-Crocodile River System (Transvaal, Republic of South Africa). *J Limnol Soc South Afr* 2: 21-24.
  25. Stevenson, R. J., 1984. Epilithic and epipellic diatoms in the Sandusky River, with emphasis on species diversity and water quality. *Hydrobiologia* 114: 161-175.
  26. TerBraak, C. J. F., 1986. Canonical Correspondence Analysis: A new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology* 67: 1167-1179.
  27. Trotter, D. M., Hendricks, A. C., 1979. Attached, filamentous algal communities. In: *Methods and measurements of periphyton communities: a review*. ASTM STP 690 (ED. Weitzel, R. L.) American society for testing and materials 58-69.
  28. Valentina, V., William, M., 1999. Temporal and altitudinal variations in the attached algae of Mountain stream in Colorado. *Hydrobiologia* 390: 99-106.

## بررسی سمیت مس بر رشد و تحمل گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus L.*) رقم های سان-۳۳

حمید نورانی آزاد<sup>۱\*</sup>، داریوش چوبینه<sup>۲</sup>، محمدرضاحاجی باقری<sup>۳</sup>، فرشید کفیل زاده<sup>۴</sup>

۱. مربی فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران
۲. مربی زیست شناسی سلولی، گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران
۳. کارشناس ارشد باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی، استهبان، ایران
۴. استادیار زیست شناسی دریا، گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران

محل انجام تحقیق: گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی جهرم، ایران

\*مسئول مکاتبات: حمید نورانی آزاد، جهرم، میدان شهید چمران، بلوار رضوان، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست شناسی، پست الکترونیکی: noorani@jia.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۸۹/۴/۱۳

تاریخ دریافت: ۸۸/۹/۲۴

### چکیده

مس که یکی از عناصر کم مصرف ضروری برای رشد و نمو طبیعی گیاهان محسوب می شود، یکی از فلزات سنگین است که مقدار زیاد آن در اکثر گیاهان ایجاد مسمومیت می کند. در این تحقیق، اثرات سمیت مس بر رشد و تحمل گیاه آفتابگردان رقم های سان ۳۳ بررسی شد. آزمایش در شرایط هیدروپونیک انجام شد. تیمارهای صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار سولفات مس با چهار تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی به مدت ۲۱ روز بر روی گیاهان اعمال گردید. تحت تنش سمیت مس، مقادیر وزن خشک اندام های هوایی و ریشه، کلروفیل های a و b و کارتنوئیدهای برگ، قندهای محلول و نشاسته در ریشه و اندام های هوایی، میزان مالون دی آلدئید و پراکسیداز برگ ها و تجمع مس در ریشه و اندام های هوایی اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت مس، وزن خشک ریشه نسبت به شاهد، کاهش معنی دار یافت. کاهش وزن خشک اندام های هوایی در دو تیمار ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار نسبت به شاهد، معنی دار بود. کلروفیل a و b برگ ها به جز در تیمار ۲۵ میکرومولار نسبت به شاهد، کاهش معنی دار داشت. کاهش کارتنوئید برگ ها در دو تیمار ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار در معنی دار بود. قندهای محلول ریشه و اندام های هوایی نسبت به شاهد، افزایش معنی داری یافت. کاهش نشاسته در اندام های هوایی، متناسب با شدت تنش در محیط رشد، معنی دار بود. در حالی که کاهش آن در ریشه تنها در دو تیمار ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار مس در مقایسه با شاهد، معنی دار بود. میزان مس در ریشه و اندام های هوایی با افزایش غلظت آن در محیط، افزایش معنی دار یافت و تجمع آن در ریشه، بیشتر از اندام های هوایی بود. افزایش مالون دی آلدئید برگ ها، همراه با افزایش مس، معنی دار بود. افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ ها همراه با شدت تنش در محیط رشد به جز در تیمار ۲۵ میکرومولار، نسبت به شاهد معنی دار بود. انباشتگی مس در ریشه ها، فعال شدن دفاع ضد اکسیدانی و افزایش قندهای محلول در اندام های گیاه می تواند از ساز و کارهای تحمل به سمیت مس باشد.

واژه های کلیدی: تحمل سمیت مس، کلروفیل، پراکسیداز، آفتابگردان

### مقدمه

گیاه به دلیل سازگاری وسیع و دارا بودن بیشترین مقدار روغن دانه (۴۰ تا ۵۰ درصد) به عنوان مهم ترین

آفتابگردان (*Helianthus annuus L.*) نقش مهمی در تامین روغن نباتی مورد نیاز کشور دارد. این

بیشتر از اندام‌های هوایی متاثر می‌سازد؛ زیرا بخش زیادی از آن در ساختار دیواره سلولوی یا در فضای بین غشا و دیواره سلولوی ریشه تجمع می‌یابد و ایجاد سمیت می‌کند. مکانیسم‌های تحمل سمیت مس در گیاهان عالی، شامل اجتناب از مس و یا محدود کردن جذب آن، غیرمتحرک کردن در دیواره سلولوی و نگهداری آن در مکان‌هایی، از سلول به صورت ترکیبات پیچیده محلول است (۴). مطالعات فیزیولوژیک زیادی به منظور یافتن گونه‌های گیاهی با ویژگی تحمل و انباشته‌گری عناصر فلزی سنگین و بررسی ساز و کارهای فیزیولوژیک تحمل این عناصر انجام شده است (۹،۸). احتمال می‌رود در بین ارقام مختلف گیاهی، نمونه‌های جالب‌توجهی از پاسخ گیاهان و روش‌های فیزیولوژیک به کار رفته به عنصر مس یافت شود. از این رو، بررسی برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و میزان تحمل ناشی از افزایش این فلز سنگین حایز اهمیت است. بدین ترتیب، مطالعه حاضر، با هدف اثر سمیت افزایش مس بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک، تغییر در میزان برخی ترکیبات شیمیایی و میزان تحمل یک رقم از گیاهک‌های آفتابگردان در محیط کشت هیدروپونیک و در شرایط اتاق رشد، انجام شده است.

## مواد و روش‌ها

### کشت دانه‌ها

بذرهای سالم گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) رقم‌های سان ۳۳ (Hisun-33) از موسسه کشت و توسعه دانه‌های روغنی سازمان تحقیقات کشاورزی فارس تهیه گردید و پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم تجاری ۲۰ درصد، به مدت ۵ دقیقه به کمک آب مقطر سترون شستشو داده شد. بذرهای ضدعفونی شده جهت کشت جوانه‌زنی، به محیط کشت ماسه‌ای سترون به مدت یک هفته منتقل گردید. آبیاری آن‌ها به کمک آب مقطر انجام شد. از هفته دوم به بعد، آبیاری به کمک محلول غذایی هوگلند ۰/۵ درجه به مدت دو هفته صورت گرفت. پس از این مدت، گیاهک‌های مشابه و یکسان، از محیط ماسه، جدا و به ظروف دارای

محصول دانه روغنی مطرح است و کیفیت روغن دانه آن نیز بالاست (۱). فلزات سنگین، از جمله منابع آلاینده خاک هستند که در صورت تجمع در خاک و جذب به وسیله گیاه، به زنجیره غذایی وارد می‌شوند و مسمومیت‌هایی را در گیاهان و یا افراد تغذیه کننده از آن‌ها ایجاد می‌کنند (۲). مهم‌ترین منابع فلزات سنگین در خاک، سنگ‌های مادری یا رخنمون‌های سنگی مربوط به دوران‌های زمین‌شناسی است. از دیگر منابع آلودگی فلزات سنگین در خاک، فعالیت‌های صنعتی، مانند استخراج و تصفیه سنگ‌های معدنی، آبکاری فلزات، تولید سوخت و انرژی و کاربرد آفت‌کش‌ها و کودها است (۳). تعدادی از فلزات سنگین، از جمله مس برای رشد و نمو طبیعی گیاهان ضروری هستند. با این حال، غلظت بالای آن‌ها در خاک می‌تواند باعث ایجاد علائم سمیت و بازدارندگی رشد در گیاه گردد (۴). آثار سمی فلزات سنگین در گیاهان، ناشی از تولید انواع مختلف اکسیژن فعال، مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل است. این اشکال مختلف اکسیژن فعال معمولاً با ایجاد و آسیب‌های غشایی، فرایندهای مختلف سلولوی را دچار اختلال می‌کنند (۵). مس فلزی است که در غلظت‌های بالا موجب بروز تنش اکسیداتیو می‌شود. یکی از علائم آثار سمی این فلز در گیاه، پراکسیده شدن لیپیدهای غشایی است که موجب تغییر ساختار غشای سلولوی و بازدارندگی رشد گیاه می‌شود. از نشانه‌های پراکسیده شدن لیپیدهای غشایی، تشکیل مالون دی‌آلدئید (MDA) است که یکی از فرآورده‌های حاصل از تجزیه اسیدهای چرب اشباع شده است (۶). سلول‌های گیاهی برای حفاظت در مقابل تنش‌های اکسیداتیو، مجهز به یک سیستم جاروب کننده رادیکال‌های آزادند که این آنزیم‌هایی مانند کاتالاز و پراکسیداز، را شامل می‌شود (۷). گزارش شده است که سمیت مس، موجب بازدارندگی تعداد زیادی از آنزیم‌ها شده و در فرایندهای حیاتی گیاه، از جمله فتوسنتز، ساخت رنگیزه‌های گیاهی و تمامیت غشا مداخله می‌کند. علاوه بر این، سمیت مس، معمولاً رشد ریشه را

محلول غذایی هوگلند منتقل شد. در هر ظرف، یک لیتر محلول غذایی و ۶ گیاه قرار داده شد.

### تیمارهای مس

تیمارهای مس در مقادیر صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار با افزودن سولفات مس به محلول غذایی هوگلند ۰/۵ درجه اعمال گردید. برای هر تیمار، چهار تکرار در نظر گرفته شد. pH محلول غذایی روی ۷/۵ تنظیم گردید. تمام مطالعات، در شرایط اتاق رشد با دمای روز/شب ۱۸/۲۶ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۷۰-۶۵ درصد، دوره روشنایی و تاریکی ۱۸ و ۶ ساعت و شدت نور ۷۰۰۰ لوکس انجام شد. هوادهی گیاهک‌ها روزانه به مدت ۲ ساعت و تجدید محلول‌های غذایی، هفته‌ای دوبار صورت گرفت. تبخیر روزانه آب محیط با افزودن آب مقطر به محیط کشت جبران گردید. پس از گذشت ۳ هفته از اعمال دوره تنش، گیاهک‌های باقی‌مانده از محلول‌های غذایی خارج شد. ریشه و اندام‌های هوایی کلیه نمونه‌ها از یکدیگر جدا و با آب مقطر بدون یون شسته شدند. نمونه‌های مورد استفاده برای تعیین رشد گیاهی، در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردیدند و وزن خشک آن‌ها به کمک ترازوی دیجیتال با دقت  $\pm 0.001$  گرم اندازه‌گیری شد و مواد تازه گیاهی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پس از قرار گرفتن در نیتروژن مایع در ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

### اندازه‌گیری مالون دی آلدئید (MDA)

میزان پراکسیداسیون لیپیدها با تعیین مقدار مالون دی آلدئید به وسیله تست TBA و با استفاده از ضریب تصحیح  $1 \text{ mM}^{-1} \text{ CM}^{-1}$  ۱۵۵ صورت گرفت (۱۰).

### اندازه‌گیری قندهای محلول و نشاسته در اندام‌های هوایی و ریشه

میزان قندهای محلول و نشاسته، با استفاده از روش فنل اسیدسولفوریک (۱۱) اندازه‌گیری شد. در این روش، به ۰/۱ گرم از ماده خشک اندام‌های گیاهی

به‌طور جداگانه ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه شد و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شد تا قندهای محلول آن آزاد شود. سپس از محلول رویی برای اندام‌های هوایی به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر و برای ریشه، یک میلی‌لیتر برداشته و با آب مقطر، حجم آنها به ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از اضافه کردن ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ، میزان جذب به کمک اسپکتروفتومتر Shimadzu-uv-160A در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد و در پایان آزمایش، میزان قند نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز محاسبه شد. برای اندازه‌گیری نشاسته، محلول اتانول محتوی نمونه‌های گیاهی که در آزمایش قبل استفاده شده بود، صاف و از رسوب خشک شده آن برای اندازه‌گیری نشاسته استفاده گردید. در پایان این آزمایش به روش فنل-اسیدسولفوریک در طول موج ۴۸۵ نانومتر مقدار جذب را خوانده و با استفاده از منحنی استاندارد و معادله به دست آمده برای قندهای محلول، قندهای نامحلول آن اندازه‌گیری شد.

### استخراج و سنجش آنزیمی

از بافت‌های تازه گیاه جهت استخراج آنزیم استفاده شد. بافت‌ها در هاون و با بافر پتاسیم فسفات  $\text{Na}_2\text{EDTA } 0.1\text{mM}$  (pH7 100mM) ،  $0.2\text{mM}$  اسکوربیک اسید و یک درصد پلی وینیل پلی پیرولیدون در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد همگن گردید و سپس با سانتریفوژ مدل Hermle-Z200A-Germany در  $12000 \text{ g}$  به مدت یک ساعت سانتریفوژ شدند (۱۲). سنجش‌های آنزیمی در مایع رویی به کمک اسپکتروفتومتر و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. مقدار پروتئین نمونه‌ها با روش براد فورد، (۱۳) اندازه‌گیری شد.

برای سنجش آنزیم پراکسیداز، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز اندازه‌گیری شد. محیط واکنش آنزیم، شامل بافر فسفات پتاسیم (50mM pH7) ،  $0.1\text{mM}$   $\text{Na}_2\text{EDTA}$  ، 5mM پراکسید هیدروژن و 30mM گایاکول بود. واکنش با اضافه کردن مقدار مناسب عصاره آنزیمی در حجم

نهایی سه میلی لیتر مخلوط آغاز گردید. افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر ثبت شد (۱۴).

تحلیل شد. نتایج داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SAS Ver.9 بررسی گردید.

### سنجش میزان مس در اندام‌های هوایی و ریشه

برای سنجش میزان مس در برگ و ریشه، از روش جذب اتمی استفاده شد. مقدار ۰/۵ گرم از ماده خشک گیاه در ۱۰ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و به خوبی هضم شد. سپس محلول اسیدی گرم شد تا بخارات آن خارج شود. در مرحله بعد، حجم محلول به ۵۰ میلی لیتر رسانده شد و به کمک کاغذ صافی، صاف گردید. میزان مس محلول، به کمک دستگاه جذب اتمی واریان مدل spectr AA 220 اندازه‌گیری شد. جهت تعیین غلظت یون، محلول استاندارد، قبل از سنجش نمونه به دستگاه تزریق گردید و نمودار استاندارد آن رسم شد و غلظت مجهول محلول به کمک نرم‌افزار دستگاه Spectr AA تعیین شد (۱۵).

### نتایج

در گیاهک‌های تحت تیمار سولفات مس، علائم سمیت به صورت کلروز در برگ‌ها، به ویژه در تیمارهای ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار دیده شد. وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه گیاهک‌ها همراه با افزایش مقادیر مس در محیط رشد، کاهش معنی‌دار نشان داد. بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد، میانگین کاهش رشد در اندام‌های هوایی را در غلظت‌های ۷۵ و ۱۰۰ میکرومول مس در مقایسه با شاهد، معنی‌دار بود. متوسط کاهش وزن خشک ریشه نیز بین شاهد و کلیه تیمارها معنی‌دار بود (جدول‌های ۱ و ۲). نتایج حاصل از اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی پس از اعمال تیمارهای مختلف مس، کاهش آن‌ها را نشان داد. بر اساس تجزیه واریانس در سطح احتمال یک درصد، این کاهش در تیمارهای مختلف، معنی‌دار بود. آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد نشان داد که متوسط کاهش کلروفیل‌های a و b در برگ، به جز در تیمار ۲۵ میکرومولار سولفات مس، در تیمارهای دیگر در مقایسه با شاهد، معنی‌دار است. کاهش کاروتنوئیدهای برگ در تیمارهای ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار مس در مقایسه با شاهد، معنی‌دار بود (جدول‌های ۱ و ۲). قندهای محلول ریشه و اندام‌های هوایی، همراه با افزایش میزان مس در محیط رشد، افزایش یافت. بر اساس تجزیه واریانس، این افزایش در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار است. آزمون دانکن نشان داد که متوسط افزایش قندهای محلول اندام‌های گیاه بین شاهد و کلیه تیمارها در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار است (جدول‌های ۱ و ۲). میزان نشاسته در اندام‌های هوایی و ریشه گیاهک‌ها، همراه با افزایش میزان سولفات مس، کاهش یافت. این کاهش براساس تجزیه واریانس در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار است. آزمون دانکن، کاهش نشاسته را در اندام‌های هوایی بین شاهد و کلیه تیمارها در سطح احتمال

### اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی، شامل کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها، از برگ‌های تازه گیاهک‌ها پس از اعمال دوره تنش، استفاده شد. محاسبه غلظت کلروفیل‌های a، b و کاروتنوئیدها به کمک روش لیچ تتالر (۱۶) صورت گرفت. در این روش، میزان جذب رنگیزه‌های فتوسنتزی در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر به کمک اسپکتروفوتومتر خوانده شد و به کمک معادلات لیچ تتالر (۱۶) که در زیر آمده است، اندازه‌گیری گردید:

$$\begin{aligned} \text{Chla} &= 12.21(A_{663}) - 2.81(A_{646}) \\ \text{Chlb} &= 20.13(A_{646}) - 5.03(A_{663}) \\ \text{Car.} &= (1000A_{470} - 3.27[\text{Chla}] - 104 [\text{Chlb}]) / 227 \end{aligned}$$

### تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایش‌ها به کمک طرح آماری کاملا تصادفی و با استفاده از جدول تجزیه واریانس و آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد، تجزیه و

یک درصد، معنی‌دار نشان داد. همچنین، کاهش نشاسته در ریشه‌ها در تیمارهای ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار سولفات مس در مقایسه با شاهد، معنی‌دار بود (جدول‌های ۱ و ۲). افزایش تجمع مس در ریشه و اندام‌های هوایی گیاه‌ها همراه با افزایش غلظت مس در محیط، دیده شد و تجمع آن در ریشه‌ها بیشتر از اندام‌های هوایی گیاه بود. تجزیه واریانس، تجمع مس در اندام‌های هوایی و ریشه را در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار نشان داد. با آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد، میانگین این افزایش در ریشه‌ها و اندام‌های هوایی بین شاهد و تیمارهای دیگر، معنی‌دار است (جدول‌های ۱ و ۲). مالون دی‌آلدئید برگ‌ها همراه با افزایش تیمارهای مس، افزایش یافت. تجزیه واریانس در سطح احتمال یک درصد، این افزایش را معنی‌دار نشان داد. بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد، متوسط این افزایش بین شاهد و تیمارهای دیگر، معنی‌دار است (جدول‌های ۱ و ۲). فعالیت پراکسیداز برگ‌ها، همراه با افزایش غلظت سولفات مس در محیط رشد، افزایش شدید یافت. بر اساس تجزیه واریانس در سطح احتمال یک درصد، این افزایش معنی‌دار است. آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد، متوسط افزایش فعالیت پراکسیداز برگ‌ها را بین شاهد و کلیه تیمارها، به‌جز در تیمار ۲۵ میکرومولار سولفات مس، معنی‌دار نشان داد (جدول‌های ۱ و ۲).

#### بحث

ساز و کارهای فیزیولوژیک تحمل سمیت عناصر فلزی در گیاهان، پیچیده است و به‌گونه گیاهی، نوع و غلظت عنصر و شرایط محیطی، مانند شدت نور و pH خاک بستگی دارد. با تعیین میزان تحمل یا حساسیت گونه‌های مختلف به غلظت مسموم‌کننده عنصر فلزی معینی در شرایط کنترل‌شده کشت، می‌توان پتانسیل‌های متفاوت گیاهان برای بردباری و تجمع مقادیر بالای فلزات سنگین را ارزیابی نمود (۸). نتایج این پژوهش نشان داد که آثار مسمومیت با مس، به‌صورت زردی در برگ‌ها و کاهش رشد به

ویژه در غلظت‌های بالاست. فلزات سنگین به روش‌های مختلف، مانع رشد گیاهان می‌شوند. این فلزات با کاهش تورژسانس سلولی، باعث کاهش تقسیم سلولی و مهار رشد سلول می‌شوند و از سوی دیگر، با تجمع در دیواره سلولی و ورود به سیتوپلاسم، در سوخت و ساز طبیعی سلول ایجاد اختلال کرده، باعث کاهش رشد می‌شوند (۶). فلزات سنگین با القای تولید انواع مختلف اکسیژن واکنش‌گر، آسیب‌های شدید به سلول وارد می‌کنند (۱۷). مطالعه حاضر، تولید مالون دی‌آلدئید در برگ‌ها و افزایش آن همراه با افزایش غلظت مس در محیط کشت، افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و تنش اکسیداتیو ناشی از مس را در رقم مورد مطالعه تأیید می‌کند. نتایج مشابهی توسط محققین دیگر به دست آمده است (۱۸،۶). به نظر می‌رسد افزایش پراکسید هیدروژن در گیاهان تحت تنش فلزات سنگین، با تحریک واکنش Haber-weiss و تولید  $OH^-$ ، موجب پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب‌های غشایی می‌گردد که در نهایت، منجر به کاهش رشد گیاه نیز می‌شود (۱۹). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان کلروفیل و کاروتنوئید برگ‌ها با افزایش غلظت مس در محیط رشد، کاهش می‌یابد. کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان تحت تیمار مس، به‌خصوص در غلظت‌های بالای این فلز، می‌تواند نشان‌دهنده وسعت آسیب‌های اکسیداتیو باشد. این کاهش می‌تواند به‌دلیل بازدارندگی مراحل مختلف سنتز کلروفیل و رنگیزه‌های دیگر باشد. فلزات سنگین با بازدارندگی بیوسنتز پروتئین‌های کمپلکس LHClI در سطح رونویسی، روند تشکیل این کمپلکس را مختل می‌سازند (۲۰). میزان کاروتنوئیدها نیز بر اثر تنش مس، کاهش یافت. کاروتنوئیدها نقش حفاظتی در مقابل تنش اکسیداتیو القا شده دارند و به همین دلیل از بین می‌روند. این رنگیزه‌ها در سمیت‌زدایی کلروفیل نقش دارند و باعث کاهش اثرات سمی رادیکال‌های آزاد می‌شوند (۲۱). در این مطالعه، افزایش قندهای محلول همراه با افزایش غلظت مس، در اندام‌های هوایی و ریشه مشاهده شد. افزایش قندهای محلول

پپیچیده داده و یا به اندام هوایی منتقل شود (۴). نشان داده شده است که مقدار بالای اسید مالیک در ریشه‌های گیاه گون می‌تواند عاملی برای تحمل ریشه این گیاه به مقادیر بالای مس باشد (۲۵). احتمال دارد یکی از دلایل تحمل نسبی گیاه مورد مطالعه نسبت به غلظت‌های مسموم‌کننده مس، ممانعت از انتقال این عنصر به اندام‌های هوایی و بخش‌های دیگر گیاه باشد. علاوه بر این، نشان‌دهنده نقش ریشه‌ها در نگهداری مس اضافی است. در این مطالعه، افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ‌ها همراه با افزایش غلظت مس در محیط مشاهده شد. فلزاتی چون مس، روی و سرب، عامل اصلی تولید انواع اکسیژن فعال بوده و پیامد اصلی سمیت آن‌ها، تولید تنش‌های اکسایشی است. جهت جلوگیری از تجمع مواد سمی نظیر پراکسید هیدروژن و رادیکال سوپراکسید، بافت‌های گیاهی با سنتز آنتی‌اکسیدان‌های دربردارنده مکانیسم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی، به مبارزه با آن‌ها می‌پردازند. در بین این آنزیم‌ها، پراکسیدازها با انتقال هیدروژن از یک دهنده آنتی‌اکسیدان به پراکسید هیدروژن، نقش عمده‌ای دارند (۲۶). افزایش فعالیت پراکسیداز در سلول ممکن است نقش کلیدی در مکانیسم دفاعی مربوط به سمیت فلزات داشته و به‌صورت بخشی از یک سیستم جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد در تنش‌های اکسیداتیو عمل کند (۷).

در گیاهان، در شرایط تنش ناشی از شوری، سرما، خشکی و فلزات سنگین، گزارش شده است (۲۲). تجمع قندهای محلول در شرایط تنش، به تنظیم اسمزی درون سلول کمک می‌کند و موجب حفظ و نگهداری مولکول‌های زیستی و غشاها می‌شود. همچنین، گیاه با افزایش قندهای محلول در شرایط تنش، علاوه بر حفظ پتانسیل اسمزی قادر خواهد بود تا ذخیره کربوهیدراتی خود را برای متابولیسم پایه سلولی در حد بهینه نگه دارد (۲۳). تجمع بیشتر قندهای محلول در ریشه‌ها می‌تواند نشان‌دهنده اهمیت تنظیم اسمزی در مکان‌های جذب باشد. کاهش نشاسته در اندام‌های هوایی و ریشه گیاه در اثر تنش مس می‌تواند به دلیل تجزیه شدن آن به قندهای ساده‌تر و در نتیجه، تجمع قندهای محلول در سلول باشد. همچنین ممکن است تنش حاصل از مقدار زیاد فلزات سنگین، فعالیت آنزیم‌هایی را که در ساخته شدن نشاسته نقش دارند، مختل و از سنتز نشاسته، جلوگیری کند (۲۴). نتایج نشان داد مس در ریشه و اندام‌های هوایی گیاه انباشته می‌شود که بخش زیادی از این تجمع، در ریشه‌هاست. انباشتگی مس در ریشه، یکی از ساز و کارهای تحمل برخی گونه‌ها محسوب می‌شود. در این گیاهان، بخش زیادی از مس جذب شده، متصل به دیواره سلولی باقی می‌ماند. گزارش شده است که ۹۰ درصد کل مس در ریشه‌ها، در ساختار دیواره سلولی، یا در فضای بین دیواره و غشا متمرکز شده و ایجاد سمیت می‌کند؛ بدون آن که با مواد آلی، تشکیل ترکیبات

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر صفات اندازه گیری شده.

میانگین مربعات							
منابع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک اندام‌های هوایی	وزن خشک ریشه	مالون دی آلدهید برگ	کلروفیل a برگ	کلروفیل b برگ	کارتونوئید برگ
تیمار	۴	۲۸/۲**	۱۲/۳۰**	۸/۸۳**	۵/۹۸**	۷/۱۳**	۴/۷۰**
خطا	۱۵	۳/۰۸	۱/۲۳	۰/۲۹	۰/۰۹۱	۰/۲۵	۰/۳۰
میانگین مربعات							
منابع تغییر	درجه آزادی	قندهای محلول ریشه	قندهای محلول اندام‌های هوایی	نشاسته ریشه	نشاسته اندام‌های هوایی	مس ریشه	مس اندام‌های هوایی
تیمار	۴	۵۴/۷۱**	۳۲/۱۲**	۲۹/۹**	۲۱/۷**	۲۰۱۶/۹۰**	۷۳۸/۴۰**
خطا	۱۵	۲/۸۸	۱/۱۳	۰/۱۵	۰/۱۱	۲۷/۱۴	۱۲/۱۷

\*\* : معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد.



جدول ۲- میانگین صفات اندازه گیری شده در تیمارهای مختلف مس.

۱۰۰	۷۵	۵۰	۲۵	صفر (شاهد)	تیمارهای مس (میکرومول)	
					صفات اندازه گیری شده	
۱۳/۹b	۱۷/۹b	۲۱/۵a	۲۳/۷a	۲۴/۷a	وزن خشک اندام های هوایی (میلی گرم در بوته)	
۷/۷c	۸/۷bc	۹/۴b	۱۰/۳b	۱۲/۶ a	وزن خشک ریشه (میلی گرم در بوته)	
۳/۲۰c	۵/۶۳b	۵/۸۰b	۷/۳۰a	۷/۷۳a	کلروفیل a برگ (میلی گرم بر گرم وزن تر)	
۳/۰۱c	۳/۱۶c	۴/۵۶b	۵/۲۰ab	۵/۸۰a	کلروفیل b برگ (میلی گرم بر گرم وزن تر)	
۰/۲۱c	۰/۷۰b	۲/۲۳a	۲/۷۳a	۲/۸۶a	کارتونوئید برگ (میلی گرم بر گرم وزن تر)	
۶۹/۱۲e	۶۵/۶۹d	۴۱/۷۰c	۲۶/۸۰b	۵/۶۹a	قندهای محلول ریشه (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	
۱۲/۰۴d	۱۰/۳۰d	۸/۴۰c	۵/۳۶b	۴/۱۴a	قندهای محلول اندام های هوایی (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	
۲۴/۲۱e	۳۰/۹۴d	۴۴/۲۷c	۵۹/۱۷b	۶۶/۱۳a	نشاسته اندام های هوایی (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	
۱۸/۴۶c	۲۲/۵۰b	۳۸/۱۲a	۳۹/۱۷a	۴۰/۱۹a	نشاسته ریشه (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	
۱۴۸۸/۷e	۱۴۳۹/۱۰d	۱۰۲۴/۴c	۹۱۳/۱b	۸۵۲/۸a	مس در ریشه ها (میکروگرم در گرم وزن خشک)	
۱۱۷/۲۷c	۱۱۳/۷۲b	۱۰۸/۴۹b	۱۰۷/۱۵b	۸۳/۹۰a	مس در اندام های هوایی (میکروگرم در گرم وزن خشک)	
۲۵/۲۶e	۲۱/۱۳d	۱۶/۴۳c	۱۲/۹۲b	۷/۸۱a	مالون دی آلدهید برگ (نانومول بر گرم وزن تر)	
۴/۶d	۳/۷c	۲/۳b	۱/۲a	۰/۸a	پراکسیداز برگ ها (واحد میلی گرم پروتئین)	

اعداد دارای حروف غیر مشابه هر ردیف، در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف معنی دار هستند.

### نتیجه گیری

قندهای محلول در اندام های هوایی، به ویژه در ریشه ها نشان دهنده سازش گیاه برای حفظ شرایط اسمزی است. همچنین کاهش رنگیزه های فتوسنتزی و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ ها نشان از آثار سمیت مس و تولید رادیکال های آزاد دارد که آسیب های اکسیداتیو و کاهش رشد را موجب می شود.

با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر، تنش ناشی از افزایش مس در محیط رشد، باعث بروز تنش اکسیداتیو، پراکسیده شدن لیپیدهای غشایی و تغییر در ساختار غشای سلول ها و در نتیجه، بازدارندگی رشد گیاه می شود. علاوه بر این، با توجه به مقادیر مس جذب شده و تجمع آن در ریشه ها به نظر می رسد که رقم مورد مطالعه، گیاهی با تحمل نسبی در مقابل تنش ناشی از افزایش این فلز باشد. افزایش

### منابع مورد استفاده

- Scheiner, J. D., Lavado, R.S., 2002. Sunflower nitrogen requirement and N fertilizer recovery in Western pampas , Argentinian. *Eur J Agron* 17: 73-79.
- Antoniadis, N., Alloway, B. J., 2001. Availability of Cd, Ni, Hg and Zn to rye grass in sewage sludge treated soils at different temperatures. *Water, Air and Soil Pollut* 132: 201-204.
- Raven, K. P., Loeppert, R. H., 1997. Trace element composition of fertilizers and soil amendments. *J Environ Qual* 26: 551-557.
- Marschner, H., 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2 nd edition, Academic press.
- Pereira, J. G., Molina, S. M., Azevedo, R. A., 2002. Activity of antioxidant enzymes in response to Cd in *crotalaria juncea*. *Plant and Soil* 239: 123-132.
- Molassiotis, A., Tanoug, G., Patakas, A., 2005. Effects of 4-month Fe deficiency exposure on Fe reduction mechanism, photosynthetic gas exchange chlorophyll fluorescence and antioxidant defense in two peach rootstocks differing in Fe deficiency tolerance. *J Plant Nutrition* 25: 843-860.
- Cho, V. H., Park, J. O., 2000. Mercury-induced oxidative stress in tomato seeding. *Plant Science* 126: 1-9.
- Lasat, M. M., Baker, A. J. M., 1996. Physiological characterization of roots

- Zn<sup>2+</sup> absorption and translocation to shoot in Zn hyperaccumulator and nonaccumulator species of *Thlaspi*. *Plant Physiol* 112: 1715-1722.
9. Tolra, R. P., Poschenrieder, C. Barcelo, J., 1996. Zinc hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*. II. Influence on organic acids. *J Plant Nutr* 19: 1541-1550.
  10. Chaparzadeh, N., Amico, M. L. D., Khavari-nejad, R. A., 2004. Antioxidative responses of calendula officinalis under salinity conditions. *Plant physiology and Biochemistry* 42: 695-701.
  11. Kochert, G., 1978. Carbohydrate determination by the sulfuric acid method. In: L. Helebust, J. A., Craigie, J. S. (ed): *Hand book of physiological methods*. PP. 96-97. Cambridge Univ. press, Cambridge.
  12. Kang, G., Wang, G., Sun, G., 2003. Salicylic acid changes activities of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. *Envi Exp Bot* 50: 9-15.
  13. Bradford, M. M., 1976. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
  14. Fielding, J. L., Hall, J., 1978. A biochemical and cytochemical study of peroxidase activity in roots of *Pisum sativum*. *J Experimental Bot* 29: 981-989.
  15. Woodies, T. C., Hunter, G. B., Johnson, F., 1977. Statistical studies of matrix effects on the determination of Cu and Pb in fertilizer and material and plant tissue by flame atomic absorption spectrophotometry. *Analytical Chemistry Acta* 90: 127-136.
  16. Lichtenthaler, H. K., Welburn, W. R., 1994. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem Soc Tran* 11: 591-592.
  17. Madhava Rao, K. V., Sresty, T. V. S., 2000. Antioxidative parameters in the pigeon pea in response to Zn and Ni stresses. *Plant Science* 157: 113-128.
  18. Laspina, N. V., Groppa, M. D., 2003. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. *Plant Science* 238: 116-126.
  19. Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. *Trends Plant Science* 7: 405-410.
  20. Tziveleka, L., Kaldis A., 1999. The effect of Cd on chlorophyll and light harvesting complex II biosynthesis in greening plant. *Nature Forsch* 54: 740-745.
  21. Sanitata, L. Gabbriella, R., 1999. Response to Cd in higher plants—Review *Envi Exp Bot* 45: 105-130.
  22. Dubey, R. S., 1997. Photosynthesis in plants under stressful conditions. In: pesarakli, M. (ed) *Hard book of photosynthesis*. Dekker, NewYork, PP. 859-876.
  23. Dubey, R. S., Singh, A. K., 1999. Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolizing enzyme in rice plants. *Biol Plant* 42: 233-239.
  24. Badr, A., Patricia, G. M., 2003. Effect of Cu on growth in Cucumber plants and its relationship with carbohydrate accumulation and change in ion contents. *Plant Science* 166: 1213-1218.
  25. Van Assche, F. V., Clijsters H., 1994. Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environment* 13: 195-206.

گونه‌های انباشته‌گر این عناصر، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز.

۲۶. مظفری بازرگان، ع. ۱۳۸۳. جداسازی و شناسایی عوامل همبند کننده عناصر سنگین در تعدادی از





**The study of Cu toxicity on growth and tolerance of sunflower (*Helianthus annuus* L.)  
Hi Sun -33 cultivars**

Noorani Azad H<sup>\*1</sup>, Chobineh D<sup>1</sup>, Hajbagheri MR<sup>2</sup>, KafilzadeH<sup>1</sup>

- 1- Department of Biology, Branch, Islamic Azad University, Jahrom Iran
- 2- Department of Agriculture, Estahban Branch, Islamic Azad University, Estahban Iran

**\*Corresponding author:** Hamid Noorani Azad, Department of Biology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom Iran, Tel: 09177321170, Email: [noorani@jia.ac.ir](mailto:noorani@jia.ac.ir)

**Abstract**

Copper is one of the essential micronutrients for the normal growth and development of plants. It is also known that a heavy metal at higher level causes toxicity in most plants. This research investigated the effects of CuSO<sub>4</sub> toxicity on growth and tolerance of sunflower cultivar Hi sun-33. The experiment was carried out under hydroponic conditions with 5 treatments (0,25,50,75 and 100μM) and 4 replicates for 21 days. The dry weight of roots and shoots, chlorophylls a and b, carotenoids in leaves, soluble sugars and starch in roots and shoots, MDA content and enzyme activity of peroxidase in leaves, Cu accumulation in roots and shoots were measured. The results obtained from the analyzing of Cu content in the roots and shoots of different treatments indicated that Cu absorption goes up by increasing level of Cu in growth solution and Cu accumulates in the roots and its transport to the shoots is low. The dry weight of roots significantly decreased in comparison to control by increasing Cu concentration. The reduction of dry weight of shoots in treatments of 75 and 100μM were significant. The decrease of chlorophylls a and b in leaves, except in treatment of 25μM were significant in comparison to control. The carotenoids content significantly decreased in treatments of 75 and 100μM Cu. Determination of the amount of soluble sugars indicated that the soluble sugars of roots and shoots increased significantly by increase in Cu, but starch levels were decreased in both. The MDA content in leaves significantly increased with increasing of Cu toxicity. The increase of peroxidase activity in leaves, except for treatment of 25μM was significant by increasing the level of Cu in growth solution. The Cu tolerance is associated with the Cu accumulation in roots, increase of soluble sugars and activation of antioxidant defense system.

**Keywords:** Cu toxicity tolerance, Chlorophyll, Peroxidase, Sunflower

**Epilithic diatoms as indicators of water quality in the Tajan river, Mazandaran province, Iran**

Masoudian N<sup>1,\*</sup>, Fallahian F<sup>2</sup>, Nejadstari T<sup>2</sup>, Mattaji A<sup>2</sup>, Khavarinejad R<sup>2</sup>

1- Department of Biology, Damghan branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran

2- Science & Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

\***Corresponding author:** Dr. Nahid Masoudian, Department of Biology, Damghan branch, Islamic Azad university, Damghan, Iran, e mail: [n.masoudian@damghaniau.ac.ir](mailto:n.masoudian@damghaniau.ac.ir)

**Abstract**

Tajan River is one of the significant rivers of Caspian Sea which is originated in Alborz mountains and This study was carried out in Tajan river from March 2007 to February 2008. Samples were taken from amongst stones in monthly interval periods. Samples were immediately fixed with formaldehyde 4% insitu. For exact recognition, permanent mounts were prepared by using Patrick & Reimer procedure. Identification of diatoms was done by means of light microscope and specialized recognition keys. For study of diatom communities in aquatic ecosystems, counting method is used because in this method, identification and determination of diatom communities and morphological variations of species are better known. Water temperature, pH, EC, DO, TDS, BOD, COD, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SiO<sub>2</sub>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup> and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> were analysed during the study. In this research 95 species and 23 genera of epilithic diatoms were identified. Epilithic diatoms have been recommended by researchers from several countries as particullary suitable for water quality evaluation. Multivariate analyses of species composition data were applied in two different approaches. Firstly, species and sampling stations were grouped using TWINSpan (Two Way Indicator Species Analysis). Secondly, Canonical Correspondence Analysis (CCA) was applied in order to uncover the main gradients of changes in species composition relating this changes to the pollution.

**Keywords:** Epilithic diatoms, TWINSpan, CCA, Tajan river

**Effect of hydro-alcoholic extract from *Zea mays* L. on experimentally nephrolithiasic rats**

Eidi M <sup>1,\*</sup>, Sadehipour AR <sup>2</sup>, Eidi A <sup>3</sup>, Pouyan O <sup>4</sup>, Shahmohammadi P <sup>1</sup>, Bahar M <sup>5</sup>

1. Department of Biology, Varamin Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
2. Department of Pathology, Rasoul Akram Hospital, Tehran, Iran
3. Department of Biology, Science Faculty, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
4. Department of Urology, Laleh Hospital, Tehran, Iran
5. Department of Genetic, Medical School, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

\* **Correspondence author:** Dr. Maryam Eidi, Department of Biology, Science Faculty, Varamin Branch, Islamic Azad University, P. O. Box: 16535-617, Tehran, Iran, e-mail: [maryameidi@gmail.com](mailto:maryameidi@gmail.com)

**Abstract**

Although several plants and procedures for treatment of kidney stone disease in Iranian folk medicine, urolithiasis has been an important problem for patients, yet. Aim of present study, investigation of effect of *Zea mays* L. corn silk hydro-alcoholic extract on calcium oxalate crystallization was studied in male rats. At first, hydro-alcoholic extract of plant at doses of 100, 200 and 300 mg/kg were prepared. Crystallization of calcium oxalate was induced by adding ammonium chloride and ethylene glycol in drinking water for 3 and 32 days, respectively. Control group was treated by drinking water. Experimental groups were treated by extract at doses 100, 200 and 300 mg/kg orally for 35 days. After 35 days, animals were anesthetized by ether and right kidneys removed and put them in buffered formaldehyde. Specimens were prepared for histological studies and stained by H&E. Results showed that treatment of extract decreased number of crystals in kidney of experimental animals in comparison with control groups. So, it could prevent formation of kidney stone primary nucleus.

**Keywords:** *Zea mays*, Corn silk, Calcium oxalate, Crystallization, Kidney stone, Rat

Use of combinatorial methods for enumeration of RNA structures

Shirdel GH<sup>1,\*</sup>, Kahkeshani N<sup>1</sup>

1. Department of Mathematics, Qom University, Qom, Iran

**\*Correspondence author:** Dr. G. H. Shirdel, Department of Mathematics, Qom University, Qom, Iran, E-mail: [shirdel@khayam.ut.ac.ir](mailto:shirdel@khayam.ut.ac.ir)

**Abstract**

Research in biology is usually thought to be based on experimentation with materials, while in mathematical biology experimentation is of a theoretical nature. A major advantage of applying mathematics to biological systems is the ability to construct mathematical models. Such models are mathematical systems that attempt to represent the complex interactions of biological systems in a way simple enough for their properties to be understood. In fact, mathematics can be applied to most areas of biology. Counting the number of RNA structures is an combinatorial method in biomathematics. In this paper, RNA structures are modeling as graphs. We consider 2 parameters on this model. One of them is the length of arc, where arc correspond to hydrogen bond and between two nucleotides. Another one is the number of mutually crossing arcs, where cross of arcs correspond to existence of pseudoknot in RNA structure. Now, we categorize RNA structures according to these 2 parameters and enumerate them.

**Keywords:**  $k$  – noncrossing diagram, Pseudoknot, Combinatorial enumeration, Weyl-chamber



**Investigation on flora, life forms and corotype of plants in Savadkoh country**

Falah F<sup>1</sup>, Salimpour F<sup>1\*</sup>, Sharifnia F<sup>1</sup>

1. Department of Biology, North Branch of Tehran, Islamic Azad University, Tehran, Iran

\***Corresponding author:** Dr. F. Salimpour, Department of Biology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, P. O. Box: 19585-936, Tehran, Iran, E-mail: [drsalimpour@gmail.com](mailto:drsalimpour@gmail.com)

**Abstract**

Shesh Rodbar reserve area is located in the northwest of Savadkoh country. The regional climate is cold mountainous. This region is located between longitudes 35° 59' to 36° 56' N and latitudes 53° 47' to 53° 59' E. Its maximum altitude is 2453 m. The precipitation in this region is about 733.5 mm. The plants specimens were collected between 2007 and 2008. The specimens are preserves in Mahmodieah Center's Herbarium. About 278 species belong to 200 genera and 67 families. The most abundant families are Asteraceae, Lamiaceae, Poaceae, Rosaceae, Brassicaceae and Fabaceae. 41.72 percent of species are hemicryptophytes. 31.65% (88 species) of species are Irano-Turanian, Euro-Sieberian. According to the obtained results from the plant species in this study, ecological factors such as altitude, slope, and exposure and wind direction are important factors on plants distribution.

**Keywords:** Flora, Savadkoh, Life form, Chorotype, Iran

**Identification of various *cryI* genes in *Bacillus thuringiensis* samples collected from Khorasan and Hamedan provinces**

Riazi E <sup>1,\*</sup>, Zargari K <sup>2</sup>, Keshavarzi M <sup>3</sup>

1. Department of agricultural Biotechnology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
2. Department of agronomy and plant breeding, Islamic Azad University, Varamin Branch, Varamin. Iran
3. Horticulture department of Seed and Plant Improvement Institute, Karadj, Iran

**\*Corresponding author:** Department of Agricultural Biotechnology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran, E-mail: [elhamriazi@yahoo.com](mailto:elhamriazi@yahoo.com)

**Abstract**

Nowadays, because of using chemical pesticides and their harmful effects on human health and environment, scientists and researchers have noticed the use of biological controls. One of the most important micro-organisms in this regards is *Bacillus thuringiensis*. In this research, we have isolated 50 strains from the soil of Khorasan and Hamedan provinces. Characterization of these strains was based on PCR analysis using 14 specific primers for *cryIa*, *cryIb*, *cryIc*, *cryId*, *cryIe*, *cryIf* and *cryIg* genes encoding proteins active against Lepidopteran. Analysis of PCR products by using agarose gel electrophoresis and comparing them with standard strains showed that the abundance of these genes in the strains, is very different. Some strains have a variety of genes while the other have only one or have none. These results are important to explore future microbial strategies for the control of these crop pests in Iran.

**Key words:** *Bacillus thuringiensis*, *cryI* genes, Lepidoptera, PCR, Khorasan, Hamedan

**Superoxide dismutase enzyme, as a biomarker of heavy metals (Ni, Co, V) in barnacle in Bahragan area**

Faslebahar S<sup>1</sup>, Emtiazjoo M<sup>2,\*</sup>, Monavari M<sup>1</sup>, Eghtesadi P<sup>3</sup>, Shahabi B<sup>4</sup>

1. Department of Marine Biology, Faculty of Environment And Energy, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
2. Department of Marine Biology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran
3. Iranian National Institute of Oceanography, Tehran, Iran
4. Iranian Offshore Oil Company, Tehran, Iran

**\*Correspondence author:** Dr. M. Emtiazjoo, Department of Marine Biology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran, E-mail: [moz\\_emtyazjoo@yahoo.com](mailto:moz_emtyazjoo@yahoo.com)

**Abstract**

Since hundreds of years ago, researchers have been studying the accumulation of metals in aquatic organisms' tissues and their effects on ecosystem. But in some decades before, relationship between enzymes to heavy metals has made researchers become interested in this field. Some organic and inorganic pollutions cause Oxidative stresses in marine organisms. Due to these problems bio-indicators such as mussels, barnacles and fishes can help to recognize polluted areas and the scale of polluted materials in marine organism's tissues as a useful tool. On the other hand, in oil platforms there are heavy metals due to discharge of hydro-carbonated material and this tissue is a suitable area for assaying of relationship between heavy metals and enzymes. Accordingly, changes in superoxide dismutase enzyme in barnacle were chosen as a biomarker. For assaying of Nickel, Cobalt and Vanadium in seawater, tissue was gathered from eight stations of Bahragan area. The average amount of these metals within samples taken from barnacles was 0.4 ppm (Ni), 0.2 ppm (Co), and 0.2 ppm (V). Also analyses were assayed by Atomic Absorption. Correlation coefficient for Vanadium, Nickel and Cobalt in water samples were respectively 0.43, 0.50 and 0.56 and also in tissue -0.19, -0.15, -0.16 that assay by special kit. The only positive correlation was found between TDS and superoxide dismutase ( $r=0.775$ ), while other parameters showed insignificant correlation.

**Keywords:** Superoxide Dismutase enzyme, Biomarker, Heavy metals, Bahragan area

**Some oribatid mites, Acari: Oribatida from Sorkhe Hesar forest region and new records of five species from Iran**

Pakyari H<sup>1</sup>, Kheradpir N<sup>2,\*</sup>

1. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Takestan Branch, Iran, Young Researcher's Club, Takestan Branch, Iran
2. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Varamin Branch, Iran

**\*Corresponding author:** Dr. Neda Kheradpir, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Varamin Branch, Iran, e-mail: [n.kheradpir@gmail.com](mailto:n.kheradpir@gmail.com)

**Abstract**

During 2006-2007 a faunistic survey was carried out to study the edaphic oribatid mites in Sorkhe-Hesar forest park of Tehran. A Total of 10 species from 7 genera and 7 families were collected and identified. Identifications were confirmed by Louice Quetzee and Lizel Hugo (Dept. Acarology, National museum, Bloemfontein, South Africa) and specimens were deposited at the Acarology collection of the Entomology Department, Islamic Azad University, Science and Research Branch. They are listed below; five species which are marked by asterisks are considered to be new records for Iran.

Galumnoidea	Galumnidae	Galumna discifera Balogh, 1960
		Galumna dimidiata Engelbrecht, 1969
Oripodoidea	Oribatulidae	Oribatula tibialis Nicolet, 1855
		Oribatula connexa Berlese, 1904
	Protoribatidae	Protoribates paracapucinus Mahunka, 1988
		Protoribates maximus Mahunka, 1988
Epilohmannioidea	Epilohmanniidae	Epilohmannia cylindrical Berlese, 1904
Tectocephoidea	Tectocephidae	Tectocephus minor Berlese, 1903
Microzetoidea	Microzetidae	Berlezes ornatissimus Berlese, 1913
Gymnodamaeidea	Gymnodamaeidae	Jacotella glaber Miheleie, 1957

**Keywords:** Oribatida, Sorkhe Hesar, Tehran, Edaphic



**Iranian Journal of Biological Sciences**  
**Vol.4, Issue 2, Summer 2009**

**Contents**

<b>Subject</b>	<b>Page</b>
<b>Some oribatid mites, Acari: Oribatida from Sorkhe Hesar forest region and new records of five species from Iran</b> Pakyari H, Kheradpir N* -----	1
<b>Superoxide dismutase enzyme, as a biomarker of heavy metals (Ni, Co, V) in barnacle in Bahragan area</b> Faslebahar S, Emtiazjoo M*, Monavari M, Eghtesadi P, Shahabi B -----	2
<b>Identification of various <i>cryI</i> genes in <i>Bacillus thuringiensis</i> samples collected from Khorasan and Hamedan provinces</b> Riazi E*, Zargari K, Keshavarzi M -----	3
<b>Investigation on flora, life forms and corotype of plants in Savadkoh country</b> Falah F, Salimpour F*, Sharifnia F -----	4
<b>Use of combinatorial methods for enumeration of RNA structures</b> Shirdel GH*, Kahkeshani N -----	5
<b>Effect of hydro-alcoholic extract from <i>Zea mays</i> L. on experimentally nephrolithiasic rats</b> Eidi M*, Sadeghipour AR, Eidi A, Pouyan O, Shahmohammadi P, Bahar M -----	6
<b>Epilithic diatoms as indicators of water quality in the Tajan river, Mazandaran province, Iran</b> Masoudian N*, Fallahian F, Nejadstattari T, Mattaji A, Khavarinejad R-----	7
<b>The study of Cu toxicity on growth and tolerance of sunflower (<i>Helianthus annuus</i> L.) Hi Sun - 33 cultivars</b> Noorani Azad H*, Chobineh D, Hajbagheri MR, KafilzadeHf-----	8