فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال سیزدهم، شماره چهارم، زمستان ۱۴۰۴

مقاله پژوهشی

تاثیر pH بر رشد و ریخت‌شناسی سلولی جمعیت جلبک سبز (Chlorophyceae) *Scenedesmus quadricauda*

امیدوار فرهادیان[1]*، صفی‌اله حیدری[2]

DOI: 10.22124/japb.2025.27051.1536
تاریخ دریافت: اسفند ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۴

چکیده

در این مطالعه تراکم، رشد و تغییرات ریخت‌شناختی سلول‌ها در جمعیت جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* در pHهای ۶، ۶/۵ ، ۷ و ۸ در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. آزمایش به صورت یک طرح کاملا تصادفی به مدت ۲۱ روز انجام شد. نتایج نشان داد که افزایش تراکم جمعیت *S. quadricauda* پرورش داده شده در pHهای ۷ و ۸ در طی آزمایش بیشتر از pHهای ۶ و ۶/۵ بود. بالاترین میزان تراکم سلولی ($۴۴۲/۷\times۱۰^{۳}$ سلول در میلی‌لیتر)، بیشترین میزان رشد ویژه (۰/۰۹۸ در روز) و کمترین زمان دو برابر شدن جمعیت (۷ روز) در pH ۸ به دست آمد. ریخت‌شناسی سلولی جمعیت *S. quadricauda* (بر اساس تعداد سلول‌ها در هر کلونی) در طی دوره آزمایش دچار تغییرات قابل‌ملاحظه‌ای شد. در pHهای ۶ و ۶/۵ کلونی‌های دارای تنها یک سلول غالب بودند، در حالی که در pHهای ۷ و ۸ کلونی‌های جمعیت عمدتا تمایل به بیش از یک سلول داشتند. همچنین یافته‌های این آزمایش نشان داد درصد کلونی‌های چهار سلولی در جمعیت رشد کرده در pH ۸ بیشتر از pHهای دیگر بود. به طور کلی، پاسخ *S. quadricauda* به افزایش pH موجب کاهش جمعیت تک‌سلولی‌ها و افزایش تشکیل کلونی‌های با بیش از یک سلول (عمدتا کلونی‌های چهار سلولی) شد.

واژگان کلیدی: *جلبک سبز، Scenedesmus quadricauda، pH، میزان رشد ویژه، تشکیل کلونی.*

۱- دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.
۲- دانشجوی دکتری شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.
* نویسنده مسئول: omfarhad@iut.ac.ir

مقدمه

ریزجلبک‌ها به علت وجود مزایایی همچون تولید زیست‌توده (Biomass) ارزشمند، عدم ایجاد آلودگی اضافی، بازچرخ مواد مغذی، تکنولوژی ساده، کارایی بالا و هزینه پایین در حذف مواد مغذی به‌ویژه نیتروژن، فسفر و آلاینده‌های دیگر مفید است (De La Noue and Proulx, 1988; Tam and Wong, 1989). ریزجلبک‌هایی مانند *Scenedesmus quadricauda*، به علت رشد بالا و مقاومت به دست‌کاری در سیستم‌های پرورشی و همچنین تکنولوژی ساده و ارزان تولید، می‌توانند در تصفیه پساب مفید باشند. جلبک سبز *S. quadricauda* ساکن آب‌های شیرین و شاخص زیستی این محیط‌ها است. سلول‌های این جلبک غیرمتحرک و فاقد تاژک است و گاهی اوقات تشکیل کلونی می‌دهد (Bellinger and Sigee, 2010). تشکیل کلونی به وسیله جلبک‌های پلانکتونی ممکن است یک راهبرد معمول دفاعی در مقابل شاخص‌های محیطی و غیرزنده مانند دما و شوری آب و یا شاخص‌های زنده مانند فشار چراکنندگی (Grazing) و یا تولید سموم زیستی در اکوسیستم‌های آبی باشد (Trainor, 1992; Wasmund, 1992; Kyong et al., 2001). وجود سلول‌های منفرد و تشکیل کلونی در گونه جلبکی *S. quadricauda* این امکان را فراهم می‌کند که اثرات عوامل مختلف زنده و غیرزنده در اکوسیستم‌های آبی در مطالعات میدانی و آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گیرد. با توجه به این که این جلبک در شرایط گوناگون می‌تواند به صورت تک سلولی تا کلونی با هشت سلول را تشکیل دهد، از این رو نقش مهمی در تولید زیست‌توده جلبکی در آب‌ها دارد و به پژوهشگران در پی بردن به پاره‌ای از اطلاعات زیست‌شناختی سلولی در جلبک‌های میکروسکوپی کمک خواهد کرد.

غلظت یون‌های هیدروژن نقش اساسی در تعیین مرزهای وجود ماده زنده بازی می‌کند. بیشتر موجودات زنده در pH بین ۴ تا ۹ وجود دارند. اگر مقدار pH به مقادیر حاد خود نزدیک نشود، جوامع می‌توانند با تغییر شدت تنفس و عملکرد سیستم‌های آنزیمی بدن این عامل را تنظیم کنند (Gaysina, 2024). یکی از عوامل مهم در اکوسیستم‌های آبی pH آب است که نقش مهمی در رابطه با زیستمندان آبی و همچنین در قابلیت دسترسی مواد غذایی، تجزیه‌های میکروبی در فرایندهای زیستی و احیای مواد مغذی و کاهش اثرات زیان‌آور بعضی از یون‌های فلزی (آلومینیوم، آهن و منگنز) از

طریق افزایش pH دارد. pH آب به عنوان یکی از مهم‌ترین متغیرهای محیطی، نه تنها بر رشد، بلکه بر دفاع ریخت‌شناختی القایی در فیتوپلانکتون‌ها تاثیر می‌گذارد (Yang et al., 2016) و چنانچه این مقدار به کمتر از ۵ برسد عملا رشد جلبک‌ها متوقف می‌شود و از بین می‌روند. برای مثال می‌توان به پساب‌ها و آلاینده‌های آبی اشاره کرد که pH اسیدی دارند و به واسطه چنین مقدار پایین pH پتانسیل تصفیه و تیمار شدن توسط جلبک‌ها را از دست می‌دهند (Delince, 1992).

علاوه بر این که درباره تشکیل کلونی‌های مختلف سندسموس با واسطه عواملی مانند شکارچیان زئوپلانکتونی (Kyong et al., 2001)، افزایش و یا کاهش عناصر غذایی (Yang et al., 2009) و نوسان در سطح مواد شیمیایی (Lurling and Van Donk, 1997; Von Elert and Franck, 1999) پژوهش‌هایی انجام شده است، مطالعات زیادی نقش و تاثیر pH بر رشد، تراکم سلول‌ها، حجم و ریخت‌شناسی سلولی و تولید زیست‌توده را در گونه‌های جلبکی دیگر مورد بررسی قرار داده‌اند (De Souza Santos et al., 2011; Alipour et al., 2014; Yang et al., 2016; Zhang et al., 2019; Yu et al., 2022; Hamdy and Iltayef, 2023; Nurafifah et al., 2023, Gaysina, 2024). جلبک‌ها تحمل وسیعی نسبت به pH دارند، اما محدودیت‌های مقاومت در برابر این عامل در نمایندگان گروه‌های مختلف سیستماتیک یکسان نیست (Gaysina, 2024). از آنجا که مطالعات قابل ملاحظه‌ای در مورد اثر pH بر متغیرهای رشد و ریخت‌شناسی جلبک سبز سندسموس تاکنون صورت نگرفته است، در این مطالعه تاثیر pHهای مختلف بر عملکرد رشد، تولید و همچنین تغییرات ریخت‌شناختی سلولی بر اساس تعداد سلول‌ها در کلونی‌های مختلف در جلبک سبز سندسموس *S. quadricauda* بررسی شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و خالص‌سازی جلبک

جمع‌آوری ریزجلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* از آب استخرهای خاکی کارگاه پرورش ماهی کرسگان در استان اصفهان صورت گرفت. جلبک سندسموس پس از مشاهده با میکروسکوپ اینورت (CETI، بلژیک) به کمک کلیدهای موجود شناسایی شد و با روش Lavens و Sorgeloos در سال ۱۹۹۶ با کشت بر روی آگار خالص‌سازی شد. بعد از کشت‌های متوالی در لوله آزمایش ۲۰ میلی‌لیتری و ارلن

مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری و اطمینان از خالص بودن جلبک، پرورش جلبک در ارلن مایرهای ۲ لیتری با محیط کشت مناسب BBM انجام شد تا ذخیره اولیه (Stock) جلبک سندسموس برای انجام آزمایش فراهم شود (Lavens and Sorgeloos, 1996). برای کشت جلبک، ۲ لیتر آب مقطر در ارلن مایرهای شیشه‌ای ریخته شد و به آن مقدار ۲۶ میلی‌لیتری محیط کشت BBM اضافه شد. در مرحله بعد ظروف حاوی محیط کشت جلبک به همراه لوله‌های هوادهی و پنبه‌های کتانی مورد نیاز در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه اتوکلاو (121A، ایران تولید، ایران) ضدعفونی و استریل شد. پس از اتمام اتوکلاو و هم دما شدن با دمای آزمایشگاه، محلول ویتامین B طبق دستورالعمل اختصاصی کشت به ظرف کشت اضافه شد و سپس با رعایت شرایط استریل، به هم زده شد. ۲۰۰ میلی‌لیتری از ذخیره جلبک سندسموس (با غلظت 10^5 سلول در میلی‌لیتر) به محیط کشت دارای ویتامین اضافه شد و در دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۶۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه و در پروتکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داده شد (Nichols, 1973).

تیماربندی و بررسی رشد جلبک

به منظور ارزیابی جلبک *S. quadricauda* در سطوح مختلف pH، آزمایش به صورت یک طرح کاملا تصادفی شامل pHهای ۶، ۶/۵، ۷ و ۸ هر کدام در سه تکرار انجام شد. ابتدا ۱ لیتر از محیط کشت BBM برای هرکدام از تیمارها تهیه شد و آنگاه pH آن مطابق تیمارهای آزمایشی با اضافه کردن HCl یا NaOH با غلظت ۰/۱ نرمال با استفاده از pHمتر (744، Metrohm، سوئیس) تنظیم شد. سپس ۱۲ عدد ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری تهیه و به هرکدام، ۲۲۵ میلی‌لیتر از محیط کشت تهیه شده و ۲۵ میلی‌لیتر جلبک سندسموس (با غلظت 5×10^5 سلول در میلی‌لیتر) از قبل کشت داده شده، اضافه شد. شرایط کشت جلبک به روش شرح داده شده در مرحله قبل تنظیم شد. دوره آزمایش سه هفته در نظر گرفته شد. هر روز یک‌بار تراکم سلول‌های جلبکی تعیین و ترکیب تعداد سلول‌ها در هر کلونی به طور هفتگی تعیین شد.

شمارش جلبک‌ها با لام هموسیتومتر و به روش پیشنهاد شده توسط Martinez و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد. میزان رشد ویژه (SGR) و زمان دو برابر شدن (DT) جمعیت

جلبک‌ها با استفاده از رابطه‌های ۱ و ۲ محاسبه شد (Omori and Ikeda, 1984).

رابطه ۱:

$$SGR\ (day^{-1}) = (LnN_2 - LnN_1) / \Delta t$$

N_1: تعداد سلول‌های جلبک در ابتدای آزمایش؛ N_2: تعداد سلول‌های جلبک در انتهای آزمایش؛ Δt: مدت زمان انجام آزمایش (روز).

رابطه ۲:

$$DT\ (day) = Ln2 / SGR$$

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از پس‌آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<۰/۰۵$) استفاده شد. آزمون‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد و نمودارها در نرم‌افزار Microsoft Excel 2016 رسم شدند.

نتایج

تاثیر pH محیط کشت بر رشد و تولید در جمعیت سندسموس

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه تاثیر pHهای مختلف بر تراکم سلول، میزان رشد ویژه و زمان دو برابر شدن جلبک سندسموس در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد که مقدار pH تاثیر بسیار معنی‌داری بر این شاخص‌ها داشت ($P<۰/۰۱$؛ جدول ۱).

میانگین میزان تراکم در روزهای مختلف آزمایش (پرورش) در شکل ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد که افزایش جمعیت در pHهای ۷ و ۸ به مراتب در تمام دوره آزمایش بیشتر از pHهای ۶ و ۶/۵ بود با توجه به نمودارهای شکل ۱ مشخص شد که جمعیت سندسموس در هر ۷-۱۰ روز با توجه به میزان pH یک پیک جمعیت نسبتا ملایم را نشان داد.

مقایسه عملکرد تراکم، میزان رشد ویژه (SGR) و زمان دو برابر شدن جمعیت (Dt) در روز پایانی آزمایش (روز ۲۱ پرورش) در شکل ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که بالاترین میزان تراکم سلولی ($۴۴۲/۷\times۱۰^۳$ سلول در میلی‌لیتر)، میزان رشد ویژه (۰/۰۹۸ درصد در روز) و کمترین زمان دو برابر شدن جمعیت (۷ روز) در pH ۸ دیده شد.

تاثیر pH محیط کشت بر تشکیل کلونی در جمعیت سندسموس

تاثیرات pHهای مختلف محیط کشت بر تعداد سلول‌ها در هر کلونی از جمعیت سندسموس در شکل ۳ در هر میلی‌لیتر از

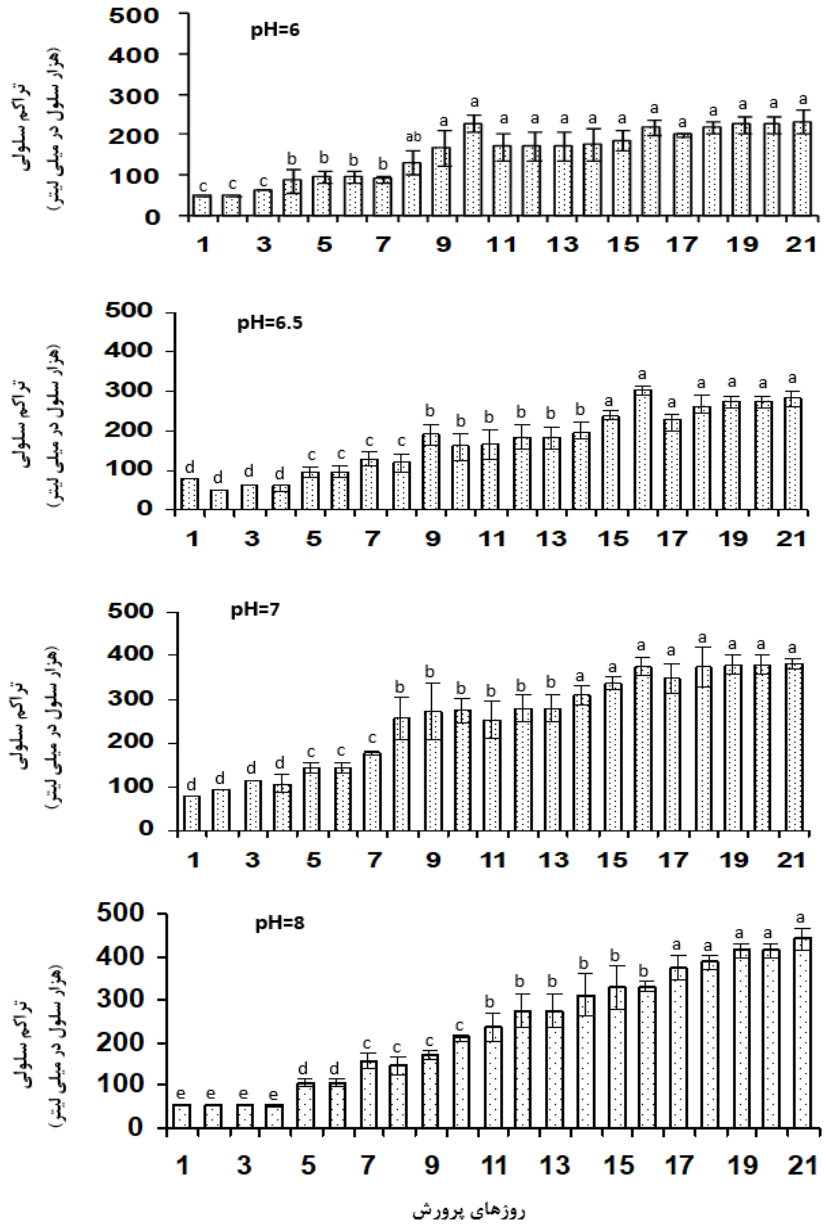
محیط کشت و در شکل ۴ بر حسب درصد از جمعیت کل در طی هفته‌های اول (1-wk)، دوم (2-wk) و سوم (3-wk) آزمایش ارائه شده است. نتایج نشان داد که کلونی‌های دارای تنها یک سلول در جمعیت سندسموس پرورش یافته در pHهای ۶ و ۶/۵ نسبت به بقیه کلونی‌ها غالب بود، در حالی که در کشت‌های با pHهای آغازین ۷ و ۸ کلونی‌های سندسموس دارای یک سلول به طور نسبی غالب نبود و جمعیت جلبک سندسموس عمدتا گرایش به تشکیل کلونی‌هایی با بیش از یک سلول داشت. در pH ۸ کلونی‌هایی مرکب از ۵، ۶، ۷ و ۸ سلول، صرف نظر از تراکم آنها، وجود داشت که در بین آنها کلونی‌های ۸ سلولی به وضوح مشاهده و مورد شمارش قرار گرفت. مقایسه نتایج به طور کلی نشان داد درصد کلونی با ۴ سلول در جمعیت رشد کرده با pH برابر ۸ به مراتب بیشتر از تیمارهای دیگر pH بود.

جدول ۱: نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه تاثیر pHهای مختلف (۶، ۶/۵، ۷ و ۸) بر شاخص‌های رشد جلبک *Scenedesmus quadricauda*

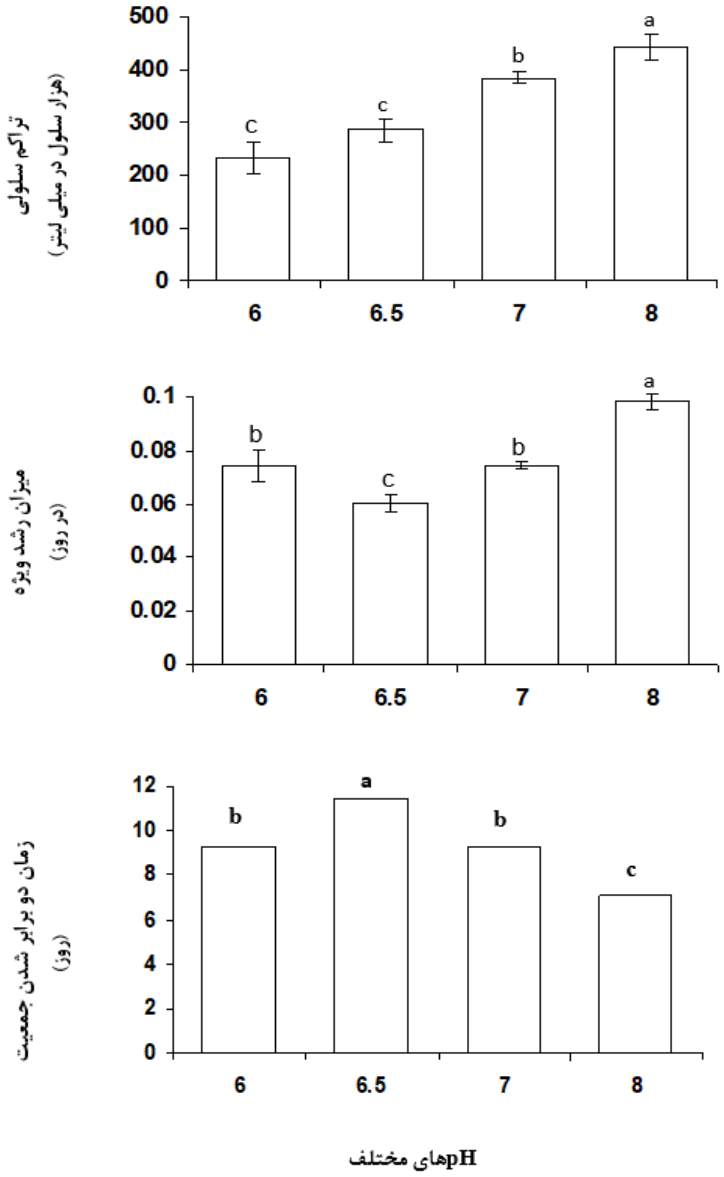
شاخص	منابع تنوع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	میزان F	سطح معنی‌داری
تراکم سلول	**تیمارها**	۳	$۸/۱\times۱۰^{۱۰}$	$۲/۷\times۱۰^{۱۰}$	۲۵/۴	**
	خطا	۸	$۸/۵\times۱۰^{۹}$	$۱/۱\times۱۰^{۹}$		
	کل	۱۱	$۸/۹\times۱۰^{۱۰}$			
SGR	**تیمارها**	۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۲۶/۱	**
	خطا	۸	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰		
	کل	۱۱	۰/۰۰۲			
DT	**تیمارها**	۳	۳۰/۰	۱۰/۰	۲۰/۳	**
	خطا	۸	۳/۹	۰/۵		
	کل	۱۱	۳۳/۹			

SGR: میزان رشد ویژه؛ DT: زمان دو برابر شدن.

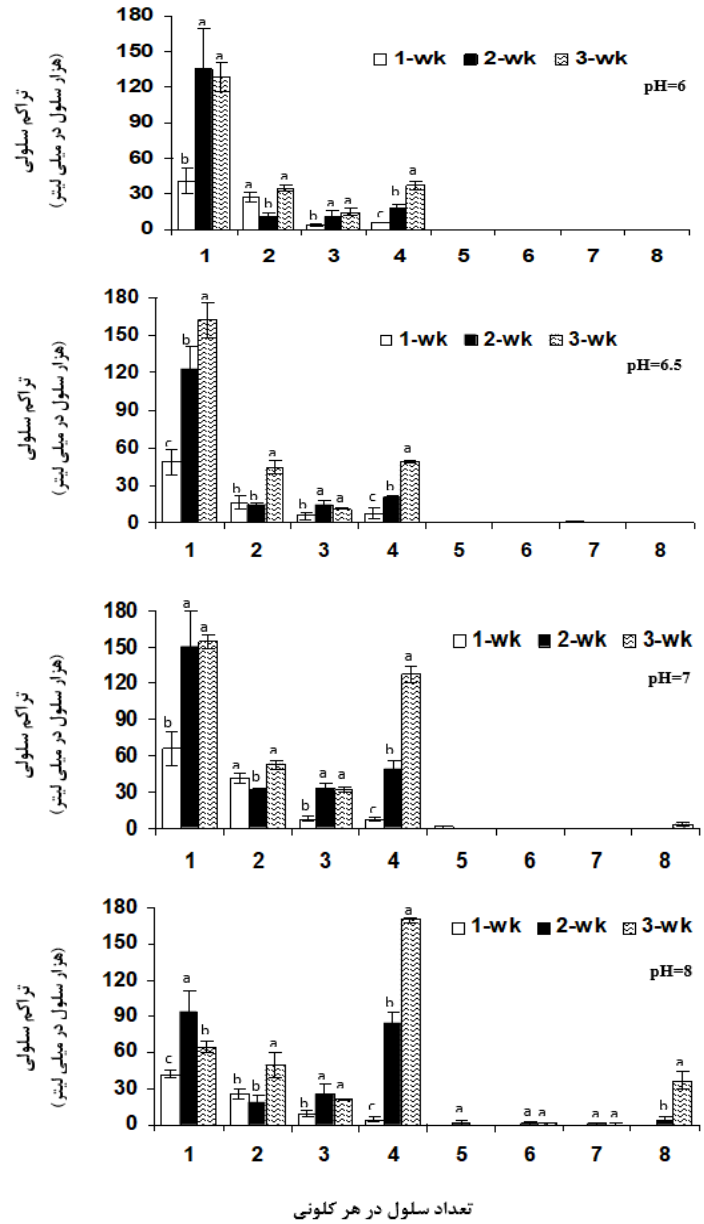
**: P<۰/۰۱ (بسیار معنی‌دار).



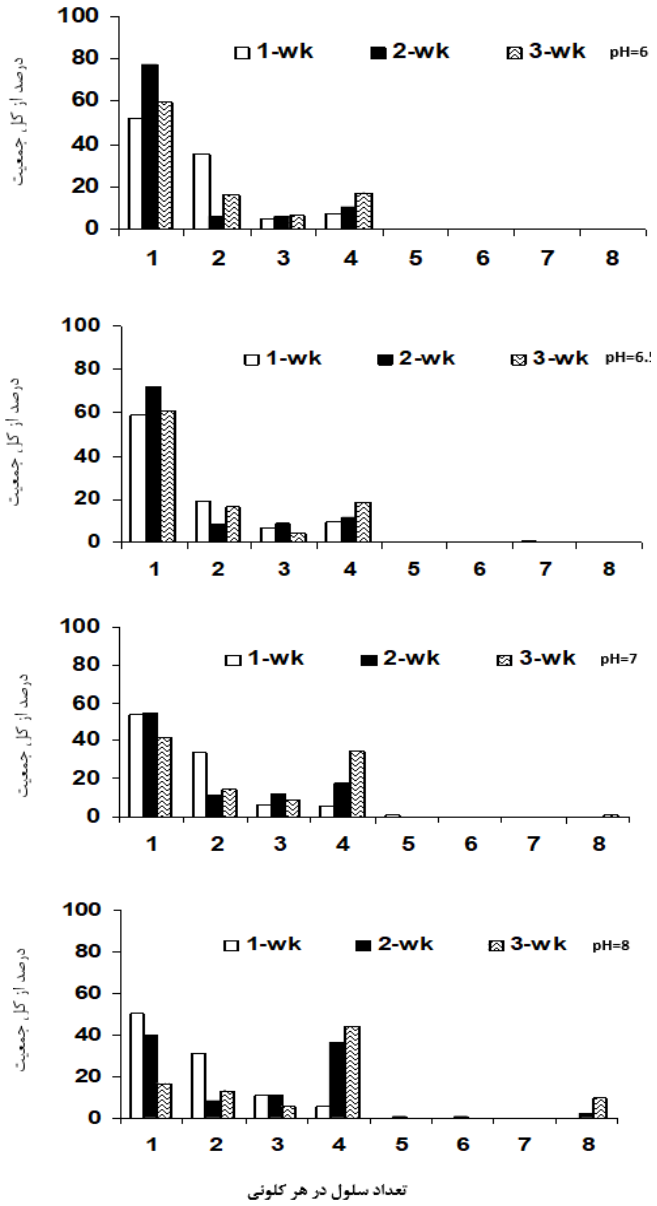
شکل ۱: تراکم جلبک *Scenedesmus quadricauda* در pHهای مختلف محیط کشت در روزهای مختلف آزمایش (میانگین ± خطای استاندارد). حروف متفاوت روی نمودارها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).



شکل ۲: تاثیر pHهای مختلف بر تراکم سلولی، میزان رشد ویژه و زمان دو برابر شدن جمعیت جلبک *Scenedesmus quadricauda* در روز ۲۱ در پایان آزمایش (میانگین ± خطای استاندارد). حروف متفاوت روی نمودارها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).



شکل ۳: تراکم کلونی‌های مختلف جلبک *Scenedesmus quadricauda* در pHهای مختلف در طی هفته‌های اول (1-wk)، دوم (2-wk) و سوم (3-wk) پرورش (میانگین ± خطای استاندارد). حروف متفاوت روی نمودارها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).



شکل ۴: درصد کلونی‌های مختلف از کل جمعیت جلبک *Scenedesmus quadricauda* در pHهای مختلف در طی هفته‌های اول (1-wk)، دوم (2-wk) و سوم (3-wk) پرورش (میانگین ± خطای استاندارد). حروف متفاوت روی نمودارها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

بحث

در این مطالعه جلبک سندسموس توانایی رشد در pHهای ۶، ۶/۵، ۷ و ۸ را با تشکیل جمعیت نشان داد. اگرچه pHهای در این محدوده با رشد و تکثیر همراه بود، اما pHهای ۷ و ۸ در مقایسه با ۶ و ۶/۵ به لحاظ رشد و تراکم سلولی مناسب‌تر بودند. از جمله دلایل می‌توان به نقش pH در قابلیت دسترسی به منبع کربن مورد استفاده در فتوسنتز جلبکی اشاره کرد. قابلیت دسترسی به یون‌های بی‌کربنات (HCO_3^-) به عنوان اصلی‌ترین منبع کربن در جلبک‌های جنس *Scenedesmus* در pHهای ۷ و ۸ به مراتب مناسب‌تر از pHهای اسیدی ۶ و ۶/۵ است. معمولا در pHهای اسیدی میزان بی‌کربنات عمدتا پایین است که خود موجب کاهش قابلیت دسترسی به کربن و نهایتا کاهش در میزان تثبیت کربن خواهد شد (Boyd, 1979). در مطالعه‌ای که توسط Hamdy و Iltayef در سال ۲۰۲۳ روی اثرات pH بر رشد و تولیدات حیاتی جلبک *Anabaena oryzae* صورت پذیرفت، مشخص شد که بهترین رشد روزانه و بیشترین تولیدات حیاتی در pH ۷/۶ اتفاق می‌افتد. همچنین در مطالعه‌ای دیگر که توسط Yu و همکاران در سال ۲۰۲۲ بر اثرات راهبردهای مختلف کنترل pH بر کشت ریزجلبکی صورت پذیرفت، مشخص شد که اگرچه pH حدود ۸ باعث رشد مناسب جلبکی می‌شود، اما بهینه‌ترین رشد در pH پایین تر از ۸ رخ می‌دهد که موید نتایج این مطالعه است. علاوه بر این در مطالعه‌ای که توسط Alipour و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر اثرات pH و شوری روی رشد ریزجلبک *Dunaliella* sp. انجام شد نیز مشخص شد که بهترین رشد جلبکی در pH ۷/۶ اتفاق می‌افتد که این یافته نیز موید نتایج مطالعه حاضر است. نتایج مطالعه Qiu و همکاران در سال ۲۰۱۷ روی جلبک *Chlorella sorokiniana* نشان داد که بهترین رشد و تجمع چربی در pH ۶ به دست می‌آید. یافته‌های مطالعه حاضر لزوم استفاده از pHهای بالاتر از ۷ در آغاز استفاده از ریزجلبک‌ها به‌ویژه سندسموس را برای مقاصد پرورش انبوه جلبک‌ها در تصفیه پساب‌ها و فاضلاب‌ها و همچنین پرورش در استخرهای خاکی و یا لاگون‌ها نشان می‌دهد. برای مثال می‌توان به لزوم بالا بردن pH در پساب‌های صنعتی با pHهای کاملا اسیدی با استفاده از آهک‌دهی و سپس استفاده از جلبک‌ها برای بسیاری از اهداف پرورش جلبک و همچنین برای کاربرد آن در تصفیه زیستی اشاره کرد (Heidari et al., 2011).

تعداد کلونی‌های چهار سلولی در pHهای ۷ و ۸ به مراتب بیشتر از pHهای ۶ و ۶/۵ بود. از جمله دلایل تشکیل چنین کلونی‌هایی می‌توان به پتانسیل تولید کلونی‌ها در pHهای قلیایی اشاره کرد. معمولا چنین پاسخی از سندسموس می‌تواند به راهبرد دفاعی معمول در مقابله با شاخص‌های محیطی مانند دما و شوری (Trainor, 1992; Wasmund, 1992) و یا شاخص‌های زیستی مانند فشار شکارچیان و یا سموم تولید شده در اکوسیستم‌های آبی مرتبط باشد (Van Donk et al., 1997). یافته‌های این مطالعه نشان داد که pH نیز مشابه بسیاری از عوامل محیطی می‌تواند بر تشکیل کلونی در جلبک سندسموس اثرگذار باشد و میزان تراکم و زیست‌توده جلبکی را تحت تاثیر قرار دهد.

در این مطالعه مشخص شد که موجبات افزایش pH در آب‌ها به هر دلیلی می‌تواند پتانسیل و شرایط افزایش رشد و تراکم سلولی جمعیت را در جلبک سندسموس سبب شود و افزایش ناخواسته زیست‌توده جلبکی فراهم می‌شود. البته این افزایش در صورتی اتفاق خواهد افتاد که عوامل دیگر تولید زیست‌توده جلبکی از جمله نیتروژن و فسفر از مواد غذایی و شرایط نوری و دمایی فراهم باشد. باید توجه داشت که عملکرد جلبک‌ها تحت تاثیر ماهیت پساب یا فاضلاب قرار دارد. نسبت بین C:N:P در پساب‌های مختلف متفاوت است (Yalcin et al., 2006). برای مثال Oswald در سال ۱۹۸۸ بیان کرد که مقدار نیتروژن و فسفر فاضلاب خانگی نسبت به کربن آن کمتر است و این می‌تواند در محدود کردن رشد ریزجلبک موثر باشد (Oswald, 1988). بنابراین می‌توان بیان کرد که کنترل pH در آب‌های طبیعی و استخرهای پرورش آبزیان می‌تواند بر رشد، تراکم جمعیت و تشکیل کلونی‌های مختلف تاثیرگذار باشد و همچنین می‌تواند شاخص محیطی بسیار مهمی در مدیریت آب‌ها از یک سو و تصفیه آب‌های آلوده با تشدید رشد جلبک‌ها از سوی دیگر باشد.

تاثیر pH و کربن معدنی بر نرخ رشد و میزان زیست‌توده جلبک‌ها به طور کاملا مشخصی از رابطه بین pH و غلظت CO_2 با توجه به تعادل شیمیایی اساسی میان ترکیبات کربن موجود در آب مانند CO_2، H_2CO_3، HCO_3^- و CO_3^{2-} پیروی می‌کند. افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن می‌تواند به زیست‌توده بالاتر منجر شود، اما کاهش pH ناشی از آن می‌تواند اثر سوء بر فیزیولوژی جلبک‌ها داشته باشد. تحت شرایط pH بسیار پایین، چون یون‌های H^+ به طور مداوم در غشاهای پلاسما نفوذ می‌کنند، سلول‌ها

استرس را تجربه می‌کنند. به همین دلیل آنها باید سطح pH خنثی را در سیتوپلاسم حفظ کنند. علاوه بر این، مقادیر pH پایین می‌تواند در نتیجه ضعیف شدن پیوندهای هیدروژنی در مولکول‌ها به دیواره‌های سلولی آسیب برساند که خود می‌تواند منجر به افزایش کنترل نشده اندازه سلول شود (Gaysina, 2024). یک محیط قلیایی باعث تقویت فتوسنتز در جلبک سندسموس می‌شود چون در این محیط‌های قلیایی بی‌کربنات بسیار فراوان‌تر از CO_2 آزاد است (Yang et al., 2016).

در این پژوهش نوع کلونی‌های جلبک سندسموس نیز مورد مطالعه قرار گرفت. برخی از گونه‌های فیتوپلانکتون‌های آب شیرین در ریخت‌شناسی، ویژگی‌های فیزیولوژیکی، ساختار ژنتیکی و ترکیب بیوشیمیایی خود انعطاف‌پذیر هستند. این ویژگی جلبک‌های پلانکتونی به طور قابل‌توجهی، تحت شرایط زیست‌محیطی مختلف در اکوسیستم‌های آبی می‌تواند متفاوت باشد. جلبک‌هایی مانند *Staurastrum* گاهی اوقات ممکن است شکل خاردار خود را از دست بدهند (Lynch, 1980). جلبک‌های سبز آبی مختلف، از جمله *Microcystis aeruginosa* پتانسیل تشکیل کلونی و ایجاد مسمومیت‌های شیمیایی را دارد. در سیستم‌هایی که با کمبود مواد غذایی مواجه هستند و نرخ رشد جلبک در آنها آهسته است، این ویژگی جلبک ممکن است یک مکانیسم دفاعی در برابر چرای موجودات چراکننده باشد (Van Donk et al., 1997). مکانیسم‌های دیگر دفاعی مانند اندازه بزرگ، سختی دیواره سلولی، دفع مخاط و تولید سموم مزایای قابل‌توجهی است که در جلبک‌ها موجب کاهش تقاضای انرژی مصرفی می‌شود (Bronmark and Hansson, 2000; Van Donk et al., 1997). از سوی دیگر، شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد مواد شیمیایی آزاد شده توسط زئوپلانکتون‌ها می‌تواند باعث تشکیل کلونی در برخی فیتوپلانکتون‌های خاص مانند گونه‌های مختلف از جنس جلبک *Scenedesmus* شود (Trainor, 1992). برای مثال، مواد شیمیایی منتشرشده از دافنی (*Daphnia*) می‌تواند روی تشکیل کلونی در سندسموس *Scenedesmus subspicatus* موثر باشد (Lampert et al., 1994). Yang و همکاران در سال ۲۰۱۶ طی مطالعه‌ای بر روی جلبک *Scenedesmus obliquus* نشان دادند که سلول‌ها در هر کلونی ریزجلبک سندسموس با گذشت زمان ابتدا افزایش یافته و پس از رسیدن به یک آستانه ثابت، مقادیر آن کاهش می‌یابد. به طور کلی،

بسته به pH، بیشترین تعداد سلول در هر کلونی در روز ۳ یا ۴ به دست آمد. بیشترین تعداد سلول در هر کلونی با کاهش pH به طور قابل توجهی کاهش یافت. همچنین نرخ رشد ویژه در pH پایین به طور قابل توجهی کاهش یافت. بنابراین، تشکیل کلونی و رشد جلبک *S. obliquus* در محیط آبی خنثی تا قلیایی ضعیف بیشتر است و در شرایط آب اسیدی مختل می‌شود (Yang et al., 2016).

چندین گونه از جلبک‌های سبز سندسموس شناخته شده‌اند که متحمل تغییرات فنوتیپی در اندازه کلونی می‌شوند که به وسیله شاخص‌های زیست‌محیطی کنترل می‌شوند (Trainor, 1992). این انعطاف فنوتیپی عمدتا شامل سلول‌های دختری است که از تقسیم سلولی در سلول مادری ایجاد شده‌اند و به هنگام جدا شدن از سلول مادری ممکن است که به فرم تک‌سلولی جدا شده یا این که با همدیگر به حالت کلونی باقی بمانند.

تغییرات فنوتیپی جلبک‌ها در پاسخ به تغییرات شاخص‌های محیطی به دلایل مختلفی مانند حفظ بقا صورت می‌گیرد. افزایش چشم‌گیری در شمار گزارش‌ها در رابطه با ارتباطات شیمیایی در محیط‌های پلاژیک آب‌ها وجود دارد (Larsson and Dodson, 1993; Verity and Smetacek, 1996). تغییر در صفات انعطاف‌پذیر شامل رفتار، ریخت‌شناسی و غیره وابسته به ارتباطات شیمیایی است. به‌ویژه نمونه‌های بسیاری در مورد سیستم‌های دفاعی تحمیل شده در سیستم‌های شکار و شکارچی‌گری (Predator-prey Systems) شناخته شده‌اند. مثلا مقاومت در مقابل چرا (علف‌خواری) به عنوان عاملی مهم در موفقیت فیتوپلانکتون‌ها به اثبات رسیده است (Sommer et al., 1986). چنین مقاومتی ممکن است به وسیله افزایش سلول‌ها یا اندازه کلونی و یا توسط دیواره سخت سلولی و یا خار افزایش یابد. این جلبک به تعدادی از شاخص‌های محیطی پاسخ ریخت‌شناختی می‌دهد.

در مجموع، با توجه به نتایج به دست آمده، بیشترین کلونی هشت‌تایی در pH برابر با ۸ به دست آمد که این می‌تواند حاکی از شرایط مناسب جلبک سندسموس در این pH باشد. به نظر می‌رسد هرچه شرایط برای رشد جلبک سندسموس بهتر باشد، این جلبک تمایل بیشتری برای تشکیل کلونی دارد. در رابطه با تاثیر pHهای مختلف بر میزان رشد جلبک‌های سبز آب شیرین، پژوهش‌های معدودی صورت گرفته است. با توجه به یافته‌های این پژوهش و

از طرفی با لحاظ کردن pH مطلوب برای رشد و تشکیل جمعیت، جلبک‌های سبز مثل سندسموس به طور موثری می‌توانند نقش مهمی را در تولیدات طبیعی استخرهای پرورش آبزیان به عنوان تولید اولیه فتوسنتزی و همچنین در محیط‌های تصفیه فاضلاب‌ها (Tam and Wong, 1989; Abe et al., 2002) و پساب‌های کشاورزی ایفا کنند (Heidari et al., 2011). مطالعات بیشتر درباره رفتار جلبک‌های تک‌سلولی مانند جلبک سندسموس به عوامل مختلف زیستی و محیطی توصیه می‌شود، همچنین با انجام مطالعات بیشتر می‌توان با بهینه‌سازی مقادیر pH در راستای بیشترین تولید زیست‌توده ریزجلبک سندسموس برای مقاصد تجاری اقدام شود.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه صنعتی اصفهان به لحاظ فراهم آوردن بودجه و امکان این پژوهش سپاسگزاری می‌شود. از کارشناسان گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی که نهایت همکاری را در انجام این پژوهش به عمل آوردند، تشکر می‌گردد.

منابع

Abe K., Imamaki A. and Hirano M. 2002. Removal of nitrate, nitrite, ammonium and phosphate ions from water by the aerial microalgae *Trentepohlia aurea*. Journal of Applied Phycology, 14: 129–134. doi: 10.1023/A:1023657310004

Alipour M., Fallahi M. and Valinassab T. 2014. Effect of pH and salinity on growth and bloom of *Dunaliella* sp. algae. International Journal of Marine Science and Engineering, 4(2): 107–111.

Bellinger E.D. and Sigee D. 2010. Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators. John Wiley and Sons, UK. 271P.

Boyd C.E. 1979. Water Quality in Warmwater Fish Ponds. Craftmaster Printers Inc, USA. 359P.

Bronmark C. and Hansson L.A. 2000. Chemical communication in aquatic system: An introduction. Oikos, 88: 103–109. doi: 10.1034/j.1600-0706.2000.880112.x

De La Noue J. and Proulx D. 1988. Biological tertiary treatment of urban wastewaters with chitosan-immobilized *Phormidium*. Applied Microbiology and Biotechnology, 29: 292–297. doi: 10.1007/BF00939324

De Souza Santos K.R., Jacinavicius F.R. and Leite C. 2011. Effects of the pH on growth and morphology of *Anabaenopsis elenkinii* Miller (Cyanobacteria) isolated from the alkaline shallow lake of the Brazilian Pantanal. Fottea, 11(1): 119–126. doi: 10.5507/fot.2011.012

Delince G. 1992. The Ecology of the Fish Pond Ecosystem. Kluwer Academic Publishers, UK. 230P. doi: 10.1007/978

Gaysina L.A. 2024. Influence of pH on the morphology and cell volume of microscopic algae, widely distributed in terrestrial ecosystems. Plants, 13: 357. doi: 10.3390/plants13030357

Hamdy R.A. and Iltayef R.H. 2023. Effects of temperature and pH on the growth and vital products of the cyanobacteria species, *Anabaena oryzae*. Caspian Journal of Environmental Sciences, 2023: 1–6. doi: 10.22124/cjes.2023.6705

Heidari S., Farhadian O. and Mahboobi Soofiani N. 2011. Biomass production and ammonia and nitrite removal from fish farm effluent by *Scenedesmus quadricauda* culture. Journal of Environmental Studies, 37(59): 15–28.

Kyong H., Jang M.H., Joo G.J. and Takamura N. 2001. Growth and morphological changes in *Scenedesmus dimorphus* induced by substances released from grazer,

Daphnia magna and *Moina macrocopa*. Korean Journal of Limnology, 34: 285–291.

Lampert W., Rothhaupt K.O. and Von Elert E. 1994. Chemical induction of colony formation in a green alga (*Scenedesmus acutus*) by grazers (*Daphnia*). Limnology and Oceanography, 39: 1543–1550. doi: 10.4319/lo.1994.39.7.1543

Larsson P. and Dodson S. 1993. Chemicals communication in planktonic animals. Archive de Hydrobiologia, 129: 129–155. doi: 10.1127/archiv-hydrobiol/129/1993/129

Lavens P. and Sorgeloos P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical, Italy. 295P.

Lurling M. and Van Donk E. 1997. Morphological changes in *Scenedesmus* induced by infochemicals released in situ from zooplankton grazers. Limnology and Oceanography, 42: 783–788. doi: 10.4319/lo.1997.42.4.0783

Lynch M. 1980. Aphanizomenon blooms: Alternate control and cultivation by *Daphnia pulex*. American Society of Limnology and Oceanography, 3: 299–304.

Martinez M.E., Sanches S., Jimenes J.M., El Yousfi F. and Munoz L. 2000. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalgae *Scenedesmus obliqus*. Bioresource Technology, 73: 263–272. doi: 10.1016/J.BCAB.2013.09.003

Nichols H.W. 1973. Growth media-freshwater. P: 7–24. In: Stein J.R. (Ed.). Handbook of Phycological Methods- Culture Methods and Growth Measurements. Cambridge University Press, UK.

Nurafifah I., Hardianto M.A., Erfianti T., Amelia R., Maghfiroh K.Q., Kurnianto D., Siswanti D.U., Sadewo B.R., Putri R.A.E. and Suyono E.A. 2023. The effect of acidic pH on growth kinetics, biomass productivity, and primary metabolite contents of *Euglena* sp. Makara Journal of Science, 27(2): 3. doi: 10.7454/mss.v27i2.1506

Omori M. and Ikeda T. 1984. Methods in Marine Zooplankton Ecology. John Wiley and Sons Inc, USA. 332P.

Oswald W.J. 1988. Micro-algae and wastewater treatment. P: 691–707. In: Borowitzka M.A. and Borowitzka L.J. (Eds.). Microalgal Biotechnology. Cambridge University Press, UK.

Qiu R., Gao S., Lopez P.A. and Ogden K.L. 2017. Effects of pH on cell growth, lipid production and CO_2 addition of microalgae *Chlorella sorokiniana*. Algal Research, 28: 192–199. doi: 10.1016/j.algal.2017.11.004

Sommer U., Gliwicz Z.M., Lampert W. and Duncan A. 1986. The

PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. Archiev de Hydrobiologia, 106: 433–477. doi: 10.1127/archiv-hydrobiol/106/1986/433

Tam N.F.Y. and Wong Y.S. 1989. Wastewater nutrient removal by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus* sp. Environmental Pollution, 58: 19–34. doi: 10.1016/0269-7491(89)90234-0

Trainor F.R. 1992. Cyclomorphosis in *Scenedesmus armatus* (Chlorophyta): An ordered sequence of ecomorph development. Journal of Phycology, 28: 553–558. doi: 10.1111/j.0022-3646.1992.00553.x

Van Donk E., Lurling M., Hessen D. O. and Lokhorst G.M. 1997. Altered cell morphology in nutrient-deficient phytoplankton and its impact on grazers. Limnology and Oceanography, 42: 357–364. doi: 10.4319/lo.1997.42.2.0357

Verity P.G. and Smetacek V. 1996. Organism life-cycles, predation and the structure of marine pelagic ecosystems. Marine Ecology Progress Series, 130: 277–293. doi: 10.3354/meps130277

Von Elert E. and Franck A. 1999. Colony formation in *Scenedesmus*: Grazer-mediated release and chemical features of the info-chemical. Journal of Plankton Research, 21: 789–804. doi: 10.1023/A:1024414515222

Wasmund N. 1992. Temperature and salinity demand of *Scenedesmus abundans* (Kirchn.) Chod. and *Scenedesmus obliquus* (Turp) Kutz. (Chlorophyceae). Limnologia, 22: 249–263.

Yalcin T., Naz M. and Turkmen M. 2006. Utilization of different nitrogen sources by cultures of *Scenedesmus acuminatus*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 6: 123–127.

Yang J., Li B., Zhang C. and Luo H. 2016. PH-associated changes in induced colony formation and growth of *Scenedesmus obliquus*. Fundamental and Applied Limnology, 187: 241–246. doi: 10.1127/fal/2016/0846

Yang Z., Kong F., Yang Z., Zhang M., Yu Y. and Qian S. 2009. Benefits and costs of the grazer-induced colony formation in *Microcystis aeruginosa*. International Journal of Limnology, 45: 203–208. doi: 10.1051/limn/2009020

Yu H., Kim J., Rhee C., Shin J., Shin S.G. and Lee C. 2022. Effects of different pH control strategies on microalgae cultivation and nutrient removal from anaerobic digestion effluent. Microorganisms, 10: 357. doi: 10.3390/microorganisms10020357

Zhang Y., Ren L. Chu H. Zhou X. Yao T. and Zhang Y. 2019. Optimization for *Scenedesmus obliquus* cultivation: The effects of

temperature, light intensity and pH on growth and biochemical composition. Microbiology and Biotechnology Letters, 47(4): 614–620. doi: 10.4014/mbl.1906.06005

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 13, No. 4, Winter 2026

Research Paper

Effect of pH on growth and cellular morphology of green alga *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyceae)

Omidvar Farhadian[1]*, Safiollah Heidari[2]

DOI: 10.22124/japb.2025.27051.1536

Received: March 2024 Accepted: July 2025

Abstract

In this study, density, growth and cellular morphology in green algae *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyceae) population were investigated at pH of 6, 6.5, 7, and 8 in the experimental conditions. The experiment was carried out as completely randomized design (CRD) for a 21-day period. Results showed that increment of population density of *S. qaudricauda* cultured on pH levels of 7 and 8 were higher than pH levels of 6 and 6.5 during experiment. The highest cellular density (442.7×10^3 cell/mL), maximum specific growth rate (0.098 /day) and minimum population doubling time (7 days) were obtained at pH 8. Cellular morphology (based on cells per colony) of *S. quadricauda* population was considerably changed during experiment. At pH of 6 and 6.5 dominated by only 1 cell/colony while the cell composition at pH of 7 and 8 were tendency to more than 1 cell/colony. The findings of this experiment also showed that the percentage of four-cell colonies in the population grown at pH 8 was higher than at other pH levels. Overall, the response of *S. quadricauda* to increased pH resulted in a decrease in the number of single-cell individuals and an increase in the formation of multicellular colonies (mainly four-cell colonies).

Key words: *Green Algae*, Scenedesmus quadricauda, *pH*, *Specific Growth Rate*, *Colony Formation*.

1- Associate Professor in Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
2- Ph.D. Student in Fisheries, Faculty of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

*Corresponding Author: omfarhad@iut.ac.ir