مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

تأثیر نانوذره اکسید مس بر مقدار پروتئین و ترکیبات فنلی ریزجلبک *Nannochloropsis oculata*

نسرین فاضلیان[۱*]، علی موافقی[۱]، مرتضی یوسف زادی[۲]، مهسا رحیم زاده[۳و۴]، معروف زارعی[۵]

[۱] گروه زیست گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز

[۲] گروه زیست دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان

[۳] مرکز تحقیقات غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان

[۴] گروه بیوشیمی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان

[۵] گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه هرمزگان

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۷/۰۳/۱۴
اصلاح: ۹۷/۰۷/۲۷
پذیرش: ۹۷/۰۸/۰۷

کلمات کلیدی:
اکسید مس
پروتئین
نانوذره
نانوکلروپسیس

چکیده

در این مطالعه، تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید مس (۰، ۵، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بر جلبک *Nannochloropsis oculata* بررسی شد. نتایج نشان داد درصد زنده‌مانی و مقدار کلروفیل a در سلول‌های تیمار شده با نانوذرات اکسید مس به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش یافت. مقدار پروتئین در پاسخ به تیمار نانوذرات نیز به طور قابل‌توجهی کاهش یافت، درحالی‌که مقدار ترکیبات فنلی نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز با افزایش غلظت نانوذرات اکسید مس در سلول‌های *N. oculata* افزایش یافت که با نتایج مربوط به ترکیبات فنلی هم‌خوانی داشت. همچنین در تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)، تجمع سلول‌های جلبکی و تخریب غشای سلولی مشاهده شد. افزایش ترکیبات فنولی و فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO) و تجمع سلول‌های جلبکی احتمالاً روش‌های دفاعی این ریزجلبک در پاسخ به تنش ناشی از این نانوذره است.

مقدمــه

استفاده از نانوذرات در سال‌های اخیر به طور قابل‌توجهی در فرایندهای صنعتی و خانگی افزایش پیدا کرده است. به دلیل پتانسیل سمیت و فقدان داده‌های مشخص، لازم است قبل از پذیرش اجتماع از منافع بالقوه نانوفناوری، مدیریت نانوذرات بررسی گردد. نانوذرات رفتار فیزیکی و شیمیایی خاصی را نشان می‌دهند که به دلیل نسبت بالای سطح به حجم و اندازه کوچک آن‌ها است (Xiao *et al*., 2008). تفاوت رفتار زیستی و خصوصیات حرکتی ذرات بسیار ریز نسبت به ذرات بزرگ‌تر باعث می‌شود این ذرات بسیار ریز از سدهای زیستی عبور کرده و وارد سلول شوند (De Jong *et al*., 2005). نفوذ این ذرات در موجودات زنده موجب ورود آن‌ها به زنجیره غذایی نیز می‌شود. از این رو در حال حاضر نگرانی‌هایی در مورد خطرات احتمالی نانوذرات و نانولوله‌ها برای سلامت انسان و محیط‌زیست در سطح جهان به وجود آمده است (De Jong *et al*., 2005). نانوذرات اکسید فلزی در بین نانوذرات صنعتی کاربرد زیادی دارند و استفاده از این نانوذرات منجر به رهایی آن‌ها به اکوسیستم آبی و

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: nasrin_fazelian@yahoo.com

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-02-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.1.13.2]

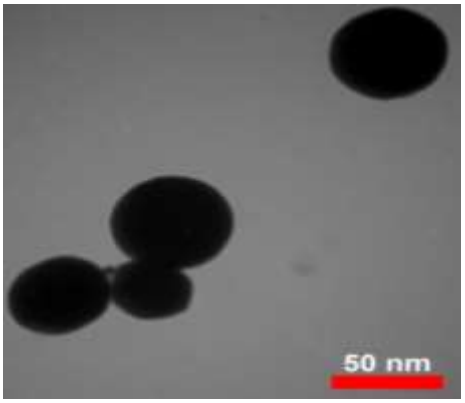
ایجاد خطر برای جانداران آبزی شده است (Blaise *et al*., 2008). نانوذرات اکسید مس یکی از ساده‌ترین اعضای خانواده ترکیبات مس هستند که به عنوان عامل آنتی فولینگ عمل می‌کنند و در تولید حسگرها، سوپرکنداکتورها، کاتالیزورها، شیشه و سرامیک کاربرد دارند (Chang *et al*., 2012; Bao *et al*., 2015). مطالعات محیطی مختلفی در مورد سمیت نانوذرات اکسید مس بر روی موجودات انجام گرفته است و معمولاً این مطالعات بر روی محیط‌های آبی متمرکز است و معمول‌ترین مدل‌های آزمایشگاهی، جلبک‌ها هستند (Chang *et al*., 2012). در بررسی سمیت نانوذرات اکسید مس بر جلبک *Pseduokirchneriella subcapitata*، غلظت‌های پائین نانوذرات نسبت به ذرات کنترل، حلالیت و سمیت بیشتری نشان دادند (Aruoja *et al*., 2009). همچنین سمیت ذرات سنگین و نانو اکسید مس شدیداً به حلالیت یون‌های مس بستگی داشته است و سمیت نانوذرات بیشتر از ذرات سنگین گزارش شده است (Aruoja *et al*., 2009). مطالعات دیگر نشان دادند که نانوذرات اکسید مس باعث کاهش مقدار کلروفیل جلبک‌ها می‌شوند و سمیت این نانوذرات سه برابر یون‌های مس (Cu^{2+}) گزارش شده است که به دلیل جذب بیشتر یون مس آزاد شده از نانوذرات می‌باشد (Chang *et al*., 2012). درحالی‌که Wang و همکاران در سال ۲۰۱۳ سمیت نانو ذرات و ذرات سنگین اکسید مس و یون مس را در ریزجلبک *Chlorella vulgaris* بررسی کردند و ترتیب سمیت را به صورت "یون مس> نانوذرات> ذرات سنگین" گزارش کردند. Melegari و همکاران (۲۰۱۳) نیز گزارش کردند که سمیت نانوذرات اکسید مس در جلبک *Chlamydomonas reinhardtii* به دلیل تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و القای تنش اکسیداتیو است.

تاکنون تأثیر نانوذرات اکسید مس بر ریزجلبک *نانوکلروپسیس اکولاتا* (*N. oculata*) مطالعه نشده است. ریزجلبک *N.oculata* متعلق به خانواده Eustigmataceae می‌باشد و قطر آن‌ها ۴-۲ میکرون و غیر متحرک هستند (Fulks and Main, 1991). گونه‌های *نانوکلروپسیس* به دلیل داشتن مقادیر بالای پروتئین و لیپید، اغلب به عنوان غذای روتیفر استفاده می‌شوند و به دلیل سرعت رشد بالا و داشتن مقادیر بالای لیپید در تهیه سوخت زیستی (بیودیزل) نیز به کار می‌روند (Griffiths and Harrison, 2009). با توجه به اهمیت *N. oculata* در صنایع مختلف و عدم مطالعه کافی درزمینه تأثیر نانوذرات بر ترکیبات فنلی، در این پژوهش تأثیر نانوذرات اکسید مس بر رشد، میزان کلروفیل، پروتئین و ترکیبات فنلی ریزجلبک *N. oculata* بررسی شد و فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نیز محاسبه گردید.

مواد و روش‌ها

مشخصات نانوذرات اکسید مس

نانوذرات اکسید مس از کمپانی پیشگامان نانو مواد ایرانیان (Houston, TX, USA) خریداری شد. بررسی نانوذرات اکسید مس با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) نشان داد که اندازه این نانوذرات کمتر از ۱۰۰ نانومتر (۴۰-۱۰ نانومتر) و ناحیه ویژه سطحی (SSA) آن‌ها ۲۰ m^2/g می‌باشد (شکل ۱). در این پژوهش، محلول استوک نانوذرات اکسید مس با غلظت ۱۰ گرم بر لیتر ساخته شد و برای جلوگیری از رسوب، محلول نانوذرات در دستگاه اولتراسونیک قرار داده شد. سپس غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید مس (۰، ۵، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) با استفاده از استوک غلیظ آماده شد.



شکل ۱. تصویر TEM نانوذرات اکسید مس

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-02-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.1.13.2]

کشت جلبک و اعمال تیمارها

ریزجلبک مورد آزمایش در این پژوهش، *نانوکلروپسیس اکولاتا* بود که نمونه استوک آن از بندرلنگه تهیه گردید. در پژوهش حاضر ۱۵ سی‌سی از استوک اولیه جلبک به ارلنهای اتوکلاو و استریل شده حاوی ۲۰ سی‌سی محیط کشت استریل f_2 منتقل گردید و پس از یک ماه، بیوماس کافی از نمونه جلبکی تهیه گردید. در این مدت با استفاده از لام نئوبار نمونه‌ها شمارش شدند و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۶۸۰ نانومتر خوانده شد. سپس به منظور اعمال تیمار، ارلن هایی حاوی ۴۰۰ سی‌سی نمونه جلبکی با تراکم اولیه ۴×۱۰^{۴} آماده شدند و به مدت ۴ روز در شرایط آزمایشگاه قرار گرفتند تا به مرحله رشد لگاریتمی برسند، سپس در روز چهارم تیمار نانوذرات با پنج غلظت مختلف انجام شد (OECD, 1984). برای هر تیمار، ۳ تکرار در نظر گرفته شد و مدت زمان تیمار نانوذرات ۳ روز بود. در مدت زمان تیمار، ارلن ها بر روی دستگاه شیکر با ۲۵۰ دور در دقیقه قرار داده شد تا رسوب نانوذرات کاهش یابد.

اندازه‌گیری میزان کلروفیل a

جهت تعیین مقدار کلروفیل a، سوسپانسیون جلبکی هر ارلن به طور جداگانه به لوله‌های فالکن منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ rpm و دمای ۴- درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. محلول رویی با دقت به کمک سمپلر خارج و به رسوب باقی‌مانده، یک میلی‌لیتر استون ۸۵٪ اضافه شد. سپس با دستگاه ورتکس به مدت ۲ دقیقه مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت درون یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. سپس نمونه‌ها مجدداً با دور ۳۰۰۰ rpm، به مدت ۵ دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. جذب محلول رویی در طول موج‌های ۶۴۷، ۶۶۴ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید (جهت جلوگیری از تخریب رنگیزهها، نمونه‌ها در سرما و تاریکی نگه‌داری شدند). میزان کلروفیل برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید (Jeffrey and Humphrey, 1975).

اندازه‌گیری میزان پروتئین

مقدار پروتئین‌های جلبک *N. oculata* با روش برادفورد اندازه‌گیری شد (Bradford, 1976). در این روش ابتدا پروتئین‌ها در دمای ۴-۰ درجه سانتی گراد از سلول‌های جلبکی استخراج شدند. به این منظور ۰/۱ گرم نمونه جلبکی با بافر تریس – ساکارز با pH = ۷/۵ مخلوط گردید. محلول همگن به دست آمده به لوله سانتریفیوژ منتقل و پس از ۱۰ دقیقه سکون، به مدت ۲۵ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. در پایان، محلول‌های رویی عصاره‌های حاصل برای سنجش غلظت پروتئین مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور سنجش غلظت پروتئین، ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی و ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره در لوله‌های آزمایش ریخته شد. به منظور تهیه معرف بیوره، ۰/۱ گرم کوماسی بریلیانت بلو G250 در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به مدت ۱ ساعت حل شد. سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد قطره قطره به آن افزوده شد. در نهایت حجم کل محلول به کمک آب مقطر به یک لیتر رسانده شد و محلول حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید. لوله های آزمایش حاوی عصاره پروتئینی و معرف بیوره سریعاً ورتکس شدند و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد.

اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلی

برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی، رسوب جلبکی با ۱ میلی‌لیتر متانول مخلوط شد و به مدت ۲۴ ساعت در یک محیط تاریک قرار گرفت. پس از ۲۴ ساعت ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین به هر لوله فالکن اضافه شد. در نمونه بلانک ۱۰۰ میکرولیتر متانول ریخته شد و پس از ۱ دقیقه به نمونه شماره ۱ عصاره متانولی اضافه گردید. برای نمونه‌های بعدی، پس از هر ۳۰ ثانیه، عصاره متانولی اضافه گردید. پس از ۶ دقیقه به نمونه بلانک ۱۵۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۲۰٪ و در دقیقه ۷ ام به نمونه شماره ۱ همین محلول اضافه شد. پس از ۳۷ دقیقه جذب نمونه ۱ خوانده شد و به فاصله هر ۳۰ ثانیه جذب نمونه‌های بعدی در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت گردید (Singleton *et al*., 1999).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-02-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.1.13.2]

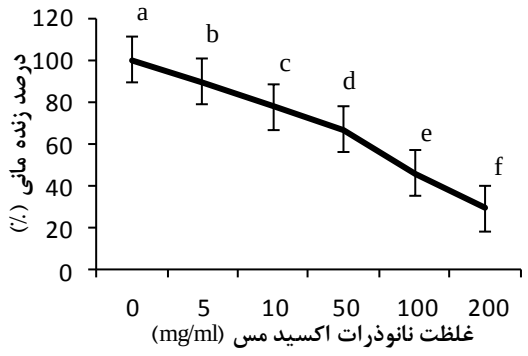
اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

سنجش فعالیت کینتیکی آنزیم پلی فنل اکسیداز مطابق با روش Kar and Mishra (۱۹۷۶) انجام شد. در این روش ۳ میلی‌لیترمحلول واکنش، شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰mM با pH = ۷/۲، ۰/۲ میلی‌لیتر پیروگالل (۰/۰۲ M) و ۳۰۰ ماکرولیتر از عصاره آنزیمی است. تغییرات جذب برای ۲ دقیقه در طول موج ۴۳۰ نانومتر خوانده شد. در نهایت میزان فعالیت آنزیم برحسب واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین (unit/mg.protein) محاسبه گردید.

نتایــج

تأثیر نانوذرات اکسید مس بر رشد و میزان کلروفیل a

در این پژوهش، تأثیر نانوذرات اکسید مس بر رشد ریزجلبک *نانوکلروپسیس* معنی‌دار بود و افزایش غلظت نانوذرات باعث کاهش رشد این جلبک گردید. مطابق با شکل ۲، تیمار غلظت‌های ۵-۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس باعث کاهش معنی‌دار زنده‌مانی جلبک نسبت به نمونه‌های شاهد شد. نتایج مربوط به تأثیر نانوذرات اکسید مس بر میزان کلروفیل a نیز نشان داد که همه غلظت‌های این نانوذره (۵-۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) باعث کاهش معنی‌دار مقدار کلروفیل a نسبت به نمونه کنترل شده است (جدول ۱).



شکل ۲. تأثیر نانوذرات اکسید مس بر درصد زنده‌مانی ریزجلبک *N. oculata* ($P< 0.05$). مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با سه تکرار انجام شد. حروف غیرمشابه نمایانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

تأثیر نانوذرات اکسید مس بر میزان پروتئین

در این تحقیق، غلظت‌های ۵ -۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس باعث کاهش معنی‌دار مقدار پروتئین نسبت به شاهد شد اما این کاهش وابسته به غلظت نانوذره نبود (جدول ۱). بیشترین مقدار پروتئین در نمونه شاهد و کمترین مقدار پروتئین در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اکسید مس مشاهده گردید.

جدول ۱. تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید مس بر مقدار کلروفیل a و مقدار پروتئین ریزجلبک *N. oculata* با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن. حروف غیرمشابه نمایانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

	تیمارها					
	کنترل	۵ mg/L	۱۰ mg/L	۵۰ mg/L	۱۰۰ mg/L	۲۰۰ mg/L
کلروفیل a (µg/ml)	^{a}۱۵/۸۹	^{b}۱۰/۹۸	^{c}۹/۲۱	^{cd}۸/۸۶	^{cd}۸/۱۷	^{d}۷/۶۹
پروتئین (mg/L)	^{a}۰/۰۴۹۴	^{b}۰/۰۳۸۷	^{b}۰/۰۳۲	^{b}۰/۰۳۳۵	^{c}۰/۰۲۳۴	^{c}۰/۰۲۳۹

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-02-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.1.13.2]

تأثیر نانوذرات اکسید مس بر میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

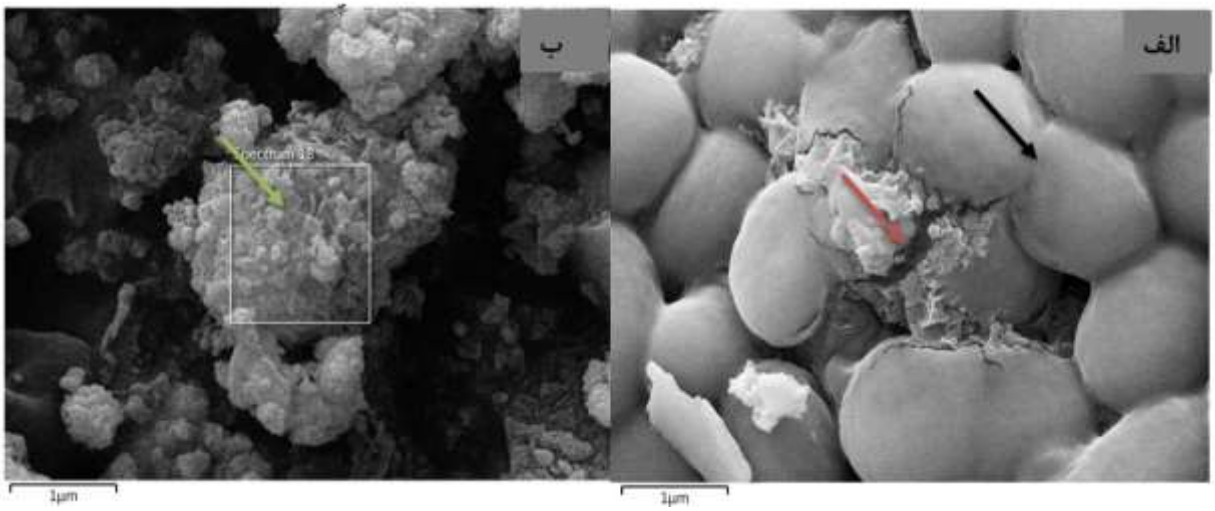
با توجه به جدول ۲، غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس، باعث افزایش معنی‌دار میزان ترکیبات فنلی گردید اما غلظت‌های ۵-۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تغییر معنی‌داری در میزان این ترکیبات ایجاد نکرد. در جدول ۲، افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO) در غلظت ۵۰-۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس نیز مشاهده شد درحالی‌که غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات تغییر معنی‌داری در فعالیت این آنزیم نسبت به نمونه‌های شاهد ایجاد نکردند. فعالیت این آنزیم با تغییرات مقدار ترکیبات فنلی در ریزجلبک مورد مطالعه هم‌خوانی داشت.

جدول ۲. تأثیر تیمارهای مختلف نانوذرات اکسید مس بر روی مقدار ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز ریزجلبک *N.oculata* با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن. حروف غیرمشابه نمایانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

	تیمارها					
	کنترل	۵ mg/L	۱۰ mg/L	۵۰ mg/L	۱۰۰ mg/L	۲۰۰ mg/L
مقدار ترکیبات فنلی (mg.GA/g.fw)	^{c}۲۱/۱۱	^{c}۲۰/۹۲	^{c}۲۰/۱۳	^{c}۱۷/۳۷	^{b}۳۱/۱۱	^{a}۳۷/۸۸
فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (unit/mg.protein)	^{c}۱/۵۲	^{c}۱/۷۳	^{c}۱/۹۶	^{b}۳/۷۵	^{a}۶/۲۴	^{a}۷/۴۸

تصاویر میکروسکوپ SEM

تصویر SEM نشان داد که نانوذرات اکسید مس باعث آسیب غشای سلول ریزجلبک *N. oculata* شده‌اند (شکل ۳-الف). همچنین اتصال سلول‌های جلبکی به یکدیگر (الف) و تجمع و انباشتگی نانوذرات بر سطح سلول جلبکی (ب) نیز در پاسخ به نانوذرات در شکل ۳ قابل مشاهده است.



شکل ۳. تصاویر SEM سلول‌های *N.oculata* تیمار شده با نانوذرات اکسید مس. پیکان قرمز نشان‌دهنده تخریب غشای سلولی، پیکان مشکی نشان‌دهنده اتصال سلول‌های جلبکی است (الف) و پیکان سبز نشان‌دهنده تجمع نانوذرات بر سطح سلول جلبکی است (ب).

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که رشد ریزجلبک *نانوکلروپسیس اکولاتا* در پاسخ به نانوذرات اکسید مس به طور معنی‌دار کاهش یافت. همچنین EC50 نانوذرات اکسید مس در غلظت ۱۱۶/۹۸ میلی‌گرم بر لیتر در ریزجلبک مورد مطالعه مشاهده شد.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-02-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.1.13.2]

Arouja و همکاران در سال ۲۰۰۹، EC50 نانوذرات اکسید مس در ریزجلبک *P. subcapitata* را در غلظت ۰/۷۱ میلی‌گرم بر لیتر گزارش کردند. درحالی‌که EC50 نانوذرات اکسید مس در ریزجلبک *Chlamydomonas reinhardtii* معادل ۰/۱۷ ± ۱۵۰/۴۵ میلی‌گرم بر لیتر بود (Melegari *et al*., 2013). بنابراین سمیت نانوذرات اکسید مس به اندازه و حلالیت نانوذرات و نوع ریزجلبک مورد مطالعه بستگی دارد و ریزجلبک‌های مختلف حساسیت متفاوتی به این نانوذره نشان می‌دهند.

نتایج حاصل از کاهش رشد *N. oculata* با میزان کلروفیل a مطابقت داشت و کاهش میزان کلروفیل می‌تواند یکی از دلایل احتمالی کاهش رشد این ریزجلبک باشد، چون فتوسنتز یکی از جنبه‌های مهم رشد است و کاهش کلروفیل باعث کاهش فتوسنتز می‌شود. کاهش کلروفیل می‌تواند به دلیل اختلال در سنتز پروتئین‌های فتوسنتزی و یا تغییر در فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی باشد. همچنین تولید رادیکال‌های آزاد ناشی از سمیت نانوذرات نیز می‌تواند باعث آسیب دستگاه فتوسنتزی شود (Das and Roychoudhury, 2014; Melegari *et al*., 2013).

آنالیز داده‌های مربوط به مقدار پروتئین نشان داد که سمیت نانوذرات اکسید مس باعث کاهش مقدار پروتئین شده است. مشابه نتایج ما کاهش مقدار پروتئین در دیاتومه *Phaeldactylu triccornutum* در پاسخ به نانوذرات تیتانیوم دی‌اکسید و سزیم دی‌اکسید نیز گزارش شده است (Deng *et al*., 2017).کاهش مقدار پروتئین یک پدیده متداول در تنش‌های محیطی است و کاهش پروتئین احتمالاً به دلیل کاهش بیوسنتز یا تسریع فرایندهای کاتابولیک می‌باشد. همچنین تجزیه پروتئین به آمینواسیدها می‌تواند یک سازگاری سلول‌ها به کمبود کربوهیدرات باشد (Hayat *et al*., 2008; Parida and Das, 2005). تولید ROS و القای تنش اکسیداتیو در پاسخ به نانوذرات نیز می‌تواند باعث کاهش مقدار پروتئین گردد (Bartosz, 1997). مطالعات نشان داده‌اند که رابطه مستقیمی بین میزان پروتئین و کلروفیل *a* وجود دارد. کاهش فتوسنتز (به دلیل کاهش کلروفیل a) و کاهش مقدار قندها (به عنوان اسکلت کربنی مورد نیاز برای سنتز پروتئین) نیز می‌تواند یکی از دلایل کاهش پروتئین در ریزجلبک *N. oculata* باشد.

نانوذرات علاوه بر تأثیر بر متابولیتهای اولیه، می‌توانند متابولیسم ثانویه ریزجلبک را نیز تحت تأثیر قرار دهند و باعث تغییر در میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانت آنزیمی و غیر آنزیمی شوند. ترکیبات فنلی از ترکیبات دیواره سلولی هستند و خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود را با مهار پراکسیداسیون لیپیدها و جاروب کردن رادیکال‌های آزاد نشان می‌دهند (Michalak, 2006). Comotto و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات تیتانیوم دی‌اکسید باعث افزایش ترکیبات فنلی در ریزجلبک *Haematococcus pulvialis* Flotow شده‌اند که مشابه نتایج این تحقیق بود.

آنزیم PPO یکی از آنزیم‌های مهم در سیستم دفاعی گیاهان می‌باشد که در دفاع علیه تنش‌های زنده وتنش‌های محیطی نقش دارد. این آنزیم در پلاست، کلروپلاست، دیواره سلولی وسیتوپلاسم وجود دارد (Ruiz *et al*., 2003). تغییر فعالیت این آنزیم در هنگام تنش‌های محیطی بر مقدار ترکیبات فنلی در سلول تأثیر می‌گذارد و این ترکیبات نقش مهمی در سمیت زدایی در ریزجلبک‌ها ایفاء می‌کنند (Ruiz *et al*., 2003 & Fazeli *et al*., 2007). تاکنون مطالعات محدودی در زمینه‌ی تأثیر نانوذرات بر میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم PPO در ریزجلبک‌ها انجام شده است اما آزمایش‌های انجام شده بر گیاهان نشان داده است که افزایش فعالیت آنزیم PPO باعث افزایش میزان مقاومت به تنش شوری و خشکی در گیاهان شده است و آسیب‌های ناشی از تنش نیز کاهش یافته است (Thipyapony *et al*., 2004). افزایش میزان ترکیبات فنلی و افزایش فعالیت آنزیم PPO احتمالاً یک مسیر دفاعی در برابر سمیت نانوذرات اکسید مس در ریزجلبک *N.oculata* می‌باشد.

تخریب غشای سلولی یکی از مکانیسم‌های احتمالی سمیت نانوذرات اکسید مس در سلول‌های *N.oculata* است که در تصویر SEM قابل مشاهده بود. مشابه این تحقیق، Suman و همکاران در سال ۲۰۱۵ گزارش کردند که تخریب غشای سلولی یکی از دلایل سمیت نانوذرات اکسید روی در ریزجلبک *C. vulgaris* می‌باشد. همچنین نانوذرات تیتانیوم دی‌اکسید نیز با تخریب غشای سلولی باعث ایجاد سمیت در ریزجلبک *P.subcapitata* شده‌اند (Metzler *et al*., 2011). تجمع و انباشتگی نانوذرات

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-02-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.1.13.2]

بر سطح سلول جلبکی نیز یکی دیگر از مکانیسم‌های سمیت نانوذرات است چون تجمع نانوذرات مانعی در برابر رسیدن نور خورشید به ریزجلبک *N. oculata* ایجاد می‌کند و می‌تواند باعث کاهش فتوسنتز این ریزجلبک گردد. از طرف دیگر، تجمع و تراکم سلول‌های *N.oculata* در پاسخ به نانوذرات اکسید مس می‌تواند یک مکانیسم دفاعی در برابر تماس فیزیکی با این نانوذرات باشد. Zhao و همکاران در سال ۲۰۱۶ گزارش کردند که سلول‌های جلبکی متراکم شده *C.pyrenoidosa* به عنوان یک مانع در برابر نانوذرات اکسید مس عمل می‌کنند و باعث کاهش آسیب نانوذرات به این سلول‌های جلبکی می‌شوند.

بنابراین نانوذره اکسید مس با کاهش مقدار کلروفیل و پروتئین و تخریب غشای سلولی باعث ایجاد سمیت و کاهش رشد ریزجلبک *نانوکلروپسیس اکولاتا* گردید. از طرف دیگر، افزایش میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و اتصال سلول‌های جلبکی، سیستم‌های دفاعی این ریزجلبک به شمار می‌روند که در پاسخ به سمیت این نانوذره فعال شده‌اند.

منابــع

Aruoja, V., Dubourguier, H.C., Kasemets, K., Kahru, A. 2009. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO_2 to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. Science of the Total Environment. 407: 1461-1468.

Bao, Sh., Lu, Q., Fan, T., Dai, H., Zhang, Ch. 2015. Assessment of the toxicity of CuO nanoparticles by using *Saccharomyces cerevisiae* mutants with multiple genes deleted. Applied and Environmental Microbiology. 81(23): 8098-8107.

Bartosz, G. 1997. Oxidative stress in plants. Acta Physiologiae Plantarum. 19(1): 47-64.

Blaise, C., Gagne, F., Fe´rard, J.F., Eullaffroy, P. 2008. Ecotoxicity of selected nano-materials to aquatic organisms. Environmental Toxicology. 23(5): 591-598.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantisation of microgaram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72: 248-257.

Chang, Y.N., Zhang, M., Xia, L., Zhang, J., Xing, G. 2012. The toxic effects and mechanisms of CuO and ZnO nanoparticles. Materials. 5: 2850-2871.

Comotto, M., Casazza, A.A., Aliakbarian, B., Caratto, V., Ferretti, M., Perego, P. 2014. Influence of TiO_2 nanoparticles on growth and phenolic compounds production in photosynthetic microorganisms. The Scientific World Journal. 2014: 1-9.

Deng, X.Y., Cheng, J., Hu X.L., Wang L., Li, D., Gao, K. 2017. Biological effects of TiO_2 and CeO_2 nanoparticles on the growth, photosynthetic activity, and cellular components of a marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*. Science of the Total Environment. 575: 87-96.

Das, K., Roychoudhury, A. 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. Frontiers in Environmental Science. 2: 1-26.

De Jong, W.H., Roszek, B., geertsma, R.E. 2005. Nanotechnology in medical applications: possible risks for human health. RIVM rapport. pp. 1-46.

Fazeli, F., Ghorbanli, M., Niknam, V. 2007. Effects of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars. Biologia Plantarum. 51(1): 98-103.

Fulks, W., Main, K.L. 1991. Rotifer and microalgae culture systems. Proceedings of a U.S.- Asia workshop. Honolulu, Hawaii. January. 28-31.

Griffiths, M.J., Harison, S.T.L. 2009. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. Journal of Applied phycology. 21: 493-507.

Hayat, S., Hasan, S.A., Fariduddin, Q., Ahmad, A. 2008. Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. Plant Interaction. 3(4): 297-304.

Jeffrey, S.W., Humphrey, G.F. 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c_1 and c_2 in higher plants, algae, and natural phytoplankton. Biochemie und Physiologie der Pflanzen. 167: 191-194.

Kar, M., Mishra, D. 1976. Catalase, peroxidase, polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiology. 57: 315-9.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-02-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.1.13.2]

Melegari, S.P., Perreault, F., Costa, R.H.R., Popovic, R., Matias, W.G. 2013. Evaluation of toxicity and oxidative stress induced by copper oxide nanoparticles in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. Aquatic Toxicology. 142-143: 431-440.

Metzler, D.M., Li, M., Erdem, A., Huang, C. 2011. Responses of algae to photocatalytic nano-TiO_2 particles with an emphasis on the effect of particle size. Chemical Engineering Journal. 170(2-3): 538-546.

Michalak, A. 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Polish Journal of Environmental Studies. 15: 523-530.

Parida, A.K., Das, A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety. 60: 324-349.

Ruiz, J.M., Rivero, R.M., LÓpez-Cantarero, I., Romero, L. 2003. Role of Ca^{2+} in the metabolism of phenolic compounds in tobacco leaves (*Nicotiana tabacum L.*). Plant Growth Regulation. 41: 173-177.

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymol. 299: 152-178.

Suman, T.Y., Radhika Rajasree, S.R., Kirubagaran, R. 2015. Evaluation of Zinc oxide nanoparticles toxicity on marine algae *Chlorella vulgaris* through flow cytometric, cytotoxicity and oxidative stress analysis. Ecotoxicology and Environmental Safety. 113: 23-30.

Thipyapony, P., Melkonia, J., Wolfe, D.W., Steffens, J.C. 2004. Suppression of polyphenol oxidase increases stress tolerance in tomato. Plant Science. 167: 693-703.

Wang, L., Wang, M., Peng, Ch., Pan, J. 2013. Toxic effects of Nano-CuO, micro-CuO and Cu^{2+} on *Chlorella*. Journal of Environmental Protection. 4: 86-91.

Xiao, X., Fan, F.R.F., Zhou, J., Bard, A.J. 2008. Current transients in single nanoparticle collision events. Journal of the American Chemical Society.16: 669-77.

Zhao, J., Cao, X., Liu, X., Wang, Z., Zhang, C., White, J.C., Xing, B. 2016. Interactions of CuO nanoparticles with the algae *Chlorella pyrenoidosa*: Adhesion, uptake and toxicity. Nanotoxicology. 10: 1-31.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-02-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.1.13.2]