



پژوهشکده علوم پایه کاربردی



معاونت پژوهش و فناوری

گزارش نهایی طرح:

بررسی اثر نور و هوادهی بر رشد و توان تجزیه زیستی آلاینده‌های نفتی
توسط ریزجلبک *Schizothrix* sp. و تحلیل مدل ریاضی آن

کد: 11_ 2159

مسئول طرح:

دکتر ندا سلطانی

اردیبهشت 94





پژوهشکده علوم پایه کاربردی



گزارش نهایی طرح:

بررسی اثر نور و هوادهی بر رشد و توان تجزیه زیستی آلاینده‌های نفتی
توسط ریز جلبک *Schizothrix sp.* و تحلیل مدل ریاضی آن

کد: 11 - 2159

محل اجرا:

گروه پژوهشی میکروبیولوژی نفت

مجری طرح:

ندا سلطانی

دکتری فیزیولوژی گیاهی

همکاران طرح:

شقایق ایرانشاهی - فاطمه نظری

مرتضی رحمانی - بهلول ابراهیمی

مهدی بلفیون - علی ابوالحسنی سورکی

اردیبهشت 94

مشخصات همکاران طرح:

نام و نام خانوادگی	مسئولیت در طرح	رتبه علمی	رشته تحصیلی	جمع کل میزان ساعت فعالیت در طرح
ندا سلطانی	مجری همکار	دانشیار	زیست‌شناسی گیاهی	1000
شقایق ایرانشاهی	زیست‌شناسی	مربی پژوهش	زیست‌شناسی گیاهی	700
فاطمه نظری	همکار بخش شیمی	پژوهشیار	شیمی	400
مرتضی رحمانی	همکار بخش ریاضی	دانشیار	ریاضی	300
بهلول ابراهیمی	همکار بخش ریاضی	-	مهندسی صنایع	300
مهدی بلفیون	همکار بخش زیست‌شناسی	مربی پژوهش	میکروبیولوژی	100
علی ابوالحسنی	همکار بخش زیست‌شناسی	مربی پژوهش	میکروبیولوژی	40



مشخصات کلی طرح

عنوان طرح: بررسی اثر نور و هوادهی بر رشد و توان تجزیه زیستی آلاینده‌های نفتی توسط ریزجلبک *Schizothrix*

sp. و تحلیل مدل ریاضی آن

کد طرح: 11-2159

مسئول طرح: ندا سلطانی، مجری، دانشیار، دکتری فیزیولوژی گیاهی

همکاران: شقایق ایرانشاهی - فاطمه نظری - مرتضی رحمانی - بهلول ابراهیمی - مهدی بلفیون - علی ابوالحسنی

تاریخ شروع طرح: دی 1392

تاریخ تهیه گزارش: دی 1393

چکیده:

در سال‌های اخیر رویکرد پژوهش‌های کاربردی سمت و سوی زیست‌محیطی به خود گرفته و امنیت و سلامت اهمیت بسزایی پیدا کرده است. یکی از معضلات، موضوع آلاینده‌های نفتی (اعم از نفت خام و مشتقات آن) و نیز تاثیرات منفی آن بر محیط زیست است. در همین راستا پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر نور و هوادهی بر توانمندی سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در تجزیه زیستی آلاینده‌های نفتی طراحی و اجرا شد. بدین منظور سیانوباکتری مورد آزمایش بعد از حصول اطمینان از خلوص، تحت شرایط هوادهی و بدون هوادهی و نیز شرایط نوری مختلف (0، 2000 و 5000 لوکس) قرار گرفته و تحت تیمار نفتالن 0.05% و هگزادکان 1% قرار گرفتند. هنگامی که جلبک در فاز لگاریتمی رشد قرار گرفت، در فواصل زمانی مشخص، از طریق پارامترهای OD، DW، کلروفیل، فیکوبیلی پروتئین‌ها و نیز توان تجزیه زیستی مورد ارزیابی قرار گرفت. OD و کلروفیل و فیکوبیلی پروتئین از طریق اسپکتروفتومتری و وزن خشک از روش گراویمتری اندازه‌گیری شد. میزان آلاینده‌ها به کمک گازکروماتوگرافی GC مورد سنجش قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی تاثیر عوامل مورد آزمایش بر تجزیه زیستی هگزادکان و نفتالن حاکی از آن است که نور بدون هوادهی میزان تجزیه هگزادکان و نفتالن را به ترتیب 4% و 8% افزایش می‌دهد ولی نور و هوادهی همزمان میزان تجزیه هگزادکان و نفتالن را 22% و 28% افزایش می‌دهد. میزان رشد و رنگیزه‌ها در سیانوباکتری مورد آزمایش در هر دو تیمار، با نور افزایش و با هوادهی کاهش می‌یابد. بر اساس نتایج بدست آمده نور و هوادهی بر میزان تجزیه زیستی هگزادکان و نفتالن تاثیر مثبت دارند.

کلمات کلیدی: تجزیه زیستی، رشد، رنگیزه، شیزوتریکس، نفتالن، هگزادکان.

صفحه	عنوان
2	1- مقدمه
2	1-1- جلبک‌ها
2	2-1- رده‌بندی جلبک‌ها
4	3-1- جلبک‌های سبز-آبی یا سیانوباکتری‌ها
8	4-1- سیستم فتوسنتزی
10	5-1- فتوسیستم II
12	1-5-1- سیتوکروم b ₆ f
12	2-5-1- فتوسیستم I
14	6-1- رده‌بندی سیانوباکتری‌ها
15	1-6-1- ویژگی جنس <i>Schizothrix</i> Kützing ex Gomont 1892
15	1-1-6-1- شرح کامل سیستماتیک جنس <i>Schizothrix</i>
16	7-1- نفت و آلاینده‌های نفتی
18	8-1- نفتالن
18	9-1- هگزادکان
19	10-1- نقش ریزجلبک‌ها در صنعت نفت
19	11-1- مکانیزم تجزیه هیدروکربن نفت خام
19	12-1- تجزیه زیستی و زیست پالایی
23	13-1- تجزیه بیولوژیکی آروماتیک توسط سیانوباکتری‌ها
23	1-13-1- مطالعه هتروتروفیک
25	2-13-1- مطالعات تنفس‌سنجی
27	14-1- تاثیر هوادهی بر سیانوباکتری‌ها
28	15-1- تاثیر نور بر سیانوباکتری‌ها
28	16-1- اهداف طرح

صفحه	عنوان
31	2- پیشینه تحقیق
31	2-1-1- پیشینه تحقیق در ایران
32	2-2- پیشینه تحقیق در خارج از کشور
38	3- مواد و روش‌ها
39	3-1- تهیه نمونه
39	3-2- نمک‌های شیمیایی
40	3-3- انتقال به محیط کشت جامد
40	3-4- انتقال به محیط کشت مایع
40	3-5- بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک در شرایط تنش
40	3-5-1- تیمار نفتالن
42	3-5-2- تیمار هگزادکان
43	3-6- روش‌های سنجش فیزیولوژیک
43	3-6-1- منحنی رشد
43	3-6-2- اندازه‌گیری وزن خشک
43	3-6-3- سنجش کلروفیل a
43	3-6-4- سنجش فیکوبیلی پروتئین‌ها
44	3-7- سنجش تجزیه زیستی نفتالن و هگزادکان
44	3-7-1- تهیه محیط کشت
44	3-7-2- آماده سازی تیمارها
44	3-7-3- انکوباسیون تیمارها
46	3-7-4- آنالیز GC
46	3-7-4-1- مراحل آماده سازی نمونه جهت تزریق به دستگاه
46	3-7-4-2- مشخصات دستگاه GC
47	3-8- آنالیزهای آماری
48	4- نتایج

صفحه	عنوان
49	1-4- خالص سازی و کشت سیانوباکتری <i>Schizothrix vaginata</i>
50	2-4- تاثیر آلاینده ها بر پاسخ های فیزیولوژیک سیانوباکتری <i>Schizothrix vaginata</i>
50	1-2-4- تاثیر نفتالن بر پاسخ های فیزیولوژیک سیانوباکتری <i>Schizothrix vaginata</i>
50	1-1-2-4- تاثیر نفتالن بر OD سیانوباکتری <i>Schizothrix vaginata</i>
60	2-1-2-4- تاثیر نفتالن بر وزن خشک سیانوباکتری <i>Schizothrix vaginata</i>
71	3-1-2-4- تاثیر نفتالن بر تغییرات کلروفیل سیانوباکتری <i>Schizothrix vaginata</i>
81	4-1-2-4- تاثیر نفتالن بر تغییرات PBP سیانوباکتری <i>Schizothrix vaginata</i>
92	2-2-4- تاثیر هگزادکان بر پاسخ های فیزیولوژیک سیانوباکتری <i>Schizothrix vaginata</i>
92	1-2-2-4- تاثیر هگزادکان بر OD سیانوباکتری <i>Schizothrix vaginata</i>
103	2-2-2-4- تاثیر هگزادکان بر تغییرات وزن خشک سیانوباکتری <i>Schizothrix vaginata</i>
114	3-2-2-4- تاثیر هگزادکان بر تغییرات کلروفیل سیانوباکتری <i>Schizothrix vaginata</i>
124	4-2-2-4- تاثیر هگزادکان بر تغییرات PBP سیانوباکتری <i>Schizothrix vaginata</i>
133	3-4- میزان تجزیه آلاینده های نفتی توسط سیانوباکتری <i>Schizothrix vaginata</i>
133	1-3-4- میزان تجزیه نفتالن توسط سیانوباکتری <i>Schizothrix vaginata</i>
142	2-3-4- میزان تجزیه هگزادکان توسط سیانوباکتری <i>Schizothrix vaginata</i>
150	4-4- تعیین شرایط بهینه با استفاده از تحلیل پوشش داده ها
150	1-4-4- تحلیل پوششی داده ها
151	2-4-4- بهترین شرایط نوردهی برای نفتالن با شرایط هوادهی
152	3-4-4- بهترین شرایط نوردهی برای نفتالن با شرایط بدون هوادهی
152	4-4-4- بهترین شرایط نوردهی برای هگزادکان با شرایط بدون هوادهی
153	5-4-4- بهترین شرایط همزمان نوردهی و هوادهی برای نفتالن
153	6-4-4- تعیین بهترین شرایط همزمان نوردهی و هوادهی برای هگزادکان
155	5- نتیجه گیری
155	1-5- اثرات فیزیولوژیک آلاینده ها بر فیزیولوژی سیانوباکتری <i>Schizothrix vaginata</i>



صفحه	عنوان
162	2-5- اثرات فیزیولوژیک آلاینده‌ها بر فیزیولوژی سیانوباکتری <i>Schizothrix vaginata</i>
166	6- پیشنهادات
168	7- منابع ضمائم چکیده انگلیسی

Archive of SID

فصل اول

مقدمه

Archive of SID

1- مقدمه

1-1- جلبک‌ها

نام جلبک فاقد اساس تاکسونومیکی است و بطور کلی برای نشان دادن میکروارگانیسم‌هایی که پلی‌فلیتیک (موجودات زنده‌ای که منشأ مشترکی ندارند ولی خطوط تکاملی مستقل و متعددی را دنبال می‌کنند) و فتوسنتز کننده هستند، استفاده می‌شود. گیاهان و جلبک‌ها مواد ذخیره‌ای یکسانی تولید می‌کنند، از استراتژی‌های مشابهی علیه انگل‌ها استفاده می‌کنند، همچنین شباهت‌های مورفولوژیکی بسیار زیادی بین گیاهان و جلبک‌ها وجود دارد ولی با این وجود، تفاوت‌های میان آن‌ها بیش از شباهت‌های آن‌ها است. جلبک‌ها در اشکالی که شباهتی بهم ندارند ایجاد می‌شوند، از قبیل تک سلولی میکروسکوپی، چند سلولی ماکروسکوپی، توده‌ها، کلنی‌های منشعب و همچنین می‌توانند در فرم‌های پیچیده‌تری موجود باشند که در تضاد کامل با سیستم آوندی یک شکلی در گیاهان است. گوناگونی در اندازه‌ی جلبک‌ها از فیتوپلانکتون‌های 2-0/2 میکرومتری تا کلپ‌های عظیم 60 متری است. اکولوژی محل زندگی، ساختار سلولی، میزان سازمان‌یافتگی و مورفولوژی، رنگیزه‌ها و فتوسنتز، مواد ذخیره‌ای و پلی‌ساکاریدهای ساختاری منشاهای متفاوت تکاملی از این موجودات را نشان می‌دهند که شامل گونه‌های پروکاریوتی و یوکاریوتی هستند. واژه‌ی جلبک هم به درشت جلبک‌ها اشاره دارد و هم به گروه بسیار متنوعی از میکروارگانیسم‌ها که با نام ریزجلبک شناخته می‌شوند. شمار گونه‌های جلبکی بین 1 تا 10 میلیارد گونه تخمین زده شده است که بیشتر آن‌ها را ریزجلبک‌ها تشکیل می‌دهد (Barsanti and Gualtieri, 2006).

1-2- رده‌بندی جلبک‌ها

در مورد جلبک‌ها یک سیستم رده‌بندی که مورد قبول همگان باشد موجود نیست چون تاکسونومی به دلیل یافته‌های ژنتیکی و فراساختاری جدید به سرعت در حال تغییر است. باید در نظر داشت که طبیعت پلی‌فلیتیک جلبک‌ها با گروه بندی تاکسونومیکی سنتی در تضاد است با این حال آن گروه‌بندی‌ها هنوز برای تعریف خصوصیات عمومی و درجه سازمان یافتگی قابل استفاده هستند. رده‌بندی ارائه شده در این‌جا برپایه‌ی رده‌بندی‌های Van den Hoek *et al.*, (1995) است و با رده‌بندی‌های Bold and Wynne (1978); Margulis *et al.*, (1990); South and Whittick (1987) مقایسه شده است. همانطور که در جدول 1-1 قابل مشاهده است اعضای پروکاریوتی این دسته‌بندی در دو گروه دسته‌بندی شده‌اند در حالی که اعضای یوکاریوتی به 9 گروه دسته‌بندی شده‌اند.

جدول 1-1- رده‌بندی گروه‌های مختلف جلبک‌ها (Barsanti and Gualtieri, 2006)

سلسله	شاخه	رده
Prokaryota eubacteria	Cyanophyta	Cyanophyceae
	Prochlorophyta	Prochlorophyceae
Eukaryota	Glaucophyta	Glaucophyceae
	Rhodophyta	Bangiophyceae
		Florideophyceae
	Heterokontophyta	Chrysophyceae
		Xanthophyceae
		Eustigmatophyceae
		Bacillariophyceae
		Raphidophyceae
		Dictyochophyceae
		Phaeophyceae
	Haptophyta	Haptophyceae
	Cryptophyta	Cryptophyceae
	Dinophyta	Dinophyceae
	Euglenophyta	Euglenophyceae
	Chlorarachniophyta	Chlorarachniophyceae
		Prasinophyceae
	Chlorophyta	Chlorophyceae
	Ulvophyceae	
	Cladophorophyceae	
	Bryopsidophyceae	
	Zygnematophyceae	
	Trentepohliophyceae	
	Klebsormidiophyceae	
	Charophyceae	
	Dasycladophyceae	

1-3- جلبک‌های سبز - آبی یا سیانوباکتری‌ها

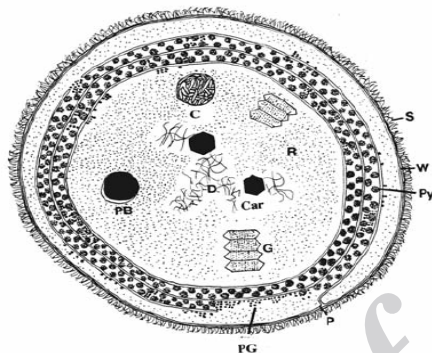
پرکامبرین را عصر جلبک‌های سبز - آبی می‌نامند. در این دوران است که این موجودات با دو فرضیه پای به عرصه حیات می‌گذرانند. نخست تکامل موازی با باکتری‌ها و منشا مشترک از یک والد ناشناخته و دیگر انشعاب از باکتری‌ها با کسب توان فتوسنتز اکسیژنی. بهرحال وجود تشکیلات استروماتولیت و سنگواره‌های سیانوباکتری در پرکامبرین، بهترین گواه برای وفور این موجودات در این دوران است. نخستین سنگواره یافت شده یک سیانوباکتری کوکوئید بوده است که به احتمال قدمتی بیش از چهار میلیارد سال داشته است. (Brasier *et al.*, 2002; Dalton, 2002). آن‌ها نخستین موجوداتی بودند که فتوسنتز اکسیژنی داشتند (آب را تجزیه کرده و از الکترون‌ها و پروتون‌های آن جهت فتوسنتز استفاده می‌کردند) و به این ترتیب برای نخستین بار گاز اکسیژن (O_2) تولید شد. این امر رخداد بسیار مهمی در سطح کره زمین بود. با افزایش میزان اکسیژن در اتمسفر نوع تنفس موجودات نیز به هوازی تغییر یافت و حتی آهنی که در رسوبات سطحی قرار داشت به آهن فریک (قرمز رنگ) اکسیده شد. این تغییرات به همراه تغییر رنگ رسوبات و لایه‌ها از خاکستری به قرمز نشانه پایان دوره آرکتوزوئیک بود. در دوره پروتروزوئیک (دوره سیانوباکتری‌ها) همان طور که شرح داده شد تغییرات مهمی در جو زمین بوجود آمد (شکروی و ساطعی، 1384).

امروزه محل رویش این جلبک‌ها تنوع بسیار دارد، از آب‌های دارای مقادیر متفاوت املاح و درجات متغیر دمایی، در درون و روی خاک، روی صخره‌ها و شکاف‌های آن‌ها و تعدادی نیز بطور معلق در هوا بسر می‌برند. بطور کلی بنظر می‌رسد که سیانوباکتری‌ها در آب‌های قلیائی یا خنثی بیشتر دیده می‌شوند. با این وجود برخی از انواع جلبک‌ها مانند *Chroococcus* در باتلاق‌های با pH4 دیده می‌شوند (Whitton, 2000). سیانوباکتری‌ها بحالت شناور¹ و کفزی² دیده می‌شوند. بعلاوه در پیکر برخی از جگرواش‌ها (هیپاتیک‌ها)، سرخس‌های آبی، سیکادها و گیاهان نهاندانه زندگی کرده و ازت جو را تثبیت می‌کنند (Meeks, 1998; Meeks and Elhai, 2002).

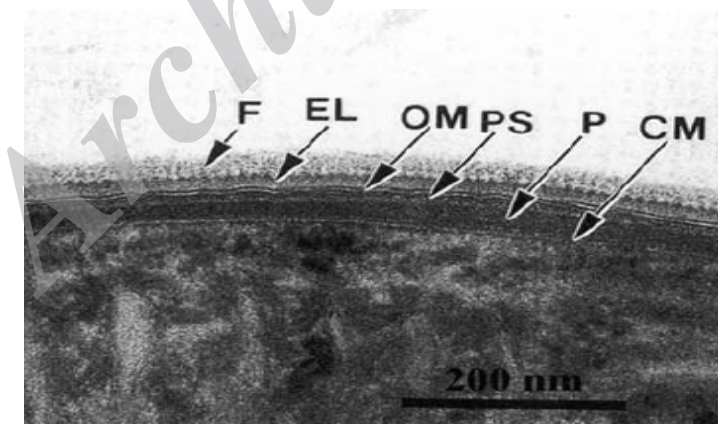
از مهم‌ترین بخش‌های سلول سیانوباکتری‌ها دیواره سلولی آن است. دیواره سلولی در این موجودات ساختار 4 لایه‌ای دارد. لایه داخلی در تماس با غشا سلولی است. لایه دوم که لایه‌ای سخت است متشکل از مورئین³ است. مورئین نوعی پپتیدوگلیکان است که در آن پپتیدها به نوعی پلی ساکارید که از واحدهای متناوب N- استیل گلوکز آمین و N- استیل مورامیک اسید تشکیل شده متصل می‌شوند. دو لایه بیرونی متشکل از لیپوپلی ساکارید هستند. دیواره

¹Planktonic
²Bentic
³murein

سلولی منافذریزی (حدود 70 nm) دارد. این منافذ، مخصوص ترشح غلاف موسیلاژی هستند که از پلی ساکاریدهای مختلفی تشکیل شده‌اند. غلاف موسیلاژی در برخی گونه‌های سیانوباکتری‌هایی در اطراف رشته‌ها و یا در انواع تک سلولی در اطراف سلول‌ها مشاهده می‌شود. این منافذ همچنین در حرکت مواد از سلولی به سلول دیگر موثرند (Lee, 2008).



شکل 1-1-1 طرحی از اجزای ساختاری سلول سیانوباکتری. اجسام سیانوفیسین، (C) Car (کربوکسی زوم، DNA (D)، واگونل (G) و گاز، (P) پلاسما، (PB) اجسام پلی فسفات، (PG) گرانول‌های پلی گلوکان، (Py) فیکوبیلی زوم، (R) ریبوزوم، (S) صفحات، (W) دیواره (Lee, 2008).



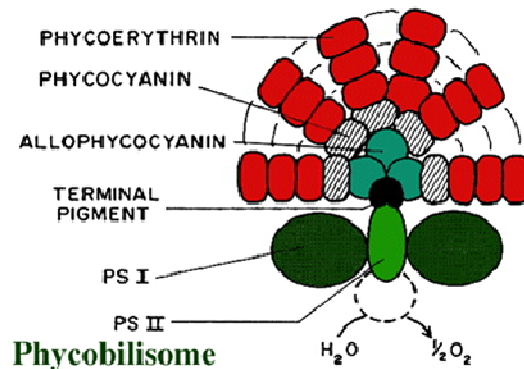
شکل 1-2-2 بخش‌های گوناگون دیواره سلولی سیانوباکتری *Phormidium uncinatum* تهیه شده توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره. دیواره سلولی (CW) دارای لایه‌هایی مشابه با دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی است از قبیل غشای سیتوپلاسمی (CM)، لایه پپتیدوگلیکانی (P)، فضای پری پلاسما (PS) و غشای خارجی، به علاوه سیانوباکتری‌ها دارای دو لایه خارجی (EL) هستند که مختص سلول‌های متحرک است و همچنین فیبرهای مو مانند (F) (Hoiczky and Baumeister, 1995).

حرکت سیانوباکتری‌ها همواره از مسائل جالب و بحث‌انگیز بوده است چرا که این موجودات فاقد تاژک هستند. نوعی از سیانوباکتری‌ها حرکت خاصی موسوم به سریدن⁴ دارند. منشا این حرکت در اثر ترشح لایه‌ای از موسیلاژ از منافذ ذکر شده است اما در صورت فقدان موسیلاژ حرکت، با فعالیت فیبریل‌های کوچکی که به صورت ماریچی در دو لایه بیرونی دیواره سلولی قرار گرفته و حرکات موجی شکلی را انجام می‌دهند انجام می‌شود.

غلاف موسیلاژی در برخی گونه‌های سیانوباکتری‌ها در اطراف رشته‌ها و یا در انواع تک سلولی در اطراف سلول‌ها مشاهده می‌شود، این لایه ژلاتینی آب را در خود ذخیره می‌کند و در نتیجه سبب می‌شود تا سلول در برابر خشکی محیط مقاومت کند، وجود مواد رنگی نیز در آن باعث محافظت سلول در برابر تابش خورشید می‌گردد (Sharpe, 1986; Nobles et al., 2001; Otero and Vincenzini, 2004).

غشا سلولی در این موجودات تفاوت چندانی با سلول‌های یوکاریوتی ندارد. مشاهدات میکروسکوپ الکترونی وجود 3 لایه را در ساختمان غشا مشخص کرده است. لایه بیرونی و درونی آن از جنس پروتئین‌های غشایی بیرونی⁵ و درونی⁶ آب‌گریز است. اما غشا کلروپلاست معمولاً از دو لایه گلیکوزیل گلیسرید تشکیل می‌شود. غشا سلولی در سیانوباکتری‌ها خصوصیت ویژه و منحصر به فردی دارد و آن توانایی غشاء در پیچ خوردگی و ایجاد فضاهایی بین غشا و دیواره سلول است. این مناطق، غنی از پروتئین بوده و در نقل و انتقال الکترون دخالت می‌کنند. غشاهای تیلاکوئیدی نیز در سیانوباکتری‌ها از پیچ‌خوردگی غشا سلولی ایجاد می‌شوند. این غشاها دارای سیستم انتقال الکترون هستند که جهت واکنش‌های نوری فتوسنتز مورد نیاز است. در این قسمت رنگیزه اصلی واکنش‌های فتوسنتزی، کلروفیل a، نیز قرار دارد که به پروتئین‌های غشایی خود متصل شده است. در سمت سیتوسلی تیلاکوئیدها، فیکوبیلی‌زوم‌ها قرار دارند. این اجزا نیز به عنوان آنتن‌های جذب انرژی نورانی برای فتوسنتز عمل می‌کنند. فیکوبیلی‌زوم‌ها خود از رنگیزه‌های فیکوبیلینی تشکیل شده‌اند که شامل فیکوسیانین (آبی) و فیکواریترین (قرمز) است. فیکوبیلی‌زوم‌ها انرژی نورانی را به فتوسیستم II منتقل می‌کنند و این انرژی جهت تجزیه آب و تولید اکسیژن مصرف می‌شود (Palenik and Haselkorn, 1992; Sun et al., 2009).

⁴glidingmovement
⁵Extrinsic
⁶Intrinsic



شکل 1-3- ساختار فیکوبیلی زوم در سیانوباکتری ها (Lee, 2008)

DNA در سیانوباکتری ها فاقد پروتئین های هیستونی است و معمولاً بخشی از آن به صورت ملکول های حلقوی کوچکی که پلاسمید نامیده می شوند در قسمت نوکلئوپلاسم دیده می شود. ریبوزوم های 70s از اجزاء دیگری هستند که در ناحیه سانتروپلاسم مشاهده می شوند (Sherman *et al.*, 2000; Herdman *et al.*, 1979; Allen, 1984; Aboulmagd *et al.*, 2000).

ریزدانه های سیانوفیسین (CPG) نیز از ساختمان های پروتئینی قابل مشاهده دیگر سلول سیانوباکتری ها هستند. این ریزدانه های 500 nm به اندازه کافی بزرگ بوده و حتی با میکروسکوپ های نوری قابل مشاهده اند. این پروتئین پلی مری متشکل از دو آمینواسید آرژینین و آسپاراژین است. به نظر می رسد که این ریزدانه ها نیتروژن را در خود ذخیره می کنند و به این ترتیب این موجودات قادرند به راحتی در محیط های فاقد نیتروژن نیز به سر ببرند.

در سیانوباکتری های رشته ای، برخی سلول ها از نظر ساختمان و عمل از بقیه متمایز می شوند. این سلول های خاص هتروسیست نام دارند و در راسته های Stigonematales و Nostocales تشکیل می شوند. این سلول های ویژه، توانایی تثبیت ازت را در شرایط هوازی داشته و حاوی آنزیم نیتروژناز هستند. فقدان فیکوبیلی زوم به معنی عدم وجود فتوسیستم II و در نتیجه عدم تولید گاز اکسیژن داخلی در این سلول هاست. این در حالی است که فتوسیستم I فعال است و ATP و نیروی احیاء کنندگی لازم را برای تثبیت نیتروژن فراهم می کند. دیواره ضخیم این سلول ها، هتروسیست را نسبت به گاز نیتروژن نفوذ پذیر و نسبت به اکسیژن غیر قابل نفوذ می سازد. دیواره دارای منافذ بسیار ظریفی است که با اتصالات سیتوپلاسمی به سلول های رویشی مجاور خود متصل می شود. منبع کربن این سلول های به صورت قند از این منافذ تأمین شده و محصول نهایی تثبیت ازت که معمولاً گلوتامین است از طریق همین منافذ به سلول های اطراف منتقل

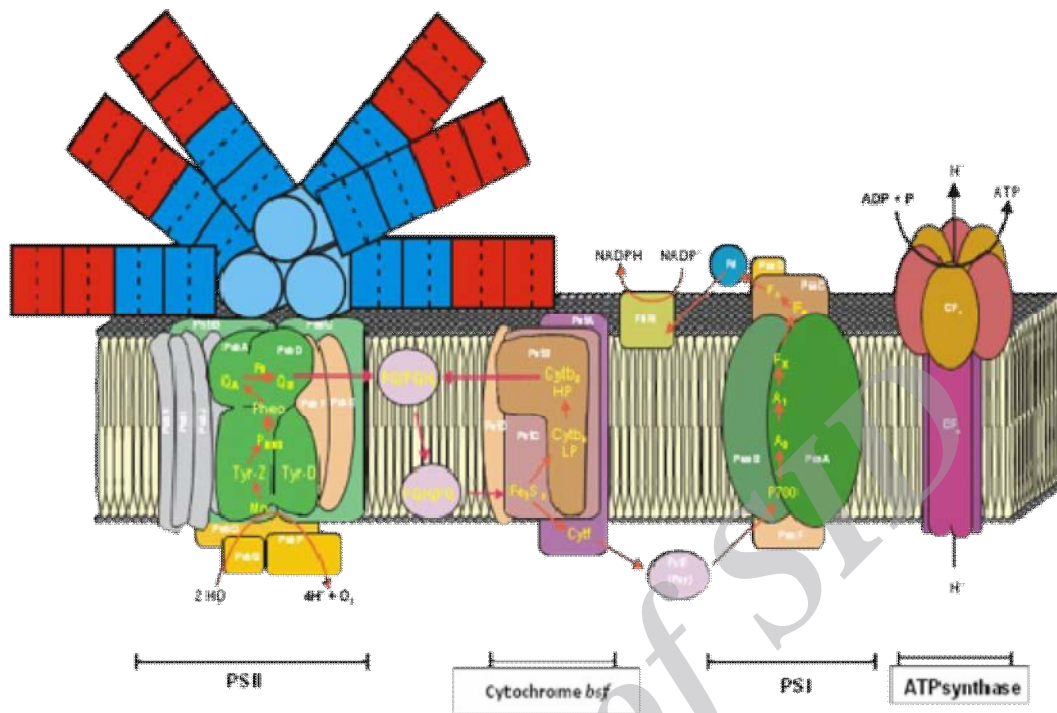
می‌شود. نهایتاً نیتروژن در گرانول‌های سیانوفیسین ذخیره می‌شود. جالب توجه است که هتروسیست تنها زمانیکه آمونیوم محیط کاهش یابد تشکیل می‌شود (Adams, 2000; El-Shehawy and Kleiner, 2003). آکاینته‌ها از طریق اندازه بزرگشان که مرتبط با رویشی بودن آنهاست و دارا بودن گرانول‌هایی که غلظت‌های بالایی از گلیکوژن و سیانوفیسین را دارند شناسایی می‌شوند (Meeks *et al.*, 2002). اصلی‌ترین ویژگی آکاینته‌ها مقاومت بالای آن‌ها به سرما در مقایسه با سلول‌های رویشی است و به همین دلیل با اندوسپورهای باکتری‌های گرم مثبت مقایسه می‌شوند. آکاینته‌ها فقط در سیانوباکتری‌های واجد هتروسیست وجود دارند. تکوین آکاینته از سلول‌های رویشی از طریق افزایش اندازه سلول رویشی، پراکنده شدن واکوئل‌های گازی، افزایش تراکم سیتوپلاسمی و افزایش تعداد ریبوزوم‌ها و گرانول‌های سیانوفیسین است.



شکل 1-4- مقایسه تصاویر آکاینته و هتروسیست (Lee, 2008).

1-4- سیستم فتوسنتزی

چهار کمپلکس پروتئینی به نام‌های cytochrome Atp-synthase, PSII, PSI, b₆f (cyt b₆f) در غشاء تیلاکوئید جای دارند.



شکل 1-5- کمپلکس‌های اصلی فتوسنتزی واقع در غشا تیلاکوئید سیانوباکتری (برگرفته از Bryant, 1994)

رنگیزه‌های فرعی شامل آلفیکوسیانین، فیکوسیانین و فیکواریترین می‌باشد. در واقع در سیانوباکتری‌ها کمپلکس آنتن‌های جمع‌آوری کننده نور بنام فیکوبیلی‌زوم‌ها وجود دارند که متشکل از فیکوبیلی‌پروتئین‌ها می‌باشند. فیکوبیلی‌زوم‌ها در سمت سیتوسولی تیلاکوئیدها قرار دارند.

این اجزا نیز به عنوان آنتن‌های جذب انرژی نورانی برای فتوسنتز عمل می‌کنند. دو فیکوبیلی‌پروتئین با رنگدانه آبی که شامل فیکوسیانین ($Abs_{max} 620nm$) و ($Abs_{max} 650nm$) آلفیکوسیانین و یک فیکوبیلی‌پروتئین با رنگدانه قرمز فیکواریترین ($Abs_{max} 560nm$) می‌باشد. فیکوبیلی‌پروتئین‌ها دارای زیرساختارهای هسته‌ای و میله‌ای شکل می‌باشند. فیکواریترین و فیکوسیانین میله‌هایی را تشکیل می‌دهند که به طور موثر انرژی برانگیختگی را جذب و آن را به هسته فیکوبیلی‌زوم که عمدتاً متشکل از آلفیکوسیانین می‌باشد منتقل می‌کند (Liu et al., 2005). برای بهینه‌سازی عملکرد فتوسنتزی، تنظیم توزیع انرژی برانگیختگی فیکوبیلی‌زوم بین دو فتوسیستم ضروری است (Mullineaux, 2008).

1-5- فتوسیستم II

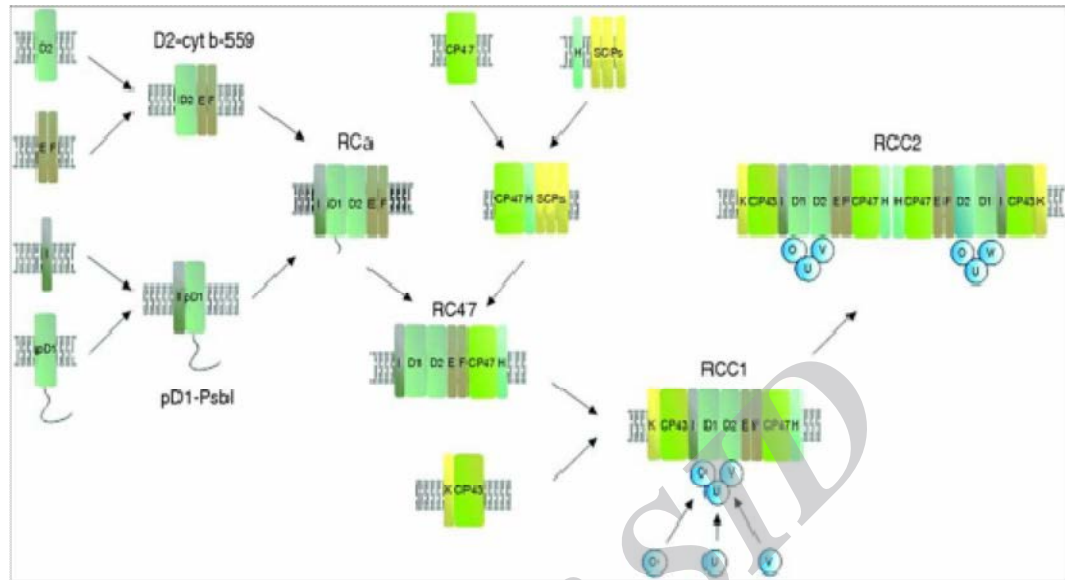
کمپلکس PSII در *Thermosynechococcus elongates* از 17 زیر واحد پروتئین درونی و 3 زیر واحد پروتئین بیرونی، 35 کلروفیل، 11 β کاروتن، 2 هم، یک مولکول آهن غیرهم، دو یون کلسیم، حداقل 25 لیپید سراسری، 1-2 یون کلرید، 3 پلاستوکینون و CaMn_4 تشکیل شده است (Ferreira *et al.*, 2004; Loll *et al.*, 2005; Guskov *et al.*, 2009; Guskov *et al.*, 2010, Sozer *et al.*, 2011).

بخش درونی غشا منومریک PSII متشکل از زیر واحدهای پروتئینی D1 و D2 کمپلکس هسته می‌باشد که هر یک حاوی 5 آلفا هلیکس عرض غشایی هستند که کوفاکتورهای کلروفیل، فتوفیتین و پلاستوکینون را به همدیگر پیوند می‌دهد. علاوه بر آن زیرواحدهای پروتئین CP47 و CP43 که هر یک حاوی 6 α هلیکس عرض غشایی می‌باشند که 26 مولکول کلروفیل a و 9 مولکول β کاروتن را به همدیگر پیوند می‌دهد (Loll *et al.*, 2005; Rappaport and Diner, 2008).

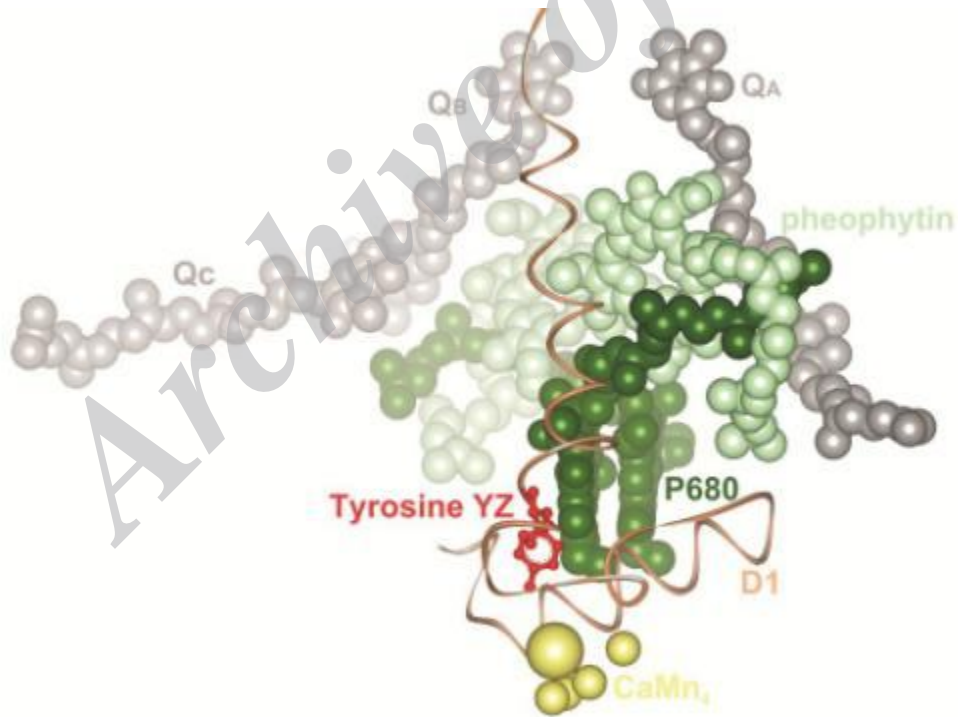
این چهار زیر واحد پروتئینی بزرگ بوسیله زیرواحدهای پروتئینی کوچک با جرم پائین PSII، احاطه می‌شوند. سیتوکروم b-559 از دو α هلیکس عرض غشایی تشکیل شده است. PsbE, PsbF معرف دو مورد از زیر واحد کوچک پروتئینی می‌باشند. سیتوکروم b-559 می‌تواند در نبود D1 و D2 در غشا تجمع پیدا کند. چنین به نظر می‌رسد که b-559 به عنوان یک فاکتور هسته‌سازی برای تشکیل PSII، عمل می‌کند (Komenda *et al.*, 2004; Komenda *et al.*, 2008).

بعد از ادغام D1 و psb1 یک کمپلکس میانی به نام RCa تشکیل می‌شود. در غیاب CP47, CP43 می‌تواند به زیر کمپلکس بچسبد و کمپلکس PSII میانی بعدی بنام RC47 را تشکیل دهد (شکل 1-13) (Dobakova *et al.*, 2007; Komenda *et al.*, 2008).

RC47 نمی‌تواند آب را اکسیده کند اما می‌تواند بوسیله اکسیداسیون احیا در D1 باعث اکسیداسیون تیروزین فعال tyr گردد. اتصال بعدی CP43 شکل‌گیری کمپلکس منومریک PSII (RCC1) را میسر می‌سازد (شکل 1-13) که نقطه آغازین برای تشکیل CaMn_4 (همراه با زیر واحدهای پروتئینی بیرونی PsbU, PsbV, PsbO) بوسیله نور می‌باشد، که در نهایت کمپلکس منومریک و دایمریک PSII را تشکیل می‌دهد (Roose *et al.*, 2007; Enami *et al.*, 2008).



شکل 6-1 - تشکیل کمپلکس PSII در *Synechocystis* (برگرفته از Nixon *et al.*, 2010)



شکل 7-1 - زنجیره انتقال الکترون در PSII RC (برگرفته از Guskov *et al.*, 2009)

انرژی نورانی توسط کمپلکس آنتن‌های جمع‌آوری کننده نور به دام افتاده و به RC PSII منتقل می‌شوند. با کمک نور در RC باری بوجود خواهد آمد که به اکسیداسیون ($P680^+$) محتوی یک جفت *chl a* هتروداایمر، منتهی می‌گردد. الکترون آزاد شده به فتوفیتین ($P680^+$) که اولین گیرنده الکترون می‌باشد انتقال می‌یابد. سپس Q_A و Q_B (پلاستوکینون) الکترون‌ها را از فتوفیتین دریافت می‌کنند. Q_A به طور محکم به یکدیگر چسبیده‌اند و به عنوان فرستنده الکترون عمل می‌کنند ولی Q_B متحرک بوده و سوبستره بخش کینون ردوکتاز کمپلکس فتوسیستم II می‌باشد. پلاستوکینون Q_C با وظیفه ناشناخته در کنار Q_B قرار دارد. دو بار (Q_B^{2-}) احیا شده و PQH_2 را تشکیل می‌گردد. ($P680^+$) دارای قدرت اکسیدکنندگی استثنایی می‌باشد. اکسیداسیون دو مولکول آب در PSII به آزاد شدن چهار پروتون در لومن منتهی می‌گردد که این شرایط به شکل‌گیری شیب الکتروشیمیایی کمک کرده و باعث سنتز ATP می‌گردد.

1-5-1- سیتوکروم b_6f

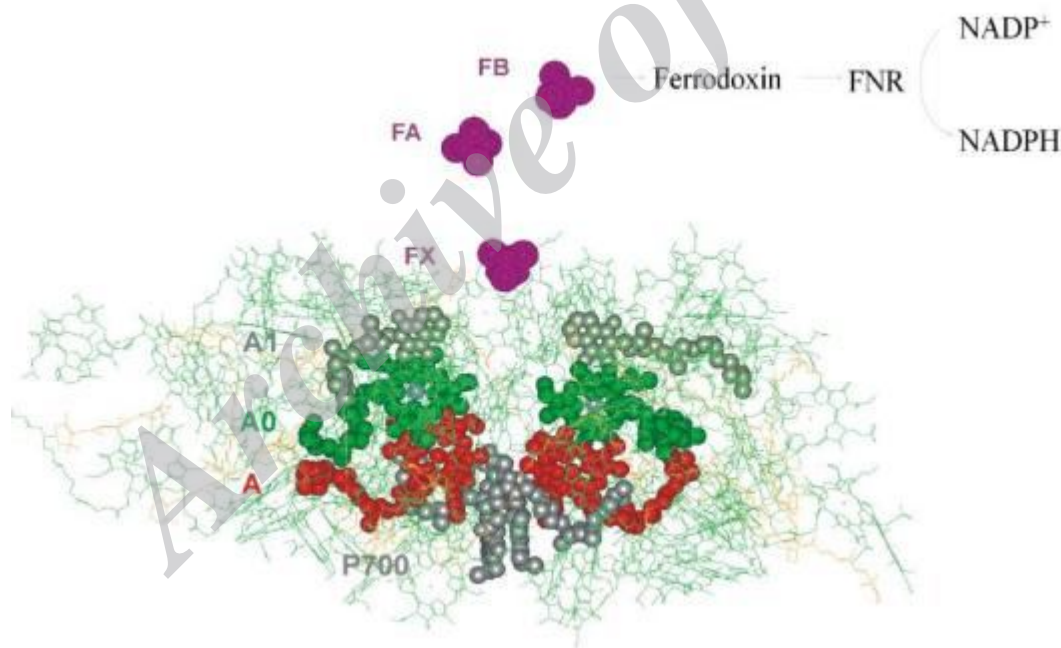
کمپلکس $cyt\ b_6f$ کمپلکس پروتئینی بزرگی است که به غشا متصل بوده و متشکل از 8 زیرواحد پروتئینی و چند کوفاکتور می‌باشد. $Cyt\ b_6\ f$ و بین کمپلکس‌های PSII و PSI در غشا تیلاکوئیدی قرار دارد. چهار زیر واحد پروتئینی بزرگ آن شامل $cyt\ f$ ، پروتئین آهن-گوگرد، $cyt\ b_6$ و زیرواحد IV می‌باشد. الکترون‌ها از طریق مولکول‌های پلاستوکینون متحرک PQH_2 از فتوسیستم II به کمپلکس $cyt\ b_6f$ منتقل می‌شوند و در نهایت الکترون‌ها به PSI انتقال می‌یابند (kurisu et al., 2003).

1-5-2- فتوسیستم I

فتوسیستم I در *Thermosynechococcus elongates* از 12 زیر واحد پروتئینی تشکیل شده است که با 127 کوفاکتور پیوند دارد و مسئول به دام انداختن نور و انتقال الکترون می‌باشند. این کوفاکتورها شامل کلروفیل a 96 و 22 کاروتنوئید، دو فیلوکینون، سه خوشه آهن گوگردی و چهار مولکول لیپید می‌باشند. (بخش مرکزی کمپلکس هسته‌ای به وسیله دو زیرواحد پروتئینی هتروداایمری PsaA , PsaB که از 22 هلیکس ترانس ممبرین در مرکز کمپلکس منومری

PSI تشکیل می‌شود). آنها در هماهنگی انتقال الکترون کلروفیل a، کاروتنوئیدها و کوفاکتورهای اکسیداسیون - احیا نقش مهمی را ایفا می‌کنند. PSI به فرم‌های منومریک و تری مریک وجود دارد. فرم PSI تری مریک در غشا تیلاکوئید فراوان و برای رشد سلول‌ها در شدت نور اندک لازم می‌باشد. در ضمن PSI تری مریک نقش مهمی را در تجمع و یکپارچگی ساختمان PSI ایفا می‌کند. توازن پویا میان شکل‌های منومریک و تری مریک در غشا تیلاکوئید می‌تواند پایه و اساس سازگاری کوتاه مدت سلول با شرایط متغیر محیطی باشد (Jordan *et al.*, 2001; Fromme *et al.*, 2001; Grotjoham and Frumme, 2005; Amunts and Nelson, 2009; El-Mohsnawy *et al.*, 2010).

الکترون از P_{700} مرحله به مرحله به A و A_0 (مولکولهای کلروفیل a)، A_1 (یک مولکول فیلوکینون) و از آنجا به خوشه‌های آهن - گوگرد، F_X ، F_A ، F_B منتقل می‌شود. فردوکسین الکترون را به آنزیم $NADP^+$ (FNR) $NADPH^+$ احیا می‌شود. reductase منتقل می‌کند که در نهایت $NADP^+$ به $NADPH^+$ احیا می‌شود.



شکل 1-8- زنجیره انتقال الکترون در PSI RC (برگرفته از Jordan, 2001)

1-6- رده‌بندی سیانوباکتری‌ها

در حال حاضر سیانوباکتری‌ها از طبقه‌بندی رضایت بخش و مورد توافق عام محققین ذیربط برخوردار نیستند. علت عمده در این خصوص را می‌توان در وجود دیدگاه‌های متفاوت درباره صفات مورد نظر در طبقه‌بندی و چگونگی تشخیص آن‌ها جستجو کرد (شکروی، 1377).

آنچه در ایران و سایر کشورهایی که همسان با دنیا از دهه‌های بیست و سی قرن بیستم، بررسی‌های فلورستیک و بلکه تاکسونومیک خود را آغاز نکرده‌اند، مشکل عمده به نظر می‌رسد، عدم دستیابی به شاخص‌های عمده‌ای است که این موجودات را به شکل مناسب و به صورت شفاف نشان ویژه‌سازی کند. از این رو کلیه کلیدهای شناسایی که امروزه در کشور مورد استفاده قرار می‌گیرد و تعدادی از آن‌ها در ادامه مطلب بدان‌ها اشاره رفته و به ناچار از آن‌ها استفاده شده کارایی مناسب خود را از دست می‌دهند و حتی در مواردی فاقد کارایی می‌باشند (شکروی و همکاران، 1381).

گروهی از خصوصیات راسته‌های سیانوباکتری‌ها که توسط (Castenholz and Waterbury, 1989) مرتب شده‌اند در جدول 1-2 آورده شده است (Whitton and Potts, 2000; Lee, 2008).

جدول 1-2- خصوصیات راسته‌های سیانوباکتری‌ها (Castenholz and Waterbury, 1989).

ریسه‌ای	غیر ریسه‌ای
<p>Order Oscillatoriales</p> <p>این راسته شامل سیانوباکتری‌های رشته ای است، سلولهای این راسته فاقد هتروسیست و آکینت هستند. از جنس‌های این راسته می‌توان <i>Lingbya, Oscillatoria, Spirulina, Arthrospira, Phormidium, Schizothrix, Microcoleus</i> را نام برد.</p>	<p>Order Chroococcales</p> <p>تک سلولی، سلول‌ها توسط دیواره‌ی خارجی یا با ماتریکس ژل مانند کنارهم قرار گرفته‌اند، تولیدمثل از طریق تقسیم دوتایی از یک یا دو یا 3 جهت بصورت متقارن یا نامتقارن انجام می‌شود یا از طریق جوانه‌زنی، آکینت در این سیانوباکتری‌ها کمیاب است.</p>
<p>Order Nostocales</p> <p>تقسیم دوتایی در یک جهت موجب ایجاد ریسه می‌شود، زمانی که غلظت نیتروژن در محیط کم باشد در هر ریسه یک یا دو سلول تمایز می‌یابند و به هتروسیست تبدیل می‌شوند،</p>	<p>Order Pleurocapsales</p> <p>تک سلولی، سلول‌ها توسط دیواره‌ی خارجی یا با ماتریکس ژل مانند کنارهم قرار گرفته‌اند، تکثیر از طریق تقسیم دوتایی درونی با تولید سلول‌های دختر کوچکتر از سلول‌های مادر</p>

انجام می‌شود یا از راه ترکیب کردن تقسیم‌های دوتایی و چندتایی، معمولاً آکایننت در آنها دیده نمی‌شود.

برخی از آنها آکایننت تولید می‌کنند.

Order Stigonematales

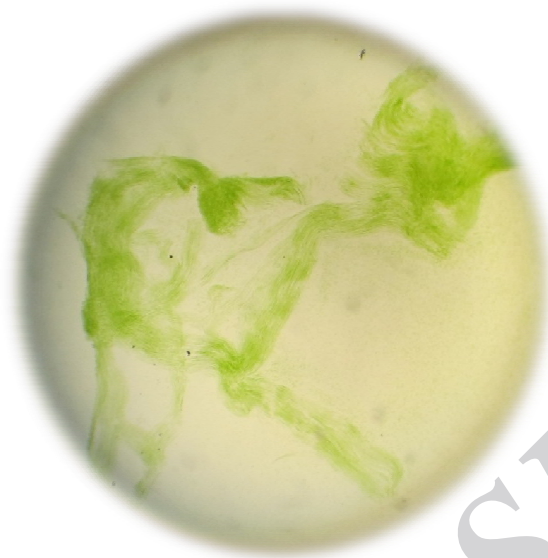
تقسیم دوتایی معمولاً در بیش از یک جهت رخ می‌دهد سلول‌ها رشد می‌کنند و ریشه‌ها را ایجاد می‌کنند. تقریباً همیشه توانایی تولید هتروسیست را دارند، برخی از آنها دارای آکایننت هستند.

1-6-1- ویژگی‌های تاکسونومیک جنس *Schizothrix* Kützing ex Gomont 1892

این جنس از راسته Oscillatoriales و خانواده Schizotrichaceae می‌باشد.

1-1-6-1- شرح کامل سیستماتیک جنس *Schizothrix*

ریشه‌ای- کلنی، ریشه‌ها قطبی، ضخیم، ندرتا "یک ریشه، معمولاً" چندین ریشه نسبتاً "موازی در یک غلاف نازک، کمی باریک شدگی در آن وجود دارد، ژلاتینی، همگن، ندرتا" لایه لایه، با حاشیه محدود، صاف یا موجی نامنظم؛ غلاف‌ها بدون رنگ یا بخشی رنگی، زرد، زرد-قهوه‌ای، قرمز یا آبی-بلفش؛ انتهای غلاف‌ها باریک یا نقطه‌ای، معمولاً" بسته، گاهی منشعب. ریشه‌ها در تال‌های میکروسکوپی یا ماکروسکوپی، در دستجات قائم به هم پیوسته، یا با کربنات کلسیم مرسوب شده و کم و بش سخت شده‌اند، کلنی‌های لایه دار یا نیمه کروی روی سوبسترا.



شکل 1-9- عکس میکروسکوپی از نمونه *Schizothrix sp.* (بزرگنمایی: x400)

7-1- نفت و آلاینده‌های نفتی

کلمه نفت در زبان انگلیسی پترولیوم⁷ نامیده می‌شود. از دو کلمه پترا (لغت یونانی کلمه سنگ روغن) و کلمه اولئوم (یک نوع روغن) تشکیل شده‌است. این ماده ترکیب پیچیده‌ای از انواع هیدروکربن‌هاست. نفت تقریباً از دو عنصر اصلی کربن و هیدروژن تشکیل شده است. نسبت این دو اتم به یکدیگر یعنی H، معادل 1/85 است. عناصر دیگر نظیر گوگرد، ازت و اکسیژن در مجموع، کمتر از 3 درصد کل ترکیب نفت را تشکیل می‌دهند. اثراتی هم از فسفر و فلزات سنگین نظیر نیکل و وانادیوم در نفت‌ها دیده می‌شود. دو عنصر کربن و هیدروژن تماماً به صورت ترکیبات هیدروکربنی در نفت وجود دارند. این ترکیبات از نظر شکل، ساختمان و اندازه مولکولی بسیار متنوع بوده و بر اساس همین اصل مشخصه‌های فیزیکی و شیمیایی نفت‌ها از تنوع و گستردگی بسیاری برخوردار است.

تمام هیدروکربن‌های نفتی TPH⁸ به دو دسته اصلی تقسیم می‌شوند:

⁷ Petroleum

⁸ Total Petroleum Hydrocarbon

1- گروه ترکیبات آلی گازولینی⁹

آلکان‌های کوتاه زنجیر C_{6-10} با نقطه جوش پایین ($60-170^{\circ}C$) مانند ایزوپنتان، 2-3 دی متیل بوتان، n- بوتان، n-پنتان و ترکیبات آروماتیک فرار مانند هیدروکربن‌های تک حلقه‌ای بنزن، تولوئن، اتیل بنزن و گزین (BTEX).

2- گروه ترکیبات آلی دیزلی¹⁰

شامل آلکان‌های بلند زنجیر C_{10-40} و هیدروکربن‌های آروماتیکی مانند PAH ها¹¹ هستند. GRO های مانند BTEX به سرعت در طبیعت جابه جا می شوند. در حالیکه PAH ها به سختی به خاک متصلند (Kamath et al., 2004).

PAH ها گروهی از ترکیبات تشکیل شده از دو یا چند حلقه هستند که از ساختارهای اصلی نفت خام به شمار می‌آیند (Satheesh Kumar et al., 2009). PAH ها در طول آلودگی‌های ایجاد شده به وسیله نفت خام و یا پالایش محصولات نفتی به محیط آزاد می‌شوند. این ترکیبات هیدروفوبیک هستند و بخش اعظم پایداریشان در اکوسیستم به علت حلالیت کم آن‌ها در آب می‌باشد. بنابراین در مواد رسوبی نفوذ می‌کنند. آژانس حفاظت از محیط زیست (EPA) 16 ترکیب غیر جایگزین PAH را به عنوان آلوده کننده‌های اولیه محیط زیست شناسایی کرده است که سرطان زایی 8 مورد از این‌ها به اثبات رسیده است. انواع مختلفی از PAHs در محیط‌های دریایی شناسایی شده است. تاثیر PAHs در محیط‌های دریایی شامل ایجاد سمیت و سرطان‌زایی در موجودات زنده دریایی و انتقال آن به انسان از طریق غذاهای دریایی می‌باشد (Al-Hasan et al., 1994). PAH ها اثرات وسیعی بر روی سلامت جانوران دارند. این مواد با DNA واکنش داده و منجر به ایجاد جهش‌ها و سرطان‌های مختلفی می‌شوند. محققان با اشاره به تاثیرات مخرب PAH ها بر روی مولکول‌های DNA، نشان داده‌اند که این مواد از طریق ایجاد جهش در ژن‌های پروتوانکوژن و از کار انداختن ژن‌های بازدارنده ایجاد تومورها، به خصوص باعث ایجاد سرطان پوستی و تومورهای ریوی می‌شوند. بنابراین آلودگی‌های ناشی از این ترکیبات بسیار مورد توجه محققان در سال‌های اخیر قرار گرفته شده است. PAH های کوچکتر مثل نفتالن و آنتراسن از جمله آلوده کننده‌های محیط هستند که در رابطه با تجزیه شدنشان توسط باکتری‌ها و اکسیداسیونشان به واسطه‌های آلیفاتیک مورد بررسی قرار گرفته شده اند (Satheesh Kumar et al., 2009).

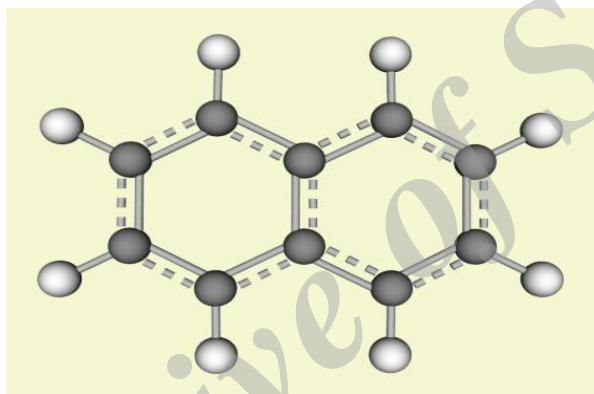
⁹ Gasoline range organics (GRO)

¹⁰ Diesel range organics

¹¹ Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

8-1- نفتالن

نفتالن یک هیدروکربن آروماتیک پایه است که از نفت خام یا زغال سنگ مشتق می‌شود. این ترکیب کشنده حشرات است که از آن به عنوان ضد حشرات استفاده می‌شود. نفتالن و دیگر هیدروکربن‌های حلقوی در اثر روندهای سوختن ناقص در صنعت، منابع خانگی مثل دود سیگار و سوخت وسایل نقلیه و همچنین وقایع طبیعی مثل آتش‌سوزی جنگل‌ها به محیط آزاد می‌شوند. این ترکیب به عنوان اولین حشره‌کش در ایالات متحده آمریکا در سال 1948 معرفی شد. اما در سال 1981 سمیت آن توسط EPA¹² موضوع بررسی قرار گرفت و در سال 2008 توسط این آژانس به عنوان ماده سمی ثبت شد (Pacheo and Santo, 2002).



شکل 10-1 - نفتالن (C₁₀H₈) (www.quantumwise.com)

9-1- هگزادکان

هگزادکان که کتان نیز نامیده می‌شود ترکیبی شیمیایی شامل یک زنجیره 16 کربنی می‌باشد که شکل ظاهری این ترکیب، مایع شفاف بی‌رنگ است و از ترکیبات آلیفاتیک نفتی محسوب می‌شود (www.Wikipedia.org).



شکل 11-1 - هگزادکان (C₁₆H₃₄)

¹² Environmental Protection Energy

10-1- نقش ریزجلبک‌ها در صنعت نفت

ریزجلبک‌ها دسته‌ای از میکروارگانیسم‌ها، با کاربردهای مختلف می‌باشند. این موجودات از شاخه‌های مختلف شامل اعضای یوکاریوت و نیز پروکاریوتیک (سیانوباکتری‌ها) تشکیل شده‌اند. از کاربردهای آنها می‌توان به صنعت نفت اشاره نمود. این موجودات هم در تشکیل و هم در تجزیه این ترکیبات نقش دارند. مطالعات اولیه نشان می‌دهد که این موجودات قادرند، اجزای آروماتیک و آلیفاتیک نفت را اکسید کنند. علاوه بر این در مکان‌هایی که سیانوباکتری‌ها در آنها غالب هستند، قارچ‌ها و باکتری‌های تخمیرکننده نفت در لایه‌های پلی‌ساکاریدی این سیانوباکتری‌ها به طور طبیعی زندگی می‌کنند.

11-1- مکانیزم تجزیه هیدروکربن نفت خام

سریعترین و کاملترین تجزیه اکثر آلانده‌های ارگانیک تحت شرایط هوازی صورت می‌پذیرد. اولین فرآیند یک فرآیند اکسایشی می‌باشد که توسط اکسیژنازاها و پراکسیدازها صورت می‌پذیرد. هیدروکسی‌لازهای آلکان سیتوکروم P450 از خانواده هم-تیولات منواکسیژناز می‌باشد که نقش مهمی را در تجزیه بیولوژیکی هیدروکربن‌های نفتی ایفا می‌کنند. برای راه‌اندازی تجزیه بیولوژیکی وارد ساختن اکسیژن توسط آنزیم ذکر شده لازم می‌باشد، که این امر به طول زنجیره هیدروکربنی وابسته می‌باشد.

12-1- تجزیه زیستی و زیست‌پالایی¹³

زیست‌پالایی به عنوان راهی برای بهبود بخشیدن مکان‌های آلوده است جایی که افزودن میکروارگانیسم‌های خاصی مثل سیانوباکتری‌ها، باکتری‌ها، جلبک‌ها، قارچ‌ها و پروتوزوا یا تقویت میکروارگانیسم‌های موجود می‌تواند تاثیرگذاری زیست‌پالایی را بیشتر کند. این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند گستره وسیعی از ترکیبات نفتی را تجزیه کنند. تعداد زیادی از سودوموناس‌ها قادر به تجزیه هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای هستند که از خاک جدا شده‌اند.

تفکیک مفاهیم تجزیه زیستی و زیست‌پالایی در جهت درک آنها مهم و ضروری است. تجزیه زیستی یک پدیده طبیعی است که طی آن میکروارگانیسم‌ها مولکول‌های آلی را به سایر مواد تبدیل می‌کنند و موادی مانند دی‌اکسیدکربن تولید می‌کنند (Hoff, 1993). زیست‌پالایی تقویت کردن این فرآیند از طریق افزودن جمعیت‌های میکروبی یا شبیه‌سازی این جمعیت‌ها از راه استفاده از محیط‌های کشت و استفاده از تکنیک‌های هوادهی و کنترل دما

¹³ Bioremediation

است (Atlas, 1995). هدف از این دو فرآیند، تجزیه آلودگی‌های زیستی است به غلظت‌هایی که یا قابل تشخیص نباشند یا اگر باشند زیر حد انتشار به سایر بخش‌های اکوسیستم باشند.

تمایل به پاکسازی نشت‌های نفتی در دریا و آب‌های شیرین با استفاده از میکروارگانیسم‌ها برای پاکسازی سواحل از نفت چندین سال است که افزایش پیدا کرده است. مطالعات اولیه نشان داد با وجود اینکه باکتری‌های اکسیدکننده هیدروکربن‌ها پراکنده هستند، زمانی که نفت وارد آب می‌شود محدودیت نیتروژن و فسفر رخ می‌دهد. این محدودیت می‌تواند با افزودن فرمولی حاوی کود چربی‌دوست تصحیح شود. آلودگی دریاها موجب پیشرفت تکنیک‌های مرتبط با آلودگی نفتی به خصوص تکنیک‌های زیستی شده است (Okoh and Trejo-Hernandez, 2006). برخی از میکروارگانیسم‌های خاکزی و آبی قادر به تجزیه زیستی نفت خام هستند. اجزای نفت می‌توانند به وسیله تعداد زیادی از میکروارگانیسم‌های آبی و خاکزی مورد حمله قرار بگیرند. مطالعات بر روی جنس‌های مختلفی از پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها صورت گرفته است، ولی مجموعاً "بیشتر آن‌ها بر روی معدودی از جنس‌های باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌های ریشه‌ای متمرکز می‌باشد.

گرچه در خصوص بهبود فاضلاب‌های کشاورزی و دامپروری توسط جلبک‌ها تحقیقات زیادی صورت گرفته است، ولی اطلاعات زیادی در خصوص کاربرد جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها (جلبک‌های سبزآبی) در بهبود زیستی آلودگی‌هایی از قبیل نفت خام یا هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای وجود ندارد. در طول سال‌های اخیر، قابلیت این موجودات زنده در بیوترانسفورماسیون و تجزیه زیستی این آلودگی‌ها گزارشاتی انتشار یافته است. نتایج این گزارشات حاکی از آن است که این موجودات می‌توانند برخی از آلاینده‌ها (Cerniglia et al., 1980; Narro et al., 1992) و نیز نفت خام را تجزیه نموده (Raghukumar et al., 2001) و در تیمار زیستی آب‌ها و خاک‌های آلوده نقش داشته باشند.

شواهد روزافزون نشان می‌دهند، موجودات فتوسنتزکننده خصوصاً "سیانوباکتری‌ها در اکسیداسیون و تجزیه هیدروکربن‌ها نقش دارند (Raghukumar et al., 2001; Al-Hasan et al., 2001). در مناطق نفتی که در مناطق گرمسیری وجود دارند، توده‌های سیانوباکتریایی اغلب در محل‌هایی که آلوده به نفت هستند، اعم از خاک و آب تشکیل می‌گردند. این حالت بعد از نشست نفت در جنگ خلیج در کویت دیده شد، که در آن محل بلوم سیانوباکتریایی، چسبیده به نفت تشکیل شد (Sorkhoh et al., 1992). توده‌های سیانوباکتریایی، اجتماعات میکروبی متشکل از باکتری‌های فتوسنتزی و غیرفتوسنتزی و قارچ‌ها هستند، که در موسیلاژ سیانوباکتریایی محاط شده‌اند. این اجتماعات

میکروبی قادرند که هیدروکربن‌ها را به خوبی تجزیه نمایند در واقع آن‌ها قادر به فتوسنتز، مصرف و اکسیدکردن n- آلکان‌ها هستند (Abed et al., 2002; Sorkhoh et al., 1995).

سیانوباکتری‌ها اساساً موجودات فتوسنتزکننده اکسیژنی هستند، ولی تعدادی از آن‌ها قادرند از ترکیبات آلی اضافی از طریق هتروتروفی یا فتوهتروتروفی استفاده کنند. گزارش‌ها در این خصوص متعددند. در اغلب موارد هتروتروفی فقط با استفاده از تعداد محدودی گهرمایه‌های¹⁴ آلی مانند گلوکز، فروکتوز، ریبوز، سوکروز و نیز گلیسرول، قند نامیده می‌شوند، آزمایش شده است.

جالب آنکه، گزارش‌ها اولیه نشان می‌دهند، تعدادی از سیانوباکتری‌ها مثل سوش‌های *Anabaena*، *Nostoc*، *Gloeocapsa*، *Synechococcus* sp.، *Anacystis nidulans*، *A.flos-aquae*، *variabilis* و *Chlorogloeopsis* قادرند استات را همگون‌سازی کنند. این نتیجه در صورت تایید به درک توان سیانوباکتری‌ها برای مصرف هیدروکربن‌ها کمک می‌کند. همانطور که قبلاً اشاره شد، آلکان‌ها از طریق اکسیداسیون به اسیدهای چرب و سپس به واحدهای استات تبدیل می‌شوند.

متابولیسم ترکیبات آلی خارجی توسط سیانوباکتری‌ها، موضوع دیگری است که مطالعات متعددی بر روی آن صورت پذیرفته است. گلوکز خارجی از طریق مسیر اکسیداتیو پنتوز فسفات متابولیزه می‌گردد. متابولیسم استات آگزوزن توسط سیانوباکتری‌ها نیز مورد مطالعه قرار گرفته است. نشان داده شده است در *Anabaena variabilis* 18% کربن آلی از استات افزوده شده به محیط کشت منشاء گرفته است.

مطالعات معدودی بر روی تاثیرات نفت و یا مشتقات نفتی بر رشد، تصاعد اکسیژن، نقش تاریکی و ترکیبات رنگیزه‌ای سیانوباکتری‌ها و ریزجلبک‌ها نیز صورت پذیرفته است. تعدادی از این مطالعات تمایزی بین بخش‌های محلول و غیرمحلول در نفت خام قائل شده است.

محققین 5 جزء از ترکیب نفت خام را جدا کرده، تاثیر بخش‌های پارافینی، آسفالتی و آروماتیک را بر روی تصاعد اکسیژن فتوسنتزی و تنفس تاریکی در *Anabaena doliolum* بررسی نموده‌اند. بخش‌های آسفالتی و آروماتیک هر دو فعالیت ذکر شده را بازداشته و بخش‌های پارافینی نقش تحریک‌کننده داشته‌اند. تیمار با نفت خام تاثیرات بازدارندگی برگشت‌پذیر یا غیرقابل برگشت بر روی فتوسنتز میکروبی می‌گذارد.

¹⁴ Substrates

گزارش‌هایی مبنی بر تحریک فتوسنتز، تنفس تاریکی و رشد میکروارگانیسم‌های فتوسنتزی در هنگام تیمار با n -آلکان‌ها وجود دارد. سیانوباکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن نیز مورد توجه قرار گرفته‌اند. رشد دو سیانوباکتری غیرخالص *Microcoleus chthonoplastes* و *Phormidium corium* که از محیط‌های غنی از نفت جدا شده‌اند، توسط هیدروکربن‌ها افزایش یافته و نسبت کلروفیل به کاروتن در سلول‌ها در پاسخ به تیمار هیدروکربنی کاهش نمی‌یابد. نتایج تحقیق اخیر نشان می‌دهد که نفت خام و n -آلکان‌ها هیچ تنشی را به این سویه‌های خاص وارد نمی‌کنند. واضح است که موجودات فتوسنتزکننده به روش‌های مختلف به نفت خام و اجزای آن واکنش نشان می‌دهند. نتایج برخی آزمایشات نشان می‌دهد که مقدار بیومس و بیلی‌پروتئین سیانوباکتری‌ها در هنگامی که در معرض نفت خام یا n -آلکان‌های مجزا قرار می‌گیرند، افزایش می‌یابد. این افزایش رشد بایستی با استفاده از هیدروکربن‌ها توسط سیانوباکتری‌ها در طی یک زندگی میکسوتروف ناشی شده باشد. هم‌چنین نسبت کلروفیل به کاروتن سیانوباکتری‌ها در پاسخ به افزودن نفت خام یا n -آلکان‌ها کاهش نیافته است. این بدان معنی است که میکروارگانیسم‌های فتوسنتزی ممکن است کاروتن بیشتری نسبت به کلروفیل تحت تنش در خود انباشته کنند (Al-Hasan et al., 1987; Ben-Amotz et al., 1982).

شواهد دیگر مبنی بر نقش مستقیم سیانوباکتری‌ها در اکسیداسیون آلکان، آن است که اسیدهای چرب از اکسیداسیون در چربی‌های ویژه تیلاکوئیدها وارد می‌شوند. این چربی‌ها در لیپیدهای *Rhodococcus rhodochrous* که مصرف‌کننده نفت خام در کشت‌های غیرخالص است، وجود ندارند (Sorkhoh et al., 1990).

نشان داده شده است که گونه‌های متفاوت جلبک‌های سبز-آبی به طور طبیعی هم ترکیبات آروماتیک هیدروکربن‌ها و هم زئوبیوتیک‌ها را تجزیه می‌کنند. به نظر می‌رسد سیانوباکتری‌ها می‌توانند هیدروکربن‌های نفتی را تجزیه زیستی نمایند. این فرآیند با اکسیداسیون آن‌ها به اجزایی با وزن مولکولی کمتر یا با تغییر آن هیدروکربن به اجزایی با قطبیت بیشتر انجام می‌پذیرد (Gamila et al., 2003). این موجودات در سال‌های اخیر به دلیل پتانسیل استفاده آن‌ها در بیوتکنولوژی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. سیانوباکتری‌ها به‌عنوان منبع غنی کمپلکس‌های فعال زیستی با فعالیت ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدسرطانی شناخته شده‌اند (Abed et al., 2008). برخی از سیانوباکتری‌ها دارای توانایی تجمع دادن هیدروکربن‌ها در خودشان هستند. مطالعات با میکروسکوپ الکترونی نشان داد که سلول‌های این سویه‌ها، هیدروکربن را در فضای بین تیلاکوئید خود ذخیره می‌کنند. این سویه‌ها نمی‌توانند

هیدروکربن‌های تجمع‌یافته را تجزیه کنند، این کار را باکتری‌هایی که معمولاً "در همکاری با سیانوباکتری‌ها در محیط‌های طبیعی موجوداند انجام می‌دهند (Al-Hasan et al., 2001).

13-1- تجزیه بیولوژیکی آروماتیک توسط سیانوباکتری‌ها:

1-13-1- مطالعه هتروتروفیک

آلاینده‌ها در محیط آبی در معرض تجزیه بیولوژیکی طیف وسیعی از میکرو ارگانیسم‌ها قرار دارند اما مطالعات فرآیند تجزیه تقریباً بر روی نقش باکتری‌ها و قارچ‌ها متمرکز شده‌اند. علیرغم پراکنش وسیع سیانو باکتری‌ها اما مطالعات کافی در مورد نقش موثر آنها در تجزیه بیولوژیکی آلاینده‌های محیطی وجود ندارد.

برخی گونه‌های جلبک‌ها قادر به رشد هتروتروفیک بر روی منابع کربن ارگانیک می‌باشد. یکی از روش‌ها برای تحقیق پیرامون تجزیه بیولوژیکی آلاینده‌ها توسط جلبک‌ها به این صورت می‌باشد که سلول‌ها را در معرض آلاینده‌ها قرار دهیم. تحقیقاتی بر روی جلبک *Prototheca zopfii* انجام دادند نتایج حاکی از آن بود که توان تجزیه هیدروکربن‌های نفت خام و روغن موتور در ایالت Louisiana را دارند. در نفت خام 38 الی 60٪ از هیدروکربن‌های آلیفاتیک اشباع شده و 12-41٪ از ترکیبات آروماتیک تجزیه شدند اما در روغن موتور 10-23٪ از هیدروکربن‌های آلیفاتیک اشباع شده و 10-26٪ از ترکیبات آروماتیک تجزیه شدند. این یافته‌ها نشان دهنده توانایی تجزیه مقادیر متفاوت نفت توسط جلبک می‌باشد. مطالعه دیگری که توسط Jacobson and Alexander (1981) صورت گرفته بیانگر این مطلب است که در کشت جلبک *Chlamydomonas SP.* در نور و تاریکی بر روی استات، 4 کلرو-۵،۳ دی نیترو بنزوئیک را دهالوژنه کرده و یک متابولیک بنام 2- هیدروکسی موکونیک را تولید می‌کند. در نبود جلبک، باکتری‌ها قادر به انجام این عمل نبوده، (Jinqi and Houtan (1992) در مورد تجزیه رنگ‌های azo توسط *Chlorella vulgaris* و *C.pyrenoidosa* تحقیق کردند و به این نتیجه رسیدند که جلبک باعث تجزیه آنیلین می‌گردد که یک محصول تجزیه‌ای قوی بر اثر شکسته شدن رنگ azo می‌باشد.

از آنجائیکه می‌دانیم هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAH) تاثیرات سرطان‌زا و جهش‌زایی را ایجاد می‌کنند بنابراین از خطرناکترین آلاینده‌ها در محیط زیست می‌باشند، راه‌های تجزیه آنها به طور مفصل مورد بررسی قرار گرفته‌اند. (Cernigial et al. (1980) نشان دادند که جلبک‌های سبز-آبی و جلبک‌های میکروسکوپی

یوکاریوتیک می توانند نفتالین را به 4 متابولیت اصلی یعنی 1-نفتول، 4-هیدروکسی-4-تترالون، سیس- نفتالن دی هیدرودیول و تراسن نفتالن دی هیدرودیول تبدیل کنند. تشکیل سیس نفتالن دی هیدرودیول اولین ترکیب در یک سلول یوکاریوتیک بوده در حالیکه تجزیه کامل نفتالن بسیار اندک و حدود 1 الی 1/9% بود.

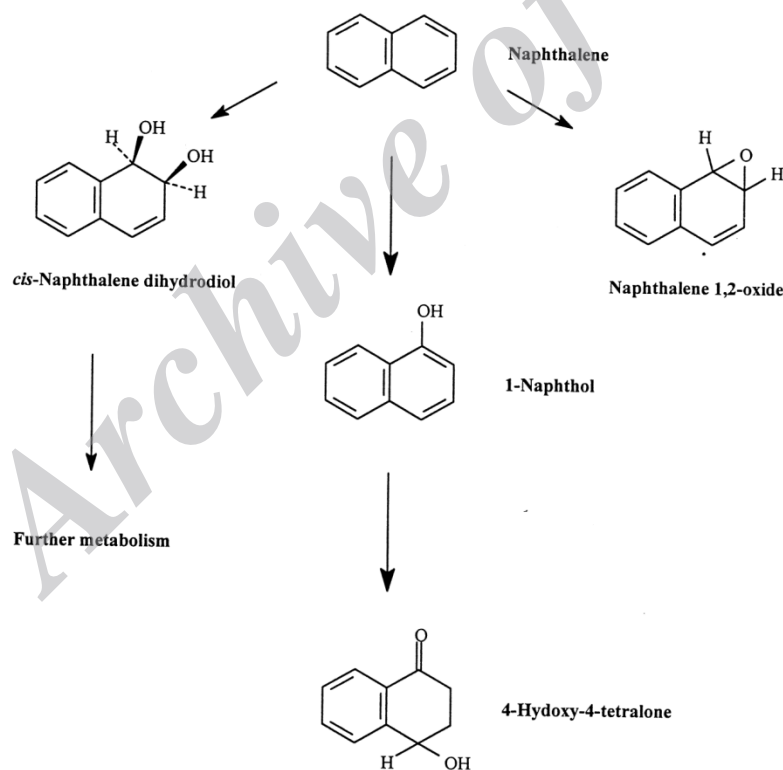
در مطالعه دیگری که توسط Cernigial *et al.* (1980) بر روی دیاتومه ها صورت گرفت مشخص شد که 1- نفتول متابولیت اصلی و فقط 0/7 الی 1/4% از ترکیبات آروماتیک تجزیه شدند.

Luther and Shaaban (1990) و Luther (1990) با تحقیقی که بر روی *Scenedesmus obliquus* انجام دادند به این نتیجه رسیدند که این جلبک ها قادر به استفاده از اسیدهای سولفونیک نفتالن به عنوان یک منبع گوگردی برای تولید بیومس می باشد که کربن دسولفانات شده را به محیط آزاد می کند.

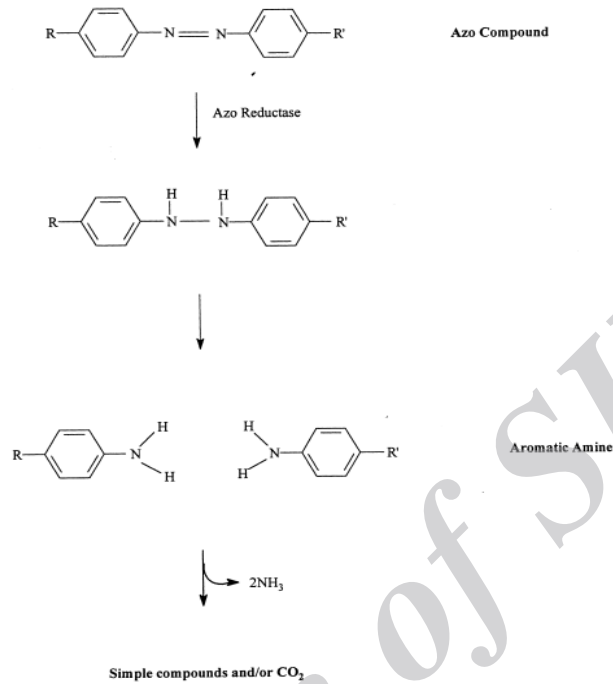
دسولفوناسیون به تعداد (1-NS>5,1 -NDS) و موقعیت (6,2-NDS>7,2 -NDS) و (6,1-NDS>6,3,1 -NTS) و (1-NS>5,1 -NDS) علاوه بر این Luther (1990) به این نتیجه رسید که جلبک کلروفیت از جانشین های نیترو و آمینو از آمینونفتالن ها و آمینو نیترو بنزوات به عنوان منبع نیتروژن استفاده می کند. باکتری ها محصولات دسولفوناسیون را متابولیزه می کنند. برای تجزیه اسیدهای مونوسولفونیک نفتالن نیاز به سازگاری دوره های طولانی می باشد اما *S.obliquus* این ترکیبات را در عرض چند ساعت در محیط کم گوگرد دسولفونات می کند. این نتایج بیانگر این مطلب است که کنسرسیون جلبک باکتری باعث افزایش تجزیه این ترکیبات خواهد شد. برخی جلبک ها در آب های آلوده وجود دارند و به عنوان نشانگرهای آلودگی آب مورد استفاده قرار می گیرند و برخی دیگر از انواع جلبک ها نقش در تجزیه بیولوژیکی آلاینده های صنعتی ایفا می کنند. جلبک های سبز-آبی و ریز جلبک های یوکاریوتیک می توانند نفتالن را به متول، 1-نفتول محلول در آب تبدیل کنند. *Sendesmus obliquus* قادر است تا از اسید سولفونیک نفتالن به عنوان یک منبع گوگرد برای بیومس خود استفاده کند و حلقه کربن را به داخل محیط آزاد سازد. جلبک ها می توانند از جانشین های نیترو و آمینو از آمینو نفتالن و آمینو و نیتروبنزوات ها به عنوان منابع نیتروژن استفاده کنند و کلروبنزوات ها می توانند دهالوژنه شوند. جلبک ها قادر به تجزیه آلاینده های محیطی از طریق تغییر شکل مستقیم آنها یا از طریق تقویت توان تجزیه میکروبهها می باشند.

1-13-2- مطالعات تنفس سنجی

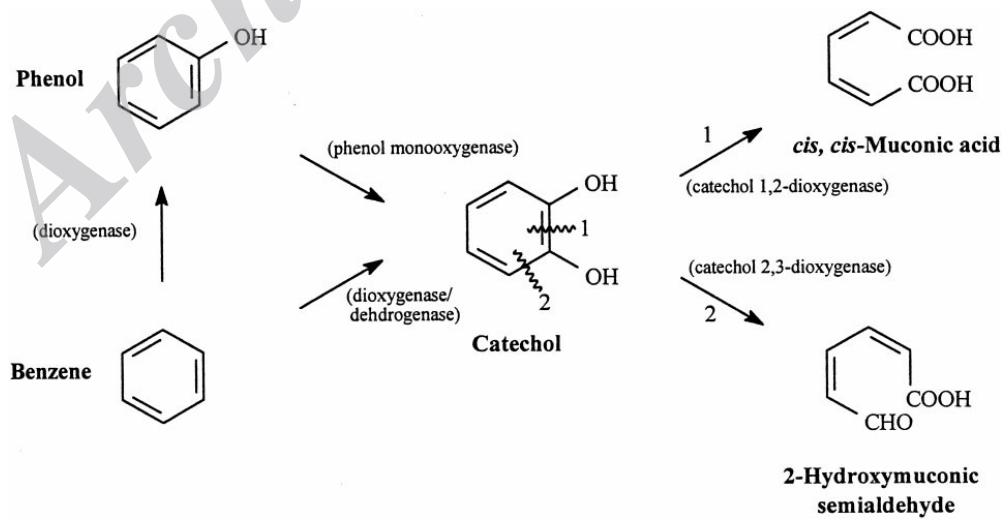
جلبک ها موجودات هوازی اجباری می باشند و تجزیه ترکیبات ارگانیک به اکسیژن برای ادامه راه نیاز می باشد. محاسبه تنفس یعنی مصرف O_2 و تولید CO_2 می تواند یک ابزار کاملاً مفید برای روشن ساختن تجزیه هوازی آلاینده‌ها باشد. (1994) Semple دریافت که متابولیسم مواد فنولی توسط *O. danica* به طور اجباری هوازی می‌باشد و تحت شرایط بی هوازی تجزیه فنل صورت نخواهد گرفت. در واقع اکسیژن مولکولی برای کاتابولیسم آروماتیک بسیار لازم و ضروری است زیرا مستقیماً به ساختمان حلقه آروماتیک وارد می شوند. میزان اکسیژن مصرفی در هر مول فنول، کاتکول، 4- p-Cresol متیل کاتکول و ۳،۴-xylenol حدود 65% اکسیژن برای اکسیداسیون کامل به CO_2 مورد نیاز می باشد.



شکل 1-12 - تغییر شکل بیولوژیکی فرضی نفتالن توسط جلبک (Cerniglia et al., 1980)



شکل 1-13- تجزیه فرضی رنگ‌های azo توسط جلبک‌های یوکاریوتیک



شکل 1-14 - واکنش‌های تجزیه هسته آروماتیک

14-1- تاثیر هوادهی بر سیانوباکتری‌ها

تاثیر هوادهی بر سیانوباکتری‌ها از دو جنبه رشد و تجزیه زیستی آلاینده‌های نفتی قابل بررسی است. از نظر تاثیر هوا بر رشد باید اشاره کرد که اکسیژن مولکول اصلی در متابولیسم سیانوباکتری‌ها از جمله مسیر تنفس می‌باشد. در نتیجه انجام این مسیر انرژی مورد نیاز برای رشد و ماده سازی سیانوباکتری‌ها فراهم می‌گردد. یکی دیگر از فرایندهایی که اکسیژن در آن نقش دارد، مسیر اسیمیلاسیون کربن و سیکل کالوین است. در این مسیر، موجود با استفاده از نور خورشید و انرژی نورانی، ضمن تجزیه آب، جریانی از حرکت الکترون را در زنجیره انتقال الکترونی بوجود می‌آورد. در نتیجه این زنجیره، مولکول‌های ATP و NADPH₂ ساخته می‌شود. این مولکول‌های ساخته شده بنوبه خود، واکنش‌های تاریکی را به راه می‌اندازد که در نتیجه آن ماده سازی در موجود صورت می‌گیرد. نکته قابل تامل این است که کلیه واکنش‌های مورد اشاره به کمک آنزیم‌هایی انجام می‌شود که گاهی "نیاز به مولکول اکسیژن برای فعالیت خود دارند. از طرف دیگر گاز دیگری که در جریان هوادهی به میزان بیشتری در دسترس سیانوباکتری قرار می‌گیرد و 0/03% از هوا را تشکیل می‌دهد، دی‌اکسید کربن است. دی‌اکسید کربن منبع اصلی فتوسنتز در موجودات فتوتروف می‌باشد. گاز نیتروژن مولکولی نیز حدود 70% هوا را تشکیل می‌دهد که برای سیانوباکتری‌ها بیشتر از موجودات دیگر اهمیت دارد. زیرا سیانوباکتری‌ها تنها موجودات روی کره زمین هستند که قادرند این گاز را بصورت مستقل و آزاد (نه به شکل هم‌زیستی) جذب و آن را به ترکیبات دیگر نیتروژنه مثل نیترات و آمونیوم تبدیل نمایند. مسیر اسیمیلاسیون نیتروژن در سیانوباکتری‌ها در فقدان نیترات و آمونیوم فقط با کمک گاز N₂ انجام می‌پذیرد.

از لحاظ تجزیه زیستی آلاینده‌های نفتی باید اشاره کرد که جلبک‌ها از یک سیستم دی‌اکسیژناز برای اکسیده کردن ترکیب به Cis-دی‌هیدرودیول‌ها استفاده می‌کنند که بعد از آن به سولفات استرو α گلوکزید تبدیل می‌شوند. حضور این سیستم دی‌اکسیژناز هیدروکسیل کننده حلقه از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. زیرا این سیستم فقط در باکتری‌ها یافت می‌شود در حالیکه ترانس دی‌هیدرودیول‌ها از طریق آپوکسیداسیون توسط عمل سیتوکردم منواکسیژناز p-450 و هیدرولازهای اپوکسید روی مولکول PAH صورت می‌پذیرد.

مسیر بی‌هوازی برای شکست حلقه آروماتیک با مسیر هوازی کاملاً متفاوت است. تجزیه بیولوژیکی مشتق لیگنین آروماتیک به متان مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که نصف بیشتر کربن مرتبط با ترکیب آروماتیک به گاز متان تبدیل می‌شود.

حلقه‌های آروماتیک از طریق شکافته شدن ortho یا شکافته شدن meta بعد از تشکیل یک نیمه ۱،۲ ادی هیدروکسی بنزوئیدال حلقه باز شود (شکل 3). آنزیم های هردو مسیر ortho و meta در باکتری های نیز یافت می شود.

سیانو باکتری ها از طریق تغییر شکل بیولوژیکی آلاینده های آروماتیک نظیر هیدروکسیلاسیون نفتالن و بنزو $[\alpha]$ پیرن به واسطه های هیدروکسیل شده تغییر شکل پیدا می کنند. در واقع آن ها از طریق کاهش مقادیر K_{ow} یا حساس و آسیب پذیر ساختن آن ها در برابر حمله از طریق موجودات زنده میکروسکوپی دیگر عمل می کنند.

15-1- تاثیر نور بر سیانوباکتری ها:

کشت جلبک ها تحت تاثیر عوامل محیطی متنوع و گوناگون می باشد. بسیاری از سیانو باکتری ها سایه پسند هستند و دارای مکانیزم های کارآمد برای مقابله با تاثیرات مضر خورشیدی می باشند. عواملی نظیر شدت نور کم باعث تحریک سنتز PBS و افزایش یافتن طول میله rod در فیکوبیلی پروتئین ها می شود. انرژی نور جذب شده توسط PBS به کلروفیل های آنتن سیستم نوری Π منتقل می شود. علاوه بر شدت نور، دما و کیفیت نور نیز بر روی رشد و میزان فیکوبیلی پروتئین ها تاثیرگذار است. تغییر نور از سفید به نور قرمز باعث افزایش سنتز کلروفیل و PC در *Anacystis nidulans* می شود. نور قرمز یا نور آبی برای تولید فیکوسپاینین *Synechococcus* sp. ضروری می باشد. از لحاظ متابولیکی سنتز پروتئین یا فعال سازی آنزیم جلبک های تک سلولی توسط نور آبی راه اندازی می شود. نور سبز از شدت نور پایین بسیار موثرتر از نور قرمز یا آبی برای رشد در چندین جلبک قرمز می باشد.

16-1- اهداف طرح:

بررسی های دو دهه ای اخیر، توانایی بسیاری از میکروارگانیسم ها را در تجزیه زیستی ترکیبات نفتی به طور مستقیم و غیر مستقیم به اثبات رسانده است. در رابطه با باکتری ها بررسی های وسیعی در قالب مقالات، طرح های پژوهشی و پایان نامه های دانشجویی در جهان و ایران انجام گرفته و نتایج چشم گیری حاصل شده است. نتایج حاکی از توانایی گونه های باکتریایی متعدد در تجزیه ترکیبات نفتی به مواد آلی ساده تر می باشد. هرچند نتایج این تحقیقات هم اکنون در فاز صنعتی در حال بهره برداری است، ولی مطالعات بر روی سیانوباکتری ها مراحل اولیه خود را می گذرانند. مزیت سیانوباکتری ها بر باکتری ها و قارچ ها این است که سیانوباکتری ها قادر به جذب CO_2 از هوا می باشند. به عبارتی هم زمان با کاهش آلودگی نفتی به کاهش گازهای گلخانه ای نیز کمک می کنند. ثانیاً این میکروارگانیسم ها قادر به تجزیه نیتروژن مولکولی هستند. بنابراین علاوه بر فعالیت های مذکور به اصلاح مواد معدنی و بافت خاک هم کمک می کنند.

ثالثاً^{۱۵} این موجودات به دلیل استراتژی تغذیه‌ای فتوتروفیک قادر به تولید اکسیژن مولکولی هستند که برای فرایند تجزیه و اکسیداسیون زنجیره‌های هیدروکربوری ضروری هستند. بنابراین استفاده از این موجودات به تنهایی یا بصورت مخلوط، بر سایر روش‌ها برتری پیدا کرده و یا ایده استفاده همراه آنان را قوت می‌بخشد. تنوع بسیار بالای فلور ریزجلبکی در مناطق نفت خیز و همگام شدن آن با دو مزیت رشد سریع و مقاومت در شرایط نامساعد زیستی سبب رشد بسیار سریع تحقیقات کشورهای نفت خیز جهان در دهه اخیر در جهت استفاده از این نیروی عظیم در جهت پالایش آلودگی‌های نفتی در این مناطق شده است. با توجه به اینکه ایران نیز یکی از کشورهای نفت خیز جهان است، ضرورت دارد که با این حرکت جهانی گام بلندی در جهت کاربردی سازی استفاده از ریزجلبک‌ها در پاک سازی مناطق آلوده نفتی بردارد. با توجه به فلور غنی جلبکی در ایران، در این طرح هدف اصلی بررسی کمی توانایی تجزیه زیستی ترکیبات نفتی توسط گونه ریزجلبک انتخاب شده از مناطق آلوده نفتی در کنار بررسی توانایی رشد و تکثیر آنها در حضور تیمارهای نفت خام در محیط آزمایشگاهی است. گونه منتخب با توجه به تستهای قبلی انتخاب شده است. همچنین با توجه به تبعیت رفتار ریز جلبک‌ها از قانون تحمل^{۱۶} 15، که بیانگر تاثیرگذاری عوامل محیطی در فراوانی و توزیع موجودات زنده است و همچنین قانون حداقلی^{۱۶} 16 که بیانگر محدودیت تولید تحت عامل مواد مغذی است بدنبال تحلیل کمی رفتار رشد ریزجلبک‌ها و تجزیه ترکیبات نفتی در یک بازی تعادلی خواهیم بود. در این راستا توابع منحنی‌های فرایند رشد جلبک با توجه به داده‌ها تحت تاثیر نور و هوادهی مورد سنجش قرار می‌گیرند.

^{۱۵} Law of tolerance

^{۱۶} Law of minimum (Liebig's Law of the Minimum)

فصل دوم

پیشینه تحقیق

2- مروری بر پیشینه تحقیق

1-2- پیشینه تحقیق در ایران

یکی از مشکلات عمده زیست محیطی امروزه، آلودگی هیدروکربن‌های ناشی از فعالیت‌های مربوط به صنعت پتروشیمی است. زیست پالایی تکنولوژی امیدوارکننده‌ای برای تیمار مکان‌های آلوده است، از آنجایی‌که هم مقرون به صرفه بوده و هم منجر به تکمیل معدنی شدن آلاینده‌های آلی به CO_2 ، H_2O ، ترکیبات آلی، پروتئین سلول یا تبدیل آلاینده‌های پیچیده آلی به ترکیبات ساده آلی توسط عوامل زیستی مثل میکروارگانیسم‌ها می‌شود (Das and Chandran, 2011). در ادامه به مرور بخشی از اطلاعات موجود در زمینه تجزیه زیستی در ایران و جهان می‌پردازیم. ابتدا به فعالیت‌های صورت گرفته در رابطه با استفاده از ریزجلبک‌ها در تجزیه زیستی آلاینده‌های نفتی در ایران اشاره می‌کنیم. بی‌تردید پژوهشکده علوم پایه کاربردی جهاددانشگاهی از پیشروان تحقیقات در این زمینه است. از اولین گزارشات موجود در این راستا با توجه به عدم انجام پژوهش عملی قبل از سال 86 در ایران، گزارش مطالعاتی سلطانی و همکاران (1387) می‌باشد. در این مطالعه ایشان به بررسی ابعاد تحقیق در زمینه استفاده از جلبک‌ها در حوزه صنعت نفت پرداخته شده است.

همچنین سلطانی و همکاران (1387) بر روی بقا و میزان رنگیزه‌های سیانوباکتری جدا شده از شهر آبادان در فاز آزمایشگاهی پرداختند.

صفری و همکاران (1392) بر روی بررسی تجزیه زیستی نفت خام توسط سیانوباکتری‌های فیشرلا و سینکوکوس مطالعه‌ای به عمل آوردند. ایشان ضمن بررسی خواص ضد میکروبی چند سیانوباکتری توانمندی تجزیه زیستی آنها را در مورد نفت خام نشان دادند.

زندى و همکاران (1392) به نشان ویژه سازی مقایسه ای فیزیولوژیکی میکروفلور سیانوباکتریایی مناطق آلوده و غیرآلوده نفتی پرداخته اند.

غفاری و همکاران (1393) به پتانسیل کاهش آلودگی نفت خام توسط جلبک سبز *Chlorella vulgaris* و پاسخ‌های فیزیولوژیکی ناشی از آن پرداخته اند. بر اساس تحقیق ایشان این جلبک قادر به رشد در حضور نفت خام بوده و آن را به میزان 62/86% تجزیه کرده است.

Soltani و همکاران (2012) به نشان ویژه سازی مولکولی و مورفولوژیک ریزجلبکهای مناطق آلوده به نفت شهر مسجدسلیمان پرداخته است. بر اساس این تحقیق سیانوباکتری *Phormidium* sp. در بین ریزجلبکهای مورد بررسی متحملترین نسبت به آلودگی نفتی بوده است که نشان از پتانسیل بالای این سیانوباکتری برای تجزیه آلایندههای نفتی می باشد.

Amirlatifی و همکاران (2013) به مطالعه مورفولوژیک و پاسخهای فیزیولوژیکی سیانوباکتری *Microchaete tenera* تحت تیمار نفت خام پرداخته اند. بر اساس این تحقیق این سیانوباکتری در غلظت‌های 2/5 و 5% از نفت خام به رشد خود ادامه داده و رشد افزایش پیدا کرده است. این در حالی است که میزان کلروفیل در این سیانوباکتری تغییری نیافته است و مورفولوژی ریشه‌ها و سلول‌ها نیز تحت القا نفت خام قرار نگرفته است.

همکاران (1392) اثرات تجزیه زیستی پنج گونه از سیانوباکتری‌های جدا شده از مناطق آلوده نفتی جنوب کشور بر نفت خام را بررسی کرده است. بر اساس این تحقیق میزان کل هیدروکربن‌های باقیمانده برای گونه‌های *Leptolyngbya* sp.، دو گونه از *Nostoc*، *Anabaena* sp. و *Phormidium* sp. به ترتیب 16/11، 45، 38/13 و 44/98% بوده است.

Babaei و همکاران (2013) پاسخهای فیزیولوژیکی *Anabaena* sp. با تحت تیمار نفت خام و پتانسیل آن برای تجزیه زیستی نفت مورد بررسی قرار دادند. بر اساس این تحقیق این سیانوباکتری رشد خود را با افزایش غلظت نفت خام از 1 تا 6% افزایش داده و توانست آن را بعد از 14 و 28 روز به ترتیب به میزان 8 و 53% کاهش دهد.

همکاران (1390) به بررسی اثر نفتالن بر میزان فیکوبیلی پروتئین‌ها، اسیمیلاسیون کربن و نیتروژن در سیانوباکتری *Leptolyngbya* sp. پرداخته‌اند. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی با افزایش غلظت نفتالن روند کاهشی از خود نشان دادند. این سیانوباکتری غلظت‌های 0/05 و 0/2% را تحمل کرده و غلظت‌های 0/6 و 0/8 و 1% برای آن سمی می باشد.

2-2- پیشینه تحقیق در خارج از کشور

Ibrahim and Gamila (2004) بر روی توانمندی اجتماعات فیتوپلانکتونی در رفع آلودگی ترکیبات نفتی تحقیقاتی انجام داده‌اند. این آزمایش به واسطه اهمیت و مضرات آلودگی‌های نفتی در محیط‌های آب شیرین طراحی شد. ورود

نفت باعث ایجاد منبع از کربن و انرژی برای رشد میکروبی می‌شود. نتایج این آزمایشات نشان می‌دهد که تیمار کشت‌های جلبکی با نفت خام باعث افزایش سرعت رشد و تولید زیاد بیومس جلبکی می‌شود. Arulazhagan *et al.*, (2010) تجزیه زیستی هیدروکربن‌های آروماتیک پلی‌سیکلیک (PAHs)، مثل نفتالن، فلئورن و فنانترن را توسط باکتری‌های مقاوم به شوری جداسازی شده از محیط‌های دریایی را مورد بررسی قرار داد. کنسرسیون قادر بوده 39 تا 45% هیدروکربن‌های مختلف پلی‌سیکلیک را در غلظت 60 گرم در لیتر نمک تجزیه کند. با افزایش شوری، درصد تجزیه هیدروکربن‌های نفتی کاهش یافت. بعد از اضافه کردن مجدد عصاره مخمری، تجزیه‌کنندگی کنسرسیون تا بیش از 74% هیدروکربن‌های آروماتیک پلی‌سیکلیک در غلظت 60 گرم در لیتر نمک در طی 4 روز افزایش یافت.

روش تغذیه میکسوتروفی در سیانوباکتری‌ها و ریزجلبک‌ها می‌تواند برتری‌های رقابتی را نسبت به باکتری‌ها و قارچ‌ها در تجزیه آلاینده‌های آلی فراهم آورد. در مجموعه طبیعی، جلبک میکسوتروفیک در جداسازی کربن شرکت می‌کند و دی‌اکسیدکربن تحت شرایط هتروتروفیک توسط میکروارگانیسم‌ها به اتمسفر منتشر می‌شود. روش‌های مولکولی، متابولیکی و ژنومیکی در شناسایی و انتخاب گونه‌های میکسوتروفیک سیانوباکتری‌ها و ریزجلبک‌ها با توانایی آن‌ها برای تجزیه آلاینده‌های آلی کمک خواهد کرد (Subashchandraboze *et al.*, 2013).

کنسرسیون از سیانوباکتری‌ها یا ریزجلبک‌ها و باکتری‌ها می‌تواند در سم‌زدایی آلوده کننده‌های آلی و معدنی در مقایسه با میکروارگانیسم‌های منفرد مؤثر باشد. سیانوباکتری‌ها یا جلبک‌های فتوسنتزکننده، اکسیژن، دهنده کلیدی الکترون به باکتری‌های هتروتروفیک تجزیه کننده آلاینده‌ها را فراهم می‌آورند. باکتری‌ها از رشد فتواتوتروفیک آن‌ها با فراهم آوردن CO₂ حمایت می‌کنند (Subashchandraboze *et al.*, 2011).

بازدارندگی معنی‌داری از فتوسنتز در جلبک سبز *Dunaliella tertiolecta* بعد از یک ساعت تیمار با غلظت معینی از نفت مشاهده شد. در محیط‌های کشت که غلظت نفت پایین بوده، درصد و نسبت سلول‌های زنده 17-33 و 12-42% بوده است. بعد از یک ماه سلول زنده‌ای در غلظت‌های بالا مشاهده نشد. واکشت‌های بیشتر منجر به رشد سلول‌های مقاوم به نفت شد (Carrera-Martinez *et al.*, 2010).

رقابت برای منابع در جوامع میکروبی تجزیه‌کننده نفت خام، و تمرکز بر روی برخی از فعل و انفعالات و واکنش‌های مهم بین دو همزیست مانند: مصرف متابولیت، تولید بیوسورفاکتانت، تأمین اکسیژن و تثبیت نیتروژن از موارد بررسی در مطالعه McGenitty *et al.* (2012) بوده است.

(Singh et al., 2012) ارتباط دما و اثر آن را در تولید فیکوبیلی پروتئین‌ها مورد بررسی قرار دادند. این مطالعه بیان کرد که خوگیری به دما همراه با سازگاری رنگی (CCA) و تولید فیکوسیائین، آلفیکوسیائین و فیکواریترین در برخی از سیانوباکتری‌های مقاوم به دما از جمله *Oscillatoria* sp.N9DM بوده است.

بابایی و همکاران (1390) پاسخ‌های فیزیولوژیک *Anabaena* sp. رشد، نرخ فتوسنتزی، میزان کلروفیل *a*، مقدار فیکوبیلی پروتئین‌ها، فعالیت نیتروژناز و میزان تجزیه ترکیبات نفتی در غلظت‌های مختلف نفت خام را بررسی کرده است. نتایج نشان داد که با افزایش نفت خام بیومس جلبکی افزایش یافته است جز در غلظت 6% نفت خام که نرخ رشد کاهش یافته است. میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت فتوسنتزی نیز با افزایش غلظت نفت خام، روند کاهشی داشته است. بنابراین نفت خام برای این نمونه در غلظت‌های بالا سمی بوده و اثرات مخربی بر فعالیت‌های فیزیولوژیک نمونه خواهد داشت.

تجزیه هیدروکربن‌های نفت خام توسط سیانوباکتری‌ها با کمک روش گراویمتری و کروماتوگرافی گازی بطور وسیعی مورد بررسی قرار گرفته است. در خصوص تجزیه زیستی نفت خام، در تحقیق (Ibrahim and Gamila, 2004) اثر این روش بر دو سیانوباکتری *Oscillatoria agardhii* (فاقد هتروسیست) و *Anabaena sphaerica* (واجد هتروسیست) بصورت جداگانه بر روی n-آلکان‌ها و PAHs مورد بررسی قرار گرفت. البته سایر فاکتورهای محیطی مانند PH، مواد غذایی، اکسیژن محلول که بر روی تجزیه زیستی تأثیر می‌گذارند، بررسی نشدند. نتایج نشان دادند که *Oscillatoria* تا 97/5% از n-آلکان‌ها را تجزیه کرده و *Anabaena* 99/5% از آن را تجزیه نموده است. در مورد PAHs مشاهده شد که *Oscillatoria* بین 16/1% تا 76/7% از PAHs را تجزیه نموده است در حالی که *Anabaena* تا 9/97% از آن‌ها را تجزیه نموده است.

تجزیه زیستی ترکیبات فنلی و پلی آروماتیک توسط برخی جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها مورد بررسی قرار گرفت (El-Sheekh et al., 2012). به نظر می‌رسد تجزیه هیدروکربن‌های پلی آروماتیک توسط جلبک‌های مختلف به ساختارهای مولکولی ترکیبات و متابولیسم فیزیولوژی جلبک مرتبط می‌باشد. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که تجزیه زیستی میکروبی آلاینده‌ها را می‌توان برای پاکسازی محیط‌های آلوده مورد استفاده قرار داد. تیمار زیستی زباله‌ها با کمک موجودات زنده سازگار با محیط زیست، نسبتاً ساده و مقرون به صرفه و جایگزین برای فرآیندهای فیزیکی و شیمیایی است.

تجزیه PAH به شرایط زیست محیطی، تعداد و نوع میکروارگانیسم‌ها، طبیعت و ساختار شیمیایی ترکیبات شیمیایی تجزیه شونده بستگی دارد. این ترکیبات به مجموعه‌ی متابولیت‌ها تجزیه شده و از طریق معدنی شدن به مواد غیرآلی، H_2O ، CO_2 (هوازی) یا CH_4 (غیرهوازی) تبدیل می‌شوند. نسبت تجزیه شدن این ترکیبات به pH، دما، اکسیژن، جمعیت میکروبی، درجه سازگاری، در دسترس بودن مواد غذایی، ساختار شیمیایی ترکیبات، ویژگی‌های انتقال سلولی و طبقه‌بندی شیمیایی مواد در محیط کشت بستگی دارد. در این مطالعه، برخی از باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها در تجزیه PAH مورد استفاده قرار گرفتند (Haritash and Kaushil, 2009).

Mosaed et al. (2013) اثر کودهای شیمیایی و هوادهی را بر زیست پالائی خاکهای آلوده به نفت توسط سیانوباکتریها مورد بررسی قرار دادند. نتایج بدست آمده نشان داد که هوادهی و کودشیمیائی نقش موثر در تجزیه ترکیبات هیدروکربنی نفت دارند.

تجزیه میکروبی آلاینده‌های آروماتیک بیش از 30 سال مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته اند. نتایج بررسی‌ها موید این مطلب است که ریز جلبک‌ها قابلیت تجزیه ترکیبات آروماتیک را دارند (Semple et al., 1990).

شدت نور و کیفیت نور مهمترین عوامل زیست محیطی موثر بر رنگدانه‌های فتوسنتزی در سیانوباکتری‌ها می باشد (Vijaya and Anand, 2009).

در یک بررسی توسط De Olivea et al. (2014) تاثیر شدت‌های مختلف نور بر عملکرد رنگدانه‌ها مورد مطالعه قرار گرفت، نتایج نشان داد که با افزایش شدت نور، محتوای رنگدانه به عنوان یک استراتژی جهت پیشگیری از آسیب اکسیداتیو ناشی از تولید رادیکال آزاد کاهش یافت.

El-Sheekh et al, (2013) توانایی دو جلبک سبز *Chlorella vulgaris* و *Scenedesmus obliquus* در تجزیه غلظت‌های مختلف نفت خام و میزان رشد این دو جلبک در حضور این ترکیب را مورد ارزیابی قرار داد که نتایج نشان‌دهنده آن بود که بیشترین میزان تجزیه نفت خام توسط این دو جلبک و نیز نرخ رشد بهینه آن‌ها در غلظت‌های پایین بوده است. درخصوص نقش سیانوباکتری‌ها در اکسیداسیون نفتالن مطالعات زیادی انجام شده است. این ترکیب در آب قابل حل بوده و بنابراین به عنوان آلوده کننده به شمار می‌آید. همچنین بر روی تجزیه زیستی نفتالن توسط باکتری‌ها، قارچ‌ها و جانوران عالی مطالعات زیادی صورت گرفته است (Cerniglia and Gibson, 1977). مطالعات بر روی اکسیداسیون نفتالن توسط سیانوباکتری‌ها با مطالعات *Oscillatoria* sp. و *Agmenellum quadruplicatum*

آغاز گردید. این میکروارگانسیم‌ها نفتالن را تحت شرایط فتوتروفی به 1-نفتول اکسید می‌کنند. سپس ۱،۲-دی‌هیدروکسی و ۱،۲-دی‌هیدرونفتالن به‌طور اتفاقی در بین محصولات اکسیداسیون، شناسایی شده است. این نتایج مبین وجود هر دو سیستم منواکسیژناز و دی‌اکسیژناز در سیانوباکتری‌ها است، که قادر به کاتالیز مراحل اولیه اکسیداسیون نفتالن هستند. این نتایج با نتایج پژوهش عباس‌پناه که در سال 1390 بر روی اکسیداسیون نفتالن به‌عنوان یکی از ترکیبات آروماتیک نفتی توسط سیانوباکتری *Leptolyngbya sp.* انجام گردید مطابقت دارد که نشان داد این سیانوباکتری قادر به تجزیه غلظت 0/05 نفتالن بوده است. نتایج نشان می‌دهد که ماده اصلی حاصل از اکسیداسیون نفتالن توسط این سیانوباکتری 2(4H)-tetrahydro-trimethyl Benzofuranone می‌باشد. سایر مواد شناسایی شده توسط GC/MS به‌عنوان واسطه‌های حاصل از اکسیداسیون نفتالن هستند. این نتایج هم‌چنین با مطالعات Kumar و همکاران (2009) مطابقت دارد که میزان تجزیه نفتالن و آنتراسن توسط *Phormidium tenue* را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از بررسی‌های آن‌ها نشان داد که نفتالن توسط این سیانوباکتری اکسید شده و هم‌چنین آنتراسن تحت سیستم آنزیمی دی‌اکسیژناز تجزیه شده است.

Megharaj *et al.* (2013) به ارزیابی سیانوباکتری‌ها به‌عنوان عوامل بیولوژیکی موثر در تجزیه هیدروکربن‌های نفتی پرداختند. نشان داده شد، به‌دلیل آن‌که سیانوباکتری‌ها قادر به زندگی هتروتروفی و میکسوتروفی نیز هستند لذا در شرایط هتروتروفی در ارتباط با باکتری‌های هوازی می‌توانند از ترکیبات آلی نفتی به‌عنوان منبع کربن استفاده نمایند و با عمل فتوستتوز، اکسیژن تنفسی باکتری را فراهم آورند.

Abed (2010) طی مطالعه‌ای چهار سویه باکتری هتروتروف هوازی متعلق به جنس‌های *Pseudomonas*، *Marinobacter*، *Sphingomonas* را با هدف بررسی اثر حضور و فعالیت آن‌ها در رشد سیانوباکتری‌های موجود در توده میکروبی مناطق آلوده به نفت (*Synechocystis* PCC6803) جداسازی و از لحاظ فیزیولوژیکی و فیلوژنتیکی مورد شناسایی قرار داد. هم‌چنین در این مطالعه نقش ترشحات سیانوباکتریایی در تحریک فعالیت تجزیه‌کنندگی این باکتری‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود، افزودن *Pseudomonas* GM41 باعث افزایش نرخ رشد سیانوباکتری *Synechocystis* شده است که حداکثر رشد خود باکتری در حضور هگزاکان به‌عنوان منبع کربن آلی مشاهده شد. پس از تخمین پروتئین، میزان بیومس باکتریایی بیشتری در حضور فنانترون و ماده ترشحي سیانوباکتریایی در مقایسه با حضور فنانترون به‌تنهایی، محاسبه شد. حداکثر رشد پس از 4 روز در حضور استات ولی در حضور گلوکز و

پیرووات طی 6-7 روز صورت گرفت در حالی که بیومس باکتریایی بیشتر در حضور گلوکز و پیرووات به دست آمد. مشاهده شد در غیاب هر گونه سوبسترای آلی، فناترن پس از 7 روز به طور کامل تجزیه گردید، افزودن آلانین و بوتانول تاثیری در این روند نداشت، در مقابل گلوکز، پیرووات و استات تاثیر قابل ملاحظه‌ای در افزایش فرآیند تجزیه داشتند و با تیماردهی توسط آنها، فناترن پس از 6 روز تجزیه شد. Narro و همکاران در سال 1992 نشان دادند که *Oscillatoria sp.* نفتالن را به نفتالن-1 و 2-اکسید (که متناوباً با یک حدواسط کتو ایزومر می‌شود) تبدیل می‌کند. Cerniglia et al. (1980) 9 سیانوباکتری و 9 ریز جلبک را بررسی کردند. نتایج نشان داد که اکسیداسیون نفتالن به طور گسترده در میان میکروارگانیسم‌های فتوسنتز کننده صورت می‌گیرد.

فصل سوم

مواد و روش‌ها

1-3- تهیه نمونه

نمونه سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* از کلکسیون ریزجلبک پژوهشکده علوم پایه کاربردی جهاددانشگاهی تهیه شد. این نمونه از خاک‌های آلوده به نفت مسجد سلیمان جمع‌آوری شده است.

2-3- نمک‌های شیمیایی

محیط‌های کشت عموماً تامین کننده چهار جزء اصلی یعنی مواد مغذی، عناصر کمیاب، آب و دی اکسیدکربن برای ادامه حیات جلبک‌ها هستند (فرامرزی و همکاران، 1389). به همین دلیل انتخاب محیط کشت مناسبی که تمام عناصر مورد نیاز را در مقادیر مناسب در اختیار جلبک‌های مورد مطالعه قرار دهد مرحله مهمی از فرآیند کشت و خالص سازی جلبک‌ها به شمار می‌آید.

جدول 1-3- محیط کشت BG₁₁ (Becker, 1994)

مواد شیمیایی	مقدار
NaNO ₃	1/5
MgSO ₄ .7H ₂ O	7/5
CaCl ₂ .2 H ₂ O	3/6
K ₂ HPO ₄ . 3 H ₂ O	4
Na ₂ Mg EDTA (Triplex III)	0/02
Citrate Ferric ammonium	0/06
Acid Citric	0/66
Na ₂ CO ₃	2
H ₃ BO ₃	2/8
MnCl ₂ . 4 H ₂ O	1/84
ZnSO ₄ . 7 H ₂ O	0/222
Na ₂ Mo O ₄ .2 H ₂ O	0/39

$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0/08
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0/05

3-3- انتقال به محیط کشت جامد

جهت اطمینان از خالص بودن نمونه خالص‌سازی توسط روش پلیت-آگار (Andersen, 2005) صورت پذیرفت. بدین ترتیب که ابتدا محیط کشت مایع BG11 تهیه گردید. پس از افزودن آگار و انجام عمل استریل به مدت 20 دقیقه در دمای 120 درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه اتوکلاو، محیط کشت استریل شده به درون پلیت‌های استریل منتقل گردید. پس از سرد شدن محیط کشت جامد، جلبک بر روی آن تلقیح گردید. بدین منظور ابتدا لوب را روی آتش گرفته و سپس به لبه آگار زده تا سرد گردید. سپس به صورت زیگزاک با زاویه 45 درجه روی آگار کشت داده شدند. این عمل چندین بار تکرار گردید. به این معنی که کلنی‌ها پس از رشد از روی پلیت برداشته شده و بروی پلیت‌های دیگر به ترتیبی که ذکر شد تلقیح گردیدند (Kaushik, 1987).

3-4- انتقال به محیط کشت مایع

پس از خالص‌سازی و حصول اطمینان از عاری بودن کلنی‌ها از باکتری، کلنی‌ها به درون محیط مایع مشابه انتقال یافتند. به این منظور ابتدا محیط کشت مورد نیاز که ترکیبات آن با ترازوی دیجیتال با دقت 0/0001 گرم توزین شد و در pH 7 تنظیم گردید. محیط کشت به درون ارلن‌های متعدد منتقل شده توسط پنبه و ورق آلومینیوم مسدود گردید. سپس تمامی ارلن‌ها در اتوکلاو استریل گردید. پس از اتمام این مرحله و با سرد شدن کامل محیط، تلقیح جلبک‌ها از محیط جامد به مایع صورت گرفت (Ferris et al., 1991) ارلن‌ها به اتاق کشت با دمای $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2$ قرار داده شدند هوادهی به کمک پمپ هوا به مدت 2 ساعت در روز صورت گرفت.

3-5- بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک در شرایط تنش

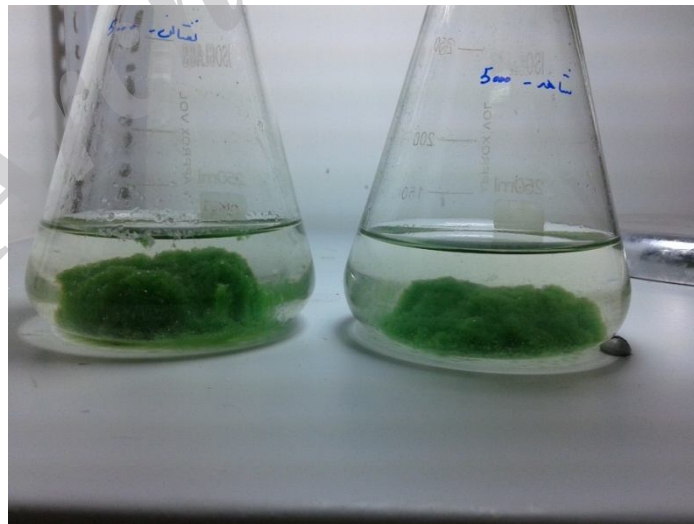
3-5-1- تیمار نفتالن

به منظور بررسی اثر نفتالن و شدت‌های مختلف نور بر رشد جلبک‌های سبز - آبی و تاثیر آن بر پاسخ‌های فیزیولوژیک ابتدا نفتالن را با غلظت نهایی 0/05% وزن کرده سپس در استون حل کرده، به آن محیط کشت BG11 استریل اضافه کرده سپس در شدت‌های مختلف نوری (0، 2000، 5000 لوکس) تحت شرایط هوادهی و بدون هوادهی به طور جداگانه

قرار داده شدند. نوردهی بصورت شبانه روزی انجام گرفت. با توجه به سمی بودن نفتالن، سنجش‌ها در ساعت‌های مختلف روز صورت پذیرفت. تیمار اعمال شده از آزمایشات قبلی اقتباس شد (عباس‌پناه، 1390). تیمارها در دمای $30 \pm 2^\circ\text{C}$ انکوبه شدند.



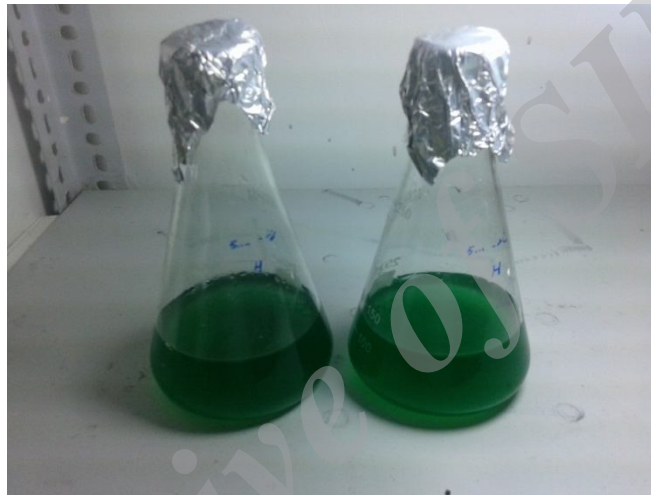
شکل 3-1- سیانوباکتری تحت تیمار تاریکی، شدت روشنایی 2000 لوکس، نفتالن 0.05% و شرایط هوادهی



شکل 3-2- سیانوباکتری تحت تیمار نور 5000 لوکس، نفتالن 0.05% و شرایط بدون هوادهی

3-5-2- تیمار هگزادکان

به منظور بررسی اثر هگزادکان 1% و شدت های مختلف نور بر رشد جلبک های سبز - آبی و تاثیر آن بر پاسخ های فیزیولوژیک ابتدا محیط کشت BG11 به همراه هگزادکان 1% تهیه کرده سپس در شدت های مختلف نوری (تاریکی، 2000، 5000 لوکس) قرار داده و در طول یک هفته بطور یک روز در میان سنجش های فیزیولوژیک صورت پذیرفت. تیمار اعمال شده از آزمایشات قبلی اقتباس شد (غفاری، 1392). تیمارها در دمای 2 ± 30 °C انکوبه شدند.



شکل 3-3- سیانوباکتری تحت تیمار نور 5000 لوکس، هگزادکان 1% و شرایط بدون هوادهی



شکل 3-4- سیانوباکتری تحت تیمار تاریکی، شدت روشنایی 2000 لوکس، هگزادکان 1% و شرایط بدون هوادهی

3-6- روش‌های سنجش فیزیولوژیک

3-6-1- منحنی رشد

هنگامی که یک موجود از طریق تقسیم دوتایی، ازدیاد حاصل می‌کند، یک سلول تولید دو سلول می‌کند. بنابراین، شروع با یک سلول تعداد 1-2-4-8-16-32 و ... سلول را به دست می‌دهد. راه‌های متفاوتی برای اندازه‌گیری این زمان و نیز رسم منحنی رشد وجود دارد. یکی از این روش‌ها، اندازه‌گیری کلروفیل a می‌باشد. راه دیگر از طریق شمارش سلول‌ها است. در این پژوهش سنجش منحنی رشد در مورد تمام تیمارها بر اساس وزن خشک انجام شد..

3-6-2- اندازه‌گیری وزن خشک

بررسی میزان رشد سیانوباکتری از طریق اندازه‌گیری وزن خشک صورت گرفت. برای اندازه‌گیری وزن خشک مطابق روش (Leganes *et al.* (1987) با استفاده از کاغذ صافی‌های وزن شده جلبک از محیط کشت جدا گردید، سپس به مدت 24 ساعت در آون با دمای 70°C قرار داده شد سپس وزن آن اندازه‌گیری شد.

3-6-3- سنجش کلروفیل a

برای سنجش مقدار کلروفیل از روش Marker (1972) استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا 1 mL از سوسپانسیون جلبکی به مدت 5 دقیقه با دور 14000 rpm سانتریفیوژ شد، سپس محلول رویی جدا شده و با 1 mL متانول خالص جایگزین شد. نمونه‌ها به مدت یک روز در دمای 4°C قرار داده شد. به منظور جداسازی عصاره‌ی متانولی از سانتریفیوژ استفاده شد. سپس جذب نوری این عصاره در طول موج 665 nm اندازه‌گیری شد و با استفاده از رابطه‌ی زیر مقدار کلروفیل بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه شد:

$$C_{chl} = 13.14 \times OD_{665}$$

3-6-4- سنجش فیکوبیلی پروتئین‌ها

برای سنجش مقدار فیکوبیلی پروتئین از روش Wyman and Fay (1986) استفاده شد. بدین منظور ریزجلبک‌ها به مدت 2 ساعت در تاریکی و یخچال (4 درجه سانتیگراد)، با کمک گلیسرول تحت فشار اسمزی شدید قرار گرفتند. پس از گذشت این زمان، سلول‌ها با کمک استات سدیم 0/3 نرمال و آب شکسته شده، به طوری که غلظت نهایی استات

سدیم در محلول 200 mM گردد. جذب آن‌ها در مقابل شاهد مناسب (بدون حضور زیتوده جلبک) در طول موج های 750، 652، 615 و 562 نانومتر خوانده شد.

برای محاسبه فیکوبیلی پروتئین‌ها بر حسب میکروگرم در میلی لیتر از معادلات زیر استفاده می‌گردد:

$$\text{آلوفیکوسیانین} = [1000 (A_{652} - A_{750}) - 208 (A_{615} - A_{750})] / 5.09$$

$$\text{فیکوسیانین} = [1000 (A_{615} - A_{750}) - 474 (A_{652} - A_{750})] / 5.34$$

$$\text{فیکواریترین} = [1000 (A_{562} - A_{750}) - 2.41(PC) - 0.948 (AP)] / 9.62$$

7-3- سنجش تجزیه زیستی نفتالن و هگزادکان

1-7-3- تهیه محیط کشت

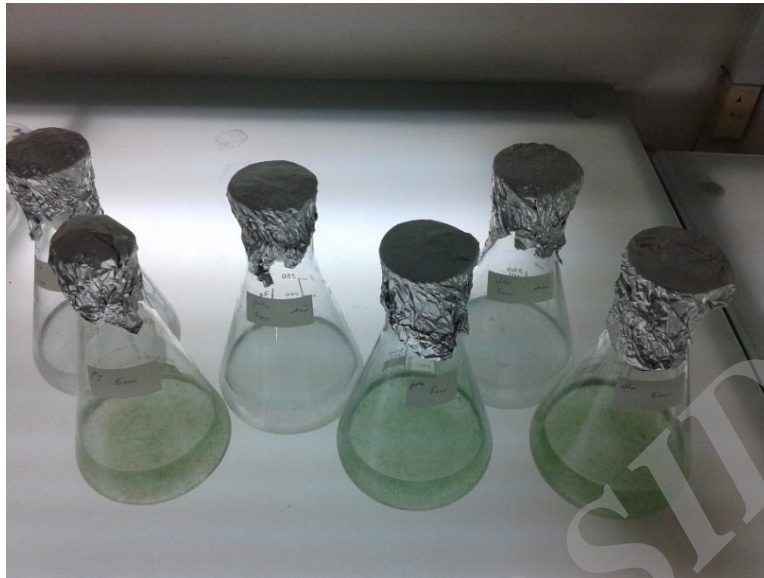
محیط کشتی که برای این نوع تیماردهی استفاده شد، فاقد منبع کربن بود. پس از تنظیم pH محیط کشت در 7 pH توسط متر، محیط کشت آماده شده در اتوکلاو به مدت 20 دقیقه در دمای 120 درجه سانتیگراد استریل شد.

2-7-3- آماده سازی تیمارها

برای آنالیز GC تیمارهایی با غلظت 0.05% نفتالن و هگزادکان 1% تهیه شد.

3-7-3- انکوباسیون تیمارها

تیمارهای تهیه شده برای انجام آنالیز GC در اتاق کشت نگهداری شدند و ارلن‌ها در شدت‌های مختلف نوری (0، 2000، 5000 لوکس) تحت شرایط هوادهی و بدون هوادهی به طور جداگانه قرار داده شدند.



شکل 3-5 - تیماردهی در شرایط بدون هوادهی تحت شدت روشنایی 2000 لوکس جهت سنجش توانایی سیانوباکتری در تجزیه نفتالن



شکل 3-6 - تیماردهی در شرایط هوادهی تحت شدت روشنایی 5000 لوکس جهت سنجش توانایی سیانوباکتری در تجزیه هگزاکان



شکل 3-7 - سنجش توانایی سیانوباکتری در تجزیه‌ی نفتالن و هگزادکان در شرایط هوادهی تحت تیمار تاریکی

3-7-4-4 آنالیز GC

برای تیمار نفتالن به دلیل سمی بودن آن برای نمونه‌ها تمام آنالیزها در یک روز و در ساعت‌های مختلف صورت گرفت، اما برای تیمار هگزادکان 1٪ آنالیزها در طول یک هفته صورت گرفت.

3-7-4-1-1 مراحل آماده سازی نمونه جهت تزریق به دستگاه

تمام نمونه به قیف جداکننده منتقل شد ارلن حاوی تیمار با 20 میلی لیتر هگزان دو بار شستشو داده شد و درون دکانتور ریخته شد. کل هگزان ریخته شده درون دکانتور برای تمام نمونه‌ها 40 میلی لیتر بوده است. استخراج با استفاده از قیف دکانتور انجام شد و در نهایت 1 میلی لیتر از نمونه را داخل ویال اتوسمپلر ریخته و 2 میکرولیتر از آن به دستگاه تزریق شد.

3-7-4-2 مشخصات دستگاه GC

مدل دستگاه: GC 6890N, AGILENT

Detector: FID (Heater: 300 °C & Makeup: 45mL/min & Air flow: 300 mL/min & H₂ flow: 35 mL/min)

Injection Technique: Splitless 50 mL/min



Injector Temperature: 290°C

Ingection Volume: 2μl

Carrier gas: N₂

Flow rate: 1.2 mL/min

COLUMN USED:

Type of column: Capillary

Length: 30m

Diameter: 0.32mm

Film thickness: 0.25μm

Phase: HP-5

Temperature Program:

Initial temperature: 60 °C

Isotermal: 2 min

rate: 6 °C/m

To: 290 °C

Isotermal: 10 min

8-3- آنالیزهای آماری

اطلاعات به دست آمده توسط نرم افزارهای Excel, SPSS Ver. 18 و Design-expert مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. آنالیزهای آماری بر اساس روش Historical data و آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA انجام شد.



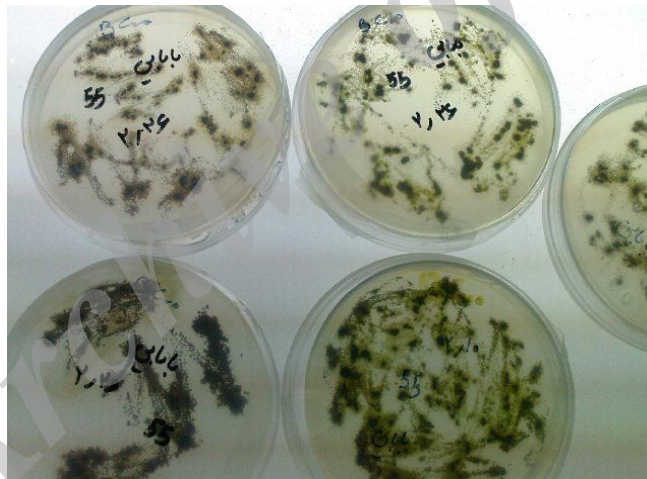
Archive of SID

فصل چهارم

نتایج

1-4- خالص سازی و کشت سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*

این جلبک در کلکسیون بانک ریزجلبک پژوهشکده علوم پایه کاربردی جهاددانشگاهی از قبل جداسازی شده و موجود بود. ولی از آنجا که تمام ریزجلبکها خالص شده بعد از خارج گشتن از فریزر نیاز به کشت مجدد و تایید خلوص دارند، لذا بدین منظور ابتدا ویال مربوطه برای 2-3 روز در دمای آزمایشگاه قرار گرفته و پس از هم دما شدن با آزمایشگاه مجدد پاساژ داده شد. این مراحل با استفاده از روش پلیت آگار انجام شد. پس از 2 تا 3 هفته نگهداری از پلیت‌ها در اتاق کشت، تحت تابش دائمی نور، سیانوباکتری‌ها به میزان کافی رشد یافتند. تصویر 1-4-4 نمایی از پلیت‌های حاوی سیانوباکتری رشد یافته را نشان می‌دهند.



شکل 1-4-4- پلیت‌های حاوی سیانوباکتری رشد یافته

پس از بررسی میکروسکوپی کلنی‌ها جهت اطمینان یافتن از خالص بودن آنها، کلنی‌ها به محیط کشت مایع منتقل شدند. پس از گذراندن 2 تا 3 روز در شیکرانکوباتور، نمونه‌ها به اتاق کشت منتقل شدند. در اتاق کشت نمونه‌ها تحت هوادهی قرار گرفتند.



شکل 4-2- کشت‌های مایع تحت هوادهی

پس از رشد سیانوباکتری‌ها در محیط کشت مایع تیماردهی آنها با نفتالن و نیز هگزادکان صورت پذیرفت. در زیر به نتایج حاصله از تیمار نفتالن و هگزادکان پرداخته شده است.

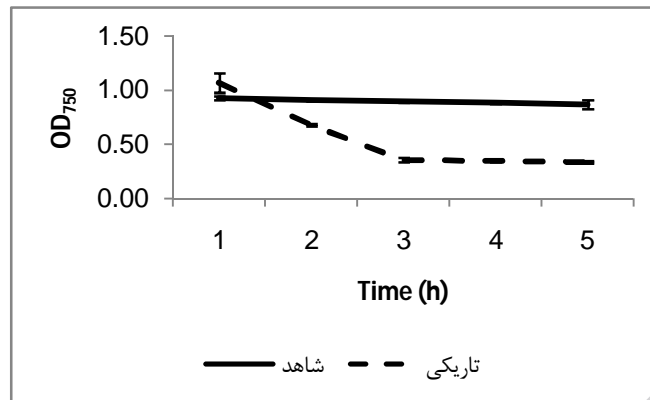
4-2-2- تاثیر آلاینده‌ها بر پاسخ‌های فیزیولوژیک سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*

4-2-1- تاثیر نفتالن بر پاسخ‌های فیزیولوژیک سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*

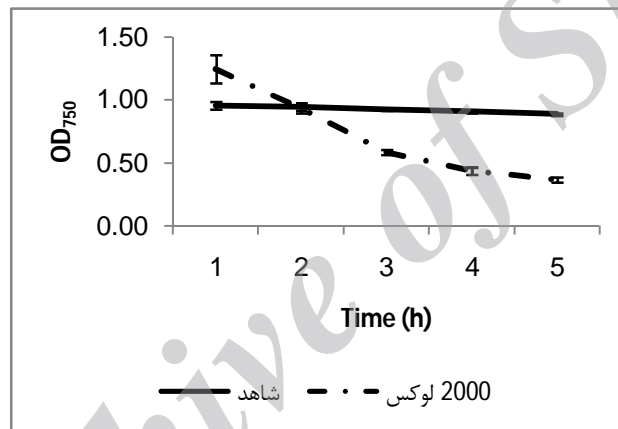
4-2-1-1- تاثیر نفتالن بر تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*

به منظور یافتن زمان مناسب جهت انجام سنجش‌های فیزیولوژیکی وضعیت رشد سیانوباکتری در غلظت‌های مختلف نفتالن به صورت روزانه بررسی شد تا در زمانی که سیانوباکتری‌ها در فاز لگاریتمی قرار داشتند سنجش‌ها انجام شوند.

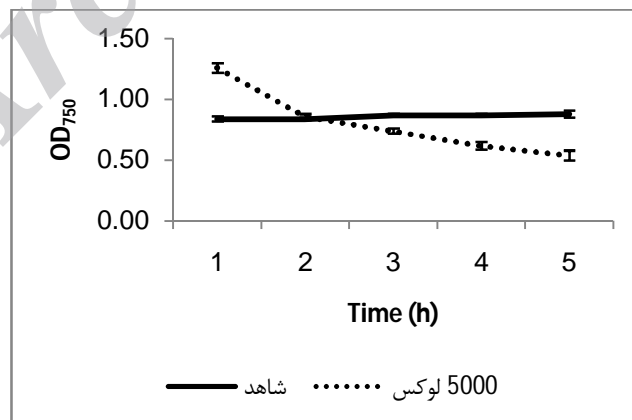
در این پژوهش به منظور بررسی میزان رشد سیانوباکتری از اندازه‌گیری بیومس استفاده شده است. به این منظور جذب نوری سیانوباکتری‌ها در تیمارهای مختلف در طول موج 750 نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس با محاسبه‌ی میزان وزن خشک هر تیمار میزان رشد سیانوباکتری در هر روز محاسبه شد. منحنی‌های حاصل از اندازه‌گیری‌های OD سیانوباکتری در تیمارهای مختلف نفتالن در طول 5 ساعت در نمودارهای 4-3 تا 4-18 نشان داده شده است.



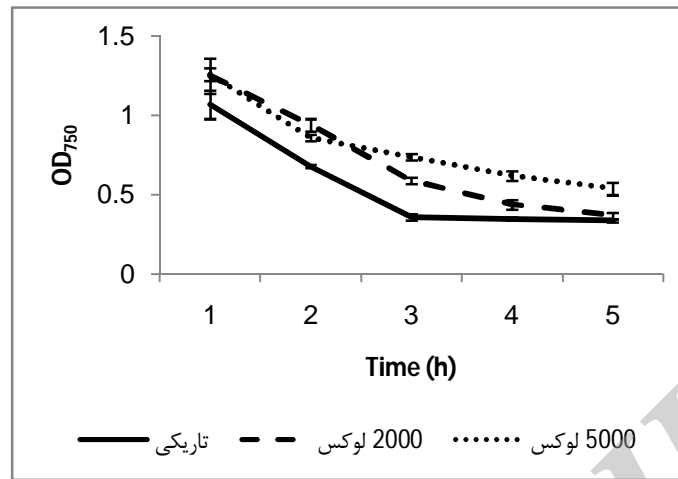
شکل 3-4- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و هوادهی در تاریکی



شکل 4-4- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و هوادهی در نور 2000 لوکس



شکل 5-4- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و هوادهی در نور 5000 لوکس



شکل 4-6- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در شدت‌های مختلف نوری، تحت تیمار نفتالن و هوادهی

جدول 4-1- مقادیر OD سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در تیمار نفتالن در شدت‌های مختلف نوری و تحت هوادهی

شدت نوری (Lux)	زمان (ساعت)				
	5	4	3	2	1
0	0/34±0/01	0/35±0/01	0/36±0/02	0/68±0/01	1/07± 0/09
2000	0/37±0/02	0/44±0/03	0/59±0/02	0/94±0/11	1/25±0/11
5000	0/54±0/04	0/62±0/03	0/74±0/02	1/26±0/02	1/26±0/04

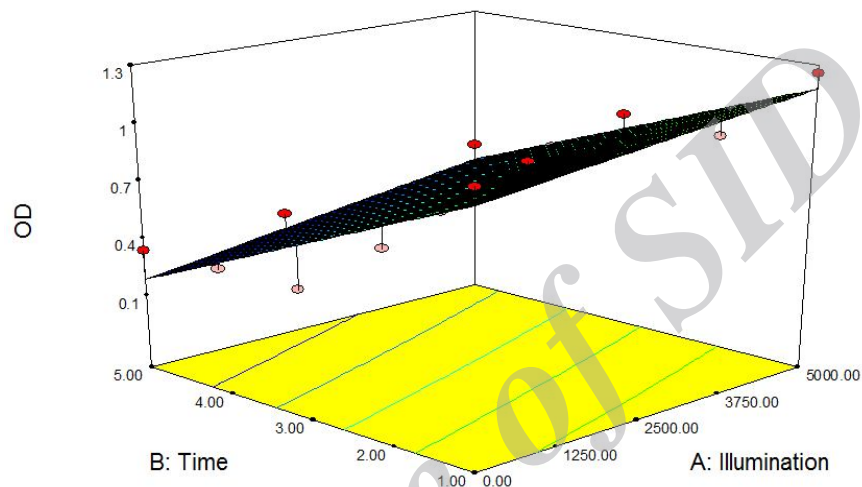
داده ها $X \pm SE$ را نشان می‌دهند.

مقادیر OD در شدت‌های مختلف نوری تحت تیمار نفتالن و در شرایط هوادهی در جدول 4-1 آمده است. میانگین OD سیانوباکتری در تاریکی در ساعت سوم 0/36 بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش یافت و به مقدار 0/74 رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات OD ظرف مدت آزمایش (5 ساعت) نشان می‌دهد که میزان این پارامتر در تاریکی کاهش یافته و در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز همین روند را از خود نشان می‌دهد.

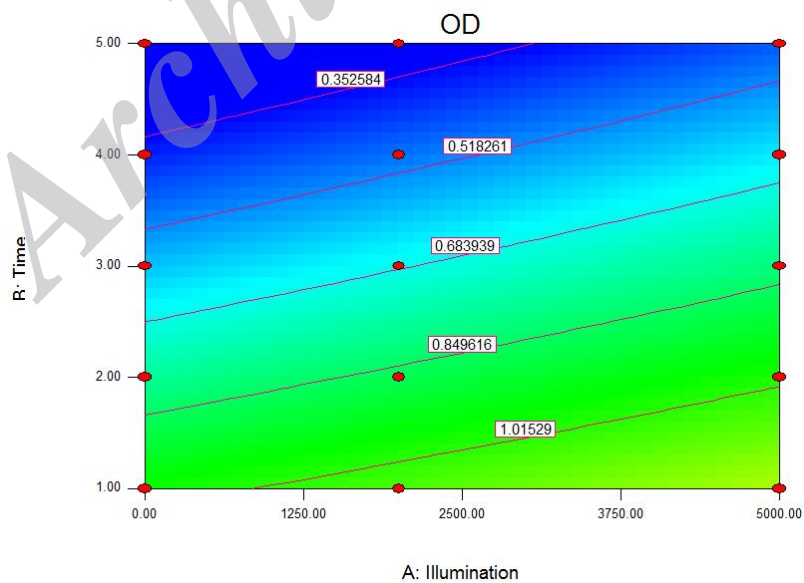
جدول 4-2 آنالیز واریانس مقادیر OD را نشان می‌دهد.

جدول 2-4- آنالیز واریانس مقادیر OD در شرایط هوادهی

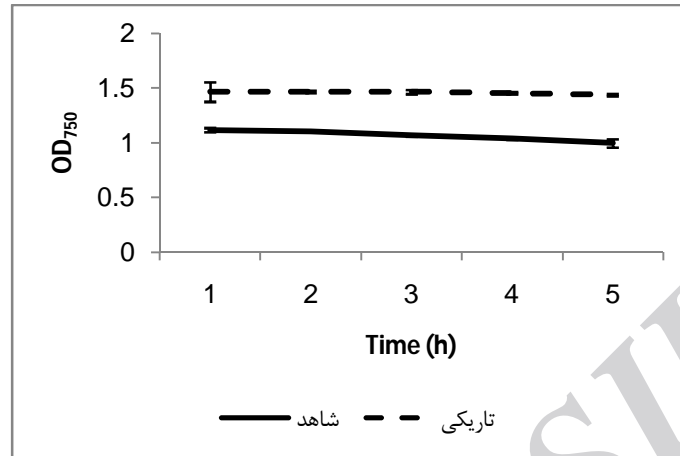
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	0/216	0/108	159/56	0/0001



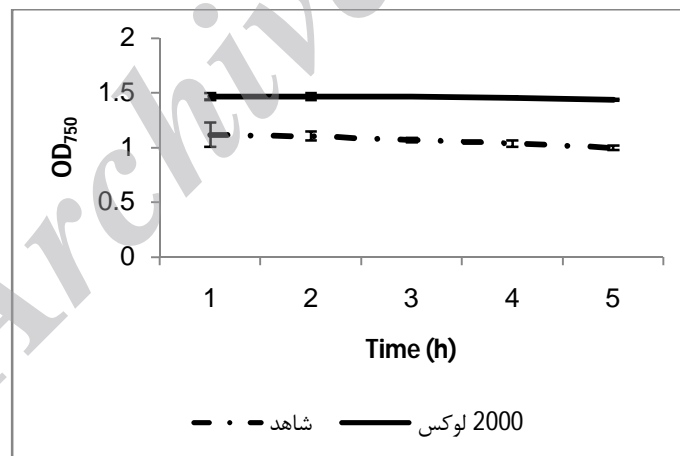
شکل 4-7- تصویر سه بعدی تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و هوادهی



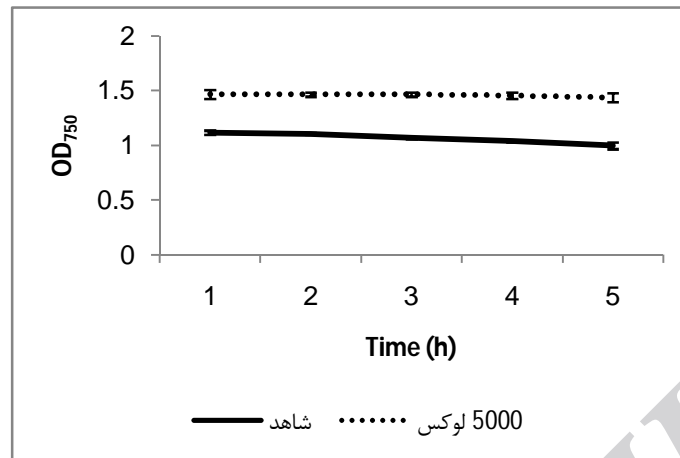
شکل 4-8- کانتور تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و هوادهی



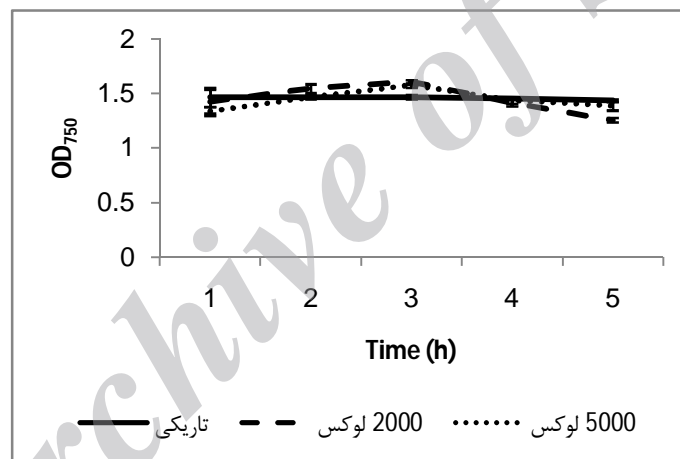
شکل 4-9- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در تاریکی و بدون هوادهی



شکل 4-10- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در نور 2000 لوکس و بدون هوادهی



شکل 4-11- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در نور 5000 لوکس و بدون هوادهی



شکل 4-12- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در شدت‌های مختلف نوری و بدون هوادهی

جدول 4-3- مقادیر OD سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن بدون هوادهی

زمان (ساعت)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
1/44±0/1	1/46±0/03	1/47±0/01	1/47±0/01	1/47±0/17	0
1/26±0/07	1/42±0/07	1/61±0/15	1/55±0/05	1/43±0/13	2000
1/39±0/12	1/44±0/06	1/58±0/05	1/47±0/06	1/34±0/18	5000

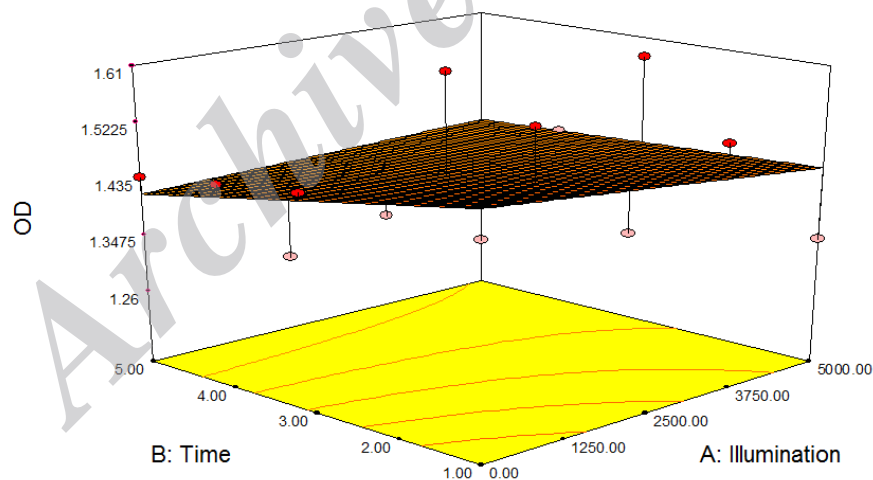
داده‌ها $X \pm SE$ را نشان می‌دهند.

مقادیر OD در شدت‌های مختلف نوری تحت تیمار نفتالن و در شرایط بدون هوادهی در جدول 3-4 آمده است. میانگین OD سیانوباکتری در تاریکی در ساعت اول 1/47 بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش یافت و به مقدار 1/34 رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات OD ظرف مدت آزمایش (5 ساعت) نشان می‌دهد که میزان این پارامتر در تاریکی روند ثابتی داشته در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز با تغییرات جزئی در نهایت افزایشی را از خود نشان نداده است.

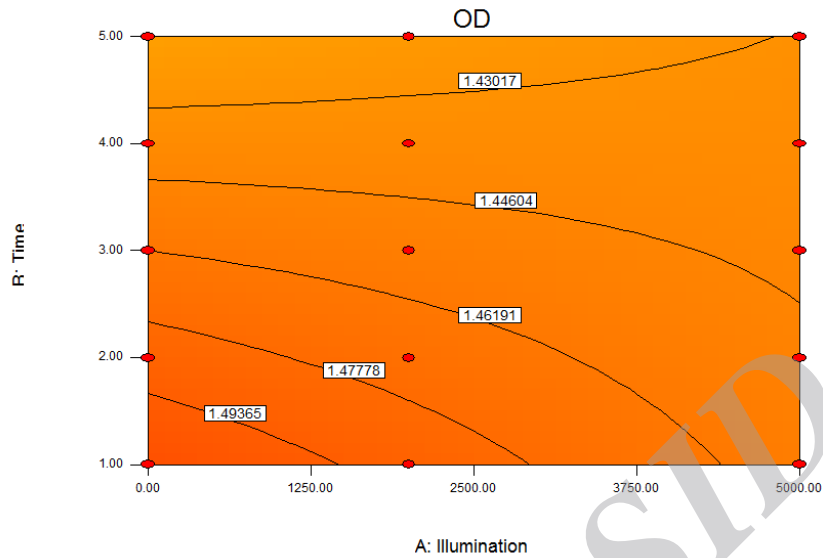
جدول 4-4 آنالیز واریانس مقادیر OD را نشان می‌دهد.

جدول 4-4- آنالیز واریانس مقادیر OD تحت تیمار نفتالن بدون هوادهی

نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	0/031	0/015	0/414	0/314

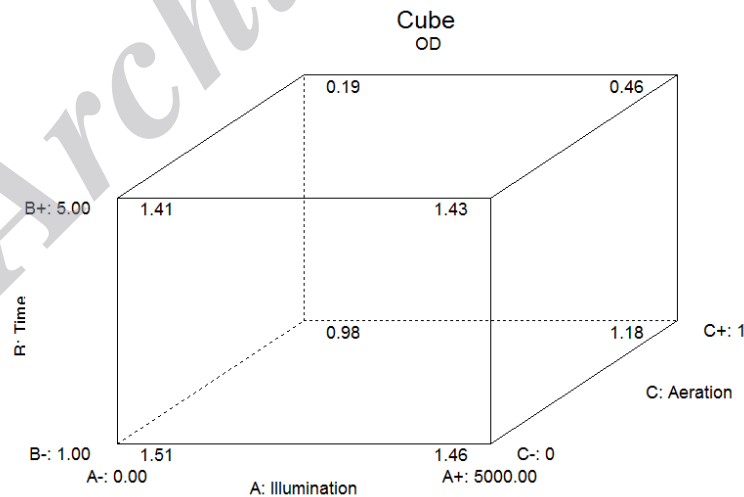


شکل 4-13- تصویر سه بعدی تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن بدون هوادهی

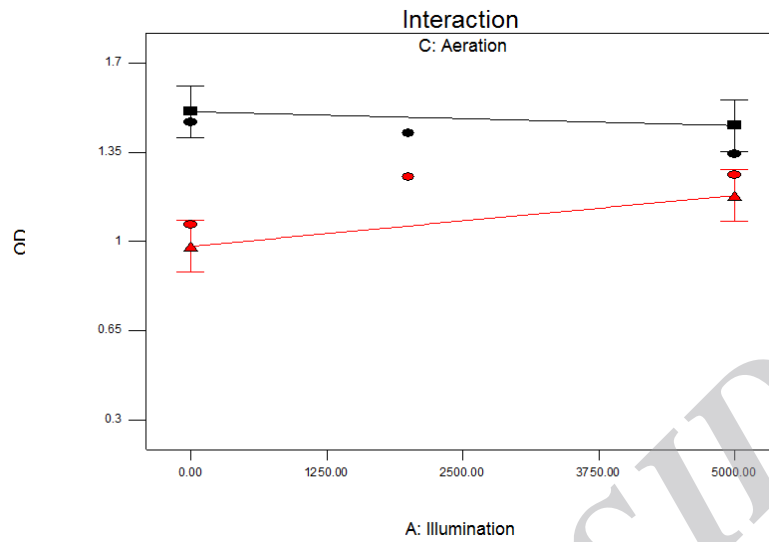


شکل 14-4- کانتور تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن بدون هوادهی

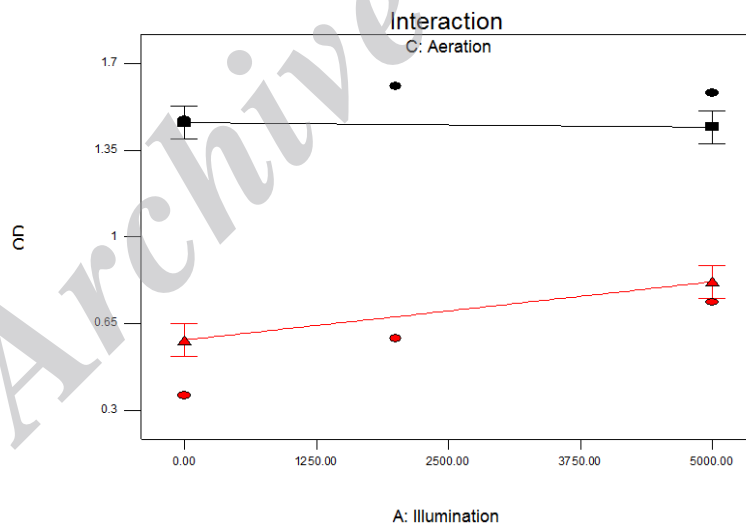
اشکال 13-4 و 14-4 نشان می‌دهند که تغییرات OD در شرایط بدون هوادهی محسوس و افزایشی نبوده و تقریباً کاهششی است.



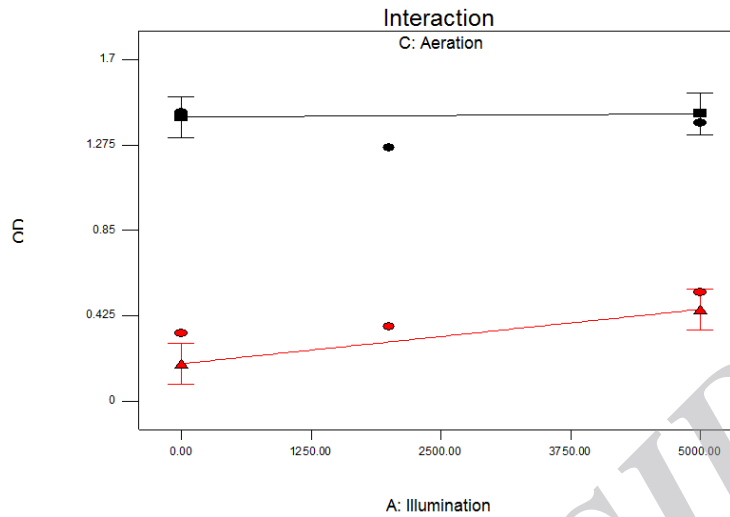
شکل 15-4- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* نسبت به سه متغیر زمان، نور و هوادهی تحت تیمار نفتالن



شکل 4-16- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در ساعت اول (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)



شکل 4-17- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در ساعت سوم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)



شکل 4-18- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در ساعت پنجم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)

آنچه که در منحنی کوبیک و برهم‌کنش‌ها (اشکال 4-15 تا 4-18) مشاهده می‌گردد، این است که در شرایطی که هوادهی وجود ندارد، OD با افزایش نور، تغییرات معنی‌داری نمی‌کند. ولی در شرایط هوادهی، OD با افزایش نور، افزایش می‌یابد. ولی در کل، OD در شرایط بدون هوادهی بیشتر از هوادهی است.

- آنالیز واریانس چند عاملی برای بررسی تاثیرگذاری متغیرهای نور، هوادهی و زمان بر OD

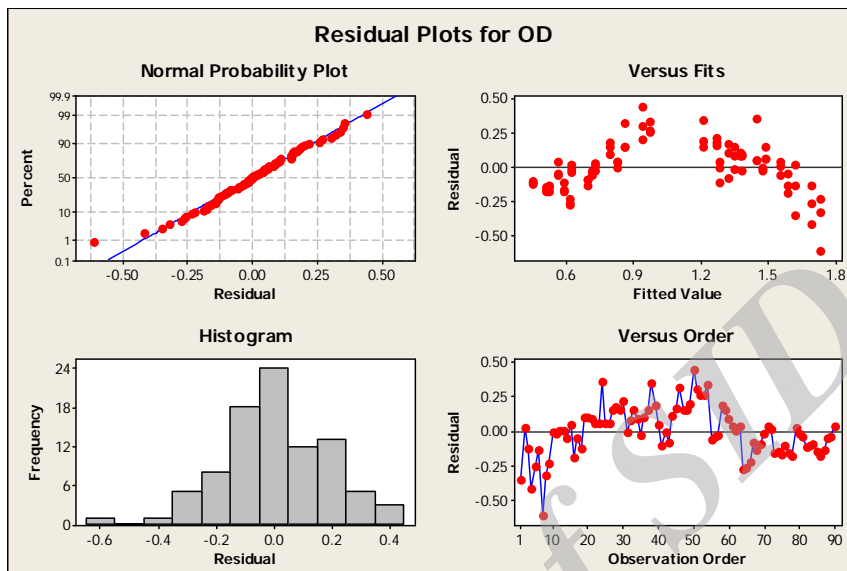
ANOVA: OD versus Air, Time, Light

Factor	Type	Levels	Values
Air	fixed	2	0, 1
Time	fixed	5	1, 2, 3, 4, 5
Light	fixed	3	0, 2000, 5000

Analysis of Variance for OD

Source	DF	SS	MS	F	P
Air	1	12.9732	12.9732	369.87	0.000
Time	4	1.9407	0.4852	13.83	0.000
Light	2	0.1980	0.0990	2.82	0.065
Error	82	2.8762	0.0351		
Total	89	17.9880			

S = 0.187283 R-Sq = 84.01% R-Sq(adj) = 82.65%



با توجه به مقدار P برای زمان و هوادهی که کمتر از 0.05 می باشد زمان و هوادهی تاثیر معناداری بر رشد OD دارند. ولی تغییرات نور با توجه به مقدار P که بیشتر از 0.05 می باشد تاثیر معناداری بر رشد OD ندارد.

• رابطه کمی بین OD و نور، هوادهی و زمان

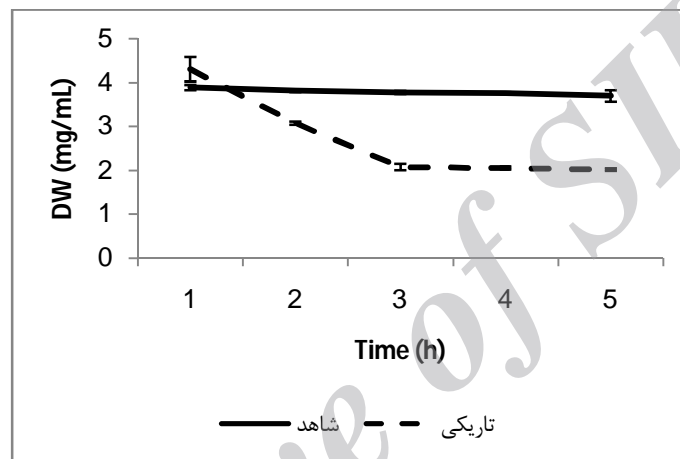
The regression equation is

$$OD = 1.53 - 0.354 \text{ Air} - 0.175 \text{ Time} * \text{Air} + 0.000051 \text{ Air} * \text{Light}$$

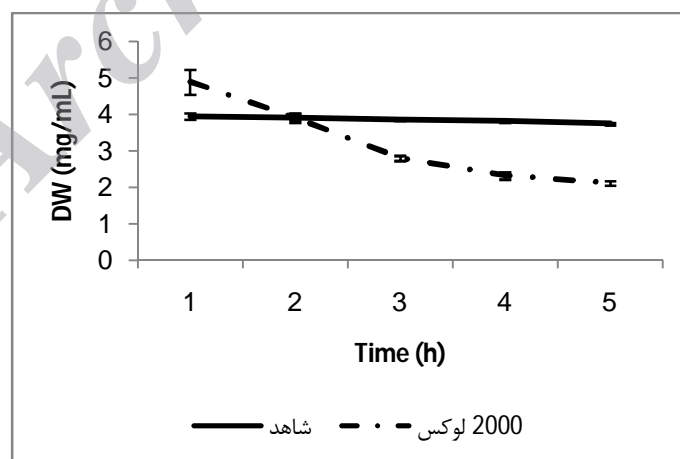
Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	1.53332	0.05809	26.40	0.000
Air	-0.35351	0.06876	-5.14	0.000
Time	-0.02380	0.01692	-1.41	0.163
Light	-0.00001438	0.00001637	-0.88	0.382
Time*Air	-0.17478	0.01866	-9.37	0.000
Time*Light	0.00000354	0.00000454	0.78	0.438
Air*Light	0.00005079	0.00001284	3.95	0.000

2-1-2-4- تاثیر نفتالن بر تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*

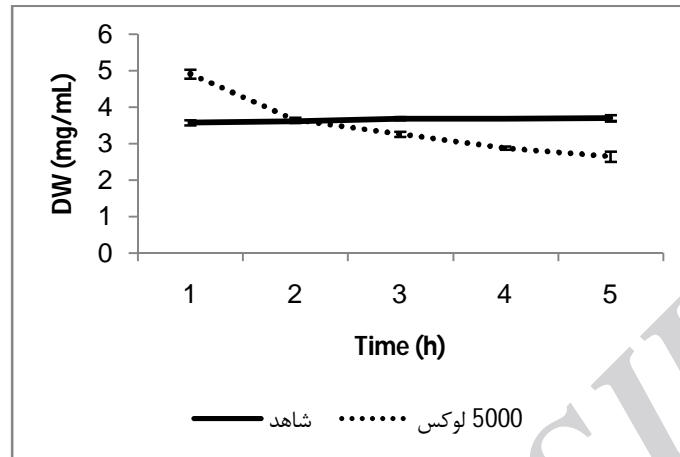
یکی دیگر از پارامترهای مورد سنجش در این پژوهش وزن خشک بود که روند تغییرات آن با تغییرات شدت نور و نیز گذشت زمان مورد بررسی قرار گرفت. اندازه گیری وزن خشک به منظور بررسی رشد سیانوباکتری در تیمار نفتالن صورت گرفت. به این منظور وزن خشک به روش گراویمتری محاسبه گردید. منحنی‌های حاصل از اندازه‌گیری وزن خشک سیانوباکتری در تیمارهای مختلف نفتالن در طول 5 ساعت در نمودارهای 4-19 تا 4-34 نشان داده شده است.



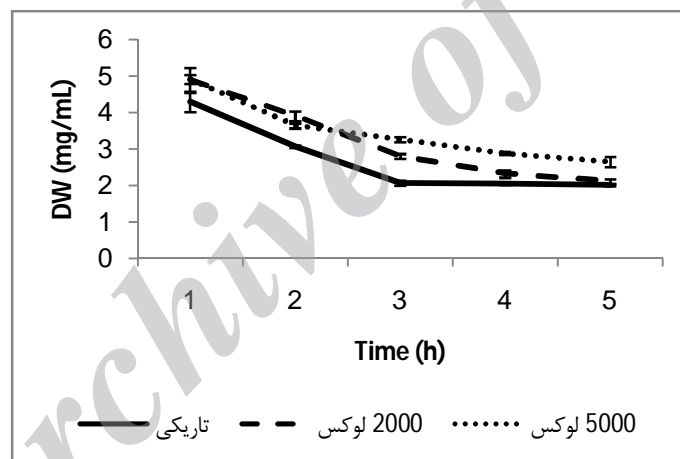
شکل 4-19- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در تاریکی و تحت هوادهی



شکل 4-20- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و هوادهی در نور 2000 لوکس



شکل 4-21- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و هوادهی در نور 5000 لوکس



شکل 4-22- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و هوادهی در شدت‌های نوری مختلف

جدول 4-5- مقادیر وزن خشک (mg/mL) سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در تیمار نفتالن در شدت‌های مختلف نوری و تحت هوادهی (میلی گرم بر میلی لیتر)

زمان (ساعت)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
2/02±0/03	2/06±0/04	2/08±0/07	3/08±0/04	4/31±0/28	0
2/12±0/06	2/33±0/1	2/81±0/07	3/91±0/13	4/9±0/34	2000

2/66±0/14

2/89±0/04

3/27±0/07

3/65±0/07

4/92±0/12

5000

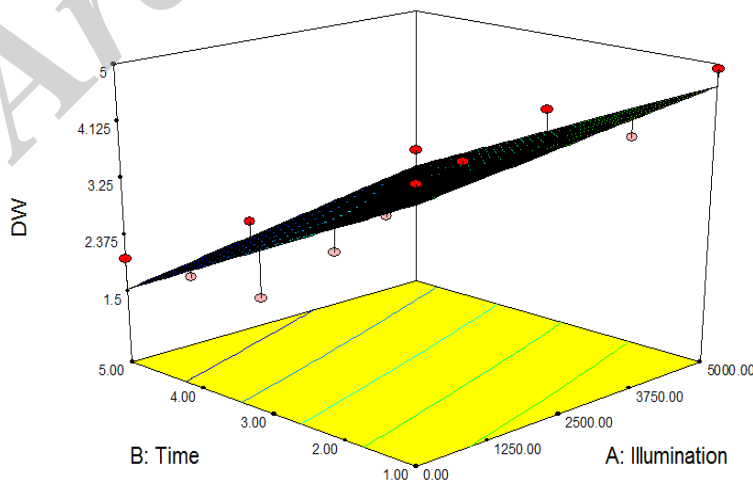
داده ها $X \pm SE$ را نشان می دهند.

مقادیر DW در شدت های مختلف نوری تحت تیمار نفتالن و در شرایط هوادهی در جدول 4-5 آمده است. میانگین DW سیانوباکتری در تاریکی در ساعت سوم 2/08 میلی گرم بر میلی لیتر بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش یافت و به مقدار 3/27 میلی گرم بر میلی لیتر رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات DW ظرف مدت آزمایش (5 ساعت) نشان می دهد که میزان این پارامتر در تاریکی کاهش یافته و در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز همین روند را از خود نشان می دهد.

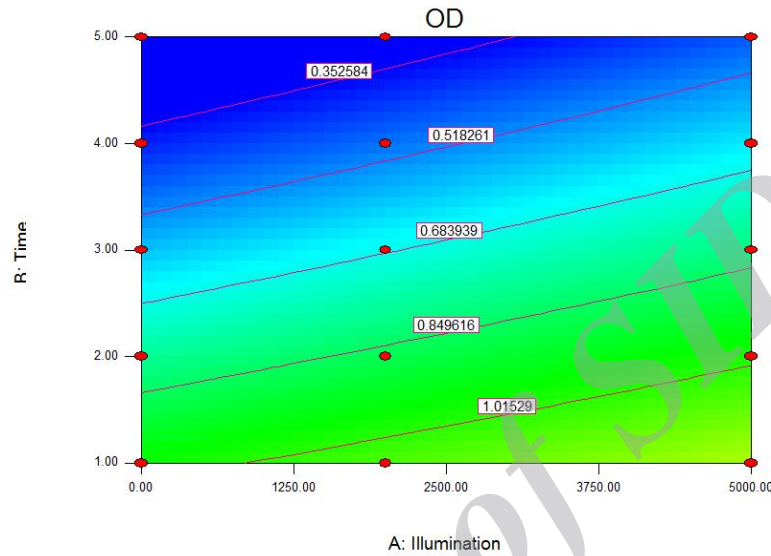
جدول 4-6 آنالیز واریانس مقادیر DW را نشان می دهد. همانطور که از این جدول برداشت می شود، نور اثر افزایش معنی داری در ساعت سوم بر میزان وزن خشک در شرایط هوادهی می گذارد.

جدول 4-6- آنالیز واریانس مقادیر وزن خشک در شرایط هوادهی

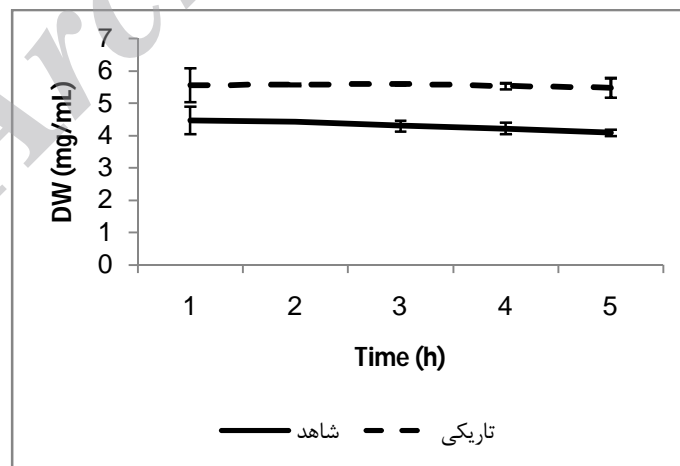
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	2/159	1/079	168/37	0/0001



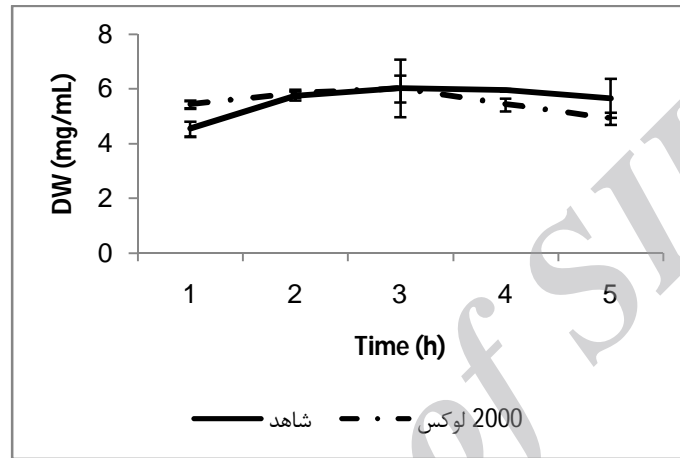
شکل 4-23- تصویر سه بعدی تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و هوادهی



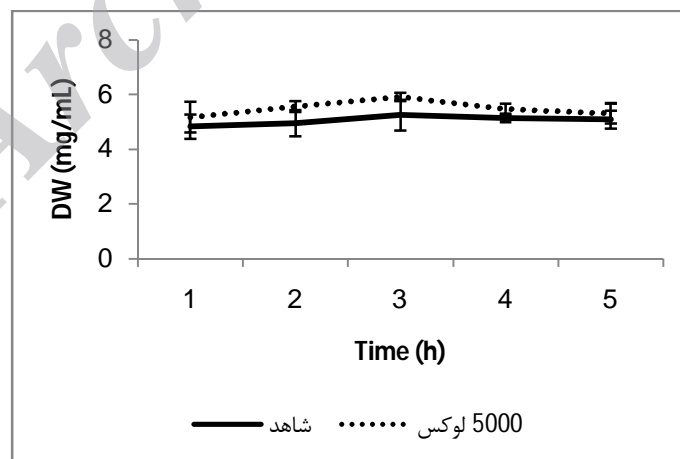
شکل 4-24- کانتور تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و هوادهی



شکل 4-25- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در تاریکی و بدون هوادهی

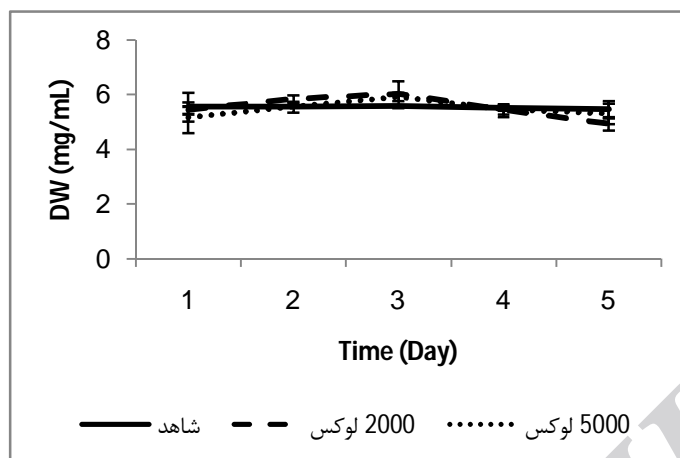


شکل 4-26- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در نور 2000 لوکس و بدون هوادهی



شکل 4-27- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در شدت نوری 5000 لوکس و بدون

هوادهی



شکل 4-28- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در شدت‌های نوری مختلف و بدون هوادهی

جدول 4-7- مقادیر وزن خشک سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن بدون هوادهی

زمان (ساعت)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
5/49±0/3	5/54±0/09	5/6±0/03	5/58±0/03	5/57±0/53	0
4/93±0/22	5/44±0/23	6/03±0/49	5/85±0/14	5/45±0/14	2000
5/32±0/37	5/48±0/19	5/93±0/15	5/57±0/2	5/18±0/56	5000

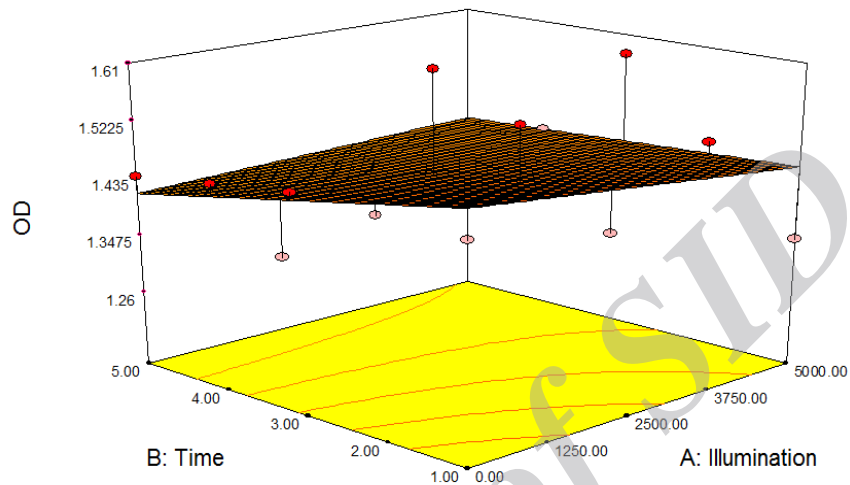
داده ها $X \pm SE$ را نشان می‌دهند.

مقادیر DW در شدت‌های مختلف نوری تحت تیمار نفتالن و در شرایط بدون هوادهی در جدول 4-7 آمده است. میانگین DW سیانوباکتری در تاریکی در ساعت سوم 5/6 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس کاهش یافت و به مقدار 5/93 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات DW ظرف مدت آزمایش (5 ساعت) نشان می‌دهد که میزان این پارامتر در تاریکی روند ثابتی داشته در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز با تغییرات جزئی در نهایت کاهشی را از خود نشان نداده است.

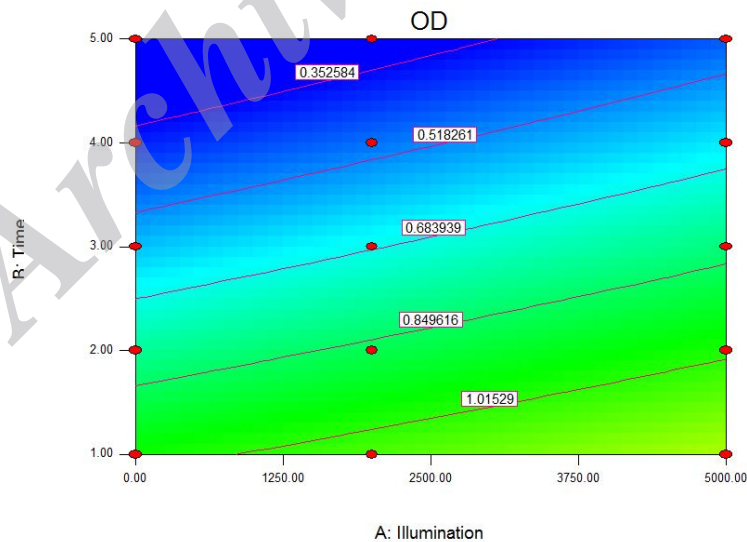
بر اساس نتایج آنالیز آماری، هیچکدام از تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. جدول 4-8 آنالیز واریانس مقادیر DW را نشان می‌دهد.

جدول 4-8- آنالیز واریانس مقادیر وزن خشک تحت تیمار نفتالن بدون هوادهی

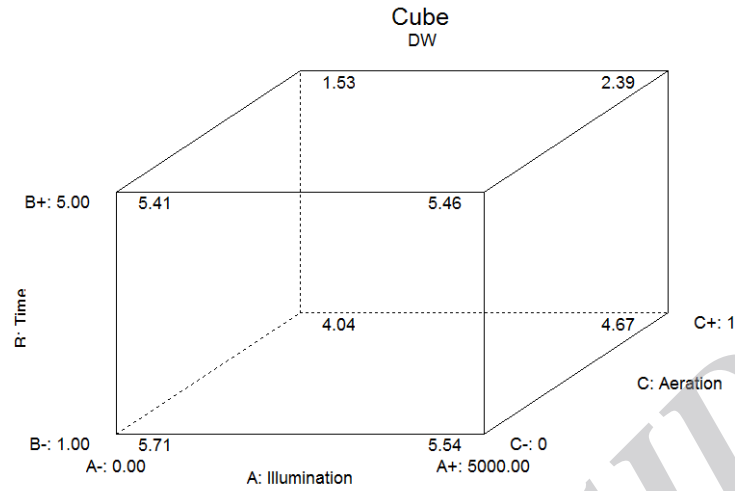
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	0/307	0/153	1/40	0/317



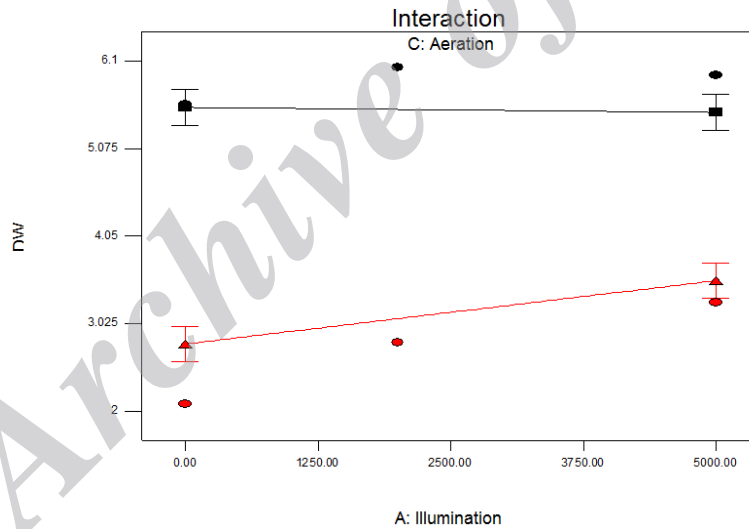
شکل 4-29- تصویر سه بعدی تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن بدون هوادهی



شکل 4-30- کانتور تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن بدون هوادهی

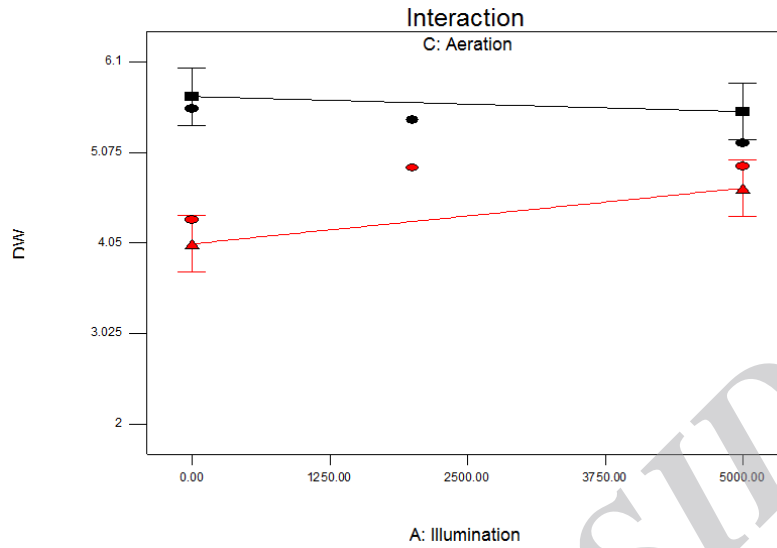


شکل 4-31- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* نسبت به سه متغیر زمان، نور، و هوادهی تحت تیمار نفتالن

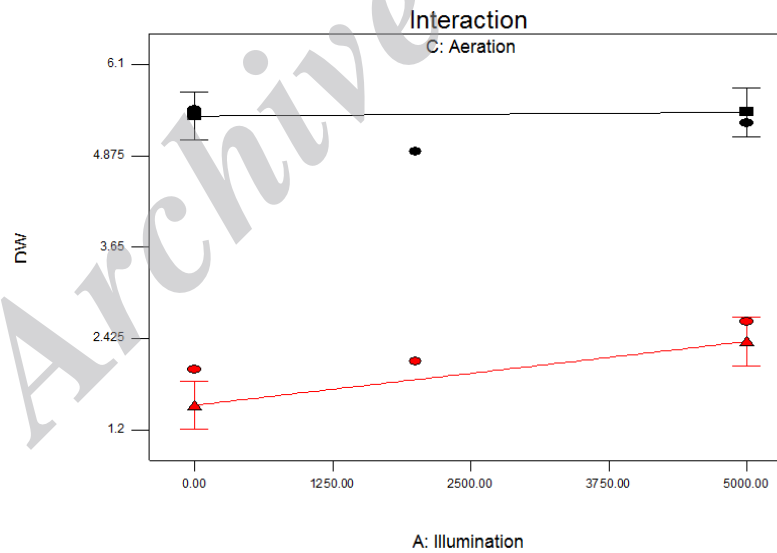


شکل 4-32- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در

ساعت اول (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می دهد)



شکل 4-33- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در ساعت سوم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)



شکل 4-34- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در ساعت پنجم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)



آنچه که در منحنی کوبیک و برهم‌کنش‌ها (اشکال 4-31 تا 4-34) مشاهده می‌گردد، این است که در شرایطی که هوادهی وجود ندارد، DW با افزایش نور، تغییرات معنی‌داری نمی‌کند. ولی در شرایط هوادهی، DW با افزایش نور، افزایش می‌یابد. ضمن آن که هوادهی تاثیر منفی بر روی وزن خشک داشته است.

- آنالیز واریانس چند عاملی برای بررسی تاثیرگذاری متغیرهای نور، هوادهی و زمان بر DW

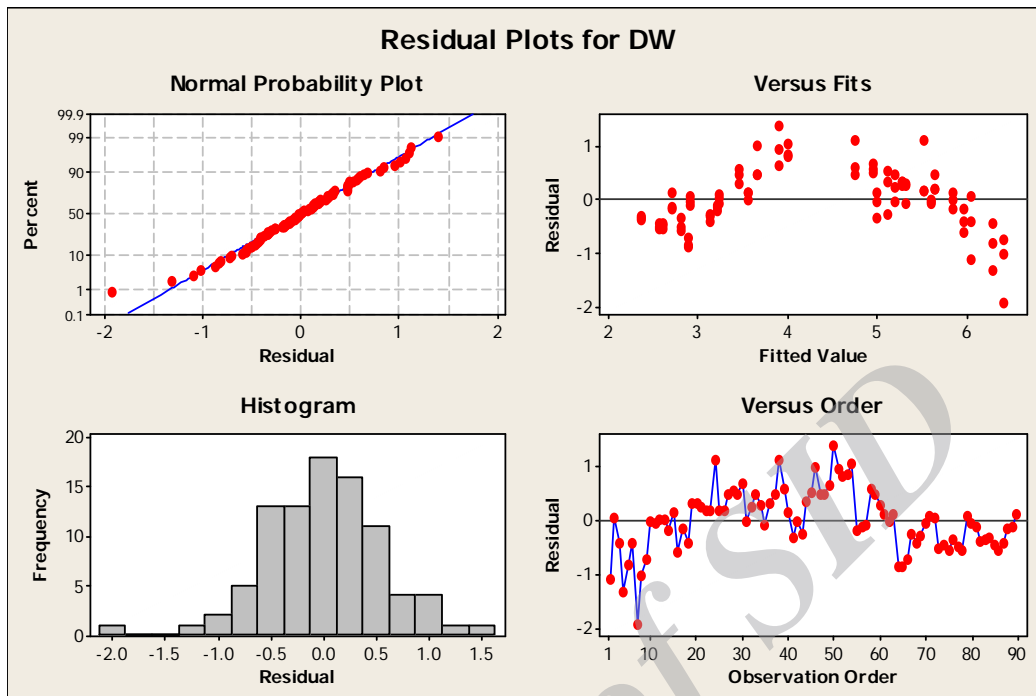
ANOVA: DW versus Air, Time, Light

Factor	Type	Levels	Values
Air	fixed	2	0, 1
Time	fixed	5	1, 2, 3, 4, 5
Light	fixed	3	0, 2000, 5000

Analysis of Variance for DW

Source	DF	SS	MS	F	P
Air	1	129.345	129.345	369.87	0.000
Time	4	19.349	4.837	13.83	0.000
Light	2	1.974	0.987	2.82	0.065
Error	82	28.676	0.350		
Total	89	179.344			

S = 0.591359 R-Sq = 84.01% R-Sq(adj) = 82.65%



با توجه به مقدار P برای زمان و هوادهی که کمتر از 0.05 می باشد زمان و هوادهی تاثیر معناداری بر رشد DW دارند. ولی تغییرات نور با توجه به مقدار P که بیشتر از 0.05 می باشد تاثیر معناداری بر رشد DW ندارد.

• رابطه کمی بین DW و نور، هوادهی و زمان

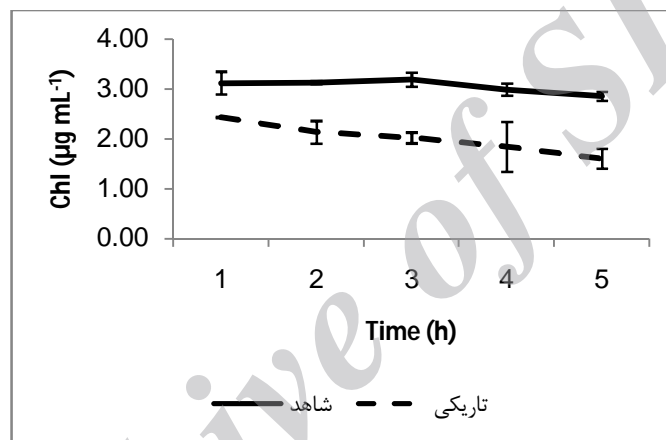
The regression equation is

$$DW = 5.78 - 1.12 \text{ Air} - 0.552 \text{ Time*Air} + 0.000160 \text{ Air*Light}$$

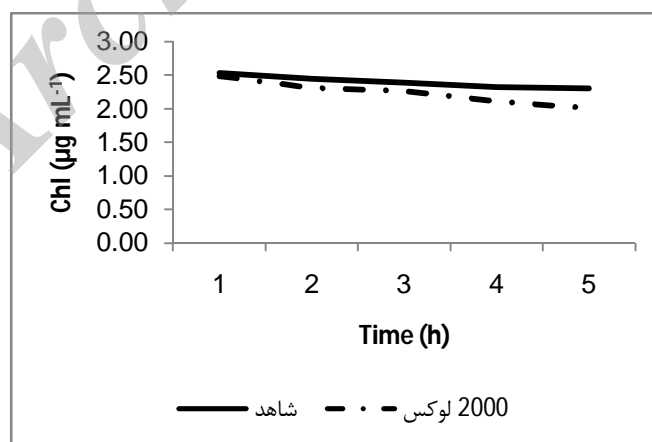
Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	5.7847	0.1834	31.54	0.000
Air	-1.1162	0.2171	-5.14	0.000
Time	-0.07516	0.05343	-1.41	0.163
Light	-0.00004540	0.00005169	-0.88	0.382
Time*Air	-0.55187	0.05892	-9.37	0.000
Time*Light	0.00001116	0.00001434	0.78	0.438
Air*Light	0.00016037	0.00004055	3.95	0.000

3-1-2-4- تاثیر نفتالن بر تغییرات کلروفیل در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*

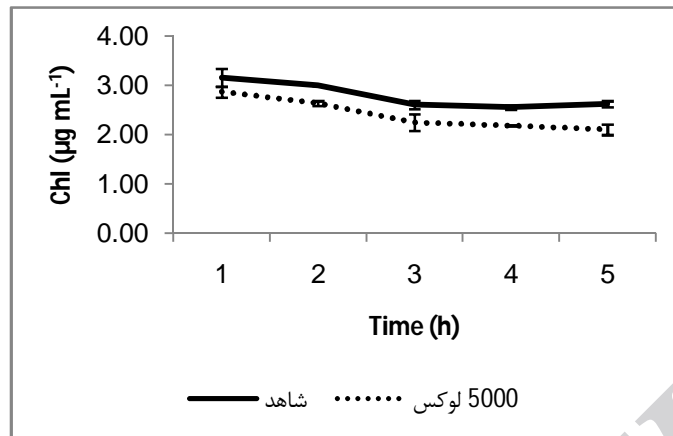
یکی دیگر از پارامترهای مورد سنجش در این پژوهش کلروفیل بود که روند تغییرات آن با تغییرات شدت نور، هوادهی و نیز گذشت زمان مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور کلروفیل به روش اسپکتروفتومتری سنجش گردید. منحنی‌های حاصل از اندازه‌گیری کلروفیل سیانوباکتری در تیمارهای مختلف نفتالن در طول 5 ساعت در نمودارهای 4-35 تا 4-50 نشان داده شده است.



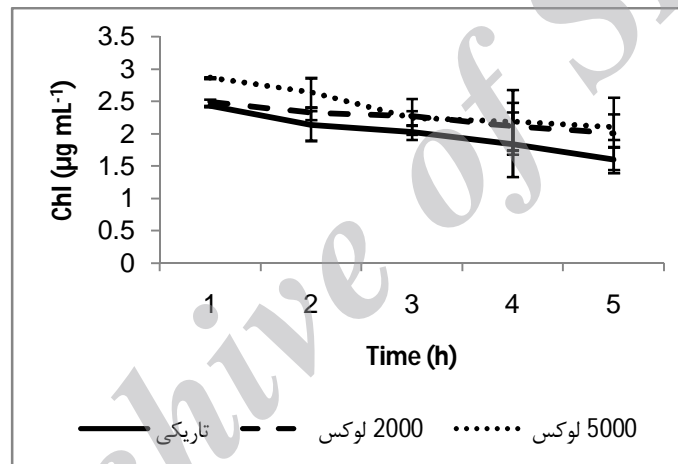
شکل 4-35- تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در تاریکی و تحت هوادهی



شکل 4-36- تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در شدت نوری 2000 لوکس و تحت هوادهی



شکل 4-37- تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در شدت نوری 5000 لوکس و تحت هوادهی



شکل 4-38- تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در شدت‌های نوری مختلف و تحت هوادهی

جدول 4-9- مقادیر Chl سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در تیمار نفتالن در شدت‌های مختلف نوری و تحت هوادهی

زمان (ساعت)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
1/6±0/2	1/84±0/5	2/02±0/11	2/13±0/23	2/43±0/01	0
2/01±0/56	2/12±0/37	2/27±0/28	2/32±0/1	2/49±0/05	2000
2/11±0/11	2/19±0/01	2/25±0/17	2/64±0/05	2/87±0/11	5000

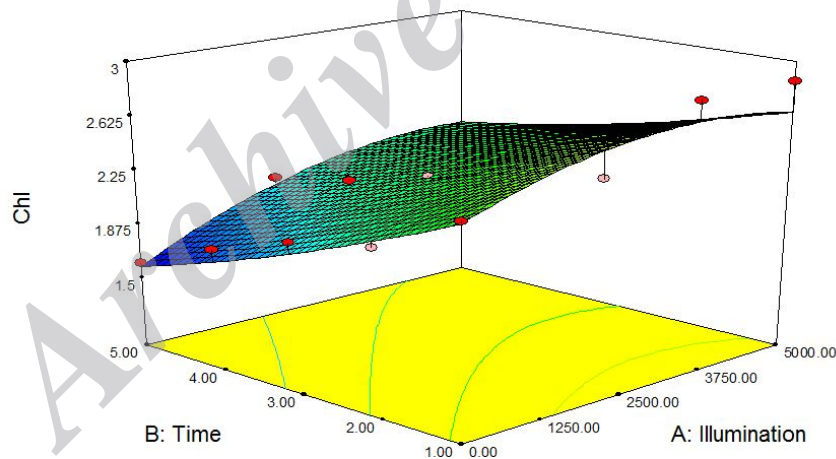
داده‌ها X ± SE را نشان می‌دهند.

مقادیر کلروفیل در شدت‌های مختلف نوری تحت تیمار نفتالن و در شرایط هوادهی در جدول 4-9 آمده است. میانگین کلروفیل سیانوباکتری در تاریکی در ساعت سوم 2/02 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش جزئی یافت و به مقدار 2/25 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات کلروفیل ظرف مدت آزمایش (5 ساعت) نشان می‌دهد که میزان این پارامتر در تاریکی کاهش جزئی یافته و در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز همین روند را از خود نشان می‌دهد.

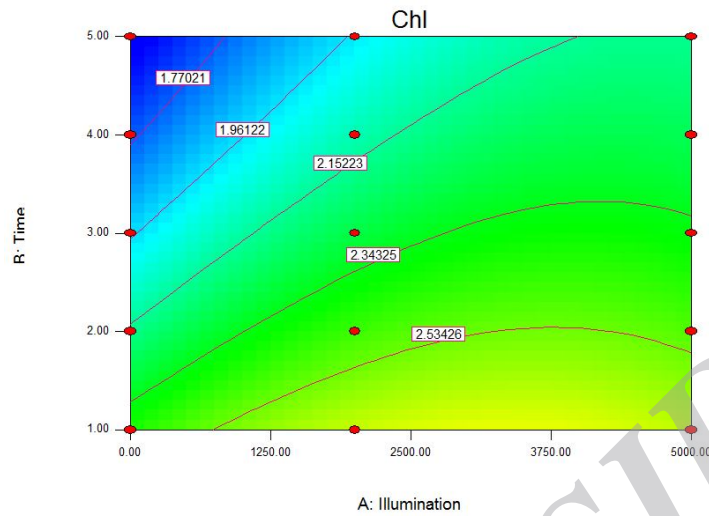
بر اساس نتایج آنالیز آماری در ساعت سوم، هیچکدام از تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. جدول 4-10 آنالیز واریانس مقادیر کلروفیل را نشان می‌دهد.

جدول 4-10- آنالیز واریانس مقادیر Chl تحت تیمار نفتالن با هوادهی

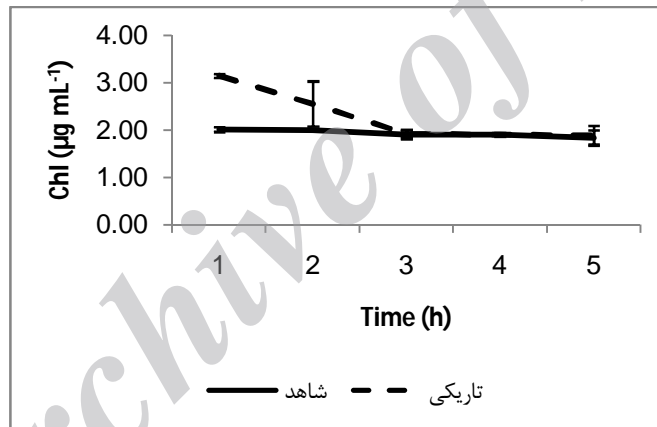
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	0/111	0/055	3/164	0/115



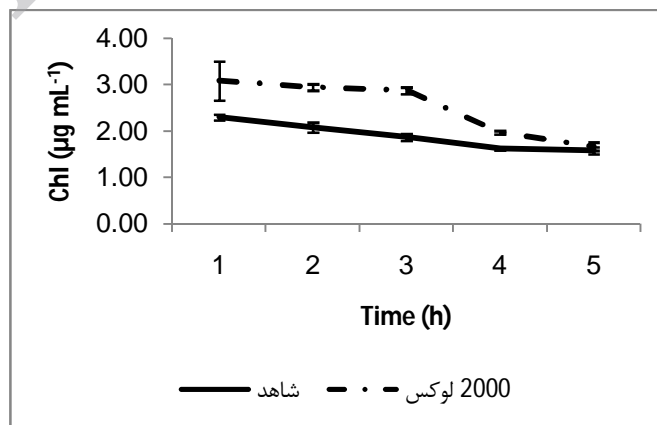
شکل 4-39- تصویر سه بعدی تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و هوادهی



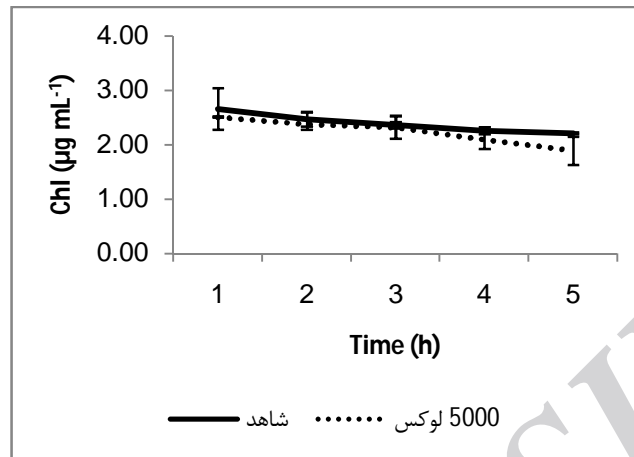
شکل 4-40- کانتور تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و هوادهی



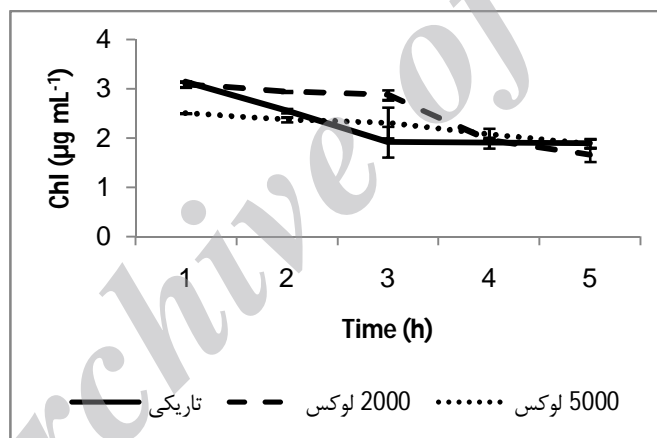
شکل 4-41- تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در تاریکی و بدون هوادهی



شکل 4-42- تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در شدت نوری 2000 لوکس و بدون هوادهی



شکل 4-43- تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در شدت نوری 5000 لوکس و بدون هوادهی



شکل 4-44- تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در شدت‌های نوری مختلف و بدون هوادهی

جدول 4-11- مقادیر Chl سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن بدون هوادهی

زمان (ساعت)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
1/9±0/2	1/91±0/01	1/93±0/08	2/56±0/48	3/15±0/04	0
1/67±0/09	1/97±0/04	2/88±0/07	2/95±0/07	3/09±0/42	2000

1/89±0/26

2/09±0/17

2/32±0/21

2/38±0/1

2/51±0/01

5000

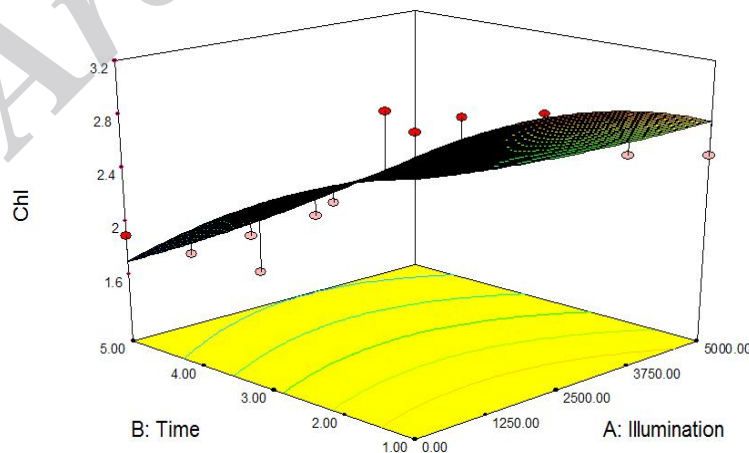
داده ها $X \pm SE$ را نشان می دهند.

مقادیر کلروفیل در شدت های مختلف نوری تحت تیمار نفتالن و در شرایط بدون هوادهی در جدول 4-11 آمده است. میانگین کلروفیل سیانوباکتری در تاریکی در ساعت سوم 1/93 میلی گرم بر میلی لیتر بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش جزئی یافت و به مقدار 2/32 میلی گرم بر میلی لیتر رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات کلروفیل ظرف مدت آزمایش (5 ساعت) نشان می دهد که میزان این پارامتر در تاریکی روند کاهشی داشته در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز از همین روند تبعیت می کند.

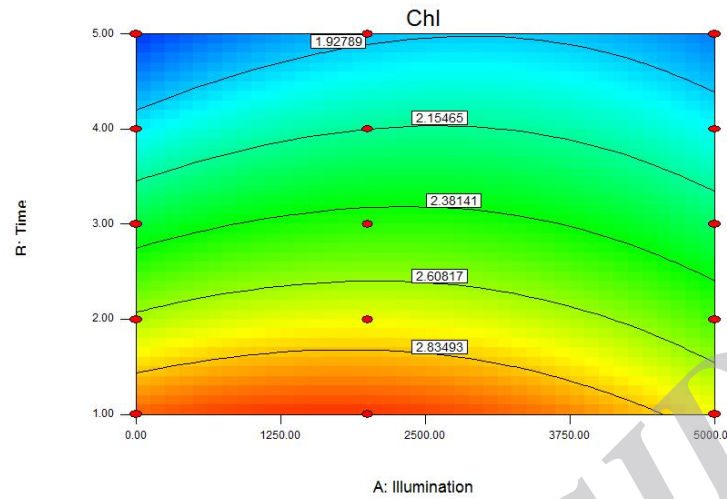
بر اساس نتایج آنالیز آماری، هیچکدام از تیمارها با هم اختلاف معنی داری را نشان ندادند. جدول 4-12 آنالیز واریانس مقادیر کلروفیل را نشان می دهد.

جدول 4-12- آنالیز واریانس مقادیر Chl تحت تیمار نفتالن بدون هوادهی

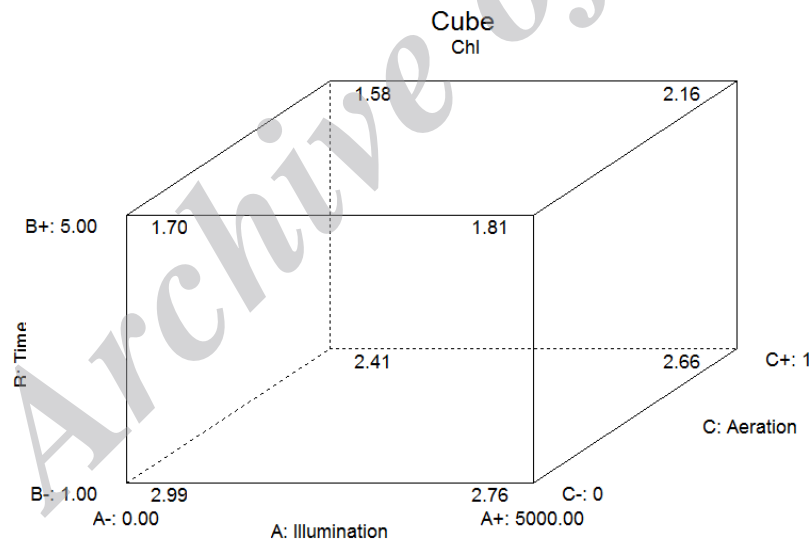
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	1/369	0/685	3/838	0/084



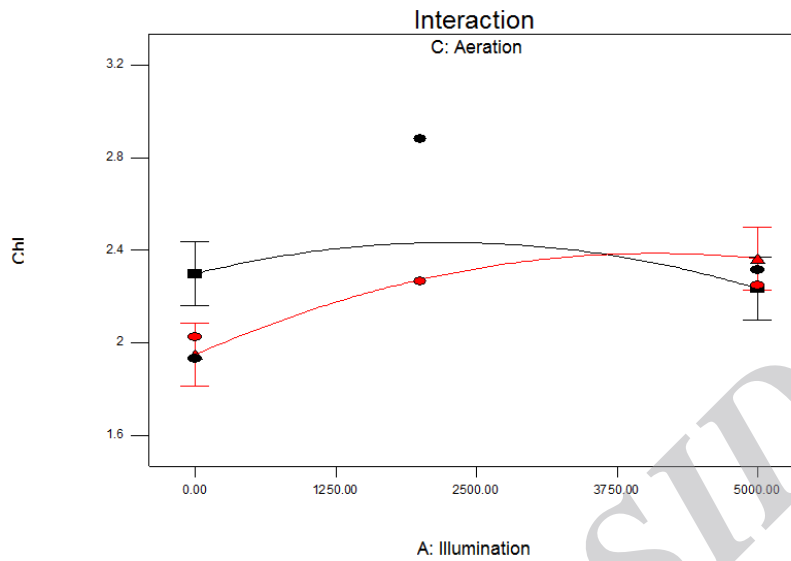
شکل 4-45- تصویر سه بعدی تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و بدون هوادهی



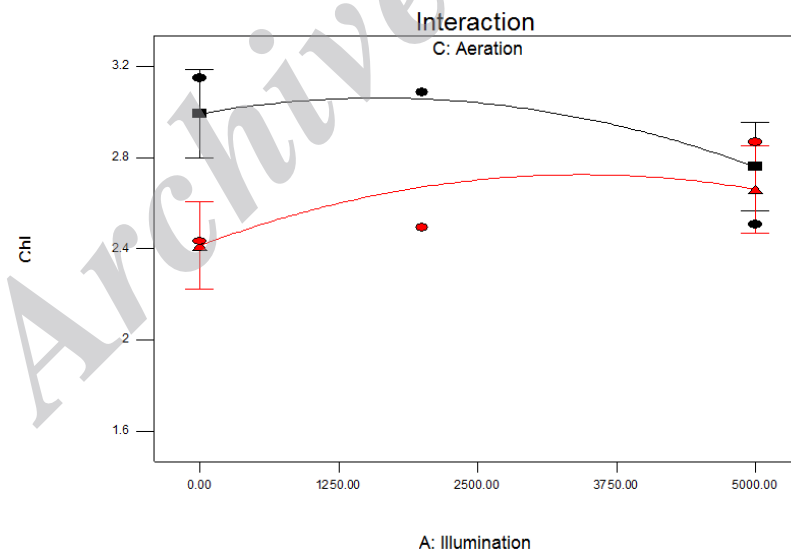
شکل 4-46- کانتور تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و بدون هوادهی



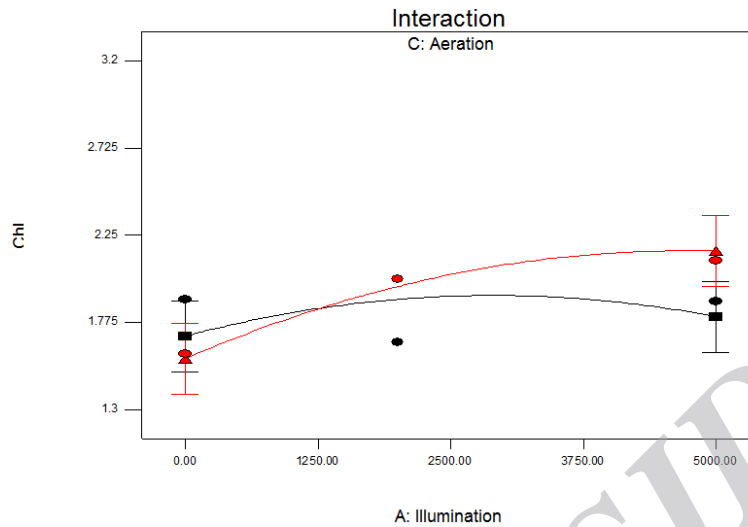
شکل 4-47- تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* نسبت به سه متغیر زمان، نور و هوادهی تحت تیمار نفتالن



شکل 4-48- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در ساعت اول (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)



شکل 4-49- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در ساعت سوم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)



شکل 4-50- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار

نفتالن در ساعت پنجم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)

آنچه که در منحنی کوییک و برهم‌کنش‌ها (اشکال 4-47 تا 4-50) مشاهده می‌گردد، این است که نور و هوادهی به عنوان فاکتورهای محیطی تاثیر منفی بر میزان کلروفیل در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* داشته است.

- آنالیز واریانس چند عاملی برای بررسی تاثیرگذاری متغیرهای نور، هوادهی و زمان بر Chl

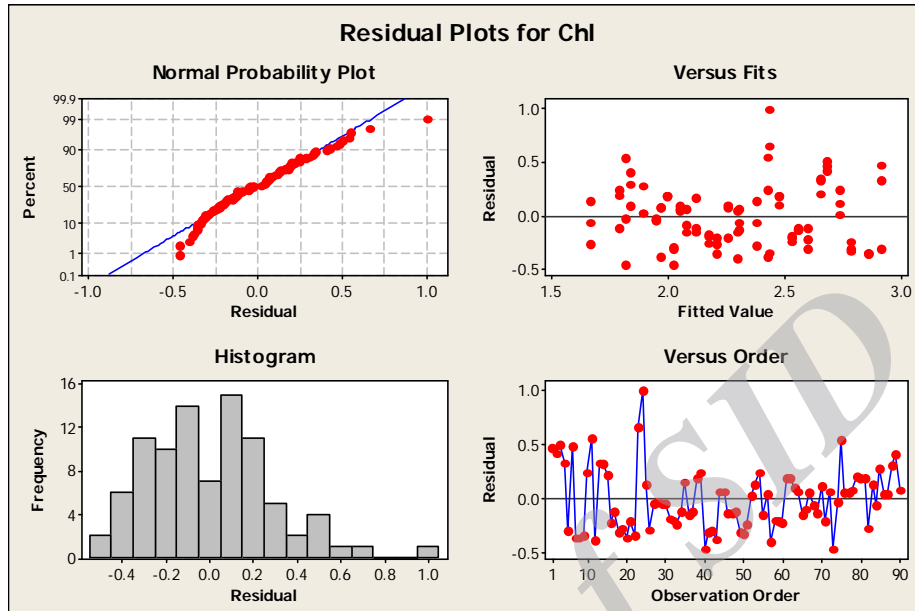
ANOVA: Chl versus Air, Time, Light

Factor	Type	Levels	Values
Air	fixed	2	0, 1
Time	fixed	5	1, 2, 3, 4, 5
Light	fixed	3	0, 2000, 5000

Analysis of Variance for Chl

Source	DF	SS	MS	F	P
Air	1	0.3597	0.3597	4.12	0.046
Time	4	9.2825	2.3206	26.55	0.000
Light	2	0.8585	0.4293	4.91	0.010
Error	82	7.1683	0.0874		
Total	89	17.6690			

S = 0.295666 R-Sq = 59.43% R-Sq(adj) = 55.97%



با توجه به مقدار P بدست آمده که کمتر از 0.05 می باشد هر سه عامل زمان و نور و هوادهی زمان و نور تاثیر معناداری بر رشد Chl دارند.

- رابطه کمی بین Chl و نور، هوادهی و زمان

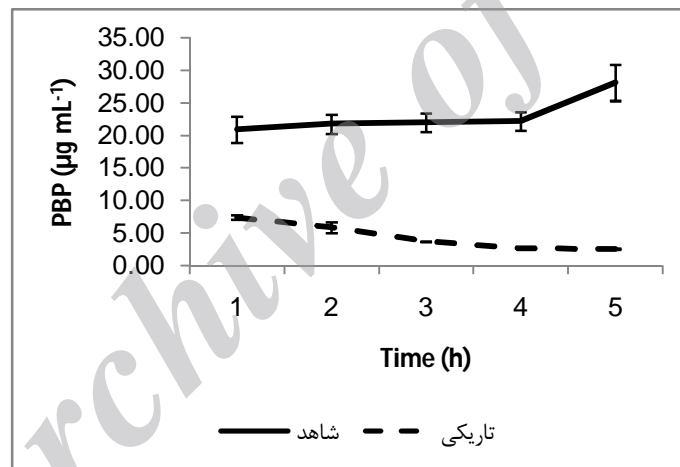
The regression equation is

$$\text{Chl} = 3.35 - 0.692 \text{ Air} - 0.323 \text{ Time} + 0.114 \text{ Time*Air} + 0.000096 \text{ Air*Light}$$

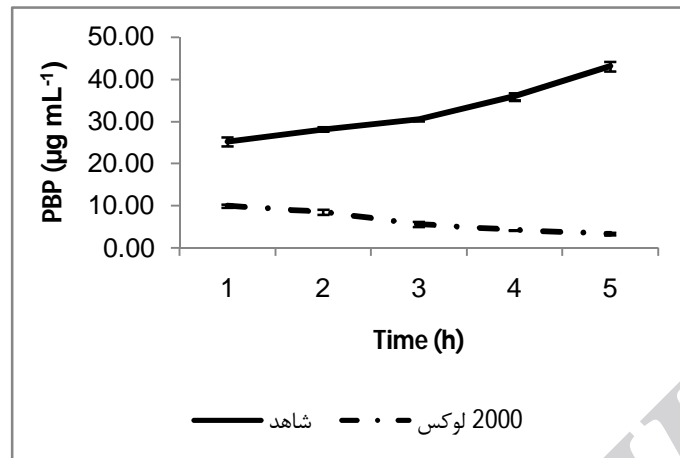
Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	3.3544	0.1252	26.80	0.000
Air	-0.6925	0.1482	-4.67	0.000
Time	-0.32300	0.03647	-8.86	0.000
Light	-0.00006775	0.00003528	-1.92	0.058
Time*Air	0.11411	0.04021	2.84	0.006
Time*Light	0.00001695	0.00000979	1.73	0.087
Air*Light	0.00009588	0.00002768	3.46	0.001

4-1-2-4- تاثیر نفتالن بر تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*

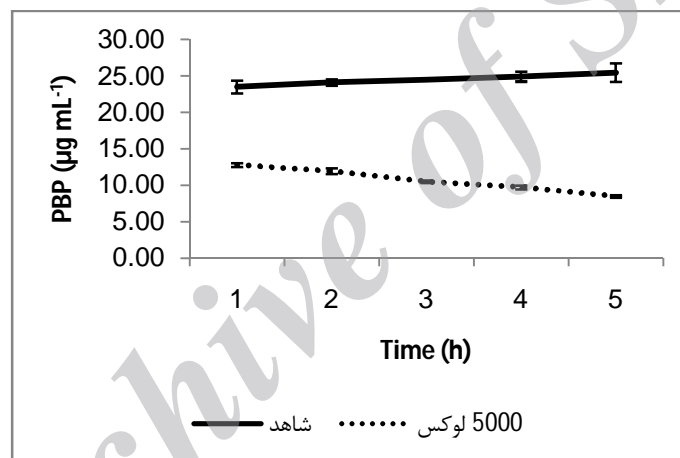
یکی دیگر از پارامترهای مورد سنجش در این پژوهش فیکوبیلی پروتئین‌ها بودند که روند تغییرات آن با تغییرات شدت نور، هوادهی و نیز گذشت زمان مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور فیکوبیلی پروتئین‌ها به روش اسپکتروفتومتری سنجش شد. منحنی‌های حاصل از اندازه‌گیری وزن خشک سیانوباکتری در تیمارهای مختلف نفتالن در طول 5 ساعت در نمودارهای 4-51 تا 4-66 نشان داده شده است.



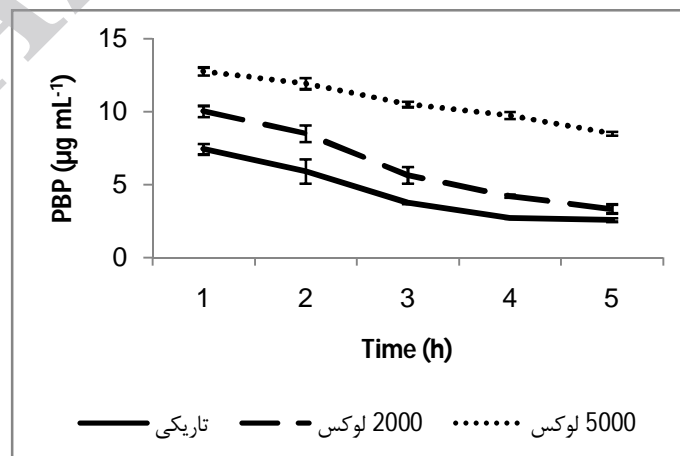
شکل 4-51- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و هوادهی در تاریکی



شکل 4-52- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و هوادهی در شدت نوری 2000 لوکس



شکل 4-53- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و هوادهی در شدت نوری 5000 لوکس



شکل 4-54- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در شدت‌های نوری مختلف، تحت تیمار نفتالن و هوادهی

جدول 4-13- مقادیر PBP سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در تیمار نفتالن در شدت‌های مختلف نوری و تحت هوادهی

زمان (ساعت)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
2/6±0/12	2/73±0/04	3/76±0/05	5/92±0/83	7/45±0/36	0
3/36±0/31	4/23±0/11	5/67±0/57	8/52±0/57	10/05±0/38	2000
8/51±0/14	9/76±0/25	10/52±0/18	11/96±0/39	12/79±0/27	5000

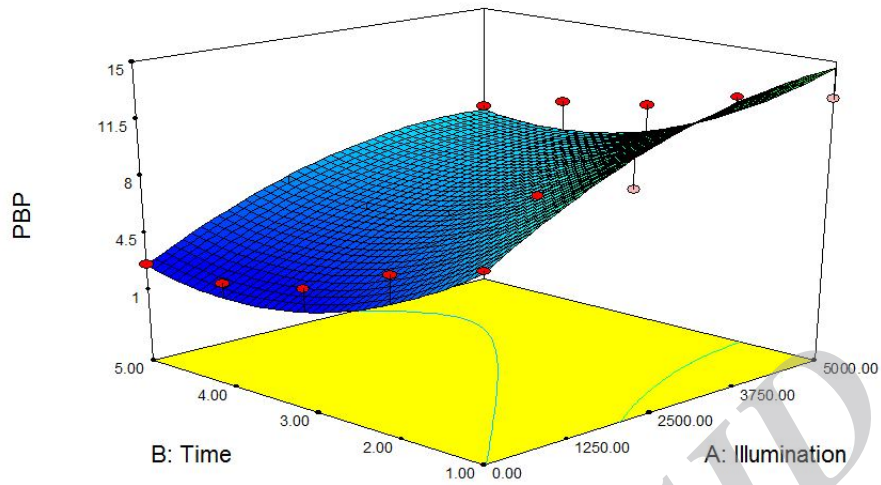
داده ها $X \pm SE$ را نشان می دهند.

مقادیر PBP در شدت‌های مختلف نوری تحت تیمار نفتالن و در شرایط هوادهی در جدول 4-13 آمده است. میانگین PBP سیانوباکتری در تاریکی در ساعت سوم 3/76 میلی گرم بر میلی لیتر بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش یافت و به مقدار 10/52 میلی گرم بر میلی لیتر رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات PBP ظرف مدت آزمایش (5 ساعت) نشان می دهد که میزان این پارامتر در تاریکی کاهش یافته و در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز همین روند را از خود نشان می دهد.

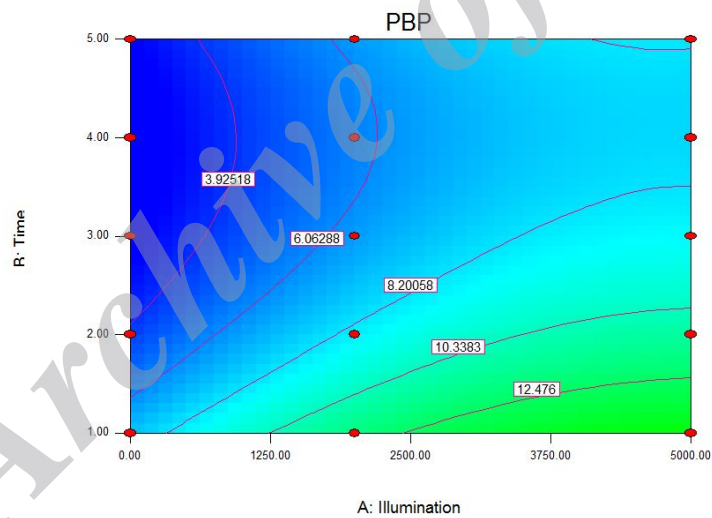
بر اساس نتایج آنالیز آماری در ساعت سوم، تمام تیمارها با هم اختلاف معنی داری را نشان دادند. جدول 4-14 آنالیز واریانس مقادیر PBP را نشان می دهد.

جدول 4-14- آنالیز واریانس مقادیر PBP در شرایط هوادهی

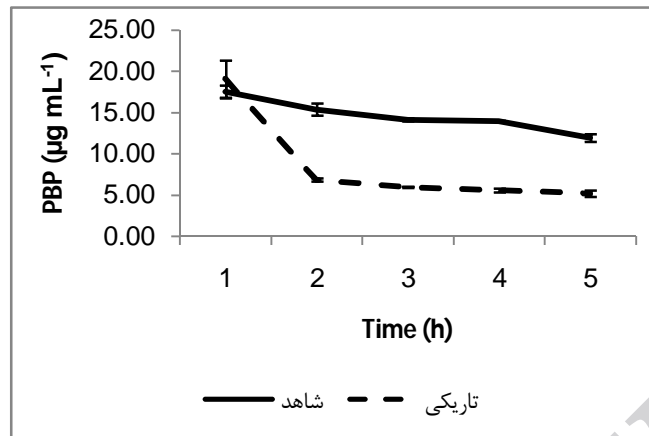
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	72/96	36/47	244/31	0/0001



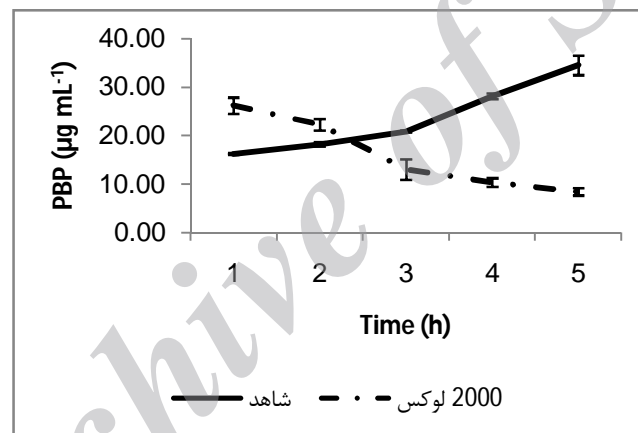
شکل 4-55- تصویر سه بعدی تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و هوادهی



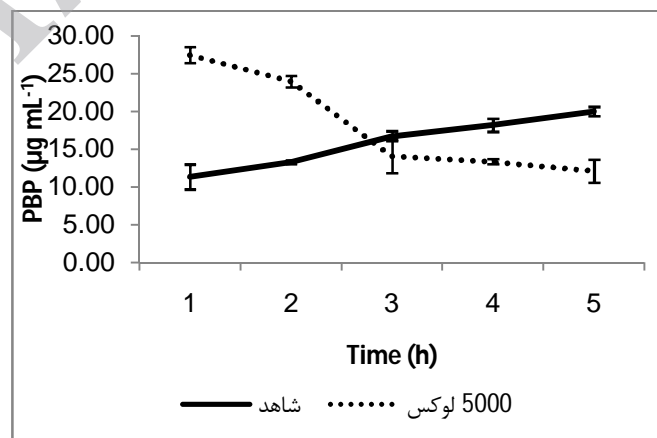
شکل 4-56- کانتور تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و هوادهی



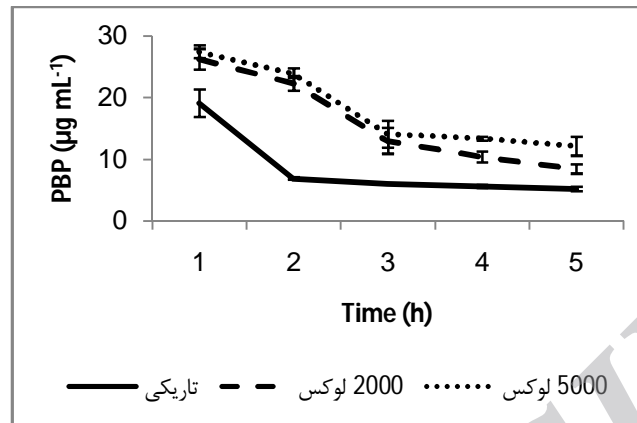
شکل 4-57- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در تاریکی و بدون هوادهی



شکل 4-58- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در شدت نوری 2000 لوکس و بدون هوادهی



شکل 4-59- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در شدت نوری 5000 لوکس و بدون هوادهی



شکل 4-60- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در شدت‌های نوری مختلف، تحت تیمار نفتالن و بدون هوادهی

جدول 4-15- مقادیر PBP سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن بدون هوادهی

زمان (ساعت)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
5/24±0/36	5/64±0/23	6/02±0/05	6/9±0/21	19/1±2/23	0
8/48±0/77	10/43±0/87	13/05±2/11	22/34±1/18	26/27±1/68	2000
12/15±1/52	13/37±0/34	14/11±2/21	23/99±0/77	27/49±1/05	5000

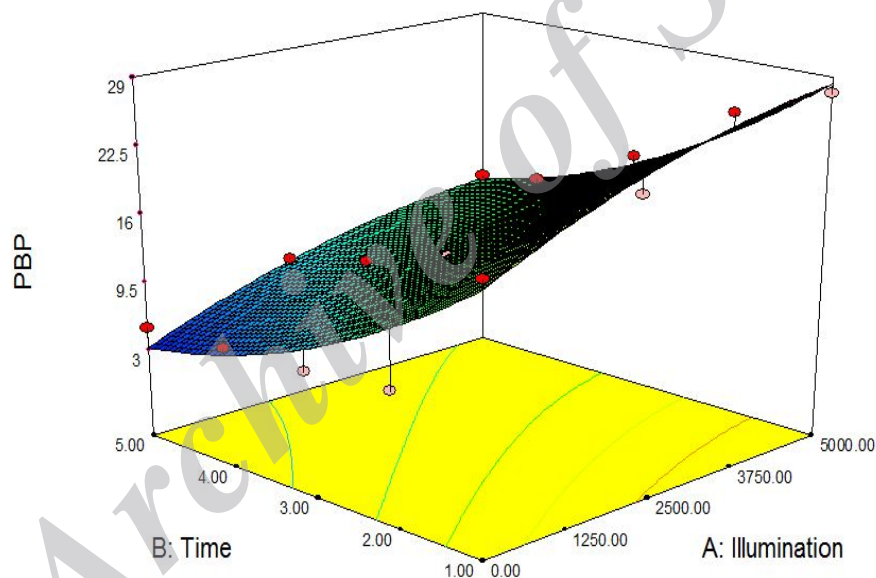
داده ها $X \pm SE$ را نشان می‌دهند.

مقادیر PBP در شدت‌های مختلف نوری تحت تیمار نفتالن و در شرایط بدون هوادهی در جدول 4-15 آمده است. میانگین PBP سیانوباکتری در تاریکی در ساعت اول 6/02 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش یافت و به مقدار 14/11 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات PBP ظرف مدت آزمایش (5 ساعت) نشان می‌دهد که میزان این پارامتر در تاریکی روند کاهشی داشته در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز از روند مشابه کاهشی تبعیت کرده است.

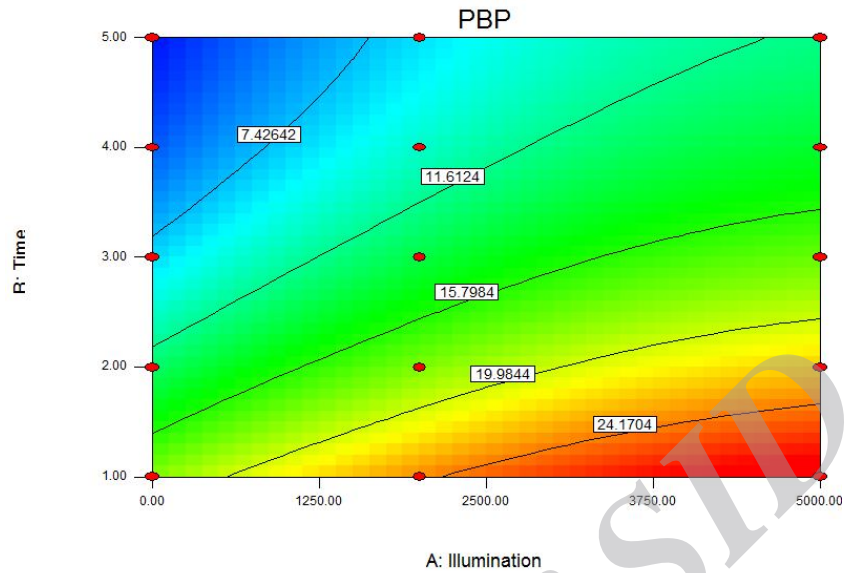
بر اساس نتایج آنالیز آماری، اختلاف بین تاریکی و شدت نوری 2000 و 5000 لوکس معنی‌دار بوده ولی بین شدت‌های نوری 2000 و 5000 لوکس از تفاوت معنی‌دار برخوردار نمی‌باشد.

جدول 4-16- آنالیز واریانس مقادیر PBP تحت تیمار نفتالن بدون هوادهی

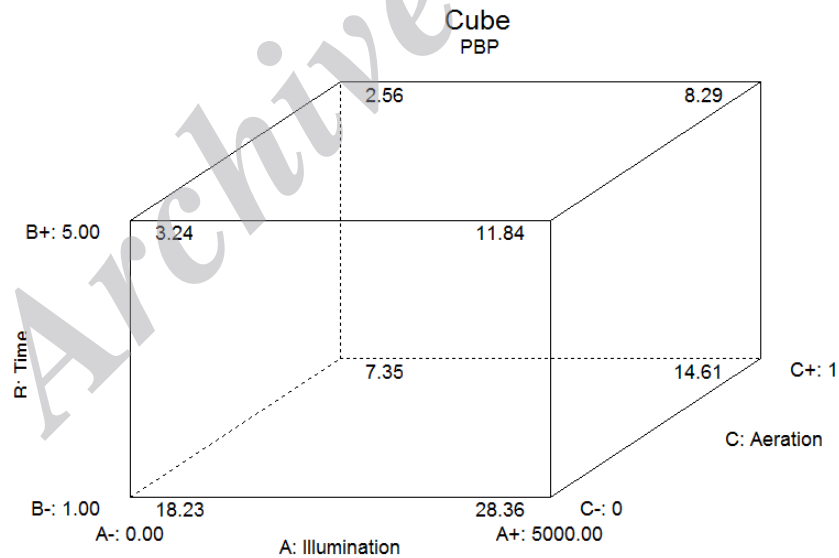
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	116/09	58/05	14/92	0/005



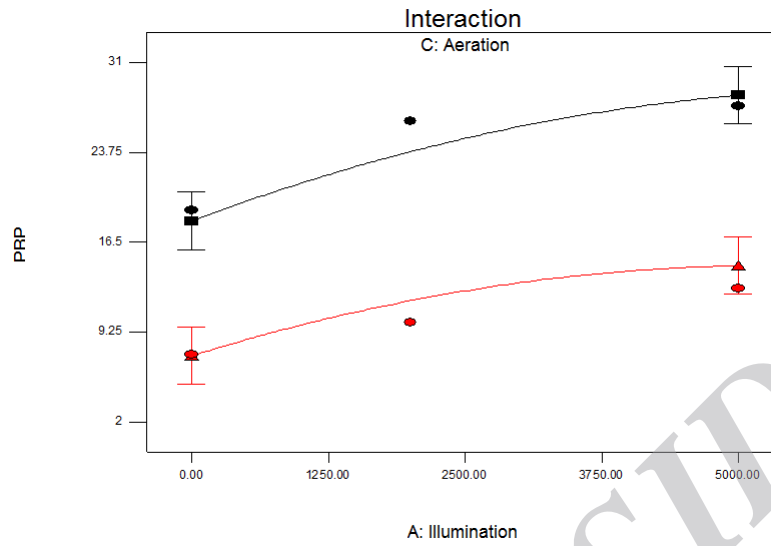
شکل 4-61- تصویر سه بعدی تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و بدون هوادهی



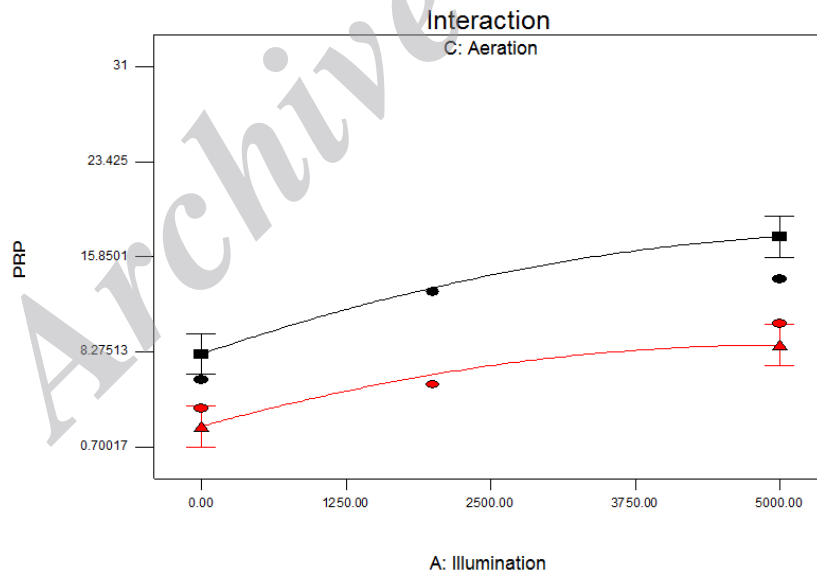
شکل 4-62- کانتور تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن و بدون هوادهی



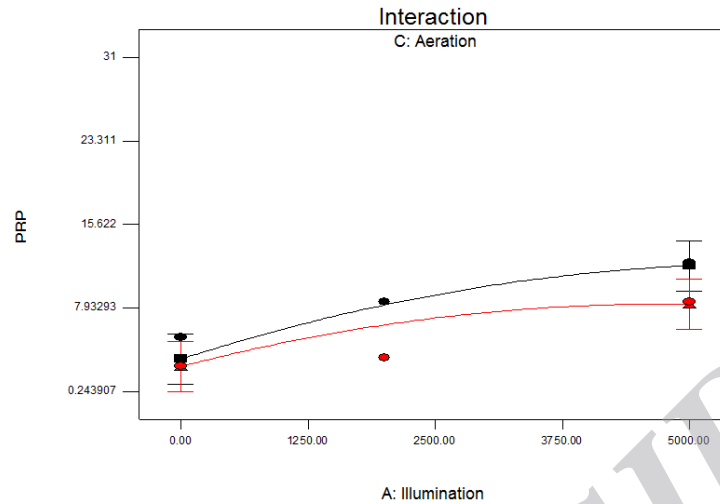
شکل 4-63- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* نسبت به سه متغیر زمان، نور و هوادهی، تحت تیمار نفتالن



شکل 64-4- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در ساعت اول (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می دهد)



شکل 65-4- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در ساعت سوم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می دهد)



شکل 4-66- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن در ساعت پنجم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)

آنچه که در منحنی کوییک و برهم‌کنش‌ها (اشکال 4-63 تا 4-66) مشاهده می‌گردد، این است که نور تاثیر معنی‌دار افزایشی و هوادهی تاثیر معنی‌دار کاهش‌ی بر میزان PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* داشته است.

- آنالیز واریانس چند عاملی برای بررسی تاثیرگذاری متغیرهای نور، هوادهی و زمان بر PBP

ANOVA: BPB versus Air, Time, Light

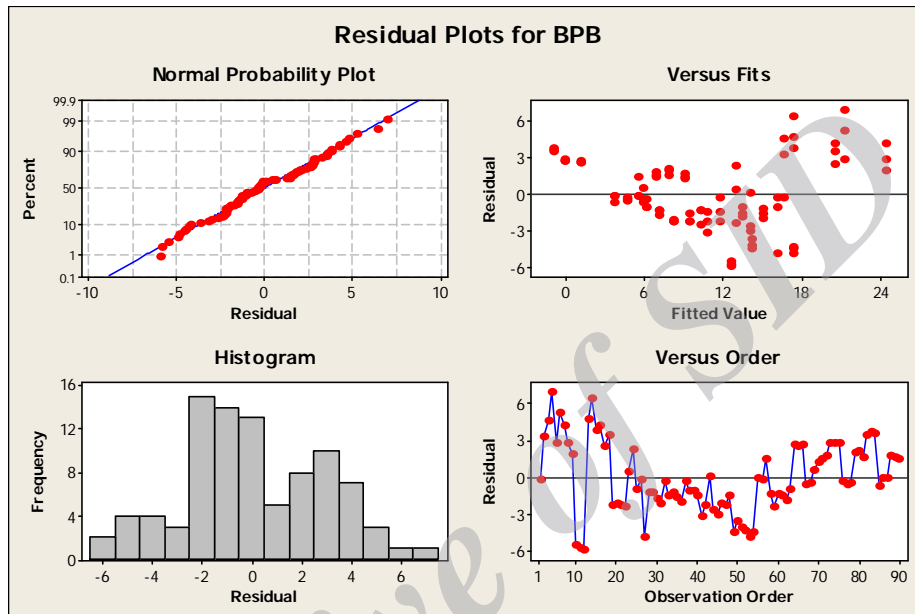
Factor	Type	Levels	Values
Air	fixed	2	0, 1
Time	fixed	5	1, 2, 3, 4, 5
Light	fixed	3	0, 2000, 5000

Analysis of Variance for BPB

Source	DF	SS	MS	F	P
Air	1	1139.98	1139.98	129.11	0.000
Time	4	1385.78	346.45	39.24	0.000
Light	2	954.38	477.19	54.05	0.000
Error	82	724.02	8.83		

Total 89 4204.17

S = 2.97145 R-Sq = 82.78% R-Sq(adj) = 81.31%



با توجه به مقدار P برای زمان و نور و هوادهی که کمتر از 0.05 می باشد. زمان و نور و هوادهی تاثیر معناداری بر رشد BPB دارند.

• رابطه کمی بین BPB و نور، هوادهی و زمان

The regression equation is

$$BPB = 21.3 - 13.4 \text{ Air} - 3.75 \text{ Time} + 0.00206 \text{ Light} + 2.55 \text{ Time*Air} - 0.000572 \text{ Air*Light}$$

Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	21.272	1.209	17.60	0.000
Air	-13.430	1.431	-9.39	0.000
Time	-3.7469	0.3521	-10.64	0.000
Light	0.0020620	0.0003406	6.05	0.000

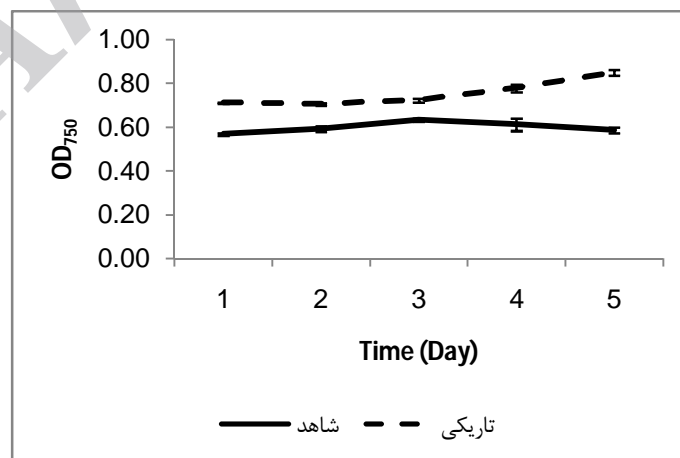
Time*Air 2.5491 0.3882 6.57 0.000
 Time*Light -0.00007665 0.00009447 -0.81 0.419
 Air*Light -0.0005724 0.0002672 -2.14 0.035

2-2-4- تاثیر هگزادکان بر پاسخ های فیزیولوژیک سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*

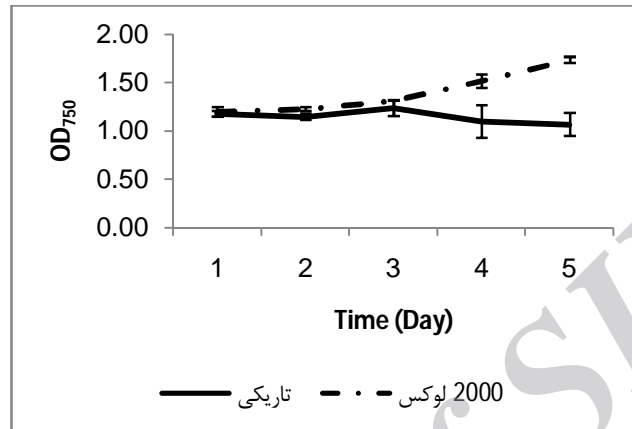
1-2-2-4- تاثیر هگزادکان بر تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*

به منظور یافتن زمان مناسب جهت انجام سنجش های فیزیولوژیکی وضعیت رشد سیانوباکتری در غلظت های مختلف هگزادکان به صورت روزانه بررسی شد تا در زمانی که سیانوباکتری ها در فاز لگاریتمی قرار داشتند سنجش ها انجام شوند.

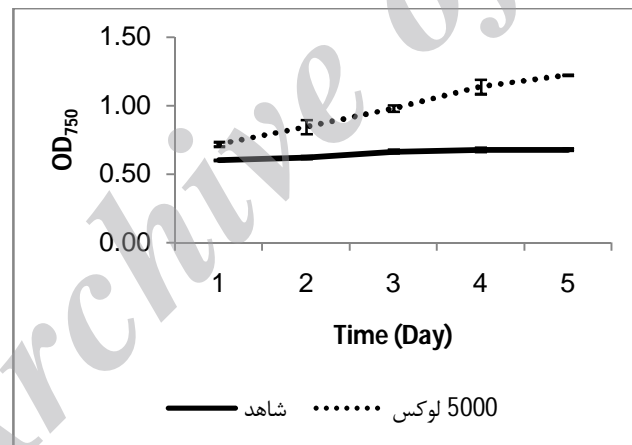
در این پژوهش به منظور بررسی میزان رشد سیانوباکتری از اندازه گیری وزن خشک استفاده شده است. به این منظور جذب نوری سیانوباکتری ها در تیمارهای مختلف در طول موج 750 نانومتر اندازه گیری شد. سپس با محاسبه ی میزان وزن خشک هر تیمار میزان رشد سیانوباکتری در هر روز محاسبه شد. منحنی های حاصل از اندازه گیری های OD سیانوباکتری در تیمارهای مختلف هگزادکان در طول 5 روز در نمودارهای 4-67 تا 4-82 نشان داده شده است.



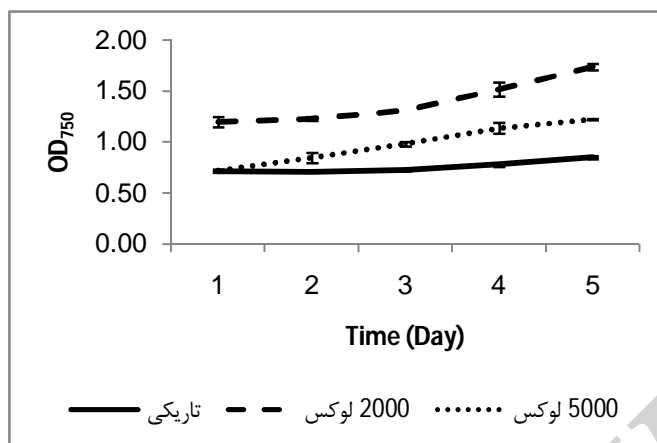
شکل 4-67- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در تاریکی و تحت هوادهی



شکل 4-68- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان و هوادهی در شدت نوری 2000 لوکس



شکل 4-69- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان و هوادهی در شدت نوری 5000 لوکس



شکل 4-70- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در شدت‌های مختلف نوری، تحت تیمار هگزادکان و هوادهی

جدول 4-17- مقادیر OD سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در تیمار هگزادکان و هوادهی در شدت‌های مختلف نوری

زمان (روز)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
0/85±0/01	0/78±0/02	0/72±0/01	0/71±0/01	0/71± 0/001	0
1/74±0/03	1/52±0/07	1/31±0/001	1/23±0/02	1/20±0/05	2000
1/23±0/001	1/14±0/05	0/98±0/02	0/85±0/05	0/72±0/02	5000

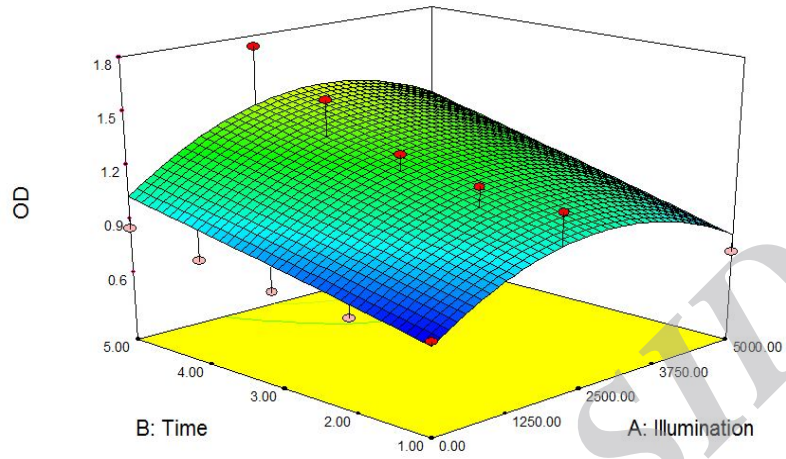
داده‌ها $X \pm SE$ را نشان می‌دهند.

مقادیر OD در شدت‌های مختلف نوری تحت تیمار هگزادکان و در شرایط هوادهی در جدول 4-17 آمده است. میانگین OD سیانوباکتری در تاریکی در روز سوم 0/72 بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش جزئی یافت و به مقدار 0/98 رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات OD ظرف مدت آزمایش (5 روز) نشان می‌دهد که میزان این پارامتر در تاریکی افزایش یافته و در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز روند افزایشی را از خود نشان می‌دهد.

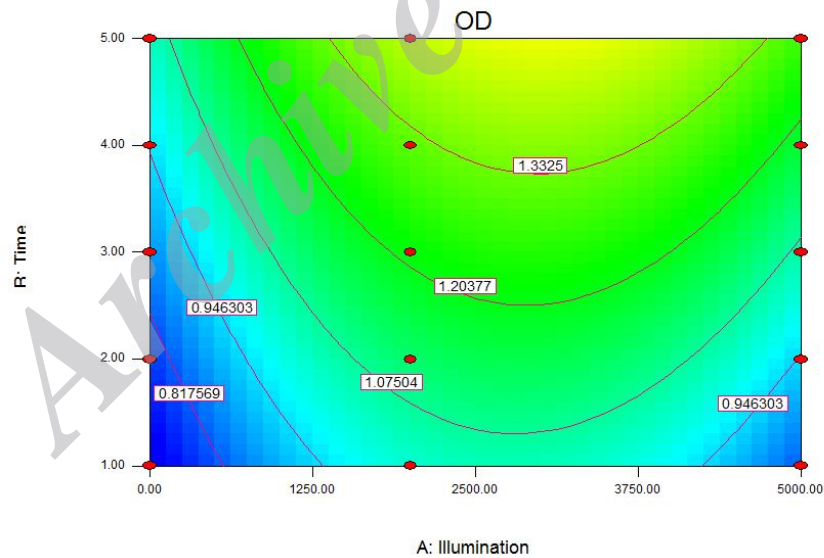
بر اساس نتایج آنالیز آماری در روز سوم، تمام تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. جدول 4-18 آنالیز واریانس مقادیر OD را نشان می‌دهد.

جدول 4-18- آنالیز واریانس مقادیر OD تحت تیمار هگزادکان و در شرایط هوادهی

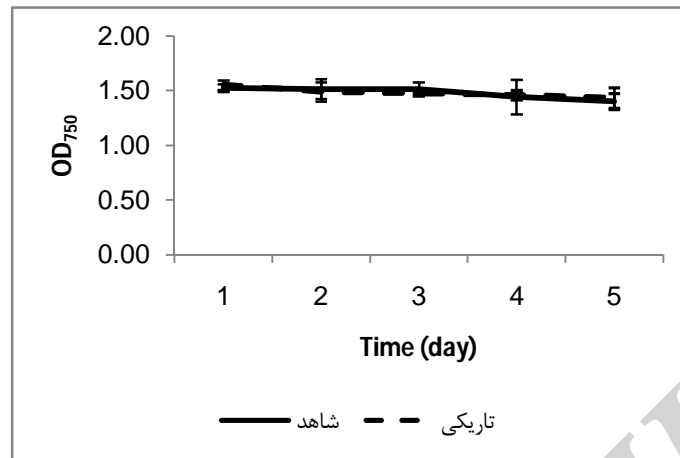
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	0/512	0/256	768/63	0/0001



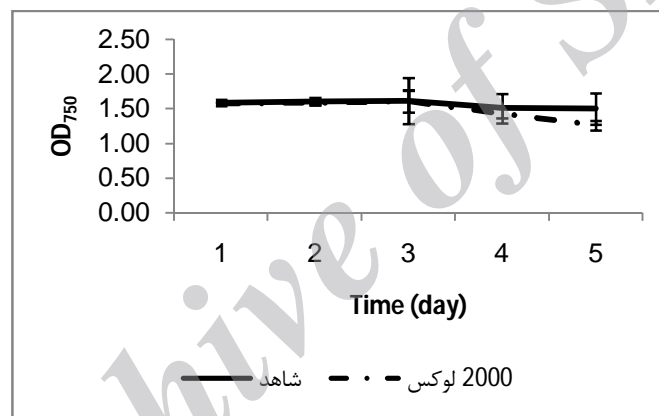
شکل 4-71- تصویر سه بعدی تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان و هوادهی



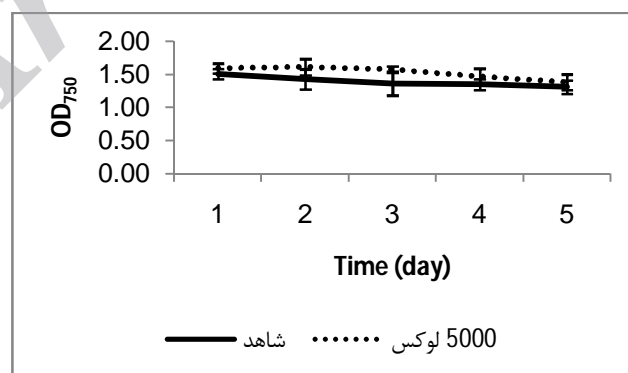
شکل 4-72- کانتور تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان و هوادهی



شکل 4-73- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان و بدون هوادهی در تاریکی

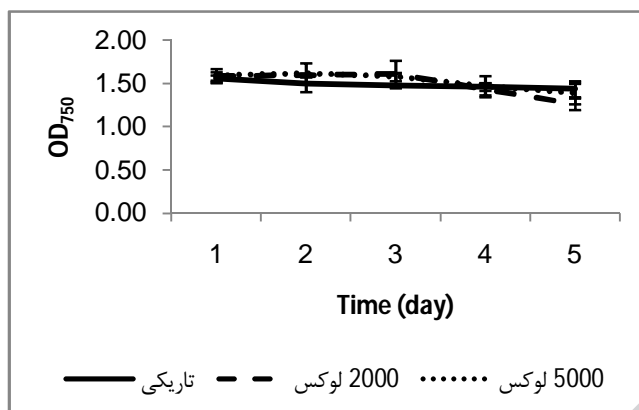


شکل 4-74- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان و بدون هوادهی در شدت نوری 2000 لوکس



شکل 4-75- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان و بدون هوادهی در شدت نوری 5000 لوکس

لوکس



شکل 4-76- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان و بدون هوادهی در شدت‌های مختلف نوری

جدول 4-19- مقادیر OD سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان بدون هوادهی

زمان (روز)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
1/44±0/09	1/46±0/05	1/47±0/01	1/49±0/09	1/56± 0/04	0
1/26±0/07	1/44±0/07	1/61±0/16	1/60±0/02	1/59±0/05	2000
1/39±0/12	1/47±0/12	1/58±0/05	1/62±0/12	1/59±0/07	5000

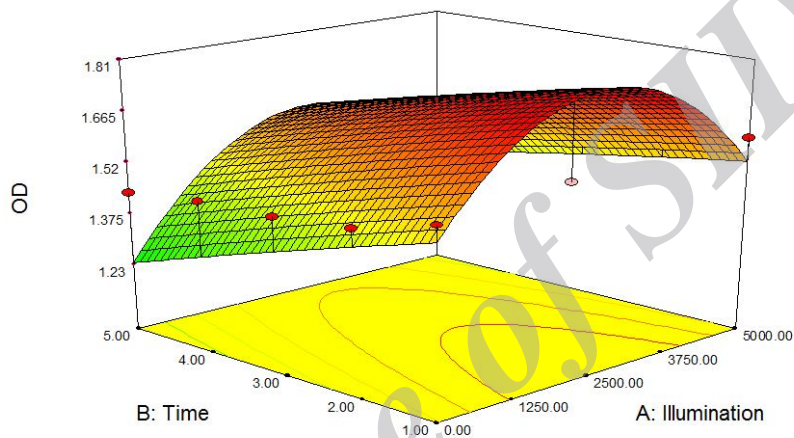
داده ها $X \pm SE$ را نشان می‌دهند.

مقادیر OD در شدت‌های مختلف نوری تحت تیمار هگزادکان و در شرایط بدون هوادهی در جدول 4-19 آمده است. میانگین OD سیانوباکتری در تاریکی در روز سوم 1/47 بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش یافت و به مقدار 1/58 رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات OD ظرف مدت آزمایش (5 روز) نشان می‌دهد که میزان این پارامتر در تاریکی روند کاهشی داشته در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز از همین روند پیروی می‌کند.

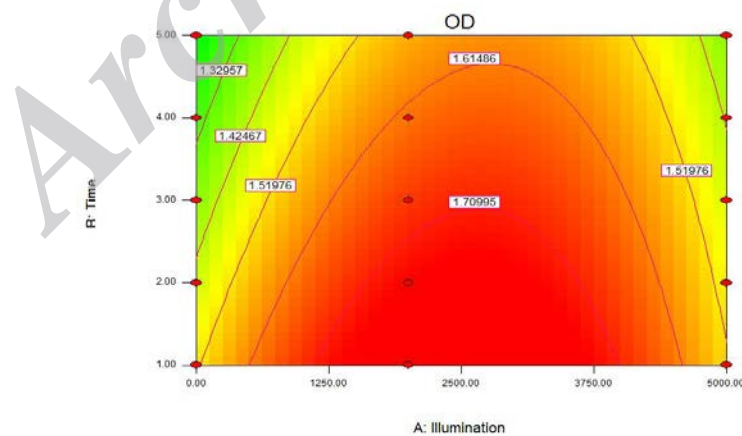
بر اساس نتایج آنالیز آماری در روز سوم، هیچکدام از تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. جدول 4-20 آنالیز واریانس مقادیر OD را نشان می‌دهد.

جدول 4-20- آنالیز واریانس مقادیر OD تحت تیمار هگزادکان بدون هوادهی

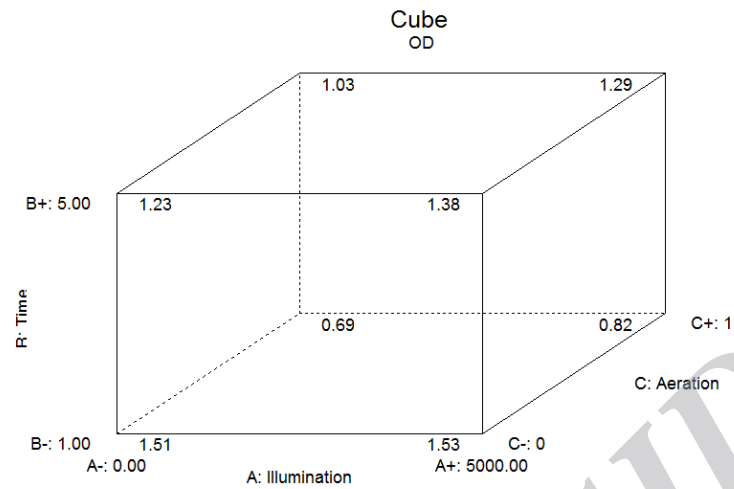
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	0/031	0/015	1/346	0/329



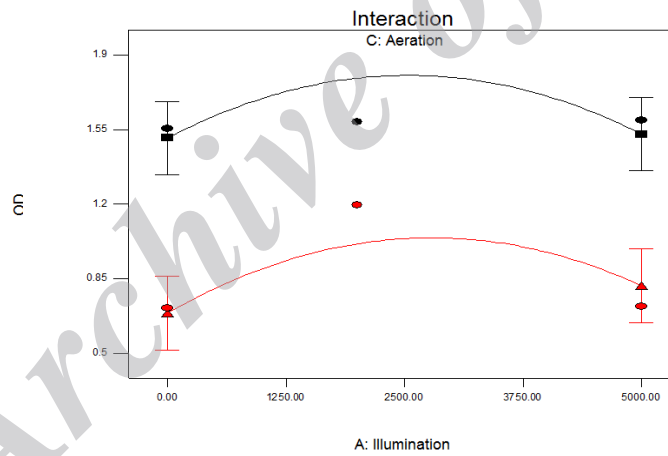
شکل 4-77- تصویر سه بعدی تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان بدون هوادهی



شکل 4-78- کانتور تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان بدون هوادهی

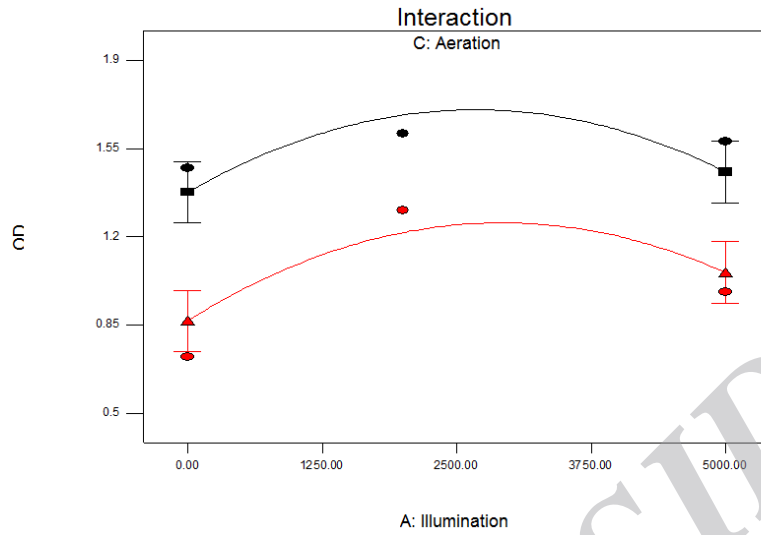


شکل 4-79- تغییرات OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* نسبت به سه متغیر زمان، نور و هوادهی تحت تیمار هگزادکان

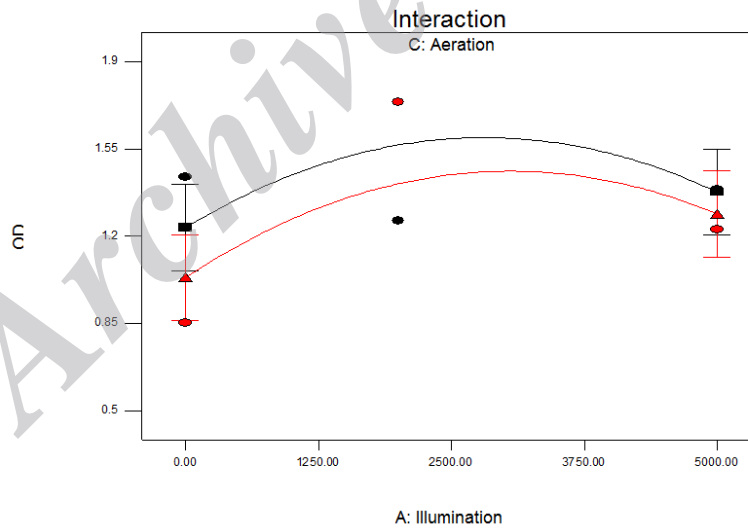


شکل 4-80- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در

روز اول (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)



شکل 81-4- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در روز سوم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)



شکل 82-4- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان OD در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در روز پنجم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)

آنچه که در منحنی کوئیک و برهم‌کنش‌ها (اشکال 4-79 تا 4-82) مشاهده می‌گردد، این است که در شرایط بدون هوادهی نور تاثیری بر OD نداشته است ولی در شرایط هوادهی نور تاثیر معنی‌دار منفی داشته است. ضمن آنکه هوادهی بطور معنی‌داری میزان OD را در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* کاهش می‌دهد.

- آنالیز واریانس چند عاملی برای بررسی تاثیرگذاری متغیرهای نور، هوادهی و زمان بر OD

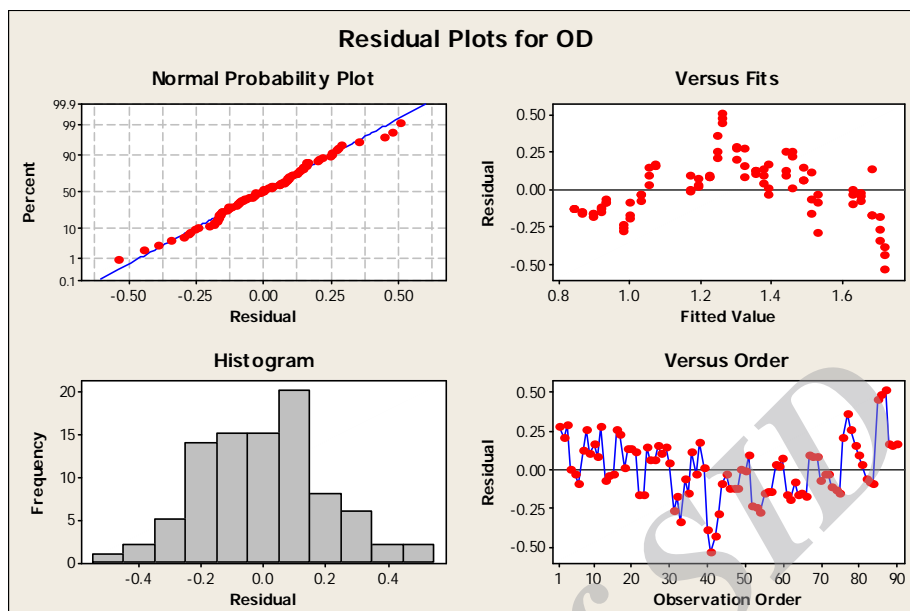
ANOVA: OD versus Air, Time, Light

Factor	Type	Levels	Values
Air	fixed	2	0, 1
Time	fixed	5	1, 2, 3, 4, 5
Light	fixed	3	0, 2000, 5000

Analysis of Variance for OD

Source	DF	SS	MS	F	P
Air	1	4.73803	4.73803	115.07	0.000
Time	4	0.09874	0.02468	0.60	0.664
Light	2	1.63314	0.81657	19.83	0.000
Error	82	3.37632	0.04117		
Total	89	9.84623			

S = 0.202915 R-Sq = 65.71% R-Sq(adj) = 62.78%



با توجه به مقدار P برای هوادهی و نور که کمتر از 0.05 می‌باشد. هوادهی و نور تاثیر معناداری بر رشد OD دارند. ولی زمان با توجه به مقدار P که بیشتر از 0.05 می‌باشد تاثیری بر رشد OD ندارد.

• رابطه کمی بین OD و نور، هوادهی و زمان

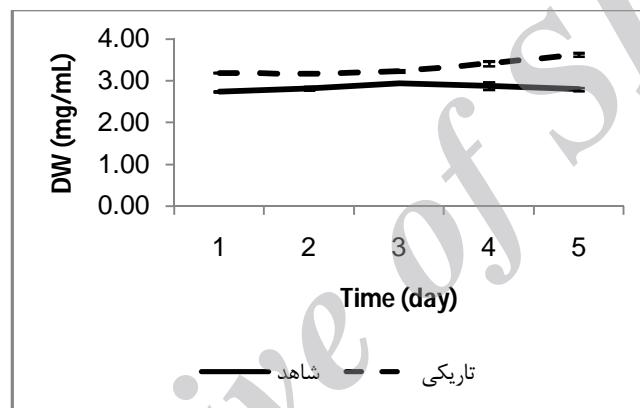
The regression equation is

$$OD = 1.69 - 0.977 \text{ Air} - 0.0690 \text{ Time} + 0.156 \text{ Time*Air}$$

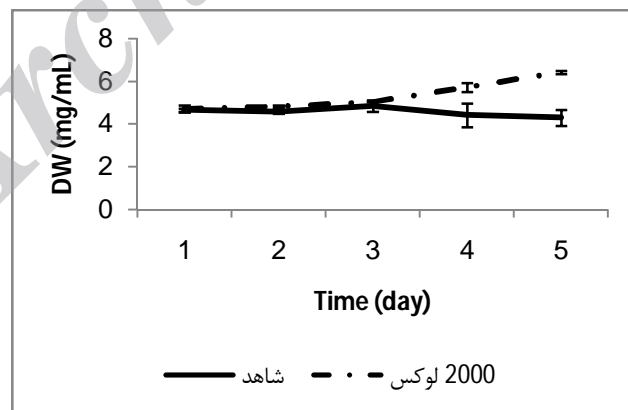
Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	1.69024	0.09789	17.27	0.000
Air	-0.9773	0.1159	-8.43	0.000
Time	-0.06902	0.02852	-2.42	0.018
Light	-0.00000979	0.00002759	-0.35	0.724
Time*Air	0.15556	0.03144	4.95	0.000
Time*Light	0.00000624	0.00000765	0.82	0.417
Air*Light	0.00002217	0.00002164	1.02	0.309

4-2-2-2-4- تاثیر هگزادکان بر تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*

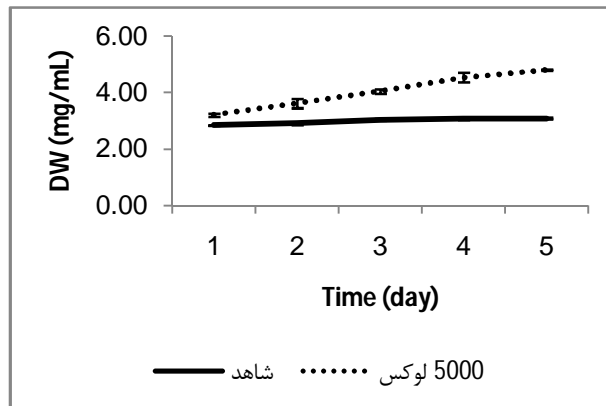
یکی دیگر از پارامترهای مورد سنجش در این پژوهش وزن خشک بود که روند تغییرات آن با تغییرات شدت نور و نیز گذشت زمان مورد بررسی قرار گرفت. اندازه گیری وزن خشک به منظور بررسی رشد سیانوباکتری در تیمار هگزادکان صورت گرفت. به این منظور وزن خشک به روش گراویمتری محاسبه گردید. منحنی‌های حاصل از اندازه‌گیری وزن خشک سیانوباکتری در تیمارهای مختلف هگزادکان در طول 5 روز در نمودارهای 4-83 تا 4-98 نشان داده شده است.



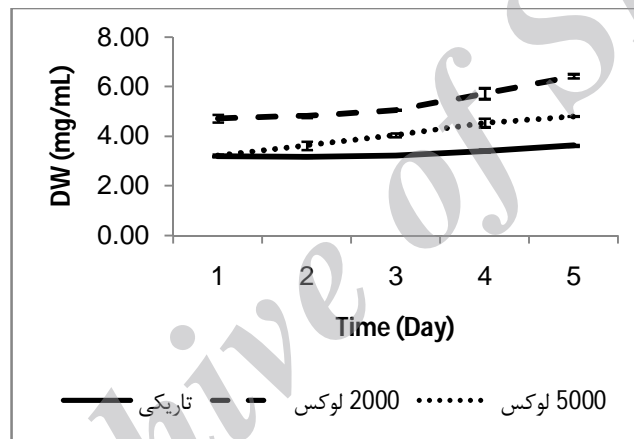
شکل 4-83- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان با هوادهی و در تاریکی



شکل 4-84- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان با هوادهی و در شدت نوری 2000 لوکس



شکل 4-85- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان با هوادهی و در شدت نوری 5000 لوکس



شکل 4-86- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در شدت‌های نوری مختلف و تحت هوادهی

جدول 4-21- مقادیر وزن خشک (mg/mL) سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در تیمار هگزادکان و هوادهی در شدت‌های مختلف نوری

زمان (روز)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
3/63±0/04	3/41±0/06	3/23±0/03	3/17±0/02	3/19±0/01	0
6/44±0/08	5/73±0/22	5/06±0/01	4/83±0/07	4/72±0/16	2000
4/81±0/02	4/54±0/17	4/05±0/08	3/62±0/16	3/21±0/05	5000

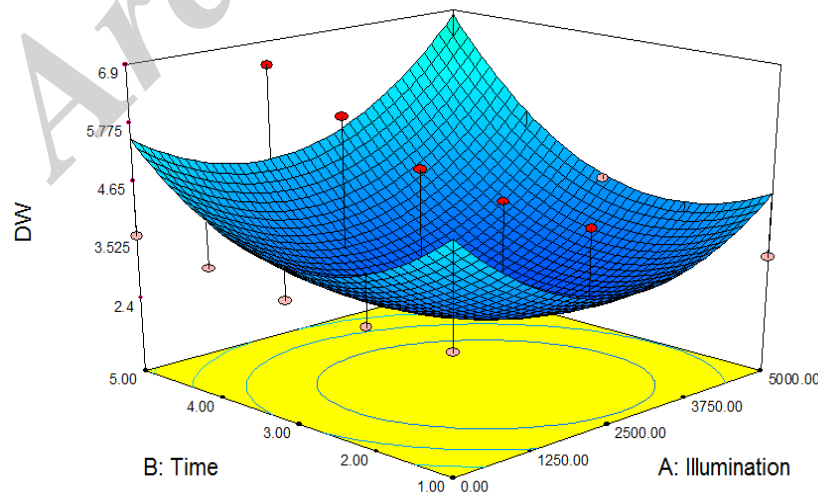
داده‌ها $X \pm SE$ را نشان می‌دهند.

مقادیر DW در شدت‌های مختلف نوری تحت تیمار هگزادکان و در شرایط هوادهی در جدول 4-21 آمده است. میانگین DW سیانوباکتری در تاریکی در روز سوم 3/23 میلی گرم بر میلی لیتر بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش یافت و به مقدار 4/05 میلی گرم بر میلی لیتر رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات DW ظرف مدت آزمایش (5 روز) نشان می‌دهد که میزان این پارامتر در تاریکی افزایش یافته و در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز همین روند را از خود نشان می‌دهد.

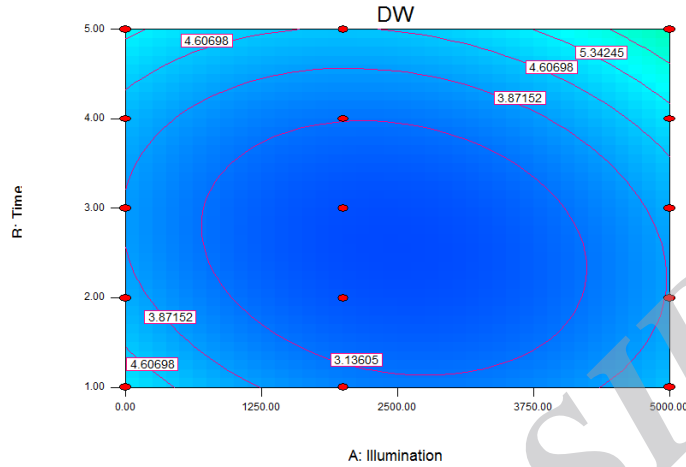
بر اساس نتایج آنالیز آماری در روز سوم، تمام تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. جدول 4-22 آنالیز واریانس مقادیر DW را نشان می‌دهد.

جدول 4-22- آنالیز واریانس مقادیر وزن خشک تحت تیمار هگزادکان در شرایط هوادهی

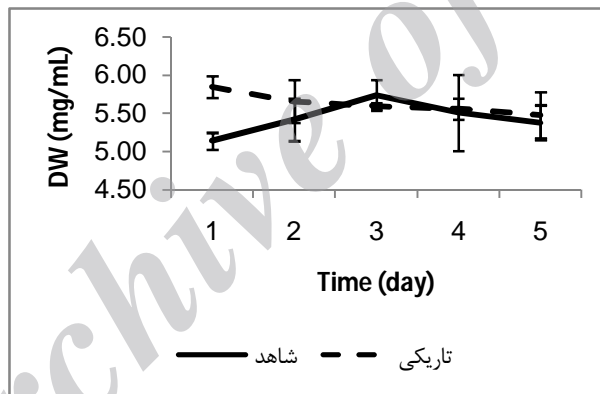
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	5/08	2/54	917/96	0/0001



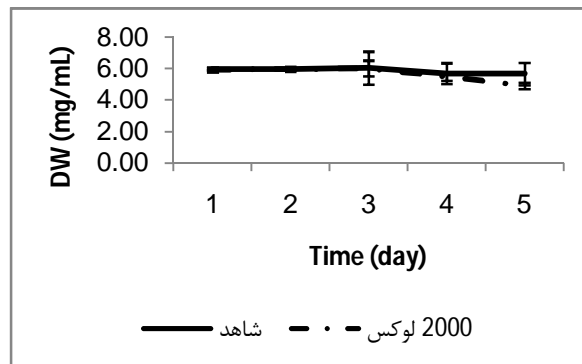
شکل 4-87- تصویر سه بعدی تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان و هوادهی



شکل 4-88- کانتور تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان و هوادهی

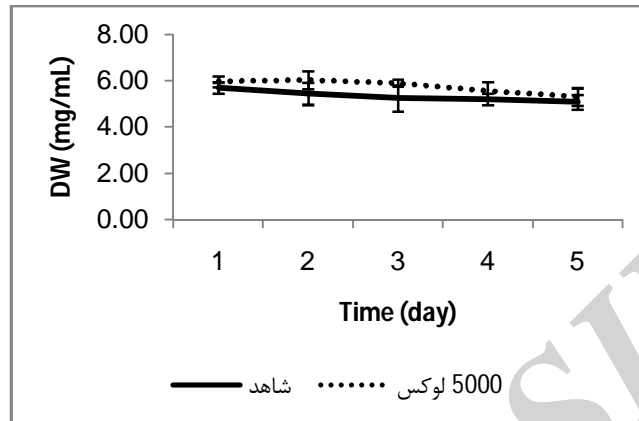


شکل 4-89- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در بدون تاریکی و بدون هوادهی



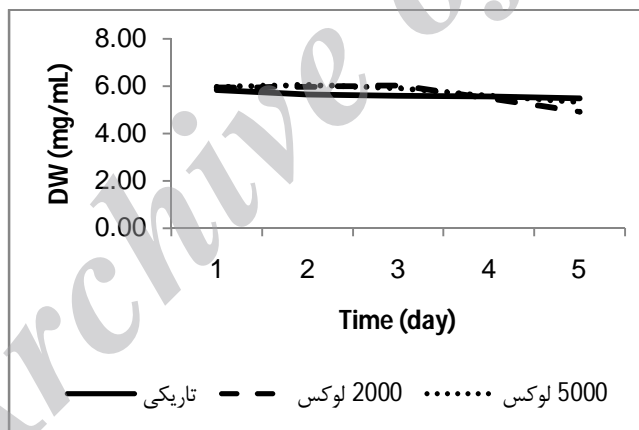
شکل 4-90- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در شدت نوری 2000 لوکس و

بدون هوادهی



شکل 4-91- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در شدت نوری 5000 لوکس و

بدون هوادهی



شکل 4-92- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در شدت‌های نوری مختلف و بدون

هوادهی

جدول 4-23- مقادیر وزن خشک سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان بدون هوادهی

زمان (روز)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
5/48±0/3	5/56±0/14	5/6±0/04	5/66±0/28	5/85±0/14	0

4/93±0/21	5/48±0/23	6/03±0/50	5/98±0/07	5/95±0/15	2000
5/32±0/38	5/58±0/39	5/92±0/15	6/05±0/39	5/98±0/24	5000

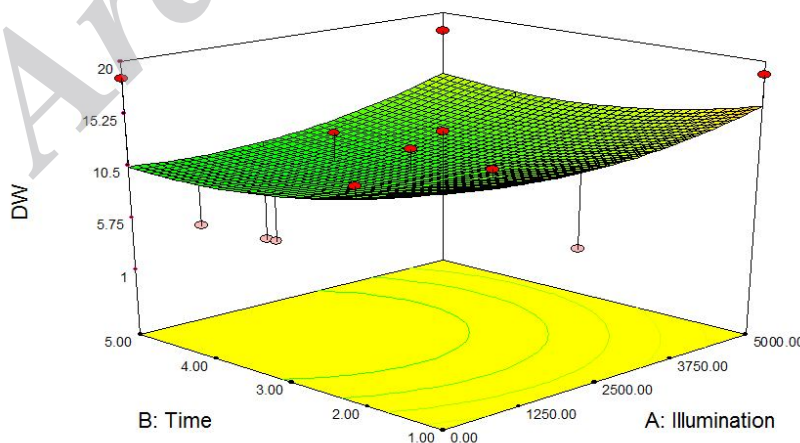
داده ها $X \pm SE$ را نشان می دهند.

مقادیر DW در شدت های مختلف نوری تحت تیمار هگزادکان و در شرایط بدون هوادهی در جدول 4-23 آمده است. میانگین DW سیانوباکتری در تاریکی در ساعت روز 5/6 میلی گرم بر میلی لیتر بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش یافت و به مقدار 5/92 میلی گرم بر میلی لیتر رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات DW ظرف مدت آزمایش (5 روز) نشان می دهد که میزان این پارامتر در تاریکی روند کاهشی داشته در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز از همین روند تبعیت کرده است.

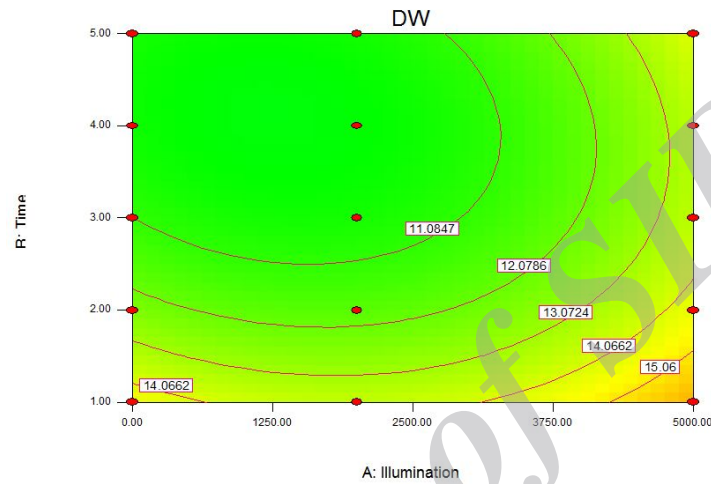
بر اساس نتایج آنالیز آماری، هیچکدام از تیمارها با هم اختلاف معنی داری را نشان ندادند. جدول 4-24 آنالیز واریانس مقادیر DW را نشان می دهد.

جدول 4-24- آنالیز واریانس مقادیر وزن خشک تحت تیمار هگزادکان بدون هوادهی

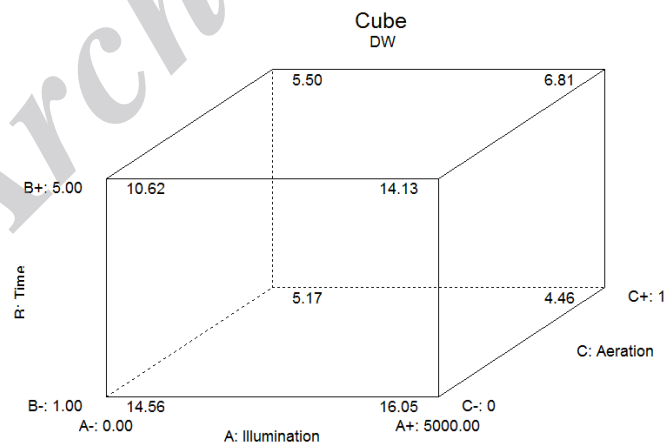
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	61/46	30/731	0/299	0/752



شکل 4-93- تصویر سه بعدی تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان بدون هوادهی

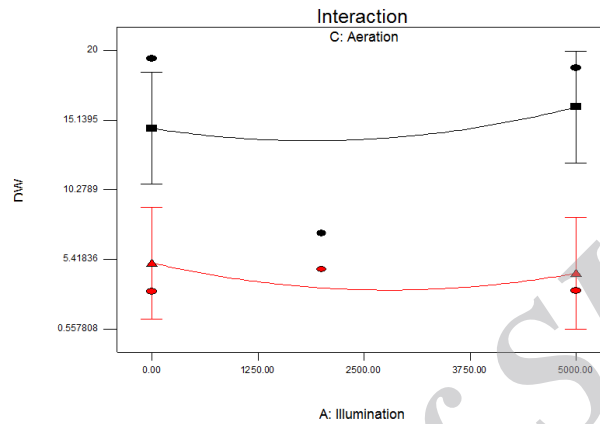


شکل 4-94- کانتور تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان بدون هوادهی

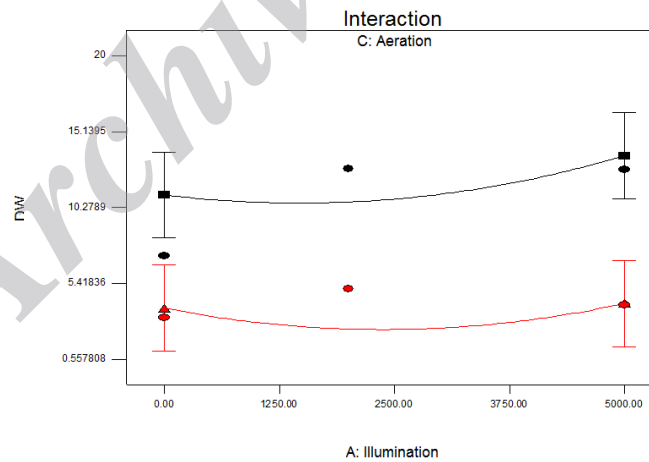


شکل 4-95- تغییرات وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* نسبت به سه متغیر زمان، نور، و هوادهی تحت تیمار

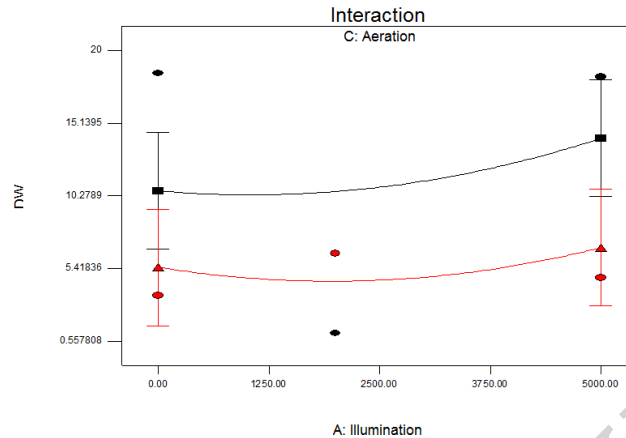
هگزادکان



شکل 4-96- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در روز اول (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)



شکل 4-97- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در روز سوم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)



شکل 4-98- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان وزن خشک در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار

هگزا دکان در روز پنجم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)

آنچه که در منحنی کوبیک و برهم‌کنش‌ها (اشکال 4-95 تا 4-98) مشاهده می‌گردد، این است که در شرایط بدون هوادهی نور تاثیری بر DW نداشته است ولی در شرایط هوادهی نور تاثیر معنی‌دار منفی داشته است. ضمن آنکه هوادهی بطور معنی‌داری میزان DW را در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* کاهش می‌دهد.

- آنالیز واریانس چند عاملی برای بررسی تاثیرگذاری متغیرهای نور، هوادهی و زمان بر DW

ANOVA: DW versus Air, Time, Light

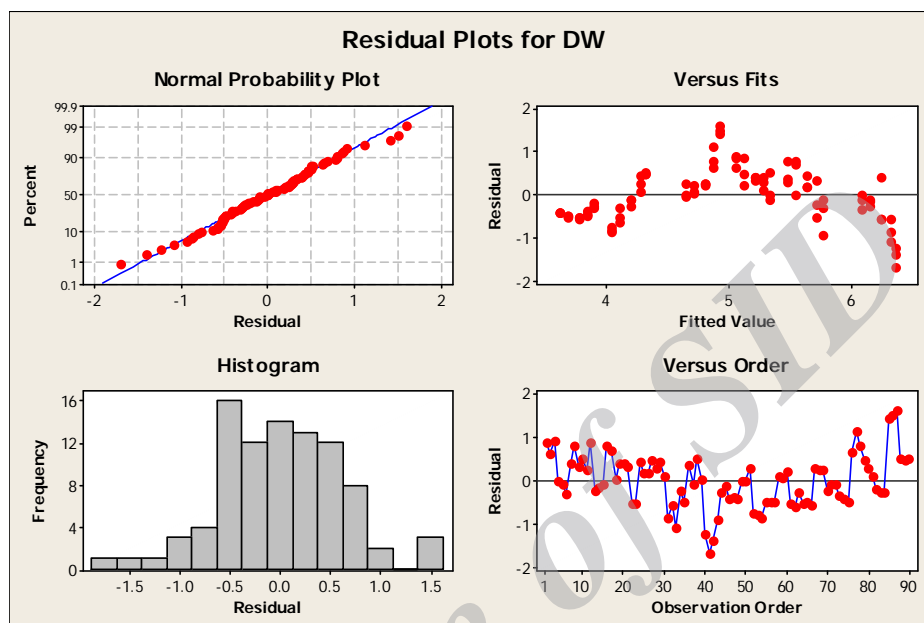
Factor	Type	Levels	Values
Air	fixed	2	0, 1
Time	fixed	5	1, 2, 3, 4, 5
Light	fixed	3	0, 2000, 5000

Analysis of Variance for DW

Source	DF	SS	MS	F	P
Air	1	47.2391	47.2391	115.07	0.000
Time	4	0.9844	0.2461	0.60	0.664
Light	2	16.2828	8.1414	19.83	0.000
Error	82	33.6626	0.4105		

Total 89 98.1688

S = 0.640718 R-Sq = 65.71% R-Sq(adj) = 62.78%



با توجه به مقدار P برای هوادهی و نور که کمتر از 0.05 می باشد. هوادهی و نور تاثیر معناداری بر رشد DW دارند. ولی زمان با توجه به مقدار P که بیشتر از 0.05 می باشد تاثیری بر رشد DW ندارد.

• رابطه کمی بین DW و نور، هوادهی و زمان

The regression equation is

$$DW = 6.28 - 3.09 \text{ Air} - 0.218 \text{ Time} + 0.491 \text{ Time*Air}$$

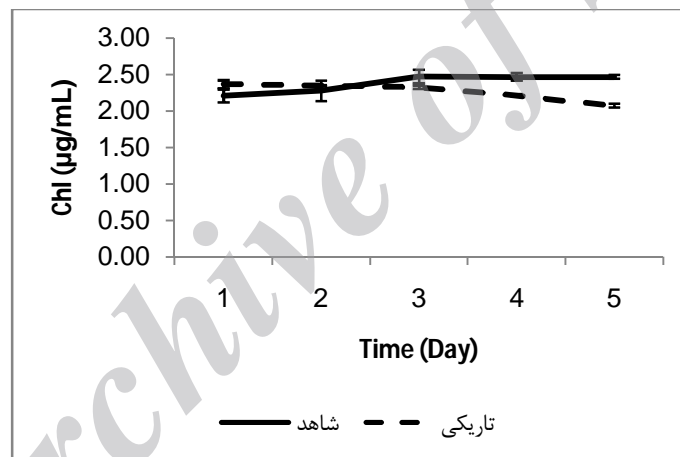
Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	6.2802	0.3091	20.32	0.000
Air	-3.0858	0.3659	-8.43	0.000
Time	-0.21795	0.09004	-2.42	0.018
Light	-0.00003091	0.00008711	-0.35	0.724
Time*Air	0.49118	0.09929	4.95	0.000

Time*Light 0.00001970 0.00002416 0.82 0.417

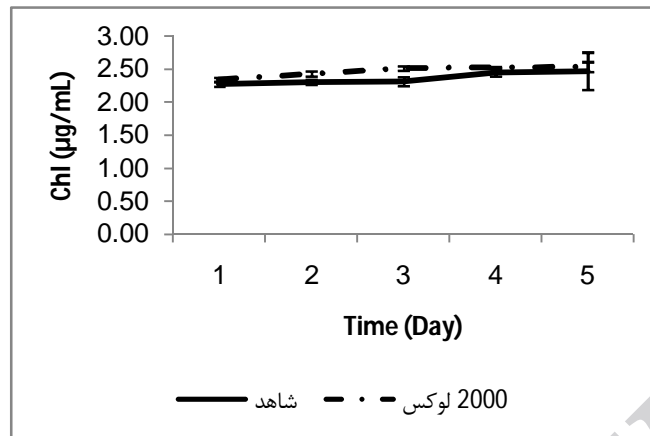
Air*Light 0.00007000 0.00006834 1.02 0.309

3-2-2-4- تاثیر هگزادکان بر تغییرات کلروفیل در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*

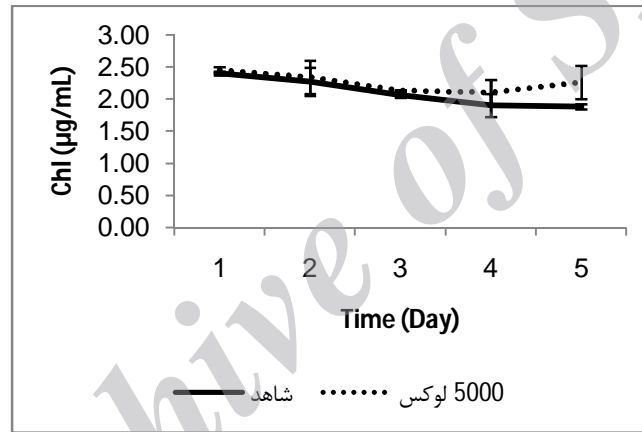
یکی دیگر از پارامترهای مورد سنجش در این پژوهش کلروفیل بود که روند تغییرات آن با تغییرات شدت نور، هوادهی و نیز گذشت زمان مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور کلروفیل به روش اسپکتروفتومتری سنجش گردید. منحنی‌های حاصل از اندازه‌گیری کلروفیل سیانوباکتری در تیمارهای مختلف هگزادکان در طول 5 روز در نمودارهای 99-4 تا 114-4 نشان داده شده است.



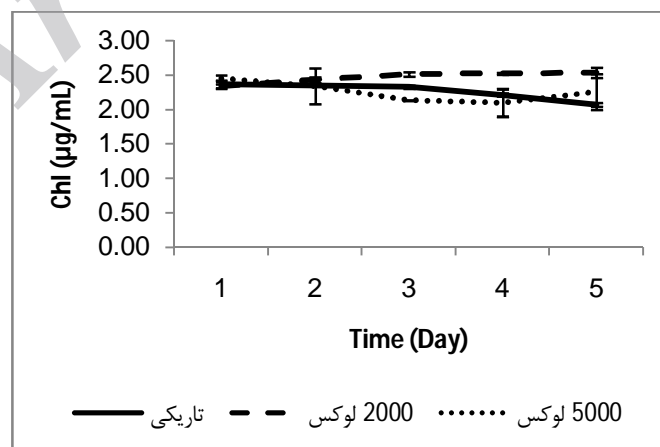
شکل 99-4- تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان با هوادهی در تاریکی



شکل 4-100- تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان با هوادهی در شدت نوری 2000 لوکس



شکل 4-101- تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان با هوادهی در شدت نوری 5000 لوکس



شکل 4-102- تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در شدت‌های نوری مختلف و تحت

هوادهی

جدول 4-25- مقادیر Chl سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در تیمار هگزادکان در شدت‌های مختلف نوری و تحت هوادهی

زمان (روز)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
2/07±0/03	2/22±0/02	2/33±0/02	2/35±0/01	2/37±0/05	0
2/54±0/08	2/53±0/01	2/51±0/03	2/43±0/04	2/34±0/03	2000
2/11±0/26	2/10±0/2	2/13±0/01	2/34±0/26	2/46±0/05	5000

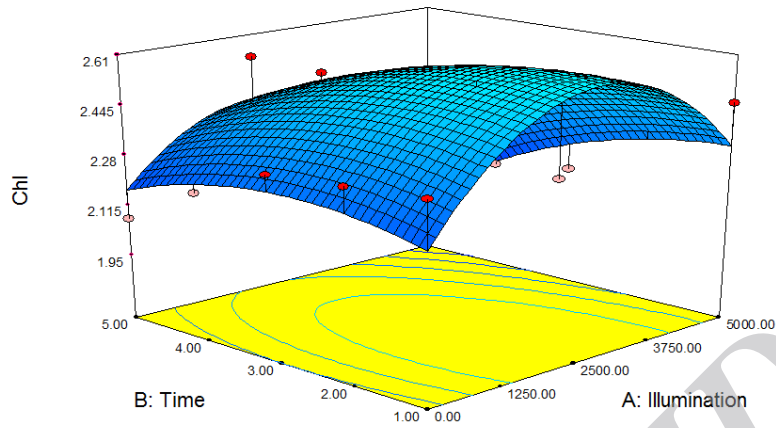
داده ها $X \pm SE$ را نشان می‌دهند.

مقادیر Chl در شدت‌های مختلف نوری تحت تیمار هگزادکان و در شرایط هوادهی در جدول 4-25 آمده است. میانگین Chl سیانوباکتری در تاریکی در روز سوم 2/33 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس کاهش یافت و به مقدار 2/13 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات Chl ظرف مدت آزمایش (5 روز) نشان می‌دهد که میزان این پارامتر در تاریکی کاهش یافته و در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز همین روند را از خود نشان می‌دهد.

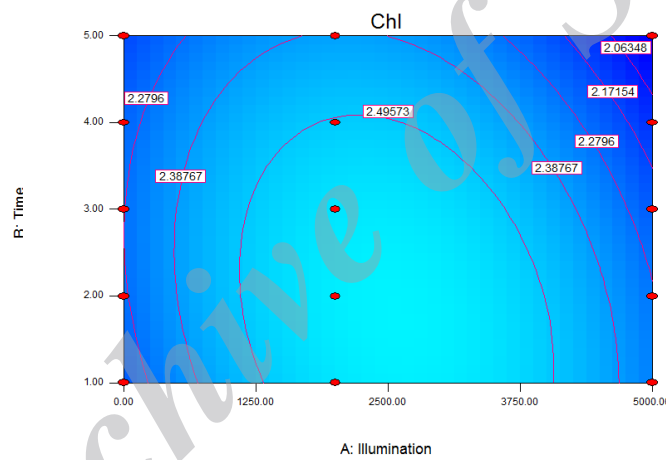
بر اساس نتایج آنالیز آماری در روز سوم نور اثر معنی داری بر روی مقدار Chl داشته است.

جدول 4-26- آنالیز واریانس مقادیر Chl تحت تیمار هگزادکان در شرایط هوادهی

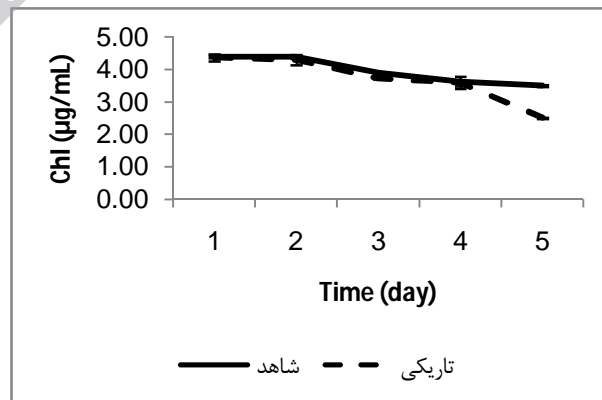
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	0/378	0/189	118/9	0/0001



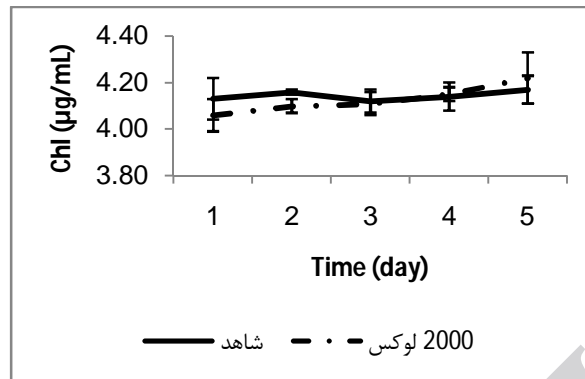
شکل 4-103- تصویر سه بعدی تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان و هوادهی



شکل 4-104- کانتور تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان و هوادهی

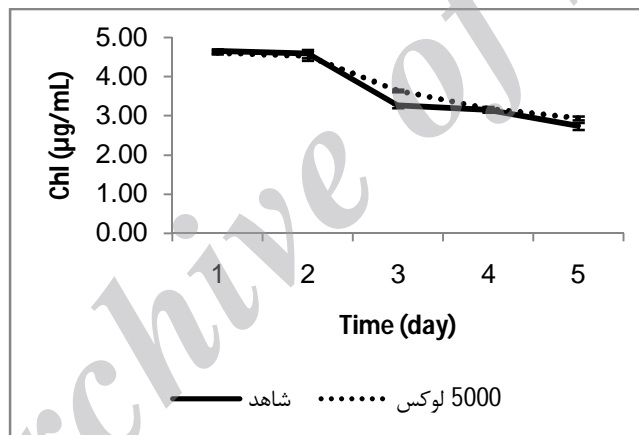


شکل 4-105- تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در تاریکی و بدون هوادهی



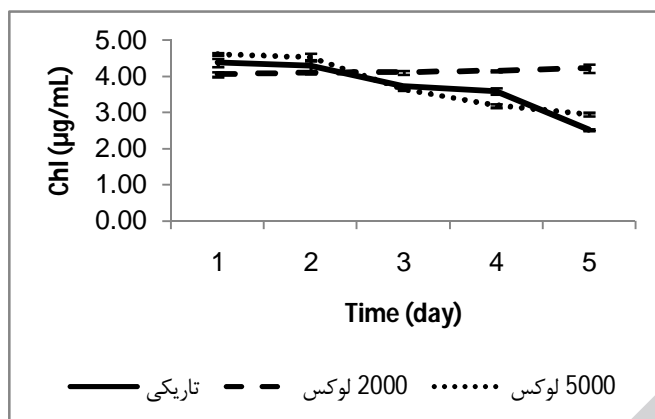
شکل 4-106- تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در شدت نوری 2000 لوکس و بدون

هوادهی



شکل 4-107- تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در شدت نوری 5000 لوکس و بدون

هوادهی



شکل 108-4 - تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در شدت‌های نوری مختلف و بدون هوادهی

جدول 27-4 - مقادیر Chl سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان بدون هوادهی

زمان (روز)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
2/52±0/02	3/59±0/09	3/72±0/01	4/30±0/16	4/34±0/11	0
4/22±0/11	4/15±0/03	4/11±0/05	4/10±0/03	4/06±0/07	2000
2/95±0/05	3/19±0/05	3/65±0/03	4/53±0/11	4/62±0/04	5000

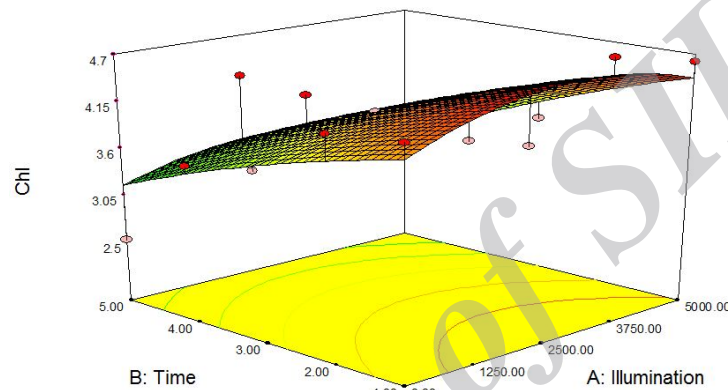
داده‌ها X ± SE را نشان می‌دهند.

مقادیر Chl در شدت‌های مختلف نوری تحت تیمار هگزادکان و در شرایط بدون هوادهی در جدول 27-4 آمده است. میانگین Chl سیانوباکتری در تاریکی در روز سوم 3/72 میلی گرم بر میلی لیتر بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش یافت و به مقدار 3/65 میلی گرم بر میلی لیتر رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات Chl ظرف مدت آزمایش (5 روز) نشان می‌دهد که میزان این پارامتر در تاریکی روند کاهشی داشته در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز از همین روند تبعیت می‌کند.

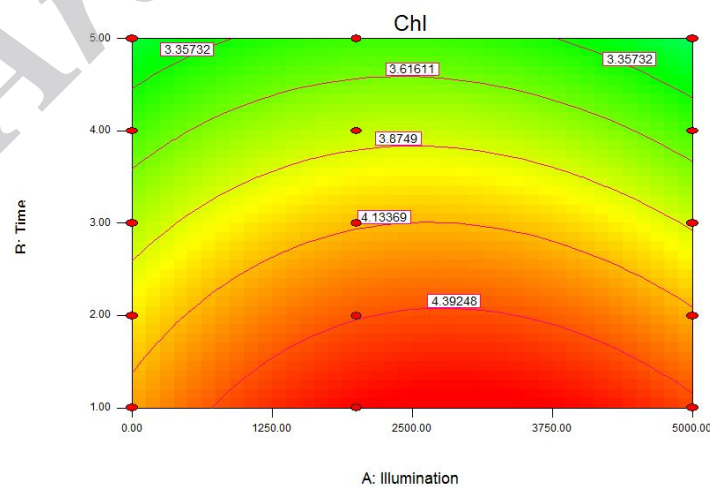
بر اساس نتایج آنالیز آماری در روز سوم، تیمار 2000 لوکس با تاریکی و تیمار 5000 لوکس اختلاف معنی‌داری را نشان داد. جدول 28-4 آنالیز واریانس مقادیر Chl را نشان می‌دهد.

جدول 4-28- آنالیز واریانس مقادیر Chl تحت تیمار هگزادکان بدون هوادهی

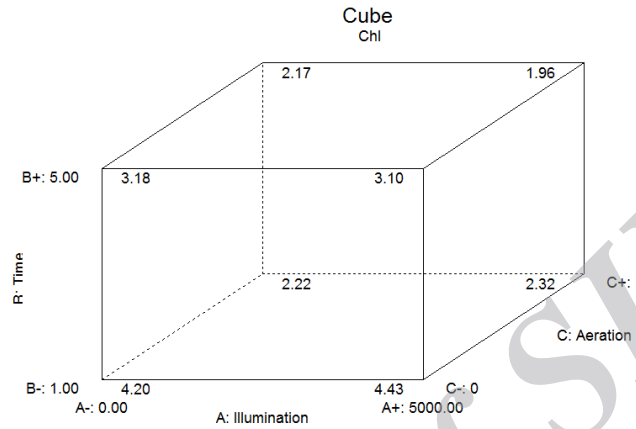
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	1/378	0/189	118/9	0/000



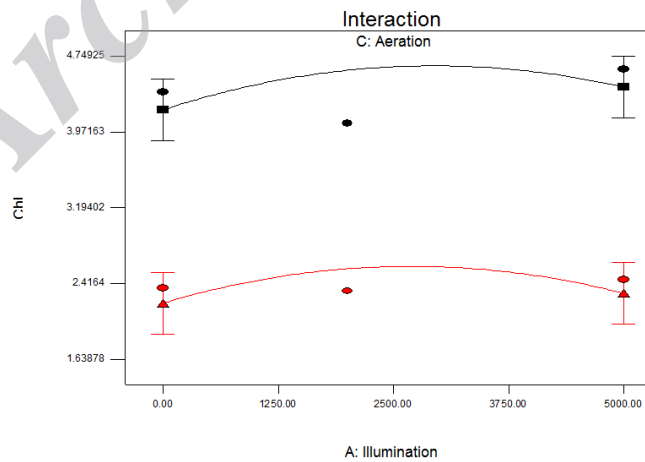
شکل 4-109- تصویر سه بعدی تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان و بدون هوادهی



شکل 4-110- کانتور تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان و بدون هوادهی

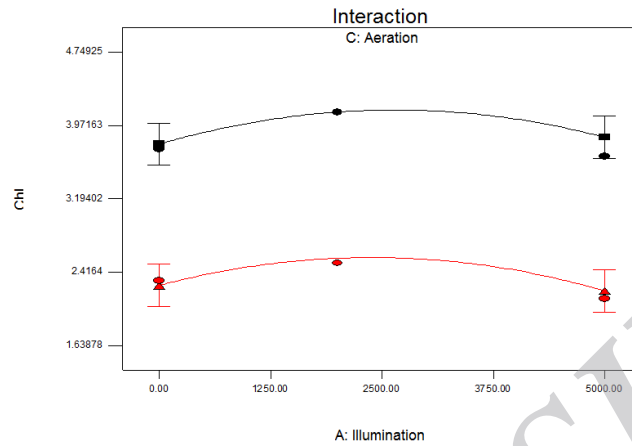


شکل 4-111- تغییرات Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* نسبت به سه متغیر زمان، نور و هوادهی در تیمار هگزادکان



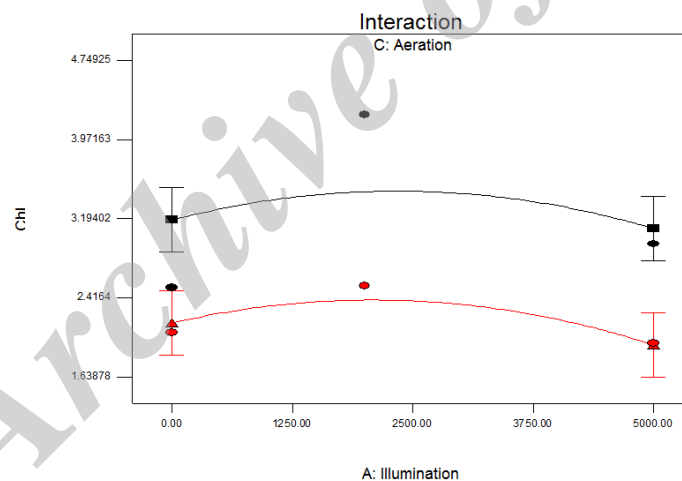
شکل 4-112- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در

روز اول (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می دهد)



شکل 4-113- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار

هگزادکان در روز سوم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)



شکل 4-114- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار

هگزادکان در روز پنجم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)

آنچه که در منحنی کوبیک و برهم‌کنش‌ها (اشکال 4-111 تا 4-114) مشاهده می‌گردد، این است که نور اثر افزایشی و هوادهی تاثیر کاهشی به عنوان فاکتورهای محیطی بر میزان Chl در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* داشته است.

- آنالیز واریانس چند عاملی برای بررسی تاثیرگذاری متغیرهای نور، هوادهی و زمان بر Chl

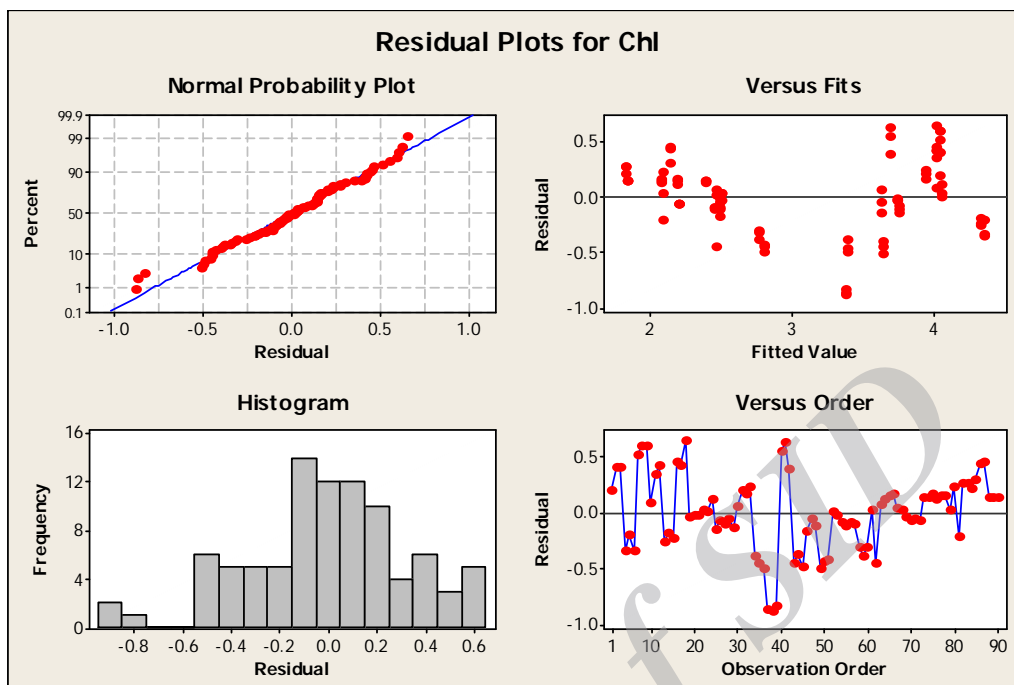
ANOVA: Chl versus Air, Time, Light

Factor	Type	Levels	Values
Air	fixed	2	0, 1
Time	fixed	5	1, 2, 3, 4, 5
Light	fixed	3	0, 2000, 5000

Analysis of Variance for Chl

Source	DF	SS	MS	F	P
Air	1	54.6936	54.6936	462.52	0.000
Time	4	5.4432	1.3608	11.51	0.000
Light	2	1.9271	0.9635	8.15	0.001
Error	82	9.6966	0.1183		
Total	89	71.7605			

S = 0.343876 R-Sq = 86.49% R-Sq(adj) = 85.33%



با توجه به مقدار P برای هوادهی و نور و زمان که کمتر از 0.05 می‌باشد. هوادهی و نور و زمان تاثیر معناداری بر رشد Chl دارند.

• رابطه کمی بین Chl و نور، هوادهی و زمان

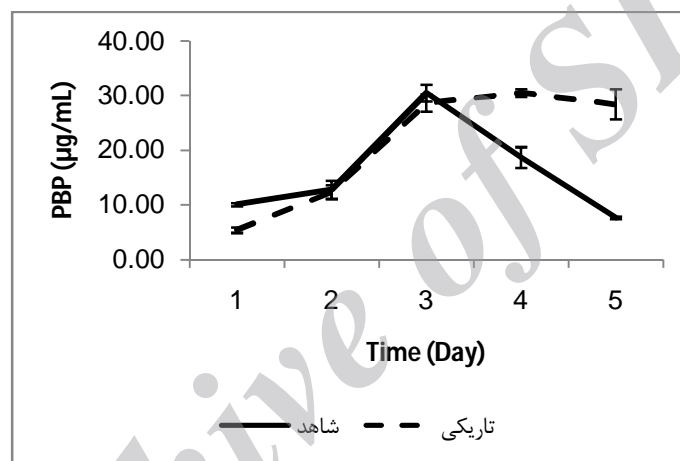
The regression equation is

$$Chl = 4.62 - 2.23 Air - 0.255 Time + 0.243 Time*Air$$

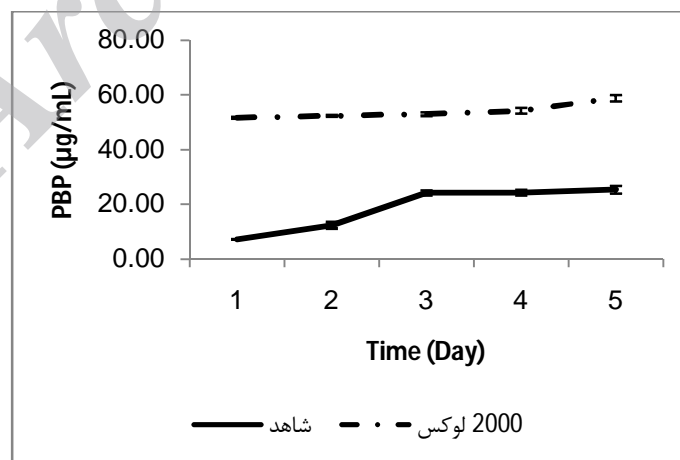
Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	4.6205	0.1523	30.35	0.000
Air	-2.2270	0.1802	-12.36	0.000
Time	-0.25484	0.04435	-5.75	0.000
Light	0.00005379	0.00004291	1.25	0.214
Time*Air	0.24311	0.04891	4.97	0.000
Time*Light	-0.00001574	0.00001190	-1.32	0.190
Air*Light	-0.00002633	0.00003366	-0.78	0.436

4-2-2-4- تاثیر هگزادکان بر تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*

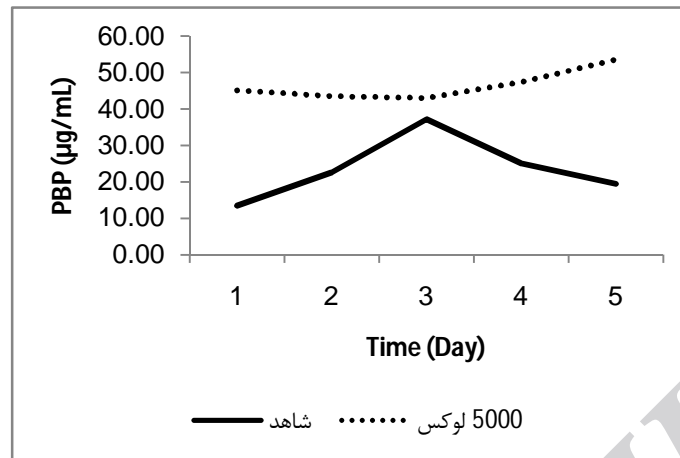
یکی دیگر از پارامترهای مورد سنجش در این پژوهش فیکوبیلی پروتئین‌ها بودند که روند تغییرات آن با تغییرات شدت نور، هوادهی و نیز گذشت زمان مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور فیکوبیلی پروتئین‌ها به روش اسپکتروفتومتری سنجش شد. منحنی‌های حاصل از اندازه‌گیری وزن خشک سیانوباکتری در تیمارهای مختلف هگزادکان در طول 5 روز در نمودارهای 4-115 تا 4-130 نشان داده شده است.



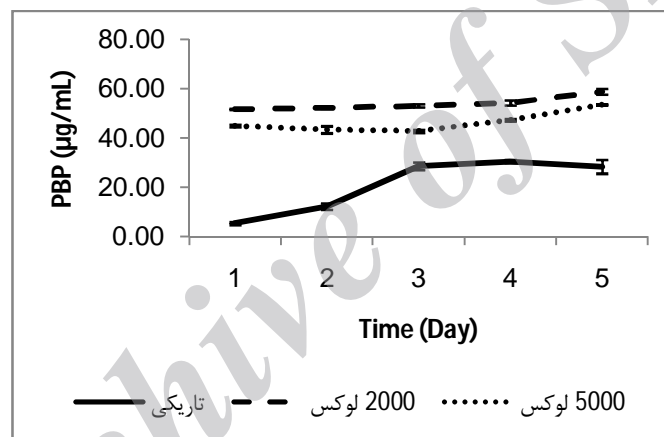
شکل 4-115- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان با هوادهی در تاریکی



شکل 4-116- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان با هوادهی در شدت نوری 2000 لوکس



شکل 4-117- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان با هوادهی در شدت نوری 5000 لوکس



شکل 4-118- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در شدت‌های نوری مختلف، تحت تیمار هگزادکان و هوادهی

جدول 4-29- مقادیر PBP سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در تیمار هگزادکان در شدت‌های مختلف نوری و تحت هوادهی

زمان (روز)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
28/45±2/76	30/57±0/67	28/70±1/58	12/38±1/25	5/45±0/51	0
58/91±1/11	54/38±1/12	53/14±0/64	52/44±0/34	51/81±0/24	2000
53/62±0/15	47/39±0/54	42/93±0/62	43/49±1/44	45/10±0/49	5000

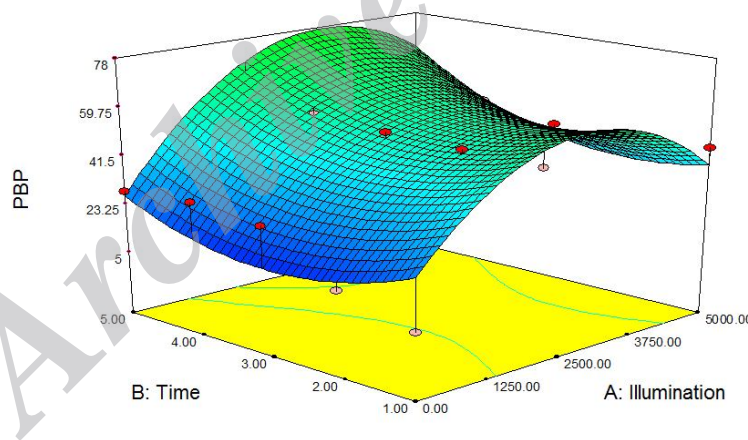
داده ها $X \pm SE$ را نشان می‌دهند.

مقادیر PBP در شدت‌های مختلف نوری تحت تیمار هگزادکان و در شرایط هوادهی در جدول 4-29 آمده است. میانگین PBP سیانوباکتری در تاریکی در روز سوم $28/70$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش یافت و به مقدار $42/93$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات PBP ظرف مدت آزمایش (5 روز) نشان می‌دهد که میزان این پارامتر در تاریکی افزایش یافته و در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز همین روند را از خود نشان می‌دهد.

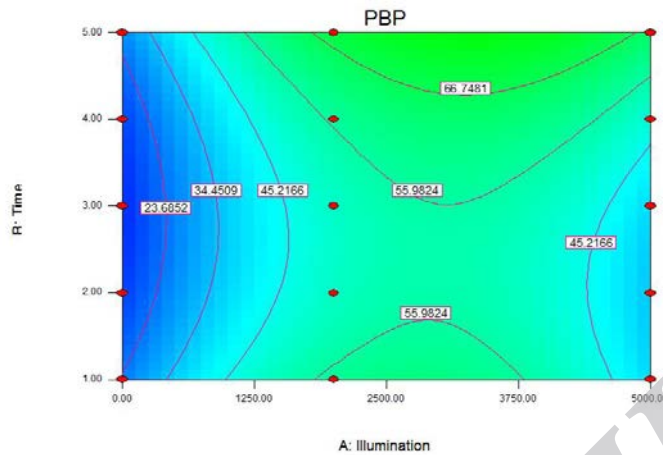
بر اساس نتایج آنالیز آماری در روز سوم، تمام تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. جدول 4-30 آنالیز واریانس مقادیر PBP را نشان می‌دهد.

جدول 4-30- آنالیز واریانس مقادیر PBP در شرایط هوادهی

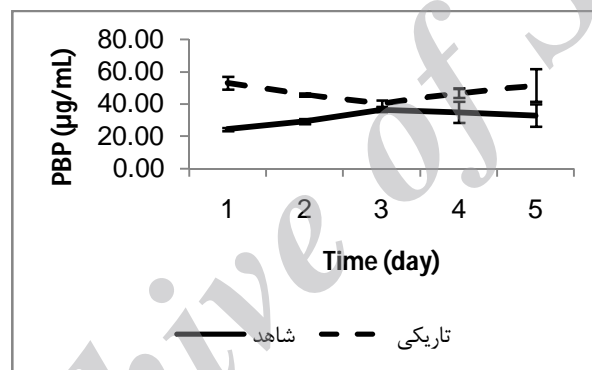
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	903/82	451/91	328/68	0/0001



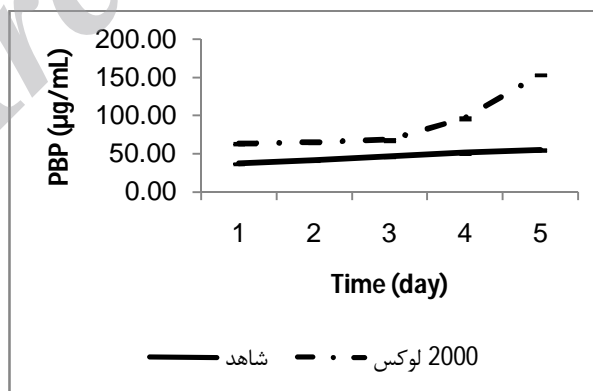
شکل 4-119- تصویر سه بعدی تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان و هوادهی



شکل 4-120- کانتور تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان و هوادهی

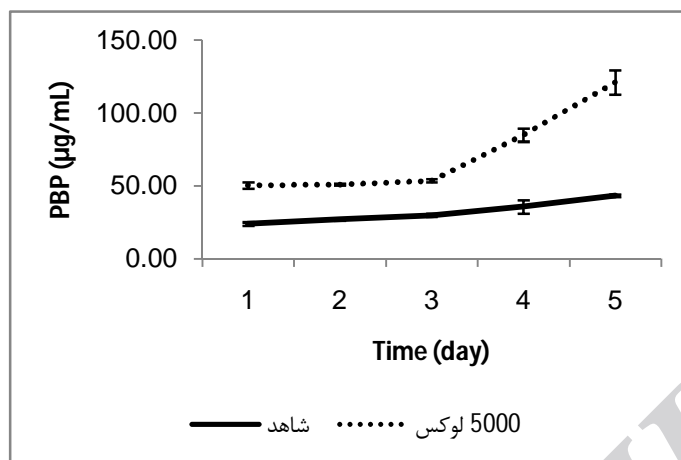


شکل 4-121- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در تاریکی و بدون هوادهی

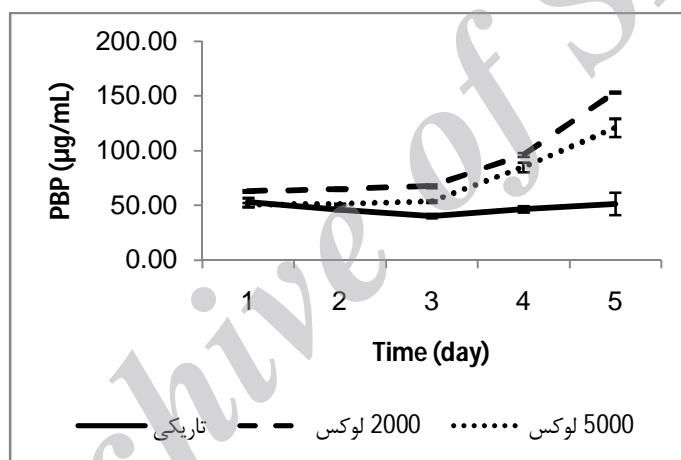


شکل 4-122- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در شدت نوری 2000 لوکس و بدون

هوادهی



شکل 4-123- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در نور 5000 لوکس و بدون هوادهی



شکل 4-124- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در شدت‌های نوری مختلف، تحت تیمار هگزادکان، بدون

هوادهی

جدول 4-31- مقادیر PBP سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان بدون هوادهی

زمان (روز)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
51/64±10/12	46/88±2/92	40/45±2/01	45/96±0/95	53/09±3/92	0
153/71±0/77	96/66±0/87	67/89±2/11	65/26±1/18	63/23±1/94	2000
121/26±8/39	85/02±4/42	53/71±1/03	51/12±0/76	50/52±2/09	5000

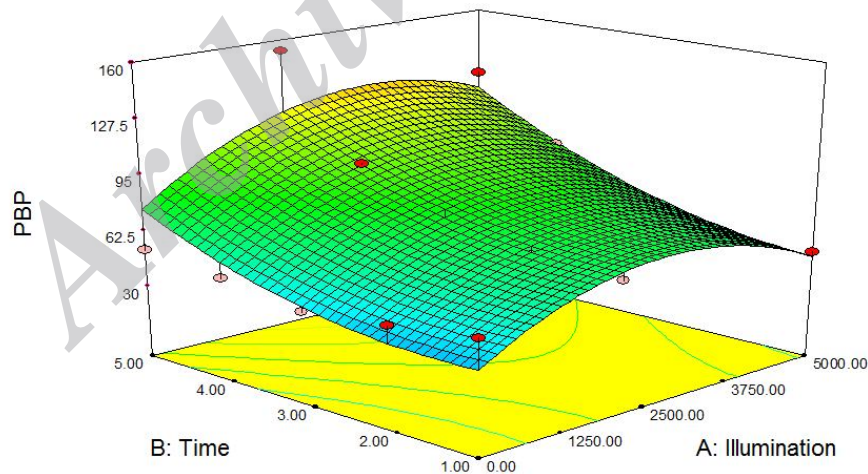
داده‌ها $X \pm SE$ را نشان می‌دهند.

مقادیر PBP در شدت‌های مختلف نوری تحت تیمار هگزادکان و در شرایط بدون هوادهی در جدول 4-31 آمده است. میانگین PBP سیانوباکتری در تاریکی در روز سوم 40/45 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش یافت و به مقدار 53/71 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات PBP ظرف مدت آزمایش (5 روز) نشان می‌دهد که میزان این پارامتر در تاریکی روند نسبتاً ثابتی داشته در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز از روند افزایشی برخوردار بوده است.

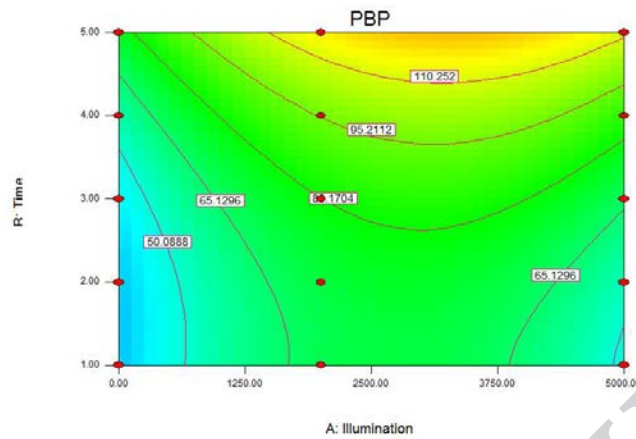
بر اساس نتایج آنالیز آماری، نور اثر معنی‌داری بر روند تغییرات PBP داشته است.

جدول 4-32- آنالیز واریانس مقادیر PBP تحت تیمار هگزادکان بدون هوادهی

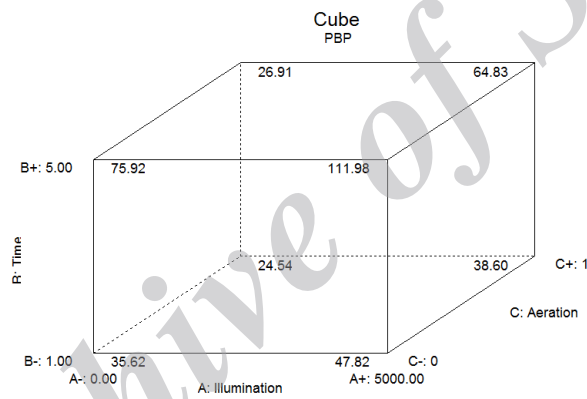
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	1130/41	565/20	187/18	0/000



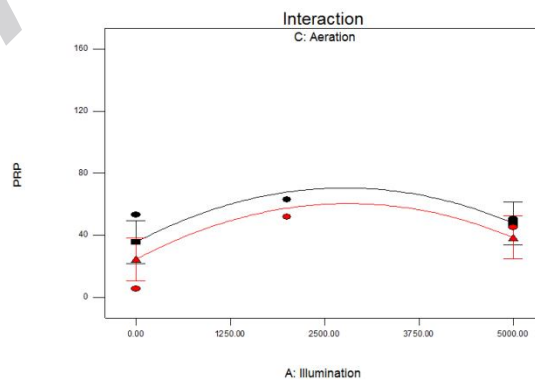
شکل 4-125- تصویر سه بعدی تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان، بدون هوادهی



شکل 4-126- کانتور تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان و بدون هوادهی

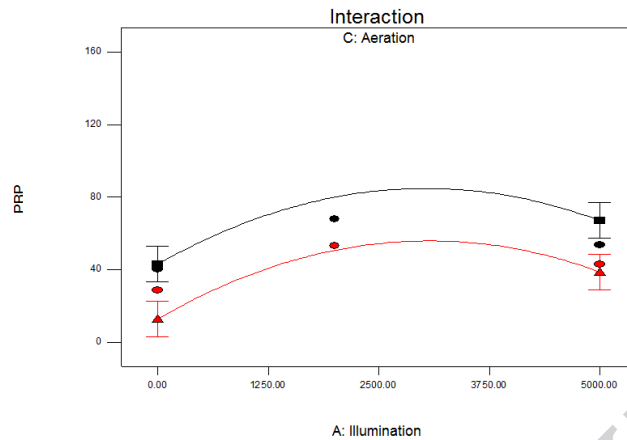


شکل 4-127- تغییرات PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* نسبت به سه متغیر زمان، نور و هوادهی، تحت تیمار هگزادکان

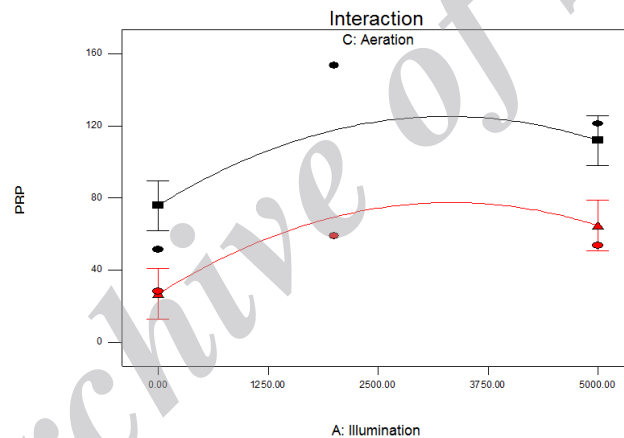


شکل 4-128- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در

روز اول (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)



شکل 4-129- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در روز سوم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)



شکل 4-130- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار هگزادکان در روز پنجم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)

آنچه که در منحنی کوبیک و برهم‌کنش‌ها (اشکال 4-127 تا 4-130) مشاهده می‌گردد، این است که نور اثر افزایشی معنی‌دار و هوادهی اثر کاهشی بر میزان PBP در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* داشته است. البته نکته دیگر این است که با گذشت زمان نیز میزان فیکوبیلی‌پروتئین‌ها افزایش پیدا کرده است.

- آنالیز واریانس چند عاملی برای بررسی تاثیرگذاری متغیرهای نور، هوادهی و زمان بر BPB

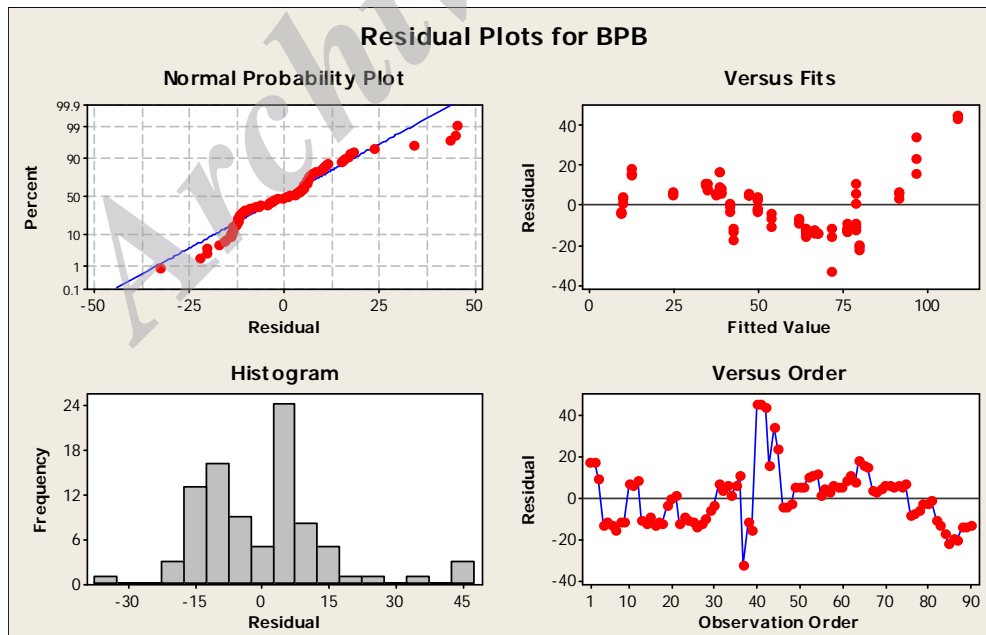
ANOVA: BPB versus Air, Time, Light

Factor	Type	Levels	Values
Air	fixed	2	0, 1
Time	fixed	5	1, 2, 3, 4, 5
Light	fixed	3	0, 2000, 5000

Analysis of Variance for BPB

Source	DF	SS	MS	F	P
Air	1	19152.6	19152.6	87.26	0.000
Time	4	14482.1	3620.5	16.50	0.000
Light	2	21773.7	10886.9	49.60	0.000
Error	82	17997.6	219.5		
Total	89	73406.0			

S = 14.8149 R-Sq = 75.48% R-Sq(adj) = 73.39%



با توجه به مقدار P برای هوادهی و نور و زمان که کمتر از 0.05 می باشد هوادهی و نور و زمان تاثیر معناداری بر رشد PBP دارند.

- رابطه کمی بین PBP و نور، هوادهی و زمان

The regression equation is

$$\text{BPB} = 30.0 + 10.1 \text{ Time} - 9.48 \text{ Time} * \text{Air}$$

Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	29.954	8.860	3.38	0.001
Air	-1.60	10.49	-0.15	0.879
Time	10.075	2.581	3.90	0.000
Light	0.000527	0.002497	0.21	0.833
Time*Air	-9.483	2.846	-3.33	0.001
Time*Light	0.0011928	0.0006925	1.72	0.089
Air*Light	0.000372	0.001959	0.19	0.850

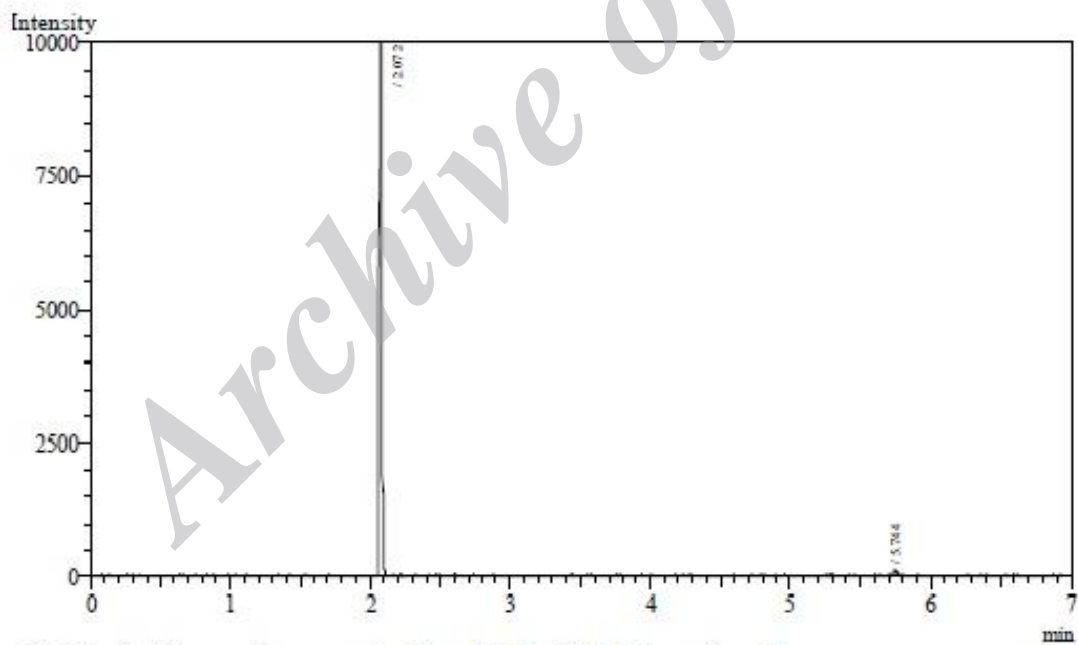
3-4- میزان تجزیه آلاینده های نفتی توسط سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*

یکی دیگر از مطالعات صورت گرفته در این پروژه که از اهداف در نظر گرفته شده بود، توانمندی سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در تجزیه آلاینده های نفتی بود. آلاینده های در نظر گرفته شده در این پروژه عبارت بودند از یک آلاینده آروماتیک (نفتالن) و یک آلاینده آلیفاتیک (هگزادکان). برای نشان دادن میزان این آلاینده ها از دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده گردید. در زیر به بررسی نتایج این سنجش ها پرداخته می شود. نمودارهای 4-131 تا 4-140 به بررسی نتایج مربوط به درصد کاهش نفتالن در شرایط متفاوت هوادهی پرداخته است. یک نمونه از کروماتوگرام های بدست آمده در زیر آمده است. سطح زیر منحنی مربوطه نشان دهنده میزان آلاینده مورد نظر می باشد. سایر کروماتوگرام ها در بخش پیوست آمده است.

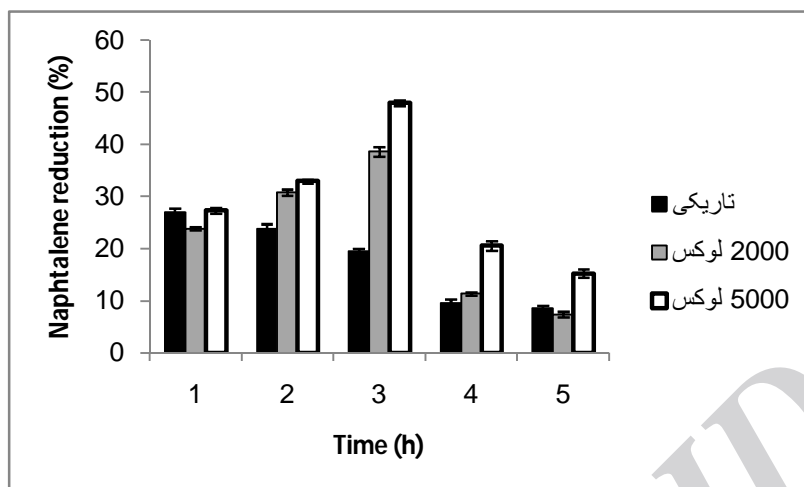
4-3-1- میزان تجزیه نفتالن توسط سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*

به منظور بررسی میزان تجزیه نفتالن توسط سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*، این جلبک در محیط مایع BG₁₁ کشت گردید. سنجش‌ها بر اساس پیش تیمارهای انجام شده، در مدت یک روز و به فواصل سه ساعت انجام گردید. همانطور که در بخش مواد و روشها شرح داده شد، میزان تجزیه آلاینده‌ها توسط دستگاه GC اندازه‌گیری شد. شکل 4-131 درصد کاهش نفتالن را در سیانوباکتری مورد آزمایش نشان می‌دهد.

Instrument: GC - 15A Shimadzu
 Det: FID
 Column: Rtx-5 MS (30 meter, 0.25 mm ID, 0.25 um df)
 Sample: nemonehrozIT2
 Temp. column: 180 C
 Inj. Vol: 0.1 micl
 Inj. Temp.: 280 C
 Det. Temp.: 300 C



Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Mark ID#	Cmpd Name
1	2.072	22261	98.952	22498		
2	5.744	236	1.048	96		
Total		22497	100.000	22594		



شکل 4-131- درصد کاهش نفتالن در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در شدت‌های نوری مختلف و تحت هوادهی مقادیر درصد کاهش نفتالن در شدت‌های مختلف نوری در شرایط هوادهی در جدول 4-49 آمده است. میانگین درصد کاهش نفتالن توسط سیانوباکتری در تاریکی در ساعت سوم 19/53 درصد بود. این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش یافت و به مقدار 47/95 درصد رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات درصد کاهش نفتالن ظرف مدت آزمایش (5 ساعت) نشان می‌دهد که میزان این پارامتر در تاریکی کاهش یافته و در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز همین روند را از خود نشان می‌دهد.

بر اساس نتایج آنالیز آماری در ساعت سوم، تمام تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. جدول 4-50 آنالیز واریانس درصد کاهش نفتالن را نشان می‌دهد.

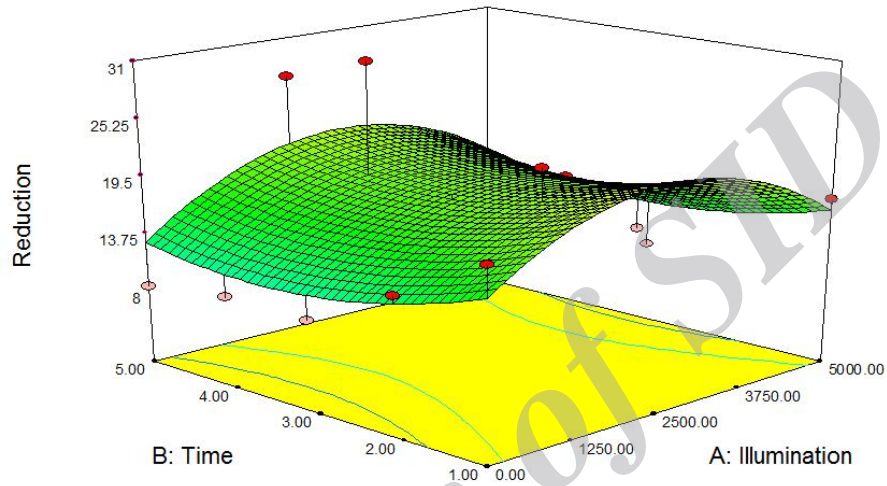
جدول 4-33- مقادیر کاهش نفتالن سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در شدت‌های مختلف نوری و تحت هوادهی (%)

زمان (ساعت)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
8/53±0/52	9/62±0/72	19/53±0/51	23/86±0/88	26/96±0/82	0
7/4±0/53	11/38±0/3	38/62±0/90	30/79±0/59	23/84±0/31	2000
15/27±0/82	20/58±0/95	47/95±0/54	32/96±0/38	27/31±0/58	5000

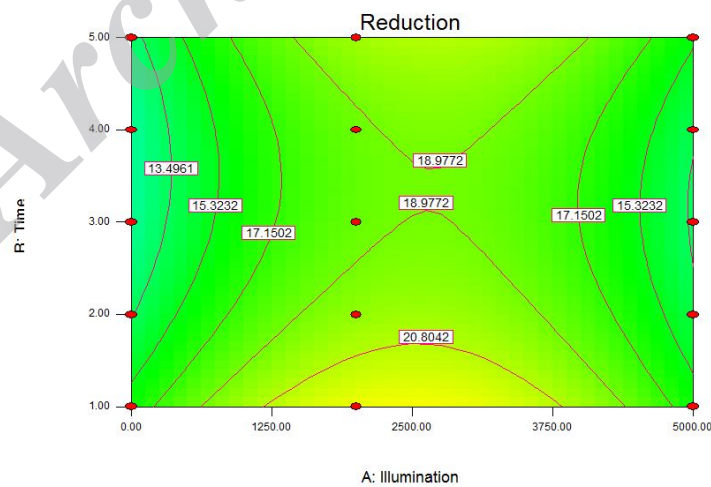
داده ها $X \pm SE$ را نشان می‌دهند.

جدول 4-34- آنالیز واریانس درصد کاهش نفتالن در شرایط هوادهی

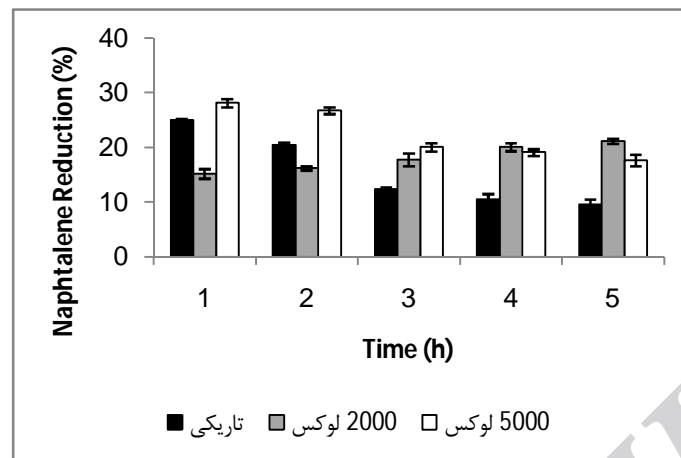
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	1258/79	629/40	1104/22	0/0001



شکل 4-132- تصویر سه بعدی تغییرات درصد کاهش نفتالن در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت هوادهی



شکل 4-133- کانتور تغییرات کاهش میزان نفتالن در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت هوادهی



شکل 4-134- درصد کاهش نفتالن در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در شدت‌های نوری مختلف و بدون هوادهی

جدول 4-35- مقادیر کاهش نفتالن سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در شدت‌های نوری مختلف و در شرایط بدون هوادهی (%)

زمان (ساعت)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
9/56±0/94	10/57±0/96	12/40±0/37	20/44±0/56	25/07±0/18	0
21/18±0/46	20/13±0/75	17/78±1/18	16/25±0/37	15/22±0/87	2000
17/7±1/05	19/14±0/59	20/1±0/77	26/81±0/63	28/17±0/74	5000

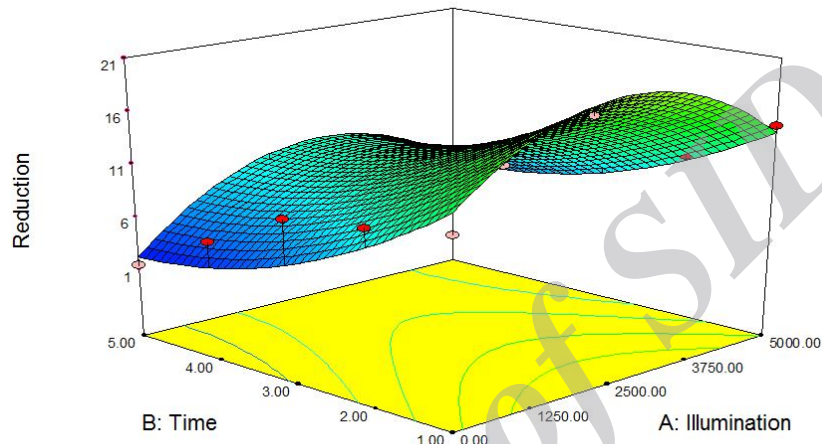
داده ها X ±SE را نشان می دهند.

درصد کاهش نفتالن در شدت‌های نوری در شرایط بدون هوادهی در جدول 4-35 آمده است. میانگین درصد کاهش نفتالن سیانوباکتری در تاریکی در ساعت سوم 12/40 درصد بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش یافت و به مقدار 20/1 درصد رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات درصد کاهش نفتالن ظرف مدت آزمایش (5 ساعت) نشان می دهد که میزان این پارامتر در تاریکی کاهش یافته و در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز همین روند را از خود نشان می دهد.

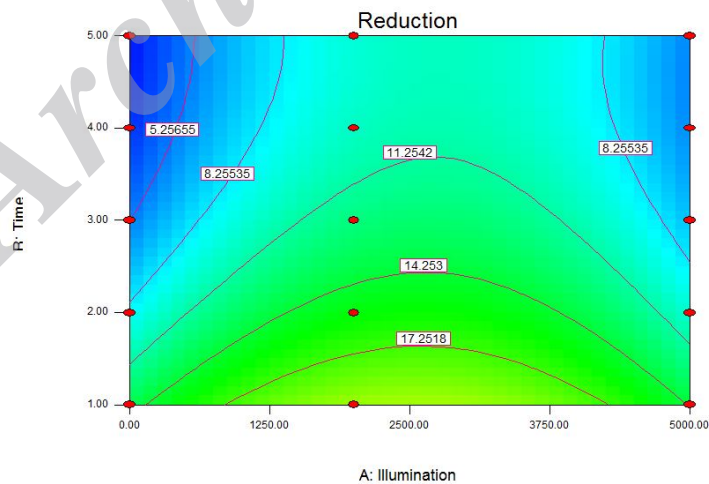
بر اساس نتایج آنالیز آماری در ساعت سوم، تمام تیمارها با هم اختلاف معنی داری را نشان دادند. جدول 4-36 آنالیز واریانس درصد کاهش نفتالن را نشان می دهد.

جدول 4-36- آنالیز واریانس درصد کاهش نفتالن در شرایط بدون هوادهی

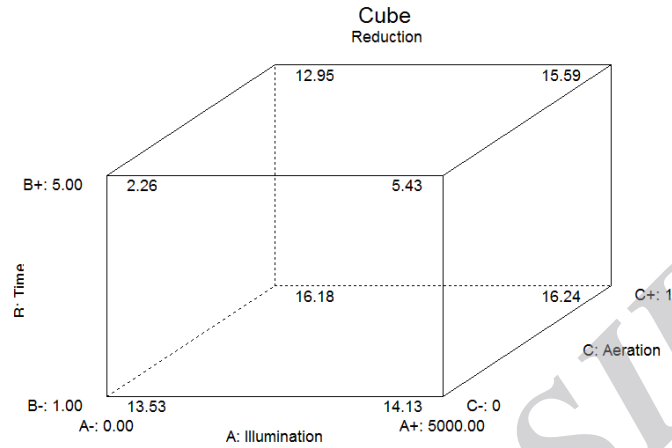
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	93/53	46/76	65/93	0/0001



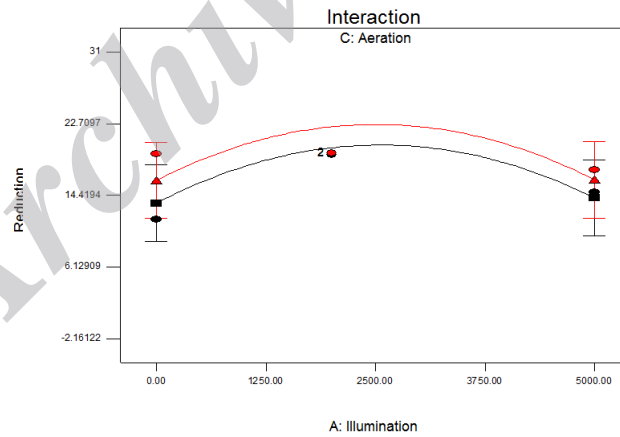
شکل 4-135- تصویر سه بعدی تغییرات درصد کاهش نفتالن در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* بدون هوادهی



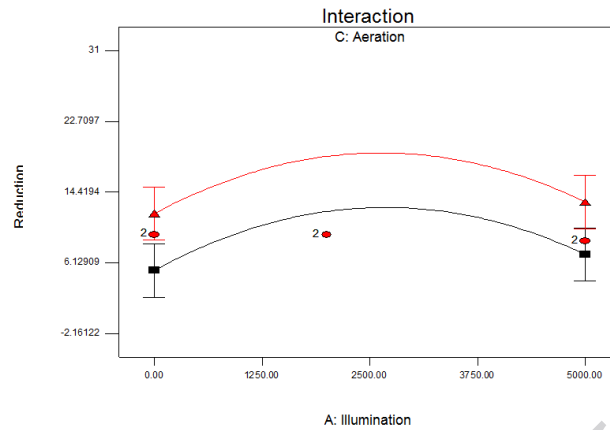
شکل 4-136- کانتور تغییرات کاهش میزان نفتالن در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* بدون هوادهی



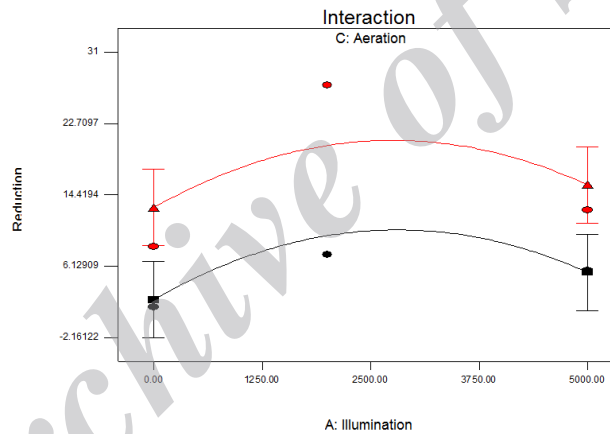
شکل 4-137- تغییرات کاهش میزان نفتالن در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* نسبت به سه متغیر زمان، نور و هوادهی



شکل 4-138- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان کاهش نفتالن در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در ساعت اول (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)



شکل 4-139- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان کاهش نفتالن در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در ساعت سوم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)



شکل 4-140- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان کاهش نفتالن در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در ساعت پنجم (خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)

آنچه که در منحنی کوبیک و برهم‌کنش‌ها (اشکال 4-137 تا 4-140) مشاهده می‌گردد، این است که نور اثر افزایشی معنی‌دار بر روی درصد کاهش نفتالن داشته است. همچنین شواهد حاکی از اثرگذاری مثبت هوادهی بر روند کاهش آلاینده نفتالن در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* دارد. البته نکته دیگر این است که این توانمندی با گذشت زمان کاهش پیدا کرده است.

- آنالیز واریانس چند عاملی برای بررسی تاثیرگذاری متغیرهای نور، هوادهی و زمان بر تجزیه نفتالین

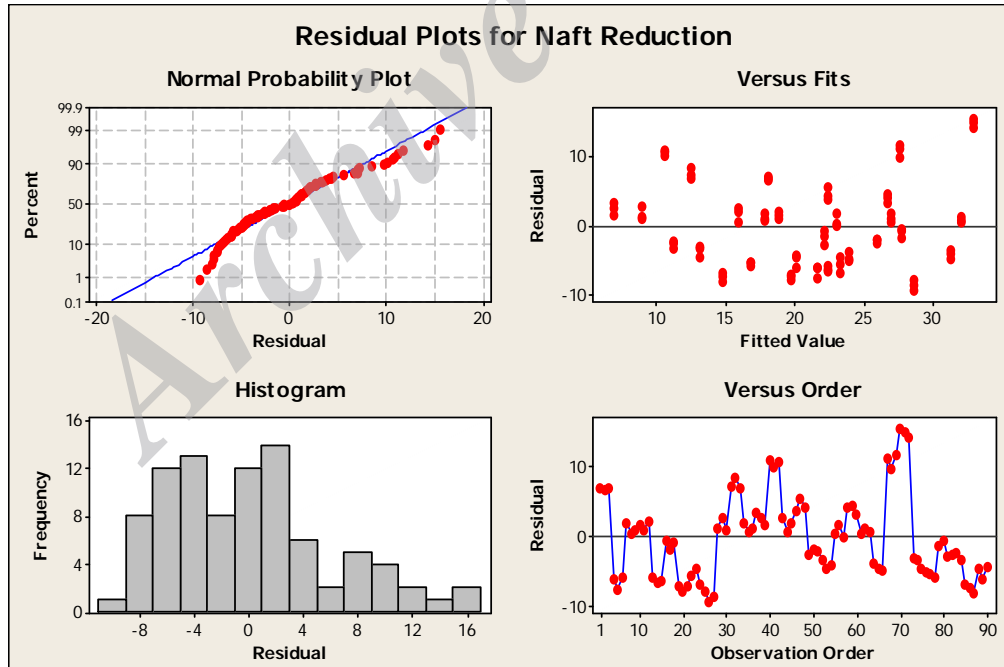
ANOVA: Naft Reduction versus Air, Time, Light

Factor	Type	Levels	Values
Air	fixed	2	0, 1
Time	fixed	5	1, 2, 3, 4, 5
Light	fixed	3	0, 2000, 5000

Analysis of Variance for Naft Reduction

Source	DF	SS	MS	F	P
Air	1	410.31	410.31	10.73	0.002
Time	4	2657.80	664.45	17.38	0.000
Light	2	1215.71	607.86	15.90	0.000
Error	82	3134.45	38.22		
Total	89	7418.28			

S = 6.18263 R-Sq = 57.75% R-Sq(adj) = 54.14%



با توجه به مقدار P برای زمان و نور و هوادهی که کمتر از 0.05 می باشد زمان و نور و هوادهی معناداری بر کاهش نفتالن دارند.

- رابطه کمی بین تجزیه نفتالین و نور، هوادهی و زمان

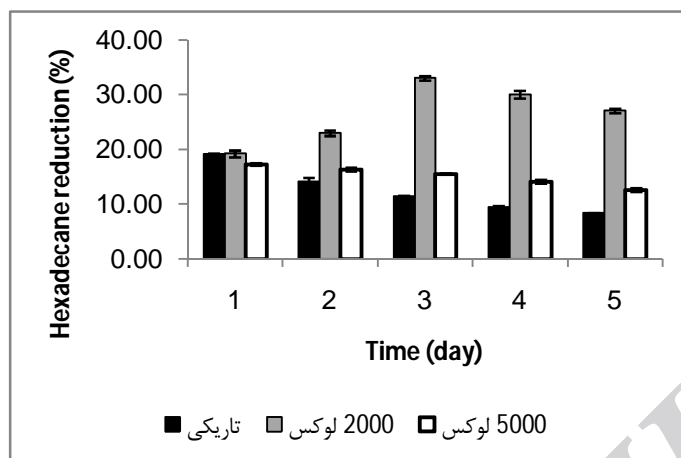
The regression equation is

$$\text{Napht Reduction} = 22.4 + 10.9 \text{ Air} - 2.28 \text{ Time} - 2.87 \text{ Time*Air}$$

Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	22.372	2.990	7.48	0.000
Air	10.892	3.539	3.08	0.003
Time	-2.2817	0.8710	-2.62	0.010
Light	0.0007287	0.0008426	0.86	0.390
Time*Air	-2.8717	0.9604	-2.99	0.004
Time*Light	0.0002109	0.0002337	0.90	0.369
Air*Light	0.0008544	0.0006610	1.29	0.200

2-3-4- میزان تجزیه هگزادکان توسط سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*

به منظور بررسی میزان تجزیه هگزادکان توسط سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* این جلبک در محیط مایع BG11 کشت گردید. سنجش ها بر اساس پیش تیمارهای انجام شده، در مدت یک هفته و به فواصل دو روز انجام گردید. شکل 141-4 درصد کاهش هگزادکان را در سیانوباکتری مورد آزمایش نشان می دهد.



شکل 4-141- درصد کاهش هگزادکان در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در شدت‌های نوری مختلف و تحت هوادهی

جدول 4-37- مقادیر کاهش هگزادکان سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در شدت‌های نوری مختلف و تحت هوادهی (%)

زمان (روز)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
8/38±0/07	9/48±0/27	11/43±0/17	14/12±0/75	19/21±0/11	0
27/14±0/38	30/11±0/69	33/09±0/43	23/07±0/51	19/28±0/60	2000
12/63±0/35	14/20±0/35	15/61±0/13	16/42±0/38	17/34±0/20	5000

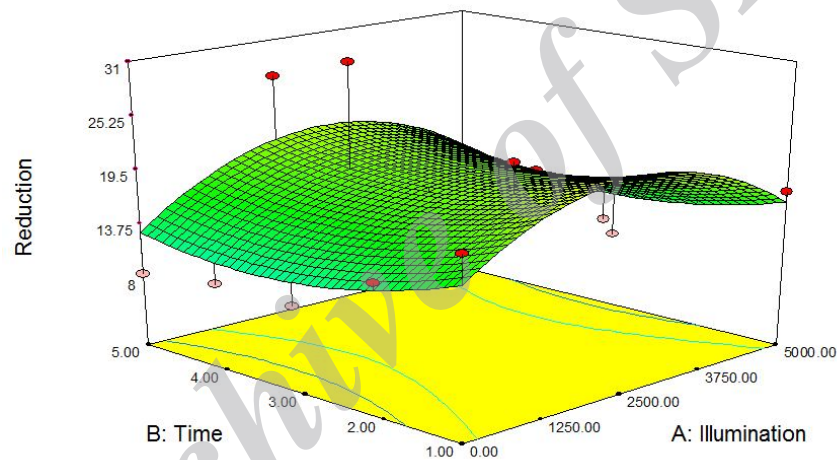
داده ها $X \pm SE$ را نشان می‌دهند.

مقادیر درصد کاهش هگزادکان در شدت‌های نوری در شرایط هوادهی در جدول 4-37 آمده است. میانگین درصد کاهش هگزادکان توسط سیانوباکتری در تاریکی در روز سوم 11/43% بود. این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش یافت و به مقدار 15/61% رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات درصد کاهش هگزادکان ظرف مدت آزمایش (5 روز) نشان می‌دهد که میزان این پارامتر در تاریکی و در نور 5000 لوکس کاهش در نور 2000 لوکس روند افزایشی از خود نشان می‌دهد.

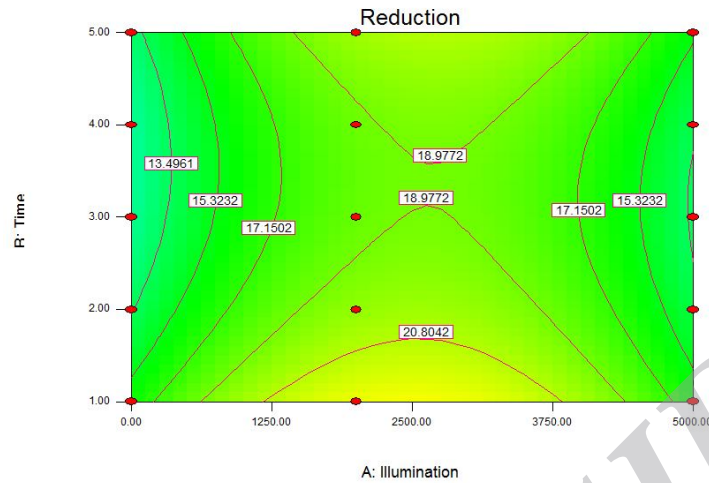
بر اساس نتایج آنالیز آماری در روز سوم، تیمار 5000 لوکس با تیمارهای 2000 لوکس و تاریکی اختلاف معنی دار دارد. جدول 4-38 آنالیز واریانس درصد کاهش هگزادکان را نشان می دهد.

جدول 4-38- آنالیز واریانس درصد کاهش هگزادکان در شرایط هوادهی

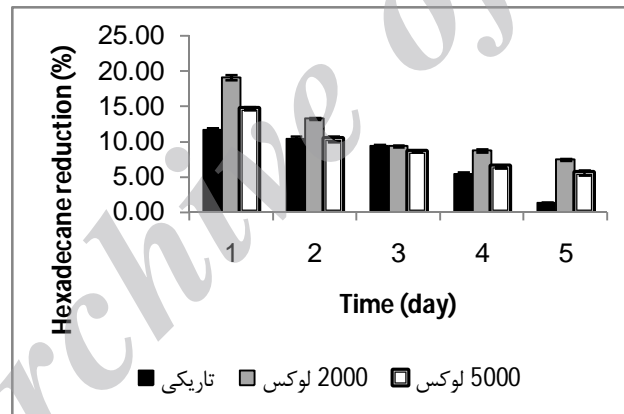
نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	1/206	0/603	26/32	0/001



شکل 4-142- تصویر سه بعدی تغییرات درصد کاهش هگزادکان در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت هوادهی



شکل 4-143- کانتور تغییرات کاهش میزان هگزادکان در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت هوادهی



شکل 4-144- درصد کاهش هگزادکان در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در شدت‌های نوری مختلف و بدون هوادهی

جدول 4-39- مقادیر کاهش هگزادکان سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در شدت‌های مختلف نوری و تحت شرایط بدون هوادهی (%)

زمان (روز)					شدت نوری (Lux)
5	4	3	2	1	
1/38±0/07	5/48±0/27	9/43±0/17	10/46±0/31	11/68±0/27	0
7/48±0/15	8/78±0/20	9/42±1/11	13/30±0/14	19/14±0/38	2000

$5/63 \pm 0/33$
 $6/54 \pm 0/22$
 $8/65 \pm 0/13$
 $10/42 \pm 0/38$
 $14/75 \pm 0/18$

5000

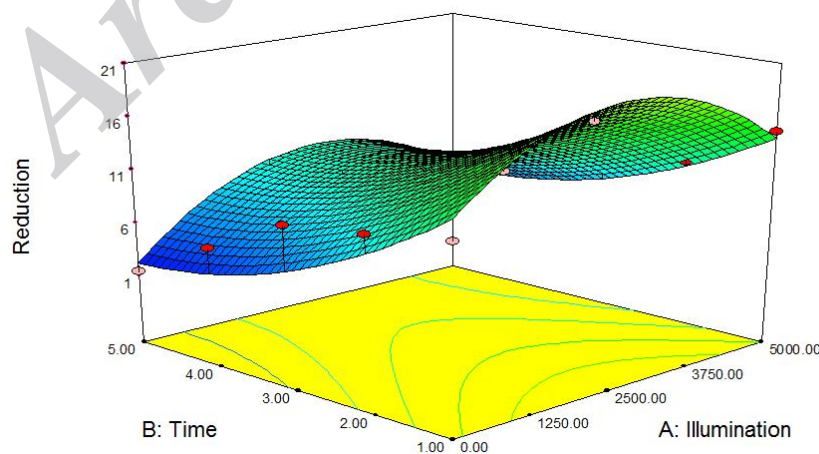
 داده ها $X \pm SE$ را نشان می دهند.

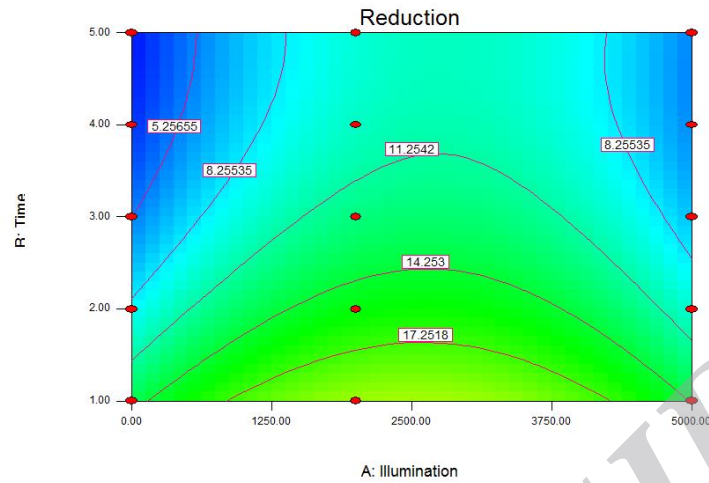
درصد کاهش هگزادکان در شدت‌های مختلف نوری در شرایط بدون هوادهی در جدول 4-39 آمده است. میانگین درصد کاهش هگزادکان سیانوباکتری در تاریکی در روز سوم $9/43\%$ بود، این مقدار در شدت نوری 5000 لوکس افزایش یافت و به مقدار $8/65\%$ رسید. از طرفی مقایسه روند تغییرات درصد کاهش هگزادکان ظرف مدت آزمایش (5 روز) نشان می دهد که میزان این پارامتر در تاریکی کاهش یافته و در نورهای 2000 و 5000 لوکس نیز همین روند را از خود نشان می دهد.

بر اساس نتایج آنالیز آماری در روز سوم، تمام تیمارها با هم اختلاف معنی داری را نشان دادند. جدول 4-40 آنالیز واریانس درصد کاهش هگزادکان را نشان می دهد.

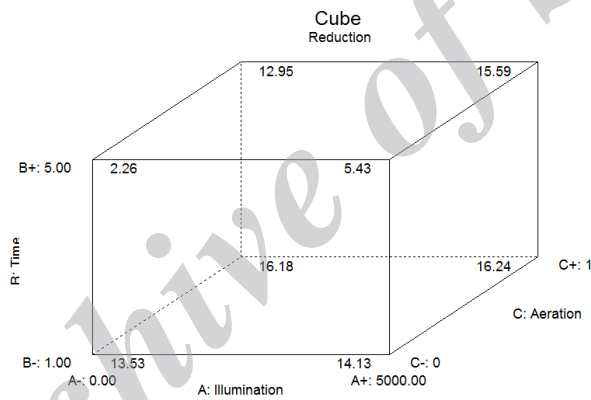
جدول 4-40- آنالیز واریانس درصد کاهش هگزادکان در شرایط بدون هوادهی

نوع تیمار	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
نور	2	1/206	0/603	26/32	0/001

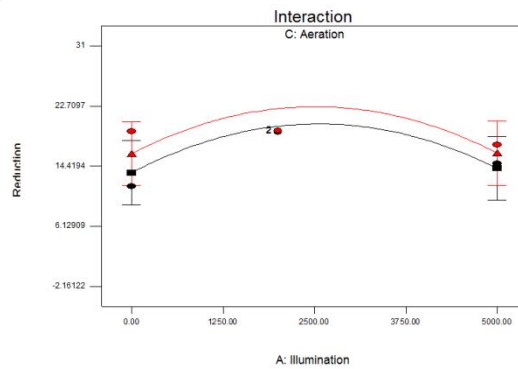

 شکل 4-145- تصویر سه بعدی تغییرات درصد کاهش هگزادکان در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* بدون هوادهی



شکل 4-146- کانتور تغییرات کاهش میزان هگزادکان در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* بدون هوادهی

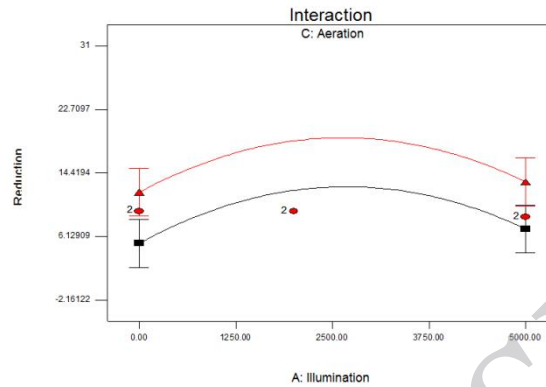


شکل 4-147- تغییرات کاهش میزان هگزادکان در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* نسبت به سه متغیر زمان، نور و هوادهی



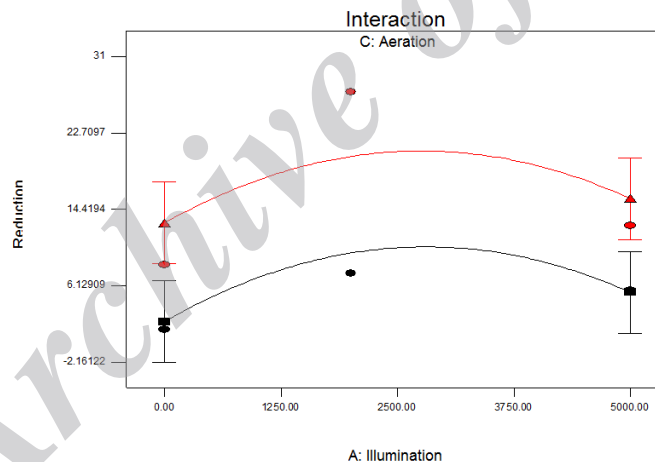
شکل 4-148- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان کاهش هگزادکان در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در روز اول

(خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)



شکل 4-149- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان کاهش هگزادکان در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در روز سوم

(خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)



شکل 4-150- برهم کنش فاکتورهای هوادهی و نور بر میزان کاهش هگزادکان در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در روز پنجم

(خط مشکی، شرایط بدون هوادهی را نشان می‌دهد)

آنچه که در منحنی کوپیک و برهم‌کنش‌ها (اشکال 4-147 تا 4-150) مشاهده می‌گردد، این است که نور اثر افزایشی جزئی بر روی درصد کاهش هگزادکان داشته است. همچنین شواهد حاکی از اثرگذاری مثبت هوادهی بر روند کاهش آلاینده هگزادکان در سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* دارد. البته نکته دیگر این است که این توانمندی با گذشت زمان کاهش پیدا کرده است.

- آنالیز واریانس چند عاملی برای بررسی تاثیرگذاری متغیرهای نور، هوادهی و زمان بر تجزیه هگزادکان

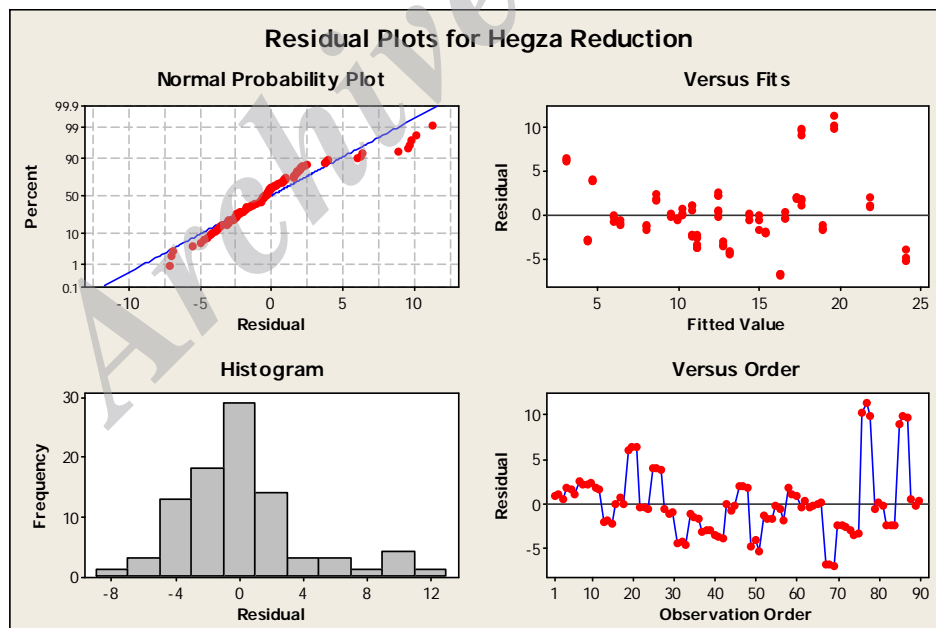
ANOVA: Hegza Reduction versus Air, Time, Light

Factor	Type	Levels	Values
Air	fixed	2	0, 1
Time	fixed	5	1, 2, 3, 4, 5
Light	fixed	3	0, 2000, 5000

Analysis of Variance for Hegza Reduction

Source	DF	SS	MS	F	P
Air	1	928.40	928.40	59.94	0.000
Time	4	703.11	175.78	11.35	0.000
Light	2	759.28	379.64	24.51	0.000
Error	82	1270.01	15.49		
Total	89	3660.80			

S = 3.93547 R-Sq = 65.31% R-Sq(adj) = 62.35%



با توجه به مقدار P برای هوادهی و نور و زمان که کمتر از 0.05 می‌باشد. هوادهی و نور و زمان تاثیر معناداری بر کاهش هگزادکان دارند.

• رابطه کمی بین تجزیه هگزادکان و نور، هوادهی و زمان

The regression equation is

$$\text{Hex Reduction} = 17.5 - 2.82 \text{ Time} + 2.01 \text{ Time*Air}$$

Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	17.460	2.343	7.45	0.000
Air	0.634	2.773	0.23	0.820
Time	-2.8193	0.6824	-4.13	0.000
Light	-0.0001723	0.0006602	-0.26	0.795
Time*Air	2.0126	0.7525	2.67	0.009
Time*Light	0.0001289	0.0001831	0.70	0.483
Air*Light	-0.0001064	0.0005179	-0.21	0.838

4-4- تعیین شرایط بهینه با استفاده از تحلیل پوششی داده‌ها

در این قسمت با استفاده از داده‌های آزمایش شرایط بهینه برای نفتالین و هگزادکان در شرایط هوادهی و عدم هوادهی با استفاده از مدل تحلیل پوششی داده‌ها¹⁷ (DEA) تعیین خواهد شد. برای حل مدل‌های DEA از نرم‌افزار GAMS استفاده شده است.

4-4-1- تحلیل پوششی داده‌ها

¹⁷ Data Envelopment Analysis (DEA)

در سال 1957 اقتصاددانی به نام فارل¹⁸ برای اولین بار روش‌های غیرپارامتری را برای بررسی عملکرد واحدهای تصمیم‌گیرنده پایه‌گذاری نمود. حدود بیست سال بعد، در سال 1978 چانز و کوپر و رودز¹⁹ با استفاده از برنامه‌ریزی ریاضی، روش ناپارامتری فارل را به حالت چند ورودی-چند خروجی توسعه دادند که به مدل CCR معروف شده است. پس از آن بنکر و چارنز و کوپر²⁰ در سال 1984 مدل BCC را ارائه دادند. این روش‌ها اساس روش‌های غیرپارامتری قرار گرفتند و تحت عنوان تحلیل پوششی داده‌ها نامگذاری شدند. این مدل‌ها به سرعت توسعه پیدا کردند و تاکنون مقالات بسیار زیادی در این زمینه به چاپ رسیده‌اند که هدف عمده آنها محاسبه کارایی نسبی²¹ واحدهای تصمیم‌گیرنده با ورودی‌ها و خروجی‌های چندگانه می‌باشد. لازم به ذکر است که مدل CCR حالت بازده به مقیاس ثابت و مدل BCC بازده به مقیاس متغیر می‌باشد.

فرض کنید k تعداد واحدهای مورد ارزیابی با تعداد m خروجی $Y_i = (y_{1i}, y_{2i}, y_{3i}, \dots, y_{mi})$ ، $i = 1, 2, 3, \dots, k$ و n ورودی $X_j = (x_{1j}, x_{2j}, x_{3j}, \dots, x_{nj})$ ، $j = 1, 2, 3, \dots, k$ باشد. طبق مدل CCR برای ارزیابی واحد o -ام داریم:

$$\begin{aligned} \max \quad & \sum_{r=1}^m u_r y_{rj_o} \\ \text{s.t.} \quad & \sum_{i=1}^n v_i x_{ij_o} = 1 \\ & \sum_{r=1}^m u_r y_{rj} - \sum_{i=1}^n v_i x_{ij} \leq 0, \quad j = 1, \dots, k \\ & u_r, v_i \geq 0 \end{aligned} \quad (1)$$

در مدل فوق $U = (u_1, u_2, \dots, u_m)$ و $V = (v_1, v_2, \dots, v_n)$ به ترتیب وزن (اهمیت) ورودی‌ها و خروجی‌ها می‌باشد. بعد از حل مدل فوق چنانچه مقدار تابع هدف برابر یک باشد، واحد o -ام کارا و در غیر این صورت (کمتر از یک) ناکار خواهد بود. لازم به ذکر است که در مدل فوق مقادیر ورودی‌ها و خروجی‌ها دقیق می‌باشند.

روش DEA به طور گسترده در تعیین امتیاز کارایی واحدهای مشابه بکار رفته است. از دلایل محبوبیت این مدل می‌توان به بررسی روابط پیچیده و اغلب نامعلوم بین چندین ورودی و خروجی اشاره نمود. همچنین این روش محدودیت تعداد معیارهای ارزیابی و تعداد واحدهای تصمیم‌گیری را مانند روش‌های دیگر ندارد. به عنوان مثال در روش AHP وقتی تعداد معیارها و یا گزینه‌های تصمیم‌گیری زیاد شود نرخ ناسازگاری این روش از حد معمول بیشتر خواهد شد. از

¹⁸ Farell

¹⁹ Charnes, Cooper and Rhodes

²⁰ Banker, Charnes and Cooper

²¹ Ratio Efficiency

مهمترین کاربردهای مدل DEA می‌توان به مسئله انتخاب تامین‌کننده در زنجیره تامین، ارزیابی عملکرد شعب بانک، تعیین کارایی موسسه‌های آموزشی، حل مسئله طراحی چیدمان کارخانه، و تعیین کارایی پروژه‌ها برای سرمایه‌گذاری اشاره نمود.

برای استفاده از این مدل برای داده‌های فوق دو معیار نوردهی و هوادهی به عنوان معیارهای ورودی و شاخص‌های OD، Chl، DW، PBP و کاهش نفتالین و هگزادکان به عنوان معیارهای خروجی در نظر گرفته شدند. در این روش برای رتبه‌بندی واحدهای کارا از روش سوپر کارایی²² استفاده می‌شود. در این روش شدت نور صفر معادل 10، شدت نور 2000 برابر 30 و شدت نور 5000 برابر 60 در نظر گرفته شده است.

2-4-4- بهترین شرایط نوردهی برای نفتالین با شرایط هوادهی

داده‌ها بعد از مرتب‌سازی به صورت زیر می‌باشند، امتیاز کارایی در ستون آخر آورده شده است.

Efficiency	Naphthalene reduction	PBP	Chl	DW	OD	Light
۰.۹۱	۱۷.۷	۴.۵	۲.۰	۲.۷	۰.۶	۰
۱	۲۲.۴	۶.۴	۲.۲	۳.۲	۰.۷	۲۰۰۰
۰.۳۸	۲۸.۸	۱۰.۷	۲.۴	۳.۵	۰.۸	۵۰۰۰

با توجه به نمرات کارایی بدست آمده در شرایط هوادهی، نور 2000 بهترین حالت می‌باشد.

3-4-4- بهترین شرایط نوردهی برای نفتالین بدون شرایط هوادهی

داده‌ها بعد از مرتب‌سازی به صورت زیر می‌باشند، امتیاز کارایی در ستون آخر آورده شده است.

Efficiency	Naphthalene reduction	PBP	Chl	DW	OD	Light
۱	۱۵.۶	۸.۶	۲.۳	۵.۶	۱.۵	۰
۰.۶	۱۸.۱	۱۶.۱	۲.۵	۵.۵	۱.۵	۲۰۰۰

²² Super Efficiency

۵۰۰۰ ۱.۴ ۵.۵ ۲.۲ ۱۸.۲ ۲۲.۴ ۰.۳۳

با توجه به نمرات کارایی بدست آمده در شرایط بدون هوادهی، شدت نور صفر بهترین حالت می باشد.

4-4-4- بهترین شرایط نوردهی برای هگزادکان با شرایط بدون هوادهی

داده‌ها بعد از مرتب‌سازی به صورت زیر می‌باشند، امتیاز کارایی در ستون آخر آورده شده است.

Efficiency	Naphthalene reduction	PBP	Chl	DW	OD	Light
۰.۸۹	۷.۷	۴۷.۶	۳.۷	۵.۶	۱.۴۸	۰
۱	۱۱.۶	۸۹.۴	۴.۱	۵.۷	۱.۵۰	۲۰۰۰
۰.۲۵	۹.۲	۷۲.۳	۳.۸	۵.۸	۱.۵۳	۵۰۰۰

با توجه به نمرات کارایی بدست آمده در شرایط بدون هوادهی، شدت نور 2000 بهترین حالت می باشد.

(د) بهترین شرایط نوردهی برای هگزادکان با شرایط هوادهی:

داده‌ها بعد از مرتب‌سازی به صورت زیر می‌باشند، امتیاز کارایی در ستون آخر آورده شده است.

Efficiency	Naphthalene reduction	PBP	Chl	DW	OD	Light
۰.۹۴	۱۲.۱	۲۱.۱	۲.۳	۳.۳	۰.۸	۰
۱	۲۱.۸	۵۴.۱	۲.۵	۵.۴	۱.۴	۲۰۰۰
۰.۳۵	۱۳.۸	۴۶.۵	۲.۲	۴.۰	۱.۰	۵۰۰۰

با توجه به نمرات کارایی بدست آمده در شرایط هوادهی، شدت نور 2000 بهترین حالت می باشد.

4-4-5- بهترین شرایط همزمان نوردهی و هوادی برای نفتالین

داده‌ها بعد از مرتب‌سازی به صورت زیر می‌باشند، امتیاز کارایی و رتبه‌بندی در ستون‌های آخر آورده شده است.

Rank	Efficiency	Naphthalene reduction	PBP	Chl	DW	OD	Light	Air
۴	۱.۱۱	۱۷.۷	۴.۵	۲.۰	۲.۷	۰.۶	۰	۱۰
۵	۰.۴۵	۲۲.۴	۶.۴	۲.۲	۳.۲	۰.۷	۲۰۰۰	۱۰
۶	۰.۲۹	۲۸.۸	۱۰.۷	۲.۴	۳.۵	۰.۸	۵۰۰۰	۱۰
۲	۱.۲۹	۱۵.۶	۸.۶	۲.۳	۵.۶	۱.۵	۰	۱



۱	۲.۹۵	۱۸.۱	۱۶.۱	۲.۵	۵.۵	۱.۵	۲۰۰۰	۱
۳	۱.۲	۲۲.۴	۱۸.۲	۲.۲	۵.۵	۱.۴	۵۰۰۰	۱

با توجه به نمرات کارایی بدست آمده، شدت نور 2000 و عدم هوادهی بهترین شرایط برای نفتالین می باشد.

6-4-4- تعیین بهترین شرایط همزمان نوردهی و هوادی برای هگزادکان

داده‌ها بعد از مرتب‌سازی به صورت زیر می‌باشند، امتیاز کارایی و رتبه‌بندی در ستون‌های آخر آورده شده است.

Rank	Efficiency	Naphthalene reduction	PBP	Chl	DW	OD	Light	Air
۳	۱.۵	۱۲.۱	۲۱.۱	۲.۳	۳.۳	۰.۸	۱۰	۱۰
۵	۰.۷۶	۲۱.۸	۵۴.۱	۲.۵	۵.۴	۱.۴	۳۰	۱۰
۶	۰.۲۴	۱۳.۸	۴۶.۵	۲.۲	۴.۰	۱.۰	۶۰	۱۰
۲	۱.۸۸	۷.۷	۴۷.۶	۳.۷	۸.۶	۱.۴۱	۱۰	۱

فصل پنجم



نتیجه گیری

Archive of SID

5- نتیجه گیری

در سال‌های اخیر رویکرد پژوهش‌های کاربردی سمت و سوی زیست‌محیطی به خود گرفته و امنیت و سلامت اهمیت بسزایی پیدا کرده است. یکی از این معضلات، موضوع آلاینده‌های نفتی (اعم از نفت خام و مشتقات آن) و نیز تاثیرات منفی آن بر محیط زیست است. در همین راستا پژوهش‌های مختلفی در این حوزه در حال انجام است که یکی از ابعاد آن بررسی بیورمدیشن و استفاده از میکروارگانیسم‌ها از جمله ریزجلبک‌ها در این فرایند طبیعی است. تحقیق حاضر به منظور بررسی توانمندی سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* Gomont 1892 در تجزیه زیستی دو آلاینده نفتی نفتالن و هگزاکان و تاثیر دو فاکتور محیطی نور و هوادهی بر این توانمندی تجزیه و نیز پاسخ‌های فیزیولوژیک این سیانوباکتری به شرایط محیطی صورت گرفت. به عبارتی سعی شده است که تاثیر دو فاکتور نور و هوا بر توانمندی تجزیه زیستی توسط سیانوباکتری مورد آزمایش مورد بررسی و تحلیل قرار گرفته و رابطه کمی بین آنها تعیین گردد.

5-1- اثرات فیزیولوژیک آلاینده‌ها بر فیزیولوژی سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*

نخستین نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* توانمندی استفاده از ترکیبات هیدروکربنی نفت را دارد. بعبارتی این سیانوباکتری جزو ریزجلبک‌هایی است که می‌تواند استراتژی غذایی خود را از زندگی اتوتروفی به هتروتروفی تغییر دهد. این ویژگی است، که تنها، در برخی از جلبک‌ها وجود دارد (سلطانی و غفاری، 1391). این توانمندی علاوه بر تحقیقات بین‌المللی، در برخی ریزجلبک‌های بومی ایران نیز به اثبات رسیده است (عباس پناه و همکاران، 1390؛ بابایی و همکاران، 1390؛ Amirlatifi و همکاران، 2013؛ غفاری و همکاران، 1392؛ ایرانشاهی و همکاران، 1392؛ فروغی‌نیا و همکاران، 1392).

در این پژوهش پارامترهای OD و DW به عنوان شاخص‌هایی از بیومس مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهند که رشد تحت تیمار نفتالن در طول زمان کاهش پیدا می‌کند. از طرفی رشد در حضور هگزادکان باعث افزایش رشد نسبت به شاهد شده است. این مسئله به آن دلیل می‌باشد در نمونه شاهد هیچ منبع کربنی برای رشد وجود ندارد ولی در تیمار هگزادکان سیانوباکتری کربن مورد نیاز برای فتوسنتز خود را از محل این هیدورکربن آلی بدست می‌آورد. به عبارتی سیانوباکتری در فقدان کربن معدنی، در استراتژی غذایی خود تغییر داده و از زندگی فتوتروفی به زندگی هتروتروفی تغییر رویه می‌دهد (سلطانی و غفاری، 1391). زمان تاثیر منفی بر روی رشد سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* در حضور نفتالن داشته است. نگاه به نتایج حاکی از آن است که نفتالن بدلیل ترکیب کوچک‌تری که دارد سمی است. بنابراین آنچه که در منحنی‌های رشد ملاحظه می‌گردد، کاهش رشد در طول زمان می‌باشد. بررسی‌های آماری نیز نشان می‌دهد که زمان اثر معنی‌دار منفی بر رشد سیانوباکتری مورد آزمایش در حضور نفتالن دارد. این نتایج با یافته‌های عباس پناه و همکاران (1390) مطابقت دارد. در آزمایشات ایشان، رشد سیانوباکتری تحت تاثیر نفتالن قرار گرفته است به طوری که در غلظت‌های 0/05% و 0/2% با این که روند رشد افزایشی است، اما این افزایش در مقایسه با شاهد کمتر است. در واقع می‌توان گفت که *Leptolyngbya sp. ISC 25* در این دو غلظت به ویژه در غلظت 0/05% می‌تواند 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 sp. ISC 25* به شدت تحت تاثیر قرار گرفته و کاهش می‌یابد به طوری که در غلظت‌های بالای 0/6% در نهایت سیانوباکتری از بین می‌رود. اثر سمیت ترکیبات آروماتیک از جمله نفتالن بر روی رشد سیانوباکتری‌ها در مطالعات قبلی نیز به اثبات رسیده است (Gaur & Singh, 1990; Satheesh Kumar, 1978; Soto et al., 2009; Kusk, 1978).

Satheesh Kumar و همکارانش (2009) سیانوباکتری *Phormidium* را تحت تیمار غلظت‌های مختلف نفتالن قرار دادند. در این بررسی نتایج نشان داد که این سیانوباکتری در غلظت 0/05% نفتالن به خوبی رشد می‌کند. در حالی که در غلظت‌های بالاتر رنگیزه‌های خود را از دست می‌دهد و بعد از چند روز می‌میرد.

همچنین Qingxia Kong و همکارانش در سال 2010 تحقیق دیگری انجام دادند. در این بررسی نیز با افزایش غلظت نفتالن SGR کاهش پیدا می‌کند تا این‌که از غلظت 50 mgL^{-1} بالاتر این مقدار منفی می‌شود. باید اذعان داشت این نتایج در مورد ترکیبات آروماتیک، به ویژه نفتالن صدق می‌کند. تخریب سیستم غشایی نیز یکی دیگر از عوامل دخیل در این اثر منفی است (Gaur & Singh, 1990). در واقع نفتالن به عنوان یک عامل تنش عمل کرده است. در این بررسی با افزایش غلظت نفتالن، SGR (Specific growth rate) کاهش پیدا کرد تا این‌که از غلظت 50 mgL^{-1} به بالا این مقدار منفی گردید (Qingxia et al., 2010). از دلایلی که برای کاهش یافتن جذب نوری و به دنبال آن رشد در موارد تنش برشمرده می‌شود شکل‌گیری گونه‌های فعال اکسیژن است. تمام تنش‌های محیطی منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان می‌شود. تولید گونه‌های فعال اکسیژن موجب تنش اکسیداتیو می‌شود. سپس تعادل بین گونه‌های اکسیژن فعال و فعالیت تجزیه‌کنندگی آنتی‌اکسیدان‌ها مختل می‌شود، این پدیده‌ای است که نتیجه آن نابودی اکسیداتیو است. در میان 4 گونه فعال اکسیژن (رادیکال سوپراکسید، هیدروژن پراکسید، رادیکال هیدروکسیل و Singlet Oxygen) هیدروژن پراکسید و رادیکال هیدروکسیل فعال‌ترین و سمی‌ترین هستند (Lambers, 2008). در شرایط طبیعی غلظت رادیکال‌های اکسیژن پائین می‌ماند که این به دلیل فعالیت آنزیم‌های محافظت‌کننده مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز است (Asada, 1984). ولی تحت شرایط تنش که توسط آلودگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی ایجاد می‌شود این تعادل از بین می‌رود که این موجب تقویت فرآیندهای مضر می‌شود

(Kumar et al., 2009). اثر سمی ترکیبات آروماتیک دیگر از جمله نفتالن بر روی رشد سیانوباکتری‌ها و جلبک‌ها در

مطالعات قبلی نیز به اثبات رسیده است (Kumar et al., 2009, Kusk, 1978).

در خصوص هگزادکان تاثیر این آلاینده بر رشد سیانوباکتری متفاوت است. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* می‌تواند از هگزادکان به عنوان منبع کربن استفاده کرده و این آلاینده اثر سمیت زیادی مانند نفتالن بر روی سیانوباکتری نمی‌گذارد. این نتایج با یافته‌های غفاری و همکاران (1392) و سایرین هماهنگی دارد. غفاری و همکارانش نشان دادند که افزودن هگزادکان در مقایسه با شاهد فاقد کربن سبب افزایش رشد *Schizothrix vaginata* و *spongiaeforme Nostoc* شده است. همچنین Al-Hasan و همکارانش در سال 1994 با بررسی اثر n-آلکان‌ها بر سیانوباکتری *Phormidium corium* نشان دادند که این سیانوباکتری تحت تیمار این مواد رشد خوبی داشته به طوری که در غلظت 0/5 % n-nanodecane رشد بهتری نسبت به نمونه کنترل دارد. یافته‌های Abed (2010) در سویه *Synechocystis* نیز نتایج مشابهی بدست داده است.

نتایج حاصل از تاثیر آلاینده نفتالن بر روی این پارامترها نشان می‌دهد که نور اثر معنی دار مثبت بر روی رشد سیانوباکتری مورد آزمایش دارد. ولی هوادهی موجب کاهش رشد نسبت به شرایط بدون هوادهی می‌گردد. اثر نور و هوادهی در تیمار نفتالن و هگزادکان مشابه می‌باشد. تاثیر مثبت نور به دلیل نقش آن در برانگیختگی مولکول‌های کلروفیل و تولید انرژی برای براه افتادن جریان انرژی در زنجیره انتقال الکترون در غشاهای تیلاکوئید می‌باشد (Tiez & Zeiger, 2010). از طرف دیگر نور در واکنش‌های تاریکی هم نقش دارد. اگرچه اسم این مرحله از اسیمیلاسیون کربن در سلول، واکنش‌های تاریکی است، ولی واقعیت این است که تعدادی از آنزیم‌های شرکت کننده در این مرحله نیاز به نور برای فعالیت خود دارند. بنابراین شاید این نام بدرستی انتخاب نشده باشد (Lambers et al., 2008). اثر منفی

هوادهی بر رشد را شاید بتوان به تسریع عمل اکسیداسیون توسط اکسیژن مازاد در هوادهی نسبت داد. زیرا هر دو آلاینده دارای خاصیت اتواکسیداسیون می‌باشند.

تحلیل ریاضی بر روی نتایج حاصل از پژوهش حاضر، معادلات (1) و (2) را برای رابطه کمی بین OD و DW با نور، هوادهی و زمان، تحت تیمار نفتالن و معادلات (3) و (4) را تحت تیمار هگزادکان بدست داده است:

$$(1) \quad OD = 1.53 - 0.354 \text{ Air} - 0.175 \text{ Time} * \text{Air} + 0.000051 \text{ Air} * \text{Light}$$

$$(2) \quad DW = 5.78 - 1.12 \text{ Air} - 0.552 \text{ Time} * \text{Air} + 0.000160 \text{ Air} * \text{Light}$$

$$(3) \quad OD = 1.69 - 0.977 \text{ Air} - 0.0690 \text{ Time} + 0.156 \text{ Time} * \text{Air}$$

$$(4) \quad DW = 6.28 - 3.09 \text{ Air} - 0.218 \text{ Time} + 0.491 \text{ Time} * \text{Air}$$

نتایج بررسی تاثیر آلاینده‌های نفتالن و هگزادکان بر روی کلروفیل در *Schizothrix vaginata* در تحقیق حاضر حکایت از این دارد که این رنگیزه در حضور هگزادکان و نفتالن کاهش پیدا می‌کند. این نتایج با یافته‌های غفاری و همکاران (1392) و نیز عباس پناه و همکاران (1390) مطابقت دارد. بر اساس نتایج غفاری و همکاران از سنجش محتوای کلروفیل تحت تیمار هیدروکربن‌های نفتی، میزان این رنگیزه فتوسنتزی در پی افزودن 1% هیدروکربن‌های نفتی در جلبک *Chlorella vulgaris* و سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* کاهش یافته است. کاهش در محتوای کلروفیل می‌تواند به دلیل مهار بیوسنتز کلروفیل باشد که با مهار آلفا آمینولولونیک اسید دهیدروژناز و پروتوکلروفیلید ردوکتاز ایجاد شده باشد (Ouzounldou, 1995). تحقیقات نشان داده‌است که آلاینده‌های محیطی شامل ترکیبات آلی از قبیل بنزن و تولوئن می‌توانند در غلظت‌های بالا سبب غیرفعال شدن فرایندهای حیاتی از قبیل جذب نیترات و فتوسنتز

شده و باعث کاهش مقدار کلروفیل در سیانوباکتری‌هایی از قبیل *Anabaena cylindrica* *Nostoc muscorum* و همچنین *Spirulina plantensis*، *Synechococcus* sp. (Sundaram & Soumya, 2011, Kabli, 1998). هم‌پناه و همکاران نشان دادند که با افزایش غلظت نفتالن محتوای کلروفیل کاهش می‌یابد. محتوای کلروفیل نمونه کنترل بیشترین مقدار است ولی نزدیک به نمونه تحت تیمار 0/05 % می‌باشد. اما با افزایش غلظت نفتالن این مقدار به شکل مشخصی کاهش می‌یابد به طوری که در غلظت 1% نفتالن به صفر نزدیک شده است. این نتایج مؤید مطالعات Satheesh Kumar و همکارانش در بررسی اثر نفتالن و آنتراسن بر محتوای کلروفیل می‌باشد. در حالی که مطالعات Al-Hasan و همکارانش نشان داد که محتوای کلروفیل نسبت به کاروتنوئید تحت تیمار n-آلکان‌ها تغییر چندانی با نمونه کنترل نداشت که نشان‌دهنده این است که ممکن است سیانوباکتری‌ها تحت تنش کاروتن بیشتری نسبت به کلروفیل جمع کنند. (Ben-Amotz et al., 1982; Al-Hasan et al., 1987).

تحلیل ریاضی بر روی نتایج حاصل از پژوهش حاضر، معادلات (5) و (6) را بترتیب برای رابطه کمی بین کلروفیل با نور، هوادهی و زمان تحت تیمار نفتالن و هگزادکان بدست داده است.

$$(5) \quad \text{Chl} = 3.35 - 0.692 \text{ Air} - 0.323 \text{ Time} + 0.114 \text{ Time} * \text{Air} + 0.000096 \text{ Air} * \text{Light}$$

$$(6) \quad \text{Chl} = 4.62 - 2.23 \text{ Air} - 0.255 \text{ Time} + 0.243 \text{ Time} * \text{Air}$$

در نتیجه تحقیق حاضر تاثیر آلاینده‌های مورد استفاده بر مقدار رنگزهی فیکوبیلی پروتئین نیز مورد سنجش قرار گرفت. در سیانوباکتری‌ها، فیکوبیلی پروتئین‌ها که به سطح استرومایی غشای تیلاکوئیدی متصل‌اند، به عنوان گیرنده‌های اولیه نوری برای فتوسیستم II (PSII) عمل می‌کنند. انتقال انرژی به وسیله این پیگمان‌های اضافی از فیکواریترین (در صورت وجود) به فیکوسیانین، سپس به آلفیکوسیانین و در نهایت به گیرنده‌های نور با طول‌موج بالا صورت می‌پذیرد (Soltani et al., 2006). ساختار و عملکرد فیکوبیلی پروتئین‌ها در سیانوباکتری‌ها در پاسخ به تنش تغییر می‌کند

(Sundaran & Soumya, 2011). در حالی که تمام سیانوباکتری‌ها فتواتوتروف هستند، بسیاری از آن‌ها می‌توانند از اجزای DOC (کربن آلی محلول) برای رشد هتروتروفی و یا میکسوتروفی در نور استفاده نمایند (Al-Hasan et al., 2001). نتایج نشان می‌دهند به دنبال تیمار هگزادکان میزان فیکوبیلی پروتئین نسبت به شاهد افزایش پیدا کرده است، ولی در حضور نفتالن این روند حالت کاهشی از خود نشان می‌دهد. نتایج مشابهی از گزارش غفاری و همکاران بدست آمده است. همچنین Soumya & Sundaram (2011) نشان دادند که آلاینده‌های محیطی شامل ترکیبات هیدروکربنی آلی نظیر تولوئن و بزن بر رنگیزه‌هایی مانند کلروفیل، فیکوبیلی پروتئین و کاروتنوئیدها اثرات سوء و مضر دارند. اما در مطالعات Al-Hasan و همکاران در سال 1994، میزان فیکوبیلی پروتئین در سیانوباکتری *Phormidium* تحت تیمار n -آلکان‌ها نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت. علت این امر، افزایش اندازه فیکوبیلی‌زوم در پاسخ به شرایط تنشی می‌باشد. در این سیانوباکتری فیکواریترین وجود ندارد و بخش اصلی ساختار فیکوبیلی پروتئین، فیکوسیانیین می‌باشد. احتمالاً علت این پدیده این باشد 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. مقادیر فیکوسیانیین نیز مانند فیکوبیلی پروتئین کل تغییر می‌کند. از آن‌جا که آلفوفیکوسیانیین یک جزء از مرکز فیکوبیلی‌زوم‌هاست، و مرکز ثابت باقی می‌ماند، تغییر در مقدار آلفوفیکوسیانیین تغییری را در تعداد فیکوبیلی‌زوم‌ها به وجود می‌آورد.

تحلیل ریاضی بر روی نتایج حاصل از پژوهش حاضر، معادلات (7) و (8) را بترتیب برای رابطه کمی بین فیکوبیلی پروتئین‌ها با نور، هوادهی و زمان تحت تیمار نفتالن و هگزادکان بدست داده است.

$$(7) \quad \text{BPB} = 21.3 - 13.4 \text{ Air} - 3.75 \text{ Time} + 0.00206 \text{ Light} + 2.55 \text{ Time} * \text{Air} - 0.000572 \text{ Air} * \text{Light}$$

$$(8) \quad \text{BPB} = 30.0 + 10.1 \text{ Time} - 9.48 \text{ Time} * \text{Air}$$

5-2- بررسی توانمندی تجزیه زیستی آلاینده‌ها توسط سیانوباکتری *Schizothrix vaginata*

در تحقیق پیش رو به بررسی تجزیه زیستی دو آلاینده مشخص نفتالن از ترکیبات آروماتیک و نیز هگزادکان از ترکیبات آلیفاتیک پرداخته شد. نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می‌دهد که سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* این توان را دارد که هر دوی ترکیبات نفتالن و هگزادکان را تجزیه نمایند. توانمندی تجزیه زیستی آلاینده‌های نفتی و نیز نفت خام توسط تحقیقات متعدد بین‌المللی و نیز داخلی به اثبات رسیده است. ابتدا اشاره‌ای به تحقیقات داخلی که با استفاده از ریزجلبک‌های بومی صورت گرفته است و سابقه زمانی کوتاهی نیز دارد اشاره می‌کنیم. غفاری و همکاران (1392) اثر سه آلاینده هگزادکان، تولوئن و نفت خام را بر ریزجلبک‌های *Chlorella sp.*, *Schizothrix sp.*, *Nostoc sp.* مورد بررسی قرار دادند که نشان دادند که این ریزجلبک‌ها هر سه قادر به استفاده از آلاینده‌های نفتی مورد آزمایش بوده‌اند. همچنین عباس‌پناه و همکاران (1390) مطالعه‌ای بر روی اثر نفتالن بر پاسخ‌های فیزیولوژیک سیانوباکتری *Leptolyngbya sp.* و نیز توانمندی این ریزجلبک در تجزیه زیستی نفتالن انجام دادند. نتایج این محققان نشان می‌دهد این سیانوباکتری می‌تواند غلظت‌های 0/2 و به ویژه 0/05 % نفتالن را تحمل کند. نتایج حاصل از GC/MS در آزمایشات عباس‌پناه و همکاران نشان داد که ماده اصلی حاصل از اکسیداسیون نفتالن توسط این سیانوباکتری 2(4H)-tetrahydro-trimethyl Benzofuranone می‌باشد. سایر مواد شناسایی شده توسط GC/MS به عنوان واسطه‌های حاصل از اکسیداسیون نفتالن هستند (Xiao-Wen Zhang et al., 2004). Amirlatifi و همکاران (2013) به تحقیقی در زمینه مورد بحث انجام داده و نشان دادند که سیانوباکتری‌های مورد آزمایش در این تحقیق از جمله *Micricheate tenera* می‌توانند نفت خام را تجزیه نموده و مورد استفاده قرار دهند. در تحقیقی دیگر ایرانشاهی و همکاران (1392) بر روی پتانسیل چند سیانوباکتری در تجزیه زیستی نفت خام مطالعه کردند. ایشان همچنین تاثیر شوری را بر این فرایند

مورد بررسی قرار دادند. صفری و همکاران (1392) نیز آزمایشات مشابهی را با سیانوباکتری‌های *Fischerella sp.* و *Synechococcus sp.* انجام داده و توانمندی تغییر استراتژی غذایی در این سیانوباکتری‌ها را نشان دادند.

در سطح بین‌المللی، نتایج مشابهی از بررسی توانایی تجزیه آلودگی‌های هیدروکربنی توسط سیانوباکتری‌ها نیز به دست آمده است. اولین بررسی‌ها بر روی تجزیه‌زیستی نفتالن توسط *Cerniglia* و همکارانش در سال‌های 1979 و 1980 بر روی سیانوباکتری‌های *Oscillatoria sp.* و *Agmenellum quadruplicatum* تحت شرایط رشد فتواتوتروفیک صورت گرفت. آن‌ها به طور آزمایشی مواد سیس-1 و 2-دی هیدروکسی-1 و 2-دی هیدرونفتالن و همچنین 4-هیدروکسی-1-ترالون را به عنوان مواد اولیه حاصل از تجزیه‌زیستی نفتالن شناسایی کردند. آن‌ها نتیجه گرفتند که احتمالاً سیانوباکتری‌ها دارای هر دو سیستم مونواکسیژناز و دی اکسیژناز در مرحله اول تجزیه نفتالن هستند. بررسی‌ها بر روی *Oscillatoria sp.* که توسط *Cerniglia* و همکاران در سال 1980 صورت گرفت، نشان داد که $^{18}\text{O}_2$ الحاق شده به 1- نفتول نتیجه اکسیداسیون نفتالن می‌باشد.

Narro و همکاران در سال 1992 نشان دادند که *Oscillatoria sp.* نفتالن را به نفتالن-1 و 2-اکسید (که متناوباً با یک حدواسط کتو ایزومر می‌شود) تبدیل می‌کند.

Cerniglia و همکاران در سال 1980 9 سیانوباکتری و 9 ریز جلبک را بررسی کردند. نتایج نشان داد که اکسیداسیون نفتالن به طور گسترده در میان میکروارگانیزم‌های فتوسنتز کننده صورت می‌گیرد.

Satheesh kumar و همکاران در سال 2009 قابلیت تجزیه نفتالن و آنتراسن توسط سیانوباکتری *Phormidium tenue* را بررسی کردند. نتایج حاصل از بررسی‌های آن‌ها نشان داد که نفتالن توسط این سیانوباکتری اکسید شده و همچنین آنتراسن تحت سیستم آنزیمی دی‌اکسیژناز تجزیه شده است. *Ibraheem* (2010) پژوهشی در جهت مقایسه تجزیه اجزای آلیفاتیک نفتی بین سه سیانوباکتری *Anabaena sp.*، *Nostoc sp.*، *Phormidium sp.* انجام داد، نتایج

نشان داد که در طول 60 روز از افزودن نفت خام به محیط کشت سیانوباکتری‌ها، این سیانوباکتری‌ها به ترتیب 11% و 13% از آلکان‌ها را تجزیه نموده‌اند. Megharaj و همکاران (2013) به تجزیه و تحلیل سیانوباکتری‌ها به‌عنوان عوامل بیولوژیکی موثر در تجزیه آلودگی‌های آلی پرداختند. آن‌ها بیان داشتند از آنجایی‌که سیانوباکتری‌ها قادر به زندگی میکسوتروفی، هتروتروفی و اتوتروفی هستند لذا با استفاده از ترکیبات آلی نفتی به‌عنوان منبع کربن می‌توانند مبین زندگی اتوتروفی خود باشند و تحت شرایط هتروتروفی با دیگر میکروارگانیسم‌ها توانایی برگشت دادن کربن به‌صورت دی‌اکسیدکربن به اتمسفر را دارند که این امر گویای توانمندی آن‌ها جهت میکسوتروف بودن می‌باشد. بنابراین سیانوباکتری‌ها پتانسیل قوی بیولوژیک در حذف و تجزیه زیستی ترکیبات آلی طبیعی و مصنوعی محسوب می‌شوند. El-Sheekh (2013) توانایی دو جلبک سبز *Scenedesmus obliquus* و *Chlorella vulgaris* در تجزیه غلظت‌های مختلف نفت خام و میزان رشد این دو جلبک در حضور این ترکیب را مورد ارزیابی قرار داد. نتایج نشان داد بیشترین میزان تجزیه توسط این دو جلبک در حضور 0/5% و 1% نفت خام بوده است.

تحلیل ریاضی بر روی نتایج حاصل از پژوهش حاضر، معادلات (9) و (10) را بترتیب برای رابطه کمی بین تجزیه زیستی نفتالن و هگزادکان با نور، هوادهی و زمان بدست داده است.

$$(9) \quad \text{Napht Reduction} = 22.4 + 10.9 \text{ Air} - 2.28 \text{ Time} - 2.87 \text{ Time} * \text{Air}$$

$$(10) \quad \text{Hex Reduction} = 17.5 - 2.82 \text{ Time} + 2.01 \text{ Time} * \text{Air}$$

فصل ششم

پیشنهادات

6- پیشنهادات:

- 1- انجام طرح در شرایط بهینه حاصل از این طرح در خاک
- 2- انجام تحقیقات مشابه با آلاینده‌های دیگر
- 3- انجام تحقیقات مشابه با ریزجلبک‌های دیگر
- 4- بررسی‌های مولکولی در راستای همین تحقیق
- 5- انجام تحقیق بر روی کنسرسیوم جلبکی جهت افزایش راندمان

فصل هفتم

منابع

- ایران‌شاهی، ش.، نژادستاری، ط.، سلطانی، ن.، شکروی، ش.، دزفولیان، م. (1392) رساله دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران.
- بابایی، ث. سلطانی، ن. و نجفی، ف. (1390) بررسی اثرات نفت خام بر رشد، فتوسنتز و فعالیت آنزیم نیتروژناز در سیانوباکتری *Anabaena sp.* پایان‌نامه کارشناسی ارشد زیست‌شناسی. دانشکده علوم. دانشگاه تربیت معلم تهران.
- زندى، ف.، حسینی، ر.، سلطانی، ن.، حداد، ر.، النجار، ن. (1392) نشان ویژه سازی مقایسه ای فیزیولوژیکی میکروفلور سیانوباکتریایی مناطق آلوده و غیرآلوده نفتی. نشریه علوم دانشگاه خوارزمی.
- سلطانی، ن.، بافته‌چی، ل.، شکروی، ش. (1387) بررسی روش‌های زیست محیطی، بهبود کیفیت و تصفیه ترکیبات نفتی با استفاده از ریزجلبکها. جهاددانشگاهی.
- سلطانی، ن.، بافته‌چی، ل.، شکروی، ش. (1387) تاثیر هیدروکربن‌های نفتی بر میزان بقا و رنگیزه‌های سیانوباکتری جدا شده از آبادان، فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی، شماره (1): 29-35.
- سلطانی، ن.، غفاری، ر. (1391) بیولوژی و فیزیولوژی جلبک‌ها. انتشارات جهاددانشگاهی شهید بهشتی.
- شکروی، ش. سلطانی، ن. و بافته‌چی، ل. (1381) تدوین تکنولوژی استفاده از سیانوباکتری‌ها به عنوان کود بیولوژیک در شالیزارها، شورای عالی تحقیقات نهاد ریاست جمهوری (طرح ملی) مجری پژوهشکده علوم پایه کاربردی، جهاد دانشگاهی، دانشگاه شهید بهشتی.
- شکروی، ش. و ساطعی، آ. (1384) نشان ویژه‌سازی مورفولوژیک سیانوباکتری به منظور تلقیح در شالیزار، گزارش طرح پژوهشی دانشگاه آزاداسلامی واحد گرگان.
- صفری، م.، احمدی اسبچین، س.، سلطانی، ن.، بهرامی، ع. م. (1392) بررسی اثرات ضد میکروبی و تجزیه زیستی نفت خام توسط سیانوباکتری‌ها. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه ایلام.
- عباس‌پناه، ب. سلطانی، ن. و نجفی، ف. (1390) بررسی رشد، محتوای رنگیزه‌ای، فتوسنتز و برون‌ریزش آمونیوم در سیانوباکتری *Leptolyngbya ISC25*. پایان‌نامه کارشناسی ارشد زیست‌شناسی. دانشکده علوم. دانشگاه تربیت معلم تهران.
- عباس‌پناه، ب.، نجفی، ف.، سلطانی، ن.، خاوری نژاد، ر. (1390) اثر نفتالن بر فیکوبیلی پروتئین‌ها، همگون‌سازی کربن و نیتروژن در سیانوباکتری *Leptolyngbya sp. ISC 25*. مجله علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی. تهران.

غفاری، ر.، سلطانی، ن.، مظاهری اسدی، م. (1392) پتانسیل کاهش آلودگی نفت خام توسط جلبک سبز *Chlorella vulgaris* و پاسخ های فیزیولوژیک ناشی از آن. مجله بوم شناسی آبزیان، 4(2): 12-18.

فرامرزی، م. فروتن فر، ح. و شکیبایی، م. (1389) بیوتکنولوژی ریزجلبک ها. انتشارات دانشگاه علوم پزشکی تهران. ص 398.

فروغی نیا، ف.، دزفولیان، م.، شکروی، ش.، هرزندی، ن.، سلطانی، ن. (1392) بررسی اثرات تجزیه زیستی پنج گونه از سیانوباکتری های جدا شده از مناطق آلوده نفتی جنوب کشور بر نفت خام ایران، مجله بوم شناسی آبزیان. 3(1): 20-28.

Abed, R.M.M. (2010). Interaction between cyanobacteria and aerobic heterotrophic bacteria in the degradation of hydrocarbons. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 64: 58-64.

Abed, R.M.M., Dobretsov, S., Sudesh, K. (2008). Application of Cyanobacteria in Biotechnology. *Journal of Applied Microbiology*. 106: 1-12.

Abed, R.M.M., Safi, N.M.D., koster, J., de Beer, D., El- Nahhal, Y., rullkotter, J., Garcia-Pichel, F. (2002). Microbial diversity of a heavily polluted microbial mat and its community changes following degradation of petroleum compounds. *Applied and Environmental Microbiology*. 68 (4): 1674-1683.

Aboulmagd, E., Oppermann-Sanio, F.B., Steinbuchel, A. (2000). Molecular characterization of the cyanophycin synthetase from *Synechocystis* sp. strain PCC6308. *Archives for Microbiology*. 174:297-306.

Adams, D.G. (2000). Heterocyst development in cyanobacteria. *Current Opinion in Microbiology*. 3:618-24.

Al-Hasan, R.H., Ghannoum, M.A., Sallal, A.k., Abu-Elteen, K.H., Radwan, S.S. (1987). Correlative changes of growth, pigmentation and lipid composition of *Dunaliella salina* in response to halo-stress. *Journal of General Microbiology*. 133: 2607-2616.

Al-Hasan, R.H., Khanafer, M., Eliyas, M., Radwan, S.S. (2001). Hydrocarbon accumulation by picocyanobacteria from the Arabian Gulf. *Journal of Applied Microbiology*. 91: 533-540.

Al-Hassan, R.H., Sorkhoh, N.A., Al-Bader, D., Radwan, S.S. (1994). Utilization of hydrocarbons by cyanobacteria from microbial mats on oily coasts of the Gulf. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 41: 615-619.

Allen, M.M. (1984). Cyanobacterial cell inclusions. *Annual Review of Microbiology*. 38:1-25.

Amirlatifi, F., Soltani, N., Saadatmand, S., Shokravi, Sh., Dezfulian, M. (2013) Crude Oil-induced morphological and physiological responses in cyanobacterium *Microchaete tenera* ISC13. *International Journal of Environmental Research*. 7 (4): 1007-1014.

Amunts, A., and Nelson, N., (2009). Plant photosystem I design in the light of evolution. *Structure*. 17: 637-650.

Andersen, R.A. (2005). *Algal culturing techniques*. Elsevier Academic Press.

Arulazhagan, P., Vasudevan, N., Yeom, I.T. (2010). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon by a halotolerant bacterial consortium isolated from marine environment. *International Journal Environmental Science Technology*. 7(4):639-652.

Asada, K. (۱۹۸۴). Chloroplasts Formation of Active oxygen and its Scavenging. *Methods of Enzymology*. ۱۰۵: ۴۲۲-۴۲۹.

Atlas, R.M. (1995). *Petroleum Biodegradation and Oil Spill Bioremediation*. *Marine Pollution Bulletin*. 31:178-182.

Babaei, S., Najafi, F., Soltani, N., Khavari-Nejad, RA., Abbaspanah, B. (2013) Physiological responses of *Anabaena* sp. ISC55 to crude oil and potential for biodegradation. *International Journal on Algae*, 15(3): 264-273.



Banker, R.D., Charnes, A., Cooper, W.W., (۱۹۸۴). Some models for estimating technical and scale inefficiency in data envelopment analysis. *Management Science*, ۳, ۱۰۷۸-۱۰۹۲.

Barsanti, L. and Gualtieri, P. (2006). *Algae anatomy, biochemistry and biotechnology*. CRC Press.

Becker E.W. (1994). *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press.

Ben-Amotz Kamath, R., Rentz, J.A., Schnoo, R.J.L. & Alvarez, P.J.J. (۲۰۰۴). Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soils: principles and applications. Department of Civil and Environmental Engineering, Seamans Center, University of Iowa, Iowa City, Iowa U.S.A.-۰۲۲۴۲.

Ben-Amotz, A., Katz, A., Arvon, M. (1982). Accumulation of β -carotene in halotolerant algae: purification and characterization of β -carotene-rich globules from *Dunaliella bardawil* (chlorophyceae). *Journal of Phycology*. 18: 529-537. 93: 73-85.

Bold, H.C. and Wynne, M.J. (1978). *Introduction to the algae structure and reproduction*. Englewood Cliffs, NJ, Prentice-Hall, Inc.

Brasier, M.D., Green, O.R., Jephcoat, A.P. (2002). Questioning the evidence for Earth's oldest fossils. *Nature*. 416:76-81.

Bryant, D.A. (1994). *The molecular biology of cyanobacteria*. Kluwer academic publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Carrera-Martinez, D., Mateos-Sanz, A., Lopez-Rodas, V., Costas, E. (2010). Microalgae response to petroleum spill: An experimental model analyzing physiological and genetic response of *Dunaliellatertiolecta* (Chlorophyceae) to oil samples from the tanker Prestige. *Aquatic Toxicology*. 97:151-159.

Castenholz, R.W. and Waterbury, J.B. (1989). Cyanobacteria. In: *Bergey's Manual of systematic bacteriology*. Vol.3. (eds.) J.A. Staley, M.P. Bryant, N. Pfennig and J.G. Holt. Williams and Wilkins. Baltimore, pp. 1710-1727.



Cerniglia, C.E. and Gibson, D.T. (1977). Metabolism of naphthalene by *Cunninghamella elegans*. Applied and Environmental Microbiology. 34: 363-370.

Cerniglia, C.E., van Baalen, C., Gibson, D.T. (1980). Metabolism of naphthalene by the cyanobacterium *Oscillatoria* sp., strain JCM. Journal of General Microbiology. 116: 485-494.

Charnes, A., W.W. Cooper and E. Rhodes., (۱۹۷۸). Measuring the efficiency of Decision Making Units. European Journal of Operation Research, ۲, ۴۲۹-۴۴۴.

Dalton, R. (2002). Microfossils: squaring up over ancient life. Nature. 417:782-84.

Das, N. and Chandran, P. (2011). Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: An overview. Biotechnology Research International.

De Oliveira^{al}, C. A., De Castro Oliveira^a, W., Machado Rocha Ribeiro^b, S., Stringhetac, P.S., Galvão do Nascimento^a, A. (2014). Effect of light intensity on production of pigments in *Nostoc* SPP. European Journal of Biology and Medical Science.2 (1), 23-36.

Dobakova, M., Tichy, M., Komenda, J. (2007). Role of the PsbI protein in photosystem II assembly and repair in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. Plant Physiology. 145: 1681-1691.

El-Mohsnawy, E., Kopczak, M.J., Schlodder, E., Nowaczyk, M., Meyer, H.E., Warscheid, B. (2010). Structure and function of intact photosystem I monomers from the cyanobacterium *Thermosynechococcus elongatus*. Biochemistry. 49: 4740-4751.

El-Sheekh, M.M., Ghareib, M.M., El-Souod, G.W.A. (2012). Biodegradation of phenolic and polycyclic aromatic compounds by some algae and cyanobacteria. Journal Bioremediation and Biodegradation. 3(133).

El-Sheekh, M.M., Hamouda, R.A. & Nizam, A.A. (۲۰۱۳). Biodegradation of crude oil by *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris* growing under heterotrophic conditions. International Biodeterioration & Biodegradation. ۸۲: ۶۷-۷۲.

- El-Sheekh, M.M., Hamouda, R.A., Nizam, A.A. (2013). Biodegradation of crude oil by *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris* growing under heterotrophic conditions. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 82: 67-72.
- El-Shehawy, R.M., and Kleiner, D. (2003). Effect of controlled expression of hetR gene on heterocyst formation in the filamentous cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC 7120. *Physiologia Plantarum*. 119:44-8.
- Enami, I., Okumura, A., Nagao, R., Suzuki, T., Iwai, M., Shen, J.R. (2008). Structures and functions of the extrinsic proteins of photosystem II from different species. *Photosynthesis Research*. 98: 349-363.
- Ferreira, K.N., Iverson, T.M., Maghlaoui, K., Barber, J., Iwata, S. (2004). Architecture of the photosynthetic oxygen-evolving center. *Science*. 303: 1831-1838.
- Ferris, M.J., and Hirsch, C.F. (1991). Methods for Isolation and Purification of Cyanobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 57: 1448-1452.
- Fromme, P., Jordan, P., Krauss, N. (2001). Structure of photosystem I. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1507: 5-31.
- Gamila, H., Ibrahim, M.B.M., Abd El-Ghafar, H.H. (2003). The Role of Cyanobacteria Isolated Strains in the Biodegradation of Crude Oil. *International Journal of Environmental Studies*. 60: 435-444.
- Gaur, J.P. & Singh, A.K. (۱۹۹۰). Growth, Photosynthesis and Nitrogen Fixation of *Anabaena doliolum* Exposed to Assam Crude Extract. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*. ۴۴: ۴۹۴-۵۰۰.
- Grotjohann, I., and Fromme, P. (2005). Structure of cyanobacterial photosystem I. *Photosynthesis Research*. 85(1): 51-72.

- Guskov, A., Gabdulkhakov, A., Broser, M., Glockner, C., Hellmich, J., Kern, J. et al., (2010). Recent progress in the crystallographic studies of photosystem II. *Chemphyschem*. 11: 1160-1171.
- Guskov, A., Kern, J., Gabdulkhakov, A., Broser, M., Zouni, A., Saenger, W. (2009). Cyanobacterial photosystem II at 2.9-Å resolution and the role of quinones, lipids, channels and chloride. *Nature Structural and Molecular Biology*. 16: 334-342.
- Haritash, A.K. and Kaushik, C.P. (2009). Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). *Journal of Hazardous Materials*. 169:1-15.
- Herdman, M., Janvier, M., Rippka, R., Stanier, R.Y. (1979). Genome size of cyanobacteria. *Journal of Genetic. Microbiology*. 111:73-85.
- Hoff, R.Z. (1993). Bioremediation: an Overview of its development and use for oil spill cleanup. *Marine Pollution Bulletin*. 2:476-481.
- Hoiczky, E. and Baumeister, W. (1995). Envelope structure of four gliding filamentous cyanobacteria. *Journal of Bacteriology*. 177:2387-95.
- Ibrahim, I.B.M., Gamila, H.A. (2004). Algal bioassay for evaluating the role of algae in bioremediation of crude oil: I-Isolated strains. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 73:971-978.
- Jacobson, S.N., and Alexander, M. (1981) Enhancement of the microbial dehalogenation of a model chlorinated compound. *Applied and Environmental Microbiology*. 42, 1062-1066.
- Jinqi, I., and Houtian, O. (1992) Degradation of azo dyes by algae. *Environmental Pollution*. 75,73-278.

- Jordan, P., Fromme, P., Witt, H.T., Klukas, O., Saenger, W., Krauss, N. (2001). Three-dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5 Å resolutions. *Nature*. 411: 909-917.
- Kabli, S.A. (۱۹۹۸). Effect of crude oil and naphthalene on the evolution of oxygen by three species of marine algae. *Meteorology, Environment and Arid Land Agriculture Sciences*. ۹: ۱۳۷-۱۴۴.
- Kamath, R., Rentz, J.A., Schnoo, R.J.L., Alvarez, P.J.J. (2004). Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soils: principles and applications. Department of Civil and Environmental Engineering, Seamans Center, University of Iowa, Iowa City, Iowa U.S.A.-52242.
- Kaushik, B. D. (1987). Laboratory methods for blue –green algae. Associated Publishing Company.
- Komenda, J., Nickelsen, J., Tichy, M., Prasil, O., Eichacker, L.A., Nixon, P.J. (2008). The cyanobacterial homologue of HCF136/YCF48 is a component of an early photosystem II assembly complex and is important for both the efficient assembly and repair of photosystem II in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Journal of Biological Chemistry*. 283: 22390-22399.
- Komenda, J., Reisinger, V., Muller, B.C., Dobakova, M., Granvogl, B., Eichacker, L.A., (2004). Accumulation of the D2 protein is a key regulatory step for assembly of the photosystem II reaction center complex in *Synechocystis* PCC 6803. *Journal of Biological Chemistry*. 279: 48620-48629.
- Kumar, S., Muralitharan, G., Thajuddin, N. (2009). Screening of hypersaline cyanobacterium, *Phormidium tenue*, for the degradation of aromatic hydrocarbons: naphthalene and anthracene. *Biotechnology Letters*. 150: 1997-2008.
- Kurusu, G., Zhang, H., Smith, J.L., Cramer, W.A. (2003). Structure of the cytochrome b6f complex of oxygenic photosynthesis: tuning the cavity. *Science*. 302: 1009-1014.



Kusk, K.O. (۱۹۷۸). Effect of crude oil and aromatic hydrocarbons on photosynthesis of diatom *Nitzschia palea*. *Physiology of Plants*. ۴۳: ۱۹۶.

Lambers, H., Chapin, F. S., Pons, T. L. (2008) *Plant Physiological Ecology*. Springer.

Lee, R-E. (2008). *Phycology*. Cambridge University Press. 2: 33-74.

Leganes, F., Sanches Maeso, E., Fernández-Valiente, E. (1987). Effect of Indolacetic acid on Growth and Dinitrogen Fixation in Cyanobacteria. *Plant Cell Physiology*. 28: 529-533.

Liu, L.N., Chen, X.L., Zhang, Y.Z., Zhou, B.C. (2005). Characterization, structure and function of linker polypeptides in phycobilisomes of cyanobacteria and red algae: An overview. *Biochemical et Biophysica Acta-Bioenergetics*. 1708: 133-142.

Loll, B., Kern, J., Saenger, W., Zouni, A., Biesiadka, J. (2005). Towards complete cofactor arrangement in the 3.0 Å resolution structure of photosystem II. *Nature*. 438:1040-1044

Luther, M. (1990). Degradation of different substituted aromatic compounds as nutrient sources by the green alga *Scenedesmus obliquus*. *Dechema Biotechnology. Conf.* 4, 613-615.

Luther, M., and Shaaban, M.M. (1990). Abbau von 1, 5-Naphthalindisulfonsäure (1, 5-NDS) durch eine Algen-Bakterien-Mischkultur. *Forum Microbiology*. 1(2), 42.

Margulis, L., Corliss, J.O., Melkonian, M. and Chapman, D.J. (Eds.). (1990). *Handbook of Protoctista*. Boston, Jones and Bartlett Publishers.

Marker, A.F.H. (1972). The Use of Acetone and Methanol in the Estimation of Chlorophyll in the Presence of Phaeophytin. *Freshwater biology*. 2: 361-385.

McGenity, T.J., Folwell, B.D., McKew, B.A., Sanni, G.O. (2012). Marine crude-oil biodegradation: a central role for interspecies interactions. *Aquatic Biosystems*. 8 (10).



Meeks, J.C. (1998). Symbiosis between nitrogen-fixing cyanobacteria and plants. *Bioscience*. 48:266-76.

Meeks, J.C. and Elhai, J. (2002). Regulation of cellular differentiation in filamentous cyanobacteria in free living and plant-associated symbiotic growth states. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 66:94-121.

Megharaj, M., Ramakrishnan, B., Subashchandrabose, S.R., Venkateswarlu, K., Naidu, R. (2013). Mixotrophic cyanobacteria and microalgae as distinctive biological agents for organic pollutant degradation. *Environment International*. 51:59-72.

Mosaed, H.P., Aidakani, S.S., Cheraghi, M. (2013). Assessment bioremediation of contaminated soils to petroleum compounds and role of chemical fertilizers in the decomposition process. *Journal of chemical health risks*. 3(1):47-54.

Mullineaux, C.W., (2008). Phycobilisome-reaction centre interaction in cyanobacteria. *Photosynthesis Research*. 95: 175-182.

Narro, M.L., Cernigilia, C.E., Baalen, C.V., Gibson, D.T. (1992). Evidence for an NIF shift in oxidation of naphthalene by the marine cyanobacterium *Agmenellum quadruplicatum* PR-6. *Applied and Environmental Microbiology*. 58 (4): 1360-1363.

Nixon, P.J., Michoux, F., Yu, J.F., Boehm, M., Komenda, J. (2010). Recent advances in understanding the assembly and repair of photosystem. *Annals of Botany*. 106: 1-16.

Nobles, D.R., Romanovicz, D.K., Brown, R.M. (2001). Cellulose in cyanobacteria. Origin of plant cellulose synthase. *Plant Physiology*. 127:529-42.

Okoh, A.I., Trejo-Hernandez, M.R. (2006). Remediation of Petroleum Hydrocarbon Polluted Systems: Exploiting the Bioremediation. *African Journal of Biotechnology*. 5(25): 2520-2525.

Otero, A., and Vincenzini, M. (2004). *Nostoc* (Cyanophyceae) goes nude: extracellular polysaccharides serve as a sink for reducing power under unbalanced C/N metabolism. *Journal of Phycology*. 40:74-81.

Ouzounidou, G. (۱۹۹۵): Cu-ions mediated changes in growth, chlorophyll and other ion content in a Cu-tolerant *Koeleria splendens*. *Biologia Plantarum*. ۳۷: ۷۱-۷۸.

Pacheo, M., and Santo, M.A. (2002). Naphthalene and β -naphthoflavone effect on *Anguilla Anguilla* L. hepatic metabolism and erythrocytic nuclear abnormalities. *International Environmental*. 28:285-293.

Palenik, B., and Haselkorn, R. (1992). Multiple evolutionary origins of prochlorophytes, the chlorophyll b-containing prokaryotes. *Nature*. 355:265-7.

Qingxia, K., Lizhong, Z. & Xueyou Sh. (۲۰۱۰). Effect of nutrient conditions on the toxicity of naphthalene to *Chlorella pyrenoidosa*. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*. ۲۳(۲): ۳۰۷-۳۱۴.

Raghukumar, C., Viparty, V., David, J.J. (2001). Degradation of crude oil by marine cyanobacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 57 (3): 433-436.

Rappaport, F., and Diner, B.A. (2008). Primary photochemistry and energetics leading to the oxidation of the (Mn) 4Ca cluster and to the evolution of molecular oxygen in Photosystem II. *Coordination Chemistry Reviews*. 252: 259-272.

Roose, J.L., Kashino, Y., Pakrasi, H.B. (2007). The PsbQ protein defines cyanobacterial Photosystem II complexes with highest activity and stability. *Proceeding of the National Academy Science*. USA. 104: 2548-2553.

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

Semple, K.T. (1994). Ph.D. Thesis, The University of Newcastle, Newcastle upon Tyne. Walker, J.D. Colwell, R.R. and Petrakis, L. (1975) Degradation of petroleum by an alga, *Prototheca zopfi*. *Applied Microbiology*. 30, 79-81.

Semple, K.T., Cain, R.B., Schmidt, S. (1990). Biodegradation of aromatic compounds by microalgae. *FEMS microbiology letters*. 170:291-300.

Sharme, O.P. (1986). Text book of algae. Mc. Graw-Hill publishers, Co. Ltd. New Dehi.

Sherman, D.M., Tucker, D. and Sherman, L.A. (2000). Heterocyst development and localization of cyanophycin in N₂-fixing cultures of *Anabaena* sp. PCC 7120 (Cyanobacteria). *Journal of Phycology*, 36:932-41.

Singh, N.K., Parmar, A., Sonani, R.R., Madamwar, D. (2012). Isolation, identification and characterization of novel thermotolerant *Oscillatoria* sp. N9DM: Change in pigmentation profile in response to temperature, *Process Biochemistry*.

Soltani, N., Baftechi, L., Dezfulian, M., Shokravi, Sh., Alnajjar, N. (2012) Molecular and Morphological Characterization of Oil Polluted Microalgae. *International Journal of Environmental Research*, 6(2): 481-492.

Soltani, N., Khavari-Nejad R.A., Tabatabaei, M., Shokravi, S., Fernández-Valiente, E. (۲۰۰۶). Variation of nitrogenase activity, photosynthesis and pigmentation of cyanobacterium *Fischerella ambigua* strain FS¹ under different irradiance and pH values. *Journal of Applied Biotechnology*. ۲۲: ۵۷۱-۵۷۶.

Sorkhoh, N., Al-Hassan, R., Radwan, S., Hopner, T. (1992). Self-cleaning of the Gulf. *Nature* (London). 395: 109.

Sorkhoh, N.A., Al-Hasan, R.H., khanafer, M., Radwan, S.S. (1995). Establishment of oil-degrading bacteria associated with cyanobacteria in oil – polluted soil. *Journal of Applied Bacteriology*. 78 (2):194-199.



Soto, C., Hellebust, J.A. & Hutchinson, T.C. (۱۹۷۴). Effect of naphthalene and aqueous crude oil extracts on the green flagellate *Chlamydomonas angulosa*. II, Photosynthesis and the uptake and release of naphthalene. Canadian Journal of Botany. ۵۳: ۱۱۸-۱۲۶.

South, G.R., and Whittick, A. (1987). Introduction to Phycology. Oxford, Blackwell.

Sozer, O., Gombos, Z., Kis, M. (2011). Carotenoids assist in assembly and functions of photosynthetic complexes in cyanobacteria. Ph.D. Thesis. University of Szeged. Biological research centre. Hungarian academy of Sciences Szeged.

Subashchandrabose, S.R., Ramakrishnan B., Megharaj, M., Venkateswarlu, K., Naidu, R. (2013). Mixotrophic cyanobacteria and microalgae as distinctive biological agents for organic pollutant degradation. Environment International. 51:59-72.

Subashchandrabose, S.R., Ramakrishnan, B., Megharaj, M., Venkateswarlu, K., Naidu, R. (2011). Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria: biotechnological potential. Biotechnology Advances. 29:896-907.

Sun, L., Wang, Sh., Zhao, M., Fu, X., Gong, X., Chen, M., Wang, L. (2009). Handbook on cyanobacteria: biochemistry, biotechnology and applications, phycobilisomes from cyanobacteria. Nova Science Publishers, Inc. 3:105-161.

Sundaram, S. & Soumya, K.K. (۲۰۱۱). Study of Physiological Alterations in Cyanobacterium under Organic Stress. American Journal of Plant Physiology. ۶(۱): ۱-۱۶.

Taiz, L. and Zeiger, E. (2010). Plant Physiology. Sunderland, Massachusetts. Sinauer Associates

Van den Hoek, C., Mann, D.G., Jahns, H.M. (1995). Algae an introduction to phycology. Cambridge U.K., Cambridge University Press.

Vijaya, V., and Anand, N. (2009). Blue light enhance the pigment synthesis in cyanobacterium *Anabaena ambigua* Rao(Nstocales). Journal of agricultural and biological science.4 (3)36-43.



Whitton, A.B., and Potts, M. (2000). The ecology of cyanophyta, their diversity in time and space. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 233-255.

Whitton, G. (2000). Ecology of cyanobacteria. First edition, Cambridge University Press.

Wyman, M. And Fay, P. (1986) Underwater light climate and the growth and pigmentation of planktonic blue-green algae (cyanobacteria). I. The influence of light quantity. Proc. R. Soc. Lond. 227: 367-380.

Xiao-Wen Zhang, Kus Hidajata, Sibudjing Kawia, Liya, Yua, E. & Simon, K.Y. Ngb. (۲۰۰۴): Naphthalene oxidation over ۱% Pt and ۵% Co/c-Al₂O₃ catalysts: reaction intermediates and possible pathways. Catalysis Lett. ۹۶:۸۷-۹۶.

ضمائم



Archive of SID

Abstarct:

In recent years, applied researches has an environmental approach and healthy and safty is very important. Petroleum pollutant (including crude oil and its derivatives) and negative effects of that on environment is one of the problems. With this respect, current research was done to evaluate the effect of light and aeration on the potential of cyanobacterium *Schizothrix vaginata* in biodegradation of oil pollutant. In this way, after gaining axenic culture, experimented cyanobacterium was treated with naphthalene 0.05% and hexadecane 1% under different aeration and light (0, 2000 and 5000 lux) culture condition. When the alga was in logarithmic phase of growth, OD, DW, chlorophyll, phycobiliprotein and biodegradation ability was eavaluated. OD, Chl and phycobiliprotein were calculated spectrophotometrically and DW with gravimetric methods. Naphtalene and hexadecane was measured with GC. Results of the effect of experimented factors on indicated that light without aeration increased the biodegradation of hexadecane and naphthalene 4 and 8% respectively. But light plus aeration increased this ability 22 and 28%. Growth and pigmentation in both treatments increased with light and decreased with aeration. According to the result light and aeriatiion have positive effect on biodegradation of naphthalene and hexadecane.

Key words: Biodegradation, Growth, Hexadecane, Naphtalene, Pigment, *Schizothrix*.



Research Institute of Applied Science

Final report:

The effect of light and aeration on growth and the potential of biodegradation of oil pollutant by microalgae and analysis its mathematical model

Code: ۲۱۵۹-۱۱

Research group:

Dep. Of Petroleum Microbiology

Principal Investigator:

Neda Soltani (PhD)

Dec ۲۰۱۴