J Oceanography (JOC). 12(45): 28-38, Spring 2021

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

ORIGINAL RESEARCH PAPER (Marine Science)

The Effect of Different Concentrations of Heavy Metal of Cadmium on some of the Physiological Characteristics of the Green Microalgae of *Chlorella* sp.

Maryam Zamani [1], Seyyed Fatemeh Fallah [2], Jannat Sarmad [3], Mansour Afshar-Mohammadian [4]*

[1] Masters student Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
[2] Ph.D Student Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Golestan, Gorgan, Iran
[3] Assistant Professor Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
[4] Associate Professor Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

ARTICLE INFO

Code: A-10-1557-1

Article History:
Received: 2020/05/13
Revised: 2020/10/24
Accepted: 2020/12/6

Keywords:
antioxidant enzymes
cadmium
Chlorella sp.
photosynthetic pigments
protein

*Corresponding author:
afshar@guilan.ac.ir

ABSTRACT

Heavy metal pollution in aquatic ecosystems affect microalgae and zooplanktons, alters the biomass and the abundance of species, and promotes interspecies relationships to the predominance of less sensitive species. In this study, the effect of short-term stress of different concentrations of cadmium heavy metal on *Chlorella* sp. growth and some biochemical parameters have been investigated. Microalgae were treated at different concentrations of cadmium (0, 150, 250 and 350 µm) in the culture medium for 24 hours. The results showed that the content of chlorophyll a photosynthetic pigments, beta-carotene and total protein content decreased significantly. Also, with increasing cadmium concentration, the content of malondialdehyde in the microalgae of *Chlorella* sp. increased. The activity of giacacol peroxidase, ascorbate peroxidase and superoxide dismutase antioxidant enzymes increased in *Chlorella* sp. under short-term stress of cadmium. The highest activity of these enzymes was at the concentration of 150 µM cadmium.

NUMBER OF TABLES	NUMBER OF FIGURES	NUMBER OF REFERENCES
0	6	46

مقاله پژوهشی (علوم دریایی)

اثر غلظت‌های مختلف فلز سنگین کادمیم بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژی ریز جلبک سبز *Chlorella* sp.

مریم زمانی [۱]، سیده فاطمه فلاح [۲]، جنت سرمد [۳]، منصور افشار محمدیان [۴*]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، گیلان، ایران
[۲] دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران
[۳] استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، گیلان، ایران
[۴] دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، گیلان، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۲/۲۴
تاریخ بازبینی: ۱۳۹۹/۸/۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۱۶

واژگان کلیدی:
آنزیم‌های آنتی اکسیدانی
پروتئین
رنگیزه‌های فتوسنتزی
کادمیم
Chlorella sp.

*نویسنده مسئول
afshar@guilan.ac.ir

چکیده

آلودگی فلزات سنگین در اکوسیستم‌های آبی بر ریزجلبک ها و زئوپلانکتون ها تأثیر گذار است، زیست‌توده و فراوانی گونه‌ها را تغییر داده و روابط درون گونه‌ای را به سمت غالبیت گونه‌های کمتر حساس پیش می برد. در این تحقیق، اثر تنش کوتاه مدت غلظت‌های مختلف فلز سنگین کادمیم بر رشد و برخی پارامترهای بیوشیمیایی ریز جلبک *Chlorella* sp. بررسی شد. ریز جلبک‌ها در غلظت‌های مختلف کادمیم (۰، ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۵۰ میکرومولار) در محیط کشت به مدت ۲۴ ساعت تیماردهی شدند. نتایج نشان داد که محتوای رنگیزه های فتوسنتزی کلروفیل a، بتا کاروتن و محتوای پروتئین کل تحت تنش کادمیم کاهش معنی داری یافتند. همچنین با افزایش غلظت کادمیم، محتوای مالون دی آلدهید در ریز جلبک *Chlorella* sp. افزایش یافت. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز در Chlorella sp. تحت تنش کوتاه مدت کادمیم افزایش یافت. بیشترین میزان فعالیت این آنزیم‌ها در غلظت ۱۵۰ میکرومولار کادمیم بود.

مقدمه

امروزه فلزات سنگین به یکی از خطرناک‌ترین مسائل زیست محیطی جهانی تبدیل شده است، چون ترکیبات فلزی (شامل کادمیم) تخریب و تجزیه نمی‌شوند و حتی تمایل دارند که در ارگانیسم‌های بیولوژیکی از طریق غذا، آب آشامیدنی و هوای آلوده تجمع پیدا کنند [۱]. از مهم‌ترین آلاینده‌های سمی که برای محیط زیست به ویژه محیط‌های آبی، تهدیدی بزرگ به شمار می‌روند، می‌توان به فلزات سنگین و ترکیبات آلی فلزی اشاره نمود [۲]. پساب‌های خروجی کارخانجات و صنایع مختلف که به موازات افزایش جمعیت در سراسر جهان در حال گسترش هستند، حاوی انواع فلزات سنگین و سایر آلاینده‌های خطرناک می‌باشند که در اکوسیستم‌های آبی تخلیه شده و بدین طریق ضمن ایجاد خطر برای آبزیان، می‌توانند به طور مستقیم یا غیر مستقیم از طریق زنجیره غذایی برای انسان مخاطره آمیز باشند [۳]. کادمیم می‌تواند با القای تولید گونه‌های فعال اکسیژنی (ROS) به تنش اکسیداتیو منجر شود، این ماده با لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش می‌دهد [۴] و می‌تواند باعث پراکسیداسیون لیپید، نشت غشا، غیرفعال سازی آنزیمی و خرد شدن DNA یا جهش آن شود [۵]. سمیت و تجمع کادمیم در اندام‌ها از طریق خوردن غذای آلوده نقش مهمی در به مخاطره انداختن سلامتی انسان دارد طبق گزارش وزارت بهداشت ایالت متحده، شواهد کافی برای سرطان زایی کادمیم و ترکیب‌های آن در انسان وجود دارد؛ از عوارض ناشی از تماس مستقیم با این فلز، اختلال در عملکرد کلیه و استخوان و سرطان کبد و خون، گزارش شده است [۶]. ریزجلبک ها منابع بیولوژیکی مهمی هستند که طیف گسترده‌ای از برنامه‌های کاربردی زیست فناوری را به خود اختصاص داده‌اند. استفاده از ریز جلبک مفیدتر می‌باشد، زیرا آن‌ها دارای نقش‌های متعددی از قبیل اصلاح زیستی و تولید زیست توده قابل استفاده جهت تولید سوخت زیستی می‌باشند [۷].

ریز جلبک *Chlorella* به علت شباهت با گیاهان عالی فتوسنتز کننده، اغلب به عنوان یک مدل آزمایشی برای مطالعه‌ی فرآیندهای متابولیکی در فیزیولوژی گیاهی، مورفولوژی عمومی سلول، تنفس سلولی و مطالعه سیستم سیتوکرومی در میتوکندری استفاده می‌شود. به علت داشتن شرایط کشت سلولی ارزان، سرعت رشد بالا و نگهداری راحت در یک محیط کشت معدنی استفاده از این جلبک برای کاربردهای متعدد در زمینه‌های مختلف توسعه یافته است. برخی از مهم‌ترین زمینه‌های کاربرد این سیستم مدل در تصفیه آب و فاضلاب، سم‌زدایی بیولوژیکی و کنترل فلزات سنگین در طبیعت و جریان فاضلاب‌ها می‌باشد [۸]. Rawat و همکاران (۲۰۱۱) [۹] ریز

جلبک‌ها را به دلیل تعدد واکنش‌ها در فرآیندهای زیستی مورد توجه قرار دادند. غلظت پرولین در *Chlorella vulgaris* تحت تنش کادمیم و کروم افزایش می‌یابد. *Cyanophyta* و *Chlorophyta* به عنوان بیش انباشتگرهای آرسنیک و بُر می‌باشند که از طریق کلنی جلبک‌ها برای گیاه پالایی آرسنیک از طریق همزیستی با *Arundo donax* L. شناسایی شده‌اند [۱۰].

جلبک سبز-آبی *Phormidium* بیش انباشتگر کادمیم، روی، سرب، نیکل و مس می‌باشد [۱۱]. *Caulerpa racemosa var. cylindracea* می‌تواند سبب حذف بُر از محلول آبی شود. Shanab و همکاران (۲۰۱۲) [۱۲] طی بررسی بر روی توانایی مقاومت و حذف سه فلز سنگین جیوه، سرب و کادمیم روی سه ریز جلبک آب شیرین *Phormidium ambiguum*، *Pseudochlorococcum typicum* و *Scenedesmus quadricauda* مشاهده کردند که جیوه (Hg^{+}) حتی در مقادیر کم (<۲۰ mg/L) نسبت به سایر فلزات سنگین سمی‌تر است، ولی غلظت‌های بالاتر کادمیم و سرب (۴۰-۱۰۰mg/L) نیز اثر مهاری بر رشد ریز جلبک‌ها داشتند. در این پژوهش، اثر غلظت‌های مختلف تنش کوتاه مدت کادمیم بر میزان رشد، رنگیزه های فتوسنتزی، محتوای مالون دی آلدهید، محتوای پروتئین کل و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در ریز جلبک *Chlorella* sp. بررسی شدند.

روش پژوهش

مواد و روش‌ها

۱. تهیه و آماده سازی نمونه‌های جلبکی

ریز جلبک *Chlorella* sp. از موسسه تحقیقات ماهیان شهید بهشتی واقع در شهر سنگر استان گیلان واقع در شهر رشت تهیه شد و جهت تهیه محیط کشت جامد از روش Wegmann (۱۹۷۱) [۱۱] استفاده شد. محیط حاوی آگار پس از ضدعفونی کردن و قبل از سرد شدن به داخل پتری دیش‌های استریل ریخته شد و سویه مورد نظر در کنار شعله روی آن کشت داده شد. به منظور کاهش میزان تبخیر و جلوگیری از نفوذ آلودگی درب پلیت ها با پارافیلم مسدود شده و به اتاقک کشت جهت رشد انتقال داده شد. سپس ریز جلبک Chlorella sp.به محیط کشت مایع زاندر مثبت (Z^{+}) انتقال یافت. قبل از انتقال آن‌ها، محیط کشت های استریل سرد شده، داخل ارلن‌های ۱۰۰ میلی لیتری استریل ریخته و تلقیح ریزجلبک ها از محیط جامد به محیط مایع انجام شد. جهت تلقیح، مقداری از سویه‌های رشد یافته درون پلیت آگار با استفاده از لوپ درون محیط کشت مایع ریخته شدند. سپس درب ارلن حاوی محیط کشت توسط پنبه و کاغذ آلومینیوم استریل مسدود شد. در نهایت ارلن‌ها به اتاق کشت منتقل شدند و فرصت رشد یک الی سه هفته‌ای برای رشد کامل و قرار گیری در فاز لگاریتمی داده شد. جهت تهیه غلظت‌های مختلف کادمیم کلرید $CdCl_2$، استوک ۰/۱ مولار $CdCl_2$ ساخته شد و سپس غلظت‌های مختلف ۰، ۱۵۰، ۲۵۰، ۳۵۰ میکرومولار از آن‌ها تهیه شدند.

در مرحله رشد لگاریتمی، ۱۰۰ میلی لیتر از سوسپانسیون حاوی *Chlorella* sp. از استوک‌های اصلی برداشته شد. محیط حاوی جلبک در معرض غلظت‌های مختلف ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۵۰ میکرومولار کادمیم قرار داده شد. کلیه تیمارها و شاهد در سه تکرار در نظر گرفته شدند. پس از پایان اعمال تنش کوتاه مدت طی ۲۴ ساعت جهت مطالعات بعدی ریز جلبک *Chlorella* sp. برداشت شد. از ریز جلبک‌های مورد آزمایش برای سنجش برخی پارامترهای فیزیولوژیکی نظیر بررسی تغییرات رشد بر حسب وزن خشک، سنجش مقادیر رنگیزه های فتوسنتزی و بتا کاروتنوئید، محتوای پروتئین کل، مالون دی آلدهید و برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی استفاده شد.

۲. سنجش رشد بر حسب وزن خشک

به منظور محاسبه وزن خشک، ابتدا چهار رقت سریالی (۲۵ mL) از سوسپانسیون ریزجلبک که در فاز ثابت رشد قرار داشت، تهیه شد. جذب چهار رقت در طول موج ۷۵۰ نانومتر قرائت شدند. سپس زیست توده هر چهار رقت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰-۴۰ درجه سانتی گراد در آون، خشک شدند. نمودار خطی برحسب وزن خشک (DW) و جذب نوری (OD) رسم شد و بر اساس معادله به دست آمده از منحنی استاندارد رشد، وزن خشک ریز جلبک تحت تنش و شاهد محاسبه شد [۱۳].

۳. سنجش محتوای رنگیزه های فتوسنتزی

جهت تعیین غلظت رنگیزه های کلروفیلی در *Chlorella* sp.، ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش یک میلی لیتر از سوسپانسیون جلبکی هر ارلن به طور جداگانه به میکروتیوب ها میکروسانتریفیوژ منتقل و به مدت ۵ دقیقه با ۷۰۰۰ دور دردقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی با دقت به کمک سمپلر خارج و به رسوب باقیمانده، یک میلی لیتر استون ۸۵٪ اضافه شد. سپس محتویات داخل میکروتیوب ها با دستگاه ورتکس مخلوط و پس از آن نمونه‌ها مجدداً با دور ۷۰۰۰، به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ شدند. جذب محلول رویی در طول موج‌های ۶۴۷ و ۶۶۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد [۱۴].

۴. سنجش مقدار پروتئین کل

اندازه گیری مقدار پروتئین کل توسط روش Bradford (۱۹۷۶) [۱۵] انجام شد. به منظور آماده سازی نمونه‌ها برای سنجش پروتئین کل ابتدا استخراج عصاره سلولی جلبک به کمک بافر استخراج (شامل بافر فسفات ۵۰ میکرومولار، EDTA سدیم دار ۰/۵ مولار و پلی وینیل پلی پیرولیدون (PVPP) ۲ درصد) صورت گرفت. برای پاره کردن کامل غشای سلولی، نمونه‌ها به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سونیک و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی

گراد در دور rpm ۱۲۵۰۰ سانتریفیوژ شدند. با استفاده از رسم منحنی استاندارد پروتئین گاما گلوبین پلاسمای گاوی ((BSAمیزان آن سنجش شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد.

۵. سنجش میزان مالون دی آلدهید

برای سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، غلظت مالون دی آلدهید (MDA) توسط روش Heath و Packer (۱۹۸۶) [۱۶] اندازه گیری شد. در این روش ۰/۱ گرم توده جلبکی به کمک ۲ میلی لیتر محلول‌تری کلرو استیک اسید (TCA) ۵ درصد توسط دستگاه فراصوت (التراسونیک) به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۴ درجه سانتی گراد، سونیک و عصاره‌ها به دست آمده استخراج شدند. عصاره حاصله در دمای اتاق و با سرعت rpm ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. جذب محلول رویی در ۵۳۲ نانومتر اندازه گیری شد. جذب بقیه رنگیزه های غیر اختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین شدند و از میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر کسر شد.

۶. سنجش آنزیم گایاکول پراکسیداز

سنجش فعالیت سینتیکی آنزیم پراکسیداز مطابق روش Kalir و همکاران (۱۹۸۴) [۱۷] انجام شد. بدین ترتیب که ۱ میلی لیتر محلول واکنش شامل ۴۷۵ میکرولیتر گایاکول ۴۵ میلی مولار، ۴۷۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۰۰ میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر محلول رویی آنزیمی استخراج شده بود. تغییرات جذب برای ۲ دقیقه در طول موج ۴۷۰ نانومتر در نتیجه اکسیداسیون گایاکول خوانده شد.

۷. سنجش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) توسط روش Giannoplitis و Ries (۱۹۷۷) [۱۸] انجام شد. یک میلی لیتر محلول واکنش شامل ۰/۱ EDTA میلی مولار، بافر فسفات ۵۰ میلی مولار، متیونین ۱۳ میلی مولار، NBT ۷۵ ماکرومولار، ریبوفلاوین ۰/۲۱ میلی مولار و سوپرناتانت آنزیمی استخراج شده می‌باشد. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شدند.

۸. سنجش آسکوربات‌پراکسیداز (APX)

فعالیت این آنزیم مطابق روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) [۱۹] مورد سنجش قرار گرفت. سنجش فعالیت آنزیم از طریق اندازه‌گیری اکسید شدن آسکوربات توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت یک دقیقه انجام شد.

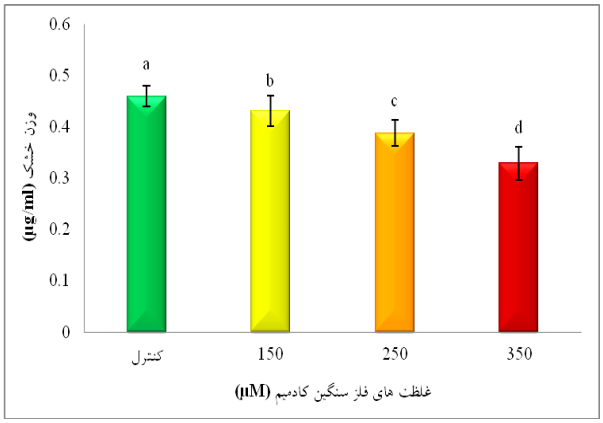
۹. آنالیز داده‌ها

انجام کلیه تیمارهای مورد آزمایش در ۳ تکرار انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها و آزمون مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال P < ۰/۰۵با نرم افزار SPSS (ورژن ۱۶) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و رسم نمودارها با نرم افزارExcel انجام شد.

نتایج و بحث

۱. تغییرات رشد بر اساس وزن خشک

رشد ریز جلبک *Chlorella* sp. در نمونه‌های شاهد و تحت تأثیر تنش کوتاه مدت فلز سنگین کادمیم در غلظت‌های ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۵۰ میکرومولار بر اساس جذب نوری اندازه گیری شد. بر اساس شکل ۱، افزایش غلظت فلز سنگین کادمیم از ۱۵۰ تا ۳۵۰ میکرو مولار باعث کاهش قابل توجهی در رشد ریز جلبک *Chlorella* sp. شده است و متناسب با افزایش غلظت کادمیم مهار رشد آن نیز افزایش یافت. ریز جلبک‌ها نقش مهمی در تعادل اکوسیستم‌های آبی بازی می‌کند و نشان دادند که می‌توانند شاخص‌های بیولوژیکی مناسبی برای نشان دادن تغییرات محیطی باشند [۲۰]. از میان ریز جلبک‌های مختلف، ریز جلبک *Chlorella* sp. پتانسیل جذب فلزات سنگین را دارد و به میزان قابل توجهی در بعضی از حوضچه‌های زباله فاضلاب‌های معدنی کشف شده است [۲۱]. کادمیم باعث مهار فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف مثل رشد، فتوسنتز، تنفس، تثبیت نیتروژن و جذب مواد غذایی می‌شود که در مجموع این اثرات بر رشد و حیات کلی موجودات زنده اثر می‌گذارد [۲۲].



شکل ۱: تغییرات میزان وزن خشک ریز جلبک *Chlorella* sp. پس از اعمال تنش کوتاه مدت در تیمارهای مختلف فلز سنگین کادمیم در شرایط استاندارد آزمایش در سطح معنی داری ۵٪. داده‌ها نشان دهنده میانگین± انحراف معیار (SE) است. حروف متفاوت حاصل آزمون چند دامنه‌ای دانکن بالای نمودار بیانگر اختلاف معنی دار می‌باشد.

Fig 1: Changes in the dry weight of microalgae Chlorella sp. After applying short-term stress in different treatments of cadmium heavy metal in standard test conditions at a significant level of 5%. The data show the mean standard deviation (SE). The different letters from Duncan's multi-domain test at the top of the graph indicate a significant difference

بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش (شکل ۱)، در حضور فلز سنگین کادمیم در محیط کشت، کادمیم باعث کاهش معنی داری در رشد ریز جلبک *Chlorella* sp. شد و متناسب با افزایش غلظت کادمیم، مهار رشد بیشتری مشاهده شد. نتایج حاصله این فرضیه را حمایت می‌کند که کاهش فرآیند رشد پارامتر تعیین کننده‌ای در بروز سمیت فلزات سنگین می‌باشد. این کاهش می‌تواند به دلیل اتصال فلز مورد آزمایش به گروه سولفیدریل باشد که مسئول تقسیم سلولی است [۲۳]. نتایج آزمایش حاضر با مشاهدات Carfagna و همکاران (۲۰۱۳) [۲۰] مطابقت می‌کند. آن‌ها گزارش کردند که ریز

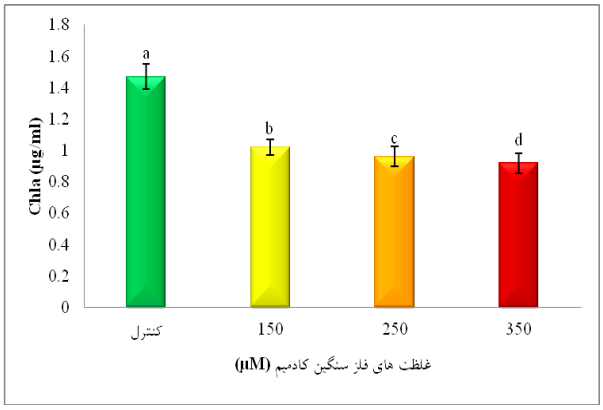
جلبک Chlorella sorokiniana 211-8 K تحت تأثیر غلظت ۲۵۰ میکرومولار کادمیم کاهش معنی داری در رشد نشان داد.

Sultan و همکاران (۲۰۰۶) [۲۴] در بررسی اثر غلظت‌های ۰/۰۲ تا ۱ میکرومولار کادمیم در ریز جلبک *Anabaena doliolum* مشاهده کردند که مهار نرخ رشد با افزایش مقدار غلظت فلز بیشتر می‌شود. همچنین Fisher و Frood (۱۹۸۰) [۲۵] دریافتند که سمیت فلز سنگین در جلبک به مهار فعالیت آنزیم NADP–اکسیدوردوکتاز کمک می‌کند. مهار فعالیت این آنزیم مقادیر $NADP^+$ سلولی را افزایش می‌دهد و به کاهش نرخ رشد جلبک منجر می‌شود.

۲. تغییرات محتوای رنگیزه های فتوسنتزی

۲-۱ محتوای رنگیزه کلروفیل *a*

محتوای کلروفیل a در کلیه نمونه‌های تحت تیمار فلز سنگین کادمیم و گروه شاهد ۲۴ ساعت پس از شروع آزمایش در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که فلز سنگین کادمیم در غلظت‌های ۱۵۰ تا ۳۵۰ میکرومولار باعث کاهش معنی دار محتوای کلروفیل *a* در ریز جلبک *Chlorella* sp. شده است و متناسب با افزایش غلظت فلز سنگین تخریب این رنگدانه نیز شدیدتر بوده است. یکی از پارامترهای فیزیولوژیکی متأثر از تنش، محتوای کلروفیل و کاروتنوئید است. برخی گیاهان در طول تنش میزان کلروفیل خود را حفظ می‌کنند و در برخی دیگر میزان کلروفیل کاهش می‌یابد [۲۶].



شکل ۲: تغییرات محتوای رنگیزه کلروفیل *a* ریز جلبک *Chlorella* sp. پس از اعمال تنش کوتاه مدت در تیمارهای مختلف فلز سنگین کادمیم در شرایط استاندارد آزمایش در سطح معنی داری ۵٪. داده‌ها نشان دهنده میانگین± انحراف معیار (SE) است. حروف متفاوت حاصل آزمون چند دامنه‌ای دانکن بالای نمودار بیانگر اختلاف معنی دار می‌باشد.

Fig 2: Changes in the pigment content of chlorophyll a microalgae Chlorella sp. After applying short-term stress in different treatments of cadmium heavy metal in standard test conditions at a significant level of 5%. The data show the mean standard deviation (SE). The different letters from Duncan's multi-domain test at the top of the graph indicate a significant difference

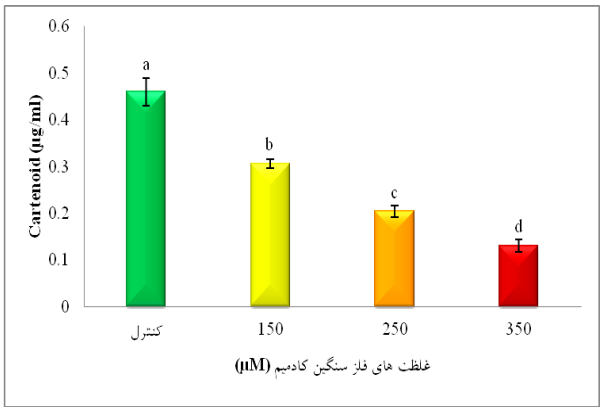
محتوای رنگیزه های کلروفیلی، به ویژه کلروفیل *a* از شاخص‌های فیزیولوژیک رشد می‌باشد [۲۷]. کلروفیل *a* به عنوان رنگیزه اصلی در فتوسنتز، مسئول دریافت انرژی نورانی و تبدیل آن به انرژی شیمیایی در زنجیره انتقال الکترون است. از آنجا که میزان و شدت فتوسنتز تحت تأثیر تنش‌های محیطی تغییر می‌کند، انتظار می‌رود که تغییراتی در میزان کلروفیل *a* و پروتئین‌هایی که در ساختار کلروپلاست و در ارتباط با کلروفیل *a* می‌باشند، ایجاد شود. فلزات سنگین بیوسنتز رنگدانه های کلروفیلی و آنزیم‌های درگیر در این فرآیند را مهار می‌کند [۲۸].

طبق نتایج حاصل از این پژوهش، فلز سنگین کادمیم در غلظت‌های ۱۵۰ تا ۳۵۰ میکرومولار باعث کاهش معنی داری در مقدار کلروفیل a در ریز جلبک Chlorella sp. شده است (شکل ۲). تخریب کلروفیل در تنش کادمیم احتمالاً به دلیل مهار مسیر بیوسنتز کلروفیل می‌باشد [۲۹]. می‌توان گفت که فلزات سنگین احتمالاً با ایجاد اختلال در جذب عناصر ضروری مانند Mg، K و Fe سنتز کلروفیل را مهار می‌کنند [۳۰]. مهار انباشت رنگدانه های فتوسنتزی در پاسخ به تنش فلزات سنگین همچنین می‌تواند نتیجه پراکسیداسیون غشاهای کلروپلاستی به دلیل افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژنی باشد [۳۱]. داده‌های این آزمایش با مطالعات Bajguz و Hayat (۲۰۰۹) [۳۲] در ریز جلبک Chlorella vulgaris تیمار شده با فلزات سنگین سرب و مس مطابقت دارد که کم شدن یا از بین رفتن رنگدانه زرد طبیعی را از خود نشان دادند و این امر به دلیل کاهش چشمگیر در محتوای کلروفیل کل ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت بعد از در معرض قرار گیری با تنش فلزات سنگین سرب و مس مشاهده شد. همچنین Singh و همکاران (۲۰۱۲) [۱۳]، کاهش ۳۲/۷٪ در مقدار کلروفیل a را در *Anabaena* sp. PCC7120 تحت اثر غلظت ۱۰ میکرومولار کادمیم در مقایسه با شاهد مشاهده کردند.

۲-۲ محتوای رنگیزه بتا کاروتن

با توجه به شکل ۳، فلز سنگین کادمیم در غلظت‌های ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۵۰ میکرومولار باعث کاهش معنی داری در مقدار این رنگیزه در ریز جلبک Chlorella sp. شده است، به طوری که متناسب با افزایش غلظت فلز سنگین تخریب این رنگدانه نیز شدیدتر بوده است. با این که کاروتنوئید ها گاهی به عنوان آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی عمل می‌کنند و سلول را در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کنند، امّا کاهش مقدار کاروتنوئید تحت تنش فلز سنگین کادمیم در این آزمایش مشخص می‌کند که این رنگدانه نقش اندکی در تعدیل سمیت فلز داشته است و در نتیجه پراکسیداسیون غشاهای کلروپلاستی به خاطر افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژنی حاصله از تنش فلز سنگین، انباشت این رنگدانه فتوسنتزی کاهش می‌یابد [۳۱]. نتایج این آزمایش با مطالعات Singh و همکاران (۲۰۱۲) [۱۳] مطابقت دارد. آن‌ها گزارش کردند که مقدار رنگیزه کاروتنوئیدی در ریز جلبک Anabaena sp. PCC7120 تحت اثر غلظت ۲۰ میکرومولار کادمیم نسبت به شاهد ۳۱/۱۷ درصد کاهش داشت. همچنین Prasad و Zeeshan در سال ۲۰۰۵ مشاهده کردند که غلظت‌های ۲ و ۴ میکرومولار کادمیم در ریز جلبک

Plectonema boryanum باعث کاهش مقدار رنگیزه کارتنوئیدی می‌شود.



شکل ۳: تغییرات محتوای رنگیزه بتا کاروتن ریز جلبک *Chlorella* sp. پس از اعمال تنش کوتاه مدت در تیمارهای مختلف فلز سنگین کادمیم در شرایط استاندارد آزمایش در سطح معنی داری ۵٪. داده‌ها نشان دهنده میانگین± انحراف معیار (SE) است. حروف متفاوت حاصل آزمون چند دامنه‌ای دانکن بالای نمودار بیانگر اختلاف معنی دار می‌باشد.

Fig 3: Changes in the pigment content of microalgae beta carotene Chlorella sp. After applying short-term stress in different treatments of cadmium heavy metal in standard test conditions at a significant level of 5%. The data show the mean standard deviation (SE). The different letters from Duncan's multi-domain test at the top of the graph indicate a significant difference.

شکل ۴: تغییرات محتوای پروتئین کل ریز جلبک Chlorella sp. پس از اعمال تنش کوتاه مدت در تیمارهای مختلف فلز سنگین کادمیم در شرایط استاندارد آزمایش در سطح معنی داری ۵٪. داده‌ها نشان دهنده میانگین± انحراف معیار (SE) است. حروف متفاوت حاصل آزمون چند دامنه‌ای دانکن بالای نمودار بیانگر اختلاف معنی دار می‌باشد.

Fig 4: Changes in total protein content of microalgae Chlorella sp. After applying short-term stress in different treatments of cadmium heavy metal in standard test conditions at a significant level of 5%. The data show the mean standard deviation (SE). The different letters from Duncan's multi-domain test at the top of the graph indicate a significant difference

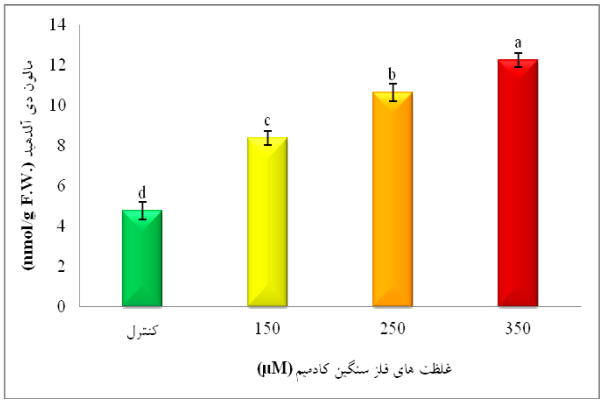
۳. تغییرات محتوای پروتئین کل

تغییرات غلظت پروتئین کل در ریز جلبک.*Chlorella* sp تحت اثر غلظت‌های مختلف فلز سنگین کادمیم بعد از ۲۴ ساعت در معرض قرار گیری در شکل ۴ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که محتوای پروتئین کل پس از اعمال تنش کوتاه مدت با غلظت‌های مختلف فلز سنگین کادمیم در ریز جلبک *Chlorella* sp. در محدوده ۱۵۰ تا ۳۵۰ میکرومولار، به طور معنی داری نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. متناسب با افزایش غلظت فلز سنگین کادمیم میزان تخریب پروتئین نیز افزایش یافت، به طوری که در ریز جلبک *Chlorella* sp.، بیشترین مقدار پروتئین کل در گروه شاهد بود. کمترین میزان پروتئین کل در ریز جلبک *Chlorella* sp. در ۳۵۰ میکرومولار مشاهده شد.

پروتئین می‌تواند بعنوان یک فاکتور مهم در فرآیند تجزیه زیستی مورد ارزیابی قرار گیرد (میری و خندان بارانی، ۱۳۹۵). طی تنش، پروتئین‌های جدیدی ساخته می‌شوند یا پروتئین‌های موجود افزایش بیان می‌یابند و بسیاری از فرآیندهای سلولی و متابولیکی تغییر می‌یابند که این تغییرات شامل تجمع پروتئین‌های مورد نیاز در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، تنظیم کننده‌های کینازها، همچنین تولید آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نظیر سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز در پاسخ به تنش می‌باشند [۳۳]. نتایج حاصل از پژوهش نشان داد که متناسب با افزایش غلظت فلز سنگین کادمیم میزان تخریب پروتئین نیز افزایش یافت و محتوای پروتئین کل کاهش یافت (شکل ۴).

رادیکال‌های آزاد بسیار سمی هستند و ماکرومولکول های بیولوژیکی مانند نوکلئیک اسیدها، پروتئین‌ها و لیپیدها را اکسید می‌کنند، از این رو ثبات سلولی و نفوذپذیری غشا را دچار اختلال می‌کنند [۳۴].

سمیت کادمیم به دلیل تمایل زیاد آن نسبت به گروه سولفیدریل پروتئین‌ها است. کادمیم با هموستاز فلزات ضروری مثل روی، کلسیم، آهن، منیزیم و مس که کوفاکتور پروتئین‌ها هستند، مداخله می‌کند، در نتیجه بر عملکرد پروتئین ارگانیسم اثر می‌گذارد [۱۳].



شکل ۵: تغییرات محتوای مالون دی آلدهید ریز جلبک *Chlorella* sp. پس از اعمال تنش کوتاه مدت در تیمارهای مختلف فلز سنگین کادمیم در شرایط استاندارد آزمایش در سطح معنی داری ۵٪. داده‌ها نشان دهنده میانگین± انحراف معیار (SE) است. حروف متفاوت حاصل آزمون چند دامنه‌ای دانکن بالای نمودار بیانگر اختلاف معنی دار می‌باشد.

Fig 5: Changes in malondialdehyde content of microalgae Chlorella sp. After applying short-term stress in different treatments of cadmium heavy metal in standard test conditions at a significant level of 5%. The data show the mean standard deviation (SE). The different letters from Duncan's multi-domain test at the top of the graph indicate a significant difference

گزارش شده است که در *Anabaena dolioum*، *Synechococcus* و *Scenedesmus* پروتئین‌هایی با وزن مولکولی پایین مانند فیتوکلاتین ها و متالوتیونین در مسمومیت با کادمیم درگیر می‌شوند [۳۵]. نتایج این آزمایش با مطالعات Sibi و همکاران (۲۰۱۴) [۳۶] در بررسی اثر تنش مس بر روی گونه‌های *Chlorella vulgaris*، *C. protothecoides* و *C. pyrenoidosa* مطابقت دارد.

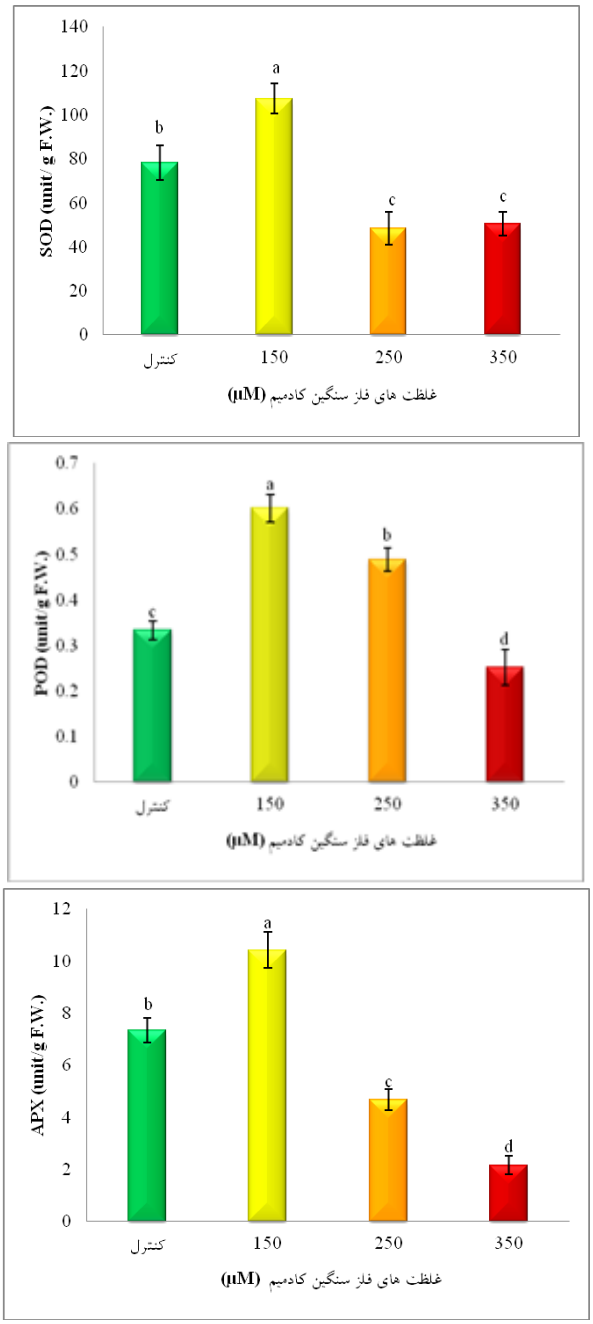
۴. تغییرات میزان مالون دی آلدهید

با توجه به شکل ۵، مقدار مالون دی آلدهید در ریز جلبک *Chlorella* sp. در غلظت‌های بالاتر از ۱۵۰ میکرومولار متناسب با افزایش غلظت فلز سنگین کادمیم افزایش پیدا کرد. به طوری که کمترین محتوای مالون دی آلدهید در گروه شاهد بود و بیشترین محتوای مالون دی آلدهید در ریز جلبک *Chlorella* sp. در غلظت ۳۵۰ میکرومولار کادمیم مشاهده شد.

آسیب غشایی از طریق تولید مالون دی آلدهید (MDA) به عنوان یک محصول و شاخص تنش و تولید رادیکال‌های آزاد در سلول‌ها مشخص می‌شود و نشان می‌دهد که مکانیسم‌های آنتی اکسیدانی نتوانسته‌اند به طور کامل از پیشرفت و افزایش فرآیند پراکسیداسیون لیپیدی غشاها در سلول‌های تحت تنش جلوگیری کنند [۳۷]. طبق نتایج این پژوهش، در غلظت‌های بالاتر از ۱۵۰ میکرومولار متناسب با افزایش غلظت فلز سنگین کادمیم، مقدار مالون دی آلدهید نیز افزایش پیدا کرد (شکل ۵). شاید القای پراکسیداسیون لیپیدها توسط کادمیم نتیجه غیر مستقیم انباشت پراکسیدهای هیدروژن می‌باشد، زیرا این پراکسیدهای هیدروژن در اثر مهار مسیرهای متابولیکی مختلف ایجاد می‌شوند. همچنین $Zn2+$، فعالیت لیپواکسیژنازی را تحریک می‌کند و متعاقباً باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدی سلول‌ها می‌شود [۳۸]. نتایج این آزمایش با مطالعات Prasad و Zeeshan (۲۰۰۵) [۳۸] مطابقت دارد. آن‌ها مشاهده کردند که تیمارهایی با غلظت‌های ۲ و ۴ میکرومولار کادمیم در ریز جلبک *Plectonema boryanum* میزان پراکسیداسیون لیپیدی را افزایش می‌دهد. همچنین Sultan و همکاران (۲۰۰۶) [۲۴] در بررسی اثر غلظت‌های ۰/۰۲ تا ۱ میکرومولار کادمیم روی ریز جلبک *Anabaena Doliolum* مشاهده کردند که متناسب با افزایش مقدار غلظت فلز، محتوای مالون دی آلدهید افزایش بیشتری می‌یابد.

۵. اثرات تنش کادمیم بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

با توجه به شکل ۶، اثر تنش کوتاه مدت غلظت‌های مختلف فلز سنگین کادمیم بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریز جلبک *Chlorella* sp. نشان می‌دهد که در غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۵۰ میکرومولار فعالیت آنزیم پراکسیداز به طور معنی داری افزایش می‌یابد، در حالی که در غلظت ۳۵۰ میکرومولار کاهش یافت. بیشترین فعالیت آنزیم در ریز جلبک *Chlorella* sp. در غلظت ۱۵۰ میکرو مولار حاصل شد. در حالی که فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ریز جلبک *Chlorella* sp. تحت اثر تنش فلز سنگین کادمیم در غلظت ۱۵۰ میکرومولار به طور قابل توجهی افزایش یافت، ولی در غلظت ۲۵۰ و ۳۵۰ میکرومولار کاهش فعالیت آنزیم مشاهده شد (شکل ۶).



شکل ۶: تغییرات فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز ((POD، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و آنزیم آسکوربات پراکسیداز ((APXریز جلبک *Chlorella* sp. پس از اعمال تنش کوتاه مدت در تیمارهای مختلف فلز سنگین کادمیم در شرایط استاندارد آزمایش در سطح معنی داری ۵٪. داده‌ها نشان دهنده میانگین± انحراف معیار (SE) است. حروف متفاوت حاصل آزمون چند دامنه‌ای دانکن بالای نمودار بیانگر اختلاف معنی دار می‌باشد.

Fig 6: Changes in the activity of guaiacol peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) Chlorella sp. After applying short-term stress in different treatments of cadmium heavy metal in standard test conditions at a significant level of 5%. The data show the mean standard deviation (SE). The different letters from Duncan's multi-domain test at the top of the graph indicate a significant difference

موجودات فتوسنتزکننده به ترکیبات فلزی بسیار حساس هستند. اثرات یون‌های فلزی بر گیاهان شامل اختلال در بسیاری از کارکردهای فیزیولوژیکی مانند جذب آب، تنفس، جذب مواد معدنی، فتوسنتز، کاهش سنتز DNA، تغییر در قابلیت نفوذپذیری غشا و مهار یا فعال سازی فعالیت‌های آنزیمی می‌باشند [۳۳]. از آنجا که کادمیم یک فلز ردوکس فعال نیست، اثر آن بر زنجیره انتقال الکترون و بازده فتوسنتزی منجر به آزاد شدن گونه‌های فعال اکسیژنی و در نتیجه آسیب اکسیداتیو می‌شود [۲۲]. ROS ها می‌توانند منجر به آسیب اکسیداتیو اسیدهای چرب در غشای سلولی و شکستگی زنجیره‌های DNA شوند. آنزیم‌هایی نظیر SOD،POD و CAT که رادیکال‌های خطرناک سوپراکسید و پراکسید هیدروژن را جمع آوری می‌کنند، بسیار حائز اهمیت می‌باشند [11, 19, 26]. جمع آوری رادیکال‌های سوپراکسید توسط آنزیم SOD، یکی از مکانیسم‌های مهم مقاومت در برابر تنش می‌باشد. متالوپروتئین SOD، آنیون سوپراکسید را به H_2O_2 و اکسیژن تبدیل می‌کند. آسکوربات پراکسیداز (APX) در سم زدایی هیدروژن پراکسید تولید شده در اثر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز نقش دارد [۳۹].

بعلاوه برای از بین بردن هیدروژن پراکسید فعالیت‌های APX و POD افزایش می‌یابد [۴۰]. در مطالعه حاضر، با توجه به شکل ۶، بیشترین فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در ریز جلبک *Chlorella* sp. در غلظت ۱۵۰ میکرو مولار حاصل شد. کادمیم باعث مهار فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف مثل رشد، فتوسنتز، تنفس، تثبیت نیتروژن و جذب مواد غذایی می‌شود که این عوامل سرانجام بر حیات کلی اجزاء تشکیل دهنده موجودات زنده اثر می‌گذارد [۲۲].

نتایج این آزمایش با یافته‌های Singh و همکاران (۲۰۱۲) [۱۳] که گزارش کردند غلظت ۱۰ میکرومولار از فلز سنگین کادمیم سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در *Anabaena* sp. می شود، مطابقت دارد.Rai و همکاران (۱۹۹۱) [۲۲]، افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR) را متناسب با افزایش غلظت مس در ریز جلبک *Anabaena doliolum* گزارش کردند. همچنین Sultan و همکاران (۲۰۰۶) [۲۴] دریافتند که غلظت ۰/۰۲ و ۱ میکرومولار فلز سنگین کادمیم باعث آسیب اکسیداتیو در این ریز جلبک می‌شود و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان را افزایش می‌دهد. گاهی رادیکال‌های آزاد اکسیژن که در شرایط تنش به وجود می‌آیند، با حمله به آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو، باعث مهار این آنزیم‌ها می شوند. همچنین کاهش فعالیت کاتالاز همراه با افزایش غلظت کادمیم، در برخی گیاهان به علت کاهش در میزان پروتئین‌های گیاه در اثر سمیت این فلز و ایجاد تنش‌های اکسیداتیو نیز گزارش شده است [۴۱-۴۶].

نتیجه‌گیری

در بررسی اثر غلظت‌های مختلف فلز سنگین کادمیم به مدت ۲۴ ساعت در ریز جلبک *Chlorella* sp.، میزان وزن خشک، رنگدانه های فتوسنتزی و میزان پروتئین کل کاهش و محتوای مالون دی آلدهید و فعالیت آنزیم‌های SOD، POD و APX افزایش یافت و بیشترین فعالیت آنزیمی ریز جلبک کلرلا در غلظت ۱۵۰ میکرومولار کادمیم مشاهده شد.

مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان به یک میزان در نگارش این مقاله مشارکت داشته اند.

تشکر و قدردانی

به این وسیله، نویسندگان این مقاله از کلیه کسانیکه در این مطالعه نقشی داشته اند تشکر و قدردانی مینمایند.

تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافعی برای این مطالعه وجود ندارد.

References

1. Hyun S, Lee T, Lee CH, Park YH. The effects of metal distribution and anthropogenic effluents on the benthic environment of Gwangyang Bay, Korea. *Mar Pollut Bull*. 2006;**52**(1):113-120. **doi:** 10.1016/j.marpolbul.2005.10.011 **pmid:** 16313929
2. Xie Q, Liu N, Lin D, Qu R, Zhou Q, Ge F. The complexation with proteins in extracellular polymeric substances alleviates the toxicity of Cd (II) to Chlorella vulgaris. *Environ Pollut*. 2020;**263**(Pt A):114102. **doi:** 10.1016/j.envpol.2020.114102 **pmid:** 32203844
3. Jaafari J, Yaghmaeian K. Optimization of heavy metal biosorption onto freshwater algae (Chlorella coloniales) using response surface methodology (RSM). *Chemosphere*. 2019;**217**:447-455. **doi:** 10.1016/j.chemosphere.2018.10.205 **pmid:** 30439657
4. Afshar Mohammadian M, Ebrahimi Nokandeh S, Jamal Omidi M. The effect of different salinity levels on some non-enzymatic antioxidants of three peanut cultivars (Arachis hypogaea L.). *J Crop Physiol*. 2015;**6**(25):57-71.
5. Rodriguez-Serrano M, Romero-Puertas MC, Zabalza A, Corpas FJ, Gomez M, Del Rio LA, et al. Cadmium effect on oxidative metabolism of pea (Pisum sativum L.) roots. Imaging of reactive oxygen species and nitric oxide accumulation in vivo. *Plant Cell Environ*. 2006;**29**(8):1532-1544. **doi:** 10.1111/j.1365-3040.2006.01531.x **pmid:** 16898016
6. Scott SJ, Jones RA, Williams W. Review of Data Analysis Methods for Seed Germination 1. *Crop Sci*. 1984;**24**(6):1192-1199. **doi:** 10.2135/cropsci1984.0011183X002400060043x

7. Zhang J, Zhou F, Liu Y, Huang F, Zhang C. Effect of extracellular polymeric substances on arsenic accumulation in Chlorella pyrenoidosa. *Sci Total Environ*. 2020;**704**:135368. **doi:** 10.1016/j.scitotenv.2019.135368 **pmid:** 31831249
8. Shakya PR. Nickel Adsorption by Wild type and Nickel Resistant Isolate of Chlorella sp. *Pakistan J Anal Environ Chem*. 2007;**8**(2):5.
9. Rawat I, Kumar RR, Mutanda T, Bux F. Dual role of microalgae: phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Appl Energy*. 2011;**88**(10):3411-3424. **doi:** 10.1016/j.apenergy.2010.11.025
10. Mirza N, Mahmood Q, Pervez A, Ahmad R, Farooq R, Shah MM, et al. Phytoremediation potential of Arundo donax in arsenic-contaminated synthetic wastewater. *Bioresour Technol*. 2010;**101**(15):5815-5819. **doi:** 10.1016/j.biortech.2010.03.012 **pmid:** 20363125
11. Wegmann TG. In progress in Immunology (B.Amos, ed.) Academic Press, New York1971.
12. Shanab S, Essa A, Shalaby E. Bioremoval capacity of three heavy metals by some microalgae species (Egyptian Isolates). *Plant Signal Behav*. 2012;**7**(3):392-399. **doi:** 10.4161/psb.19173 **pmid:** 22476461
13. Singh VP, Srivastava PK, Prasad SM. Differential effect of UV-B radiation on growth, oxidative stress and ascorbate-glutathione cycle in two cyanobacteria under copper toxicity. *Plant Physiol Biochem*. 2012;**61**:61-70. **doi:** 10.1016/j.plaphy.2012.09.005 **pmid:** 23063802
14. Eijckelhoff C, Dekker JP. A routine method to determine the chlorophyll a, pheophytin a and β-carotene contents of isolated Photosystem II reaction center complexes. *Photosynthesis Res*. 1997;**52**(1):69-73. **doi:** 10.1023/A:1005834006985
15. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytic Biochem*. 1976;**72**(1-2):248-254. **doi:** 10.1016/0003-2697(76)90527-3
16. Heath RL, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophysic*. 1968;**125**(1):189-198. **doi:** 10.1016/0003-9861(68)90654-1
17. Kalir A, Omri G, Poljakoff-Mayber A. Peroxidase and catalase activity in leaves of Halimione portulacoides exposed to salinity. *Physiol Plant*. 1984;**62**(2):238-244. **doi:** 10.1111/j.1399-3054.1984.tb00377.x
18. Giannopolitis CN, Ries SK. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol*. 1977;**59**(2):309-314. **doi:** 10.1104/pp.59.2.309 **pmid:** 16659839
19. Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol*. 1981;**22**(5):867-880. **doi:** 10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232
20. Carfagna S, Lanza N, Salbitani G, Basile A, Sorbo S, Vona V. Physiological and morphological responses of Lead or Cadmium exposed Chlorella sorokiniana 211-8K (Chlorophyceae). *Springerplus*. 2013;**2**(1):147. **doi:** 10.1186/2193-1801-2-147 **pmid:** 23641320
21. Reilly K, Conrady S, Kyle S, Zodrow KR. Heavy Metal Removal via Phycoremediation2020.
22. Rai LC, Singh AK, Mallick N. Studies on photosynthesis, the associated electron transport system and some physiological variables of Chlorella vulgaris under heavy metal stress. *J Plant Physiol*. 1991;**137**(4):419-424. **doi:** 10.1016/S0176-1617(11)80310-X
23. Crist RH, Oberholser K, Shank N, Nguyen M. Nature of bonding between metallic ions and algal cell walls. *Environ Sci Technol*. 1981;**15**(10):1212-1217. **doi:** 10.1021/es00092a010
24. Sultan P, Shah SM, Williams P, Jan A, Ahmad N. Biochemical basis of heavy metal induced stress tolerance in the N 2 fixing cyanobacterium Anabaena doliolum. *Africa J Clinic Experiment Microbiol*. 2007;**8**(1):8-22. **doi:** 10.4314/ajcem.v8i1.7458
25. Fisher NS, Frood D. Heavy metals and marine diatoms: influence of dissolved organic compounds on toxicity and selection for metal tolerance among four species. *Marine Biol*. 1980;**59**(2):85-93. **doi:** 10.1007/BF00405458
26. Afshar Mohammadian M, Omidipour M, Jamal Omidi F. The effect of different levels of drought stress on chlorophyll content and fluorescence indices of two bean cultivars (Phaseolus vulgaris L.). *J Plant Res*. 1397;**31**(3):1-15.
27. Kastori R, Plesničar M, Sakač Z, Panković D, Arsenijević-Maksimović I. Effect of excess lead on sunflower growth and photosynthesis. *J Plant Nutrition*. 1998;**21**(1):75-85. **doi:** 10.1080/01904169809365384
28. Takamura N, Kasai F, Watanabe MM. Effects of Cu, Cd and Zn on photosynthesis of freshwater benthic algae. *J Appl Phycol*. 1989;**1**(1):39-52. **doi:** 10.1007/BF00003534
29. Larsson EH, Bornman JF, Asp H. Influence of UV-B radiation and Cd2+ on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in Brassica napus. *J Experiment botan*. 1998;**49**(323):1031-1039. **doi:** 10.1093/jxb/49.323.1031
30. Burzynski M. Influence of lead and cadmium on the absorption and distribution of potassium, calcium, magnesium and iron in cucumber seedlings. *Acta Physiol Plant*. 1987;**9**:229-238.
31. Bajguz A. An enhancing effect of exogenous brassinolide on the growth and antioxidant activity in Chlorella vulgaris cultures under heavy metals stress. *Environ Experiment Botany*. 2010;**68**(2):175-179. **doi:** 10.1016/j.envexpbot.2009.11.003

32. Bajguz A, Hayat S. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiol Biochem*. 2009;**47**(1):1-8. **doi:** 10.1016/j.plaphy.2008.10.002 **pmid:** 19010688
33. Naeimi A, Sarmad J, Mohseni N, Khatri F. Effects of different concentrations of lead on the growth and content of photosynthetic pigments and malondialdehyde of the green alga protozoan Chlorella Vulgaris. *J Plant Res*. 1396;**30**(4):940-947.
34. Cobbett C, Goldsbrough P. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annu Rev Plant Biol*. 2002;**53**:159-182. **doi:** 10.1146/annurev.arplant.53.100301.135154 **pmid:** 12221971
35. Turner JS, Robinson NJ. Cyanobacterial metallothioneins: biochemistry and molecular genetics. *J Ind Microbiol*. 1995;**14**(2):119-125. **doi:** 10.1007/BF01569893 **pmid:** 7766203
36. Sibi G, Anuraag TS, Bafila G. Copper stress on cellular contents and fatty acid profiles in Chlorella species. *Online J Biologic Sci*. 2014;**14**(3):209. **doi:** 10.3844/ojbsci.2014.209.217
37. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytic Biochem*. 1979;**95**(2):351-358. **doi:** 10.1016/0003-2697(79)90738-3
38. Prasad SM, Zeeshan M. UV-B radiation and cadmium induced changes in growth, photosynthesis, and antioxidant enzymes of cyanobacterium Plectonema boryanum. *Biologia Plant*. 2005;**49**(2):229. **doi:** 10.1007/s10535-005-0236-x
39. Afshar Mohammadian M, Qanati F, Ahmadiani S, Sadrzamani K. The effect of drought stress on the activity of antioxidant enzymes and soluble sugars of aromatic mint (Mentha pulegium L.). *New Find Life Sci*. 2016;**3**:228-237.
40. De Vos CHR, Schat H. Free radicals and heavy metal tolerance. In Ecological responses to environmental stresses. Springer, Dordrecht.1991.
41. Vajpayee P, Tripathi RD, Rai UN, Ali MB, Singh SN. Chromium (VI) accumulation reduces chlorophyll biosynthesis, nitrate reductase activity and protein content in Nymphaea alba L. *Chemosphere*. 2000;**41**(7):1075-1082. **doi:** 10.1016/S0045-6535(99)00426-9
42. Miri M, Khandan Barani M. The effect of copper oxide nanoparticles on growth, protein content, chlorophylls and algae carotene (Chlorella vulgaris). *J Plant Res*. 2016;**29**(1):235-242.
43. Neelam A, Rai LC. Differential responses of three cyanobacteria to UV-B and Cd. *J Microbiol Biotechnol*. 2003;**13**(4):544-551.
44. Shafik MA. Phytoremediation of some heavy metals by Dunaliella salina. *Global J Environ Res*. 2008;**2**(1):1-11.
45. Hinchee RE, Means JL, Burris DR. Bioremediation of Inorganics (No. CONF-950483-). Battelle Press, Columbus, OH (United States).1995.
46. Afshar Mohammadian M, Ansari Piri Z. Effect of different levels of cold on total protein, proline and activity of some enzymatic antioxidants of Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni). *J Cellular Molecular Res*. 2017;**30**(2):1-11.

AUTHOR(S) BIOSKETCHES

Zamani, M., Masters student Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.
m.zamani1400@gmail.com

Fallah, S.F. Ph.D Student Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Golestan, Gorgan, Iran
fallahfatemeh1368@gmail.com

Sarmad, J. Assistant Professor Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
afshar1357@gmail.com

Afshar-Mohammadian, M. Associate Professor Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
afshar@guilan.ac.ir

HOW TO CITE THIS ARTICLE

Citation (Vancouver) *Zamani M, Fallah SF, Sarmad J, Afshar-Mohammadian M. The effect of different concentrations of heavy metal of cadmium on some of the physiological characteristics of the green microalgae of Chlorella sp. J Oceanography.2021; 12(45): 16-27.*

http://doi.org/10.52547/joc.12.45.28
http://joc.inio.ac.ir/article-1-1516-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.