J Oceanography 12(47): 109-116, Summer 2021

Journal of Oceanography
Homepage: joc.inio.ac.ir

ORIGINAL RESEARCH PAPER (Marine Science)

Effects of Different Concentrations of Lead on Growth, Photosynthetic Pigmentation and Protein Micro Alga *Isochrysis galbana*

Zohreh Barkhordari Ahmadi [1], Mohammadreza Taherzadeh [2]*, Morteza Yousefzadi [2]

[1] *M.Sc. Student, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences and Technology, University of Hormozgan, Hormozgan, Iran*

[2] *Assistant Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences and Technology, University of Hormozgan, Hormozgan, Iran*

ARTICLE INFO

Code: A-10-1232-2

Article History:
Received: 2019/08/6
Revised: 2020/03/14
Accepted: 2020/08/29

Keywords:
Microalgae *Isochrysis galbana*
Lead Metal
Growth
Chlorophyll and Protein Content

*Corresponding author:
taheri.1965@gmail.com

ABSTRACT

Background and Objectives: Pollution of the environment by heavy metals is one of the main environmental problems. Heavy metals are of special importance due to their toxic effects on the environment and bioaccumulation in various aquatic species and the creation of bio magnification in food chains. In water resources, microalgae are considered as important and valuable reserves in terms of production of organic matter and being at the base of the pyramid and energy production, and other organisms are directly or indirectly dependent on microalgae in the food chain. The aim of this study was to compare the toxicity of lead metal in different concentrations on the growth of *I. galbana* algae.

Methods: After reaching the desired volume, the prepared microalgae were tested to evaluate the effect of different concentrations (lead chloride) on the growth rate, chlorophyll and protein over a period of 15 days. For algae culture, F2 medium with 25 salinity was used. Lead metal treatments were selected at five concentrations (control, 5, 50, 100, 250 and 500 µg/l).

Findings: Analysis of statistical data was presented in the form of tables and graphs with the help of Excel and SPSS software for final conclusions and comparative understanding. . Observations showed that a concentration of 500 µg/l of lead metal reduced the growth of I.galbana algae. The highest growth rates were obtained at concentrations of 50 and 100 µg/l. In this experiment, the highest chlorophyll a content was related to the concentration of 5 µg/l and the lowest content was related to the concentration of 500 µg/l. Also, by studying the effect of tested metals on the amount of microalgae protein, it was found that in low concentrations it increased the amount of protein and in high concentrations it decreased the amount of microalgae protein.

Conclusion: The present studies showed that the species of microalgae *I. galbana* is not able to grow in low pests but was observed with increasing the concentration of lead metal and with increasing time inhibiting the growth of microalgae.

NUMBER OF TABLES	NUMBER OF FIGURES	NUMBER OF REFERENCES
0	3	42

مقاله پژوهشی (علوم دریایی)

اثرات غلظت‌های مختلف سرب بر رشد، محتوای رنگیزه فتوسنتزی و میزان پروتئین ریزجلبک *Isochrysis galbana*

زهره برخورداری احمدی[1]، محمدرضا طاهری‌زاده[2،*]، مرتضی یوسف‌زادی[3]

[1] کارشناسی‌ارشد زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان

[2] استادیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم وفنون دریا، دانشگاه هرمزگان

[3] استادیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم وفنون دریا، دانشگاه هرمزگان

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۱۵
تاریخ بازبینی: ۱۳۹۸/۱۲/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۰۸

واژگان کلیدی:
ریزجلبک Isochrysis galbana
فلزسرب
رشد
کلروفیل
محتوای پروتئین

*نویسنده مسئول
m.taherizadeh@hormozgan.ac.ir

چکیده

پیشینه و اهداف: آلودگی محیط زیست به وسیله فلزات سنگین یکی از مشکلات اساسی زیست محیطی محسوب می‌گردد. فلزات سنگین به علت اثرات سمّی در محیط و تجمع زیستی در گونه‌های مختلف آبزیان و ایجاد پدیده بزرگنمایی زیستی در زنجیره‌های غذایی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشند. در منابع آبی ریزجلبک‌ها به لحاظ تولید مواد آلی و قرار گرفتن در قاعده هرم و تولید انرژی جزء ذخایر مهم و با ارزش به‌شمار آمده و سایر موجودات ضمن وابستگی به یکدیگر در زنجیره غذای به ریزجلبک‌ها به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم وابسته‌اند. مطالعه حاضر با هدف مقایسه سمّیت فلز سرب در غلظت‌های مختلف بر رشد جلبک *I.galbana* می‌باشد.

روش‌ها: ریزجلبک تهیه شده پس از رسیدن به حجم مطلوب، جهت بررسی اثر غلظت‌های متفاوت (کلرید سرب) طی دوره ۱۵ روزه بر میزان رشد، کلروفیل و پروتئین مورد آزمایش قرارگرفت. برای کشت جلبک از محیط کشت F2 با شوری ۲۵ استفاده شد. تیمار فلز سرب در پنج غلظت (شاهد، ۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر لیتر) انتخاب شدند.

یافته‌ها: بررسی و آنالیز داده‌های آماری به‌صورت جدول و گراف با کمک نرم‌افزارهای Excel و SPSS به‌منظور نتیجه‌گیری نهایی و درک مقایسه صورت گرفته، ارایه شد. مشاهدات حاکی از این بود که غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر لیتر از فلز سرب باعث کاهش رشد جلبک *I.galbana* گردید بیشترین میزان رشد در غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر به‌دست آمد. در این آزمایش بیشترین محتوای کلروفیل *a* مربوط به غلظت ۵ میکروگرم بر لیتر و کمترین محتوا مربوط به غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر لیتر بود. همچنین با مطالعه اثر فلزات مورد آزمایش بر میزان پروتئین ریزجلبک مشخص گردید که در غلظت‌های کم باعث افزایش میزان پروتئین و در غلظت‌های بالا باعث کاهش میزان پروتئین ریزجلبک شد.

نتیجه‌گیری: مطالعات حاضر نشان داد که گونه ریزجلبک *I. galbana* قادر به رشد در غلظت‌های کم می‌باشد اما با افزایش غلظت فلز سرب و با گذشت زمان مهار رشد ریزجلبک مشاهده شد.

مقدمه

در میان هزاران ماده آلی و غیرآلی که وارد اکوسیستم‌های آبی می شوند، فلزات سنگین با توجه به مقدار سمیت، پایداری، تجزیه ناپذیر بودن و توانایی تجمع زیستی‌شان در بسیاری از گونه‌های دریایی از اهمیت بالایی برخوردارند. فلزات توسط فرآیند خودپالایی از آبها گرفته نمی‌شوند، اما در ذرات معلق شده در آب و رسوبات و جانوران آبزی تجمع پیدا می‌کنند[۱, ۲]. سرب یکی از خطرناکترین، مهم‌ترین و سمی‌ترین فلزات سنگین در اکوسیستم‌های آبی است [۳]. فلزات سنگینی چون سرب، کادمیوم، مس، جیوه، نیکل و روی در لیست آلاینده‌های خطرناک می‌باشند [۴]. سرب عمدتاً در نتیجه بهره برداری از معادن (به صورت سولفید، کربنات، سولفات سرب)، صنایع باتری سازی (سولفات و اکسید سرب و سرب)، سوخت‌های فسیلی (تترا اتیل و تترا متیل سرب)، رنگسازی (کربنات و کرومات سرب) و صنایع شیشه و لعاب (سیلیکات سرب)، وارد محیط زیست می‌شود [۵]. نقش زیستی سرب هنوز شناخته نشده است و این فلز حتی در غلظت‌های پایین سمی می‌باشد [۶]. تقاضا برای استفاده از سرب در فعالیت‌های انسانی همچنان به طور پیوسته افزایش یافته است، از حدود ۵ میلیون تن در سال ۱۹۹۰ به بیش از ۱۱ میلیون تن در سال ۲۰۱۴ [۷]. در اکوسیستم‌های آبی ریزجلبک ها به عنوان تولید کننده اولیه اکسیژن بوده و مواد آلی را برای دیگر اشکال حیات فراهم می‌کند. در سالهای اخیر جلبک‌ها برای ارزیابی اثرات فلزهای سنگین، علف کش‌ها و دیگر مواد آلاینده در اکوسیستم‌های آبی استفاده می‌شوند، زیرا آنها به آلاینده‌های فلزی حساس هستند [۸]. ریزجلبک‌ها، که اساس بیشتر اکوسیستم‌های آب شیرین و دریایی است، شاخص‌های حساس تغییرات محیطی هستند؛ آن‌ها به طور گسترده در ارزیابی ریسک و توسعه مقررات زیست محیطی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در اکوسیستم آبزی، جلبک‌ها به عنوان بهترین شاخص‌های زیستی آلودگی فلزات سنگین در نظر گرفته می شوند. آن‌ها مسئول تولید پایه هستند و هر گونه تغییری که در آنها رخ می‌دهد بر سطح مقادیر بالاتر تأثیر می‌گذارد [۹]. یکی از ویژگی های مشخصه سمیت فلزهای سنگین، مسمومیت و غیر فعال کردن سیستم آنزیمی است. بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، یعنی فتوسنتز، تنفس، سنتز پروتئین و سنتز کلروفیل، تغیرات در پروتئین‌ها، DNA و چربی‌های سلولی به شدت در غلظت‌های بالای فلزهای تحت تأثیر قرار می‌گیرند [۱۰, ۱۱]. ریزجلبک‌ها به عنوان پایه و اساس زنجیره‌های غذایی در محیط‌های دریایی شناخته می‌شوند و بنابراین به عنوان یک منبع غذایی غیرقابل اجتناب در پرورش تجاری گونه‌های مختلف آبزیان مطرح می‌باشند بعلاوه در تولید انبوه زئوپلانکتون ها نقش دارند که زئوپلانکتون ها نیز به عنوان منبع غذایی در رشد مراحل لاروی و جوانی سخت پوستان و ماهیهان دارای کاربرد و اهمیت می‌باشند [۱۲]. جلبک‌ها تولیدکنندگان اولیه زنجیره غذایی آبی هستند و به این دلیل اهمیت اکولوژیکی بالای دارند. ریز جلبک *I.balbana* متعلق به شاخه *Haptophyta* و خانواده Isochrysidaceae و جنس *Isochrysis* می‌باشد [۱۰]. جلبک *I.balbana* به عنوان غذا برای پرورش آرتیمیا، لارو میگوی آب شیرین، لارو نرمتنان دوکفه‌ای، لارو میگوهای خانواده پنائیده استفاده می‌شود (داودی و قربانی واقعی ، ۱۳۹۳). ارزش تغذیه *I. galbana* مربوط به ترکیبات بیوشیمیایی آنها به ویژه لپید و اسیدهای چرب است [۱۳-۱۵]. از آنجاییکه، فلزات تجزیه زیستی نمی‌شوند و در مقادیر معین برای بسیاری از آبزیان سمی هستند و ممکن است در اجزای مختلف اکوسیستم و بافت های جانداران تجمع یابند انتقال این آلاینده‌ها در طول زنجیره غذایی ممکن است در پایان به تهدید سلامت انسان منجر شود [۱۶]. با توجه به اهمیت جلبکها و نقش آنها در اکوسیستم‌های آبی افزودن سرب به محیط آبی با ایجاد خطراتی از جمله از بین رفتن ریز جلبک‌ها همراه است لذا هدف از مطالعه حاضر اثرات مختلف سرب بر تراکم سلولی، محتوایی کلروفیل و پروتئین ریز جلبک *I. galbana* می‌باشد.

مواد و روش‌ها

۱. کشت ریز جلبک و اعمال تیمارها

در این آزمایش استوک مورد نیاز جهت شروع کشت فیتوپلانکتون‌ها از مرکز تحقیقات شیلات بندر لنگه تهیه گردید. برای کشت جلبک از محیط کشت f2 (pH حدود ۸-۷/۸ و شوری ۲۵) استفاده شد. پس از انجام این مراحل با اضافه کردن استوک اولیه در حجم ۲۵۰ سی سی استوک خالص *I. galbana* کشت داده شد [۱۷]. جلبک *I.galbana* پس از رسیدن به حجم مطلوب (1.5×104) سلول در هر میلی لیتر، به مقدار یکسان و مشخص (به نسبت ۱۰ در ۹۰) در درون ارلن ها ریخته شد. و شش غلظت (۰، ۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرو گرم بر لیتر) از فلز سرب (کلرید سرب (Pbcl2)) تهیه شد و با استفاده ازسمپلر به محیط کشت جلبکی اضافه گردید [۱۸, ۱۹]. اثر غلظت‌های متفاوت سرب طی دوره ۱۵ روزه بر میزان رشد، کلروفیل و پروتئین در ۳ تکرار مورد آزمایش قرارگرفت. تمامی تیمارها و تکرارها تحت شرایط یکسان دمایی (۲۵-۲۲ درجه سانتی گراد) و میزان نور ۵۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس توسط لامپ فلوروسنت سفید با فاصله (۱۰-۱۵ سانتی متری) و به صورت ۱۲ ساعت روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی و تحت هوادهی مداوم برای جلوگیری از رسوب دهی قرار گرفت [۲۰]. در ادامه برای شمارش سلول‌های ریزجلبک بعد از همگن نمودن محیط کشت ریزجلبک و تثبیت یک میلی لیتر از نمونه ریز جلبک با استفاده فرمالین ۱۰ درصد توسط لام هموسیتومتر و با استفاده از میکروسکوپ نوری مدل (cx21FS1) با بزرگ نمایی ۱۰۰ در روزهای اول، سوم، پنجم، هفتم، نهم، یازدهم، سیزدهم و پانزدهم صورت پذیرفت و جذب نوری آن در طول موج ۶۸۰ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر مدل (CECIL INSTRUMENTS CAMBRIDGE ENGLAND) خوانده شد و میزان رشد آنها به دست آمد. رشد سلولی با اندازه گیری جذب

سوسپانسیون سلولی در ۶۸۰ نانومتر تعیین شد بدست آمد. غلظت سلول، x در ۱ میلی لیتر بر اساس عبارت زیر محاسبه شد:

$$X = 450.21 \times OD680 - 31.098$$ [۲۱]

۲. اندازه گیری میزان کلروفیل

به منظور بررسی تغییرات میزان کلروفیل، به مقدار ۱۰ میلی لیتر از سوپانسیون جلبکی برداشته و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۶۰۰۰ سانتریفیوژ مدل (A1Pha-1506) انجام گردید. سپس محلول رویی به طور کامل خارج شده و به باقیمانده حاصله یک میلی لیتر استون ۸۵ درصد اضافه و توسط ورتکس به خوبی مخلوط می‌شود و سپس توسط فویل آن را پوشانده و به مدت ۲۴ ساعت در مکانی تاریک سرد قرار می‌دهیم. و بعد از گذشت ۲۴ ساعت عمل سانتریفیوژ تکرار، محلول رویی استخراج و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومترمدل (CECIL INSTRUMENTS CAMBRIDGE ENGLAND) میزان جذب آن در طول موج‌های ۶۳۰ و ۶۶۴ نانومتر قرائت و مقدار کلروفیل کل برحسب میکروگرم در لیتر و در سه تکرار به وسیله فرمول زیر محاسبه شد [۲۲].

$$Ca=11.64\ E664-0.40E630$$

۳. اندازه‌گیری میزان پروتئین

برای بررسی تغییرات پروتئین از روش برادفورد استفاده گردید. برای استخراج عصاره پروتئین ۰/۵ گرم از نمونه ریزجلبک *I. galbana* در ۱/۵ میلی گرم محلول بافر فسفات (KH_2PO_4) حل نموده و در دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ شد و سپس فاز بالایی جدا گردیده که حاوی پروتئین کل است. برای اندازه گیری پروتئین به روش برادفورد به ۰/۱ سی سی عصاره پروتئینی از هر نمونه ۵ سی سی محلول برادفورد اضافه شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه ورتکس گردیده و جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر یادداشت گردید [۲۳].

۴. آنالیز آماری

داده‌های به دست آمده، در نرم افزار Excel ثبت ودر مراحل بعدی مورد آزمون قرار گرفت. ابتدا، نسبت به نرمال بودن داده‌ها به کمک نرم افزار SPSS وآنالیز Kolmogorov-Smirinov Z اطمینان حاصل شد و سپس، تفاوت بین گروه‌های تیماری از طریق آزمون ANOVA و در سطح اطمینان ($p<۰/۰۵$) مورد بررسی قرار گرفت و به کمک نرم افزارهای Excel و SPSS نتایج حاصله به صورت نمودار ارائه گردید.

نتایج و بحث

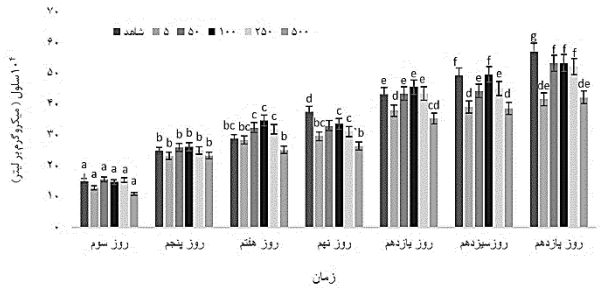
۱. اثر فلز سرب بر روی رشد ریزجلبک

در شکل ۱ نتایج حاصل از تأثیر فلز سرب بر روی رشد سلول جلبکی *I. galbana* در غلظت‌های مختلف سرب نشان داد که رشد ریزجلبک در غلظت‌های مختلف نسبت به شاهد کمتر بوده است بطوریکه بیشترین میزان رشد ریزجلبک در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم برلیتر و کمترین میزان رشد در غلظت ۵۰۰ میکرو گرم بر لیترمشاهده شد. با توجه به آنچه نتایج آنالیز واریانس نشان می‌دهد درمیان تیمارهای مختلف (غلظت‌ها) و روزهای فرد از نظر میزان رشد ریزجلبک *I. galbana* اختلاف معنی دار وجود داشته است ($p<۰/۰۵$). نتایج آزمون توکی نشان داد که میزان رشد درمیان روزهای سوم وپنجم اختلاف معنی داری نداشت ($p>۰/۰۵$). از طرفی بر اساس نتایج حاصله می‌توان در یافت که در بین روزهای هفتم، نهم، یازدهم، سیزدهم و پانزدهم اختلاف معنی داری وجود داشته است ($p<۰/۰۵$). از آنجا که اثرات سمی فلزات سنگین به غلظت و زمان قرار گرفتن در معرض فلز بستگی دارد بنابراین، رشد *I. galbana* به طور معنی داری ($p<۰/۰۵$) تحت تأثیر این دو عامل همراه با تعامل آنها با سرب بود [۲۴]. تحقیقات نشان داده است که یون سرب می‌تواند مقلد خوبی برای نقش کلسیم-کالمودولین باشد و به نظر می‌رسد یکی دیگر از دلایل کاهش رشد، اختلال در جذب عناصر ضروری نظیر کلسیم و منیزیم به دلیل وجود یون سرب در محیط باشد که به نوبه خود متابولیسم سلول‌ها را تحت تأثیر قرار می دهد [۲۵]. سرب همچنین می‌تواند به اسیدهای نوکلئیک متصل شده و بدین ترتیب سبب تجمع و تراکم کروماتین و تثبیت مارپیچ مضاعف DNA و به دنبال آن مانع از فرایند رونویسی و ترجمه گردد [۲۶]. ریزجلبک‌ها با توجه به غلظت فلزات در محیط، آن‌ها را می توانند از محیط جذب کنند. تجمع یونهای فلزی درجلبکها بصورت جذب زیستی که سرعت بالایی داشته و طی آن یونهای فلزی در یک دوره زمانی کوتاه به سطح سلول اتصال می‌یابد، صورت می‌گیرد. همچنین تجمع زیستی می‌تواند صورت بگیرد که سرعت آن کمتر استو طی آن، یون‌های فلزی از طریق دیواره سلولی با مصرف انرژی به داخل سیتورول انتقال داده می‌شوند. البته گاهی اوقات این عمل با انتشار ساده انجام می‌گیرد [۱۸, ۲۷, ۲۸]. با این حال بنظر می رسد ریز جلبک *I. galbana* قادر به تحمل سرب در غلظت‌های مورد استفاده در این تحقیق باشد. زیرا به رشد و تکمیل چرخه زندگی خود (شکل ۱) هر چند با کاهش نرخ رشد در مقایسه با شاهد ادامه داده است.

۲. اثر فلز سرب بر محتوای کلروفیل a ریز جلبک *Isochrysis galbana*

با توجه به شکل ۲ در بین غلظت‌های مختلف سرب بیشترین میزان جذب در بین غلظت‌های ۵، ۵۰، ۱۰۰ و کمترین میزان جذب کلروفیل در غلظت‌های ۵۰۰ مشاهده شد. سنتز کلروفیل در جلبک *I. galbana* با افزایش غلظت سرب بتدریج کاهش پیدا می‌کند و با

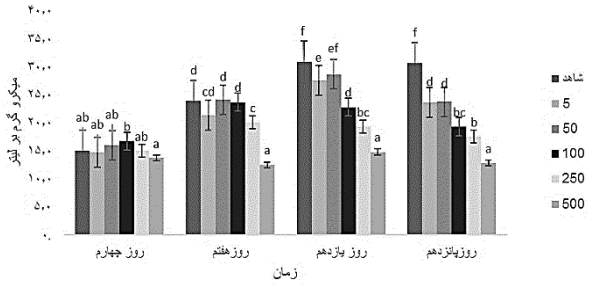
افزایش زمان این اختلاف بیشتر می‌شود با توجه به بررسی غلظت‌های مختلف، تفاوت معنی داری در سطح احتمال (p<۰/۰۵) بین میزان کلروفیل و غلظت‌های مختلف سرب در ریز جلبک *I. galbana* مشاهده شد.



شکل ۱: روند نرخ رشد جلبک *I galbana* تحت تیمار غلظت‌های مختلف سرب داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای معیار (SE) می‌باشد و حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین نمونه‌ها بر اساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال p<0.05 می‌باشند.

Fig.1: The growth rate trend of *I albana* under the treatment of different concentrations of lead data is the average of three replications standard error (SE) and different letters indicate a significant difference between samples based on comparison of means by Duncan test and common letters indicate no significant difference in The probability levels are p <0.05.

سیستم جمع آوری نور شامل یک ساختار پیچیده از قبیل مولکول‌های کلروفیل و پروتئین‌ها است که هر دو می‌توانند تحت تأثیر سرب قرار بگیرند و در نتیجه بر در دسترس بودن نور تأثیر می‌گذارند فلزات سنگین می‌توانند سنتز کلروفیل را مهار کنند و مانع جذب عناصر ضروری برای رنگدانه های فتوسنتزی نظیر Mg، K، Ca و Fe توسط گیاهان شوند [۲۹]. کلروفیل ها به عنوان رنگیزه اصلی در فتوسنتز، مسئول دریافت انرژی نورانی و تبدیل آن به انرژی شیمیایی در زنجیره انتقال الکترون می‌باشد. از آنجا که میزان و شدت فتوسنتز تحت تأثیر تنشهای محیطی تغییر می‌کند، انتظار می رود که تغییراتی در میزان کلروفیل a و پروتئین‌هایی که در ساختار کلروپلاست و در ارتباط با کلروفیل a می‌باشند، ایجاد شود [۳۰]. غلظت‌های مختلف سرب باعث کاهش چشمگیر رنگیزه‌های فتوسنتزی در ریزجلبک‌ها می‌شود. این کاهش می‌تواند به دلیل بازدارندگی مراحل مختلف بیوسنتز رنگیزه ها توسط سرب باشد [۳۱]. فتوسنتز یک فرآیند مهم فیزیولوژیکی ریزجلبک ها است. و هر عامل مهار رشد جلبک‌ها می‌تواند به طور مستقیم مانع از فتوسنتز سلول‌های جلبک شود. بنابراین، می‌توان از فرآیند فتوسنتز برای ارزیابی سریع اثرات سمی آلاینده‌ها بر روی جلبک‌ها استفاده کرد [۲۵]. نتایج نشان داد که سرب اثرات قابل توجهی بر روی فتوسنتز ریز جلبک کلورلا دارد و می‌تواند به طور معنی داری مانع از عملکرد PSII شود [۳۲]. به نظر می‌رسد سرب بر سنتز در ساختمان سیتوکروم های زنجیره انتقال الکترون میتوکندری و یا در حلقه پورفیرینی کلروفیل ها از طریق رقابت با Fe2+ و Mg2+ اثر دارد [۳۳]. همچنین کاهش محتوای کلروفیل ممکن است به علت افزایش فعالیت کلروفیل از به وسیله اختلال در غشاء کلروپلاست و غیر فعال شدن نقل و انتقال الکترون به فتوسیستم I ایجاد شود [۳۴]. میزان فلز جذب شده توسط جلبک در غلظتهای مختلف سرب، می‌تواند کاهش رشد و محتوای کلروفیل را توجیه کند. به نظر می‌رسد افزایش میزان سرب در محیط کشت در غلظت‌های بالا باعث افزایش این فلز درون ریزجلبک شده و ایجاد تنش می‌کند [۳۵-۳۷].

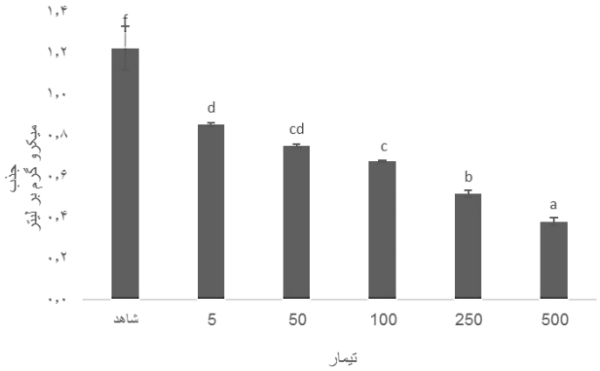


شکل ۲: روند تغییرات میزان کلروفیل a در ریز جلبک *I.galbana* در غلظت‌های مختلف سرب داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای معیار (SE) می‌باشد و حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین نمونه‌ها بر اساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی و حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال p<0.05 می‌باشند.

Fig.2: The trend of changes in chlorophyll a in microalgae *I.galbana* at different concentrations of lead data is the average of three replications standard error (SE) and different letters indicate a significant difference between samples based on comparison of means with Tukey test and common letters indicate the absence Significant differences in the probability level are p <0.05

۳. اثر فلز سرب بر محتوای پروتئین ریزجلبک

شکل ۳ تغییرات میزان پروتئین ریزجلبک *I.galbana* را نشان می دهد که در این تحقیق نتایج تأثیر فلز سرب کمترین میزان پروتئین در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ مشاهده شد، در بین غلظت‌های مختلف سرب در هیچ کدام از غلظت‌ها اثر مهاری مشاهده نشد اما میزان پروتئین در غلظت‌های بالا نسبت به شاهد کمتر بوده است. با توجه به بررسی میزان پروتئین در غلظت‌های مختلف سرب در ریز جلبک *I. galbana* تفاوت معنی داری وجود داشت. نتایج حاصله از آزمون توکی جهت مطالعه همگنی بین غلظت‌های مختلف نشان داد میان شاهد و غلظت‌های ۵، ۵۰ و ۱۰۰ اختلاف معنا داری از نظر میزان پروتئین وجود نداشت اما میان غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ اختلاف معناداری دیده شد (p<0.05). Bajguz و همکاران (۲۰۱۱) [۳۸]، در بررسی که بر روی جلبک Chlorella vulgaris انجام دادند گزارش نمودند که با افزایش میزان فلزات، مقدار محتوای پروتئین را در غلظت‌های بالا کاهش می‌دهد. محتوای پروتئین، شاخص مهم تغییرات برگشت پذیر و غیر قابل برگشت در متابولیسم شناخته شده است که پاسخ به طیف گسترده‌ای از عوامل استرس زا است [۳۹]. بازدارندگی در محتوای پروتئین ناشی از غلظت‌های بالاتر فلزات سنگین را نشان داده که می‌تواند به اثر سمی فلزات سنگین بر روی فعالیت‌های آنزیمی مرتبط به بیوسنتز متابولیت‌ها مربوط باشد [۴۰].



شکل ۳: روند تغییرات میزان پروتئین در ریز جلبک *I.galbana* در غلظت‌های مختلف سرب داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای معیار (SE) می‌باشد و حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین نمونه‌ها بر اساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی و حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال$p<0.05$ می‌باشند.

Fig.3: The trend of changes in protein content in I.galbana microalgae in different concentrations of lead data is the average of three replications standard error (SE) and different letters indicate a significant difference between samples based on comparison of means by Tukey test and common letters indicate no difference. Are significant at the probability level p <0.05

میکروارگانیسم‌ها فلزات سنگین را بصورت فعال (جذب زیستی) و یا بصورت غیرفعال (جذب سطحی) جذب می‌نمایند. دیواره سلولی که عمدتاً متشکل از پلی ساکاریدها، لپیدها و پروتئین‌ها می‌باشد، گروه‌های عاملی متنوعی جهت باند شدن با فلزات سنگین دارا می باشند که شامل گروه‌های کربوکسیلات، هیدروکسیل، آمینو و فسفات می‌باشد [۴۱]. به نظر می‌رسد که کاهش رشد القا شده به وسیله فلزات سنگین می‌تواند نتیجه دخالت فلز با فرایندهای متابولیکی مرتبط با شده با نمو طبیعی، مخصوصاً سنتز پروتئین باشد، زیرا فعالیت برخی از آنزیم‌های مهم به وسیله اتصال فلز با گروه‌های آمینو آزاد، کربوکسیل و گروه‌های جانبی مهار می‌شود [۴۲]. افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا نیز می‌تواند به علت تجمع انواع فعال اکسیژن از جمله پراکسیدهیدروژن تحت تنش سرب باشد [۴۳].

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش به طور کلی نشان می‌دهد که که قرار گرفتن *I.galbana* در غلظت‌های ۵۰۰ میکرو گرم بر لیترسرب در سلول‌های جلبک *I.galbana* تنش ایجاد می‌کند و باعث کاهش رشد و محتوای کلرفیلی آن می‌گردد، اما جلبک با وجود این غلظت بالا همچنان توانایی رشد خود را (اگرچه ضعیف‌تر از گروه کنترل) حفظ می‌کند و می‌تواند چرخه زندگی خورد را کامل کند. با توجه به این مقاومت بالا و پتانسیل خوب جلبک *I.galbana* در جذب فلز سنگین سرب با رشد و تکثیر مصنوعی جلبک *I.galbana* در پساب‌های صنعتی، می‌توان از سمیت این پسابهاها کاست و از انتشارآلاینده ها به محیط زیست جلوگیری کرد. علاوه بر این، نتایج آزمایشات سمیت ریزجلبک‌ها نسبتاً قابل اعتماد و تکرار پذیر بوده، و در نهایت ریزجلبک‌ها در تمامی محیط‌های آبی حاضر بوده و آزمایشات سمیت با استفاده از این ریزجلبک‌ها نسبتاً سریع و ارزان هستند.

مشارکت نویسندگان

در نگارش این مقاله نویسندگان سهم یکسانی داشتند. تمرکز اصلی نویسنده اول (زهره برخوردار احمد) کار در آزمایشگاه دانشگاه هرمزگان به عنوان دانشجو کارشناسی ارشد و نویسنده مسئول (محمدرضا طاهر زاده) استخراج داده و تجزیه وتحلیل داده‌ها بوده است. نظارت بر انطباق مقاله با فرمت مجله، نگارش و جمع‌آوری مطالب، ترجمه و ویراستاری مقاله و هماهنگی محتوایی مقاله را نیز برعهده داشت است. تمرکز نویسنده سوم (مرتضی یوسف زاده) بر مطالعه و ویرایش مقاله بوده است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از تمام کسانیکه به نحوه در انجام این مطالعه نقش ایفا نموده اند تقدیر و تشکر می‌نمایند.

تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافعی برای این مطالعه وجود ندارد.

References

1. Ghrefat H, Yusuf N. Assessing Mn, Fe, Cu, Zn, and Cd pollution in bottom sediments of Wadi Al-Arab Dam, Jordan. *Chemosphere*. 2006;**65**(11):2114-2121. **doi:** 10.1016/j.chemosphere.2006.06.043 **pmid:** 16875712
2. Khaled A, ElNemr A, ElSikaily A. An assessment of heavy metal contamination in surface sediments of the Suez Gulf using geoaccumulation indexes and statistical analysis. *Chemistr Ecol*. 2006;**22**(3):239-252.
3. Muhaemin M. Toxicity and bioaccumulation of lead in Chlorella and Dunaliella. *J Coastal Develop*. 2004;**8**:27-33.
4. Lefebvre DD, Edwards CD. Decontaminating heavy metals using photosynthetic microbes. In: Shah V, editor. Emerging Environmental Technologies. Vol 2. New York: Springer2010.
5. Luo Y, Hong A. Oxidation and dissolution of lead in chlorinated drinking water. *Advanc Environ Res*. 1997;**1**:84-97.
6. Canli M, Atli G. The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environ Pollut*. 2003;**121**(1):129-136. **doi:** 10.1016/S0269-7491(02)00194-X
7. Dao LH, Beardall J. Effects of lead on growth, photosynthetic characteristics and production of reactive oxygen species of two freshwater green algae. *Chemosphere*. 2016;**147**:420-429. **doi:** 10.1016/j.chemosphere.2015.12.117 **pmid:** 26774308

8. Levy JL, Stauber JL, Jolley DF. Sensitivity of marine microalgae to copper: the effect of biotic factors on copper adsorption and toxicity. *Sci Total Environ*. 2007;**387**(1-3):141-154. **doi:** 10.1016/j.scitotenv.2007.07.016 **pmid:** 17765293
9. Kumar D, Santhanam P, Ananth S, Devi AS, Nandakumar R, Prasath BB, et al. Effect of different dosages of zinc on the growth and biomass in five marine microalgae. *Int J Fish Aquacul*. 2014;**6**(1):1-8. **doi:** 10.5897/IJFA2013.0393
10. Rai LC, Gaur JP, Kumar HD. Phycology and heavy-metal pollution. *Biologic Rev*. 1981;**56**(2):99-151. **doi:** 10.1111/j.1469-185X.1981.tb00345.x
11. Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem*. 2005;**12**(10):1161-1208. **doi:** 10.2174/0929867053764635 **pmid:** 15892631
12. Ukenik A, Wahnon R. Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition. I. Isochrysis galbana. Aquaculture. 1991;**97**(1):61-72. **doi:** 10.1016/0044-8486(91)90279-G
13. Liu W, Pearce CM, Alabi AO, Gurney-Smith H. Effects of microalgal diets on the growth and survival of larvae and post-larvae of the basket cockle, Clinocardiumnuttallii. *Aquacul*. 2009;**293**(3):248-254. **doi:** 10.1016/j.aquaculture.2009.04.032
14. Pernet F, Tremblay R. Effect of varying levels of dietary essential fatty acid during early ontogeny of the sea scallop Placopecten magellanicus. *J Experiment Marine Biol Ecol*. 2004;**310**(1):73-86. **doi:** 10.1016/j.jembe.2004.04.001
15. Sukenik A, Zmora O, Carmeli Y. Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition. II. *Nannochloropsis Aquacul*. 1993;**117**(3-4):313-326. **doi:** 10.1016/0044-8486(93)90328-V
16. Wang J, Chen C. Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnol Adv*. 2009;**27**(2):195-226. **doi:** 10.1016/j.biotechadv.2008.11.002 **pmid:** 19103274
17. Yap CK, Ismail A, Omar H, Tan SG. Toxicities and tolerances of Cd, Cu, Pb and Zn in a primary producer (Isochrysis galbana) and in a primary consumer (Perna viridis). *Environ Int*. 2004;**29**(8):1097-1104. **doi:** 10.1016/S0160-4120(03)00141-7
18. Kumar KS, Shin KH. Effect of Copper on Marine Microalga Tetraselmis suecica and its Influence on Intra-and Extracellular Iron and Zinc Content. *Ecology and Environment*. 2017;**50**(1):16-28. **doi:** 10.11614/KSL.2017.50.1.016
19. Wetherell DF. Culture of fresh water algae in enriched natural sea water. *Physiol Plant*. 1961;**14**(1):1-6. **doi:** 10.1111/j.1399-3054.1961.tb08131.x
20. Koening LM, Demacedo JS. Urban secondary sewage:an alternative medium for The culture of Tetraselmis chuii(Prasinophyceae) and Dunaliella viridis (Chlorophyceae). *Brazil Arch Biol Technol Int J*. 2004;**47**(3):451-459. **doi:** 10.1590/S1516-89132004000300016
21. Lin YH, Chang FL, Tsao CY, Leu JY. Influence of growth phase and nutrient source on fatty acid composition of Isochrysis galbana CCMP 1324 in a batch photoreactor. *Biochem Engineer J*. 2007;**37**(2):166-176. **doi:** 10.1016/j.bej.2007.04.014
22. Jeffrey ST, Humphrey GF. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c 1 and c 2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem Physiol Pflan*. 1975;**167**(2):191-194. **doi:** 10.1016/S0015-3796(17)30778-3
23. Bradford M, M. 'A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding',. *Analytic Biochem*. 1976;**72**:248-254. **doi:** 10.1016/0003-2697(76)90527-3
24. Ouyang H, Kong X, He W, Qin N, He Q, Wang Y, et al. Effects of five heavy metals at sub-lethal concentrations on the growth and photosynthesis of Chlorella vulgaris. *Chinese Sci Bullet*. 2012;**57**(25):3363-3370. **doi:** 10.1007/s11434-012-5366-x
25. Visviki I, Rachlin JW. Ultrastructural changes in Dunaliella minuta following acute and chronic exposure to copper and cadmium. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1992;**23**(4):420-425. **doi:** 10.1007/BF00203803 **pmid:** 1444584
26. Vallee BL, Ulmer DD. Biochemical effects of mercury, cadmium, and lead. *Annu Rev Biochem*. 1972;**41**(10):91-128. **doi:** 10.1146/annurev.bi.41.070172.000515 **pmid:** 4570963
27. Hiriart-Baer VP, Fortin C, Lee DY, Campbell PG. Toxicity of silver to two freshwater algae, Chlamydomonas reinhardtii and Pseudokirchneriella sub-capitata, grown under continuous culture conditions: influence of thiosulphate. *Aquat Toxicol*. 2006;**78**(2):136-148. **doi:** 10.1016/j.aquatox.2006.02.027 **pmid:** 16621059
28. Scarano G, Morelli E. Properties of phytochelatin-coated CdS nanocrystallites formed in a marine phytoplanktonic alga (Phaeodactylum tricornutum, Bohlin) in response to Cd. *Plant Sci*. 2003;**165**(4):803-810. **doi:** 10.1016/S0168-9452(03)00274-7
29. Burzynski M. Influence of lead and cadmium on the absorption and distribution of potassium, calcium, magnesium and iron in cucumber seedlings. Acta Physiologiae Plantarum.1987.
30. Zamani N. The effect of mercury on growth, proliferation and antioxidant systems in the algae. Dunaliella tertiolecta Master, University of Guilan. (Persian)2006.
31. Qaisari S, Saeed Nematpour F, Safi Pour-Afshar A. The effect of salicylic acid and ascorbic acid on the content of photosynthetic pigments and the activity of some antioxidant enzymes in plant under lead

stress (L. basilicum Ocimum) (Persian). *Basil Plant Res*. 2015;**28**(4):814-825.
32. Gan T, Zhao N, Yin G, Chen M, Wang X, Liu J, et al. Optimal chlorophyll fluorescence parameter selection for rapid and sensitive detection of lead toxicity to marine microalgae Nitzschia closterium based on chlorophyll fluorescence technology. *J Photochem Photobiol B*. 2019;**197**:111551. **doi:** 10.1016/j.jphotobiol.2019.111551 **pmid:** 31306954
33. Borowitzka MA. Limits to growth. In: Wong Y.S. & Tam N.F.Y. (eds.), Wastewater treatment with algae. Springer-Verlag, Berlin.1998.
34. Sen AK, Mondal NG. Salvinia natan-as the scavenger of Hg (II). *Water Air Soil Pollut*. 1987;**34**:439-446. **doi:** 10.1007/BF00282744
35. Ghorbani Vaghei R, Davoudi R. Nutrition in aquaculture. International Ingot Publications (Persian)1393.
36. Suresh Kumar K, Dahms HU, Won EJ, Lee JS, Shin KH. Microalgae - A promising tool for heavy metal remediation. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2015;**113**:329-352. **doi:** 10.1016/j.ecoenv.2014.12.019 **pmid:** 25528489
37. SYang F, Chen S, Miao Z, Sheng Z, Xu J, Wan J, et al. The effect of several microalgae isolated from East China Sea on growth and survival rate of postset juveniles of razor clam, Sinonovacula constricta (Lamarck, 1818). . *Aquacul Nutrition*. 2016;**22**(4):846-856. **doi:** 10.1111/anu.12310
38. Bajguz A. Suppression of Chlorella vulgaris growth by cadmium, lead, and copper stress and its restoration by endogenous brassinolide. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2011;**60**(3):406-416. **doi:** 10.1007/s00244-010-9551-0 **pmid:** 20523975
39. Singh PK, Tewari RK. Cadmium toxicity induced changes in plant water relations and oxidative metabolism of Brassica juncea L. plants. *J Environ Biol*. 2003;**24**(1):107-112.
40. El-Naggar AH. Growth and some metabolic activities of Chlorella and Scenedesmus in relation to heavy metal water pollution in Gharbia Governorate (Doctoral dissertation, Ph. D. Thesis, Botany Department, Faculty of Science, Tanta University, Egypt)1993.
41. Dixit R, Malaviya D, Pandiyan K, Singh UB, Sahu A, Shukla R, et al. Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: an overview of principles and criteria of fundamental processes. *Sustainability*. 2015;**7**(2):2189-2212. **doi:** 10.3390/su7022189
42. Maznah WW, Al-Fawwaz AT, Surif M. Biosorption of copper and zinc by immobilised and free algal biomass, and the effects of metal biosorption on the growth and cellular structure of Chlorella sp. and Chlamydomonas sp. isolated from rivers in Penang, Malaysia. *J Environ Sci*. 2012;**24**(8):1386-1393. **doi:** 10.1016/S1001-0742(11)60931-5
43. Gheligh S, Zarrinkamar F, Niknam V. Investigation of lead accumulation and its effect on peroxidase activity, content of phenolic and flavonoid compounds in the germination stage of alfalfa (Medicago sativa L.). (Persian). *Plant Res*. 2015;**28**(1):164-174.

AUTHOR(S) BIOSKETCHES

Barkhordari Ahmadi, Z., M.Sc. Student, Department of marine biology, Faculty of marine science and technology, University of Hormozgan, Hormozgan, Iran.

zohre.barkhordari1@gmail.com

Taherizadeh, M.R. Assistant Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences and Technology, University of Hormozgan, Hormozgan, Iran

taheri.1965@gmail.com

Yousef Zadi, M. Assistant Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences and Technology, University of Hormozgan, Hormozgan, Iran

Morteza110110@gmail.com

HOW TO CITE THIS ARTICLE

Citation (Vancouver) *Barkhordari Ahmadi, Z, Taherizadeh M.R, Yousef Zadi, M. Effects of Different Concentrations of Lead on Growth, Photosynthetic Pigmentation and Protein Micro Alga Isochrysis galbana. J Oceanography. 2021; 11(44): 109-116.*

http://doi.org/10.52547/joc.12.46.109

http://joc.inio.ac.ir/article-1-1280-fa.html

https://orcid.org/0000-0002-8311-5238

COPYRIGHTS

©2021 The author(s). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the original authors and source are cited. No permission is required from the authors or the publishers.