فصلنامه علمی ـ پژوهشی دورهٔ ۳، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۳۹۳، صفحه ٦٧- ٧٨

تأثیر فلزهای سنگین (کادمیوم، مس، سرب و نیکل) بر کلروفیل *a* و زیست توده جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda*

سوگل کیانی، امیدوار فرهادیان[۲*] و نصرالله محبوبی صوفیانی[۳]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان
۲- دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی ، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان
۳- استاد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی ، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

تاریخ دریافت: ۹۲/٦/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۳

* نویسنده مسئول مقاله: omfarhad@cc.iut.ac.ir

چکیده

در یک طرح کاملاً تصادفی، تأثیر غلظت‌های ۰، ۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر از فلزهای سنگین کادمیوم، مس، سرب و نیکل بر تراکم، میزان کلروفیل *a* و زیتوده خشک در جمعیت جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* به مدت ١٤ روز در شرایط آزمایشگاهی در دمای ۲۳°C ، رژیم نوری ۱۲ ساعت تاریکی: ۱۲ ساعت روشنایی و شدت نور ٦٠ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه بررسی شد. کمترین تراکم، کلروفیل *a* و زیتوده خشک در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در تمام فلزهای مورد بررسی مشاهده شد. میانگین (± خطای استاندارد) بیشترین میزان کاهش کلروفیل *a* به‌ترتیب۱/۱± ۰/۸،۲٤/۲ ±، ۲۳/۱ ،۱/٤±۳٦/۷ و ۱/۲± ۳۵/۵ درصد در کادمیوم، مس، سرب و نیکل مشاهده شد. به‌طور مشابه، میانگین میزان کاهش در زیتوده خشک به‌ترتیب۳/۱± ۵۱/۵، ۱/٦±۳۵/۲،٤/۲± ٤۷/۹ و ۲/۸±٥٦/٦ درصد در کادمیوم، مس، سرب و نیکل حاصل شد. نتایج نشان داد که فلزهای سنگین باعث کاهش معناداری در میزان کلروفیل *a* و زیتوده جمعیت *S. quadricauda* شدند.

واژگان کلیدی: جلبک سبز، *Scenedesmus quadricauda* ، فلزهای سنگین، کلروفیل *a*، زیست توده

مقدمه

در اکوسیستم‌های آبی جلبک‌ها به‌عنوان تولیدکننده اولیه اکسیژن بوده و مواد آلی را برای دیگر اشکال حیات فراهم می‌کنند. در سال‌های اخیر جلبک‌ها به‌طور وسیعی برای ارزیابی خطرهای اکولوژیک (Ecological risk assessment) ، ارزیابی اثرهای فلزهای سنگین، علف کش‌ها، و دیگر مواد آلاینده در سیستم‌های آبی استفاده می‌شوند، زیرا آن‌ها به آلاینده‌های فلزی حساس هستند (Levy et al., 2007; Qian et al., 2008).

وجود فلزهای سنگین در محیط زیست به‌دلیل سمیت آن‌ها، تجمع زیستی، تهدید برای زندگی انسان و محیط زیست، یکی از نگرانی‌های بزرگ است (Horsfal and Igwe and Abia, 2003; Spiff, 2005). با توسعه سریع صنایع از جمله آب‌کاری فلزهای، استخراج از معادن، صنایع کود، دباغ، باتری، صنایع کاغذ، آفت‌کش‌ها و دیگر صنایع به‌خصوص در کشورهای در حال توسعه پساب‌های فلزهای سنگین به‌طور فزاینده‌ای به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم به محیط زیست تخلیه شده است. بر خلاف آلاینده‌های آلی، فلزهای سنگین تخریب‌پذیر نیستند و تمایل به تجمع در موجودات زنده دارند.

همه فلزهای سنگین، از جمله آن‌هایی که عناصر کم مصرف برای جلبک‌ها ضروری است، در غلظت‌های بالا سمی هستند. یکی از ویژگی‌های مشخصه سمیت فلزهای سنگین، مسمومیت و غیرفعال کردن سیستم آنزیمی است. بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، یعنی فتوسنتز، تنفس، سنتز پروتئین و سنتز کلروفیل، تغییرات در پروتئین‌ها، DNA و چربی‌های سلولی به‌شدت در غلظت‌های بالای فلزهای تحت تأثیر قرار می‌گیرند(Rai et al., 1981; Valko et al., 2005).

اثرهای سمی فلزهای سنگین بر رشد و نمو گیاهان مطالعه شده است؛ رشد، فتوسنتز و تنفس را محدود می‌کنند. جلوگیری از بیوسنتز کلروفیل و کاروتنوئید و کاهش فسفوریلاسیون اغلب از علائم عمده مسمومیت با فلزهای سنگین است (Smirnoff, 1995; Poskuta et al., 1996; Prasad, 2004).

غلظت‌های قابل ملاحظه‌ای از فلزهای سنگین در پساب وجود دارد. توانایی سیستم‌های تصفیه پساب به تحمل و حذف سمیت اهمیت بالایی دارد. جلبک‌های تک‌سلولی جذب‌کننده‌های مفیدی برای فلزهای سنگین هستند. تجمع فلزهای سنگین به‌وسیله جلبک‌ها، روشی ساده برای تصفیه پساب‌های آلوده به فلزهای سنگین است(Nakajima et al., 1981; Darnall et al., 1986). از سوی دیگر جلبک‌ها مزایایی از قبیل رشد در استخرهای با مقادیر اندک مواد غذایی را دارند. بسیاری از جلبک‌های آب شور و شیرین می‌توانند فلزهای سنگین مختلف را از محیط‌های آبی به‌طور انتخابی جذب کنند و آن‌ها را در درون سلول‌های خود ذخیره نمایند (Afkre et al., 2010; Kumar and Gaur, 2011; Chen et al., 2012). جلبک‌های تک سلولی فتوسنتزکننده نقش مهمی در سم‌زدایی پساب‌ها دارند (Soeder et al., 1978; Gale, 1986). تأثیرهای نوع فلزهای سنگین در غلظت‌های مختلف بر خصوصیات بیولوژیکی و بیوشیمیایی جلبک‌های میکروسکوپی متنوع است. این تأثیرها نه تنها به نوع و غلظت فلزهای سنگین بلکه به‌طور اختصاصی به گونه جلبک، خصوصیات ساختاری و عملکردی آن‌ها نیز بستگی دارد.

ریز جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* برای مطالعات در خصوص تغییرات فیزیکی و شیمیایی در شرایط زیست محیطی و اغلب برای نشان دادن حضور مواد مغذی یا سموم ناشی شده از منابع انسانی به سیستم‌های آبی استفاده می‌شود (Cramer, 1990; Hindak, 1990; Andersen, 2005). این گونه جلبک مصارف گوناگونی از نظر غذایی، کشاورزی، تولید ویتامین و دیگر جنبه‌های کاربردی دارد. علاوه بر این به‌عنوان پالایشگر زیستی برای حذف ترکیبات نیتروژن‌دار پسآب می‌تواند عمل کند. تصفیه پسآب با استفاده از ریز جلبک‌ها به علت وجود مزایایی همچون تولید زیست توده ارزشمند، عدم ایجاد آلودگی اضافی، بازچرخ مواد مغذی، فناوری ساده، کارایی بالا و هزینه پایین در حذف مواد مغذی، به‌خصوص نیتروژن، فسفر و دیگر آلاینده‌ها مفید است (De la Noue and Proulx, 1988, Tam and Wong, 1989).

جلبک سبز *S. quadricauda* یکی از متداول‌ترین و معمول‌ترین جلبک‌ها در محیط‌های آبی شیرین است. سلول‌های این جلبک غیرمتحرک و فاقد تاژک است و توانایی تشکیل کلونی دارند (Bellinger and Sigee, 2010). این جلبک در شرایط گوناگون می‌تواند کلنی‌هایی با یک سلول تا کلونی‌هایی با هشت سلول تشکیل دهد. در این تحقیق تأثیر غلظت‌های ۰، ۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر از فلزهای سنگین کادمیوم، سرب، مس و نیکل بر میزان کلروفیل *a* و زیست تودهٔ جمعیت جلبک سبز سندسموس (*S. quadricauda*) بررسی شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و خالص‌سازی جلبک *S. quadricauda*

جمع‌آوری جلبک *S. quadricauda* از آب استخرهای خاکی کارگاه پرورش کپورماهیان مرکز تکثیر و پرورش اصفهان صورت گرفت. جلبک سندسموس پس از مشاهده با میکروسکوپ اینورت (مدلCETI ، ساخت بلژیک) به کمک کلیدهای موجود شناسایی شد و با روش Lavens و Sorgeloos در سال ۱۹۹۶ با کشت بر روی آگار خالص‌سازی شد. برای این منظور ابتدا با استفاده از میکروپیپت سلول‌های فیتوپلانکتونی را به‌طور ناخالص جدا کرده و با بهره‌گیری از محیط کشت جامد آگار(Agar-Agar) و تجدید مداوم کشت ذخیره خالص جلبکی تهیه گردید. برای تهیه محیط کشت جامد به ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر، ۲ گرم آگار جامد به محیط کشت BBM بر اساس Nichols در سال ۱۹۷۳ اضافه شد.

ترکیب محیط کشت BBM شامل $NaNO_3$ (۲۵ گرم)، K_2HPO_4 (۱۰ گرم)، KH_2PO_4 (۱۵ گرم)، $MgSO_4.7H_2O$ (۷/۵ گرم)، NaCl (۲/۵ گرم)، $CaCl_2$ (۲/۵ گرم)، $MnCl_2$ (۱/٤٤ گرم)، $ZnSO_4$ (۸/۸۲ گرم)، MoO_3 (۰/۷۱ گرم)، $Co(NO_3)_2.6H_2O$ (۰/٤۹ گرم)، H_3BO_4 (۱۱/٤ گرم)، KOH (۳۱ گرم)، $FeSO_4.7H_2O$ (٤/۹۸ گرم) و EDTA (۵۰ گرم) که تمام آن‌ها در یک لیتر آب مقطر ریخته شد و pH آن را پیش از اتوکلاو کردن با استفاده از HCl ۰/۱ طبیعی و یا NaOH ۰/۱ طبیعی در ٦/۸ تنظیم گردید (Nichols, 1973). محیط کشت تهیه شده در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاوه شد. آنگاه محلول حاصل را به‌صورت مایع و تقریباً گرم و در شرایط ضدعفونی و استریل شده در پتری دیش‌های پلاستیکی (۵۰ میلی‌متری) ریخته و درب آن با پارافیلم بسته شد. پس از آنکه محیط کشت تهیه شده در دمای اتاق به حالت جامد تبدیل گردید، نمونه ناخالص تهیه شده از استخرهای پرورش ماهی را

بر روی محیط کشت قرار داده تا کلنی‌های جلبکی پس از ۲۰ روز تشکیل شود. در مرحله بعد، مشاهده جلبک خالص‌سازی شده در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ انجام شد و پس از حصول اطمینان، کار پرورش آن با استفاده از محیط کشت مایع BBM انجام گردید.

پس از کشت‌های متوالی در لوله آزمایش ۲۰ سی‌سی و ارلن مایرهای۲۵۰ سی‌سی و اطمینان از خالص بودن جلبک، پرورش جلبک در یک ارلن مایر دو لیتری با محیط کشت مناسب BBM انجام شد تا ذخیره اولیه جلبک سندسموس برای انجام آزمایش فراهم شود (Nichols, 1973). برای کشت جلبک، دو لیتر آب مقطر در یک ارلن مایر شیشه‌ای ریخته شد و به آن مقدار ۲۶ سی‌سی محیط کشت BBM اضافه شد (Phang and Chu, 1999). در مرحله بعد، ظرف 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 (مدل 121A، ساخت ایران) ضدعفونی و استریل گردید. پس از اتمام اتوکلاو و هم دما شدن با دمای آزمایشگاه، محلول ویتامین B طبق دستورالعمل اختصاصی کشت (Phang and Chu, 1999)، به ظرف کشت اضافه گردید و سپس با رعایت شرایط استریل، هم زده شد. ۲۰۰ سی‌سی از ذخیره جلبک سندسموس (با غلظت $10^5$۱سلول در میلی‌لیتر) به محیط کشت دارای ویتامین اضافه گردید و در دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و شدت نور۶۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه، و در پروتکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی قرار داده شد (Nichols, 1973).

نحوهٔ انجام آزمایش

برای ارزیابی میزان کلروفیل *a* و زیست توده جلبک *S. quadricauda* در غلظت‌های مختلف ۰ (شاهد) ، ۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر از فلزهای سنگین کادمیوم، سرب، مس و نیکل آزمایش به‌صورت یک طرح کاملاً تصادفی شامل غلظت‌های مختلف هر کدام در سه تکرار به‌طور جداگانه برای هر فلز در یک دوره ۱۴ روزه (برای اطمینان از تأثیرهای دراز مدت در جمعیت جلبک) انجام شد. ابتدا محیط کشت BBM تهیه گردید به‌طوری‌که غلظت ۰ در نمونه شاهد عاری از فلزهای سنگین و دیگر تیمارها دارای غلظت‌های مختلف ۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر از فلزهای کادمیوم، سرب، مس و نیکل و محیط کشت BBM بود. سپس pH آغازین آن‌ها با اضافه کردن هیدروکسید سدیم و کلریدریک اسید با غلظت ۰/۱ طبیعی با استفاده از pH متر (مدل 744 Metrohm، ساخت سوئیس) در ۶/۹ تنظیم شد. تمام فلزهای سنگین از کلرید این فلزهای سنگین تهیه شد که دارای درجه آزمایشگاهی مرک بودند. ۴۸ عدد ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری تهیه و به هرکدام، ۲۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت تهیه شده (BBM و فلز سنگین به‌طور جداگانه برای هر غلظت و هر نوع فلز) و ۲۵ میلی‌لیتر جلبک سندسموس (با غلظت 5×10^5 سلول در میلی‌لیتر) از پیش کشت داده شده، اضافه گردید. تیمارهای هر فلز سنگین مورد نظر به‌طور جداگانه اما درشرایط نگهداری مشابه با دیگر فلزها نگهداری شد (Muwafq and Bernd, 2006; Zhou et al., 2006).

در این تحقیق شمارش جلبک‌ها با استفاده از لام هموسیتومتری و با روش پیشنهاد شده از سوی Martinez وChakroff در سال ۱۹۷۵، پس از تثبیت

نمونه‌ها در محلول لوگل ایدین (مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر در هر ۳ میلی‌لیتر نمونه) انجام شد. برای اندازه‌گیری کلروفیل *a*، نمونه‌ها را پس از افزودن استون و سانتریفیوژ آن‌ها با قرائت میزان جذب نمونه‌ها (OD= Optical Density) با اسپکتوفتومتر (مدل جنوی) در طول موج‌های ٦٦٤، ٦٤٧ و ٦٣٠ نانومتر به روش شرح داده شده از سوی Parsons و همکاران (١٩٨٤) انجام شد. سپس میزان کلروفیل *a* با استفاده از رابطه تجربی زیر محاسبه گردید:

کلروفیل *a* = 11.85(OD664) – 1.54(OD647) – 0.08(OD630)

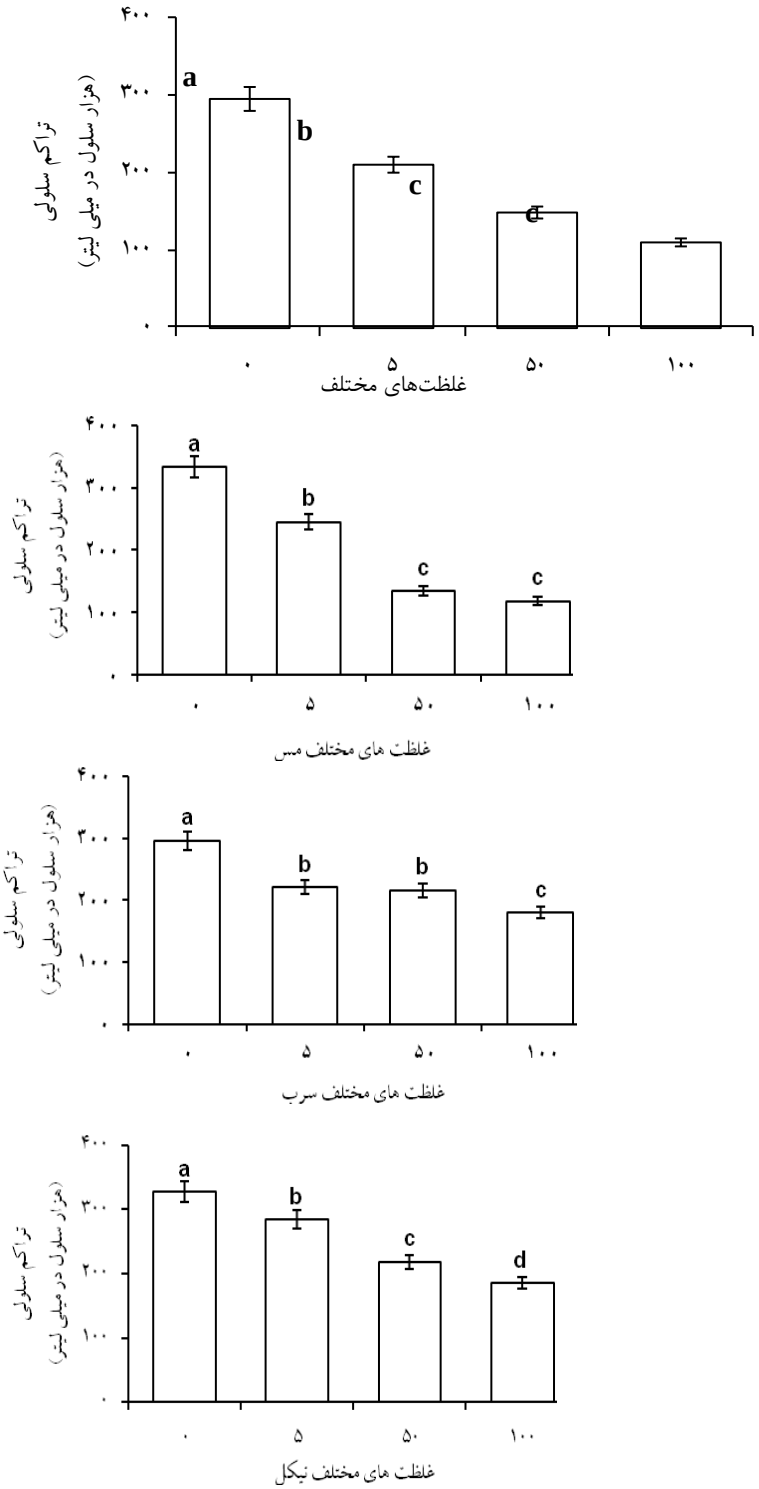
وزن خشک جلبک‌ها با استفاده از روش پیشنهاد شده از سوی Lavens و Sorgeloos در سال ١٩٩٦، با استفاده از فیلتر کردن ٢٠٠ میلی‌لیتر از جلبک‌های شمارش شده با استفاده از کاغذ صافی (٠/٢ میکرون) و به کمک پمپ خلأ و سپس خشک کردن نمونه‌ها در آون الکتریکی در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤ ساعت به‌دست آمد.

برای آنالیز داده‌ها از تجزیه واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون T-test با سطح احتمال($p <$ ٠/٠٥) استفاده گردید. تمام کارهای آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 16 انجام شد.

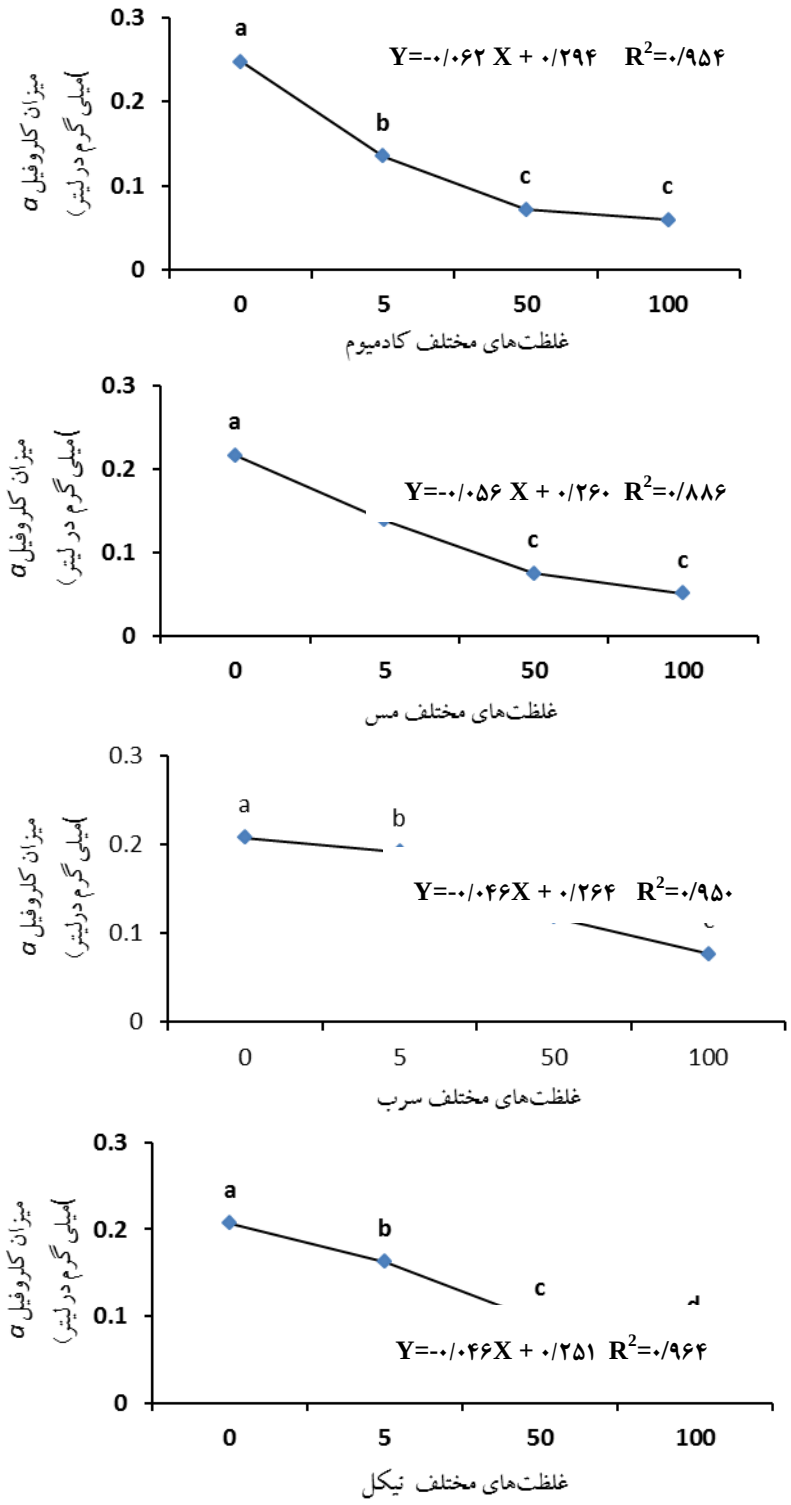
نتایج

نتایج غلظت‌های مختلف ۰، ۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر از فلزهای کادمیوم، مس، سرب و نیکل بر تراکم جلبک *S. quadricauda* در طول دوره آزمایش در شکل ۱ ارائه شده است. افزایش غلظت فلزهای سنگین در تیمارهای مختلف تفاوت‌های معناداری در کاهش تراکم سلولی کشت‌های جلبک *S. quadricauda* ایجاد کرد ($p <$ ٠/٠٥). بیشترین تأثیرها در تراکم جمعیت به‌ترتیب در مس، کادمیوم، سرب و نیکل در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده گردید (شکل ۱). کمترین میزان تراکم سلولی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم، در لیتر هرکدام از فلزها به‌دست آمد.

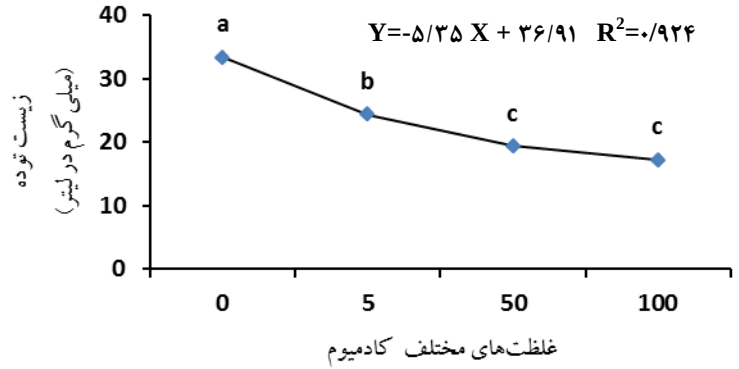
علاوه بر این، نتایج نشان داد که افزایش غلظت فلزهای سنگین باعث کاهش شدید و معناداری بر میزان کلروفیل *a* (شکل ۲) و زیست توده خشک (شکل ۳) جمعیت *S. quadricauda* شد. کمترین میزان کلروفیل *a* و زیست توده نیز در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در فلزهای سنگین آزمایش شده به‌دست آمد. هرچند که، میزان تأثیر فلزهای متفاوت بود. به‌طور کلی، بر اساس میزان شیب نمودار کلروفیل و غلظت فلزهای مختلف به‌ترتیب کادمیوم، مس، سرب و نیکل و میزان شیب نمودار زیست توده و غلظت فلزهای به‌ترتیب مس، کادمیوم، سرب و نیکل بیشترین سمیت تا کمترین را نشان دادند.

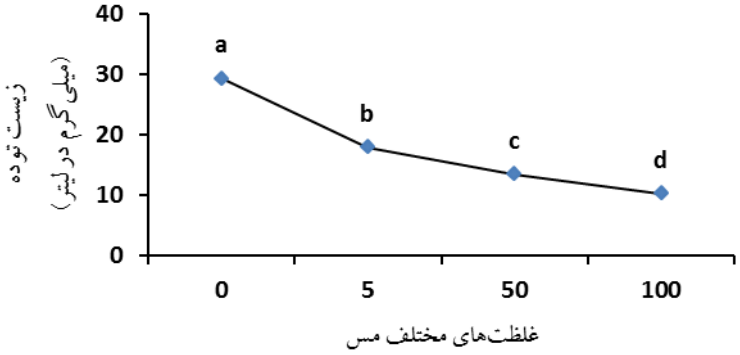


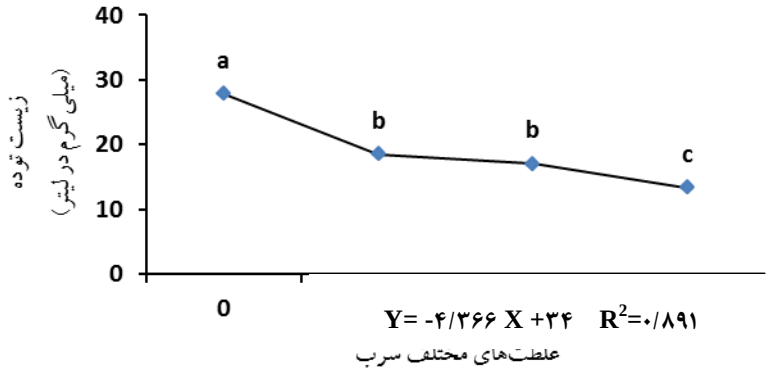
شکل ۱ تأثیر غلظت‌های مختلف مس، کامیوم، سرب و نیکل بر تراکم سلولی جمعیت جلبک سندسموس در روز ۱٤ دوره آزمایش با میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد آورده شده است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنادار بین میانگین‌ها در سطح ۵ درصد است.

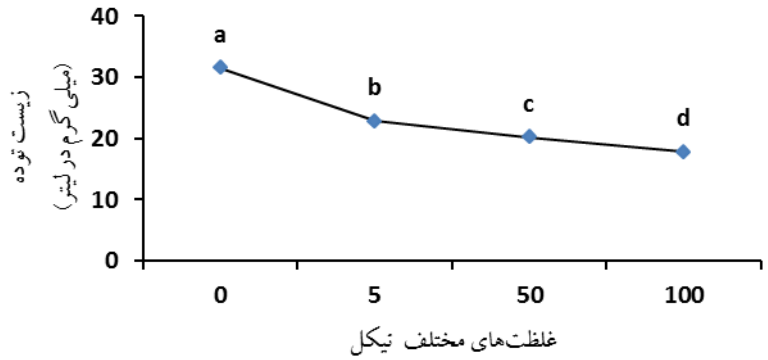


شکل ۲ تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم، مس، سرب و نیکل بر میزان کلروفیل *a* جمعیت جلبک سبز *S. quadricauda*. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنادار بین میانگین‌ها در سطح ۵ درصد است.


Y=-۵/۳۵ X + ۳۶/۹۱ R2=۰/۹۲۴
زیست توده (میلی گرم در لیتر)
40
30
20
10
0
a
b
c
c
0
5
50
100
غلظت‌های مختلف کادمیوم


Y=-۶/۱۵X + ۳۳/۱۶ R2=۰/۹۱۲
زیست توده (میلی گرم در لیتر)
40
30
20
10
0
a
b
c
d
0
5
50
100
غلظت‌های مختلف مس


Y=-۴/۵۰X + ۳۰/۴۱ R2=۰/۸۸۶
زیست توده (میلی گرم در لیتر)
40
30
20
10
0
a
b
b
c
0
Y= -۴/۳۶۶ X +۳۴ R2=۰/۸۹۱
غلظت‌های مختلف سرب



شکل۳ تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم، مس، سرب و نیکل بر میزان زیست توده خشک جمعیت جلبک سبز *S. quadricauda*

حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنادار بین میانگین‌ها در سطح ۵ درصد است.

بحث

تاکنون مطالعات مختلفی دربارهٔ اثر غلظت‌های مختلف فلزهای سنگین در انسان و جانداران آبزی و همچنین بر رشد و تولیدمثل جوامع فیتوپلانکتونی در جهان انجام گرفته است. همه مطالعات بر تأثیر منفی فلزهای سنگین بر رشد و تولیدمثل دلالت دارند (Bencko, 1983; Klaassen, 1996; Ouyang et al., 2002). تغییرات در شرایط زیست محیطی اغلب به‌طور مشخصی و به‌سرعت از سوی موجودات تک سلولی نظیر جلبک‌های میکروسکوپی قابل ارزیابی است و عکس‌العمل سریع‌تری نسبت به موجودات با ساختار پیچیده‌تر دارد (Jochem, 2000). ارزیابی تأثیرهای سمیت ناشی شده از فلزهای سنگین با استفاده از ریز جلبک‌ها سریع و بسیار کم‌هزینه است و می‌تواند به‌طور مؤثر در ارزیابی عناصر و ترکیبات سمی حتی در غلظت‌های بسیار کم از سموم استفاده شوند (Wong and Couture; 1986).

گونه‌های جنس سندسموس (*Scenedesmus* spp.) را اغلب برای نشان دادن تغییرات فیزیکو شیمیایی و شرایط زیست محیطی استفاده می‌کنند و برای حذف و جذب مواد مغذی یا سموم در سیستم‌های آبی نیز بسیار کاربرد دارد. برای مثال Muwafq و Bernd (۲۰۰۶) گزارش دادند که فلزهای سنگین (کادمیوم، سرب و مس) باعث کاهش رشد درجلبک *S. quadricauda* می‌شود که شدت تأثیرها به نوع و غلظت فلزهای مختلف و همچنین زمان و یا دوره تماس بستگی دارد.

فلزهای سنگین، اثرهای سمی بر مسیرهای متابولیکی گیاهان دارند. مکانیسم‌های مسمومیت از طریق مسدود کردن گروه‌های عملکردی (Functional groups) در مولکول‌های مهم از قبیل آنزیم‌ها، پلی‌نوکلئوتیدها، سیستم‌های انتقال مواد مغذی ضروری و یون‌ها، جابه‌جایی و یا جایگزینی با یون‌های ضروری از مکان‌های سلولی، دناتوراسیون و غیرفعال شدن آنزیم‌ها، اختلال فیزیولوژیکی در سلول و غشاهای سلولی می‌شود. علاوه بر این، تأثیرهای فلزهای سنگین از طریق تشکیل رادیکال‌های آزاد امکان‌پذیر است. رادیکال‌ها باعث اکسیداسیون مولکول‌های زیستی مانند اسیدهای نوکلئیک، پروتئین، و چربی می‌شوند و درنتیجه در ثبات سلولی و نفوذپذیری غشا اخلال ایجاد می‌کنند (Rauser, 1995; Cobbett, 2000; Cobbett and Goldsbrough, 2002).

در این مطالعه با افزایش غلظت فلزهای سنگین (کادمیوم، مس، سرب و نیکل) در جلبک سندسموس میزان کلروفیل *a* و زیست توده کاهش چشمگیری داشت. با توجه به نتایج به‌دست آمده، بیشترین میزان کلروفیل*a* و زیست توده در گروه شاهد (غلظت صفر) و کمترین میزان کلروفیل *a* و زیست توده در بیشترین غلظت مورد آزمایش (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به‌دست آمد که حاکی از تأثیر شدید فلزها بر *S. quadricauda* است. یافته‌های ما در این مطالعه نشان داد که میزان سمیت فلزهای سنگین مختلف متفاوت است. نتایج نشان داد که بر اساس میزان کاهش کلروفیل*a* به‌ترتیب کادمیوم، مس، سرب و نیکل هستند در حالی‌که بر اساس میزان کاهش زیست توده به‌ترتیب مس، کادمیوم، سرب و نیکل سمیت خود را نشان دادند. پس می‌توان نتیجه گرفت که تأثیر سمیت هرکدام از فلزها بر عوامل مختلف رشد متفاوت است.

در این مطالعه تأثیر کادمیوم و مس بر زیست توده و میزان کلروفیل *a* به مراتب بسیار بازدارنده‌تر از سرب و نیکل بود. کادمیوم به‌طور کلی فلزی غیرضروری با سمیت بالاست و هیچ‌گونه نقشی در متابولیسم سلولی ندارد. کادمیوم می‌تواند جایگزین دیگر فلزها از قبیل روی، مس و کلسیم در ساختار آنزیم‌ها و کوآنزیم‌ها شود و تغییرات بسیار شدیدی را در ساختار گروه عاملی سولفوهیدریل (SH-) ایجاد می‌کند. کادمیوم و مس تأثیرهای مستقیم بر فعالیت فتوسیستم دو (PSII) در فرایند فتوسنتز دارند. در این خصوص Baron و همکاران در سال ۱۹۹۵ گزارش دادند که مس تأثیر مستقیم بر فتوسنتز را از طریق جلوگیری از انتقال الکترون در فعالیت فتوسیستم دو (PSII) ایجاد می‌کند. از سوی دیگر، Zhou و همکاران در سال ۲۰۰۶ بیان نمودند که در جلبک‌ها جایگاه بازدارندگی کادمیوم می‌تواند روی دیگر آنزیم‌ها از قبیل ferrodoxin/NADP باشد. علاوه بر این، بعضی از محققان بر تأثیرهای بازدارندگی مس و کادمیوم در جذب CO_2 را مرتبط یا به‌واسطه با تأثیرهای آن‌ها بر چرخه احیایی کربن در فرایند فتوسنتز بیان کردند. برای مثال، Sheoran و همکاران در سال ۱۹۹۰ نشان دادند که کادمیوم تأثیرهای بازدارنده بر آنزیم ۳- فسفوگلیسریک اسید کیناز دارد که یکی از آنزیم‌های احیایی فتوسنتزی است. Devos و همکاران ۱۹۹۱ نشان دادند که مس سبب برهم زدگی یکپارچگی غشا تیلاکوئیدی در کلروپلاست جلبک‌ها و کاهش شدید میزان فتوسنتز می‌شود.

در این مطالعه تأثیر کادمیوم، مس، سرب و نیکل به‌ترتیب سبب کاهش۲٤/۲، ۲۳/۱، ۳٦/۷ و۳۵/۵ درصد از کلروفیل a و همچنین سبب کاهش ۵۱/۵، ۳۵/۲، ٤۷/۹ و ۵٦/٦ درصد در زیست توده خشک در جلبک *S. quadricauda* گردید. البته کاهش در تعداد سلول‌های جلبکی نیز به‌علت تأثیر فلزهای سنگین در این مطالعه به‌طور قابل ملاحظه‌ای مشخص شده است. به‌طور مشابهی در جلبک‌های *Scenedesmus obliquus* ، *Chlorella vulgaris* و *Anabaena flos-aquae*، کاهش تراکم به‌علت فلز سنگین روی به‌ترتیب ۷۱-۲۷/۷ ، ۵۷/۷-۱۳/۵ و ٤٤-۱۲ درصد گزارش گردید (Savari et al., 2004). به‌طور کلی می‌توان بیان کرد که تأثیر فلزهای سنگین بر کاهش تراکم جمعیت، کاروفیل و زیست توده متفاوت است که به گونه جلبک، نوع فلز سنگین و غلظت مورد استفاده بستگی دارد.

بنابراین استفاده از گونه *S. quadricauda* برای پایش بیولوژیکی در اکوسیستم‌های آبی به‌ویژه آب‌های آلوده شده

به‌دلیل پاسخ‌های سریع *S. quadricauda* به فلزهای سنگین و کم هزینه بودن مصرف آن در آبزی‌پروری توصیه می‌شود.

تشکر وقدردانی

از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه صنعتی اصفهان به لحاظ فراهم آوردن بودجه و امکان تحقیق سپاسگزاری می شود.

منابع

Andersen, R. A. 2005. Algal culturing techniques. Elsevier Academic Press, New York. 578 pp.

Afkar, A., Ababna, H. and Fathi, A. A. 2010. Toxicological response of the green alga *Chlorella vulgaris* to some heavy metals. *American Journal of Environmental Science* 6: 230-237.

Baron, M., Arellano, J. B. and Gorge, J. L. 1995. Copper and photosystem-II- a controversial relationship. *Physiological Plant*, 94: 174-180.

Bellinger, E. D. and Sigee, D. 2010. Freshwater Algae: Identification and use as Bioindicators. John Wiley & Sons, Ltd, UK, 271 pp.

Bencko, V. 1983. Nickel: A review of its occupational and environmental toxicology. *Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology, and Immunology* 27: 237.

Chen, C., Chang, H., Kao, P., Pan, J. and Chang, J. 2012. Biosorption of cadmium by CO2-fixing microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. *Bioresource Technology*, 105:74-80.

Cobbett, C. and Goldsbrough, P. 2002. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annual Review of Plant Physiology*, 53:159-182.

Cobbett, C. 2000. Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiology*, 123:825-832.

Cramer, J. 1990. Studies on the genus *Scenedesmus* MEYEN: Chlorophyceae, Chlorococcales from South India, with special references to the cell wall ultrastructure. Berlin, 75 pp.

Darnall, D. W., Greene, B., Henzl, M. T., Hosea, J. M., Mcpherson, R. A., Sneddon, J. and lexander, M. D. 1986. Selective recovery of gold and other metal ions from an algal biomass. *Environmental Science Technology*, 20: 206-208.

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

Devos, C. H. R., Schat, H., Dewaal, M. A. M., Vooijs, R. and Ernst, W. H. O. 1991. Increased resistance to copper-induced damage of the root cell plasmalemma in copper tolerant silene-cucubalus. *Physiological Plant*, 82: 523-528.

Gale, N. L. 1986. The role of algae and other microorganisms in metal detoxification and environmental clean-up. *Biotechnology and Bioengineering Symposium*, 16: 171–180.

Hindak, F. 1990. Studies on the Chlorococcal algae (Chlorophyceae). V.VEDA, Vydovatelstvo Slovensky Akademie Vied.

Horsfall, M. Jnr. and Spiff, A. I. 2005. Effects of temperature on the sorption of Pb^{2+} and Cd^{2+} from aqueous solution by caladium bicolor (wild cocoyam) biomass. *Electronic Journal of Biotechnology*, 8: 22-26.

Igwe, J. C. and Abia, A. A. 2003. Maize cob and husk as adsorbents for removal of Cd, Pb and Zn ions from wastewater. *The Physical Sciences*, 2: 83-94.

Jochem, F. J. 2000. Probing the physiological state of phytoplankton at the single-cell level. *Scientia Marine*, 64:183-195.

Klaassen, C. D. 1996. Casarett and Doulls Toxicology. The Basic Science of Poisons, 5th ed.; International Edition, pp 712-714.

Kumar, D. and Gaur, J. P. 2011. Metal biosorption by two cyanobacterial mats in relation to pH, biomass concentration, pretreatment and reuse. *Bioresource Technology*, 102: 2529-2535.

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

Levy, J. L., Stauber, J. L. and Jolley, D. F. 2007. Sensitivity of marine microalgae to copper: the effect of biotic factors on copper adsorption and toxicity. *Science Total Environment*, 387: 141-154.

Martinez, M. P. and Chakroff, J. B. P. 1975. Direct phytoplankton counting technique using using

Rauser W. E. 1995. Phytochelatins and related peptides: structure, biosynthesis and function. *Plant Physiology*, 109:1141-1149.

Savari, A., Falahi, M., Kochin, P. and Naseralavi, M. 2004. Effect of Zn heavy metal on three alga species of *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* and *Anabaena flos-aquae*. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 2: 83-90.

Sheoran, I. S., Singal, H. R. and Singh, R. 1990. Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and the enzymes of the photosynthetic carbon-reduction cycle in Pigeonpea (*Cajanus Cajan* L). *Photosynthesis Research*, 23: 345-351.

Smirnoff N, 1995. Environment and plant metabolism: flexibility and acclimation. Oxford: BIOS Scientific.

Soeder, C. J., Payer, H. D., Runkel, K. H., Beine, J. and Briele, E. 1978. Sorption and concentration of toxic minerals by mass cultures of Chlorococcales. *Mitteilungen Internationale Vereini gung für The oretische und Angew and telimnologie*, 21: 575-584.

SPSS, 2002. Statistical Package of Social Science, Version, 11.5. Chicago, IL, USA.

Tam, N. F. Y. and Wong, Y. S. 1989. Wastewater nutrient removal by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus* sp. *Environment Pollution*, 58: 19-34.

Valko, M., Morris, H. and Cronin, M. T. D. 2005. Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*, 12: 1161-1208.

Wong, P. T. S. and Couture, P. 1986. Toxicity screening using phytoplankton. In: Dutka BJ, Bitton G Toxicity Testing using Microorganisms. CRC, Boca Raton, pp 79-100.

Zhou, W., Juneau, P. and Qiu, B. 2006. Growth and photosynthetic responses of the bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to elevated levels of cadmium. *Chemosphere*, 65: 1738-1746.

the hemacytometer. *Philippine Agriculture Science*, 59: 43-50.

Muwafq, M. and Bernd, M. 2006. Toxicity of heavy metals on *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) de Brébisson in batch cultures (7 pp). *Environmental Science and Pollution Research*, 13: 98-104.

Nakajima, A., Horikoshi, T. and Sakagushi, T. 1981. Recovery of varnlum by immobilized microorganisms. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 16: 88-91.

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

Ouyang, Y. Higman, J. Thompson, J. Toole, O. T. and Campbell, D. 2002. Characterization and spatial distribution of heavy metals in sediment from Cedar and Ortega Riverssub-basin. *Journal of Contamination Hydrology*, 54:19-35.

Parsons, T. R. Maita, Y. and Lalli, C. M. 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, Oxford, 173 pp.

Phang, S. M., Chu, W. L. 1999. University of Malaya Algae Culture Collection (UMACC): Catalogue of Strains. Institute of Postgraduate Studies & Research University of Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia, 77 p.

Poskuta, J. W. and Parys, E., Romanowska, E. 1996. Toxicity of lead to photosynthesis, accumulation of chlorophyll, respiration and growth of *Chlorella pyrenoidosa*. Protective role of dark respiration. *Acta Physiological Plant*, 18:165–171.

Prasad, M. N. V. 2004. Heavy metal stress in plants: from biomolecules to ecosystems. Berlin: Springer-Verlag.

Qian, H. F., Chen, W., Sheng, G. D., Xu, X. Y., Liu,W. P. and Fu, Z. W. 2008a. Effects of lufosinate on antioxidant enzymes, subcellular structure, and gene expression in the unicellular green alga *Chlorella vulgaris*. *Aquatic Toxicology*, 88, 301–307.

Rai, L. C., Gaur, J. P. and Kumar, H. D. 1981. Phycology and heavy metal pollution. *Biological Reviews*, 56: 99-151.

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal **Vol. 3, No. 3, Autumn 2014**

Effect of Heavy Metals (Cadmium, Copper, Lead and Nickel) on Chlorophyll *a* and Biomass of Green Algae *Scenedesmus quadricauda*

Sogol Kiani[1], Omidvar Farhadian[2*], Nasrollah Mahboobi Soofiani [3]

1-M.Sc. Graduated student of Aquatic Cultivation and Propagation, Department of Fisheries, Natural resources Faculty, Isfahan University of Technology, Isfahan

2- Associate Prof., Department of Fisheries, Natural resources Faculty, Isfahan University of Technology, Isfahan

[3]- Prof., Department of Fisheries, Natural resources Faculty, Isfahan University of Technology, Isfahan

Received: 10/9/2013 Accepted: 24/5/2014

[*] Corresponding author: omfarhad@cc.iut.ac.ir

Abstract

In a completely randomized design, the effects of heavy metals of Cd, Cu, Pb and Ni at concentrations of 0, 5, 50 and 100 mg/l on chlorophyll *a* and biomass in green algae *Scenedesmus quadricauda* were investigated for 14 days under laboratory conditions of 23 °C, 12 h light: 12 hours light and light intensity of 60 mol photons/m^2/s. The lowest density, chlorophyll *a* and dry biomass obtained at 100 mg/l in all of the heavy metals. The mean (±SE) highest increasing rates of chlorophyll *a* were 24.2±1.1, 23.1±0.8, 36.7±1.4 and 35.5±1.2% for Cd, Cu, Pb and Ni, respectively. Correspondingly, the reduction rates based on dry biomass were 51.5±3.1, 35.2±1.1, 47.9±1.6 and 56.6±2.8% for Cd, Cu, Ni and Pb, respectively. The results showed that heavy metals made significant reduction on chlorophyll *a* and dry biomass in *S. quadricauda*.

Keywords: Green algae, *Scenedesmus quadricauda*, Heavy Metals, Chlorophyll *a*, Biomass