

## بررسی اثر سمیت سلولی عصاره الکلی جلبک chara جمع آوری شده از سواحل شهرستان نوشهر بر روی رده‌ی سلول‌های Hela با روش MTT

ساره رضایی<sup>۱\*</sup>، عباسعلی دهپور جویباری<sup>۲</sup>، شیوا شهریارراد<sup>۳</sup>، مانا حسنی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهی دانشگاه پیام نور تهران

۲- استادیار دانشگاه آزاد قائمشهر، دانشکده علوم گروه زیست‌شناسی

۳- کارشناسی ارشد سلولی ملکولی میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر

[sarhrezae@yahoo.com](mailto:sarhrezae@yahoo.com)

### چکیده :

جلبک‌های دریایی یکی از منابع طبیعی با طیف گسترده از متابولیت‌های ثانویه جدید می‌باشند که خواص سمیت سلولی دارند. در این میان، برخی گونه‌های گیاهی و جلبک‌ها دارای موادی هستند که از طریق آپوپتوز و یا نکروز، موجب مهار یا از بین بردن سلول‌های سرطانی می‌گردند. هدف از این تحقیق، بررسی اثر ضد سرطانی جلبک بر روی رده سلول سرطانی *Hela* می‌باشد. سلول‌های سرطانی سرویکس مورد استفاده در این تحقیق، از بخش تومور بانک انستیتو پاستور ایران تهیه شد، بعد از کشت سلول‌های سرطانی در محیط آزمایشگاه غلظت‌های ۰/۲۲۳، ۰/۳۳۱، ۰/۳۱۲، ۰/۱۸۹، ۰/۱۳۵، ۰ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌ی جلبک بر روی رده سلول‌های سرطان تاثیر داده شد. بعد از ۷۲ ساعت، مرگ و میر سلول‌ها، با روش MTT مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های این مطالعه، نشان می‌دهد که اتانولی جلبک *chara* بر روی رده‌های سرطانی *Hela*، دارای سمیت سلولی در اکثر غلظت‌ها می‌باشد و بالاترین اثرات مهار آن، در غلظت‌های ۰/۱۳۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. درصد مهارکنندگی در غلظت‌های بالاتر مانند ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر، برابر ۲۸/۹۸، بیشترین درصد مهارکنندگی رشد در غلظت ۱۰ mg/ml می‌باشد، که دارای اثرات کشندگی در حد ۲۸/۹۸٪ می‌باشد. با توجه به این که عصاره‌ی جلبک *chara* دارای خاصیت سمیت سلولی در رده‌ی سلول‌های سرطانی سرویکس (*Hela*) می‌باشد، با انجام مطالعات بیشتر بر روی مدل‌های حیوانی و پس از آن مطالعات کارآزمایی بالینی می‌تواند به عنوان یک ماده در درمان سرطان مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: *Hela chara*، سمیت سلولی، عصاره اتانولی

### مقدمه

امروزه سرطان از جمله شایع‌ترین بیماری‌ها و یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در جهان می‌باشد (Parkin, 2008). روش‌های درمانی مرسوم نیز، اکثراً شیمیایی و فیزیکی بوده که خود عوارض جانبی سوئی بر سایر اندام‌ها و بافت‌های مختلف بدن دارد. لذا، امروزه بسیاری از مراکز تحقیقاتی دنیا برای پیشگیری یا درمان انواع مختلف سرطان، به دنبال یافتن یک روش ایمن‌تر و کارآمدتر از طریق استفاده از گیاهان دارویی بر آمده‌اند. استفاده از گیاهان دارویی و جلبک‌های دریایی امروزه در درمان سرطان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد به طوری که امروزه موادی با منشأ گیاهی و جلبک از جمله تاکسول و وین‌بلاستین و وین‌کرسستین در درمان سرطان دارای کاربرد وسیع می‌باشد. جلبک‌ها نیز همانند گیاهان دارای مواد دارویی بسیار ویژه‌ای می‌باشد به طوری که عصاره‌های مختلف جلبک‌ها نیز دارای اثرات دارویی از جمله اثرات ضد سرطانی و ضدباکتریایی، آنتی‌اکسیدانتی و... می‌باشد. بر طبق آخرین تحقیقات پزشکی انجام شده، اثرات ضدسرطانی گونه‌های دیگر این جلبک، در مجلات معتبر علمی-پژوهشی به چاپ رسیده است. در این مطالعه سمیت سلولی عصاره‌ی جلبک با روش MTT، بر روی رده‌ی سلول‌های *Hela* بررسی شده‌است. از آنجایی که هنوز درمان قطعی و بدون عوارض برای انواع مختلف سرطان وجود ندارد و اینکه این اثرات سمیت سلولی آورند در برخی از گونه‌های گیاهی و جلبکی به اثبات رسیده است، فقط در مورد برخی از گونه‌های این جلبک گزارش شده‌است، لذا بررسی و مطالعه‌ی اثرات ضدسرطانی

گونه‌ی جلبک دارای اهمیت پزشکی و اکولوژیک خاصی می‌باشد که در صورت مشاهده و تایید این اثرات، امکان تهیه‌ی داروهای گیاهی به‌صورت بالقوه وجود دارد. این مطالعه با هدف بررسی اثر ضدسرطانی جلبک *chara* بر روی رده‌ی سلولی بافت سرویکس (*Hela*) انجام گرفته‌است.

## مواد و روش‌ها

### سلول‌های *Hela*

سلول‌های مورد استفاده در این تحقیق که از سلول‌های کارسینومای سرویکس می‌باشد، از بخش بانک سلولی انستیتو پاستور ایران به صورت فلاسک خریداری شده‌است.

### نحوه ذوب کردن و استحصال سلولی از نمونه‌های منجمد سلولی (Rios, 2009)

(۱) ۱۵ میلی‌لیتر از محیط RPMI ۱۶۴۰ حاوی ۱۰٪ FCS (۱۰۰ mg/ml) پنی سلین و ۱۰۰ mg/ml استرپتومایسین را در یک فلاسک کشت، برای مدت ۲ ساعت در یک انکوباتور CO<sub>2</sub> دار قرار داده تا به حالت تعادل به محیط برسد.

(۲) تحت شرایط ایمنی (استفاده از دستکش عایق و عینکی) ویال منجمد سلولی را از تانک ذخیره ازت خارج می‌کنیم.

(۳) به منظور اجتناب از انفجار احتمالی ویال (به علت ورود احتمالی ازت مایع به داخل ویال)، در آن را، بعد از ضدعفونی کردن سطح خارجی ویال با الکل ۷۰ درصد در زیر هود شل می‌کنیم تا ازت خارج شود.

(۴) مجدداً، در ویال را بسته و فوراً آن را در بن‌ماری ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد ذوب می‌کنیم. فرایند ذوب شدن بایستی حدوداً ظرف ۱ دقیقه تمام و از حرارت بیش از حد به سلول‌ها اجتناب شود.

(۵) قطره قطره محیط را به ویال می‌افزاییم و سپس محتویات آن را خارج و همراه با محیط در لوله‌های آزمایش استریل ۱۵ سی‌سی، سانتریفیوژ می‌کنیم. پس از سانتریفیوژ، محیط رویی را خارج می‌کنیم و دوباره، سلول‌ها را به صورت تعلیق در محیط در می‌آوریم و به فلاسک از پیش آماده حاوی محیط و FBS منتقل و انکوبه می‌کنیم.

### جمع‌آوری جلبک و عصاره‌گیری

جلبک *chara* از ساحل شهرستان نوشهر واقع در استان مازندران، تهیه و جمع‌آوری شده و پس از شناسایی شست‌وشو با آب جاری و آب‌کشی با آب مقطر، در سایه خشک شده و پودر آن، برای تهیه عصاره اتانولی مورد استفاده قرار گرفت. برای عصاره‌گیری، ابتدا جلبک مورد نظر را به صورت پودر در می‌آوریم و به منظور حل شدن ماده‌ی حل‌شونده، به همراه حلال (اتانول) و تحریک مکرر، در یک ظرف در بسته، برای یک دوره‌ی حداقل سه روزه در دمای اتاق نگهداری می‌کنیم. پس از حاصل شدن مخلوط کدر، مواد جامد مرطوب پرس شده و مایعات ترکیب شده، به وسیله‌ی فیلتراسیون و یا ظرف به ظرف کردن جدا می‌شود. آنگاه، حلال اتانول با استفاده از روتاری و با روش تقطیر در خلاء خارج می‌گردد. این عصاره، به عنوان عصاره‌ی خالص در نظر گرفته شده و بر این اساس، غلظت‌های مختلف از آن تهیه می‌شود.

## تهیه رقت های مختلف از عصاره جلبک

عصاره‌ی جلبک مورد نظر توسط ترازوی حساس دیجیتال وزن و آنگاه در هر ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به صورت محلول درآورده می‌شود. سپس در محیط کشت سلولی (۱۶۴۰RPMI) رقت‌های مختلف مورد نیاز تهیه می‌گردد. رقت‌های مورد استفاده در این تحقیق شامل ۰/۲۲۳، ۰/۳۳۱، ۰/۳۱۲، ۰/۱۸۹، ۰/۱۳۵ mg/ml می‌باشند. میزان DMSO در محلول نهایی موجود در چاهک‌های کشت سلولی کمتر از ۱٪ محاسبه می‌گردد. گفتنی است DMSO تا غلظت کمتر از ۱٪ فاقد سمیت است و از این حیث، غلظت این حلال مهم می‌باشد.

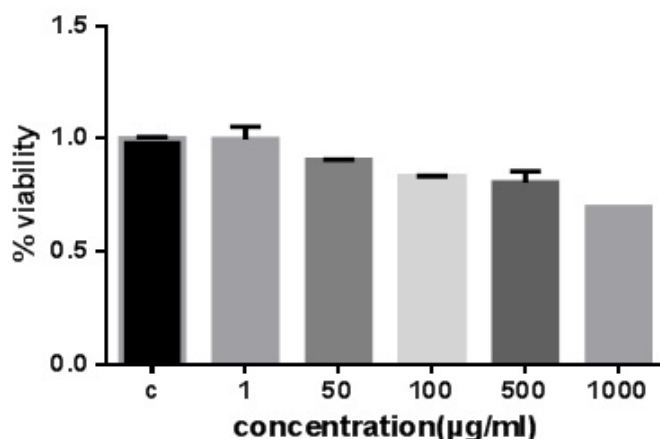
## بررسی سمیت سلولی مواد با استفاده از آزمون MTT

رده‌ی سلولی مورد استفاده در محیط کشت ۱۶۴۰RPMI که حاوی پنی‌سلین (۱۰۰ IU/MU) استریپتومايسين (IU/MI ۱۰۰)، گلوتامین (۲mmol) و ۱۰٪ سرم جنین گاو (FBS) می‌باشد، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در اتمسفر حاوی ۵٪ CO<sub>2</sub> انکوبه می‌شوند. سلول‌ها، در فلاسک‌های T شکل CM2۷۵ در ۱۵ میلی‌لیتر محیط و با تعداد اولیه ۱۰<sup>۶</sup> \* ۱-۲ سلول، شروع به رشد می‌کنند. بعد از گذشت سه روز و پوشیده شدن بستر فلاسک از سلول، لایه‌ی سلول چسبیده به کف فلاسک به روش آنزیمی و با استفاده از تریپسین-ورسن جدا و پس از انتقال به لوله‌ی آزمایش استریل به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۲۰۰، سانتریفیوژ می‌شود. سپس سلول‌ها در محیط کشت تازه با کمک پیپت پاستور، دوباره معلق و از آن سوسپانسیون با استفاده از سمپلر ۸ کاناله ۱۰۰ میکرولیتر درون چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای با کف صاف (ویژه کشت سلولی) ریخته می‌شود. یک ستون از چاهک‌ها، بدون سلول و به عنوان Blank و فقط حاوی محیط کشت نگهداشته می‌شود. در یک ستون دیگر، حاوی محیط کشت و سلول‌های سالم (لنفوسیت و منوسیت) و در ستون‌های دیگر، حاوی محیط کشت و سلول‌های رده‌ی سلولی در نظر گرفته می‌شود. یکی از این ستون‌ها که حاوی محیط کشت و سلول و فاقد عصاره می‌باشند، به عنوان شاهد (کنترل) در نظر گرفته می‌شود و یک ستون دیگر هم، حاوی محیط کشت و سلول و غلظت به کار رفته DMSO (کنترل منفی) می‌باشد تا اثر سمیت آن بر روی سلول‌ها بررسی گردد. پیلت‌ها به مدت ۲۴ ساعت، درون انکوباتور، انکوبه می‌شوند تا سلول‌ها از استرس ناشی از تریپسین شدن به حالت عادی باز گردند. پس از این زمان، رقت‌های مناسب از عصاره‌ی مورد نظر تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت به صورت ستونی به چاهک‌های پلیت اضافه می‌شود. (به این ترتیب غلظت نهایی ترکیب مورد مطالعه در چاهک‌ها نصف می‌گردد. بنابراین غلظت‌ها به صورت ۲ برابر تهیه می‌گردد تا بعد از اضافه شدن به چاهک، به غلظت نهایی مورد نظر برسد). سپس سلول‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه در اتمسفر ۵٪ CO<sub>2</sub> در انکوباتور قرار داده می‌شوند. پس از گذشت ۷۲ ساعت به هر چاهک ۲۰ میکرولیتر از محلول MTT (۵۰ mg/ml) اضافه می‌گردد. پیلت‌ها به مدت ۳ تا ۴ ساعت، انکوبه می‌شوند و سپس باقیمانده خارج و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه می‌گردد تا فورمازان حاصل حل شود. پس از ۱۰ دقیقه و با استفاده از تکان دادن پلیت‌ها، جذب نوری فورمازان در ۵۷۰ نانومتر و با استفاده از خوانشگر پلیت خوانده می‌شود. چاهک‌های حاوی سلول Hela و بدون عصاره به عنوان کنترل و چگالی نوری چاهک‌های بدون سلول و تنها حاوی محیط کشت به عنوان Blank در نظر گرفته می‌گردد. درصد حیات سلولی، با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود.

$$\%OD = \frac{OD \text{ بلایک} - OD \text{ چارک های تحت تاثیر عصاره}}{OD \text{ بلایک} - OD \text{ کنترل}} \times 100$$

## یافته‌ها

نتایج حاصل از داده‌ها در قرائت با دستگاه الیزاریدر نشان می‌دهد که غلظت‌های مختلف از عصاره‌ی جلبک *chara* (۰/۲۲۳، ۰/۲۳۱، ۰/۳۱۲، ۰/۱۸۹، ۰/۱۳۵، و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر روی سلول‌های سرطانی بافت سرویکس (Hela) دارای مهارکنندگی رشد سلول‌ها قابل ملاحظه می‌باشد، به شکلی که بالاترین مهارکنندگی در غلظت‌های ۰/۱۳۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، به ترتیب ۱۶/۳ و ۲۴/۹۶ درصد می‌باشد. میانگین جذب نوری در غلظت‌های ۰/۱۳۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به طور معنی‌داری در  $p < 0.05$  با میانگین جذب نوری با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری متفاوت می‌باشد. میانگین جذب نوری در غلظت ۰/۱۳۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، به ترتیب ۰/۰۲۶ و ۰/۰۲۱ به دست آمده‌است که این، نشان‌دهنده‌ی مرگ سلولی بالا و اثر سمیت سلولی بیشتر نسبت به گروه کنترل می‌باشد. با بررسی جذب نوری خوانده شده از دستگاه الیزا در پلیت‌های مختلف، می‌توان سمیت سلولی غلظت‌های مورد استفاده‌ی عصاره جلبک را بر روی سلول‌های سرطانی مشاهده کرد. ارتباط مهارکنندگی رشد سلول‌ها و غلظت‌های مورد استفاده در سلول‌های سرطانی قابل مشاهده‌است. روند مهارکنندگی رشد سلول‌ها با افزایش غلظت جلبک، افزایش می‌یابد.



شکل ۱. نمودار بررسی اثرات سمیت سلولی عصاره اتانولی جلبک *chara* بر رده سلول سرطان Hela

## بحث

یافته‌های این مطالعه، نشان می‌دهند که عصاره جلبک *chara* بر روی رده‌ی سلولی سرطانی Hela، دارای سمیت سلولی در اکثر غلظت‌ها بوده و بالاترین مهار آن در غلظت‌های ۰/۱۳۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. همچنین جذب نوری در غلظت‌های بالاتر مانند ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، کمترین جذب نوری را نشان می‌دهد که خود، مشخص‌کننده‌ی از بین رفتن تعداد زیاد سلول می‌باشد. با توجه به عدم پاسخ مطلوب سرطان به درمان و پیشرفت سریع آن، تحقیق در زمینه‌ی تولید داروهایی با کارایی بیشتر و سمیت کمتر ادامه دارد. ترکیبات گیاهی و جلبکی بسیاری با اثرات بیولوژیکی متنوع وجود دارند که بخشی از داروسازی نوین شامل می‌شوند. *Chara* به علت وجود فلاونوئیدها در عصاره این جلبک

می‌تواند مورد استفاده دارویی و بهداشتی باشد. نتایج حاصل از تحقیق نشان می‌دهد که محتوی فنولی عصاره اتانولی جلبک *chara* ۳/۱۷ می‌باشد، جدول ۱، همچنین در بررسی فلاونوئیدی عصاره اتانولیک جلبک *chara* ۶۷  $mg/ml$  می‌باشد.

جدول ۱. نتیجه نهایی اندازه فلاونوئید و فنل جلبک *chara*

اندازه گیری محتوی فلاونوئید	اندازه گیری محتوی فنل
عصاره فلاونوئید	عصاره فنل
۶۷	۳/۱۷

هرچند نتایج ما، مهارکنندگی رشد سلول را در غلظت‌های مختلف نشان می‌دهد، اما بایستی به مواردی از محدودیت‌های مطالعه نیز اشاره کرد. هر چند این مطالعه، بررسی اولیه‌ی اثر مهارکنندگی عصاره اتانولی کارا *chara* را بر روی سلول‌های سرطانی سرویکس نشان می‌دهد، اما ابعاد دیگری از این مطالعه نیز بایستی قرار گیرد که جداسازی و خالص‌سازی ترکیبات موثر عصاره و همچنین تعیین ساختار و مکانیسم فعالیت ضدسرطانی آن می‌تواند از مهمترین بخش‌های مطالعات بعدی باشد. اثر مهارکنندگی این عصاره، می‌تواند روی رده‌های دیگر سلول‌های سرطانی مورد بررسی قرار گیرد. همچنین بررسی فرایند پروتئومیکس و ژنومیکس روی رده‌های سلول‌های سرطانی، می‌تواند از دیگر محورهای پژوهش‌های آتی باشد. پلی‌ساکاری‌های سولفات‌ه موجود در دیواره جلبک‌های دریایی دارای اثرات بیولوژیکی شناخته شده از جمله ضدسرطانی، آنتی‌اکسیدانتی، ضدقارچی، ضدویروسی و ضدباکتریایی می‌باشد (Pereira et al., 1999, Yu et al., 2003 a, Yu et al., 2003 b, Colliec et al., 1996). این نتایج با گزارشات ما مبنی بر اینکه عصاره اتانولی جلبک مورد نظر دارای اثرات بیولوژیک (آنتی‌اکسیدانتی، آنتی‌باکتریال و ضد سرطانی) مطابقت دارد. جلبک‌ها منبعی از اسیدهای آمینه، تریپتوفان، استروئیدها، ترکیبات فنلی، کتون‌های هیدروژنه شده، آلکان‌ها و پلی‌سولفیدهای حلقوی می‌باشند (Mtolera and Semesi, 1996 and Taskin et al., 2007) که می‌توان علت اثرات ضدسرطانی را به وجود این مواد نسبت داد. ماریان ان مارینو و همکاران در سال (۲۰۱۲) اثرات سمیت سلولی عصاره جلبک الو را مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که عصاره این جلبک دارای اثرات سمیت سلولی بر رده سلول‌های سرطانی دارد. مانوج کومار نارسیمهان و همکاران در سال (۲۰۱۳) در محیط *invitro* اثرات و آنتی‌اکسیدان و آنتی‌باکتریال کاهوی دریایی را مورد بررسی قرار داده‌اند و اثرات عصاره این جلبک را به‌عنوان ضد سرطان مفید معرفی نموده‌اند. با توجه با این که عصاره جلبک *chara* دارای خاصیت سمیت سلولی در رده سلول‌های سرطانی سرویکس (Hela) می‌باشد، با انجام مطالعات بیشتر بر روی مدل‌های حیوانی و پس از آن مطالعات کآزمایی بالینی، می‌تواند به‌عنوان یک ماده در درمان سرطان مورد استفاده قرار گیرد.

## منابع

- Parkin, D.M., P. Pisani, and J. Ferlay, Global cancer statistics. CA: A cancer journal for clinicians, 2008. 49(1): p. 33-64\_
- Mahmoodi, M., A. Maassoumi, and B. Hamzeh'ee, Geographic distribution of Astragalus (Fabaceae) in Iran. Rostaniha, 2009. 10\_ \_\_\_\_Parkin DM, Pisani P, Ferlay J, Global cancer statistics. CA Cancer J Clin. 1999. 49(1):33-64\_
- Mahmoodi M, Maassoumi A, Hamzeh'ee B. Geographic distribution of Astragalus (Fabaceae) in Iran. Rostaniha, 2009;10:1[Persian]\_
- Auyeung K, Law P, Ko JK. Astragalus saponins induce apoptosis via an ERK-independent NF- $\kappa$ B signaling pathway in the human hepatocellular HepG2 cell line. Int J Mol Med. 2009. 23(2):189-96\_
- Hu YW, Liu CY, Du CM, Zhang J, Wu WQ, Gu ZL. Induction of apoptosis in human hepatocarcinoma SMMC-7721 cells in vitro by flavonoids from Astragalus complanatus. J Ethnopharmacol, 2009. 123(2): 293-301\_
- Cassileth BR, Rizvi N, Deng G, Yeung KS, Vickers A, Guillen S, Woo D, Coletton M, Kris MG. Safety and pharmacokinetic trial of docetaxel plus an Astragalus-based herbal formula for non-small cell lung cancer patients. Cancer Chemother Pharmacol, 2009. 65(1): 67-71\_
- Rios J, Waterman PG, A review of the pharmacology and toxicology of Astragalus. Phytotherapy Research, 1998. 11(6): 411-8
- Khoramizade MR, Falak R. Basic Fundamentals of Cell Culture. tehran univercity of medical science,2009;1: 188\_
- Demati A, Dj A, Irani M, mahdavi Sv, Mirzanezhad S, cytotoxicity activity of *Consolida orientalis* ethanolic extract against Hela cell line. biology of islamic azad university of Garmsar unit, 2012; 6: 53-8\_
- Teyeb H, Zanina N, Neffati M, Douki W, Najjar MF. Cytotoxic and antibacterial activities of leaf extracts of *Astragalus gombiformis* Pomel (Fabaceae) growing wild in Tunisia. Turk J Biol, 2012. 36(1): 53-8.
- Yan Q, Li Y, Jiang Z, Sun Y, Zhu L, Ding Z. Antiproliferation and apoptosis of human tumor cell lines by a lectin (AMML) of *Astragalus mongholicus*. Phytomedicine, 2009. 16(6): 586-93\_
- Auyeung KK, Cho CH, Ko JK. A novel anticancer effect of Astragalus saponins: Transcriptional activation of NSAID\_activated gene. Int J Cancer, 2009. 125(5): 1082-91\_
- Krasteva I, Platikanov S, Momekov G, Konstantinov S, Nikolov S. Phytochemical analysis and in vitro cytotoxic activity of volatiles from *Astragalus corniculatus*. Nat Prod Res, 2008. 22(11): 969-74
- Meng,T.,ting .Y and Tes-Min lee , 2009 ., *Effects of cadmium on the regulation of antioxdnt enzyme activity, gene exipression , and antioxidant defenses in the marine macroalge ulva fasciata , botanical studies .50:25-3*
- Qi,H.,zhao,T.,zhang,Q.,zhao,z and Ronge xing .*Antioxidant activity of different molecular weight sulfated polysacarides from ulva pertusa kjellm (chlorophyta)*
- Saha P, Kundu S, Bala A, Mazumder UK, Halder PK. Evaluation of anticancer activity of *Lagenaria siceraria* aerial parts. InternationalJournal of Cancer Research 2011; 7(1): 244-253.
- Seto,M., Honma. K. and Nakagawa, M. Diversity of genome profiles in malignant lymphoma. Cancer Science. 2010. 101: 573-578

## **Investigating the effect of cellular toxicity of alcoholic extract of chara algae collected from the shores of Nowshahr city on the category of Hela cells by MTT method**

### **Abstract**

Seaweed is a natural resource with a wide range of new secondary metabolites that have cellular toxicity properties. Meanwhile, some plant species and algae have substances that, through apoptosis or necrosis, inhibit or kill cancer cells. The aim of this study was to investigate the anti-cancer effect of algae on the class of Hela cancer cells. The cervical cancer cells used in this study were prepared from the tumor section of the Pasteur Institute of Iran. After culturing cancer cells in the laboratory, concentrations of 0.223, 0.231, 0.312, 0.189, 0.135, and 10 mg / ml of algae extract affected the cancer cell category. Was. After 72 hours, cell death was assessed by MTT. The results of this study show that the ethanolic algae chara on Hela's cancers has cellular toxicity in most concentrations and has the highest inhibitory effects at concentrations of 0.135 and 10 mg / l. The inhibitory percentage at higher concentrations, such as 10 mg / L, is 28.98, the highest growth inhibition percentage at 10 mg / ml, which has a lethality of 28.98%. Due to the fact that chara algae extract has cellular toxicity in the category of cervical cancer cells (Hela), by conducting further studies on animal models and subsequent clinical trials, it can be studied. Used as a substance in the treatment of cancer.

**Keywords:** chara, Hela, cellular toxicity, ethanolic extract





## ارزیابی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره الکلی میکرو جلبک کلرلا جمع‌آوری شده از

### شهرستان نوشهر

ساره رضایی<sup>۱\*</sup>، عباسعلی دهپور جویباری<sup>۲</sup>، فرزاد منتظری<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهی دانشگاه پیام نور تهران

۲- استادیار دانشگاه آزاد قائمشهر، دانشکده علوم گروه زیست‌شناسی

۳- دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر

[sarhrezaee@yahoo.com](mailto:sarhrezaee@yahoo.com)

#### چکیده

رادیکال‌های آزاد نقش مهمی در ایجاد بیماری‌های مختلف دارند و ترکیبات ضد اکسیدان می‌توانند در پیش‌گیری و درمان این بیماری‌ها مفید باشند. امروزه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی نسبت به مصنوعی سالم‌تر و ایمن‌تر بوده و محدود به منابع خشکی زی نمی‌باشند. ترکیبات زیستی فعال موجود در جلبک‌ها دارای اثرات گسترده ضدباکتریایی، ضد توموری، ضد قارچی، آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی هستند، میکرو جلبک کلرلا از منطقه سیسنگان واقع در استان مازندران جمع‌آوری گردید پس از شناسایی خشک گردیده سپس با روشهای متداول عصاره‌گیری شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن با روش DPPH و محتوی فنول و فلاونوئید آن مورد ارزیابی قرار گرفت در بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH میزان  $IC_{50} = 780 \text{ mg.ml}$  تعیین گردید و میزان فنل و فلاونوئید آن به ترتیب 44.6 و  $32.12 \text{ mg/ml}$  تعیین شد در نتیجه عصاره جلبکی مورد نظر دارای منبع آنتی‌اکسیدانی با ارزشی می‌باشد، همچنین عصاره اتانولی جلبک مورد نظر دارای مقدار بالای فنل می‌باشد که باعث مهار رادیکال‌های آزاد می‌شود.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدان، عصاره، میکرو جلبک کلرلا

#### مقدمه

در بسیاری از کشورها جلبک تازه دریایی به‌عنوان غذا مورد استفاده قرار می‌گیرد، چرا که جلبک‌ها به‌دلیل ارزش غذایی دارای پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و فیبر و همچنین غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها و ریزمغذی‌ها مانند ویتامین‌ها می‌باشند (Govindan *et al.*, 2012). ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها معمولاً در گیاهان و جلبک‌های دریایی یافت می‌شود این شامل مواد مختلف آلی و غیرآلی که می‌تواند در سلامت انسان بهره‌مند شوند، این ترکیبات می‌توانند رادیکال‌های آزاد که نقش مهمی را بر سلامت انسان دارد که موجب بیماری‌هایی مثل: بیماری قلبی، سرطان، فشارخون بالا، دیابت و آترواسکلروز می‌باشد را مهار کند (Farasat *et al.*, 2014)، جلبک کارا به‌عنوان یک منبع غذایی مهم در بسیاری از نقاط جهان است و با وجود مواد مغذی، ویتامین‌های فراوان، عناصر و رژیم غذایی حاوی فیبر به‌عنوان دارو در طب سنتی و برای چربی خون، گرم‌زدگی و بیماری‌های اداری و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرد (Qi *et al.*, 2005). میکرو جلبک کلرلا جز جلبک‌های سبز محسوب می‌شود که دارای پراکنش وسیع در آب‌های شور و شیرین گزارش شده است (Chang *et al.*, 2002) هدف از این بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل و فلاونوئیدی عصاره اتانولی میکرو جلبک کلرلا جمع‌آوری شده از منطقه سیسنگان واقع در استان مازندران می‌باشد.

## روش تحقیق استخراج عصاره اتانولی

برای تهیه عصاره ابتدا ۶۰ گرم از جلبک خشک شده را وزن و در دکانتور ریخته و دو برابر حجم ماده خشک اتانول می-ریزیم اینکار را سه بار با اتانول تکرار می کنیم سپس عصاره بدست آمده را بوسیله روتاری یا روش تقطیر عصاره خالص را بدست می آوریم .

### بررسی فعالیت به دام اندازی رادیکال DPPH

برای انجام این آزمایش از رادیکال های پایدار DPPH استفاده شد. به ۱ میلی لیتر از عصاره ۱ میلی لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH اضافه شد و مخلوط حاصل به خوبی تکان داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در اتاق تاریک قرار داده شد. سپس جذب مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر UV در ۵۱۷ نانومتر با بلانک متانول قرائت شد. آسکوربیک اسید، BHA و کوئرستین به عنوان استاندارد استفاده شدند و میزان IC50 به معنی غلظتی از هر عصاره که لازم است تا ۵۰ درصد رادیکال ها پاکسازی شوند، برای عصاره ها تعیین شد. در نهایت درصد به دام اندازی رادیکال DPPH طبق فرمول زیر محاسبه شد (Yen and chen, 1995).

$$\left( \frac{A_B - A_S}{A_B} \right) \times 100$$

AB = جذب بلانک، AS = جذب نمونه یا استاندارد

### اندازه گیری محتوی فنلی :

محتوای ترکیبات فنولی از طریق متد فولین سیوکالتیو انجام شد (Ordone et al., 2006). غلظت ۱ میلی گرم / میلی لیتر از هر عصاره تهیه شد. ۰/۵ میلی لیتر از هر عصاره با ۲/۵ میلی لیتر واکنشگر ۰/۲ نرمال فولین سیو کالتیو مخلوط شد و به مدت ۵ دقیقه هم زده شد. سپس ۲ میلی لیتر محلول کربنات سدیم با غلظت ۷۵ گرم در لیتر اضافه شد. جذب نمونه ها پس از ۲ ساعت در دمای اتاق توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر ماوراء بنفش در ۷۶۰ نانومتر اندازه گیری شد. نتایج به صورت مقادیر هم ارز با استاندارد اسید گالیک بیان شد. به این صورت که میانگین جذب حاصل در معادله خط به دست آمده از ترسیم منحنی استاندارد گالیک اسید قرار داده شد و نتیجه به عنوان محتوای تام فنولی عصاره بر اساس میزان معادل «میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره» گزارش شد. آزمایشات برای هر عصاره و استاندارد ۲ بار تکرار شد (Ghasemi et al., 2009).

### اندازه گیری محتوی فلاونوئید :

میزان محتوای فلاونوئید هر عصاره از طریق روش های رنگ سنجی ارزیابی شد (Chang, 2002). غلظت ۱ میلی گرم / میلی لیتر از هر عصاره تهیه شد. ۰/۵ میلی لیتر از نمونه در ۱/۵ میلی لیتر متانول حل شد. سپس ۰/۱ میلی لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰٪ به آن اضافه شد، سپس ۰/۱ میلی لیتر از محلول پتاسیم استات ۱ مولار و در نهایت ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر هم

به آن اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و سپس جذب مخلوط حاصل در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مرئی- ماوراءبنفش اندازه‌گیری شد. کوئرستین به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. میزان فلاونوئید بر اساس میزان معادل «میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره» گزارش گردید. آزمایشات ۲ بار تکرار شد و میانگین آنها گزارش شد (Ghasemi et al., 2009).

### تعیین قدرت احیاء کنندگی

میزان قدرت احیاء کنندگی عصاره‌ها از طریق متدین و چن (۱۹۹۵) ارزیابی شد. غلظت‌های مختلف از هر عصاره تهیه شد و با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار با  $\text{pH} = 6/5$  و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول ۱ درصد پتاسیم فری سیانید- [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] مخلوط شد. در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شد، سپس ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول تری‌کلرواستیک اسید به نمونه‌ها اضافه شد تا واکنش متوقف شود. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتیفریژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. پس از اتمام این مرحله ۲/۵ میلی‌لیتر از قسمت بالای محلول با ۲/۵ میلی-لیتر آب مقطر مخلوط شد و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ درصد فریک کلراید (FeCl<sub>3</sub>) به آن اضافه شد. سپس جذب محلول در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. در این آزمایش آسکوربیک اسید به عنوان استاندارد استفاده شد. آزمایش برای هر نمونه سه بار تکرار شد.

### یافته‌ها

نتایج حاصل از داده‌ها نشان می‌دهد که محتوی فنولی عصاره اتانولی میکروجلبک کلرلا ۴۴۶ mg/ml، همچنین محتوی فلاونوئیدی عصاره اتانولی میکروجلبک کلرلا ۳۲۱۲ mg/ml می‌باشد. در بررسی فعالیت به‌روش DPPH مشخص گردید که IC<sub>50</sub> عصاره متانولی ۱۷۸۰ mg/ml می‌باشد، در مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدان میکروجلبک کلرلا که مورد بررسی قرار گرفته‌است به علت محتوی فنل و فلاونوئید فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاست، همبستگی مثبت و معنی‌دار قوی بین DPPH و مهار رادیکال و فنولیک و مطالعه فلاونوئید نشان داد که ترکیبات فنلی از جمله فلاونوئیدها علل اصلی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل گونه میکروجلبک کلرلا است. همچنین لازم به کار بیشتر در آزمایشگاه جهت بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی جلبک دریایی سواحل شمال به علت شرایط محیطی و اثرات آن بر روی پارامترهای فیزیوشیمیایی به‌طور طبیعی می‌باشد.

جدول ۱: میزان به دام‌اندازی DPPH توسط استاندارد آسکوربیک اسید

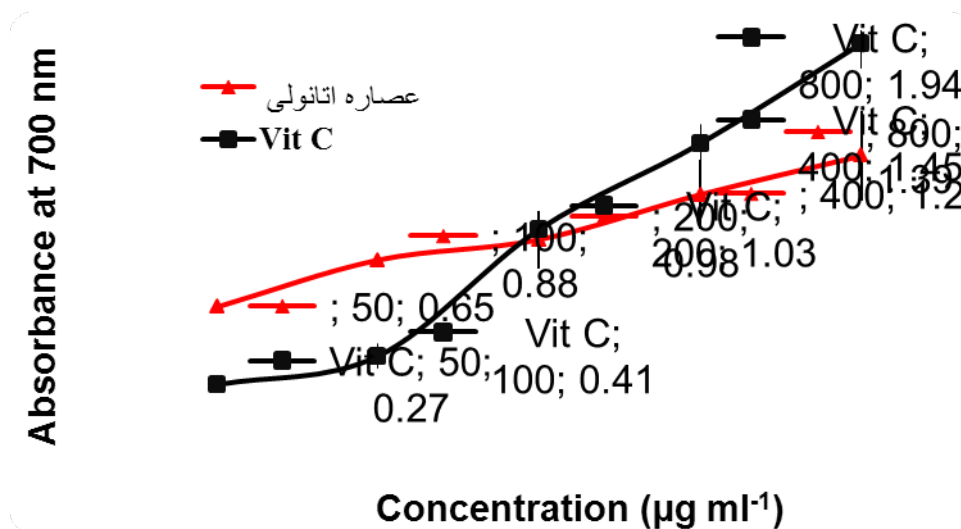
درصد به دام‌اندازی	غلظت (میکروگرم در میلی لیتر)
۹۶/۴	۲۵
۷۱/۲	۱۲/۵
۵۵/۱	۶/۲۵
۴۴/۸	۳/۱۲۵
۳۸/۷	۱/۵۶۳

هر یک از مقادیر جدول میانگین به دست آمده از سه آزمایش مختلف  $\pm$  انحراف استاندارد می‌باشد.

جدول ۲: بررسی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی میکرو جلبک کلرلا اثرگذاری رادیکال آزاد DPPH

غلظت (میکروگرم در میلی لیتر)	درصد مهار (%)
۸۰۰	$0.2 \pm 53/37$
۴۰۰	$0.2 \pm 42/96$
۲۰۰	$0.1 \pm 40/76$
۱۰۰	$0.2 \pm 21/26$
۵۰	$0.2 \pm 13/48$

در عصاره اتانولی جلبک با افزایش غلظت از ۵۰ تا ۸۰۰ درصد مهار از ۱۳/۴۸ تا ۵۳/۳۷ افزایش یافته است. اجزای جلبک به آرامی روند صعودی را طی کردند عصاره اتانولی درصد احیاء کمتری را نسبت به Vitamin C (کنترل مثبت) نشان داد. بیشترین فعالیت مربوط به: Vitamin C



نمودار ۱: مقایسه میزان قدرت احیاکنندگی عصاره جلبک با استاندارد آسکوربیک اسید

## بحث و نتیجه‌گیری

فنول‌ها و پلی‌فنول‌ها به‌طور گسترده در بسیاری از مواد غذایی با منشأ گیاهی یافت می‌شوند و می‌توانند اثرات آنتی-اکسیدانی بسیار بالایی داشته باشند (Sasaki *et al.*, 1996). مکانیسم عمل فلاونوئیدها برای بروز اثر آنتی‌اکسیدانی به صورت جمع‌آوری رادیکال‌های آزادی مثل سوپراکسید، آنیون‌ها، رادیکال‌های پراکسید چربی و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌باشد. علاوه بر این توانایی به دام‌اندازی اکسیژن منفرد و شلات کردن فلزات را نیز دارند (Pokomy *et al.*, 2001). مدل به دام‌اندازی رادیکال پایدار DPPH برای ارزیابی توانایی نمونه‌های مختلف در به دام‌اندازی رادیکال آزاد مورد استفاده قرار می‌گیرد. رادیکال DPPH یک رادیکال آزاد پایدار با اتم مرکزی نیتروژن است که با احیا شدن و تولید مولکول پایدار DPPH-H از ارغوانی به زرد تغییر رنگ می‌دهد. رادیکال DPPH در ۵۱۷ نانومتر جذب دارد اما به محض احیا توسط یک آنتی‌اکسیدان، جذب کاهش می‌یابد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها به‌صورت ناپدید شدن رنگ ارغوانی بیان می‌شود (Junior *et al.*, 2009). با توجه به داده‌های جداول، نتایج آزمون (درصد احیاء) یا مهار رادیکال‌های آزاد DPPH مورد بررسی قرار گرفت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با ویتامین C مقایسه شد. همانگونه که دیده شد عصاره جلبک مورد درصد احیاء کمتری دارند، در مقایسه با ویتامین C. اجزای جلبک روند صعودی را طی کردند و با افزایش غلظت افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی دیده شد. درصد احیاء در ویتامین C بالاترین می‌باشد. با توجه به بررسی درصد احیاء، جلبک مورد بررسی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی خوبی برخوردار بوده و می‌تواند جایگزین خوبی برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی باشد. روش DPPH یک روش ساده و سریع و ارزان‌قیمت برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانت غذاها است. DPPH یک رادیکال پایدار و به عنوان پذیرنده هیدروژن غیرفعال بوده و به‌طور وسیعی برای مطالعه خواص آنتی-اکسیدانی ترکیبات فعال زیستی (بیواکتیو) جدا شده از عصاره گیاهی به کار می‌رود. قدرت احیا کنندگی، توانایی الکترون دهنده آنتی‌اکسیدان را نشان می‌دهد. چنانچه ترکیبی دارای این ویژگی باشد می‌تواند باعث کاهش میزان ترکیبات حد واسط اکسیده ساخته شده طی مراحل لیپیدپراکسیداسیون شود. به این ترتیب باعث شکستن زنجیره واکنش می‌شود و می‌تواند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان اولیه و ثانویه عمل کند (Yen and Chen, 1995). سنجش قدرت احیا کنندگی نمونه، با استفاده از احیا آهن III (فریک) به آهن II (فروس) انجام شد. با توجه به بررسی درصد مهار، جلبک مورد بررسی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی خوبی برخوردار است. جلبک‌های دریایی به‌علت داشتن دیواره سلولی پلی‌ساکاریدی سولفات‌ها از گیاهان دریایی متمایز هستند. یکی از نکاتی که در خصوص خواص بیولوژیکی جلبک‌ها از گیاهان متمایز می‌شوند، وجود فعالیت آنتی‌اکسیدانتی دیواره پلی‌ساکاریدی جلبک‌ها می‌باشد (Govindan, 2012).

## منابع

- Govindan, s., Thomas.j.andkurup , 2012 . invitro antioxidant and antitumor activity of polysacchar isolated from ulvafusciata . p-238
- Farasat,m., khavari-nejad , A. Bagher-nabavi,M and forooghnajoooyan. 2014. Antioxidant activity, totalphenolics and flavonoid contents of som edible green seaweeds from northern coastsof the Persian Gulf. 13(1):163-170
- Qi H, Zhao T, Zhang Q, Li Z, Zhao Z, Xing R (2005). Antioxidant activity of different molecular weight sulfated polysaccharides from *Ulva pertusa* Kjellm (Chlorophyta). *Appl. Phycol.*, 17: 527-534.
1. Ordone, AAL. et al. (2006).Antioxidant activities of *Sechiumeduleswartz* extracts, *Food Chemistry*,97,452-458.

- Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ebrahimzadeh, M.A. (2009). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 Citrus species peels and tissues. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 22 (3): 277-281.
- Chang, C. et al. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, *J Food Drug Analysis*, 10, 178-182.
- Yen, G C., Duh, P D. (1995). Antioxidant activity of methanolic extracts of peanut hals from various cultivars. *Journal of the American oil chemist society*. Vol. 62. pp. 1065-1067.
- Sasaki, A.B.E. et al.: Structural aspects of anti oxidants activity of flavonoids, *Free radic. Biol. Med*, 1996, 20:331-342
- Junior, M.R.M. et al.: Anti oxidant potential of aroma compounds obtained by limonene biotransformation of orange essential oil, *Food chemistry*, 2009, 116:8-12
- Pokorny, J. et al.: Anti oxidant in food ;practical application, America, Wood head publishing Ltd, 2001:46-48

## **Evaluation of the antioxidant effects of chlorine microalgae alcoholic extract from Nowshahr city**

### **Abstract**

Free radicals play an important role in the development of various diseases, and antioxidant compounds can be useful in the prevention and treatment of these diseases. Today, natural antioxidants are healthier and safer than artificial ones and are not limited to dry sources. The active biological compounds in algae have broad-spectrum antibacterial, anti-tumor, antifungal, antioxidant and anti-cancer effects. *Chlorella* microalgae were collected from Sisangan region in Mazandaran province and dried after identification, then extracted by conventional methods and its antioxidant activity was evaluated by DPPH method and its phenol and flavonoid content. In the study of antioxidant effects by DPPH method, the level of  $IC_{50} = 780$  mg.ml was determined and the amount of phenol and flavonoids was determined as 44.6 and 32.12 mg / ml, respectively, so the desired algae extract has a valuable antioxidant source, as well as ethanolic extract. The algae has a high amount of phenol, which inhibits free radicals.

**Keywords:** Antioxidant, Extract, *Chlorella* Microalgae

## جداسازی ترکیبات فلوونوئیدها از گیاه شاه‌تره

معصومه حسین زاده<sup>۱\*</sup>، علی گنجیان خناری<sup>۲،۳</sup>

۱- استادیار گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر، ایران

۲- گروه پژوهشی شیلات و آلاینده های آبی دریای خزر (کاسپین)، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، ساری، ایران

۳- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقاتی علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی،

ساری، ایران

[Ma\\_hosseinzadeh@yahoo.com](mailto:Ma_hosseinzadeh@yahoo.com)

### چکیده

دو ترکیب فلوونوئید از عصاره متانولی اندام هوایی گیاه شاه تره جدا شده است. این ترکیبات به نام های ۱-Onysilin (+) یا (-)-2S و

2-pinostrobin (+) یا (-)-5-hydroxy-6, 7-dimethoxy-2-phenyl chroman-4H-one و 5-hydroxy-7-(-)-5(S)

(dimethoxy-2-phenyl chroman-4H-one). ساختار این ترکیبات بوسیله تکنولوژی دستگاه 1D و NMR2D

شناسایی شده‌اند.

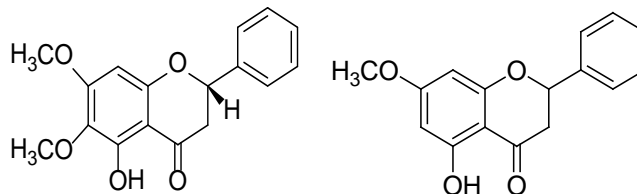
کلمات کلیدی: فلوونوئید، Onysilin (+)، pinostrobin (+) و NMR

### مقدمه

گیاه شاه‌تره به نام علمی *Fumaria* (Fumariaceae) شامل ۴۶ گونه در سراسر جهان می‌باشد (Suau *et al.*, 2002). و نام عمومی آن در جهان *Fumitory* است. گونه اول که گیاه اصلی دارویی آن است بومی اروپا و آسیاست. شاه‌تره، گیاهی است علفی و یکساله با برگ‌های دارای بریدگی‌های بسیار؛ گل‌آذین در این گیاه، خوشه یا گرز است که شامل دو کاسبرگ زود افت و چهار گلبرگ جدا به رنگ‌های سفید تا صورتی یا ارغوانی می‌باشد که یکی از دو گلبرگ بیرونی، به مهمیز تبدیل شده‌است. شاه‌تره برای درمان التهابات پوستی بسیار موثر می‌باشد علاوه بر این، خواص دیگری نیز دارد. این گیاه در آب و هوای معتدل رشد می‌کند و دارای گل‌های رنگارنگ می‌باشد که برای باغ‌ها مناسب هستند و از قرن بیستم تا به حال در پزشکی سنتی استفاده می‌شده‌است. این گیاه در دوران باستان به‌عنوان یک قدرت جادویی در نظر گرفته می‌شده‌است. این گیاه را در آتش سوزاندند، زیرا معتقد بودند که دود این گیاه می‌تواند از جادو محافظت کند و ارواح شیطانی را دور کند و طبق یک افسانه باستانی، این گیاه حاصل از بذر نمی‌باشد بلکه از یک دود ناگهانی از زمین پدیدار شده‌است (De Bray, 1978). این گیاه در آغاز زمان گلدهی چیده می‌شود و در چای‌ها، قرص، کپسول، لوسیون‌های چشم و عصاره‌ها استفاده می‌شود. شاه‌تره دارای ترکیبات غیرآلکالوئیدی پنتاتریاکوتان، گلوکوزید، تانن، اسید فوماریک و آلکالوئید فومارین است. طبع شاه‌تره از نظر حکمای طب سنتی، مرکب القوی است یعنی در حرارت، معتدل و خیلی خشک است. برخی آن را گرم و خشک انگاشته‌اند، اما ابوعلی سینا آن را کمی سرد دانسته‌است.

**فلاونوئیدها** رنگدانه‌های گیاهی است که باعث ایجاد رنگ‌های متنوع در میوه‌ها و سبزی‌ها می‌شود (Tork *et al.*, 1971). فلاونوئیدها مقاومت گیاه به عوامل بیماری‌زا را افزایش می‌دهد. مصرف غذاهای سرشار از فلاونوئیدها می‌تواند روشی برای پرهیز از ابتلا به بیماری‌های مرگباری مانند سرطان و بیماری قلبی باشد. به گفته پژوهشگران استرالیایی، در مطالعه‌ای، شرکت‌کنندگانی که کمترین میزان خطر مرگ مرتبط با سرطان یا بیماری قلبی را داشتند افرادی بودند که روزانه حدود ۵۰۰ میلی‌گرم از فلاونوئیدها را از منابع مختلف دریافت می‌کردند (Gilani *et al.*, 2005).

فلاونوئیدها ترکیبات پلی‌فنلی هستند که به طور عمده در گیاهان یافت می‌شوند و به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان و ضد رادیکال قوی ظاهر می‌شوند (Cheah *et al.*, 1996) قدرت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات وابسته به موقعیت گروه‌های هیدروکسیل بر روی اسکلت فلاونوئید است و عوامل متفاوتی بر روی خاصیت آنتی‌اکسیدانی آنها موثر است عوامل موثر تعداد گروه‌های هیدروکسیل و حضور پیوند دو گانه ۲ و ۳ و ساختار ارتودی فنلیک می‌باشد که خصوصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد رادیکالی را افزایش می‌دهد. گلیکوزیلاسیون در موقعیت کربن ۳ حلقه C و نیز حضور گروه‌های متوکسی بر روی کربن B که سبب کاهش خصوصیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات می‌شوند (Orhan *et al.*, 1996; Gilani & Shoab Akhtar, 2004). به سبب اینکه بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان به سبب وجود رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شود و نقش مهمی که فلاونوئیدها در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد دارند لذا بررسی اثر عوامل مختلف و مطالعه ساختار فلاونوئیدها بر روی خاصیت آنتی‌اکسیدانی آنها مهم می‌باشد. (Ranilla *et al.*, 2010)



شکل ۱. ساختار ترکیبات فلاونوئیدها

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه:

گیاه شاه‌تره از کوه‌های دماوند در جاده هراز جمع‌آوری شده‌است. قسمت اندام هوایی این گیاه در حدود ۲ کیلوگرم جمع‌آوری و خشک‌شده. گیاه جمع‌آوری شده پودر گردید و به مدت ۷۲ ساعت در حلال (۳ لیتر) متانول خوابانیده شده‌است. بعد از این مدت صاف شده و با دستگاه روتاری حلال پراکنی می‌کنیم و حدود ۵۰۰ میلی‌گرم عصاره بدست می‌آید.

### استخراج و جداسازی ترکیبات:

عصاره بدست آمده را وارد ستون کروماتوگرافی می‌کنیم حلال‌های مورد استفاده اتیل استات و متانول می‌باشد. اول از ۱۰۰ درصد اتیل استات استفاده می‌کنیم و کم‌کم متانول اضافه می‌کنیم به نسبت‌های زیر (۱۰۰ اتیل استات-۱۰ اتیل استات و ۱۰ اتیل استات-۲۰ اتیل استات و ۲۰ اتیل استات-۷۰ اتیل استات و ۳۰ اتیل استات و ..... تا ۱۰۰ اتیل استات) و بعد فراکشن‌ها رو جدا می‌-



کنیم و تی ال سی می‌زنیم (TLC). در فرکشن ۸۰-۲۰ اتیل استات و متانول ترکیب Onysilin (+) و در فرکشن ۷۰-۳۰ اتیل استات و متانول ترکیب دوم (+)-pinostrobin جدا شده نمونه‌ها بعد از خالص‌سازی طیف گرفته شده و تفسیر شده و ساختار ترکیبات شناسایی شده‌است.

### بحث و نتیجه گیری

ترکیب ۱ به نام Onysilin (+): به رنگ زرد روشن حدود ۰/۵ میلی گرم

The  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400  $\text{MHz}$ );

سینگلت روی کربن ۶ و ۷ در روی کربن ۸ یک سینگلت در ناحیه ۳.۸۳ و ۳.۸۷ دو گروه متوکسی در ناحیه مشاهده شده‌است. گروه متیلین کربن ۲ دابلت و دابلت در ناحیه ۵.۴۱ مشاهده شده‌است. دو تا سیگنال ۶.۰۲ دابلت و دابلت متعلق به گروه متیلین در ناحیه ۲.۸۳ و ۳.۱۹ که مربوط به هیدروژن‌های آلفا و بتا مشاهده شده‌است. یک سیگنال مربوط به گروه هیدروکسی در ناحیه ۱۱.۷۶ مشاهده شده‌است. ناحیه آروماتیک مولتی پلیت در ناحیه ۷.۳۱ و ۷.۴۴ نشان‌دهنده وجود حلقه آروماتیک می‌باشد.

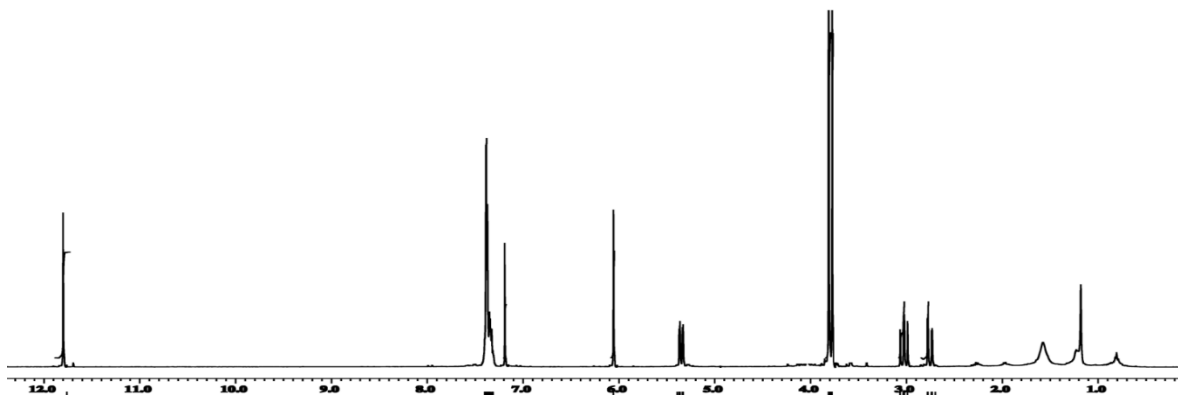
The  $^{13}\text{C}$  NMR spectrums:

طیف کربن وجود ۱۷ کربن را نشان می‌دهد دو گروه متوکسی در ناحیه ۶۱.۹ و ۵۶.۱ و گروه متیلین در ناحیه ۴۳.۳ و ۷ کربن متیلین در ناحیه ۷۹.۵ و ۹۱.۶ و ۱۲۶.۹ و ۱۲۸.۹ و هفت کربن نوع چهارم در ناحیه ۱۹۶.۳ و ۱۵۴.۹ و ۱۰۳.۱ و ۱۵۰.۴ و ۱۳۰.۵ و ۱۶۰.۹ و ۱۳۸.۲ نشان داده شده‌است.

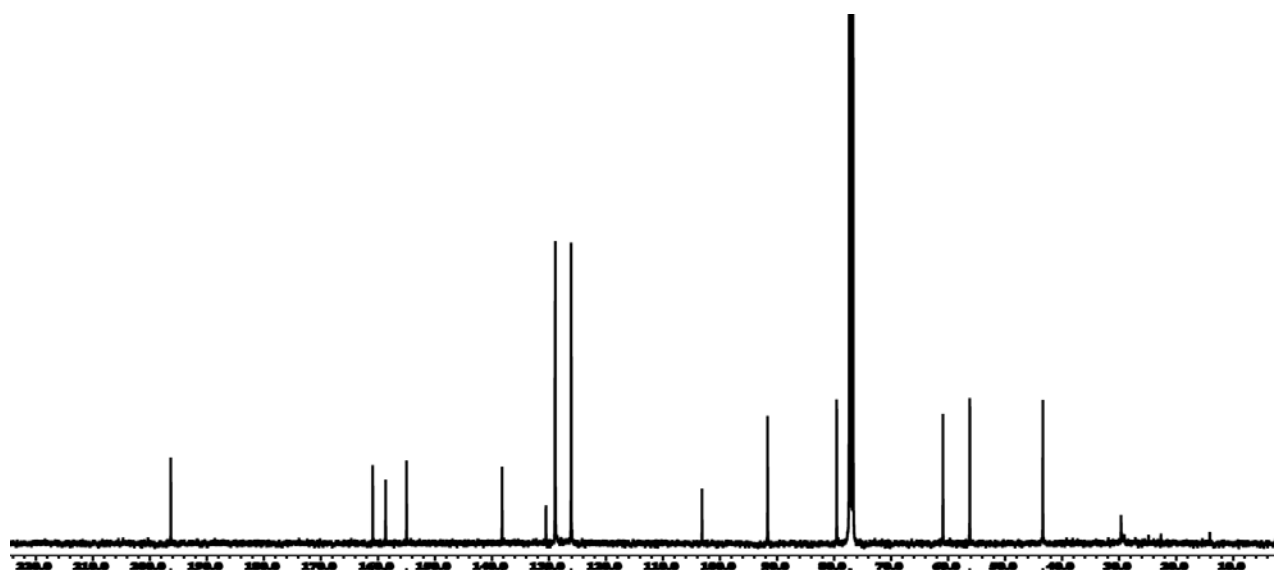
جدول ۱.  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz) و  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz) ترکیب Onysilin (+)

Position	$^1\text{H-NMR}$ ( $\delta$ , J in Hz)	$^{13}\text{C-NMR}$ ( $\delta$ )
1	-	-
2	5.41 (1H, dd, 13.4, 3.5)	79.5
3	2.83 (1H, dd, 17.3, 3.1, H <sub>o</sub> -3) 3.19 (1H, dd, 17.3, 13.5, H <sub>p</sub> -3)	43.3
4	-	196.3
4a	-	103.1
5	-	158.6
6	-	130.5

7	-	160.9
8	6.05 (1H, s, H-8)	91.6
8a	-	154.9
1 □	-	138.2
2 □	7.31-7.44 (2H, m)	126.9
3 □ 5 □	7.31-7.44 (3H, m)	128.9
6- OCH <sub>3</sub>	3.87 (3H, s)	61.9
7- OCH <sub>3</sub>	3.83 (3H, s)	56.1
5-OH	11.76(1H, s)	-



شکل ۲. طیف  $^1\text{H}$  NMR Onysilin (+)



شکل ۳: طیف  $^{13}\text{C}$  NMR Onysilin (+)

ترکیب ۲: (+)-pinostrobin به رنگ زرد روشن حدود ۰/۳ میلی گرم

The  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400  $\text{MHz}$ );

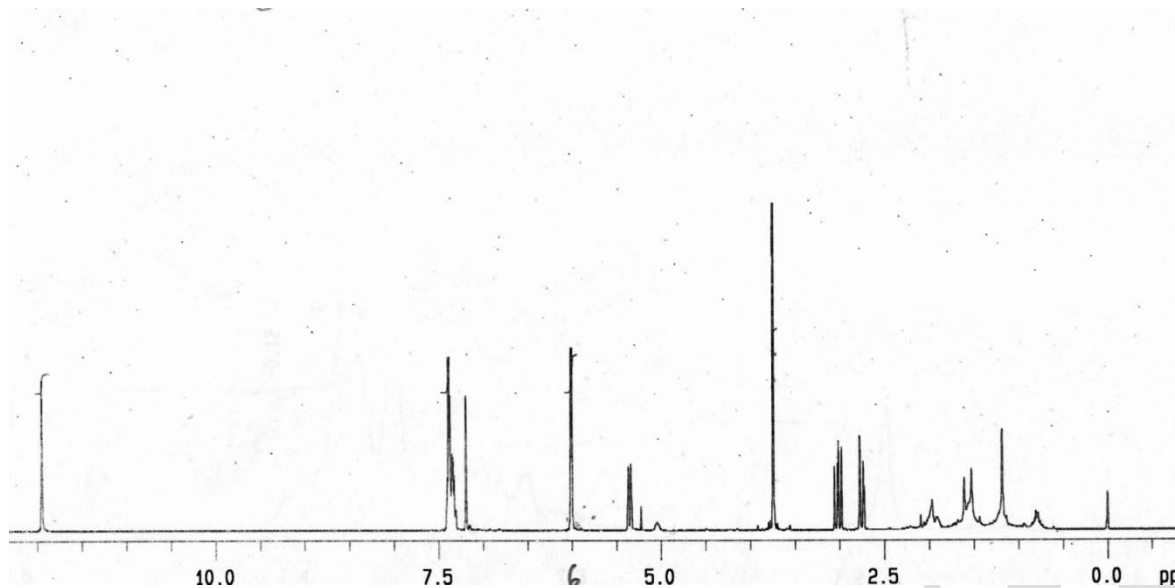
وجود گروه متوکسی در ناحیه ۳.۸۸ روی کربن ۷ نشان می‌دهد. دو پروتون سیگنال در ناحیه ۶.۱۵ هیدروژن‌های کربن ۶ و ۸ را نشان می‌دهد. یک سیگنال دابلت و دابلت در ناحیه ۲.۸۱ و ۳.۱۱ هیدروژن‌های آلفا و بتا گروه متیلن را نشان می‌دهد. یک سیگنال در ناحیه ۱۱.۶۸ گروه هیدروکسی را اثبات می‌کند. هیدروژن‌های آروماتیک مولتی پلیت بین ناحیه ۷.۳۸ و ۷.۴۹ نمایان شده‌است.

The  $^{13}\text{C}$  NMR :

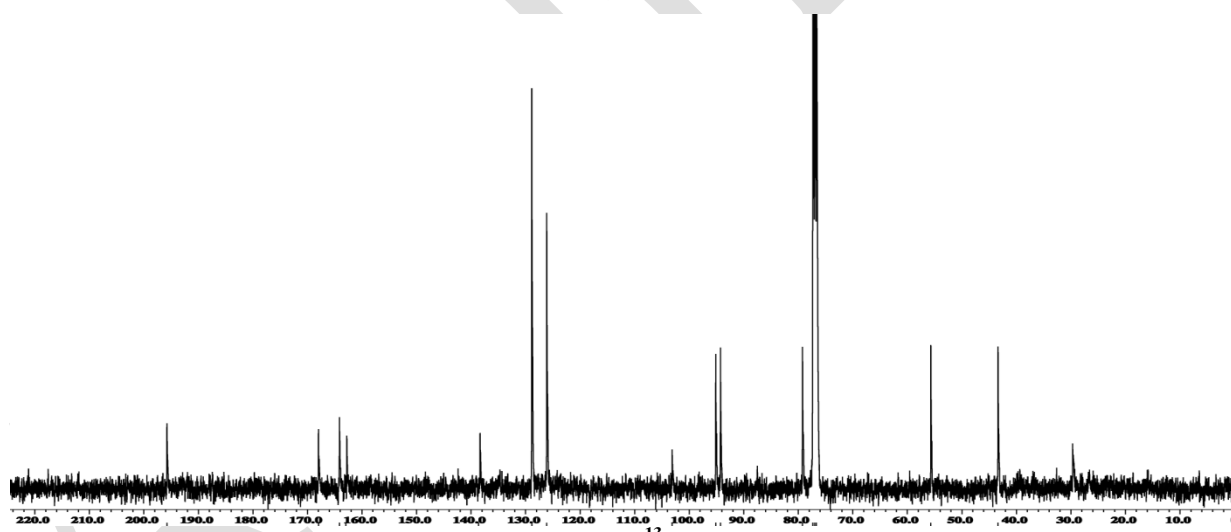
طیف کربن وجود ۱۶ کربن را نشان می‌دهد. گروه کربن متوکسی در ناحیه ۵۵.۷ و ۴۳.۴ نمایان شده است. ۸ کربن نتین در ناحیه ۷۹.۳ و ۹۴.۳ و ۹۵.۲ و ۱۲۶.۲ و ۱۲۸.۹ نشان داده شده‌است. و ۶ کربن نوع چهارم در ناحیه ۱۶۲.۹ و ۱۰۲.۱ و ۱۶۴.۲ و ۱۶۸ و ۱۳۸.۵ و ۱۶۵.۸ ساختار این ترکیب را اثبات می‌کند.

جدول ۲.  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz) و  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz) ترکیب (+)-pinostrobin

Position	$^1\text{H}$ -NMR( $\delta$ , J in Hz)	$^{13}\text{C}$ -NMR $\delta$ c
1	-	-
2	5.42 (1H, <i>dd</i> , 13, 3.2)	79.3
3	2.81 (2H, <i>dd</i> , 17.2, 3.4, H-3 $\alpha$ ) 3.11 (2H, <i>dd</i> , 17.4, 13, H-3 $\beta$ )	43.4
4	-	195.8
4a	-	102.8
5	-	164.2
6	6.15 (1H, <i>s</i> )	95.2
7	-	168.0
8	6.15 (1H, <i>s</i> )	94.3
8a	-	162.9
1 □	-	138.5
2 □, 6□	7.38, 7.49 (2H, <i>m</i> )	126.2
3 □, 4□,	7.38, 7.49 (3H, <i>m</i> )	128.9
7-OCH <sub>3</sub>	3.88 (3H, <i>s</i> )	55.7
OH	11.86 (1H, <i>s</i> )	-



شکل ۴.  $^1\text{H}$  NMR ترکیب (+)-pinostrobin



شکل ۵. طیف  $^{13}\text{C}$  NMR ترکیب (+)-pinostrobin

## منابع

- Suau R, Cabezudo B, Rico R, Nájera F, López-Romero JM. Direct determination of alkaloid contents in *Fumaria* species by GC-MS. *Phytochem Anal* 2002;13: 363–7.
- L. De Bray *The Wild Garden* Mayflower Books, New York (1978) p. 191.
- M. Tork, M. Pinkas, L. Bezanger-Beauquesne The flavone heterosides of the fumitory *Fumaria officinalis* L., *Fumariaceae Ann. Pharm. Fr.*, 29 (1971), p. 591
- A.H. Gilani, B. Samra, K.H. Janbaz, A. Khan. Pharmacological basis for the use of *Fumaria indica* in constipation and diarrhea, *J. Ethnopharma.*, 96 (2005), p. 585
- Cheah SC, Lee ST, Lam ML, et al. 2011. Panduratin A Inhibits. E. Taborska, H. Bochořáková, J. Soušek, P. Sedmera, V. Vavřeková, V. Šimánek, *Fumaria densiflora* D.C. Alkaloids, *Collect. Czech. Chem. Commun.* 61 (1996) 1.
- H.A. Gilani, K.H. Janbaz, M. Shoaib Akhtar, Selective protective effect of an extract from *Fumaria parviflora* on paracetamol-induced hepatotoxicity, *Med. Sci. Monitor* 5 (1996) 1020.
- I. Orhan, B. Şener, M.I. Choudhary, A. Khalid. A cetylcholinesterase and tyrylcholinesterase inhibitory activity of some Turkish medicinal plants *J. Ethnopharma.*, 91 (2004), p. 57
- Ranilla, L. G., et al. 2010. *Bioresource technology*, 101(12), 4676-4689

## Separation of flavonoid compounds from herbaceous plant

### Abstract

The two flavonoid compounds are separated from the methanolic extract of the aerial part of the leek plant. These compounds are called 1-- (+) Onysilin or ([2S]-5-hydroxy-6,7-dimethoxy-2-phenyl chroman-4H-one) and 2 - (+) - pinostrobin or ([S]-5-hydroxy-7-dimethoxy-2-phenyl chroman-4H-one). The structure of these compounds has been identified by 1D and NMR2D device technology.

**Keywords:** Fluonoid (+) Onysilin ,, - (+) - pinostrobin and NMR

## بررسی قابلیت جلبک پلی سیفونیا در جذب فلزات سنگین در محیط‌های آبی

ساره رضایی<sup>۱\*</sup>، عباسعلی دهپور جویباری<sup>۲</sup>، سهیل سلیمی ابوخیلی<sup>۳</sup>، مانا حسنی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهی دانشگاه پیام نور تهران

۲- استادیار دانشگاه آزاد قائمشهر، دانشکده علوم گروه زیست شناسی

۳- کارشناسی ارشد سلولی ملکولی میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر

[sarhrezaee@yahoo.com](mailto:sarhrezaee@yahoo.com)

### چکیده

فلزات سنگین یکی از آلاینده‌های پایدار غیرقابل تجزیه بیولوژیکی است که می‌تواند در محیط زیست به آب و خاک وارد شود و از آنجا جذب گیاه شود و بدین ترتیب وارد زنجیره غذایی شود. از جلبک قرمز پلی سیفونیا به‌عنوان جاذب بیولوژیکی برای حذف فلز سرب در محلول‌های آبی استفاده گردیده‌است. جذب فلز سرب و کادمیوم توسط این جلبک در ۴ فاکتور pH، غلظت فلز سرب و کادمیوم، زمان تماس جلبک و وزن جلبک در ۳ تکرار قبل از افزودن جلبک و پس از افزودن جلبک، پس از تمیز و خشک شدن، مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که زمان تماس بهینه برای جذب جلبک ۳۰ دقیقه می‌باشد و با افزایش غلظت فلز سرب و کادمیوم، حذف فلزات توسط جلبک پلی سیفونیا افزایش پیدا کرد. همچنین با افزایش وزن جاذب حذف فلزات افزایش نشان داد. pH بهینه نیز برای حذف فلز سرب ۶/۵ pH= برای حذف فلز کادمیوم ۴ pH= می‌باشد می‌باشد. در نتیجه بیوجاذب پلی سیفونیا کارایی بالایی برای حذف فلز سنگین سرب و کادمیوم دارد.

کلمات کلیدی: جلبک پلی سیفونیا، فلزات سنگین، محیط‌های آبی

### مقدمه

یکی از مهم‌ترین و خطرناک‌ترین آلوده‌کننده‌های زیست‌محیطی، آلودگی‌های ناشی از یون‌های فلزات سنگین موجود در پساب‌های واحدهای صنعتی می‌باشد. در بسیاری از کشورهای جهان سوم و همچنین کشورهای در حال توسعه کنترل مناسبی بر سیستم‌های خروجی پساب که وارد محیط زیست می‌شود صورت نمی‌گیرد همین امر به آلودگی‌های حاد و مزمن جمعیت‌های زیستی اعم از گیاهی، حیوانی و انسانی منجر می‌شود (رخشانی، ۱۳۸۴). جذب اندک فلزاتی مانند جیوه، سرب، کادمیم، کبالت و... در بدن جانداران باعث بروز عوارض سوء بی‌شماری می‌گردد. به‌طور کلی فلزات سنگین در نتیجه فرسایش طبیعی خاک، فوران‌های آتشفشانی، بارش‌های اتمسفریک و تخلیه پساب حاصل از صنایع گوناگون از جمله ذوب فلزات، آبکاری فلزات، پلاستیک‌سازی، تولید و مصرف مواد حاوی فلزات، کاغذسازی، رنگرزی، فرآیندهای متالورژیکی و... به اکوسیستم آبی وارد می‌شوند. سال‌هاست که روش‌های متعددی از جمله رسوب دادن شیمیایی، تعویض یونی، تقطیر، استخراج با حلال، جذب سطحی آهک زنی، کاربرد صافی‌های شنی و کربنی و... جهت تصفیه آب به کار برده می‌شوند. تصفیه بیولوژیکی یکی از روش‌های استاندارد و قابل قبول در سطح جهان است که در جهت استفاده مجدد و بازیافت پساب‌های صنعتی از آن استفاده می‌شود. روش‌های ذکر شده در بالا در مقایسه با روش‌های تصفیه بیولوژیکی بسیار گران هستند. عمل تصفیه بیولوژیکی فاضلاب‌ها توسط باکتری‌ها، قارچ‌ها، تک‌سلولی‌ها، جلبک‌ها و پروتوزوآها انجام می‌گیرد تا تغییرات تبدیل فاضلاب به حالتی بی‌ضرر مورد بررسی قرار گیرد اما اخیراً جلبک‌ها به علت توانایی در تصفیه فاضلاب‌ها بیشتر مورد

توجه قرار گرفته‌اند (طیسی، ۱۳۸۵). جلبک‌ها به دلیل داشتن مواد مغذی در تغذیه دام و ماکیان و نیز به‌عنوان کود در زمین‌های کشاورزی حاشیه سواحل به کار می‌روند. جلبک‌ها دارای ترکیب‌های ضد میکروبی، غنی از پتاسیم و ازت و حاوی برخی از مواد تنظیم‌کننده رشد نظیر جیبریلین و سیتوکینی به‌عنوان تحریک‌کننده رشد می‌باشند (ابو،؟). با استفاده از جلبک‌های دریایی در استخرهایی که به‌عنوان تصفیه استفاده می‌کنند. علاوه بر تسویه پساب‌ها می‌توان مقدار اکسیژن لازم برای رشد باکتری‌ها را فراهم کرد باکتری‌ها قادرند پساب‌های آلی را تجزیه کنند (رضایی و جایمند، ۱۳۷۶).

هدف از این تحقیق بررسی کارایی گیاهان دریایی در جذب فلزات سنگین و تاثیر پارامترهای مختلف در مقدار جذب می‌باشد نهایتاً مدل‌های جذبی و سنتتیکی مورد بررسی قرار گرفت که می‌تواند مقیاس مناسبی برای فرآیند جذب باشد.

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه:

در این تحقیق ابتدا نمونه برداری از جلبک پلی سیفونیا سواحل دریای خزر سی سنگان انجام شد. پس از شستشو با آب مقطر و تمیز کردن، جلبک‌ها را از صافی عبور داده تا در محیط سایه به‌طور نسبی خشک گردد. سپس در دستگاه آون فاطر الکتریک در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد کاملاً خشک گردید و نمونه‌های خشک شده، آسیاب و سپس از الک ۰/۵ میلی‌متر عبور داده و از پودر جلبک خشک شده در آزمایش استفاده شد. نمونه برداری از آب دریای سیسنگان نیز انجام شد.

### بررسی اثر تیمارهای مختلف pH بر میزان جذب کادمیوم توسط جلبک

pH های مورد استفاده 3,4,5,6,7 بوده است. همچنین در این آزمایش از فاکتورهای ثابت شامل: وزن جلبک ثابت = ۰/۲ گرم، غلظت نمک = ۱۰ p.p.m (۲ میلی لیتر از محلول ۱۰۰۰ p.p.m) سولفات کادمیوم و زمان تماس ۱۴ ساعت استفاده شد. ابتدا در ارلن‌ها (۱۵ عدد) مقدار ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر ریخته، سپس ۲ میلی لیتر محلول سولفات کادمیوم به هر کدام از ارلن‌ها اضافه شد. سپس pH های مورد نظر با دستگاه pH متر Metrohm تنظیم شدند. پس از تنظیم pH از هر کدام از ارلن‌ها به مقدار ۵ میلی لیتر با پی‌پت برداشته و داخل لوله آزمایش برای اندازه‌گیری غلظت فلزات سنگین محلول بدون جلبک تخلیه شد. درب لوله آزمایش بسته و در یخچال نگهداری شد. حجم ارلن‌ها با آب مقطر به ۲۰۰ میلی لیتر رسانده و در مرحله بعد ۰/۲ گرم پودر جلبک با ترازوی حساس Sartorius با دقت ۰/۰۰۰۱ توزین کرده به محلول‌های ارلن‌ها اضافه شد. ارلن‌ها به مدت ۱۴ ساعت در دستگاه شیکر قرار داده شد. و سپس با دستگاه جذب اتمی (Atomic Absorption Spectrophotometer) مدل Buck Scientific آمریکا، میزان کادمیوم موجود در محلول لوله آزمایش قرائت شد. و با توجه به نتایج به دست آمده، pH بهینه برای جذب کادمیوم توسط جلبک تعیین شد.

### بررسی اثر تیمارهای مختلف وزن جلبک بر میزان جذب کادمیوم توسط جلبک

وزن‌های مختلف جلبک استفاده شده در این آزمایش ۰/۲ و ۰/۴ و ۰/۶ گرم بوده‌است. همچنین در این آزمایش از



فاکتورهای ثابت شامل:  $pH=6$ ، غلظت نمک  $10\text{ p.p.m}$  (۲ میلی لیتر از محلول  $1000\text{ p.p.m}$ ) سولفات کادمیوم، زمان تماس ۱۴ ساعت استفاده شد. ابتدا در ارلن‌ها (۹ عدد) مقدار ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر ریخته، سپس ۲ میلی لیتر محلول سولفات کادمیوم به هر کدام از ارلن‌ها اضافه شد. پس از تنظیم  $pH$  از هر کدام از ارلن‌ها به مقدار ۵ میلی لیتر با پی‌پت برداشته و داخل لوله آزمایش برای اندازه‌گیری غلظت فلزات سنگین محلول بدون جلبک تخلیه شد. درب لوله آزمایش بسته و در یخچال نگهداری شد. حجم ارلن‌ها با آب مقطر به ۲۰۰ میلی لیتر رسانده و در مرحله بعد  $0/2$  و  $0/4$  و  $0/6$  گرم پودر جلبک با ترازوی حساس Sartorius با دقت  $0/0001$  توزین کرده به طور مجزا به محلول‌های ارلن‌ها اضافه شد. ارلن‌ها به مدت ۱۴ ساعت در دستگاه شیکر قرار داده شد. این نمونه‌ها برای اندازه‌گیری غلظت فلزات محلول با جلبک آماده-سازی شدند و با دستگاه جذب اتمی میزان کادمیوم موجود در محلول لوله آزمایش قرائت شد.

### بررسی اثر تیمارهای مختلف غلظت فلز بر میزان جذب کادمیوم توسط جلبک

غلظت‌های مختلف جلبک استفاده شده در این آزمایش  $10\text{ p.p.m}$ ،  $15$  و  $20$  از محلول  $1000\text{ p.p.m}$  سولفات کادمیوم بوده است. همچنین در این آزمایش از فاکتورهای ثابت شامل:  $pH=6$ ، وزن جلبک ثابت  $0/2$  گرم، زمان تماس ۱۴ ساعت استفاده شد. ابتدا در ارلن‌ها (۹ عدد) مقدار ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر ریخته، سپس ۲، ۳ و ۴ میلی لیتر محلول سولفات کادمیوم به ترتیب برای غلظت‌های  $10$ ،  $15$  و  $20\text{ p.p.m}$  به تفکیک در ارلن‌ها اضافه شد. سپس تنظیم  $pH=6$  با دستگاه  $pH$  متر Metrohm انجام شد. پس از تنظیم  $pH$  از هر کدام از ارلن‌ها به مقدار ۵ میلی لیتر با پی‌پت برداشته و داخل لوله آزمایش برای اندازه‌گیری غلظت فلزات سنگین محلول بدون جلبک تخلیه شد. درب لوله آزمایش بسته و در یخچال نگهداری شد. حجم ارلن‌ها با آب مقطر به ۲۰۰ میلی لیتر رسانده و در مرحله  $0/2$  گرم پودر جلبک با ترازوی حساس Sartorius با دقت  $0/0001$  توزین کرده به محلول‌های ارلن‌ها اضافه شد. ارلن‌ها به مدت ۱۴ ساعت در دستگاه شیکر قرار داده شد. این نمونه‌ها برای اندازه‌گیری غلظت فلزات محلول با جلبک آماده‌سازی شدند و با دستگاه جذب اتمی میزان کادمیوم موجود در محلول لوله آزمایش قرائت شد.

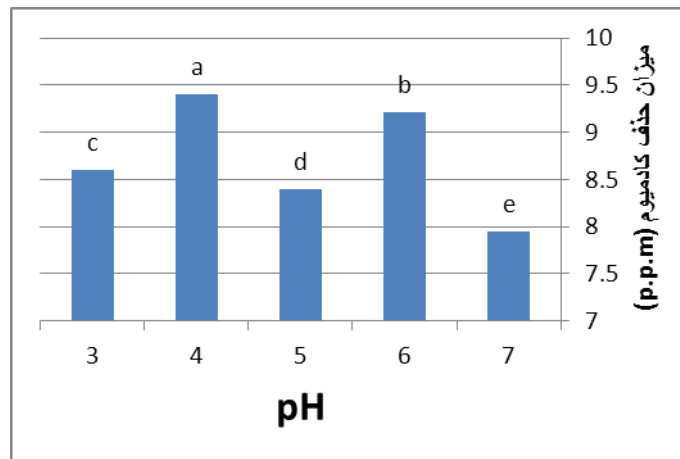
### بررسی اثر زمان تماس بر میزان جذب کادمیوم توسط جلبک

زمان تماس‌های مورد استفاده در این آزمایش شامل: ۳ نمونه اول هر نیم ساعت و ۳ نمونه دوم هر یک ساعت و در نهایت پس از ۱۴ ساعت نمونه‌گیری انجام شد. همچنین در این آزمایش از فاکتورهای ثابت شامل:  $pH=6$ ، وزن جلبک ثابت ۱ گرم، غلظت سولفات کادمیوم  $10\text{ p.p.m}$  (۱۰ میلی لیتر از محلول  $1000\text{ p.p.m}$ ) نیترات سرب استفاده شد.

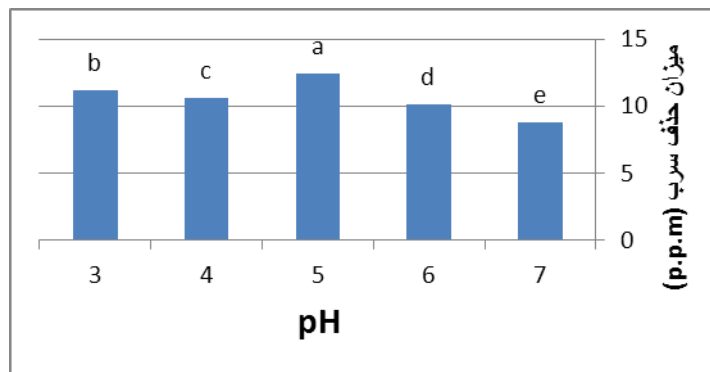
۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر در یک بطری شیشه‌ای ریخته و ۱۰ میلی لیتر از محلول  $1000\text{ p.p.m}$  سولفات کادمیوم به آب مقطر اضافه شد (برای درست کردن غلظت  $10\text{ p.p.m}$ ). با دستگاه  $pH$  متر Metrohm روی عدد ۶ تنظیم شد. ۵ میلی لیتر از محلول آماده شده داخل لوله آزمایش برای اندازه‌گیری غلظت فلزات سنگین محلول بدون جلبک تخلیه شد. درب لوله آزمایش بسته و در یخچال نگهداری شد. سپس مقدار ۱ گرم جلبک پس از توزین با ترازوی حساس Sartorius با دقت  $0/0001$  درون محلول ریخته شد. بطری بر روی دستگاه شیکر برای عمل به هم خوردن قرار داده شد. در ۳ ساعت اول هر نیم ساعت و در ۳ ساعت دوم هر ۱ ساعت نمونه برداری شد و در نهایت به مدت ۱۴ ساعت بر روی شیکر گذاشته و سپس نمونه برداری انجام شد. نمونه برداری به شرح زیر است: نمونه‌ها از شیکر برداشته و کمی صبر نموده تا جلبک‌ها ته-نشین شود. سپس ۵ میلی لیتر از محلول با فیلتر سر سرنگی برداشته و درون لوله آزمایش ریخته شد و برای قرائت میزان فلزات سنگین پس از جذب جلبک، با دستگاه جذب اتمی قرائت شد.

## نتیجه گیری

در بررسی تغییرات pH در مورد جذب فلز کادمیوم از طریق جلبک پلی سیفونیا مشاهده می شود اختلاف معنی داری بین تیمارهای pH=3, pH=4, pH=6 و pH=6 در سطح ۵٪ دیده می شود. بین تیمارهای pH=4 و pH=5 اختلاف معنی داری دیده نشد. کمترین میزان جذب در pH=3 اتفاق افتاد. (نمودار ۱) در مورد جذب فلز سرب از طریق جلبک پلی سیفونیا، در pH برابر ۷ کمترین جذب توسط جلبک صورت گرفته است. ولی در pH برابر ۵ جلبک بیشترین جذب را داشته است. بین همه تیمارها اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ مشاهده شد. با افزایش pH، کارایی جذب کاهش پیدا کرده است (نمودار ۲).

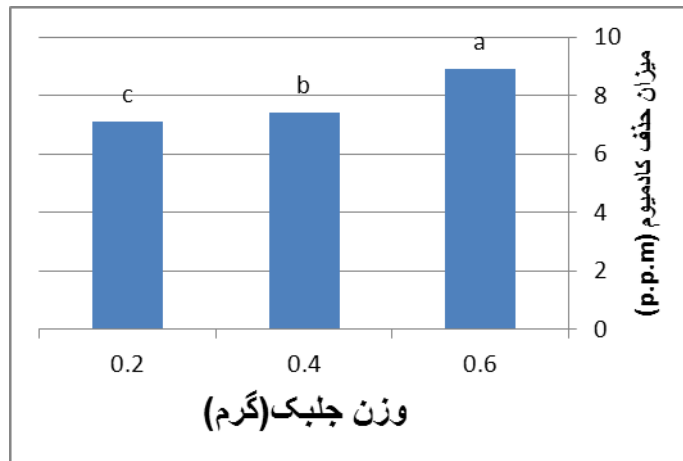


نمودار ۱. تاثیر pH های مختلف بر میزان کارایی جذب فلز کادمیوم بر حسب p.p.m توسط جلبک پلی سیفونیا ( $p < 0.05$ )

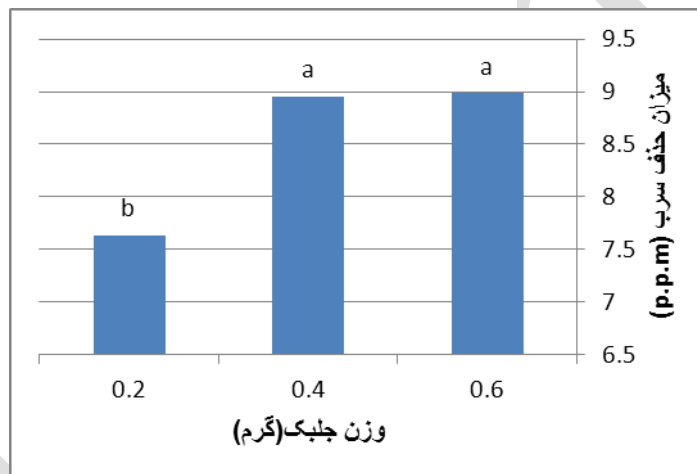


نمودار ۲. تاثیر pH های مختلف بر میزان کارایی جذب فلز سرب بر حسب p.p.m توسط جلبک پلی سیفونیا ( $p < 0.05$ )

در بررسی تغییرات وزن جلبک پلی سیفونیا در مورد جذب فلز کادمیوم و سرب مشاهده شد بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ وجود دارد. تیمار وزن جلبک ۰/۶ گرم بیشترین کارایی و تیمار وزن جلبک ۰/۲ گرم کمترین کارایی جذب توسط جلبک را نشان داد (نمودار ۳). در مورد جذب فلز سرب، نشان می دهد بین برخی تیمارها اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ وجود دارد. بین تیمار وزن جلبک ۰/۲ گرم با سایر تیمارها اختلاف معنی دار مشاهده می شود (نمودار ۴).

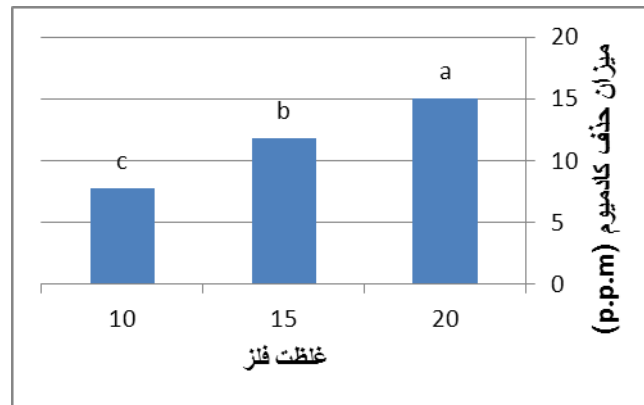


نمودار ۳. تاثیر وزن های مختلف جلبک بر میزان کارایی جذب فلز کادمیوم بر حسب p.p.m توسط جلبک پلی سیفونیا ( $p < 0.05$ )

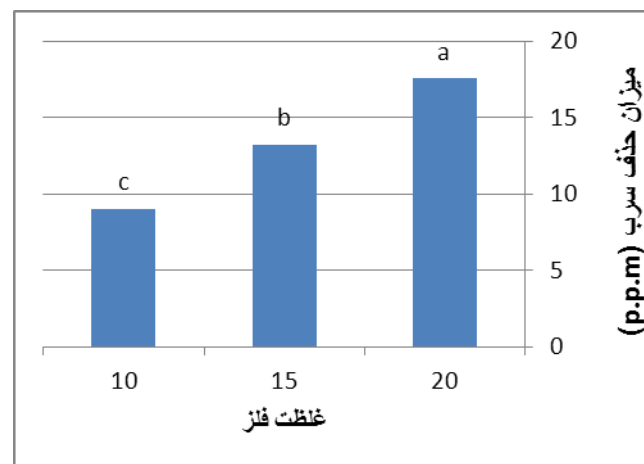


نمودار ۴. تاثیر وزن های مختلف جلبک بر میزان کارایی جذب فلز سرب بر حسب p.p.m توسط جلبک پلی سیفونیا ( $p < 0.05$ )

در بررسی تغییرات غلظت فلز کادمیوم توسط جلبک پلی سیفونیا نشان می دهد که بین تیمارهای مختلف غلظت فلز کادمیوم و سرب، (۱۰ p.p.m و ۱۵ و ۲۰) اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ وجود دارد. غلظت فلز کادمیوم و سرب مقدار ۱۰ p.p.m حداقل کارایی جذب را داشته و مقدار غلظت فلز کادمیوم و سرب مقدار ۲۰ p.p.m بیشترین کارایی جذب را داشته است. با افزایش غلظت فلز کادمیوم و سرب کارایی جذب افزایش یافته است (نمودارهای ۵ و ۶).

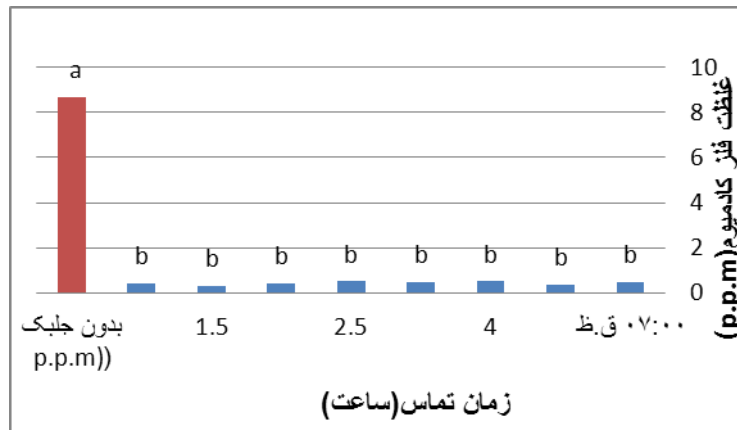


نمودار ۵. تاثیر غلظت های مختلف فلز کادمیوم بر میزان کارایی جذب فلز کادمیوم بر حسب p.p.m توسط جلبک پلی سیفونیا ( $p < 0.05$ )

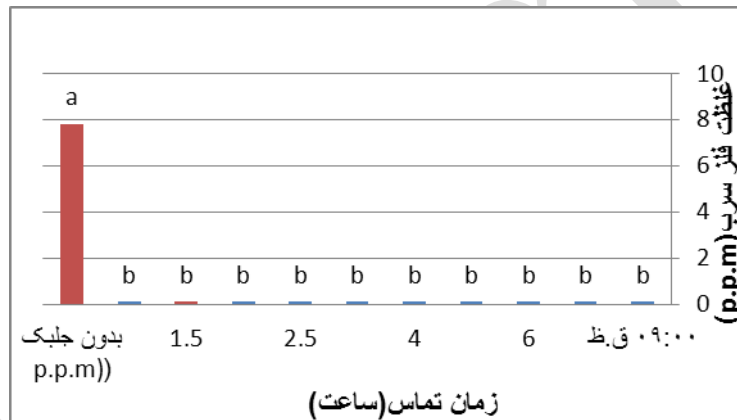


نمودار ۶. تاثیر غلظت های مختلف فلز سرب بر میزان کارایی جذب فلز سرب بر حسب p.p.m توسط جلبک پلی سیفونیا ( $p < 0.05$ )

در بررسی تغییرات زمان تماس جلبک پلی سیفونیا با فلز کادمیوم و سرب و کارایی جذب این فلزات مشاهده می شود که بین تیمارهای زمان تماس مختلف پس از اعمال جلبک هیچ اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ وجود ندارد. غلظت فلزات پس از اعمال جلبک نسبت به زمان عدم حضور جلبک، بیشترین کاهش غلظت را در نیم ساعت اول نشان داد. و در ساعت های بعد تفاوت معنی داری دیده نشد (نمودارهای ۷ و ۸).



نمودار ۷. تاثیر زمان تماس های مختلف بر میزان کارایی جذب فلز کادمیوم بر حسب p.p.m توسط جلبک پلی سیفونیا ( $p < 0.05$ )



نمودار ۸. تاثیر زمان تماس های مختلف بر میزان کارایی جذب فلز سرب بر حسب p.p.m توسط جلبک پلی سیفونیا ( $p < 0.05$ )

## بحث

نتایج حاصل از بررسی اثر pH نشان داد که در مورد فلز کادمیوم در pH برابر ۴ بیشترین جذب صورت گرفته است. و با افزایش pH میزان کارایی جذب کاهش یافته است. با توجه به مقالات و نتایج محققان، pH برابر ۴ برای کادمیوم به عنوان pH بهینه در نظر گرفته شد و به عنوان مهمترین پارامتری که می تواند در جذب یون های فلز از محلول تاثیرگذار باشد در نظر گرفته شده است (El-Naas et al., 2006). میزان بهینه pH برای هر فلز به خواص شیمیایی محلول بستگی دارد. در مورد جذب فلز سرب از طریق جلبک پلی سیفونیا، در pH=7 کمترین جذب و در pH برابر ۵ بیشترین جذب توسط جلبک صورت گرفته است. ملکوتیان و همکاران در سال ۱۳۹۰ نشان دادند بیشترین جذب روی و کادمیوم در pH=۵ در زمان ۶۰ دقیقه اتفاق افتاده است. به علت اینکه یون فلز بر روی باندهای مشخص شده جاذب که H+ دارد به خوبی جذب می گردد (ملکوتیان و همکاران، ۱۳۹۰). نتایج آزمایشات نشان داد با افزایش وزن خشک جلبک پلی سیفونیا میزان حذف فلزات کادمیوم و سرب افزایش پیدا کرده است. همچنین نتایج مشاهدات ما با مطالعات Fraile و همکاران در سال ۲۰۰۴

مطابقت نشان داد. آنها گزارش نمودند که با افزایش وزن خشک جلبک از ۱ به ۳ گرم میزان حذف فلزات سنگین مس، روی، کادمیوم و نیکل افزایش پیدا می‌کند (Fraile et al., 2004). ملکوئیان و همکاران در سال ۱۳۹۰ نشان دادند که با افزایش وزن خشک جلبک اولوتریکس *Ulothrix* (از ۰/۲ به ۱/۵ گرم میزان حذف فلزات مس، روی، کادمیوم و سرب افزایش می‌یابد. Itoh و همکارانش در سال ۱۹۷۵ پیشنهاد کردند که واکنش‌های الکتروستاتیک بین سلول‌ها در جذب سطحی یون‌های فلزی اهمیت زیادی دارند، زیرا هنگامی که فاصله بین سلول‌ها بیشتر است مقادیر بالاتری از یون‌های فلزی توسط سلول‌ها جذب سطحی می‌شوند. به این دلیل، افزایش غلظت توده‌ی زیستی سبب کاهش جذب سطحی یون‌های فلزی می‌گردد (Itoh et al., 1975). با بررسی نتایج، مشخص گردید که با افزایش غلظت اولیه یون فلزات در محلول، میزان جذب فلزات کادمیوم و سرب به ازای هر گرم جاذب افزایش یافت. نتایج مشاهدات ما در این آزمایش با مطالعات Gülay و همکاران در سال 2006، در مورد جذب زیستی یون‌های سرب، کادمیوم و جیوه از محلول‌های آبی توسط ریزجلبک *Chlamydomonas reinhardtii* مطابقت نشان می‌دهد. آنها اعلام کردند که مقدار یون‌های فلزی جیوه، کادمیوم و سرب جذب شده در واحد جرم جاذب با افزایش غلظت اولیه فلز در محیط جذب افزایش می‌یابد (Gülay et al., 2006). یکی از فاکتورهای مهم و موثر بر جذب زیستی زمان تماس است و بیانگر سرعت جذب فلزات است. جلبک بیشترین مقدار جذب فلزات کادمیوم و سرب را در ۳۰ دقیقه اول نشان داد. و در زمان‌های بعدی حتی تا ۱۴ ساعت تغییر محسوسی در مقدار جذب دیده نشد. بنابراین برای سایر آزمایشات زمان بهینه ۳۰ دقیقه در نظر گرفته شد. در نتیجه برای حذف آلودگی زیست محیطی، استفاده از این جلبک برای حذف فلزات سنگین توصیه می‌شود. یکی از تکنولوژی‌های موثر برای حذف فلزات سنگین، استفاده از جاذب‌های زیستی است. این امر به دلیل اقتصادی بودن، دستیابی راحت و منطبق بودن با استانداردهای زیست محیطی است. در نتیجه برای حذف آلودگی زیست محیطی، استفاده از این جلبک برای حذف فلزات سنگین توصیه می‌شود.

## منابع

رخشانی، روحان، ۱۳۸۴، بررسی و بهینه سازی شرایط حذف فلزات سنگین از پساب ها به وسیله سرخس آبی آزولا، پایان نامه دکتر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، صفحه ۲.

طیبه، بهار، ۱۳۸۵، بررسی توانایی جلبک های آب شیرین در جذب فلزات سنگین مس و روی و امکان استفاده از آن در محیط های حاوی پساب، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، صفحه های ۲۳-۲۷.

ابو، محمد، جلبک های دریایی و اهمیت اقتصادی آن ها، مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران، صفحه ۴۱.

رضایی، محمدباقر، جایمند، اکبر، ۱۳۷۶، آگار، موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع، صفحه ۳۸.

ملکو تیان م، غ. موسوی، ع. طولایی، ۱۳۹۰، مطالعه کنتیکی و ایزوترم بیوجذب فلزات سنگین به وسیله جلبک اولتريکس زوناتا از فاضلاب های صنعتی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام. دوره نوزدهم، شماره چهارم، صفحات ۲۶-۳۶.

Abdel-Aty, A. M., Nabila, S. A., Hany, H., Abdel, G., Rizka, k. A. (2012). Biosorption of cadmium and lead from aqueous solution by fresh water alga *Anabaena sphaerica* biomass. *Journal of Advanced Research*, 1-8.

El-Naas, M.H., Al-Rub, F., Abu, A., Marzouqi, M. (2006). Effect of competitive interference on the biosorption of lead (II) by *Chlorella vulgaris*. *Journal of Science Direct. United Arab Emirates*. 46, 1391-1399.

Fraile, A. S., Penche, F., González, M. L., blázquez, J. A. (2004). Biosorption of copper, zinc, cadmium and nickel by *Chlorella vulgaris*. *Journal of Chemistry and Ecology*. 21, 61-75.

Itoh, M., Yuasa, M., Kobayashi, T. (1975). Adsorption of metal ions on yeast cells at varied cell concentrations. *Journal of Plant Cell Physiology*. 16, 1167-1169.

Gülal, B., İlhami, T., Gokce, C., Meltem, Y. M., Yakup, A. (2006). Biosorption of mercury (II), cadmium (II) and lead (II) ions from aqueous system by microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* immobilized in alginate beads. *Journal of mineral processing*. 81, 35-43.

## Investigating the ability of polysiphon algae to absorb heavy metals in aquatic environments

### Abstract

Heavy metals are one of the most stable biodegradable pollutants that can enter water and soil in the environment and be absorbed by the plant and thus enter the food chain. Polysiphonia red algae has been used as a biological adsorbent to remove lead metal in aqueous solutions. The absorption of lead and cadmium metal by this algae was tested in 4 pH factors, lead and cadmium metal concentrations, algae contact time and algae weight in 3 repetitions before adding algae and after adding algae, after cleaning and drying. The results of this study showed that the optimal contact time for algae absorption is 30 minutes, and with increasing the concentration of lead and cadmium metal, the removal of metals by polysiphon algae increased. It also showed an increase in metal absorption with increasing gravity. The optimum pH=4 is pH = 6.5 pH to remove metals. As a result, polysiphonia is highly effective in removing heavy metals, lead and cadmium.

**Keywords:** polysiphon algae, heavy metals, aquatic environments





## چک لیست فیتوپلانکتون حوزه جنوبی دریای خزر

علی گنجیان خناری<sup>۱</sup>

۱- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقاتی علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی،

ساری، ایران

۲- گروه پژوهشی شیلات و آلاینده‌های آبی دریای خزر (کاسپین)، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، ساری، ایران

[aganjian2002@yahoo.com](mailto:aganjian2002@yahoo.com)

### چکیده

در این مطالعه مجموعاً ۳۹۷ گونه فیتوپلانکتون از ۸ شاخه Bacillariophyta (۱۹۰ گونه)، Chlorophyta (۸۰ گونه)، Cyanophyta (۵۵ گونه)، Pyrrophyta (۳۹ گونه)، Euglenophyta (۲۵ گونه)، Chrysophyta (۴ گونه)، Xanthophyta (۳ گونه) و Cryptophyta (۱ گونه) شناسایی شدند. بیشترین تنوع گونه‌ای فیتوپلانکتون در حوزه جنوبی دریای خزر را شاخه Bacillariophyta با ۱۹۰ گونه به خود اختصاص داده است. شاخه‌های Chlorophyta، Cyanophyta و Pyrrophyta به ترتیب در رتبه بعدی از نظر تنوع گونه‌ای فیتوپلانکتون حوزه جنوبی دریای خزر قرار گرفتند.

کلمات کلیدی: فیتوپلانکتون، باسیلاروفیتا، تنوع گونه‌ای، حوزه جنوبی دریای خزر

### مقدمه

دریای خزر به تنهایی نزدیک به ۴۰ درصد مجموع مساحت دریاچه‌های دنیا را شامل می‌گردد. سواحل دریای خزر را پنج کشور: ایران، آذربایجان، ترکمنستان، قزاقستان و روسیه احاطه کرده است. طول خط ساحلی دریای خزر ۵۵۸۰ کیلومتر و متوسط پهنای آن ۳۳۰ کیلومتر است. سطح دریای خزر ۴۳۶۰۰۰ کیلومتر مربع و ماکزیم عمق آن ۱۰۲۵ متر و متوسط عمق آن ۱۸۴ متر است (Plotnikov *et al.*, 2006).

از آنجایی که فیتوپلانکتون‌ها پایه حیات و تولید در اکوسیستم‌های آبی می‌باشند، لذا مطالعه مستمر اکولوژیک دریای خزر، بخصوص پراکنش و شناسایی ترکیب گونه‌ای، تراکم و زیتوده، نوسانات فصلی و منطقه‌ای فیتوپلانکتون‌ها قبل از هر مطالعه‌ای ضروری به نظر می‌رسد و عوامل مختلفی بر این اکوسیستم موثرند که مهمترین فاکتور حرارت یا دما می‌باشد که در آنها با افزایش دمای آب، چگالی آب کاهش یافته و سرعت سقوط پلانکتون افزایش می‌یابد. بنابراین نمونه‌هایی که در فصل بهار به آسانی شناور می‌باشد، در تابستان جهت برقراری تعادل و ماندن در قسمت بالایی آب با مشکل مواجه می‌شوند. همچنین فیتوپلانکتون‌ها قادرند اشکال خود را در فصول مختلف سال (بعلت تغییرات چگالی آب) تغییر دهند (Salmanov, 1987).

بررسی حوزه جنوبی دریای خزر (سواحل ایران) به طور پراکنده در سال ۱۳۵۷ توسط یک گروه از کشور شوروی سابق با همکاری سازمان حفاظت محیط زیست انجام گرفت و موجودات این مناطق مورد بررسی قرار گرفت. هیدرولوژی و

هیدروبیولوژی حوزه جنوبی دریای خزر از سال ۱۳۷۰ آغاز شد. در سال ۱۳۷۳ کار مشترکی با کارشناسان روسیه (منتشر نشده) و از سال ۱۳۷۵ به طور مستمر توسط دو مرکز مازندران و گیلان انجام شد (حسینی و همکاران، ۱۳۹۰؛ لالویی و همکاران، ۱۳۸۱). بررسی زئوپلانکتون از سال ۱۳۷۳ همراه با هیدروبیولوژی و هیدروبیولوژی حوزه جنوبی دریای خزر آغاز شد. تنوع، تراکم و زی توده موجودات در سال‌های مختلف محاسبه شد (روشن طبری و همکاران، ۱۳۸۶).

الگوهای توزیع فیتوپلانکتون در اکوسیستم‌های مختلف از اهمیت علمی بالایی برخوردار است. فیتوپلانکتون متعلق به گروه‌های مختلفی از جمله باسیلاریوفیتا، پیروفیتا، کلروپیتا، سیانوفیتا و اوگنوفیتا و فراوانی و زیست توده آنها، کیفیت و کمیت سایر آبزبان را تعیین می‌کند (EXXON, 2001).

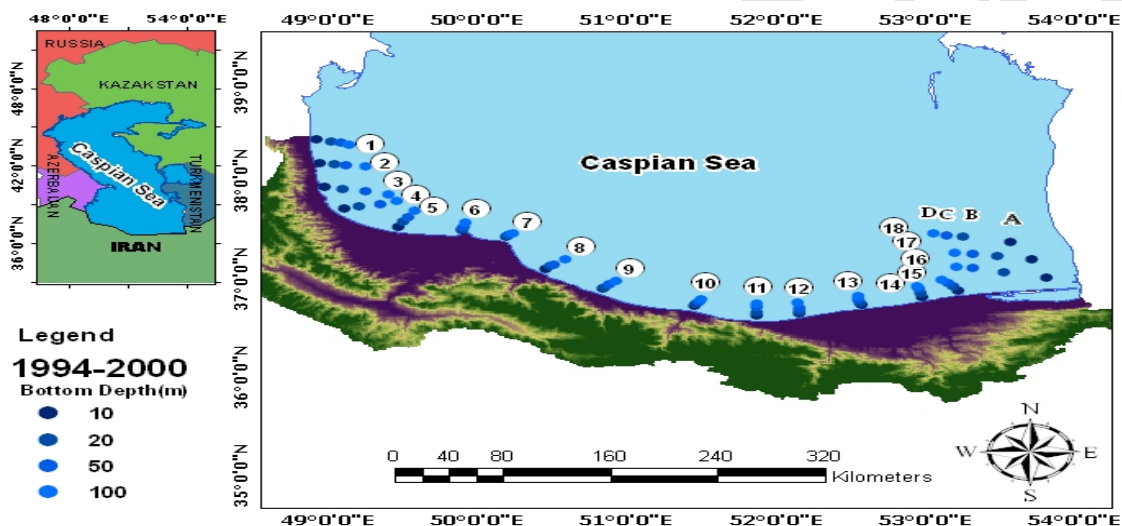
دریای خزر حدود ۴۵۰ گونه از فیتوپلانکتون وجود دارد که اشکال غالب *Bacillariophyta*، *Cyanophyta* و *Chlorophyta* هستند. فیتوپلانکتون خزر میانه و جنوبی ترکیبی از آب شور و شیرین است. در مقابل، فیتوپلانکتون‌های خزر شمالی همه گونه‌های آب شیرین هستند (CEP, 2002). در بررسی کاسیموف ۲۰۰۴ فیتوپلانکتون دریای خزر با ۵۵۷ گونه شناسایی که بیشترین تنوع گونه‌ای شاخه *Bacillariophyta* با ۱۹۱ گونه در رده اول و شاخه *Chlorophyta* با ۱۶۹ گونه، شاخه *Cyanophyta* با ۱۴۳ گونه، شاخه *Pyrrophyta* با ۴۸ گونه، *Euglenophyta* با ۴ گونه و *Chrysophyta* با ۱ گونه به ترتیب کمترین تنوع گونه‌ای داشته‌اند (Kasymov 2004).

Kosarev & Yablonskaya (2002) تعداد ۱۹۲ گونه فیتوپلانکتون را در خزر جنوبی گزارش نمودند و آنها را در ۶ گروه سیانوفیتا، اوگنوفیتا، کریزوفیتا، دیاتومه، داینوفیتا و کلروفیتا طبقه بندی نمودند. در بررسی‌های انجام شده در پروژه هیدروبیولوژی و هیدروبیولوژی حوزه جنوبی دریای خزر در سال ۱۳۷۵ تعداد ۵ شاخه از فیتوپلانکتون شامل باسیلاریوفیتا (دیاتومه‌ها) *Bacillariophyta*، پیروفیتا *Pyrrophyta*، کلروفیتا *Chlorophyta*، سیانوفیتا *Cyanophyta* و اوگنوفیتا *Euglenophyta* مشاهده شدند که بیشترین میانگین تعداد و زی توده متعلق به شاخه باسیلاریوفیتا (دیاتومه) و سپس شاخه پیروفیتا بوده است (گنجیان و همکاران ۱۳۸۷؛ Ganjian, 2007). از سال ۱۳۸۰ نیز بررسی فیتوپلانکتون-های دریای خزر تحت عنوان پروژه‌های بررسی پراکنش شانه‌داران در حوزه جنوبی دریای خزر توسط روحی و همکاران به اجرا در آمده است (Roohi, 2009). لالویی و همکاران (۱۳۸۱) نیز طی سال‌های ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۰ فیتوپلانکتون‌های خزر جنوبی در اعماق بالاتر از ۱۰ متر را مورد مطالعه قرار دادند که در آن ۱۵۶ گونه از ۵ شاخه مورد شناسایی قرار گرفته است که نشان داده است بیشترین جمعیت و زی توده در ناحیه غربی بوده است و تراکم فیتوپلانکتون از نظر زمان، مکان و همچنین در لایه‌های مختلف آب یکنواخت نمی‌باشد. هاشمیان و همکاران (۱۳۸۴) نیز طی پروژه‌ای با عنوان «بررسی هیدروبیولوژی و هیدروبیولوژی و آلودگی‌های زیست محیطی اعماق کمتر از ۱۰ متر حوزه جنوبی دریای خزر که از پائیز ۸۲ تا زمستان ۸۳ انجام پذیرفت، مجموعاً ۱۰۷ گونه فیتوپلانکتون را شناسایی نمودند که شاخه باسیلوفیتا با ۴۲ گونه مجموعاً ۳۹/۲٪ از کل فیتوپلانکتون را تشکیل دادند. همچنین در این مطالعه سیانوفیتاها ۱۶٪ و پیروفیتاها ۱۷٪ و کلروفیتاها ۲۰٪ و اوگنوفیتاها ۸/۴٪ از کل گونه‌ها را تشکیل می‌دادند. گنجیان سال ۲۰۱۱ طی سال‌های ۱۹۹۴-۲۰۰۷ در مجموع ۳۳۴ گونه فیتوپلانکتون از ۶ شاخه را شناسایی نمودند، که نشان داده‌است بیشترین تنوع گونه‌ای ۴۳٪ و تراکم ۴۷٪ مربوط به شاخه باسیلوفیتا بوده و ۵۳٪ زی توده مربوط به شاخه پیروفیتا بوده‌است.

## مواد و روش کار

بررسی حوزه جنوبی (سواحل ایران) تحت عنوان هیدروبیولوژی و هیدروبیولوژی حوزه جنوبی دریای خزر از سال ۱۳۷۰ آغاز شد. در سال ۱۳۷۳ کار مشترکی با کارشناسان روسیه و از سال ۱۳۷۵ به طور مستمر توسط دو مرکز مازندران و گیلان

انجام شد. نمونه‌ها در طی بیش از ۴۰ سفر دریایی توسط کشتی تحقیقاتی R/V گیلان در حوزه جنوبی دریای خزر در ۱۸ ترانسکت جمع‌آوری شد و سپس در ۶-۸ ترانسکت در امتداد هر ترانسکت چهار ایستگاه در عمق ۱۰، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ متر و کمتر از ۱۰ متر به صورت فصلی انجام گردید. برای جمع‌آوری فیتوپلانکتون‌ها از روتنر استفاده شد. در این روش ۵۰۰ سی‌سی آب از لایه‌های فوق جمع‌آوری و توسط فرمالین (۰.۴٪) فیکس و در ظروف شیشه‌ای به آزمایشگاه منتقل گردیدند. پس از نمونه‌برداری، مطالعه کمی و کیفی نمونه‌ها در آزمایشگاه به روش (کسیلف، ۱۹۶۵) برگرفته شده از سلمانف (۱۹۸۷) صورت گرفت. در آزمایشگاه نمونه‌ها پس از طی مراحل آماده‌سازی (نگهداری در تاریکی، رسوب گذاری و سانتریفیوژ) با میکروسکوپ دو چشمی مورد بررسی کمی و کیفی به منظور تعیین تراکم، زی‌توده و شناسایی قرار گرفتند (Proshkina-Lavrenko & Makarova, 2003; Zabelina et al.; 1968; Wehr and Sheath, 2003; Morosova-Vodanidskaya; 1951; Eker et al.; 1968; Piroshkina et al.; 1962; Prescott; 1956; Kiselev al., 1999; کاسیموف، ۲۰۰۰).



شکل ۱. ایستگاه‌های نمونه‌برداری فیتوپلانکتون حوزه جنوبی دریای خزر از سال ۱۳۷۲

(A=10, B=20, C=50, D=100) (حداکثر عمق به متر)

## نتایج و بحث

### ساختار جمعیتی و تنوع گونه‌ای فیتوپلانکتون

در این مطالعه مجموعاً ۳۹۷ گونه فیتوپلانکتون از ۸ شاخه Bacillariophyta (۱۹۰ گونه)، Cyanophyta (گونه)، Euglenophyta (۲۵ گونه)، Chrysophyta (۴ گونه)، Chlorophyta (۸۰ گونه)، Pyrrophyta (۳۹ گونه)، Xanthophyta (۳ گونه) و Cryptophyta (۱ گونه) شناسایی شدند. بیشترین تنوع گونه‌ای فیتوپلانکتون در حوزه

جنوبی دریای خزر را شاخه Bacillariophyta با ۱۹۰ گونه به خود اختصاص داده است. شاخه های Chlorophyta ، Cyanophyta و Pyrrophyta به ترتیب در رتبه بعدی از نظر تنوع گونه‌ای فیتوپلانکتون حوزه جنوبی دریای خزر قرار گرفتند. در بررسی پژوهشگران فیتوپلانکتون دریای خزر بیشترین تنوع گونه‌ای به ترتیب متعلق به شاخه‌های Bacillariophyta ، Pyrrophyta و Cyanophyta بوده است (Salmanov, 1987; Kasymov and Bagirov, 1983;; Ganjian and Hosseini, 1998, Ganjian and Makhlogh, 2003; Ganjian *et al.*, 2004a,b; Ganjian, 2007).

مطالعات بسیار کمی درباره تنوع زیستی فیتوپلانکتون در دریای خزر وجود دارد (CEP, 2000; Ganjian *et al.*, 2010; Ganjian, 2011). داده‌های سال‌های ۱۹۹۲-۱۹۹۳ حوزه جنوبی دریای خزر نشان داد که فیتوپلانکتون با ۱۴۶ گونه مربوط به ۵ شاخه از فیتوپلانکتون‌ها بوده است (Ganjian *et al.*, 1998, and Ganjian *et al.*, 2010 and Ganjian, 2011)

تهامی و همکاران (۱۳۹۲) در طی سال‌های ۱۳۹۰-۱۳۸۹، در مجموع ۱۷۲ گونه فیتوپلانکتون از ۷ شاخه Bacillariophyta, Pyrrophyta, Cyanophyta, Chlorophyta, Euglenophyta, Xantophyta و Chrysophyta را شناسایی نمودند که ۸۱ گونه مربوط به شاخه Bacillariophyta، ۲۵ گونه مربوط به Pyrrophyta، ۳۳ گونه مربوط به Cyanophyta، ۳۱ گونه Chlorophyta، ۹ گونه Euglenophyta و شاخه‌های Chrysophyta و Xantophyta هر کدام دارای ۱ گونه بودند.

گزارش فیتوپلانکتون حوزه جنوبی دریای خزر در طول سال‌های (۱۹۹۴-۲۰۰۷) با ۳۳۴ گونه از ۸ شاخه فیتوپلانکتون تشکیل شده که شاخه های Bacillariophyta, Chlorophyta و Cyanophyta گونه اصلی را تشکیل دادند که به ترتیب دارای فراوانی ۴۷٪، ۱۹٪ و ۱۶٪ بودند. در طول دوره تحقیق، بیشترین تعداد گونه‌های فیتوپلانکتون متعلق به Bacillariophyta و بیشترین تعداد گونه‌های ثبت شده در بخش جنوبی دریای خزر بوده است (Ganjian, 2011). در مطالعات دیگری (گنجیان و همکاران، ۲۰۰۴ و گل آقایی و همکاران، ۱۳۹۱ و مخلوق و همکاران ۱۳۹۱) تراکم گروه اصلی فیتوپلانکتون مربوط به Bacillariophyta بوده است.

جدول ۱. چک لیست فیتوپلانکتون حوزه جنوبی دریای خزر

Bacillariophyta: 190		
	<i>Coscinodiscus sp.</i>	<i>Gyrosigma scalproides</i>
<i>Actinocyclus ehrenbergii</i>	<i>Cyclotella caspia</i>	<i>Gyrosigma spenceri</i>
<i>Actinocyclus paradoxus</i>	<i>Cyclotella kuetzingiana</i>	<i>Gyrosigma strigile</i>
<i>Amphora ovalis</i>	<i>Cyclotella meneghiniana</i>	<i>Gyrosigma variabile</i>
<i>Amphora sp.</i>	<i>Cyclotella quadriuncta</i>	<i>Meiosira varians</i>
<i>Asterionella Formosa</i>	<i>Cymatopleura solea</i>	<i>Melosira sp.</i>
<i>Bacillaria paradoxa</i>	<i>Cymbella cistula</i>	<i>Melosira granulate</i>

<i>Calenoides</i> sp.	<i>Cymbella cymbiformis</i>	<i>Melosira italic</i>
<i>Caloneis amphisbaena</i>	<i>Cymbella lanceolata</i>	<i>Melosira juergensii</i>
<i>Campylodiscus</i> sp.	<i>Cymbella parva</i>	<i>Melosira moniliformis</i>
<i>Campylodiscus clypeus</i>	<i>Cymbella prostrate</i>	<i>Melosira</i> sp.
<i>Campylodiscus echeneis</i>	<i>Cymbella</i> sp.	<i>Melosira varians</i>
<i>Cerataulina pelagica</i>	<i>Cymbella tumida</i>	<i>Navicula anglica</i>
<i>Chaetoceros convolutes</i>	<i>Cymbella ventricosa</i>	<i>Navicula bombus</i>
<i>Chaetoceros peruvianus</i>	<i>Diatoma bombus</i>	<i>Navicula cryptocephala</i>
<i>Chaetoceros simplex</i>	<i>Diatoma digitale</i>	<i>Navicula cuspidate</i>
<i>Chaetoceros diversicurvatus</i>	<i>Diatoma ochki</i>	<i>Navicula fluens</i>
<i>Chaetoceros mirabilis</i>	<i>Diatoma ochki</i> sp.	<i>Navicula forcipata</i>
<i>Chaetoceros muelleri</i>	<i>Diatoma</i> sp.	<i>Navicula gibbula</i>
<i>Chaetoceros rigidus</i>	<i>Diatoma vulgare</i>	<i>Navicula gracilis</i>
<i>Chaetoceros socialis</i>	<i>Diploneis bombus</i>	<i>Navicula gregaria</i>
<i>Chaetoceros</i> sp.	<i>Diploneis interrupta</i>	<i>Navicula kotschy</i>
<i>Chaetoceros</i> sp.	<i>Diploneis</i> sp.	<i>Navicula lanceolata</i> var. <i>arenaria</i>
<i>Chaetoceros subtilis</i>	<i>Diploneis subovalis</i>	<i>Navicula laterostrata</i>
<i>Chaetoceros thronsdonii</i>	<i>Epithemia</i> sp.	<i>Navicula menisculus</i>
<i>Chaetoceros wghamii</i>	<i>Fragilaria</i> sp.	<i>Navicula pusilla</i>
<i>Chetoserus mueelleri</i>	<i>Fragilaria subsalina</i>	<i>Navicula simplex</i>
<i>Chetoserus rigidus</i>	<i>Fragilaria capucina</i>	<i>Navicula</i> sp.
<i>Cocconeis hustedtii</i>	<i>Gomphonema angustatum</i>	<i>Navicula</i> sp1.
<i>Cocconeis gigas</i> sp1.	<i>Gomphonema bohemicum</i>	<i>Navicula</i> sp2.
<i>Cocconeis placentula</i>	<i>Gomphonema olivaceum</i>	<i>Navicula spicula</i>
<i>Cocconeis scutellum</i>	<i>Gomphonema olivaceum</i> var. <i>calcareum</i>	<i>Navicula subrhombica</i>
<i>Cocconeis skvortzowii</i>	<i>Gomphonema salinarum</i>	<i>Nitzschia thermalis</i>
<i>Cocconeis</i> sp.	<i>Gomphonema</i> sp.	<i>Nitzschia tenuirostris</i>
<i>Coscinodiscus eccentricus</i>	<i>Gomphonema</i> sp1.	<i>Nitzschia acicularis</i>
<i>Coscinodiscus gigas</i>	<i>Gomphonema</i> sp2.	<i>Nitzschia closterium</i>
<i>Coscinodiscus granii</i>	<i>Gomphonema subsalinum</i>	<i>Nitzschia constricta</i>
<i>Coscinodiscus jonesianus</i>	<i>Gyrosigma acuminatum</i>	<i>Nitzschia distans</i>
<i>Coscinodiscus perforatus</i>	<i>Gyrosigma attenuatum</i>	<i>Nitzschia fonticola</i>
<i>Coscinodiscus proximus</i>	<i>Gyrosigma kuetzingii</i>	<i>Nitzschia holsatica</i>
<i>Coscinodiscus radiates</i>	<i>Gyrosigma peisone</i>	<i>Nitzschia hungarica</i>
<i>Nitzschia sublinearis</i>	<i>Pinnularia</i> sp.	<i>Stephanodiscus binderana</i>
<i>Nitzschia tryblionella</i>	<i>Pleurosigma angulatum</i>	<i>Stephanodiscus dubius</i>

<i>Nitzschia acicularis</i>	<i>Pleurosigma delicatulum</i>	<i>Stephanodiscus hantzschii</i>
<i>Nitzschia closterium</i>	<i>Pleurosigma ehrenbergii</i>	<i>Stephanodiscus socialis</i>
<i>Nitzschia reversa</i>	<i>Pleurosigma elongatum</i>	<i>Stephanodiscus</i> sp.
<i>Nitzschia seriata</i>	<i>Pleurosigma salinarum</i>	<i>Surirella arcata</i>
<i>Nitzschia sigma</i>	<i>Pleurosigma</i> sp.	<i>Surirella ovalis</i>
<i>Nitzschia sigmoidea</i>	<i>seriata Pseudonitzschia</i>	<i>Surirella robusta</i>
<i>Nitzschia</i> sp.	sp <i>Pseudonitzschia</i>	<i>Surirella</i> sp.
<i>Nitzschia lanceolata</i>	<i>Rhicosphenia curvata</i>	<i>Synedra acus</i>
<i>Nitzschia longissima</i>	<i>Rhizosolenia calcar-avis</i>	<i>Synedra amphirhynchus</i>
<i>Nitzschia lorenziana</i>	<i>Rhizosolenia fragilissima</i>	<i>Synedra pulchella</i>
<i>Nitzschia parva</i>	<i>Rhoicosphenia curvata</i>	<i>Synedra</i> sp.
<i>Nitzschia reversa</i>	<i>Rhoicosphenia</i> sp.	<i>Synedra ulna</i>
<i>Nitzschia sigma</i>	<i>Rhopalodia gibba</i>	<i>Tabellaria intermedia</i>
<i>Nitzschia sigmoidea</i>	<i>Rhopalodia</i> sp.	<i>Thalassionema nitzschoide</i>
<i>Nitzschia</i> sp.	<i>Skeletonema costatum</i>	<i>Thalassiosira</i> sp.
<i>Nitzschia</i> sp1.	<i>Skeletonema subsalsum</i>	<i>Thalassiosira aculeata</i>
<i>Nitzschia</i> sp <sup>۲</sup> .	<i>Skeletonema costata</i>	<i>Thalassiosira caspica</i>
<i>Nitzschia</i> sp3.	<i>Skeletonema costatum</i>	<i>Thalassiosira hustedtii</i>
<i>Nitzschia sublinearis</i>	<i>Skeletonema subsalsum</i>	<i>Thalassiosira parva</i>
<i>Nitzschia tenuis</i>	<i>Stephanodiscos hantzschii</i>	<i>Thalassiosira variabilis</i>
<i>Pinnularia interrupta</i>	sp <i>Stephanodiscos</i>	

## Chlorophyta : 80

<i>Actinastrum hantzschii</i>	<i>Coelastrum microporum</i>	<i>Pandorina charkoriensis</i>
<i>Actinastrum hantzschii</i>	<i>Coelastrum</i> sp.	<i>Pandorina morum</i>
<i>Ankistrodesmus acicularis</i>	<i>Crucigenia crucifera</i>	<i>Pediasreum tetras</i>
<i>Ankistrodesmus arcuatus</i>	<i>Crucigenia lauterbornii</i>	<i>Pediastrum boryanum</i>
<i>Ankistrodesmus convolutus</i>	<i>Crucigenia quadrata</i>	<i>Pediastrum integrum</i>
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	<i>Crucigenia quadrata</i>	<i>Pediastrum simplex</i>
<i>Ankistrodesmus lauterborn</i>	<i>Crucigenia rectangularis</i>	<i>Pediastrum</i> sp.
<i>Ankistrodesmus</i> sp.	<i>Crucigenia</i> sp.	<i>Scenedesmus abundans</i>
<i>Ankistrodesmus</i> sp.	<i>Crucigenia westella</i>	<i>Scenedesmus acuminatus</i>
<i>Binuclearia lauterbornii</i>	<i>Dictyosphaerium ehrenborgianum</i>	<i>Scenedesmus armatus</i>
<i>Binuclearia</i> sp.	<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>	<i>Scenedesmus bijuga</i>
<i>Chlamydomonas</i> sp.	<i>Echinosphaerella</i> sp.	<i>Scenedesmus bijugatus</i>
<i>Chlamydomonas floscularia</i>	<i>Eudorina</i> sp.	<i>Scenedesmus denticulatus</i>
<i>Chlamydomonas globosa</i>	<i>Golenkinia Paucispina</i>	<i>Scenedesmus obliquus</i>
<i>Chlamydomonas olifani</i>	<i>Golenkinia</i> sp.	<i>Scenedesmus quadricauda</i>

<i>Chlamydomonas ovalis</i>	<i>Gonium pectoral</i>	<i>Scenedesmus quadricauda</i>
<i>Chlamydomonas</i> sp1	<i>Monoraphidium contractum</i>	<i>Scenedesmus</i> sp.
<i>Chlorella</i> sp.	<i>Mougeotia</i> sp.	<i>Schroderia</i> sp.
<i>Chodatella breviseta</i>	<i>Oedogonium</i> sp.	<i>Schroderia setigera</i>
<i>Chodatella</i> sp.	<i>Oocystis nodulosa</i>	<i>Schroderia</i> sp.
<i>Clamidiomonas ovalis</i>	<i>Oocystis borgei</i>	<i>Selenastrum bibrajanum</i>
<i>Clamidomonas</i> sp.	<i>Oocystis composite</i>	<i>Selenastrum</i> sp.
<i>Closterium sphericum</i>	<i>Oocystis parva</i>	<i>Staurastrum tetracerus</i>
<i>Closterium moniliferum</i>	<i>Oocystis socialis</i>	<i>tetraedron</i> sp.
<i>Closterium</i> sp.	<i>Oocystis solitaria</i>	<i>Tetraselmis</i> sp.
<i>Codotella</i> sp.	<i>Oocystis</i> sp.	<i>tetrastrum</i> sp.
<i>Coelastrum Microporum</i>	<i>Crucigenia westella</i>	

---

**Cyanophyta: 55**


---

<i>Anabaena bergii</i>	<i>Aphanocapsa crassa</i>	<i>Nodularia harveyana</i>
<i>Anabaena aphanizomenides</i>	<i>Aphanotece</i> sp.	<i>Nodularia spumigena</i>
<i>Anabaena kisselevii</i>	<i>Aphanothece elabens</i>	<i>Nodularia harrayana</i>
<i>Anabaena reniformis</i>	<i>Aphanothece</i> sp.	<i>Nostoc linckia</i>
<i>Anabaena</i> sp.	<i>Aphanozonema issatschenkoi</i>	<i>Nostoc</i> sp.
<i>Anabaena sphaerica</i>	<i>Chroococcus pallidus</i>	<i>Oscillatoria bonnemaisonii</i>
<i>Anabaena spiroides</i>	<i>Chroococcus</i> sp.	<i>Oscillatoria agardhii</i>
<i>Anabaena spiroides</i>	<i>Gloeocapsa Limnetica</i>	<i>Oscillatoria chalybea</i>
<i>Anabaena subcylindrica</i>	<i>Gloeocapsa minor</i>	<i>Oscillatoria geminate</i>
<i>Anabaenopsis arnoldii</i>	<i>Gomphosphaeria aponina</i>	<i>Oscillatoria geminate</i>
<i>Anabaenopsis cunningtonii</i>	<i>Lyngbya limnetica</i>	<i>Oscillatoria limosa</i>
<i>Anabaenopsis elenkinii</i>	<i>Lyngbya birgei</i>	<i>Oscillatoria</i> sp.
<i>Anabaenopsis nadsonii</i>	<i>Lyngbya limnetica</i>	<i>Oscillatoria tenuis</i>
<i>Anabaenopsis raciborskii</i>	<i>Lyngbya</i> sp.	<i>Phormidium</i> sp.
<i>Anabaenopsis</i> sp.	<i>Lyngbya</i> sp.	<i>Phormidium tenue</i>
<i>Anabaenopsis</i> sp1.	<i>Lyngbya spiralis</i>	<i>Scytonema hofmanni</i>
<i>Aphanizomenon elabens</i>	<i>Merismopedia minima</i>	<i>Spirulina anabaena</i>
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	<i>Merismopedia punctate</i>	<i>Spirulina laxissima</i>
<i>Aphanizomenon forti</i>	<i>Microcystis aeruginosa</i>	<i>Spirulina</i> sp.
<i>Aphanizomenon</i> sp.	<i>Microcystis minima</i>	<i>Spirulina subtilissima</i>
<i>Aphanizominon</i> sp.	<i>Microcystis pulvereae</i>	<i>Spirulina tenuis</i>
<i>Aphanizominon ussaczewii</i>	<i>Microcystis</i> sp.	<i>Lyngbya</i> sp.
<i>Oscillatoria agardhii</i>	<i>Nodularia spumigena</i>	<i>Oscillatoria limosa</i>

---

<b>Pyrrophyta: 39</b>		
<i>Exuviaella cordata</i>	<i>Goniaulax monacantha</i>	<i>Peridinium grani</i>
<i>Exuviaella marina</i>	<i>Goniaulax polyedra</i>	<i>Peridinium inconspicuum</i>
<i>Glenodinium behningii</i>	<i>Goniaulax</i> sp.	<i>Peridinium latum</i>
<i>Glenodinium capsicum</i>	<i>Goniaulax spinifera</i>	<i>Peridinium</i> sp.
<i>Glenodinium danicum</i>	<i>Gymnodinium lacustre</i>	<i>Peridinium subsalsum</i>
<i>Glenodinium lenticular</i>	<i>Gymnodinium rhomboids</i>	<i>Peridinium thricoidum</i>
<i>Glenodinium lenticula f.minor</i>	<i>Gymnodinium</i> sp.	<i>Prorocentrum micans</i>
<i>Glenodinium penardii</i>	<i>Gymnodinium variabile</i>	<i>Prorocentrum obtusum</i>
<i>Glenodinium</i> sp.	<i>Lyngbya limnetica</i>	<i>Prorocentrum praximum</i>
<i>Glenudinium danicum</i>	<i>Peridinium achromaticum</i>	<i>Prorocentrum proximum</i>
<i>Goniaulax digitale</i>	<i>Peridinium cinctum</i>	<i>Prorocentrum scutllum</i>
<i>Goniaulax minima</i>	<i>Peridinium digital</i>	
<b>Euglenophyta: 25</b>		
<i>Euglena acus</i>	<i>Euglena</i> sp1.	<i>Trachelomonas planctonica</i>
<i>Euglena anabaena</i>	<i>Euglena</i> sp2.	<i>Trachelomonas</i> sp.
<i>Euglena caudate</i>	<i>Euglena</i> sp3.	<i>Trachelomonas</i> sp1.
<i>Euglena ehrenbergii</i>	<i>Trachelomonas</i> sp3.	<i>Trachelomonas</i> sp2.
<i>Euglena euglena</i>	<i>Euglena tuba</i>	<i>Trachelomonas spiculifera</i>
<i>Euglena gracilis</i>	<i>Euglena viridis</i>	<i>Trachelomonas tambowica</i>
<i>Euglena mutabilis</i>	<i>Euglena wangi</i>	<i>Trachelomonas verrucosa</i>
<i>Euglena proxima</i>	<i>Phacus</i> sp.	<i>Tracholemonas similis</i>
<i>Euglena</i> sp.		
<b>Chrysophyta: 4</b>		
<i>Dinobryon bavaricum</i>	<i>Dinobryon</i> sp.	<i>Mallomonas</i> sp.
<i>Dinobryon sertularia</i>		
<b>Xantophyta: 3</b>		
<i>Teribonema</i> sp.	<i>Tribonema volgar</i>	<i>Teribonema</i> sp1.
<b>Cryptophyta: 1</b>		
<i>Cryptonema Marconi</i>		

## منابع

هاشمیان، ع.، نصراله زاده، ح.، واحدی، ف.، جوانشیر، ا.، نیکویان، ع.، ربانیها، م.، کرباسی، ع.، ملکزاده، ر.، فاطمی، م.ر.، سلمانی، ع.، نجف پور، ش.، واردی، ا.، یونس پور، ح.، نصراله تبار، ع.، علوم، ی.، امانی، ق.، شیخ الاسلامی، ع.، روشن طبری، م.، رستمیان، م.ت.، روحی، ا.، گنجیان،



ع.، مخلوق، ا.، تهامی، ف. س.، کیهان ثانی، ع.، سالاروند، غ.، فراخی، ع.، غلامی پور، س.، افرایمی، م. ع. ۱۳۸۴. هیدرولوژی و هیدروبیولوژی و آلودگی های زیست محیطی در اعماق کمتر از ۱۰ متر حوزه جنوبی دریای خزر. پژوهشکده اکولوژی دریای خزر. ۱۸۵ صفحه.

لالوئی، ف.، روشن طبری، م.، نجف پور، ش.، واردی، ا.، واحدی، ف.، رستمیان، م. ت.، هاشمیان، ع.، گنجیان، ع.، تکمیلیان، ک.، کیا کجوری، م.، غلامپور، س.، روحی، ا.، نصراله زاده، ح.، تهامی، ف. س.، سالاروند، غ.، صابری، ی.، میرزاجانی، ع. و مخلوق، آ. ۱۳۸۱. گزارش پروژه بررسی هیدرولوژی و هیدروبیولوژی و آلودگی های زیست محیطی حوزه جنوبی دریای خزر (اعماق ۲ تا ۸۰۰ متر)، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ۳۹۴ صفحه.

گنجیان، ع.، خیرون، ی.، فضلی، ح.، فارابی، م.، روحی، ا.، مکرمی، ع. و لاریمی، ا. ز. ۱۳۸۷. تاثیر شانه دار *Mnemiopsis leidyi* بر روی ساختار جمعیتی فیتوپلانکتون حوزه جنوبی دریای خزر

گل آقایی، م.، تهامی، ف. س.، مخلوق، ا.، گنجیان، ع.، کیهان ثانی، ع.، دوستدار، م.، اسلامی، ف.، نصراله تبار، ع.، خداپرست، ن.، مکرمی، ع.، پورمند، ت. م. ۱۳۹۱. بررسی پراکنش فیتوپلانکتون در حوزه جنوبی دریای خزر در سال ۱۳۸۷، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ۱۳۰ صفحه.

مخلوق، ا.، نصراله زاده، ح.، فارابی، س. م. و.، روشن طبری، م.، اسلامی، ف.، رحمتی، ر.، تهامی، ف. س.، کیهان ثانی، ع.، دوستدار، م.، خداپرست، ن.، گنجیان، ع.، مکرمی، ع. ۱۳۹۰. گزارش پروژه بررسی تنوع، بیوماس و فراوانی فیتوپلانکتون در منطقه جنوبی دریای خزر. پژوهشکده اکولوژی دریای خزر. ۱۳۲ صفحه.

حسینی، س. ع.، روشن طبری، م.، سلیمانی رودی، ع.، مخلوق، ا.، تکمیلیان، ک.، روحی، ا.، رستمیان، م. ت.، گنجیان، ع.، واردی، ا.، کیهان ثانی، ع.، واحدی، ف.، نجف پور، ش.، نصراله زاده، ح.، هاشمیان، ع.، تهامی، ف. س.، لالویی، ف.، غلامی پور، س.، علمی، ی.، سالاروند، غ. 1390. هیدرولوژی و هیدروبیولوژی حوزه جنوبی دریای خزر. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۵۱۰ صفحه.

روشن طبری، مژگان، پریسا نجات خواه، عباس حسینی، نوربخش خداپرست، و محمد تقی رستمیان. ۱۳۸۶. پراکنش زئوپلانکتون حوزه جنوبی دریای خزر در زمستان ۱۳۸۴ و مقایسه آن با سال های قبل. فصلنامه علوم و تکنولوژی محیط زیست، (۴)، ص ۱۳۷-۱۲۹.

تهامی، ف. س.، پورغلام، ر.، نصراله زاده، ح.، مخلوق، آ.، یوسفیان، م.، خداپرست، ن.، کیهان ثانی، ع.، دوستدار، م.، نادری، م.، رمضانی، ح.، رحمتی، ر.، رضایی، م.، فلاحی، م. ۱۳۹۲. گزارش پروژه بررسی تنوع، بیوماس و فراوانی فیتوپلانکتون در منطقه جنوبی دریای خزر. پژوهشکده اکولوژی دریای خزر. ۱۱۱ صفحه.

علی گنجیان، سید عباس حسینی، علیرضا کیهان ثانی و معصومه خسروی ۱۳۷۷. بررسی تراکم و پراکنش گروه های عمده فیتوپلانکتون حوزه جنوبی دریای خزر. بولتن علمی شیلات. شماره ۲ سال هفتم ص ۱۰۷.

علی گنجیان و آسیه مخلوق ۱۳۸۲. بررسی پراکنش گروه های عمده فیتوپلانکتونی حوزه جنوبی دریای خزر با تاکید بر کریزوفیتا (دیاتوم ها) و پیروفیتا (دوتاژ کداران). بولتن علمی شیلات. شماره ۱ سال ۱۲ ص ۱۵۸

APHA (American Public Health Association), 2005. Standard method for examination of water and wastewater. Washington. USA: American Public Health Association Publisher, 18th edition, 1113 pp.

Ganjian A, and Hossaini A. (1998). The density and distribution Of the dominant Phytoplankton in the southern part of CaspianSea , Iranian Journal of Fisheries Sciences Vol.7 . 107p.

Ganjian, A, and Makhlogh A. (2003). The distribution pattern of phytoplankton Chrysophyta and pyrophyta in the southern part of CaspianSea , Iranian Journal of Fisheries Sciences Vol.12, 158p.

- Ganjian A., Fazli H., Mokhlogh A., and Kiyhansani A. (2004b). The distribution survey of phytoplankton in the southern part of Caspian Sea, Environmental Sciences, Vol 1, No. 4. 86p.
- Ganjian A, 2007. Distribution, abundance and biomass of phytoplankton in the southern part of Caspian Sea (In Iranian waters) Thesis submitted in fulfillment of the requirement for the degree of Master of Science June 2007. School of Biological Sciences University Sciences Malaysia. 144p.
- Ganjian A.; W. O. Wan Maznah; Kh. Yahya; H. Fazli; M. Vahedi; A. Roohi and S.M.V. Farabi ۲۰۱۰. Seasonal and regional distribution of phytoplankton in the southern Part of Caspian Sea. Iranian Journal of Fisheries Sciences (IJFS). 9(3)382-401
- Eker E., L., Georgieva, L. Senichkina and Kideys, A. E. (1999). Phytoplankton distribution in the western and eastern Black Sea in spring and autumn 1995. ICES Journal of Marine Science 56: 15–22.
- Kosarev, A.N. & Yablonskaya, E.A. 2002. The Caspian Sea. SPB. The Haque. 259 p.
- Kasymov, A.G. (1987). Wildlife of the Caspian Sea. Baku: 156 p.
- Kasymov, A.G., Bagirov, R.M. (1983). Biology of the modern Caspian Sea. Baku. 184 pp.
- Kasimov, A. (2000). Methods of monitoring in Caspian Sea. QAPP-POLIQRAF., 57 pp.
- Sourina, A. (1978). Phytoplankton Manual Unesco, Paris. 340 p.
- Prescott, G.W. (1962). Algae of the western Great Lakes area. Michigan, U.S.A. 333p.
- Proshkina-Lavrenko, A.I. & Makrova, I.V. (1968). The Plankton Algae of the Caspian Sea. L. Science, 291 P.
- Plotnikov I., Aladin N., Cretaux J.-F., Micklin Ph., Chuikov Yu., Smurov A. 2006. Biodiversity and recent exotic invasions of the Caspian Sea *Limnology*, 2259-2262 p.
- Roohi, A. 2009. Population dynamic and effects of the invasive species Ctenophore *Mnemiopsis leidyi* in the Southern Caspian Sea. University Sains, Malaysia, 152p., .
- Zablina, M., Kilef, I.A., Piroskina, A.I. Laverinko, ShiShikoma, S. (1951). Daitoms Algae. Moscow. Governmental Publication in UUSR 4th edition. 650p.

## Cheklis of Phytoplankton species in the southern part of Caspian Sea

Ali Ganjian Khanari

### Abstract

In this study, 397 phytoplankton species were recorded in the in the southern part of Caspian Sea (SCS), Bacillariophyta contributed 190 species, Chlorophyta 80 species, Cyanophyta 55 species, Pyrrophyta 39 species, Euglenophyta 25 species, Chrysophyta 4 species, Xanthophyta 3 species and Cryptophyta 1 species. During the research period, the highest number of phytoplankton species belongs to Bacillariophyta and the highest number of species recorded in the southern part of Caspian Sea.

**Keywords:** Phytoplankton, Bacillariophyta, Species diversity, (SCS).