



عید

سال نهم / ویژه‌نامه / بهار ۱۳۹۱

اولین کنفرانس ملی جلبک‌شناسی ایران

Vol.9/ Special Issue/ Spring 2012

The First National Conference of Phycology of Iran

۴۸-۳۹

## اثر نفتالن بر فیکوبیلی پروتئین‌ها، همگون‌سازی کربن و نیتروژن

### در سیانوباکتری *Leptolyngbya* sp. ISC 25

بهاره عباس‌پناه<sup>۱\*</sup>، فرزانه نجفی<sup>۱</sup>، ندا سلطانی<sup>۲</sup> و رمضانعلی خاوری نژاد<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم

۲- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم

۳- دانشیار گروه میکروبیولوژی نفت، پژوهشکده علوم پایه کاربردی جهاددانشگاهی

۴- استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم و گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم،

دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات

تاریخ پذیرش: ۹۰/۶/۱

تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۹

#### The Effects of Naphthalene on Phycobiliproteins, Carbon and Nitrogen Assimilation in Cyanobacterium *Leptolyngbya* sp. ISC 25

Bahareh Abbas Panah,<sup>1\*</sup> Farzaneh Najafi,<sup>2</sup> Neda Soltani<sup>3</sup> and Ramezanali Khavari Nedjad<sup>4</sup>

1- M.Sc. Student, Department of Biology, Faculty of Sciences, Tarbiat Moalem University

2- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Tarbiat Moalem University

3- Associate Professor, Petroleum Microbiology Research Group, Research Institute of Applied Sciences (A.C.E.C.R), Shahid Beheshti University

4- Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Tarbiat Moalem University and Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University

#### Abstract

Naphthalene is one of the toxic oil compounds which have hazardous impacts on the environment. In this research, the physiological effects of this compound on cyanobacteria were evaluated, namely on oil biodegradative autotrophs. For this purpose cyanobacterium *Leptolyngbya* sp. ISC 25 was collected and isolated from regions polluted by oil. After liquid cultivation using a carbonless BG11 medium, this cyanobacterium was treated with (0, 0.025, 0.05, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 and 1%) of naphthalene. Physiological responses like survival, Chl<sub>a</sub>, photosynthesis and ammonium excretion were investigated in a logarithmic phase of the growth curve. Survival was evaluated spectrometrically at 750 nm and photosynthesis via an Oxyview instrument. Results indicated that Chl<sub>a</sub> concentration decreased as naphthalene increased and the reduction slope was higher at 0.6, 0.8 and 1%. In 0.8 and 1% naphthalene, Chl<sub>a</sub> concentration was approximately zero. Phycobiliprotein content was enhanced up until 0.2% of naphthalene, but in 0.4, 0.6, and 1% naphthalene decreased significantly. Comparison of survival rates on different days showed that biomass was initially enhanced in all treatments, but decreased at 0.4, 0.6, 0.8 and 1% naphthalene. In other treatments this increasing feature remained although the rate was slower. The rate of photosynthesis and ammonium excretion decreased in all treatments. In total, this cyanobacterium can tolerate 0.025, 0.05 and 0.2 % of naphthalene and the 0.6 and 1% of naphthalene is toxic for it.

**Keywords:** Ammonium excretion, Chl<sub>a</sub>, Cyanobacterium, *Leptolyngbya*, Naphtalene, Photosynthesis.

#### چکیده

نفتالن یکی از انواع ترکیبات نفتی و سمی است که خطرات زیادی را برای محیط زیست فراهم می‌کند. در این تحقیق به اثرات فیزیولوژیک این ترکیب بر سیانوباکتری‌ها از اتوتروف‌های توانمند در تجزیه این ترکیبات، پرداخته شده است. بدین منظور سیانوباکتری *Leptolyngbya* sp. ISC 25 از مناطق آلوده نفتی برداشت و جداسازی گردید. پس از کشت مایع در محیط کشت BG11، این جلبک تحت تیمارهای (۰، ۰/۰۵، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۰۶ و ۱ درصد) از نفتالن در محیط کشت فاقد کربن قرار گرفت. پاسخ‌های فیزیولوژیک از جمله بقاء، رنگیزه‌های فتوسنتزی، فتوستتر و برون ریزش آمونیم در فاز لگاریتمی از رشد بررسی شد. بقاء از طریق جذب نوری در طول موج ۷۵۰ nm و فتوستتر با کمک دستگاه اکسی و یو<sup>۱</sup> اندازه‌گیری شد. نتایج حاکی از آن است که میزان رنگیزه‌های فتوستتری با افزایش غلظت نفتالن در تیمارها روند کاهشی دارد و این کاهش در تیمارهای ۰/۶ و ۱٪ از نفتالن سرعت بیشتری داشته و در غلظت ۱٪، میزان کلروفیل *a* به نزدیک صفر می‌رسد. محتوای فیکوبیلی پروتئین با افزایش غلظت نفتالن تا ۰/۲٪ افزایش یافت اما از این غلظت بیشتر به طرز قابل توجهی روند کاهشی پیدا می‌کند. مقایسه بقای سیانوباکتری در روزهای مختلف نشان می‌دهد که در کلیه تیمارها، ابتدا بیومس جلبک افزایش یافته ولی در تیمارهای ۰/۴ و ۰/۶ و ۱٪ نفتالن این روند کاهشی است. در سایر تیمارها گرچه روند افزایشی باقی مانده ولی نسبت به شاهد سرعت کمتری نشان می‌دهد. میزان فتوستتر و برون ریزش آمونیم تحت کلیه تیمارها روند کاهشی نشان می‌دهد. بطور کلی این سیانوباکتری می‌تواند غلظت‌های نفتالن با (۰/۰۵ و ۰/۰۲ درصد) را تحمل کرده و غلظت‌های ۰/۶ و ۱٪ برای رشد این سیانوباکتری سمی می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** برون‌ریزش آمونیم، سیانوباکتری، فتوستتر، کلروفیل *a*، نفتالن.

\* Corresponding author. E-mail Address: b.abbaspanah@gmail.com

## مقدمه

PAHs گروهی از ترکیبات تشکیل شده از دو یا چند حلقه آروماتیک هستند که از ساختارهای اصلی نفت خام به شمار می‌آیند. PAHs در طول آلودگی به وسیله نفت خام یا پالایش محصولات نفتی به محیط آزاد می‌شوند (Kumar *et al.*, 2009). آژانس حمایت از محیط زیست (EPA)، ۱۶ ترکیب غیر جایگزین PAHs را به عنوان آلوده کننده‌های اولیه محیط شناسایی کرده است که ۸ مورد از این ترکیبات سرطان‌زا هستند و به علت توزیعشان در محیط و ایجاد خطرات احتمالی برای انسان، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. ترکیبات PAHs به علت آزاد شدنشان در محیط، در غذا، آب و خاک وجود دارند (Chrles *et al.*, 1992). این ترکیبات در محیط‌های آبی به طور عمده فراگیر هستند (Chen *et al.*, 2007). تاثیر PAHs در محیط‌های دریایی شامل ایجاد سمیت و سرطان‌زایی در ارگانسیم‌های دریایی و انتقال آن به انسان از طریق غذاهای دریایی می‌باشد. PAHs های کوچکتر مثل آنتراسن و نفتالن، از جمله آلوده کننده‌های محیط هستند که تجزیه آنها توسط میکروارگانسیم‌ها و اکسیداسیون آنها به واسطه آلیفاتیک‌ها مورد بررسی قرار گرفته (Kumar *et al.*, 2009) است. در واقع فعالیت میکروبی به عنوان مهم‌ترین و مؤثرترین عامل در حذف PAHs شناخته شده است (Cerniglia, 1993; Nwuche and Ugoji, 2008; Haghgha *et al.*, 2008; Agbozu and Opuene, 2009; Aatlas and Bragg, 2009). سیانوباکتری‌ها از آنجا که به عنوان اولین حلقه زنجیره غذایی و عامل مهم تأمین کننده اکسیژن و مواد آلی در طبیعت هستند، عوامل ضروری تشکیل

دهنده اکوسیستم آبی به شمار می‌آیند (Kong *et al.*, 2011). PAH بر روی برخی فعالیت‌های فیزیولوژیکی باکتری نیز تاثیر دارند. از این رو این میکروارگانسیم‌ها و رفتارهای فیزیولوژیکی آنها در هنگام مواجه شدن با این آلودگی‌ها از نظر دانشمندان حائز اهمیت می‌باشد. اثر سمیت نفتالن بر رشد و فعالیت فتوسنتزی در چندین مطالعه مورد بررسی قرار گرفته است (Kabli, 1998; Gaur, 1990). Kumar و همکاران (2009) اثر سمیت نفتالن و آنتراسن را بر سیانوباکتری *Phormidium tenue* در مناطق آلوده ساحلی بررسی کردند. مشاهدات آنها نشان داد که تحت تیمار نفتالن سرعت رشد کاهش یافت و از محتوای کلروفیل و پروتئین نیز کاسته شد. آلودگی‌های ناشی از این مواد همچنین می‌توانند روی فراساختار سلول جلبکی نیز اثر تخریبی داشته باشد (Morlan, 2005; Qian *et al.*, 2009b). هدف ما از این مطالعه، بررسی تاثیرات نفتالن روی تعدادی از فعالیت‌های فیزیولوژیکی سیانوباکتری *Leptolyngbya sp.* مثل نرخ رشد، محتوای رنگیزه‌ای، فعالیت فتوسنتزی و برون ریزش آمونیم این سیانوباکتری تحت تیمار نفتالن بود.

## مواد و روش‌ها

### جداسازی ارگانسیم

جنس *Leptolyngbya* از خاک‌های آلوده خورستان جدا شد. در مرحله بعد عمل خالص‌سازی با استفاده از روش Plate agar انجام شد (Belcher and Swale, 1982). این عمل با انجام پاساژهای متعدد صورت گرفت. سپس نمونه

خالص شده به محیط کشت مایع منتقل شد و ازدیاد نمونه در فاز آزمایشگاهی صورت گرفت (Kaushik, 1987).

#### شرایط محیط کشت

نمونه‌ها در محیط BG11 کشت داده شدند. دمای محیط در  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  تنظیم شد و محیط تحت هوادهی با سرعت جریان  $200 \text{ ml min}^{-1}$  و شدت نور ثابت  $300 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  قرار داده شد. نمونه‌ها به ارلن‌های 500 ml شامل 200 ml محیط BG11 فاقد منبع کربن منتقل شدند. نفتالن حل کرده در استون در غلظت‌های مختلف (0، 0/05، 0/2، 0/4، 0/6، و 1 درصد) به محیط‌های کشت اضافه شد و تلقیح انجام گردید.

#### روش‌های آنالیز

نرخ رشد نمونه‌ها با روش اندازه‌گیری وزن خشک محاسبه شد (Leganes et al., 1987). برای سنجش کلروفیل، بیومس با کمک متانول عصاره‌گیری شد و سپس محتوای کلروفیل به وسیله روش اسپکتروفتومتری در طول موج 665 nm اندازه‌گیری شد (Marker, 1972). فیکوبیلی پروتئین‌ها پس از وارد کردن شوک اسمزی به جلبک به روش اسپکتروفتومتری در طول موج‌های 750 و 652 و 615 و 562 نانومتر اندازه‌گیری شدند (Marker, 1972). میزان برون ریزش آمونیوم به روش فئات انجام شد بدین صورت که تشکیل ترکیب آبی رنگ اندوفنل که در اثر واکنش آمونیاک، هیپوکلریت و فنل با نمک منگنز حاصل می‌شود، نشان دهنده آزاد شدن آمونیاک است و مقدار آن به روش

اسپکتروفتومتری در طول موج 630nm اندازه‌گیری شد (Apha.Awwa.WPCF, 1985).

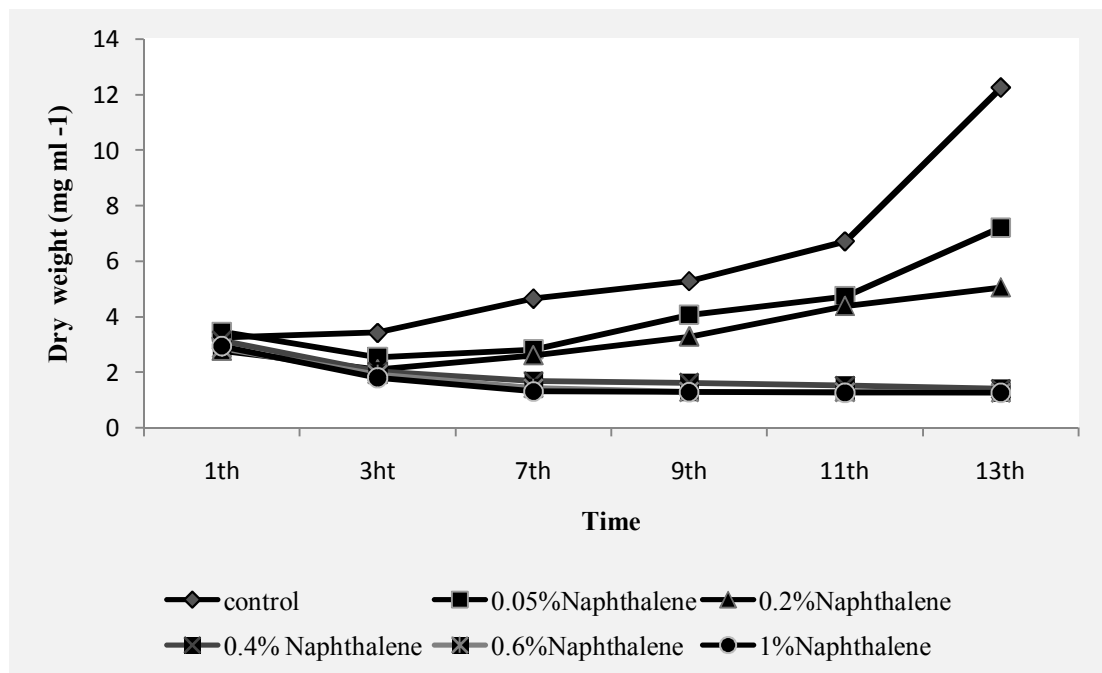
برای اندازه‌گیری فعالیت فتوسنتزی از دستگاه اکسیژن الکتروود استفاده شد. 2 میلی لیتر از سوسپانسیون جلبکی در دمای  $30^\circ\text{C}$  داخل کوط دستگاه قرار داده شد و میزان تصاعد اکسیژن در زمان 5 دقیقه تحت نوردهی مناسب اندازه‌گیری شد.

#### آنالیزهای آماری

برای آنالیز آماری از آنالیز واریانس یک عاملی بدون تکرار (ANOVA) استفاده گردید. محاسبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS انجام شد. لازم به ذکر است که رسم منحنی‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excell 2003 انجام گرفت.

#### نتایج

سیانوباکتری *Leptolyngbya* تحت شرایط فتواتوتروفی با غلظت‌های مختلف نفتالن (0، 0/05، 0/2، 0/4، 0/6، 1٪) کشت داده شد و پاسخ‌های فیزیولوژیک آن در فاز لگاریتمی از رشد، یعنی روز دهم مورد بررسی قرار گرفت. بقاء از طریق اندازه‌گیری جذب نوری در طول موج 750 nm و همچنین محاسبه وزن خشک نمونه بررسی شد. نتایج حاصل از ارزیابی بقاء و وزن خشک نشان داد که بیومس در تیمارهای 0/05 و 0/2٪ افزایش می‌یابد ولی در تیمارهای 0/4، 0/6 و 1٪، این روند به روند کاهش تبدیل می‌شود (شکل 1). در تیمارهای 0/05 و 0/2٪ گرچه این روند افزایشی است اما نسبت به نمونه شاهد سرعت کمتری دارد.



شکل ۱- مقدار وزن خشک سیانوباکتری *Leptolyngbya* در روز های مختلف تحت تیمار غلظت های مختلف نفتالن

غلظت نفتالن کمتر می شود به طوریکه در غلظت ۱٪ نفتالن، به نزدیک صفر می رسد (جدول ۲). محتوای فیکوبیلی پروتئین در نمونه های ۰/۰۵ و ۰/۲٪ اگرچه نزدیک به نمونه شاهد می باشد اما بیشتر از آن است به طوریکه بیشترین مقدار آن مربوط به تیمار ۰/۲٪ است. اما با افزایش غلظت نفتالن به شدت کاهش می یابد و کمترین مقدار آن مربوط به غلظت ۱٪ می باشد. در سیانوباکتری *Leptolyngbya* PC ساختار اصلی فیکوبیلی زوم هاست. بنابراین در این سیانوباکتری تغییرات PBP منعکس کننده تغییرات PC می باشد. در مورد آلفیکوسیاینین نیز با افزایش غلظت نفتالن این مقدار کاهش می یابد. نسبت فیکوبیلی پروتئین به کلروفیل a، معمولاً به عنوان نسبت PSII به PSI در نظر گرفته می شود که این نسبت به طرز قابل توجهی با افزایش غلظت نفتالن افزایش می یابد و بیشترین مقدار آن مربوط به تیمار ۱٪ است و ۱۱۲/۲ می باشد (جدول ۲).

نرخ رشد سیانوباکتری *Leptolyngbya* در نمونه شاهد ۰/۱۸۳ است و در تیمار ۰/۰۵٪ به ۰/۰۲۴ تنزل می یابد و با افزایش غلظت نفتالن کمتر می شود تا اینکه در تیمارهای ۰/۴، ۰/۶ و ۱٪ این مقدار منفی می شود (جدول ۱).

جدول ۱- نرخ رشد غلظت های مختلف نفتالن سیانوباکتری *Leptolyngbya*

treatment	نرخ رشد
control	۰/۱۸۳
0.05%	۰/۰۲۴
0.20%	۰/۰۲۱
0.40%	-۰/۰۱۷
0.60%	-۰/۰۱۸
1%	-۰/۰۲۰

محتوای کلروفیل a به طور قابل توجهی با افزایش

## جدول ۲- اثر غلظت های مختلف نفتالن بر محتوای رنگیزه های *Leptolyngbya*

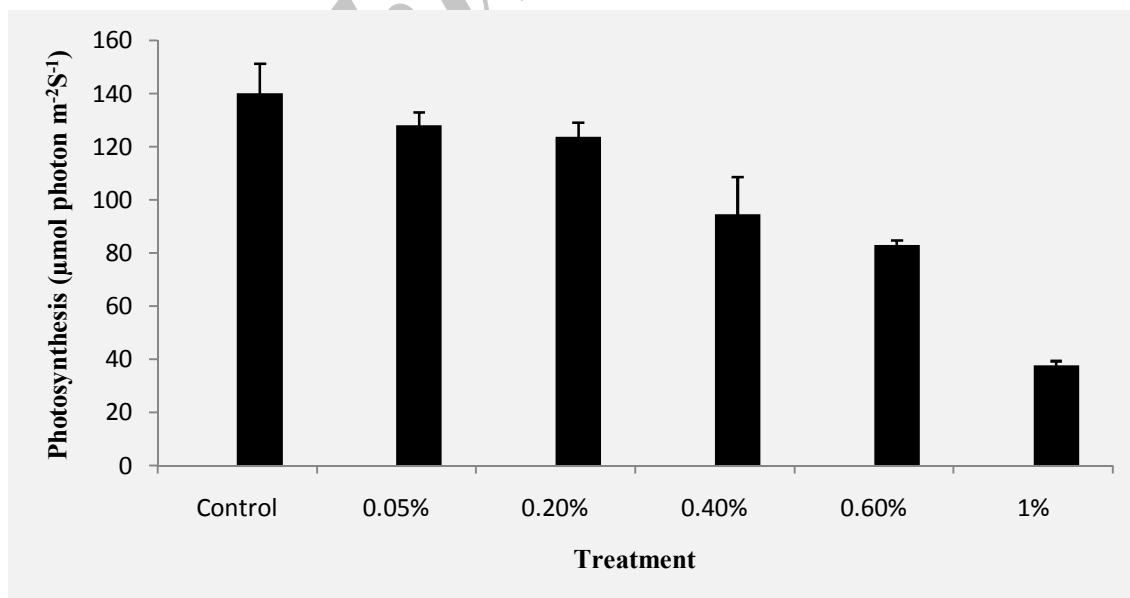
(داده ها به صورت میانگین سه تکرار از آزمایش  $\pm$  SE هستند.)

treatment	Chla	PC	APC	PBP	PBP/Chla
	$\mu\text{g mg dw}^{-1}$				
control	a $\cdot$ /۱۰۸ $\pm$ ۲/۶۸۵	c $\cdot$ /۳۲۹ $\pm$ ۳۵/۷۲	a $\cdot$ /۱۸۱ $\pm$ ۲/۶۴۵	b $\cdot$ /۳۸۲ $\pm$ ۳۷/۷۲	c $\cdot$ /۵۴۳ $\pm$ ۱۴/۰۹
0.05%	b $\cdot$ /۰۵۷ $\pm$ ۱/۵۹۳	b $\cdot$ /۲۲۸ $\pm$ ۴۰/۹۳	a $\cdot$ /۲۶۳ $\pm$ ۲/۷۱۲	a $\cdot$ /۹۲۸ $\pm$ ۴۲/۴۸	c $\cdot$ /۵۸۴ $\pm$ ۲۶/۷۸
0.20%	c $\cdot$ /۰۶۲ $\pm$ ۱/۲۳۵	a $\cdot$ /۷۹۸ $\pm$ ۴۴/۱۲	b $\cdot$ /۰۴۳ $\pm$ ۰/۷۶۵	a $\cdot$ /۰۹۶ $\pm$ ۴۲/۹۳	c $\cdot$ /۱۲۷ $\pm$ ۳۴/۷۸
0.40%	d $\cdot$ /۱۰۱ $\pm$ ۰/۴۹۵	d $\cdot$ /۳۹۹ $\pm$ ۱۳/۲۴	c $\cdot$ /۰۰۷ $\pm$ ۰/۳۹۳	c $\cdot$ /۰۹۸ $\pm$ ۱۳/۵۵	c $\cdot$ /۶۶۳ $\pm$ ۳۲/۳۶
0.60%	e $\cdot$ /۰۱۵ $\pm$ ۰/۱۲۹	e $\cdot$ /۴۳۴ $\pm$ ۸/۵۳۳	bc $\cdot$ /۰۲۲ $\pm$ ۰/۲۴۹	d $\cdot$ /۴۵ $\pm$ ۸/۰۴۸	b $\cdot$ /۵۶۷ $\pm$ ۶۳/۳۴
1%	e $\cdot$ /۰۰۸ $\pm$ ۰/۰۷۵	e $\cdot$ /۰۵۶ $\pm$ ۷/۹۴۲	c $\cdot$ /۰۱۹ $\pm$ ۰/۲۱۷	d $\cdot$ /۱۳۹ $\pm$ ۷/۹۰۵	a $\cdot$ /۷۲۸ $\pm$ ۱۱۲/۲

APC: آلوفیکوسیائین، PC: فیکوسیائین، PBP: فیکوبیلی پروتئین، Chla: کلروفیل a

(۰/۰۵ و ۰/۰۲٪) کمتر تحت تاثیر قرار گرفته و اختلاف معنی داری با نمونه شاهد ندارد اما با افزایش غلظت نفتالن به طور قابل توجهی کاهش می یابد به طوریکه در غلظت ۱٪ به ۳۷/۶۰۲ میکروگرم بر میلی گرم وزن خشک می رسد (شکل ۲).

نتایج حاصل از اثر نفتالن بر فعالیت فتوسنتزی نشان می دهد که فعالیت فتوسنتزی تحت تاثیر نفتالن قرار گرفته و با افزایش غلظت نفتالن کاهش می یابد. میزان تصاعد اکسیژن در غلظت های پایین نفتالن



شکل ۲- اثر غلظت های مختلف نفتالن بر فعالیت فتوسنتزی سیانوباکتری *Leptolyngbya*

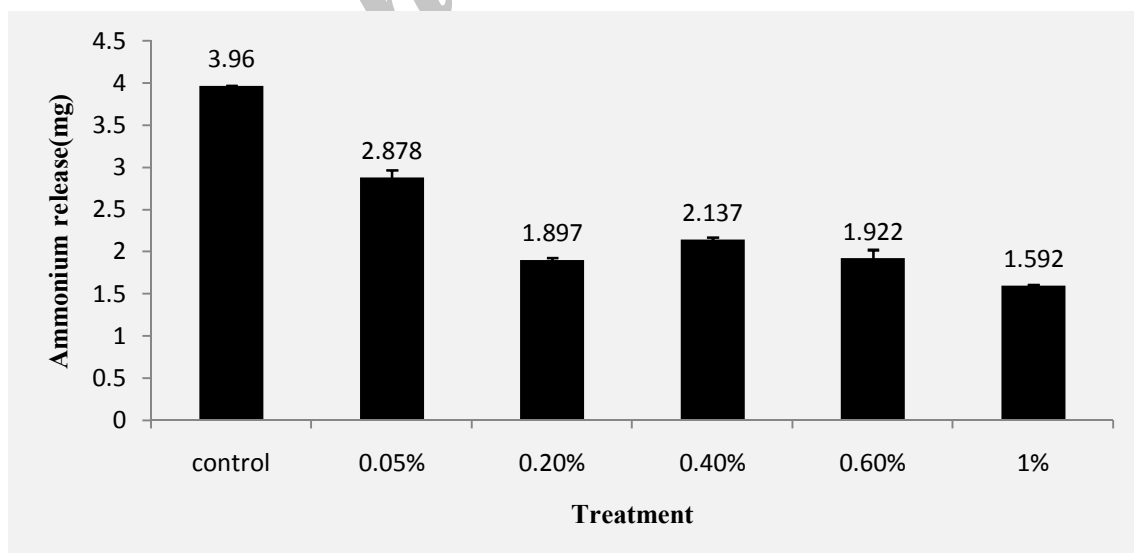
مقدار برون ریزش آمونیوم به طور کلی تحت اثر سمیت نفتالن، نسبت به نمونه شاهد کاهش پیدا کرده و همانطور که در شکل ۳ دیده می شود این مقدار از نمونه کنترل تا غلظت ۰/۲٪ کاهش می یابد. اما در غلظت ۰/۴٪ افزایش یافته و از این غلظت بیشتر دوباره روند کاهشی به خود می گیرد.

### بحث

در این مطالعه اثر غلظت های مختلف نفتالن بر پاسخ های فیزیولوژیک *Leptolyngbya* بررسی شد. رشد سیانوباکتری تحت تاثیر نفتالن قرار گرفته است به طوریکه در غلظت های ۰/۰۵٪ و ۰/۲٪ با اینکه روند رشد افزایشی است اما این افزایش در مقایسه با شاهد کمتر است. در واقع می توان گفت که *Leptolyngbya* در این دو غلظت به ویژه در غلظت ۰/۰۵٪، می تواند حضور نفتالن را تحمل کند و یا حتی شاید بتواند از نفتالن به عنوان منبع کربن استفاده کند و به رشد خود ادامه دهد. اما با افزایش غلظت نفتالن رشد *Leptolyngbya* به شدت تحت

تاثیر قرار گرفته و کاهش می یابد به طوریکه در غلظت های بالای ۰/۶٪ در نهایت سیانوباکتری از بین می رود. این نتایج با نتایج حاصل از مطالعات قبلی مطابقت دارد (Gaur and Singh, 1990).

نتایج حاصل از بررسی اثر نفتالن بر محتوای کلروفیل در جدول ۲ نشان می دهد که با افزایش غلظت نفتالن محتوای کلروفیل کاهش می یابد. محتوای کلروفیل نمونه شاهد بیشترین مقدار است ولی نزدیک به نمونه تحت تیمار ۰/۰۵٪ می باشد اما با افزایش غلظت نفتالن این مقدار به شکل مشخصی کاهش می یابد به طوریکه در غلظت ۱٪ نفتالن به صفر نزدیک شده است. این نتایج مؤید مطالعات قبلی در بررسی اثر سمیت ترکیبات نفتی بر محتوای کلروفیل می باشد (Amotz et al., 1982; Al-Hasan et al., 1987). کاهش محتوای کلروفیل ممکن است در نتیجه ممانعت از سنتز کلروفیل به دنبال ایجاد ممانعت از عمل  $\alpha$ -آمینولولونیک اسید دهیدروژناز و پروتو کلروفیید ردوکتاز باشد (Ouzounidou, 1995).



شکل ۳- اثر غلظت های مختلف نفتالن بر برون ریزش آمونیوم در *Leptolyngbya* (داده ها بصورت میانگین سه تکرار از آزمایش  $\pm$  SE هستند)

در سیانوباکتری‌ها، فیکوبیلی پروتئین‌ها که در سطح استرومایی غشاء تیلاکوئیدها هستند، به عنوان آنتن‌های اولیه گیرنده نوری برای PSII عمل می‌کنند. انتقال انرژی به وسیله این پیگمان‌های اضافی از فیکواریترین (در صورت وجود) به فیکوسیانین و سپس آلفوفیکوسیانین و در نهایت به گیرنده‌های نور با طول موج بالا صورت می‌گیرد (Soltani *et al.*, 2006). ساختار و عملکرد فیکوبیلی پروتئین‌ها در سیانوباکتری‌ها در پاسخ به استرس تغییر می‌کند (Sundaran and Soumaya, 2011). نتایج نشان می‌دهند که محتوای فیکوبیلی پروتئین تحت تیمار نفتالن تغییر کرده است. در این سیانوباکتری فیکواریترین وجود ندارد و بخش اصلی ساختار فیکوبیلی پروتئین، فیکوسیانین می‌باشد. محتوای PC از نمونه شاهد تا غلظت ۰/۲٪ نفتالن روند افزایشی دارد اما از این غلظت بالاتر به طرز قابل توجهی کاهش پیدا کرده است. احتمالاً علت این قضیه این است که در سیانوباکتری برای مقابله با تنش ایجاد شده اندازه فیکوبیلیزوم افزایش یافته و محتوای فیکوبیلی پروتئین تا حدی بیشتر می‌شود اما با افزایش اثر سمیت توان مقابله خود را از دست داده و این مقدار کاهش می‌یابد. کاهش تدریجی مقدار آلفوفیکوسیانین نیز نشان‌دهنده اثر نفتالن بر این رنگیزه می‌باشد. اما در کل، همانطور که Al-Hasan و همکارانش (1998) نشان دادند، در شرایط تنش محتوای فیکوبیلی پروتئین بیشتر از محتوای کلروفیل است. افزایش نسبت PBP/Chla در جدول ۲ نیز مؤید همین مسئله می‌باشد.

اثر نفتالن بر میزان تصاعد اکسیژن کاهشی است هرچند که اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های شاهد و

۰/۰۵٪ و ۰/۲٪ وجود ندارد که این نیز شاید به دلیل تلاش سیانوباکتری برای تحمل شرایط تنش می‌باشد. اما با توجه به مطالعات پیشین، در کل روند کاهشی در فعالیت فتوسنتزی نشان از اثر سمیت نفتالن دارد (Kabli, 1998).

برون ریزش آمونیوم از دو جنبه علمی و اقتصادی در بررسی رشد و سازگاری سیانوباکتری‌ها می‌تواند حائز اهمیت باشد (Boussibia, 1988). وضعیت برون ریزش آمونیوم در غلظت‌های مختلف نفتالن بررسی شد و کاهش این مقدار با افزایش غلظت نفتالن با توجه به اینکه برون ریزش آمونیوم ناشی از اسیمیلایون فعال نیتروژن و انباشت آمونیوم درون سلول می‌باشد، قابل انتظار بود. از آنجاییکه این مقدار در غلظت ۰/۴٪ بالاست، می‌توان این مسئله را اینچنین توجیه کرد که شاید علت برون ریزش بالای آمونیوم در این غلظت ترکیبات نیتروژنی ناشی از اضمحلال سلولی و ورود جدی به فاز مرگ باشد (Borowitzka *et al.*, 1988). اما در غلظت‌های بالاتر بیشتر سلول‌ها این فاز را تقریباً پشت سر گذاشته و بنابراین مقدار NH3 به شدت کاهش یافته است.

این نتایج نشان می‌دهد که نفتالن به عنوان ترکیبی سمی در محیط زیست روی فعالیت‌های فیزیولوژیکی سیانوباکتری *Leptolyngbya* تاثیر دارد اما این سیانوباکتری می‌تواند غلظت‌های ۰/۲ و به ویژه ۰/۰۵٪ نفتالن را تحمل کند.

### پی‌نوشت‌ها

1- Oxyview

- Baalen (1993). Oxidation of naphthalene by cyanobacteria and microalgae. *General Microbiology*, 116:495-500.
- Charles A., B. Bonnie Potocki and J. Santodonato (1992). Exposure to carcinogenic PAHs in the environment. *Environmental Science & Technology*, 26: 1278-1284.
- Chen, Y.Y., L.Z. Zhu and R.B. Zhou (2007). Characterization and distribution of polycyclic Aromatic Hydrocarbon in surface water and sediment from Qiantang river, China. *Journal of Hazardous Materials*, 141: 148-155.
- Gaur, J.P and A.U. Singh (1990). Growth, photosynthesis and nitrogen fixation of *Anabaena doliolum* exposed to assam crude extract. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 44: 494-500.
- Haghighat, S., A. Akhavan Sepahy, M. Mazaheri Assadi and H. Pasdar (2008). Ability of indigenous *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* in microbial enhanced oil recovery. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 5(3): 385-390.
- Kabli, S.A.(1998). Effect of crude oil and naphthalene on the evolution of oxygen by three species of marine algae. *Faculty of Meteorology, Environment and Arid Land Agriculture*, 9: 137-144.
- Kaushik, B.D. (1987). *Laboratory methods for blue-green algae*, Associated Publishing Company, New Dehli India.
- Kong, Q., L. Zhu and X. Shen (2010). Effect of nutrient conditions on the toxicity of naphthalene to *Clorella pyrenoidosa*. *Journal of Environmental Science*, 23(2):307-314.
- Leganes, F., E. Sanchez and E. Fernandez-Agbozu, I.E. and K. Opuene (2009). Occurrence and diagenetic evolution of perylene in sediments of Oginigba Creek, Southen Nigeria. *International Journal of Environmental Research*, 3(1): 117-120.
- Al-Hasan, R.H., N.A. Sorkhoh, D. Al-Bader and S.S. Radwan (1998). Utilization of hydrocarbons by cyanobacteria from microbial mats on oily coasts of Gulf. *Applied Microbiology*, 41: 615-619.
- Amotz, A., A. Katz, and M. Arvon (1982). Accumulation of  $\beta$ -carotene in halotolerant algae: Purification and characterization of  $\beta$ -carotene-rich globules from *Dunaliella bardawil* (Chlorophyceae). *Journal of Phycology*, 18: 529-537.
- Apha.Awwa.WPCF (1985). *Standard methods for examination of water and waste water*; 16<sup>th</sup> ed. Port City Press, Baltimore Maryland.
- Atlas, R. and J. Bragg (2009). *Bioremediation of marine oil spills: When and when not-the Exxon Valdez experience*. *Microbial Biotechnology*, 2(2): 213-221.
- Belcher, H. and E. Swale (1982). *Culturing algae, a guide for schools and colleges*, Tilus Wilson and Son LTD.
- Borowitzka, M.A. and L.J. Borowitzka (1988). *Microalgal biotechnology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Boussiba, S. (1988). *Anabaena azollae* as nitrogen biofertilizer. In: *Algal biotechnology*. (ed). Stadler, T., J. Mollion, M.C. Verdu, Y. Karamanos, H. Morvan and D. Christiaen, Elsevier applied Science.
- Cerniglia, C.E., D.T. Gibson and C. Van-



Soltani, N., R.A. Khavari-Nejad, M. Tabatabaei, S. Shokravi and E. Fernandez-Valiente (2006). Variation of nitrogenase activity, photosynthesis and pigmentation of cyanobacterium *Fischerella ambigua* strain FS18 under different irradiance and PH values. World Journal Microbiology & Biotechnology, 22: 571-576.



Vaiente (1987). Effect of indoleacetic acid on growth and dinitrogen fixation in cyanobacteria. Plant & Cell Physiology, 28: 529-533.

Marker, A. (1972). The use of acetone and methanol in estimation of chlorophyll in the presence of phaeophytin. Freshwater Biology, 2:361-385.

Morlon, H., C. Fortin, M. Floriani, C. Adam, J. Garnier-Laplace and A. Boudou (2005). Toxicity of selenite in the unicellular green algae *Chlamydomonas reinhardtii*: comparison between effects at the population and sub-cellular level. Aquatic Toxicology, 73: 65-78.

Nwuche, C.O. and E.O. Ugoji (2008). Effects of heavy metal pollution on the soil microbial activity. International Journal of Environmental Science and Technology, 5(3): 409-414.

Ouzounidou, G. (1995): Cu-ions mediated changes in growth, chlorophyll and other ion content in a Cu-tolerant *Koeleria splendens*. Biologia Plantarum, 37: 71-78.

Qian, H., X.Y. Xu, W. Chen, Y.X. Jin, W.F. Liu and Z.W. Fu (2009b). Allelochemical stress causes oxidative damage and inhibition of photosynthesis in *Chlorella vulgaris*. Chemosphere, 75:368-375.

Kumar, S., G. Muralitharan and N. Thajuddin (2009). Screening of hypersalin cyanobacterium, *Phormidium tenue*, for the degradation of aromatic hydrocarbons:naphthalene and anthracene. Biotechnology Letters, 150: 1997-2008.

Sundaram, S. and K.K, Soumya (2011). Study of physiological and biochemical alteration in cyanobacterium unred organic stress. American Journal of Plant Physiology, 6: 1-16.