

تأثیر غلظت های مختلف کادمیوم بر تراکم، رشد و مرفولوژی سلولی جمعیت جلبک

سندسموس (*Scenedesmus quadricauda*)

سوگل کیانی، امیدوار فرهادیان، نصرالله محبوبی صوفیانی

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران

نویسنده مسئول: farhadyo@yahoo.com

چکیده

در این مطالعه، تراکم، رشد و تغییرات مرفولوژیکی سلول‌ها در جمعیت جلبک سبز سندسموس (*Scenedesmus quadricauda*) در غلظت‌های مختلف ۰، ۵، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم بررسی گردید. شرایط آزمایشگاهی پرورش این گونه شامل محیط کشت Bold Basal's Medium، دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، رژیم نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و شدت نور ۶۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه بود. آزمایش بصورت یک طرح کامل تصادفی به مدت ۱۴ روز انجام گردید. نتایج نشان داد که فلز کادمیوم باعث کاهش معنی‌داری در رشد و تراکم جمعیت سندسموس کوآدریکاذا می شود. پایین ترین میزان تراکم سلولی ($9/33 \times 10^4$ سلول در میلی لیتر)، کمترین نرخ رشد ویژه (۰/۰۰۹ در روز) و بیشترین زمان دوبرابر شدن جمعیت (۷۹/۲ روز) در غلظت ۵۰۰ میلی گرم در لیتر بدست آمد. مرفولوژی سلولی (بر اساس تعداد سلولها در هر کلنی) از جمعیت سندسموس کوآدریکاذا در طی دوره آزمایش دچار تغییرات قابل ملاحظه ای گردید. در تیمارهای با غلظت های پایین تر کلنی های تک سلولی غالب بود ولی با افزایش غلظت کادمیوم درصد کلنی های چهار سلولی در جمعیت افزایش یافت. بطور کلی، پاسخ سندسموس کوآدریکاذا به افزایش غلظت کادمیوم موجب کاهش رشد و تراکم در جمعیت جلبک سندسموس شد.

واژگان کلیدی: جلبک سندسموس، کادمیوم، تشکیل کلنی سلولی، نرخ رشد ویژه

مقدمه

(2010). این فلزات به علت اثرات سمی و توان تجمعی زیستی در گونه های مختلف آبزیان حتی بدلیل وارد شدن به زنجیره غذایی از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشند. بسیاری از فلزات بطور طبیعی از اجزای تشکیل دهنده اکوسیستم های آبی به حساب می آیند و تعدادی از آنها در بقای موجودات زنده نقش مهمی ایفا می کنند.

کادمیوم یکی از فلزات سنگین است که در دهه های گذشته مورد مطالعه قرار گرفته است. کادمیوم یک آلاینده زیست محیطی است که به طور گسترده ای انتشار یافته و سمیت آن به خوبی شناخته شده است. یونهای آن اثرات متعددی روی موجودات زنده در سطوح مولکولی، سلولی و بافتی دارند. آنها روی رشد و نمو موجودات اثر میگذارند و باعث مشکلات فیزیولوژیکی،

فلزات سنگین با توجه به پایداری زیست محیطی و تمایل به تجمع در موجودات آبزی یکی از مهم ترین آلاینده های اکوسیستم های آبی می باشند (Tam and Wong, 1989). فلزات سنگین در یک مقیاس وسیع، از منابع طبیعی و با فعالیت های انسان وارد محیط زیست می شوند. این منابع شامل هوازدهی طبیعی پوخته زمین، استخراج معادن، فرسایش خاک، تخلیه صنعتی، رواناب شهری، فاضلاب ها، آفت کش ها یا بیماری در گیاهان، اثرات و مشکلات ناشی از آلودگی هوا و عوامل دیگر می باشند (Ming-Ho, 2005). فلزات سنگین اثرات مضر حتی در غلظت بسیار کم در موجودات آبزی از جمله پلانکتون، گیاهان آبزی، بی مهرگان و مهره داران نشان می دهد (Sarma et al.,

که اگر سلول‌های جلبکی در معرض فلزات سنگین قرار گیرند ممکن است دچار تغییرات جدی مورفولوژیک و بیوشیمیایی شوند. نتایج حاصل از این بررسی‌ها نشان می‌دهد که اثرات مهاری و تحریکی هریک از فلزات سنگین به غلظت آنها بستگی دارد (Rocchetta et al., 2006).

در اکوسیستم‌های آبی جلبک‌ها و فیتو پلانکتون‌ها بخش مهمی از زنجیره غذایی موجودات آبزی و ماهی‌ها را تشکیل می‌دهند و لذا بخش عمده‌ای از تولیدات آبزیان مستقیماً وابسته به وجود آنها است. همچنین جلبک‌ها به واسطه عمل فتوسنتز و متصاعد نمودن اکسیژن، محیط اطراف خود را اکسیژنه نموده و شرایط را برای حیات آبزیان مساعد می‌نمایند (Tanaka et al., 1997). برخی از جلبک‌ها، مانند کلرلا، سندسموس (*Scenedesmus*) و آناسیس تیس (*Anacystis*) در بسیاری از تحقیقات فیزیولوژیکی به خصوص در پژوهش‌های مربوط به فتوسنتز کاربرد وسیعی در تمام کشورها دارند.

علاوه بر این ریزجلبک‌ها دارای توانایی بالایی برای تصفیه پساب هستند. تیمار پساب 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، بخصوص نیتروژن، فسفر و سایر آلاینده‌ها مفید است (De la Noue and Proulx, 1988; Tam and Wong, 1989).

جلبک سبز سندسموس کو/دریکادا ساکن آب‌های شیرین و شاخص زیستی این محیط‌ها می‌باشد. سلول‌های این جلبک غیرمتحرک و فاقد تاژک است و گاهی اوقات (Bellinger and Sigeo, 2010) تشکیل کلنی می‌دهد. تشکیل کلنی بوسیله جلبک‌های پلانکتونی ممکن است یک استراتژی معمول دفاعی در مقابل عامل‌های محیطی و غیر زنده نظیر دما و شوری

ترکیب بیوشیمیایی، مورفولوژی و سیتولوژیکی می‌شوند. در مطالعات زیست محیطی، اکثریت اطلاعات در مورد تاثیر کادمیوم بر روی گیاهان شامل جلبک‌ها، مربوط به اثرات بازماندگی بر روی فتوسنتز، فرآیند رشد و تجمع رنگدانه‌ها در کلروپلاست‌ها است (Bisova et al., 2003). از سوی دیگر کادمیوم و ترکیبات آن برای انسان سرطان‌زا شناخته شده است. کادمیوم در بدن انسان تجمع می‌یابد و روی چندین اندام از جمله کبد، کلیه، ریه، استخوان، جفت، مغز و سیستم عصبی مرکزی (Castro-Gonzalez and Méndez-Armenta, 2008) تاثیر منفی می‌گذارد.

همه فلزات سنگین، از جمله آنهایی که عناصر کم‌مصرف ضروری هستند (به عنوان مثال مس و روی) برای جلبک‌ها در غلظت‌های بالا سمی هستند. یکی از ویژگی‌های مشخصه سمیت فلزات سنگین، مسمومیت و غیرفعال کردن سیستم آنزیمی است. بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، یعنی فتوسنتز، تنفس، سنتز پروتئین و سنتز کلروفیل به شدت در غلظت‌های بالای فلزات تحت تاثیر قرار می‌گیرند. آلودگی فلزات سنگین باعث کاهش در تنوع گونه‌ای و منجر به تسلط چند گونه‌ی جلبکی مقاوم می‌شود. بهره‌وری اولیه نیز پس از آلودگی با فلز کاهش می‌یابد (Rai et al., 1981).

ریزجلبک‌ها شاخص‌های حساس به تغییرات زیست محیطی و به عنوان اساس بسیاری از اکوسیستم‌های آب شیرین و دریایی هستند و به طور گسترده‌ای در ارزیابی خطرات و نیز توسعه قوانین و مقررات زیست محیطی برای فلزات استفاده می‌شوند (Levy, 2007). تاکنون مطالعات مختلفی در خصوص تاثیر فلزات سنگین بر فاکتورهای رشد در موجودات مختلف از جمله آبزیان انجام گرفته است و تعداد قابل توجهی از آن‌ها اثرات سمی فلزات سنگین بر گونه‌های مختلف جلبک‌ها را نشان می‌دهد. به خوبی شناخته شده است

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 به ظرف کشت اضافه گردید و سپس با رعایت شرایط استریل، به هم زده شد. ۲۰۰ سی سی از ذخیره جلبک سندسموس (با غلظت ۱۰^۵ سلول در میلی لیتر) به محیط کشت دارای ویتامین اضافه گردید و در دمای ۲۵±۲ درجه سانتیگراد و شدت نور ۶۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه، و در دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داده شد (Nichols, 1973).

نحوه انجام آزمایش

به منظور ارزیابی جلبک سندسموس کوآدریکادا در غلظت های مختلف کادمیوم، آزمایش به صورت یک طرح کاملاً تصادفی شامل غلظت های مختلف ۰، ۵، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هر کدام در سه تکرار انجام شد. ابتدا یک لیتر از محیط کشت BBM برای هر کدام از تیمارها تهیه گردید و آنگاه غلظت های مختلف ۰، ۵، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ مورد نظر تیمارهای آزمایشی فراهم شد (معینی فیض آبادی، ۱۳۹۱). سپس pH آغازین آنها با اضافه نمودن HCl و NaOH با غلظت ۰/۱ نرمال با استفاده از pH متر (مدل Metrohm 744، ساخت سوئیس) در ۶/۹ تنظیم گردید. ۲۱ عدد ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری تهیه و به هر کدام، ۲۰۰ میلی لیتر از محیط کشت تهیه شده و ۲۵ میلی لیتر جلبک سندسموس (با غلظت ۵×۱۰^۵ سلول در میلی لیتر) از قبل کشت داده شده و خالص و عاری از باکتری ها اضافه گردید. شرایط نگهداری واحدهای آزمایشی مشابه نگهداری استوک جلبکی تنظیم گردید. دوره آزمایش ۱۴ روز در نظر گرفته شد. هر روز یکبار تراکم سلول های جلبکی

آب باشد و یا اینکه عامل های زنده نظیر فشار چراکندگی و یا تولید سموم بیولوژیکی در اکوسیستم های آبی باشد (Trainor, 1992; Wasmund, 1992; Kyong et al., 2001). ویژگی های مرفولوژیکی این کلنی ها تحت شرایط مختلف محیطی تغییر می یابد. این جلبک در این شرایط گوناگون می تواند سلول های بایک سلول تا کلنی با هشت سلول را تشکیل دهد. در این تحقیق تأثیر غلظت های مختلف کادمیوم بر عملکرد رشد، تولید و همچنین تغییرات مرفولوژیکی سلولی بر اساس تعداد سلولها در کلنی های مختلف در جلبک سبز سندسموس کوآدریکادا بررسی گردید.

مواد و روش ها

جمع آوری و خالص سازی جلبک

جمع آوری جلبک سندسموس کوآدریکادا از آب استخرهای خاکی کارگاه پرورش ماهی کرسگان در استان اصفهان صورت گرفت. جلبک سندسموس پس از مشاهده با میکروسکوپ اینورت (مدل CETI، ساخت بلژیک) به کمک کلیدهای موجود شناسایی شد و با روش Laven و Sorgeloos در سال ۱۹۹۶ با کشت بر روی آگار خالص سازی گردید. بعد از کشت های متوالی در لوله آزمایش ۲۰ سی سی و ارلن مایرهای ۲۵۰ سی سی و اطمینان از خالص بودن جلبک، پرورش جلبک در ارلن مایرهای دولیتری با محیط کشت مناسب^{۲۶} BBM انجام گردید تا ذخیره اولیه جلبک سندسموس جهت انجام آزمایش فراهم شود (Nichols, 1973). برای کشت جلبک، دو لیتر آب مقطر در ارلن مایرهای شیشه ای ریخته شد و به آن مقدار ۲۶ سی سی محیط کشت BBM اضافه شد. در مرحله بعد ظروف حاوی محیط کشت جلبک به همراه لوله های هوادهی و پنبه های کتانی مورد نیاز در

تعیین و ترکیب تعداد سلولها در هر کلنی بطور هفتگی تعیین گردید.

شمارش جلبک ها با استفاده از لام هموسیتومتری و با روش پیشنهاد شده توسط Martinez و همکاران (۲۰۰۰) انجام گردید. نرخ رشد ویژه $SGR = (\ln N_2 - \ln N_1) / \Delta t$ با استفاده از رابطه $DT = \log^2 e / SGR$ محاسبه گردید که در آن N_2 تعداد سلولهای جلبک در انتهای آزمایش و N_1 تعداد سلولهای جلبک در ابتدای آزمایش و Δt مدت زمان انجام آزمایش است. زمان دوبرابر شدن (DT) جمعیت جلبک ها با استفاده از رابطه $DT = \log^2 e / SGR$ محاسبه گردید (Omori and Ikeda, 1984).

آنالیز آماری داده ها با تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) انجام شد. برای مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن در سطح معنی دار ۵٪ استفاده شد (Zar, 1984). کارهای آماری لازم با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۹ (SPSS, 19) انجام گردید.

نتایج

تاثیر کادمیوم بر رشد و تولید در جمعیت

سندسموس

نتایج آنالیز واریانس یک طرفه، تاثیر کادمیوم بر تراکم سلول، میزان رشد ویژه و زمان دوبرابر شدن جلبک سندسموس در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد که غلظت های کادمیوم تاثیر بسیار معنی دار ($P < 0.01$) بر عاملهای مذکور دارد (جدول ۱). میانگین میزان تراکم در روزهای مختلف آزمایش (پرورش) در شکل ۱ ارائه شده است با توجه به نمودارها مشخص می شود که افزایش غلظت کادمیوم موجب کاهش

معنی داری در جمعیت می شود. مقایسه عملکرد تراکم، نرخ رشد ویژه (SGR) و زمان دو برابر شدن جمعیت (Dt) در روز پایانی آزمایش (روز ۱۴ پرورش) در شکل ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که بالاترین میزان تراکم سلولی ($294/7 \times 10^3$ سلول در میلی لیتر)، بالاترین نرخ رشد ویژه (0.055 در روز) و کمترین زمان دوبرابر شدن جمعیت ($12/6$ روز) در غلظت صفر کادمیوم (گروه شاهد) بود و کمترین میزان سلولی ($9/33 \times 10^4$ سلول در میلی لیتر)، کمترین میزان رشد ویژه (0.009) و بیشترین زمان دو برابر شدن جمعیت ($79/2$) در غلظت 500 میلی گرم در لیتر کادمیوم بدست آمد.

تاثیر کادمیوم بر تشکیل کلنی در جمعیت سندسموس

تاثیرات غلظت های مختلف کشت بر تعداد سلولها در هر کلنی از جمعیت سندسموس در شکل ۳ بر حسب تعداد سلول در هر میلی لیتر از کشت و در شکل ۴ بر حسب درصد از جمعیت کل در طی هفته های اول و دوم آزمایش ارائه شده است. نتایج نشان داد که کلنی های دارای تنها یک سلول در جمعیت سندسموس پرورش یافته در غلظت های پایین تر کادمیوم نسبت به بقیه کلنی ها غالب بود در حالیکه با افزایش غلظت کادمیوم کلنی های سندسموس دارای یک سلول بطور نسبی کاهش یافته و جمعیت جلبک سندسموس عمدتاً گرایش به تشکیل کلنی های با بیش از یک سلول داشت. مقایسه نتایج نشان داد درصد کلنی با ۴ سلول در جمعیت جلبک با افزایش غلظت کادمیوم به ویژه در غلظت های بالاتر کادمیوم (100 ، 200 و 500 میلی گرم در لیتر) افزایش می یابد.

جدول ۱. آنالیز واریانس یک طرفه تأثیر غلظت های مختلف (۰، ۵، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰) بر تراکم سلول جلبک، میزان رشد ویژه و زمان دوبرابر شدن جمعیت جلبک *S. quadricauda*. **: معنی دار در سطح ۰/۰۱ (P<۰/۰۱)

عامل	منابع تنوع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	میزان F	سطح معنی دار
تراکم سلول	تیمارها	۶	۹/۳۸×۱۰ ^{۱۰}	۱/۵۶×۱۰ ^{۱۰}	۱۲۶/۶۵	**
	خطا	۱۴	۱/۷۳×۱۰ ^۹	۲/۲۳×۱۰ ^۸		
	کل	۲۰	۹/۵۵×۱۰ ^{۱۰}			
نرخ رشد ویژه	تیمارها	۶	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۱۳۱/۷۳	**
	خطا	۱۴	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰		
	کل	۲۰	۰/۰۰۵			
زمان دو برابر شدن	تیمارها	۶	۱۰۶۶۲/۵۲	۱۷۷۷/۰۹	۶۷/۱۵	**
	خطا	۱۴	۳۷۰/۴۷	۲۶/۴۶		
(DT)	کل	۲۰	۱۱۰۳۲/۹۹			

بحث

در این مطالعه جلبک سندسموس کاهش معنی داری در رشد در اثر غلظت های مختلف کادمیوم را نشان داد. با افزایش غلظت کادمیوم میزان رشد و تراکم کاهش چشمگیری داشت. یافته های ما در این مطالعه نشان داد که کادمیوم می تواند بر تشکیل کلنی در جلبک سندسموس تأثیر گذار باشد و میزان رشد، تراکم و زیتوده جلبکی را شدیداً تحت تأثیر قرار دهد.

اگرچه تحقیقات گسترده ای در زمینه تأثیرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی فلزات سنگین در جلبک ها انجام شده اما تأثیر آنها در مورفولوژی سلولی پلانکتون ها به ندرت مورد بررسی قرار گرفته است. تاکنون مطالعات مختلفی در مورد اثر غلظت های مختلف فلزات سنگین روی رشد جوامع پلانکتونی در جهان انجام گرفته است و همه مطالعات تأثیر منفی فلزات سنگین بر رشد را تایید کرده اند. به عنوان مثال Monterio و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش کردند که کادمیوم در *(Desmodesmus pleiomorphus)* و *(Scenedesmus obliques)* منجر به کاهش قابل توجهی در تراکم و تعداد سلول نسبت به گروه شاهد شد. (Monterio et al., 2011) کاهش رشد در ریز

با افزایش آلودگی اکوسیستم های آبی توسط فلزات سمی و با توجه به قرار گرفتن ریز جلبک ها در زنجیره غذایی، مطالعات اکوتوکسیکولوژی برای طراحی استراتژی های بازسازی و پایش زیست محیطی حائز اهمیت است (Monterio et al., 2011). علاوه بر این، آزمایش سمیت ریز جلبک ها سریع و ارزان است و می تواند به طور موثر برای ارزیابی آن دسته از موادی که در غلظت های بسیار کم برای موجوداتی که از آنها تغذیه می کنند سمی هستند مورد استفاده قرار گیرند (Wong and Couture 1986).

برخی از فلزات سنگین مانند مس و روی در سطوح پایین برای فعالیت آنزیمی و بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی ضروری هستند ولی برخی از فلزات سنگین مانند کادمیم و سرب هیچ نقشی در موجودات زنده ندارند و حتی در غلظت های کم نیز سمی هستند. فلزات ضروری نیز در غلظت های بالا سمی هستند (Bryan, 1976).

(به عنوان مثال تقسیم سلولی، فراهم آوردن غذا، فتوسنتز و تنفس) منجر می شود.

جلبک ها زمانی که در معرض کادمیوم قرار می گیرند از تداخل در فرآیندهای فیزیولوژیکی پایه (Nalimova et al., 2005; la Rocca et al., 2009)

جدول ۲. میانگین ($\pm$ خطای استاندارد) تراکم جلبک سندسموس (هزار سلول در میلی لیتر) در غلظت های مختلف کشت در روزهای مختلف آزمایش. مقادیر، میانگین ۳ تکرار $\pm$ خطای استاندارد است.

روزهای آزمایش	غلظت های کادمیوم (mg/l)					
	۵۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۵۰	۱۰	۵
۱	۷۸/۶ $\pm$ ۷/۵	۸۲/۶ $\pm$ ۴/۹	۸۱/۳ $\pm$	۹۶/۰ $\pm$ ۲/۸	۹۷/۰ $\pm$ ۳	۱۱۸/۶ $\pm$ ۳/۳
۲	۷۳/۳ $\pm$ ۳/۴	۷۴/۶ $\pm$ ۱/۶	۸۸/۰ $\pm$ ۴/۹	۱۱۴/۶ $\pm$ ۸/۲	۱۰۴/۰ $\pm$ ۲/۸	۱۲۰/۰ $\pm$ ۴/۹
۳	۷۰/۶ $\pm$ ۳/۴	۷۸/۶ $\pm$ ۱/۶	۸۶/۶ $\pm$ ۱۷/۹	۱۱۰/۶ $\pm$ ۶/۵	۱۱۴/۳ $\pm$ ۵/۹	۱۱۸/۶ $\pm$ ۵/۹
۴	۶۸/۰ $\pm$ ۷/۵	۸۲/۶ $\pm$ ۱/۶	۸۹/۳ $\pm$ ۹/۱	۱۱۶/۰ $\pm$ ۲/۸	۱۵۰/۶ $\pm$ ۱۵/۶	۱۵۰/۶ $\pm$ ۵/۹
۵	۸۴/۰ $\pm$ ۵/۶	۸۴/۰ $\pm$ ۱/۴	۹۷/۳ $\pm$ ۹/۱	۱۲۹/۳ $\pm$ ۳/۲	۱۳۰/۶ $\pm$ ۹/۱	۱۲۶/۶ $\pm$ ۷/۲
۶	۸۶/۶ $\pm$ ۲/۸	۱۰۵/۳ $\pm$ ۸/۲	۱۳۶/۰ $\pm$ ۱۱/۳	۱۴۵/۳ $\pm$ ۱/۶	۱۵۷/۳ $\pm$ ۱/۶	۱۷۶/۰ $\pm$ ۲/۸
۷	۹۶/۰ $\pm$ ۵/۶	۱۰۵/۳ $\pm$ ۱/۵	۱۱۷/۳ $\pm$ ۳/۴	۱۳۶/۰ $\pm$ ۲/۸	۱۴۴/۰ $\pm$ ۴/۹	۱۶۰/۰ $\pm$ ۴/۹
۸	۸۴/۰ $\pm$ ۲/۸	۱۰۱/۳ $\pm$ ۹/۹	۱۱۶/۰ $\pm$ ۱۳/۰	۱۴۸/۰ $\pm$ ۴/۹	۱۶۰/۰ $\pm$ ۲/۸	۱۷۲/۰ $\pm$ ۱۷/۰
۹	۸۴/۰ $\pm$ ۷/۵	۱۱۰/۶ $\pm$ ۱۳/۹	۱۰۶/۶ $\pm$ ۳/۴	۱۴۸/۰ $\pm$ ۲/۸	۱۶۶/۶ $\pm$ ۳/۲	۱۸۲/۶ $\pm$ ۲۲/۹
۱۰	۸۲/۶ $\pm$ ۷/۱	۱۰۶/۶ $\pm$ ۸/۲	۱۲۰/۰ $\pm$ ۴/۹	۱۵۲/۰ $\pm$ ۲/۴	۱۶۱/۳ $\pm$ ۷/۱	۱۹۲/۰ $\pm$ ۱۷/۶
۱۱	۸۸/۰ $\pm$ ۱۰/۲	۱۰۶/۶ $\pm$ ۱۵/۶	۱۳۳/۳ $\pm$ ۵/۹	۱۵۳/۳ $\pm$ ۷/۱	۱۶۶/۶ $\pm$ ۱/۶	۱۹۷/۳ $\pm$ ۱۵/۸
۱۲	۷۸/۶ $\pm$ ۱۴/۲	۱۰۴/۰ $\pm$ ۱۷/۰	۱۱۲/۰ $\pm$ ۴/۹	۱۴۱/۳ $\pm$ ۹/۹	۱۶۱/۳ $\pm$ ۶/۵	۱۹۸/۶ $\pm$ ۱۴/۵
۱۳	۸۸/۰ $\pm$ ۷/۵	۹۶/۰ $\pm$ ۷/۵	۱۱۸/۶ $\pm$ ۸/۶	۱۴۶/۶ $\pm$ ۱/۶	۱۶۹/۳ $\pm$ ۱/۶	۱۹۶/۰ $\pm$ ۲۴/۲
۱۴	۹۳/۳ $\pm$ ۱۰/۷	۱۰۲/۶ $\pm$ ۹/۱	۱۱۰/۶ $\pm$ ۱/۶	۱۴۹/۳ $\pm$ ۱/۶	۱۶۴/۰ $\pm$ ۷/۵	۲۱۳/۳ $\pm$ ۱۱/۴

جدول ۳. تأثیر غلظت های مختلف بر تراکم (هزار سلول در میلی لیتر) ، نرخ رشد ویژه (در روز) و زمان دو برابر شدن (روز) جمعیت جلبک سندسموس در روز ۱۴ (پایان آزمایش). مقادیر، میانگین ۳ تکرار $\pm$ خطای استاندارد است. حروف یکسان در هر ردیف بیانگر عدم اختلاف معنی دار بین میانگین ها در سطح ۵ درصد است.

غلظت های کادمیوم (mg/l)						
۵۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۵۰	۱۰	۵	۰
d	d	d	c	c ۱۶۴/۰±۷/۵	b	a
۹۳/۳±۱۰/۷	۱۰۲/۶±۹/۱	۱۱۰/۶±۱/۶	۱۴۹/۳±۱/۶		۲۱۲/۰±۱۷/۶	۲۹۴/۶±۶/۵
f	e	d	c	c ۰/۰۳۴±۰/۰	b ۰/۰۴۲±۰/۰	a ۰/۰۵۵±۰/۰
۰/۰۰۹±۰/۰	۰/۰۱۳±۰/۰	۰/۰۲۰±۰/۰	۰/۰۳۱±۰/۰			
a	b ۵۳/۱±۷/۳	c ۳۵/۲±۲/۰	d ۲۲/۶±۲/۷	d	E	f
۷۹/۲۲±۵/۲				۲۰/۷±۵/۰	۱۶/۶±۰/۷	۱۲/۶±۰/۳
تراکم						
نرخ رشد ویژه						
زمان دو برابر شدن						

جدول ۴. میانگین ($\pm$ خطای استاندارد) تراکم کلنی های مختلف (برحسب هزار سلول در هر کلنی) از جلبک سندسموس در غلظت های مختلف کادمیوم در طی هفته های اول و دوم پرورش. حروف یکسان در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی دار بین میانگین ها در سطح ۵ درصد است.

غلظت های کادمیوم (mg/l)	تعداد سلول در کلنی (هفته اول)			
	۱	۲	۳	۴
غلظت های کادمیوم (mg/l)	۱	۲	۳	۴
۰	a ۱۲۶/۲±۸۹/۳	a ۱۵/۰±۰/۴	a ۱۲/۹±۱/۵	a ۲۶/۳±۱/۲
۵	b ۱۱۲/۱±۳/۰	b ۹/۸±۰/۶	b ۸/۸±۰/۲	d ۸/۸±۰/۶
۱۰	c ۱۰۳/۶±۳/۸	b ۱۲/۰±۲/۴	c ۵/۷±۰/۴	d ۷/۶±۰/۸
۵۰	c ۹۷/۷±۱/۸	c ۷/۸±۱/۴	c ۶/۷±۰/۸	d ۸/۰±۰/۴
۱۰۰	d ۶۶/۷±۱/۵	c ۸/۹±۱/۲	b ۸/۹±۲/۹	c ۱۴/۸±۱/۴
۲۰۰	e ۵۳/۹±۳/۲	c ۸/۴±۱/۲	b ۷/۸±۱/۵	c ۱۷/۵±۰/۲
غلظت های کادمیوم (mg/l)	تعداد سلول در کلنی (هفته دوم)			
	۱	۲	۳	۴
۰	a ۱۸۰/۰±۰/۵	a ۲۶/۵±۲/۸	a ۶ ۲۳/۰±۳/۱	a ۴۶/۳±۲/۰
۵	b ۱۵۹/۰±۱۰/۰	b ۱۵/۲±۴/۵	c ۸/۷±۱/۹	d ۹/۵±۰/۲
۱۰	c ۱۳۷/۱±۱/۲	b ۱۰/۷±۰/۹	c ۷/۰±۰/۲	d ۹/۵±۰/۲
۵۰	d ۱۲۳/۶±۱/۹	c ۷/۴±۰/۸	c ۶/۸±۰/۴	d ۱۰/۴±۰/۲
۱۰۰	e ۷۲/۰±۳/۲	c ۹/۵±۲/۰	b ۱۳/۹±۲/۲	c ۲۱/۳±۲/۹
۲۰۰	f ۵۱/۲±۶/۰	d ۷/۰±۱/۱	b ۱۳/۳±۱/۲	b ۳۱/۸±۱/۲
۵۰۰	g ۳۳/۵±۱/۴	d ۶/۳±۰/۶	b ۱۲/۰±۰/۶	b ۳۳/۷±۰/۴

جدول ۵. درصد کلنی های مختلف از کل جمعیت جلبک سندسموس در غلظت های مختلف کادمیوم در طی هفته های اول و دوم پرورش.

غلظت های کادمیوم (mg/l)	تعداد سلول در کلنی (هفته اول)			
	۱	۲	۳	۴
۰	۶۹/۹	۸/۳	۷/۲	۱۴/۶
۵	۸۰/۰	۷/۰	۶/۳	۶/۳
۱۰	۸۰/۴	۹/۳	۴/۴	۵/۹
۵۰	۸۱/۳	۶/۵	۵/۵	۶/۷
۱۰۰	۶۷/۰	۹/۰	۹/۰	۱۴/۹
۲۰۰	۶۱/۵	۹/۶	۸/۹	۲۰/۰
۵۰۰	۵۲/۴	۹/۱	۱۱/۵	۲۷/۰
غلظت های کادمیوم (mg/l)	تعداد سلول در کلنی (هفته دوم)			
	۱	۲	۳	۴
۰	۶۵/۳	۹/۶	۸/۴	۱۶/۸
۵	۸۲/۶	۷/۹	۴/۶	۵/۰
۱۰	۸۳/۴	۶/۵	۳/۴	۵/۸
۵۰	۸۳/۳	۹/۴	۴/۶	۷/۱
۱۰۰	۶۱/۷	۹/۰	۱۱/۹	۱۸/۳
۲۰۰	۴۹/۳	۶/۸	۱۲/۸	۳۰/۶
۵۰۰	۳۹/۲	۷/۳	۱۴/۰	۳۹/۴

ویژگی های مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی این جلبک می شود. در نتیجه هر گونه تغییر در سطوح فلزات سمی نیز به طور مستقیم منعکس کننده پاسخ های مورفوزنر است که می تواند شامل تغییر چشمگیر در اندازه، شکل و یا ویژگی های فیزیولوژیکی سندسموس باشد (Acharya and Saify, 2012).

تغییرات در شرایط محیطی مانند مواد شیمیایی آزاد شده توسط زئوپلانکتون ها می تواند باعث تشکیل کلنی در برخی فیتوپلانکتون های خاص مانند گونه های مختلف از جنس جلبک سندسموس شود (Trainor, 1992). برای مثال، مواد شیمیایی منتشر

علاوه بر این، بعضی از محققان تاثیرات بازدارندگی برخی از فلزات سنگین مانند مس و کادمیم در جذب CO₂ را مرتبط یا بواسطه تاثیرات آنها بر چرخه احیایی کربن در فرآیند فتوسنتز بیان نمودند. برای مثال، Sheoran و همکاران نشان دادند که کادمیم تاثیرات بازدارنده بر آنزیم ۳- فسفوگلیسریک اسید کیناز دارد که یکی از آنزیم های احیایی فتوسنتزی است (Sheoran et al., 1990).

سندسموس از جمله ریز جلبک هایی است که انعطاف پذیری بالایی در اندازه بدن به منظور غلبه در برابر عوامل استرس زا نشان می دهند. بنابراین هر گونه تغییر فیزیکی یا شیمیایی در محیط منجر به تغییراتی در

شده از دافنی (*Daphnia*) می تواند روی تشکیل کلنی در سندسموس (*Scenedesmus subspicatus*) موثر باشد. در *Ceratium* نیز افزایش دمای محیط منجر به افزایش تعداد و طول خارها و همچنین تفاوت بیشتر خارها می شود. همچنین تغییر شرایط محیطی در دیاتوم *Asterionella formosa* منجر به تغییر طول محور آپیکال می شود. کاهش دما در جوامع *S. cornmunis* منجر به افزایش اندازه کلنی ها، افزایش کلنی های هشت سلولی و چند خار شدن نسبت به کلنی های چهار سلولی و چهار گوشه خاردار می شود. با توجه به مطالعات Acharya و Saify، بررسی میکروسکوپی سلول های سندسموس نشان داد که در غلظت های پایین سولفات مس، ویژگی های مورفولوژیکی سلول های چهارتایی تغییری نکرد ولی افزایش غلظت در نمونه مورد مطالعه باعث افزایش تخریب و تغییر شکل سلول ها شد. سلول های بیرونی کمی برجسته شدند و همچنین طول و عرض سلول های بدن و خارها کاهش یافت. تغییرات ابعاد سلول ها و نیز تغییرات مورفولوژیکی با راهبردهای محافظتی این ریزجلبک برای مقابله با سولفات مس مرتبط بود

در این پژوهش نوع کلنی های جلبک سندسموس مورد مطالعه قرار گرفت. تعداد کلنی های تک سلولی در غلظت های پایین تر مورد آزمایش غالب بود اما کلنی های چهار سلولی در غلظت های بالاتر کادمیوم افزایش یافت. معمولاً چنین پاسخی از سندسموس می تواند به استراتژی دفاعی معمول در مقابل با عاملهای محیطی از قبیل دما و شوری (Trainor, 1992; Wasmund, 1992) و یا عاملهای زیستی از قبیل فشار شکارچیان و یا سموم تولید شده در اکوسیستم های آبی باشد (Van Donk et al., 1997).

همچنین، امروزه از جلبک های میکروسکوپی نظیر سندسموس می توان در جذب زیستی فلزات سنگین

از قبیل کادمیوم استفاده نمود (معینی فیض آبادی، ۱۳۹۱). جمع آوری فلزات در نتیجه جذب آنها به سطح سلول (دیواره سلولی، غشاء و یا پلی ساکاریدهای خارج سلولی)، اتصال به لیگاندهای داخل سیتوزولی، فیتوکلیت کننده ها، متالوتیونین ها و یا سایر مولکولهای داخل سلولی انجام میشود. دیواره سلولی جلبک ها حاوی گروههای عاملی مختلفی مثل هیدروکسیل، فسفوریل، آمین، گربوکسیل، سولفوریل هستند (معینی فیض آبادی، ۱۳۹۱). با توجه به اینکه یونهای فلزی در محیط آبی اغلب به فرم کاتیونی هستند لذا آنها می توانند از طریق این گروهها به سطح سلول اتصال یابند. بطور کلی جلبک ها و بخصوص گونه سندسموس می تواند یونهای فلزی را بخوبی جذب نماید.

جذب یونهای فلزی از سطح سلولی می تواند سبب مرگ سلولها شود. با توجه به نتایج بدست آمده، بیشترین تراکم در گروه شاهد (غلظت صفر) و کمترین تراکم در بیشترین غلظت مورد آزمایش (۵۰۰ میلی گرم در لیتر) بدست آمد که این می تواند حاکی از تأثیر شدید کادمیوم بر کاهش رشد و تراکم باشد. با افزایش غلظت کادمیوم (به ویژه در غلظت های بالاتر) در صد کلنی های تک سلولی کاهش و کلنی های دارای ۴ سلول افزایش یافت. به نظر می رسد این تغییر مورفولوژیکی در جلبک سبز سندسموس به منظور غلبه با استرس ناشی از مسمومیت فلز کادمیوم و حفظ بقا صورت می گیرد.

تشکر و قدردانی

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

- morphological changes in *Scenedesmus dimorphus* induced by substances released from grazer, *Daphnia magna* and *Moina macrocopa*. Korean Journal of Limnology 34: 285-291.
9. -la Rocca N, Andreoli C, Giacometti GM, Rascio N, Moro I (2009) Responses of the Antarctic microalga *Koliella antarctica* (Trebouxioophyceae, Chlorophyta) to cadmium concentration. Photosynthetica 47:471-479.
 10. -Lavens, P. and Sorgeloos, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical, 295 p.
 11. -Levy, J. L., Stauberand, J. L. and Jolley, D. F. 2007. Sensitivity of marine microalgae to copper: The effect of biotic factors on copper adsorption and toxicity. *Science of the Total Environment* 387: 141-154
 12. -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 obliquus*. Bioresource Technology, 73: 263-272.
 13. -Ming-Ho, Y. 2005. Environmental Toxicology: Biological and Health Effects of Pollutants, Chap. 12, CRC Press LLC, ISBN 1-56670-670-2, 2nd Edition, Boca Raton, USA.
 14. -Monteiro C. M., S. C. Fonseca, P. M. L. Castro and F. X. Malcata. 2011. Toxicity of cadmium and zinc on two microalgae, *Scenedesmus obliquus* and *Desmodesmus pleiomorphus*, from Northern Portugal. Journal of Applied Phycology 23:97-103.
 15. -Nalimova, A. A., Popova, V. V., Tsoglin, L. N., Pronina, N. A. 2005. The effects of copper and zinc on
- منابع**
۱. - معینی فیض آبادی، ا. ۱۳۹۱. حذف فلزات سنگین از محلول های آبی با استفاده از زیتوده جلبک سبز سندسموس کوادریکودا. پایان نامه کارشناسی ارشد مهندسی منابع طبیعی-محیط زیست، دانشگاه صنعتی اصفهان، ۱۰۰ صفحه.
 2. -Acharya, R. and Saify, T. 2012. Copper toxicity on cell morphometry of *Scenedesmus quadricauda* Chodat. *Indian Journal of Applied and Pure Biology* 27:165-171.
 3. -Bellinger, E. D. and Sigee, D. 2010. Freshwater Algae: Identification and use as bioindicators. John Wiley & Sons, Ltd., UK, 271 p.
 4. -Bisova, K., Hendrychova, J., Cepak, V. and Zachleder, V. 2003. Cell growth and devision processes are differentially sensitive to cadmium in *Scenedesmus quadricauda*. *Folia Microbiologica* 48: 805-816.
 5. -Bryan, G. W. 1976. Some aspects of heavy metal tolerance in aquatic organisms. In: A.P.M. Lockwood (Ed.), Effects of Pollutants on Aquatic organisms, Cambridge University Press UK: 7-34.
 6. -Castro-Gonzalez, M. I. and Méndez-Armenta, M. 2008. Heavy metals: Implications associated to fish consumption. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 26: 263-271.
 7. -De la Noue, J., Proulx, D. 1988. Biological tertiary treatment of urban wastewaters with chitosan immobilized Phormidium. *Applied Microbiology Biotechnology* 29: 292-297.
 8. -Kyong, H., Jang, M. H., Joo, G. J. and Takamura, N. 2001. Growth and

22. -SPSS, 2002. Statistical Package of Social Science, Version, 11.5. Chicago, IL, USA.
23. -Tam, N. F. Y., Wong, Y. S. 1989. Wastewater nutrient removal by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus* sp. Environmental Pollution 58: 19-34.
24. -Tanaka, K., Yamada, A., Noda, K. 1997. Oral administration of unicellular green algae, *Chlorella vulgaris*, prevents stress-induced ulcer. Planta Medica 63: 465-466.
25. -Trainor, F. R. 1992. Cyclomorphosis in *Scenedesmus armatus* (Chlorophyta): An ordered sequence of ecomorph development. Journal of Phycology 28: 553-558.
26. -Van Donk, E., Lürling, 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.
27. -Wasmund, N. 1992. Temperature and salinity demand of *Scenedesmus abundans* (Kirchn.) and *Scenedesmus obliquus* (Turp.) Kutz. (Chlorophyceae). Limnologia 22: 249-263.
28. -Wong, P.T.S., Couture, P. 1986. Toxicity screening using phytoplankton. In: Dutka BJ, Bitton G Toxicity Testing using Microorganisms. CRC, Boca Raton, pp 79-100.
29. -Zar, J.H. 1984 Biostatistical analysis, 2nd edition. Prentice Hall Inc., Englewood Cliffs, New York, USA, 718 p.
16. -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.
17. -Omori, M. and Ikeda, T. 1984. Methods in marine zooplankton ecology. John Wiley and Sons Inc, New York, 332 pp.
18. -Rai, L. C. Gaur, J. P, Kumar, H. D. 1981. Phycology and heavy metal pollution. Biological Reviews 56: 99-151.
19. -Rocchetta, I., Mazzuc, V. and Carmen, M. R. 2006. Effect of chromium on the fatty acid composition of two strains of *Euglena gracili*. Environmental Pollution 141: 353-358.
20. -Sarma, S. S. S., Corral-Jáquez, F. I. Nandini, S. and Brena-Bustamante, P. 2010. Population level indicators of stress: Effects of two heavy metals (copper and mercury) on the growth of *Lecane quadridentata* (Ehrenberg, 1830) (Rotifera: Lecanidae). Journal of Environmental Science Health, Part A. 45: 32-36.
21. -Sheoran, I. S., Singal, H. R., 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.

Effect of Different Concentration of Cadmium on Growth and Cellular Morphology of Green Algae Population of *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyceae)

Kiani S., Farhadian O*, Mahboobi Soofiani N

Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

*farhadyo@yahoo.com

Abstract

The density, growth and cellular morphology in green algae *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyceae) population were investigated at different concentrations of 0, 5, 10, 50, 100, 200 and 500 mg/l of Cadmium in this study. The experimental conditions for culture of this species were included of culture medium of Bold Basal's Medium, temperature of 25 °C, light regime of 12 hours light: 12 hours dark, and light intensity of 60 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$. The experiment was carried out as completely randomized design for a 14-day period. Results showed that increment of population density of *S. qaudricauda* cultured with increase of concentration of Cd, significant decrease during experiment. The lowest cellular density (9.33×10^4 cell/mL), minimum specific growth rate (0.009 /day) and maximum population doubling time (79.2 days) were obtained at 500 mg/l of Cd concentration. Cellular morphology (based on cells per colony) of *S. qaudricauda* population was considerably changed during experiment. The relative colony formation at lower of Cd concentrations dominated by only 1 cell/colony while the cell composition in the higher concentrations were tendency to more than 1 cell/colony. In overall, the response of *S. qaudricauda* to Cd concentrations increasing was to decrease in population.

Keywords: Algae, *Scenedesmus quadricauda*, Cadmium, Colony formation, Specific growth rate