

Original Article



The phycoremediation potential of *polycladia myrica* based on the amount of bioaccumulation of Zn, Cu and Ni metals. and changes in the concentration of photosynthetic pigments

Fatemeh Gholamian^{1*} 

1. Instructor, Research Division of Natural Resources, Bushehr Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bushehr, Iran.

Article history:

Received: 7 December 2023

Revised: 12 May 2024

Accepted: 6 December 2024

ePublished: 3 January 2025

***Corresponding author:** Fatemeh Gholamian, Instructor, Research Division of Natural Resources, Bushehr Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bushehr, Iran.

E-mail: f.gholamian@areeo.ac.ir

Abstract

Appearance color changes in some algae, including the brown macroalgae (*Polycladia myrica*), have been observed in some tidal areas contaminated with urban and industrial effluents. These effluents sometimes contain heavy metals (HMs). To determine the possible role of multi-component HMs in causing color changes in *P. myrica* algae, in this research, the phycoremediation power and the effect of copper, zinc and nickel ions on the amount of photosynthetic pigments in the algae were investigated in the spring 2022. The alga was collected from the intertidal zones of Bushehr coast. Cultivation of three algae seedlings was done on a plastic rope attached to the lower part of the two transverse walls of each glass aquarium. The aquarium containing seawater was considered as the control algae culture medium, and the aquaria containing different concentrations of three metal ions added to seawater were considered as contaminated culture media. The concentration range of the desired metal ions was considered from their present concentration in Persian Gulf water to ten fold their current present level, due to the possibility of increasing pollution in the future. The results of the analysis showed that a significant decrease of the 30-70% in the amount of algae pigments grown in polluted environments compared to the control algae has led to a change in the algae color from brown to light olive green. On the other hand, a significant decrease ($p < 0.05$) in the amount of pigments has shown a direct relationship with the increase in bioaccumulation of metal ions, that is, the uptake of metal ions has led to oxidative stress in algae cells. This confirms the changes in the algae color due to the toxicity caused by the bioaccumulation of metal ions. Also, the bioaccumulation factor of metal ions showed that *P. myrica* algae has the ability to uptake 38 times more nickel ions than the control algae. Therefore, this alga can be suggested as a suitable biosorbent with a high phycoremediation power for marine environments contaminated with nickel ions.

Keywords: Algae, seaweed, effluent, heavy metals, phycoremediation, pigment.

Please cite this article as follows: Gholamian F. The phycoremediation potential of *polycladia myrica* based on the amount of bioaccumulation of Zn, Cu and Ni metals. and changes in the concentration of photosynthetic pigments. J Marin Bio, 2025; 16(4): 43-54.



مقاله اصلی

پتانسیل جلبک پالائی *Polycladia myrica* بر اساس میزان تجمع زیستی فلزات روی، مس و نیکل، و تغییر غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی

فاطمه غلامیان^{*۱}

۱. مربی پژوهش، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر، ایران.

چکیده

تغییرات رنگ ظاهری در برخی جلبک‌ها از جمله ماکروجلبک قهوه‌ای *Polycladia myrica* در برخی مناطق جزر و مدی آلوده به پساب‌های شهری و صنعتی مشاهده شده است. این پساب‌ها گاهی حاوی فلزات سنگین هستند. برای تعیین نقش احتمالی فلزات سنگین چند جزیی در ایجاد تغییرات رنگ در جلبک *P. myrica*، در این پژوهش قدرت جلبک پالائی و تأثیر یون‌های فلزی مس، روی و نیکل بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی جلبک، در بهار ۱۴۰۱، بررسی شد. ماکروجلبک *P. myrica* از نوار ساحلی بوشهر جمع‌آوری شد. کشت سه نشا جلبک (۳ تکرار) بر روی طناب پلاستیکی متصل به قسمت پائینی دو جداره عرضی هر آکواریوم شیشه‌ای انجام شد. آکواریوم حاوی آب دریا به‌عنوان محیط کشت جلبک شاهد، و آکواریوم‌های حاوی غلظت‌های مختلف سه یون فلزی اضافه شده به آب دریا، به‌عنوان محیط کشت‌های آلوده در نظر گرفته شد. دامنه غلظتی یون‌های فلزی مورد بررسی از غلظت موجود آنها در آب خلیج فارس تا ده‌ها برابر حد موجود کنونی، به‌دلیل احتمال افزایش آلودگی در آینده در نظر گرفته شد. نتایج آنالیز نشان داد که کاهش معنی‌دار ۳۰ تا ۷۰ درصدی مقادیر رنگیزه‌های جلبک رشد یافته در محیط‌های آلوده نسبت به جلبک شاهد، منجر به تغییر رنگ جلبک از قهوه‌ای به سبز زیتونی روشن شده است. از طرف دیگر، کاهش معنی‌دار مقادیر رنگیزه‌ها ($P < 0.05$) با افزایش تجمع زیستی یون‌های فلزی نسبت مستقیم نشان داده است، یعنی جذب فلزات سنگین منجر به استرس اکسیداتیوی در سلول‌های جلبک شده است. این امر، تغییرات رنگ جلبک به‌دلیل سمیت ناشی از تجمع زیستی یون‌های فلزی را تایید می‌کند. همچنین، فاکتور تجمع زیستی یون‌های فلزی نشان داد که جلبک *P. myrica*، توانایی جذب ۳۸ برابری یون نیکل نسبت به جلبک شاهد دارد. بنابراین، می‌توان این جلبک را به‌عنوان یک جاذب زیستی مناسب با قدرت جلبک پالائی بالا برای محیط‌های دریایی آلوده به یون نیکل پیشنهاد کرد.

واژگان کلیدی: جلبک، جلبک پالائی، پساب، فلزات سنگین، رنگدانه.

تاریخچه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۹/۱۶

تاریخ ویرایش مقاله: ۱۴۰۳/۲/۲۳

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۹/۱۶

تاریخ انتشار مقاله: ۱۴۰۳/۱۰/۱۴

تمامی حقوق برای دانشگاه آزاد اهواز محفوظ است.

* نویسنده مسئول: فاطمه غلامیان، مربی پژوهش، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر، ایران

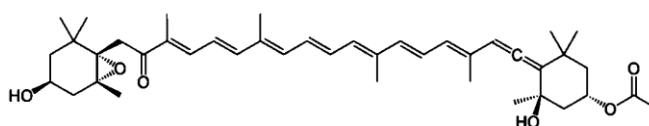
ایمیل: f.gholamian@areeo.ac.ir

استناد: غلامیان، فاطمه. پتانسیل جلبک پالائی *Polycladia myrica* بر اساس میزان تجمع زیستی فلزات روی، مس و نیکل، و تغییر غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی.

مجله زیست‌شناسی دریا، زمستان ۱۴۰۳؛ ۱۶(۴): ۴۳-۵۴

مقدمه

استفاده از فلزات سنگین در محصولات صنعتی، پزشکی، خانگی و کشاورزی منجر به افزایش رسوب و توزیع این فلزات در محیط شده و نگرانی‌های جدی در مورد تأثیر آنها بر موجودات زنده ایجاد کرده است (Khatiwada et al., 2020). این نگرانی‌ها عمدتاً به دلیل سمیت و ماهیت غیرقابل تجزیه زیستی فلزات است (Cechinel et al., 2015). برخی از فلزات سنگین مانند مس، روی، نیکل و غیره برای عملکردهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی سلول‌های زنده ضروری هستند (Kaamoush et al., 2022). با این حال، اگر غلظت آنها از آستانه خاصی فراتر رود، می‌توانند برای اکثر موجودات پروکاریوتی و یوکاریوتی مضر یا سمی باشند (Ciurli et al., 2020). علاوه بر این، یون‌های فلزی مذکور به عنوان آلوده‌گرهای اکوسیستم‌های آبی و خشکی مطرح هستند. فلزات به عنوان آلاینده، بر اثر عوامل طبیعی مانند فرسایش خاک، سیلاب، چرخش آب اقیانوس و دریا، و یا عوامل غیرطبیعی مانند حریق چاه‌های نفتی، پساب‌های صنعتی و انسانی، نشت نفت و گاز، سوانح کشتی‌ها و تخلیه آب توازن (Barmaki & Elsagh, 2014)، شورآب آب شیرین‌کن‌ها، پالایشگاه نفت و گاز، پتروشیمی، سموم کشاورزی و غیره وارد اکوسیستم آبی می‌شوند. روش‌های مختلفی مانند کاربرد مواد شیمیایی برای حذف فلزات سنگین از خاک و آب به کار گرفته شده است، اما اغلب آنها ناکارآمد یا گران هستند. از سوی دیگر، گیاهان، میکروارگانیسم‌ها و ریزجلیک‌ها توانایی تجمع زیستی فلزات سنگین را به طور پایدار دارند (Khatiwada et al., 2020). جذب زیستی روشی جایگزین برای تصفیه‌های مرسوم برای حذف فلزات سنگین بدون ایجاد لجن مضر، و با هزینه بسیار کمتر است (Romera et al., 2007). مطالعات گزارش کرده‌اند که یون‌های فلزی می‌توانند با مولکول‌های رنگ، به عنوان مثال بتالین‌ها با نیکل و مس، کورکومینوئیدها با سرب، آنتوسیانین‌ها با آهن و کاروتنوئیدها با مس، روی و سرب تشکیل کمپلکس دهند (Mulyaningsih et al., 2023). رنگدانه‌های فتوسنتزی موجود در جلبک در زمینه‌های مختلف بسیار مهم هستند. کلروفیل نقش مهمی در جذب نور دارد و به فعالیت آنتی اکسیدانی جلبک‌ها کمک می‌کند، همچنین به عنوان رنگ در صنایع غذایی و دارویی مختلف استفاده می‌شود. کاروتنوئیدها، مشتقات کلروفیل و فیکوبیلین‌ها هستند و تأثیر ارزشمندی بر سیگنال دهی و تنظیم بسیاری از مسیرهای بیولوژیکی دارند. علاوه بر این، آنها فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی دارند. در گیاهان، کاروتنوئیدها جاروکننده عالی اکسیژن منفرد هستند. بنابراین، آنها از کلروفیل‌ها، لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA در برابر آسیب اکسیداتیو در سلول‌ها محافظت می‌کنند. از جمله آنتی اکسیدان‌هایی هستند که بیشترین فعالیت را در جلبک دارند (Kaamoush et al., 2022). جایگزینی اتم مرکزی (منیزیم) در مولکول کلروفیل با یک فلز سنگین (جیوه، مس، کادمیوم، نیکل، روی، سرب) عامل اصلی آسیب به گیاه است و میزان آسیب به پایداری ترمودینامیکی کمپلکس‌های تشکیل شده بستگی ندارد، بلکه به تمایل فلزات به تشکیل کمپلکس با کلروفیل بستگی دارد. زیرا رابطه‌ای مستقیم بین سمیت فلز و میزان کمپلکس شدن کلروفیل با فلزات وجود دارد. جذب اضافی فلزات سنگین سبب تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن، پراکسیداسیون لیپیدها و تعامل با آنزیم‌ها و مهار فتوسنتز است (Grajek et al., 2020). از اینرو، هر گونه آلودگی که باعث کاهش کلروفیل شود بر فیزیولوژی گیاه تأثیر منفی می‌گذارد (Patar et al., 2016; Rydzyński et al., 2019). در نتیجه سرعت رشد گیاه کاهش می‌یابد (Rydzyński et al., 2019; Margas et al., 2016; Marcano et al., 2009). فوکوگزانتین یکی از رایج‌ترین گونه‌های گزانتوفیل در جلبک‌های قهوه‌ای است، رنگدانه‌ای طبیعی که متعلق به خانواده کاروتنوئیدها است (Remya et al., 2022). فوکوگزانتین حاوی یک پیوند آلنیک غیر معمول، یک پیوند ۶، مونو اپوکسید، نه پیوند دوگانه مزدوج، تعدادی گروه‌های عملکردی اکسیژنی از جمله هیدروکسیل، اپوکسی، کربونیل و کربوکسیل است (شکل ۱). فوکوگزانتین دارای ساختار غیر اشباع چندگانه، ناپایدار و بسیار واکنش پذیر (Gholamian et al., 2023a; Mumu et al., 2022)، با یون‌های فلزی و رادیکال‌های آزاد به عنوان آنتی اکسیدانی قوی است که نتیجه آن تغییر ساختار فضایی فوکوگزانتین و تخریب ساختار آن است. علت رنگ قهوه‌ای جلبک‌های قهوه‌ای، وجود کروماتوفورهای حاوی رنگدانه فوکوگزانتین است که رنگدانه‌های کلروفیل a، c و سایر گزانتوفیل‌ها را می‌پوشاند (Li et al., 2016; Foday Jr et al., 2021; Remya et al., 2022).



شکل ۱. ساختار شیمیایی مولکول فوکوگزانتین.

ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای با داشتن گروه‌های عاملی سولفونیک اسیدی قوی و کربوکسیلیک اسیدی ضعیف در دیواره سلولی خود که به‌عنوان اولین سد دفاعی و مبدل‌های کاتیونی عمل می‌کنند امکان جداسازی یون‌های فلزی با بار مثبت مانند مس، روی، کادمیوم، سرب و غیره را از محلول‌های آبی فراهم می‌کنند (Dittert *et al.*, 2012; Girardi *et al.*, 2014; Hackbarth, Pozdniakova *et al.*, 2016). سم زدایی فلزات سنگین در میتوکندری تاکنون گزارش نشده است، اما مطالعات نشان داده‌اند که تجمع فلزات سنگین باعث سمیت و استرس ناشی از فلز در میتوکندری می‌شود (Khatiwada *et al.*, 2020). ارگانوسم‌های دارای کلروپلاست دارای مکانیسم سلولی سازمان یافته برای تجمع زیستی فلزات هستند زیرا برخی از کوفاکتورهای مورد استفاده در مسیر انتقال الکترون کلروپلاست مانند فلزات آهن، مس و روی به‌آسانی در دسترس هستند (Khatiwada *et al.*, 2020). یون‌های فلزی فعال ردوکس بدون کلات، مانند آهن و مس، می‌توانند منجر به سمیت سلولی و تولیدگونه‌های اکسیژن فعال (ROS) شوند (Blaby-Haas & Merchant, 2012). مس یک ریزمغذی ضروری برای بسیاری از موجودات زنده است، اما تقاضای آن کم است. مس همچنین جزء پلاستوسیانین یا پروتئین کلروپلاست است که مسئول انتقال الکترون در طول فتوسنتز است. در متابولیسم نیتروژن و ترکیبات قندی در واکنش‌های اکسیداسیون-کاهشی که مسئول جریان مناسب فتوسنتز و تنفس است شرکت دارد. ولی مقدار بیش از حد مس سمی است (Kondzior & Butarewicz, 2018). عنصر روی (Zn) فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. روی در تنظیم متابولیسم قند و سنتز پروتئین در غشای سلولی و در ساختار ریبوزوم نقش دارد. یون روی همراه با مس، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) ایجاد می‌کند (Kondzior & Butarewicz, 2018). از طرف دیگر، برخی از فلزات سنگین می‌توانند از ناقل‌ها و کانال‌های یونی فلزات ضروری برای انتقال (Nowicka, 2022) و حرکت در اندامک‌های درون سلولی استفاده کنند. این امر ذخیره فلزات سنگین را در داخل کلروپلاست‌ها ممکن می‌سازد (Khatiwada *et al.*, 2020). محتوای رنگدانه‌ها و همچنین نسبت کمی آنها، تأثیر مستقیمی بر توانایی و شدت فرایند فتوسنتز انجام شده توسط گونه‌های اتوتروف جلبک دارد. این موجودات به دلیل مقاومت در برابر محتوای فلزات سنگین در محیط متمایز می‌شوند. گونه‌های جلبکی که به دلیل افزایش فلزات سنگین مقاومت تنشی از خود نشان می‌دهند، ممکن است برای گیاه‌پالایی محیط‌های آبی استفاده شوند (Kondzior & Butarewicz, 2018).

بررسی مقالات نشان داد تاکنون بیشترین تمرکز محققین بر تأثیر یک یون فلزی و مشاهدات مربوط به آن بر رنگیزها و ساختار سلولی جلبک‌های تک سلولی و به ندرت پرسلولی بوده است. اما هدف از این مطالعه تجزیه و تحلیل تأثیر سطوح غلظتی مختلف فلزات سنگین چند جزئی مس، روی و نیکل بر مقادیر رنگدانه کلروفیل a و b، کارتنوئید و فوکوگزانتین، تغییرات ظاهری جلبک و بررسی پتانسیل زیست پالایی این یون‌های فلزی توسط ماکرو جلبک قهوه‌ای *P. myrica* است. از آنجا که فلزات سنگین می‌توانند بر کلروپلاست که حساس‌ترین اندام به فلزات سنگین است آسیب بزنند و فوکوگزانتین هم رنگیزه‌ای با ارزش افزوده بالا در بازار تجارت دریایی است که گیاهان خشکزی قادر به سنتز آن نیستند، نیاز است تا اثرات فلزات سنگین بر مقادیر رنگیزه‌ها از جمله فوکوگزانتین، تغییرات ظاهری جلبک، دامنه تحمل و زنده مانی ماکرو جلبک‌ها بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور انجام پژوهش حاضر، گونه *Polycladia myrica* به دلیل پراکنش وسیع در نوار جزر و مدی ساحل شهر بوشهر انتخاب شد. مختصات جغرافیائی محل نمونه برداری ۲۸ درجه و ۹۴ دقیقه و ۴۳/۲۷ ثانیه شمالی، و ۵۰ درجه و ۸۰ دقیقه و ۶۴/۷۱ ثانیه شرقی بود. نمونه برداری در اواخر فروردین ماه ۱۴۰۱ در هنگام حداکثر جزر انجام شد. نمونه‌های جدا شده از ناحیه اتصال به بستر مرجانی در درون سطل پلاستیکی حاوی آب دریا گذاشته شدند و به آزمایشگاه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر منتقل شدند. ابتدا، نمونه‌های جلبکی

برداشت شده به سبدهای پلاستیکی منتقل و با آب تمیز دریا شسته شدند تا مواد زائد آنها برداشته شد. سپس نمونه‌ها به تشت‌های پلاستیکی حاوی آب دریا و پمپ هوادهی منتقل شدند. با قیچی، نشاهای ۴ سانتی‌متری به وزن ۶ گرم از جلبک‌های شسته شده تهیه شد. نشاهای تهیه شده بر روی طناب‌های پلاستیکی متصل شده به جدارهای عرضی و نزدیک به کف آکواریوم‌های هم اندازه (*P. myrica* جلبک کفزی) کاشته شد (سرطاوی و همکاران، ۱۳۹۸). به‌منظور پرورش نشاهای ماکرو جلبک *P. myrica*، از ۳ آکواریوم شیشه‌ای با ضخامت جداره ۶ میلی‌متر و به ابعاد ۷۰×۳۰×۴۰ (طول، عرض، عمق) سانتی‌متر مکعب استفاده شد. با استفاده از یک پمپ هوای مرکزی (هایلا ACO-208) با انشعابات همسان در آکواریوم‌ها و پمپ‌های موج‌ساز یکسان (آکوآتک AQ3000M)، اکسیژن مورد نیاز و موج سازی آب برای پرورش نشاهای جلبکی در هر آکواریوم تامین شد. آکواریوم‌های شیشه‌ای با گنجایش ۸۲ لیتر، با ۷۲ لیتر آب دریا (برداشت شده از فاصله ۱۲ کیلومتری ساحل بوشهر، شوری آب دریا psu ۴۱) پر شدند. به‌منظور ایجاد نور کافی و دمای لازم برای رشد نشاهای کشت شده، آکواریوم‌ها درون گلخانه‌ای پلاستیکی در محوطه باز مرکز تحقیقات، که پوشیده از دو لایه پارچه ضخیم کتانی سفید رنگ و مجهز به سیستم تهویه مناسب بود، قرار داشتند. تیمارها تک عاملی (ماکرو جلبک *P. myrica* بوده و شرایط محیطی (نور، دما، مدت زمان روشنایی و تاریکی، pH و غیره) برای تمامی آکواریوم‌ها یکسان در نظر گرفته شد. هر آکواریوم متعلق به یک تیمار بود. ۳ نشا کاشته شده جلبک (۳ تکرار) با فاصله‌های ۱۵ سانتی‌متری از یکدیگر روی یک طناب پلاستیکی تعبیه شده در کف هر آکواریوم قرار داشت که محیط کشت جلبک شاهد فقط آب دریا بود، در حالی که محیط کشت جلبک‌های تحت تیمار سه یون فلزی مس، روی و نیکل، مخلوطی از آب دریا و محلول استوک تهیه شده از پودر نمک‌های کلرید روی، کلرید مس و کلرید نیکل [خریداری شده از شرکت مرک (Darmstadt, Germany)] در دو سطح غلظتی $M_1 = [0.3 \text{ میلی گرم روی} + 1 \text{ میلی گرم مس} + 1 \text{ میلی گرم نیکل}]$ در لیتر و $M_2 = [0.6 \text{ میلی گرم روی} + 2 \text{ میلی گرم مس} + 2 \text{ میلی گرم نیکل}]$ در لیتر بود (جدول ۱). حداکثر غلظت هر یون فلزی بر اساس ضریب حلالیت نمک آن یون در آب در نظر گرفته شده است.

جدول ۱: مقادیر فلزات سنگین آب دریا اندازه‌گیری شده با ICP و مقادیر اضافه شده آلاینده فلزی به آب دریا، بوشهر

(۱۴۰۱).

مقادیر فلزات سنگین اضافه شده (mg/l) به آب دریا			غلظت یون‌های فلزات سنگین (μg/l) آب خلیج فارس			محیط کشت
نیکل (Ni)	مس (Cu)	روی (Zn)	نیکل (Ni)	مس (Cu)	روی (Zn)	
۰	۰	۰	<۲۵	<۱۵	<۴۰	شاهد (آب دریا)
۱	۱	۰/۳	<۲۵	<۱۵	<۴۰	M ₁
۲	۲	۰/۶	<۲۵	<۱۵	<۴۰	M ₂

شاهد: آب دریا؛ M₁ و M₂: سطوح مختلف غلظتی یون‌های فلزی اضافه شده به آب دریا

این پژوهش در ۶۰ روز انجام شد و طی این مدت، برای حفظ سطوح غلظت آلودگی، هر سه روز یکبار، نصف آب هر آکواریوم با آب تازه دریا که مخلوط با سطوح مختلف غلظتی آلوده‌گرهای فلزی مورد بررسی بود جایگزین شد (Gholamian et al., 2023b). روزانه حجم آب تبخیر شده از سطح آکواریوم با اضافه کردن آب مقطر برای حفظ غلظت آلوده‌گرهای فلزی و EC آب در دوره رشد ماکرو جلبک جبران شد. رشد جلبک‌ها در دمای آب 24 ± 4 درجه سانتی‌گراد و $pH \approx 7.2-7.5$ تحت دوره نوری ۱۶ ساعت و چگالی شار فوتون فتوستتزی ۳۵۰-۵۰۰ لوکس در ۶ صبح، ۹۹۸۵-۱۰۹۹۵ لوکس در ۱۲ ظهر و ۱۸۵۰-۱۹۹۰ لوکس (دستگاه نورسنج مدل TES-Light Meter TES-1332A | TES) در ۶ بعد از ظهر انجام شد. پس از گذشت ۶۰ روز، سیستم‌های هوادهی و موج‌ساز قطع و طناب‌های حاوی جلبک‌ها از درون آکواریوم‌ها خارج، و به مدت ۳۰ ثانیه با آب مقطر شسته شدند. نمونه‌های جلبک *P. myrica* در محیط کشت‌های مورد بررسی در سایه خشک شدند. نمونه‌های خشک شده به‌طور جداگانه توزین شدند و در ورقه‌های آلومینیومی (فویل آلومینیوم) در یخچال آزمایشگاهی برای انجام مراحل بعدی پژوهش گذاشته شد.

برای استخراج فلزات سنگین به روش هضم اسیدی و اندازه‌گیری عناصر جذب شده توسط جلبک از محیط کشت، ۱/۵ گرم پودر خشک نمونه‌های جلبکی با مش ۴۰ با استفاده از ۱۰ سی‌سی اسید نیتریک غلیظ (۶۵-۶۳٪) روی هیتر (Stuart SM3 Magnetic Stirring) به مدت یک ساعت مورد هضم اسیدی قرار گرفت (Kamali et al., 2021). پس از صاف کردن محلول روی کاغذ صافی واتمن شماره ۴۰، محلول بدست آمده به بالن ژوژه ۲۵ سی‌سی منتقل شد. کاغذهای صافی ۲ بار با ۲ سی‌سی محلول ۲۰٪ اسید نیتریک به‌طور کامل شسته شدند، سپس در بوتله‌های چینی قرار داده شدند و ابتدا به آرامی روی شعله بدون آتش گرفتن خاکستر شدند و سپس در کوره مجهز به تهویه (Muffle furnaces L3/11) در دمای ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت حرارت داده شدند؛ در این دما کاغذ به آرامی زغال می‌شود تا از احیای ترکیبات فرار فلزات سنگین مورد بررسی جلوگیری شود. بوتله‌ها دو بار با ۵ سی‌سی محلول ۲۰٪ اسید نیتریک شسته، و محلول‌ها سانتریفیوژ (Kubota Tabletop Centrifuge Model 2420) شدند. محلول‌های روئی به محلول بالن ژوژه‌های ۲۵ سی‌سی منتقل شد و لوله سانتریفیوژ مورد استفاده با آب مقطر شسته و مجدداً سانتریفیوژ شد، محلول‌های شفاف به محلول درون بالن ژوژه‌ها اضافه شد (Gholamian et al., 2023a,b) و حجم نهایی با مقدار کمی آب مقطر به ۲۵ سی‌سی رسانده شد (Engin et al., 2010). برای تجزیه و تحلیل کمی، منحنی‌های کالیبراسیون یون‌های روی، مس و نیکل با استفاده از محلول‌های استاندارد رقیق شده (از ۰/۱ تا ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر) تهیه شد. ضریب همبستگی r^2 به‌دست آمده برای همه موارد بیشتر از ۰/۹۹ بود. غلظت یون‌های فلزی مورد نظر با روش ICP-OES (PerkinElmer, USA) آنالیز شد. این نتایج به‌عنوان فاکتور تجمع زیستی فلزات سنگین (Bioaccumulation factor و BAF) توسط جلبک *P. myrica* در محیط‌های مختلف نسبت به جلبک شاهد طبق معادله ۱ محاسبه شد:

$$BAF = \frac{C_{b1}}{C_{b2}} \quad \text{معادله ۱}$$

C_{b1} و C_{b2} غلظت‌های یک آلاینده معین در نمونه‌های موجود زنده است (Kwok et al., 2013) که در اینجا به $\frac{C_{algae}}{C_{control}}$ تغییر یافت. برای تبدیل واحد میلی‌گرم بر لیتر (mg/L) غلظت اندازه‌گیری شده عصاره هضم اسیدی به میلی‌گرم بر گرم (mg/g) وزن خشک جلبک از معادله ۲ استفاده شد.

$$DWmg/g = \frac{Cmg/L \times V}{1000 \times W} \quad \text{معادله ۲}$$

Cmg/L غلظت اندازه‌گیری شده با دستگاه ICP بر حسب پی پی ام یا میلی‌گرم در لیتر، V حجم عصاره هضم اسیدی بر حسب میلی‌لیتر، W وزن پودر خشک ماکروجلبک بر حسب گرم است. V برابر ۲۵ میلی‌لیتر و W برابر با ۱/۵ گرم است.

برای استخراج رنگدانه‌های کلروفیل a و b ، فتوفیتین و کاروتنوئیدها جلبک *P. myrica*، ۲ گرم از پودر ماکروجلبک *P. myrica* خشک با مش ۴۰ با مخلوطی از ۱۶ سی‌سی متانول خالص، ۸ سی‌سی کلروفرم و ۴ سی‌سی آب مقطر با هم مخلوط شدند. بشرهای حاوی مواد، به مدت ۲۴ ساعت در طبقات پایین یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. محلول رویی دکانته و بقایای جامد سه بار با مخلوط حلال‌ها تا بی‌رنگ شدن بخش جامد مورد استخراج قرار گرفت. تمام مایعات حاصله با هم مخلوط شدند و در دور ۲۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. عصاره حاصله در دمای حدود ۲۰ درجه سانتی‌گراد در محفظه خلاء حلال پرانی و کاملاً خشک شد. برای ثبت طیف جذبی در محدوده طول موج ۸۰۰-۴۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر [U-3010 Spectrophotometer (2520 10, Path Length: 10.0 mm)]، عصاره خشک در ۱۵ سی‌سی متانول ۸۰٪ حل شد (Yip et al., 2014)، که به‌دلیل غلیظ بودن و برای ثبت شدت جذب در ناحیه حدود یک، محلول حاصله ۴ برابر رقیق شد. طیف‌های جذبی ثبت شده در بخش نتایج ارائه شده است.

برای محاسبه مقادیر رنگدانه‌ها از معادله‌های ۳-۶ (Eijkelhoff & Dekker, 1997) و معادله ۷ (Wang et al., 2018)، استفاده شد.

$$Ca (\mu g \cdot g^{-1} DW) = [(-1.709 \times A_{410}) + (11.970 \times A_{430}) - (2.998 \times A_{460}) - (5.708 \times A_{480})] \times FD \times V / W \quad \text{معادله ۳}$$

$$Cb (\mu g \cdot g^{-1} DW) = [(-0.171 \times A_{410}) - (0.23 \times A_{430}) + (11.871 \times A_{460}) - (13.248 \times A_{480})] \times FD \times V / W \quad \text{معادله ۴}$$

$$Cp_{pho} (\mu g \cdot g^{-1} DW) = [(10.280 \times A_{410}) - (8.380 \times A_{430}) + (2.456 \times A_{460}) - (1.233 \times A_{480})] \times FD \times V / W \quad \text{معادله ۵}$$

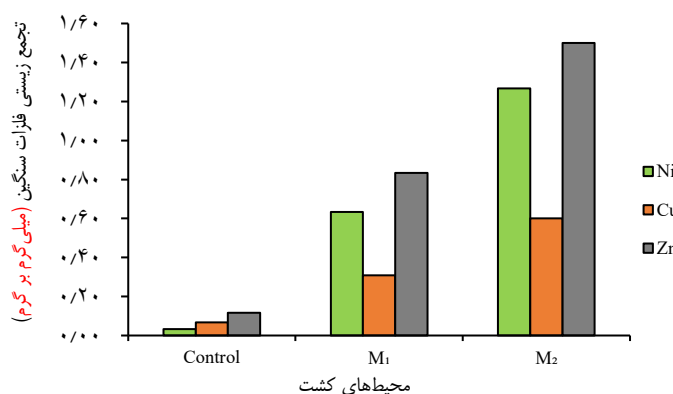
$$Cc (\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \text{DW}) = [(-0.430 \times A_{410}) + (0.251 \times A_{430}) - (4.376 \times A_{460}) + (13.216 \times A_{480})] \times \text{FD} \times V / W \quad (\text{معادله ۶})$$

$$\text{CFx} (\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \text{DW}) = [(6.39 \times A_{445}) - (5.18 \times A_{665})] \times \text{FD} \times V / W \quad (\text{معادله ۷})$$

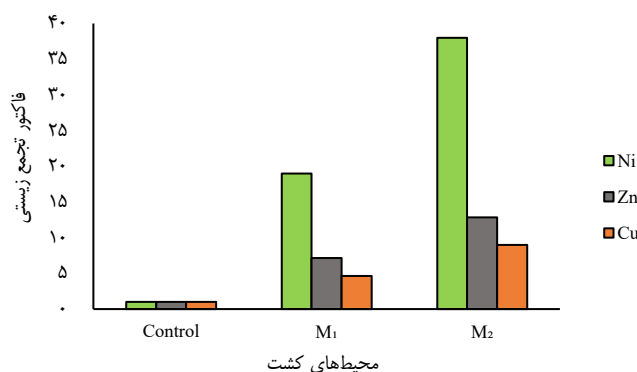
FD و Cc، Cph، Cb، Ca به ترتیب مقادیر کلروفیل‌های a و b، فتوفیتین، کاروتنوئید و فوکوگزانتین، V حجم عصاره (۱۵ سی‌سی)، W فاکتور رقت (۴) برای قرار گرفتن شدت حداکثر جذب در محدوده ۱/۲، و W وزن پودر خشک جلبک (۲ گرم) برای استخراج رنگدانه‌ها است. محاسبه آماری نتایج حاصل از تجمع زیستی فلزات سنگین و اثرات آن بر مقادیر رنگیزه‌های جلبک قهوه‌ای زنده *P. myrica*، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way Anova)، و تفاوت آماری معنی‌داری بین میانگین تیمارهای مختلف با روش تست چند مقایسه‌ای توکی (Multiple-Tukey) با خروجی SPSS نسخه ۲۰ (SPSS, Chicago, IL, USA)، در سطح اطمینان ۹۵٪ ($p < 0.05$)، انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از سطوح مختلف غلظتی سه یون فلزی نیکل، مس و روی (جدول ۱) بر تغییرات رنگیزه‌های غیر قطبی و تجمع زیستی فلزات سنگین در جلبک زنده *P. myrica* در مدت ۶۰ روز بررسی شد. بیشترین تجمع زیستی یون‌های فلزی مربوط به محیط M_2 بود که فاکتور تجمع زیستی یون‌های روی ۱۲/۸، مس ۹ و نیکل ۳۸ برابر بیشتر از جلبک شاهد شد. نتایج حاصل از داده‌ها نشان داد که بین تجمع زیستی یون‌های فلزی در تمامی سطوح اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$)، وجود دارد (جدول ۲، شکل‌های ۲ و ۳).



شکل ۲. نمودار تجمع زیستی یون‌های فلزی در جلبک *Polycladia myrica*، بوشهر (۱۴۰۱).



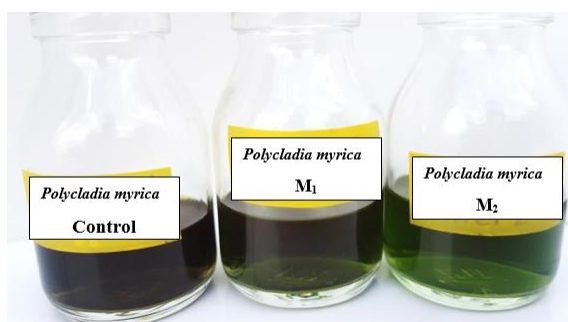
شکل ۳. نمودار فاکتور تجمع زیستی یون‌های فلزی در جلبک *Polycladia myrica*، بوشهر (۱۴۰۱).

جدول ۲: مقادیر تجمع زیستی فلزات سنگین و فاکتور تجمع زیستی آنها در جلبک *Polycladia myrica*، بوشهر (۱۴۰۱).

تجمع زیستی یون‌های فلزی (mg.g ⁻¹ Dw)			فاکتور تجمع زیستی یون‌های فلزی		
محیط	روی (Zn)	مس (Cu)	نیکل (Ni)	روی	مس (Cu) نیکل (Ni)
کشت				(Zn)	
شاهد	۰/۱۱۷±۰/۰۰۳ ^j	۰/۰۶۷±۰/۰۰۲ ⁿ	۰/۰۳۳±۰/۰۰۱ ⁿ	۱	۱
M ₁	۰/۸۳۳±۰/۰۰۴ ^d	۰/۳۰۸±۰/۰۰۶ ^f	۰/۶۳۳±۰/۰۰۶ ^e	۷/۱۴	۴/۶۳
M ₂	۱/۵۰۰±۰/۰۰۱ ^a	۰/۶۰۰±۰/۰۰۳ ^b	۱/۲۶۷±۰/۰۰۵ ^b	۱۲/۸۶	۹

^{a-n} مقادیر با تفاوت معنی‌دار.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری رنگدانه‌ها با روش اسپکتروفتومتری نشان داد که در محیط کشت آلوده به سطوح غلظتی دو برابری یون‌های فلزی مورد بررسی (M₂)، مقادیر رنگیزه‌های اصلی جلبک *P. myrica* بین ۳۰ تا ۷۰ درصد نسبت به جلبک شاهد کاهش معنی‌داری یافته‌اند (جدول ۳ و شکل‌های ۴ و ۵). همچنین تغییر رنگ عصاره‌های حل شده در متانول ۸۰٪ ماکروجلبک رشد یافته در محیط‌های آلوده M₁ و M₂، حاکی از کاهش شدید غلظت رنگدانه‌های زرد (کارتنویید) و قهوه‌ای (فوکوگزانتین) در ماکروجلبک *P. myrica* است (شکل ۴).

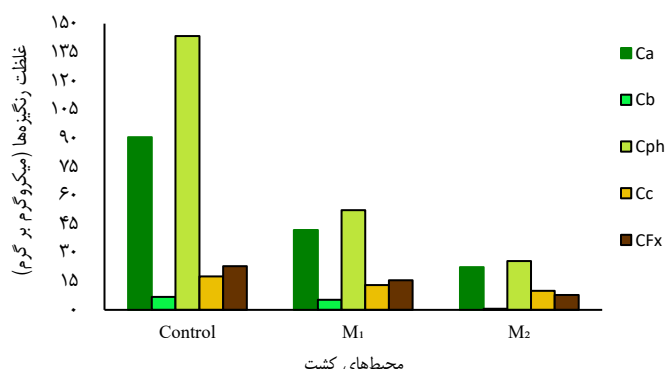


شکل ۴. مقایسه رنگ عصاره متانولی جلبک *Polycladia myrica* در محیط کشت شاهد، M₁ و M₂، بوشهر (۱۴۰۱).

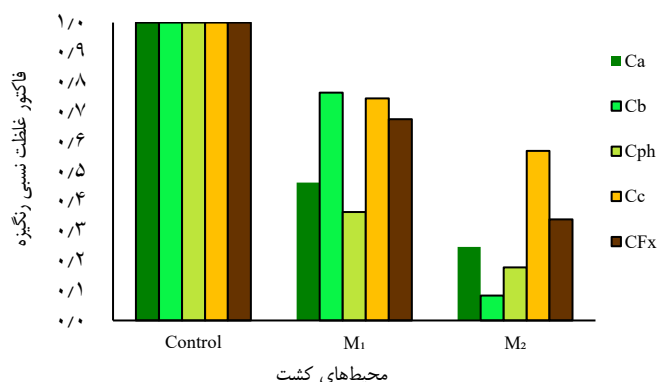
جدول ۳: مقادیر محاسبه شده رنگدانه‌های غیرقطبی در عصاره متانولی جلبک *Polycladia myrica*، بوشهر (۱۴۰۱).

فاکتور غلظت نسبی رنگیزه در ماکروجلبک <i>P. myrica</i>					میانگین رنگدانه‌های غیرقطبی (μg/g DW ± Sd.) و n=۳				
کلروفیل a	کلروفیل b	فتوفیتین	کاروتنوئید	فوکوگزانتین	کلروفیل a	کلروفیل b	فتوفیتین	کاروتنوئید	محیط کشت
۱	۱	۱	۱	۱	۰/۰۴۲ ^d	۰/۰۲۱ ^h	± ۰/۰۵۴ ^b	± ۰/۰۳۵ ^e	شاهد
۰/۶۷۶	۰/۷۴۵	۰/۳۶۴	۰/۷۶۵	۰/۴۶۲	۹۰/۵۱۴	۶/۸۴۰	۱۴۳/۵۴۲	۱۷/۵۴۵	
۰/۳۳۹	۰/۵۶۹	۰/۱۷۸	۰/۰۸۴	۰/۲۴۷	± ۰/۰۳۲ ^j	± ۰/۰۲۳ ^k	± ۰/۰۴۲ ⁱ	± ۰/۰۳۲ ^j	M ₁
۰/۳۳۹	۰/۵۶۹	۰/۱۷۸	۰/۰۸۴	۰/۲۴۷	۴۱/۸۵۵	۵/۲۳۵	۵۲/۲۵۷	۱۳/۰۷۳	
۰/۳۳۹	۰/۵۶۹	۰/۱۷۸	۰/۰۸۴	۰/۲۴۷	± ۰/۰۲۷ ^o	± ۰/۰۰۲ ^o	± ۰/۰۲۷ ^o	± ۰/۰۳۹ ^o	M ₂
۰/۳۳۹	۰/۵۶۹	۰/۱۷۸	۰/۰۸۴	۰/۲۴۷	۲۲/۳۵۰	۰/۵۷۳	۲۵/۵۲۵	۹/۹۸۹	

M₁ و M₂: محیط کشت‌های آلوده به سطوح غلظتی مختلف یون‌های فلزی مورد بررسی؛ ^{a-o} مقادیر با تفاوت معنی‌دار.



شکل ۵. نمودار غلظت رنگدانه‌های جلبک *Polycladia myrica* در محیط‌های کشت، بوشهر (۱۴۰۱).



شکل ۶. نمودار فاکتور غلظت نسبی رنگدانه‌های جلبک *Polycladia myrica* در محیط‌های کشت، بوشهر (۱۴۰۱).

بحث و نتیجه‌گیری

بررسی اثر سطوح غلظتی مختلف فلزات سنگین مورد بررسی بر جلبک زنده *P. myrica* تحت شرایط آزمایشگاهی به مدت ۶۰ روز انجام شد. بررسی فاکتور تجمع زیستی جلبک محیط آلوده M₁ نشان داد که مقادیر تجمع زیستی یون‌های فلزی روی، مس و نیکل در جلبک رشد یافته این محیط (M₁) به ترتیب ۷/۱۴، ۴/۶ و ۱۹ برابر نسبت به جلبک شاهد افزایش داشته است (جدول ۲). همچنین این افزایش تجمع زیستی یون‌های مورد بررسی در محیط‌های آلوده M₁ منجر به کاهش مقادیر رنگیزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b، فیوفیتین، کاروتنوئید و فوکوگزانتین به ترتیب ۵۴٪، ۲۳٪، ۶۴٪، ۳۲٪ و ۳۲٪ نسبت به جلبک شاهد شده است. این تغییرات مقادیر رنگیزه‌ها سبب تغییرات رنگ ظاهری جلبک پس از چهل و پنجمین روز پس از کشت نشاها، در انتهای انشعابات جلبک رشد یافته در محیط M₁ مشاهده شد و پس از ۶۰ روز، رنگ ظاهری پیکره جلبک برداشت شده از قهوه‌ای تیره به قهوه‌ای کمرنگ تغییر کرده است. این در حالی است که انتهای انشعابات نشاها رشد یافته در محیط‌های کشت آلوده M₂، پس از ۳۰ روز تغییر رنگ ظاهری در انتهای انشعابات جلبک مشاهده شد و با گذشت زمان (۶۰ روز)، رنگ ظاهری پیکره جلبک قهوه ای به سبز زیتونی تغییر رنگ داده بود. علت اصلی تغییر رنگ جلبک در محیط آلوده M₂، کاهش شدید ۶۴ درصدی رنگیزه فوکوگزانتین است (جدول ۳) که رنگ غالب و پوشاننده رنگ کلروفیل در کلروپلاست سلول‌های جلبک قهوه‌ای است (Foday et al., 2021). نتایج نشان می‌دهد که افزایش غلظت یون‌های فلزی مورد بررسی در محیط کشت نسبت مستقیم با تجمع زیستی یون‌های فلزی، و نسبت عکس با مقادیر رنگیزه‌های فتوسنتزی جلبک *P. myrica* دارد. کاهش حدوداً دو برابری رنگیزه‌های کلروفیل a (۷۵٪)، کاروتنوئید (۴۳٪) و فوکوگزانتین (۶۴٪) جلبک رشد یافته در محیط آلوده M₂ نسبت به محیط آلوده M₁، نشان‌دهنده سمیت شدید ناشی از فلزات سنگین در سلول‌های جلبک است که می‌تواند منجر به استرس اکسیداتیو و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و رادیکال‌های آزاد شود. در واقع، تغییر رنگ جلبک در محیط‌های

آلوده به یون‌های فلزی مورد بررسی، حاکی از بهم خوردن تعادل رنگیزه‌ای در درون سلول‌های جلبک *P. myrica* است. از آنجا که هر سه یون فلزی مس، روی و نیکل مورد بررسی جزو عناصر ضروری مورد استفاده در مسیرهای متابولیسمی سلول هستند، پس کاهش مقدار رنگیزه‌های کلروفیل *a* و *b*، کاروتنوئیدها و فوکوگزانتین در محیط‌های آلوده M_1 ، M_2 می‌تواند به دلایل فوق باشد: مازاد بودن مقادیر یون‌های روی، مس و نیکل در سلول در نتیجه جذب زیستی، مبادله و یا جایگزینی آنها با دیگر یون‌های فلزی با شعاع یونی کوچکتر در متالوآنزیم‌های دخیل در سنتز رنگیزه‌ها، یا برهمکنش با گروه‌های عاملی فعال مانند گروه‌های کربوکسیلی، هیدروکسیلی، کربونیلی یا پیوندهای اشباع نشده متابولیت‌های حد واسطه، مبادله با یون منیزیم کلروفیل و یا تجزیه رنگیزه‌ها به دلیل ویژگی آنتی اکسیدانی آنها در مقابله با یون‌های فلزی و یا رادیکال‌های آزاد ایجاد شده ناشی از استرس اکسیداتیوی. Nowicka (۲۰۲۲) در مقاله مروی خود ذکر کرده است مکانیسم سمیت فلزات سنگین عمدتاً به تمایل زیاد یون‌های فلزی به واکنش با گروه‌های تیول، هیستیدین و کربوکسیلی پروتئین‌ها و مولکول‌های کم وزن (گلوکاتیون) که ممکن است منجر به از بین رفتن فعالیت، تغییر ساختار، تغییر در تنظیم و سیگنال دهی آنها شود؛ جابجایی کاتیون‌های فلزی ضروری به‌ویژه موارد موجود در سایت‌های فعال آنزیم‌های مختلف (کوفاکتور)، که منجر به از بین رفتن فعالیت این پروتئین‌ها می‌شود؛ شباهت به گروه‌های عملکردی بیوشیمیایی (عمدتاً فسفات)، و تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) بواسطه خوداکسیداسیونی و روش هابر-ویس بستگی دارد. همچنین، Mulyaningsih و همکاران (۲۰۲۳) در مقاله مروی خود ذکر کرده‌اند ساختار شیمیایی رنگدانه‌های طبیعی مانند کلروفیل‌ها، کاروتنوئیدها و غیره که از گروه‌های هیدروکسیل فنلی تشکیل شده‌اند قادر به نشان دادن فعالیت آنتی اکسیدانی هستند (Mulyaningsih et al., 2023). فعالیت آنتی اکسیدانی کاروتنوئیدها و فوکوگزانتین، به سبب سیستم پیوند دوگانه مزدوج غنی از الکترون است (Gholamian et al., 2023a; Mumu et al., 2022; Semitsoglou-Tsiapou et al., 2022; Li et al., 2016) که بسیار مستعد حمله معرف‌های الکتروفیل و رادیکال‌های آزاد است. از اینرو، این رنگیزه‌ها می‌توانند یون‌های فلزی را به‌عنوان پرو-اکسیدان‌هایی که در تولید رادیکال‌های آزاد دخیل هستند، کلاته کنند و باعث تغییر رنگ، یا تخریب/از دست دادن یا بهبود شدت رنگ شوند (Mulyaningsih et al., 2023). از طرف دیگر، این برهمکنش‌های اکسیداسیون-احیا می‌تواند منجر به تغییر ساختار فضایی این مولکول‌ها و شکستن محور خطی این رنگیزه‌ها و تشکیل انواع ترکیبات با وزن مولکولی کمتر شوند (Semitsoglou-Tsiapou et al., 2022). البته، سرعت تجزیه کلروفیل با توجه به نوع و غلظت یون‌های فلزی مختلف متفاوت است و تغییرات در طیف‌های جذب و فلورسانس احتمالاً در نتیجه حذف منیزیم از مولکول کلروفیل و جایگزینی با یون فلزی دیگری بجای آن، و تشکیل فتوفیتین هم باشد (Rydyński et al., 2019).

Hindarti و Larasati (۲۰۱۹) در بررسی واکنش فیتوپلانکتون *Nitzschia sp.* به افزایش یون‌های فلزی مس و کادمیوم در محیط کشت، گزارش داده‌اند که هر دو یون طی ۷ روز باعث ایجاد سمیت در فیتوپلانکتون، و به دنبال آن بازدارندگی رشد و کاهش تراکم سلول‌ها در واحد حجم (سلول/میلی‌لیتر)، و کاهش مقادیر کلروفیل *a* و کاروتنوئید نسبت به نمونه شاهد شده‌اند. همچنین، مطالعات Kondzior و Butarewicz (۲۰۱۸) بر روی تأثیر فلزات سنگین (مس و روی) بر محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی در سلول‌های جلبک *Chlorella vulgaris* طی ۷ روز نشان داد که با افزایش غلظت یون‌های مس (۰/۲۵ تا ۰/۱۵ میلی گرم بر دسی متر مکعب) در محیط کشت، مقادیر کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کاروتنوئید بطور قابل ملاحظه‌ای نسبت به جلبک شاهد کاهش نشان دادند. علاوه بر این، با افزایش غلظت یون فلزی روی (۰/۲۵ تا ۰/۷۵ میلی گرم بر دسی متر مکعب) در محیط کشت، غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی در جلبک کاهش یافت ولی در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر دسی متر مکعب، پس از ۵ روز، مرگ جلبک مشاهده شد. Misumi و همکاران (۲۰۰۸)، در مطالعات سیتولوژیکی روی جلبک قرمز تک سلولی *Cyanidioschyzon merolae* کشت شده در محیط کشت‌های آلوده به غلظت ۱۰ میلی مولاری یون‌های فلزی *Al*، *Ni*، *Zn*، *Mn* و *Cu*، در دوره زمانی ۴۰ و ۷۰ روز گزارش کرده‌اند که مقدار کلروفیل *a* جلبک *C. merolae*، در محیط‌های حاوی *Al*، *Fe*، *Cu* و *Ni* حاوی ۴ تا ۷ میلی گرم بر میلی لیتر و جلبک شاهد ۸ میلی گرم بر لیتر پس از ۴۰ روز بودند، و رنگ جلبک در هر چهار محیط سبز بود، ولی سلول‌های جلبکی در محیط‌های آلوده به *Zn* و *Mn* به‌طور مشهودی به رنگ سبز کم‌رنگ تغییر رنگ داده بودند. پس از ۷۰ روز، محتویات کلروفیل جلبک شاهد محیط‌های آلوده به *Al*، *Cu* و *Fe* کشت‌ها در مقایسه با نتایج پس از ۴۰ روز کشت کم و بیش یکسان یا بیشتر بودند، ولی

جلبک محیط‌های حاوی Mn ، Zn و Ni به رنگ زرد کم رنگ یا سفید تغییر رنگ داده بودند و فقط ۱۰ تا ۲۰ درصد سلول‌ها زنده مانده بودند. به عبارتی دیگر میزان بقای سلول‌ها تقریباً متناسب با مقادیر کلروفیل بوده است. در گزارشی دیگر، غلامیان و همکاران (۲۰۲۳) در بررسی اثر فلزات سنگین بر جلبک قرمز *Gracilaria corticata* کشت شده در آکواریوم‌های حاوی آب دریا گزارش کرده‌اند که در سطوح غلظتی پایین آلایندة فلزی افزوده شده به آب دریا، رنگ جلبک از قرمز به سبز تیره، و در سطوح غلظتی بالاتر، به سبز کم‌رنگ تا زرد کم‌رنگ که علایم مرگ سلولی جلبک بوده تغییر رنگ داده‌اند. در مجموع، نتایج این پژوهش با سایر پژوهش‌های مشابه ذکر شده در بالا همخوانی دارد. از سوی دیگر نتایج فاکتور تجمع زیستی فلزات سنگین (جدول ۲) نشان داد که جلبک *P. myrica* قادر است یون فلزی Ni را تا ۳۸ برابر جلبک شاهد (محیط M_2)، از محیط پیرامونی جذب کند. بنابراین می‌توان این جلبک را به‌عنوان یک جاذب زیستی مناسب با قدرت جلبک پالائی بالا برای محیط‌های دریایی آلوده به یون نیکل پیشنهاد داد.

البته، با توجه به افزایش منابع آلاینده در اقیانوس‌ها، دریاها و دریاچه‌ها، تأثیر مورد انتظاری بر رشد و متابولیسم جلبک‌ها که تولیدکنندگان اولیه در اکوسیستم محسوب می‌شوند، وجود دارد. از اینرو، برای تأمین غذا و پایداری تولید منابع غذایی (امنیت غذایی)، انجام مطالعات پژوهشی گسترده‌تر برای دستیابی به اینکه آلاینده‌ها تا چه حد می‌توانند بر رشد و بقا و سرنوشت جلبک‌های دریایی تأثیر بگذارند، ضروری است. به‌علاوه، پژوهش سیتوتوتیکی روی جلبک‌هایی که به آلودگی محیطی پاسخ می‌دهند به درک بهتر ما از رفتار جلبک‌ها کمک می‌کند تا بتوان از آنها به‌عنوان یک جاذب زیستی مناسب، شاخص زیستی یون‌های فلزی، و یا گونه‌های مقاوم به جذب یون‌های فلزی خاص جهت توسعه کشاورزی دریا محور در مناطق مطلوب بهره برد.

سپاسگزاری

از مسئولین مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر، بخاطر همکاری در اجرای پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

۱. سرطاوی، ک.، غلامیان، ف.، ربیعی، ر. و سهرابی پور، ج.، ۱۳۹۸. استعدادیابی کشت و پرورش ماکروجلبک‌های دریایی در محدوده جزرومدی سواحل، کانال‌های زهکش و استخرهای پرورش میگو در استان بوشهر. نشریه علمی زیست‌شناسی دریا / دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، ۴۳، ۷۳-۸۷.
2. Blaby-Haas, C. E. and Merchant, S. S., 2012. The ins and outs of algal metal transport. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1823(9), pp.1531-1552.
3. Cechinel, M. A. P., Pozdniakova, T. A., Mazur, L. P., Ulson de Souza, A. A., Guelli U. de Souza, S. M. A., Boaventura, R. A. R. and Vilar, V. J. P., 2015. Application of marine macroalgae as natural ion-exchangers for heavy metals removal from petrochemical wastewater. Conference: IV Latin American Congress from the Sociedad Latino Americana de Biotecnologia Ambientaly Algal (IV SOLABIAA) At: Florianópolis, Brazil. <https://www.researchgate.net/publication/289229373>
4. Ciurli, A., Di Baccio, D., Scartazza, A., Grifoni, M., Pezzarossa, B., Chiellini, C., ... and Pardossi, A., 2021. Influence of zinc and manganese enrichments on growth, biosorption and photosynthetic efficiency of *Chlorella* sp. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 8539-8555.
5. Dittert, I. M., Vilar, V. J., da Silva, E. A., de Souza, S. M. G. U., de Souza, A. A. U., Botelho, C. M. and Boaventura, R. A., 2012. Adding value to marine macro-algae *Laminaria digitata* through its use in the separation and recovery of trivalent chromium ions from aqueous solution. *Chemical engineering journal*, 193, pp.348-357.
6. Eijkkelhoff, C. and Dekker, J. P., 1997. A routine method to determine the chlorophyll a, pheophytin and β -carotene contents of isolated photosystem II reaction center complexes. *Photosynthesis Research*, 52, 69-73.

7. **Elsagh, A. and Barmaki, M., 2014.** Determination of pollution caused by heavy metals Cu, Zn, Ni and Pb in the Persian Gulf coastal sediments. *Journal of Environmental Science and Technology*, 15(2), 1-11.
8. **Engin, M. S., Uyanik, A., Cay, S. and Icbudak, H., 2010.** Effect of the adsorptive character of filter papers on the concentrations determined in studies involving heavy metal ions. *Adsorption Science & Technology*, 28(10), 837-846.
9. **Foday Jr, E. H., Bo, B. and Xu, X., 2021.** Removal of toxic heavy metals from contaminated aqueous solutions using seaweeds: A review. *Sustainability*, 13(21), 12311.
10. **Gholamian, F., Karimi, N., Gholamian, F. and Bayat, P., 2023a.** The effects of some detergents and heavy metals on fucoxanthin yield and phycoremediation potential of *Polycladia myrica*. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 1-10.
11. **Gholamian, F., Karimi, N., Gholamian, F. and Bayat, P., 2023b.** Phycoremediation potential and agar yield of red macroalgae (*Gracilaria corticata*) against HEDP (hydroxyethylidene diphosphonic acid) and CAPB (cocoamidopropyl betaine) detergents and the heavy metal pollutants. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(45), 101110-101120.
12. **Gholamian, F., Sartavi, K., Sohrabipour, J. and Rabiei, R., 2021.** Fluoristic study of the tidal zones of Bushehr province coasts. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 34(4), 1012-1022.
13. **Girardi, F., Hackbarth, F. V., de Souza, S. M. G. U., de Souza, A. A. U., Boaventura, R. A. and Vilar, V. J., 2014.** Marine macroalgae *Pelvetia canaliculata* (Linnaeus) as natural cation exchanger for metal ions separation: A case study on copper and zinc ions removal. *Chemical Engineering Journal*, 247, pp.320-329.
14. **Grajek, H., Rydzyński, D., Piotrowicz-Cieślak, A., Herman, A., Maciejczyk, M. and Wiczorek, Z., 2020.** Cadmium ion-chlorophyll interaction—Examination of spectral properties and structure of the cadmium-chlorophyll complex and their relevance to photosynthesis inhibition. *Chemosphere*, 261, 127434.
15. **Hackbarth, F. V., Girardi, F., de Souza, S. M. G. U., de Souza, A. A. U., Boaventura, R. A. and Vilar, V. J., 2014.** Marine macroalgae *Pelvetia canaliculata* (Phaeophyceae) as a natural cation exchanger for cadmium and lead ions separation in aqueous solutions. *Chemical Engineering Journal*, 242, pp.294-305.
16. **Kaamoush, M., El-Agawany, N., Salhin, H. E. and El-Zeiny, A., 2022.** Monitoring effect of nickel, copper, and zinc on growth and photosynthetic pigments of *Spirulina platensis* with suitability investigation in Idku Lake. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(52), 78942-78959.
17. **Hindarti, D., and Larasati, A. W., 2019.** Copper (Cu) and Cadmium (Cd) toxicity on growth, chlorophyll-a and carotenoid content of phytoplankton *Nitzschia* sp. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 236, p. 012053). IOP Publishing.
18. **Kaamoush, M., El-Agawany, N., Salhin, H. E., and El-Zeiny, A., 2022.** Monitoring effect of nickel, copper, and zinc on growth and photosynthetic pigments of *Spirulina platensis* with suitability investigation in Idku Lake. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(52), 78942-78959.
19. **Kamali, S. R., Tsai, C. H. and Chen, C. N., 2021.** Comparison of three digestion methods for determination of selenium in green tea samples using fluorescence spectrometry. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 712, No. 1, p. 012016). IOP Publishing.
20. **Khatiwada, B., Hasan, M.T., Sun, A., Kamath, K.S., Mirzaei, M., Sunna, A. and Nevalainen, H., 2020.** Probing the role of the chloroplasts in heavy metal tolerance and accumulation in *Euglena gracilis*. *Microorganisms*, 8(1), p.115.
21. **Kondzior, P. and Butarewicz, A., 2018.** Effect of heavy metals (Cu and Zn) on the content of photosynthetic pigments in the cells of algae *Chlorella vulgaris*. *Journal of Ecological Engineering*, 19(3).
22. **Kwok, C. K., Liang, Y., Leung, S. Y., Wang, H., Dong, Y. H., Young, L., ... and Wong, M. H., 2013.** Biota-sediment accumulation factor (BSAF), bioaccumulation factor (BAF), and contaminant

- levels in prey fish to indicate the extent of PAHs and OCPs contamination in eggs of waterbirds. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 8425-8434.
23. Li, Y., Liu, Y., Wang, Y., Yu, Y., Zeng, Y., Li, L. and Wang, L. 2016. The bioactivity of fucoxanthin from *Undaria pinnatifida* in vitro. *Am. J. Biochem. Biotechnol*, 12, 139-148.
 24. Marcano L. B., Carruyo, I. M., Montiel, X. M., Morales, C. B. and de Soto, P. M., 2009. Effect of cadmium on cellular viability in two species of microalgae (*Scenedesmus* sp. and *Dunaliella viridis*). *Biol Trace Elem Res* 130:86-93
 25. Margas M., Piotrowicz-Cieślak, A.I., Ziółkowska, A. and Adomas, B., 2016. Tetracycline accumulation in pea seedlings and its effects on proteome and enzyme activities. *Int J Agric Biol* 18:789-796
 26. Misumi, O., Sakajiri, T., Hirooka, S., Kuroiwa, H. and Kuroiwa, T., 2008. Cytological studies of metal ion tolerance in the red algae *Cyanidioschyzon merolae*. *Cytologia*, 73(4), pp.437-443.
 27. Mulyaningsih, R. D., Pratiwi, R. and Hasanah, A.N., 2023. An Update on the Use of Natural Pigments and Pigment Nanoparticle Adducts for Metal Detection Based on Colour Response. *Biosensors*, 13(5), p.554.
 28. Mumu, M., Das, A., Emran, T. B., Mitra, S., Islam, F., Roy, A., ... and Kim, B., 2022. Fucoxanthin: A promising phytochemical on diverse pharmacological targets. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 929442.
 29. Nowicka, B., 2022. Heavy metal-induced stress in eukaryotic algae—mechanisms of heavy metal toxicity and tolerance with particular emphasis on oxidative stress in exposed cells and the role of antioxidant response. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(12), 16860-16911.
 30. Patar, A. K., Bhan, S. and Syiem, D., 2016. Effect of chlorophyllin, an semi-synthetic chlorophyll molecule on hyperglycemia and hyperlipidemia in streptozotocin induced diabetic mice. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8, 293-296.
 31. Pozdniakova, T.A., Mazur, L.P., Boaventura, R.A. and Vilar, V.J., 2016. Brown macro-algae as natural cation exchangers for the treatment of zinc containing wastewaters generated in the galvanizing process. *Journal of cleaner production*, 119, pp.38-49.
 32. Remya, R.R., Samrot, A.V., Kumar, S.S., Mohanavel, V., Karthick, A., Chinnaiyan, V.K., Umamathy, D. and Muhibbullah, M., 2022. Bioactive potential of brown algae. *Adsorption Science & Technology*, 2022, pp.1-13.
 33. Romera, E., González, F., Ballester, A., Blázquez, M.L. and Munoz, J.A., 2007. Comparative study of biosorption of heavy metals using different types of algae. *Bioresource technology*, 98(17), pp.3344-3353.
 34. Rydzyński, D., Piotrowicz-Cieślak, A.I., Grajek, H. and Michalczyk, D.J., 2019. Chlorophyll degradation by tetracycline and cadmium in spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16, pp.6301-6314.
 35. Semitsoglou-Tsiapou, S., Meador, T. B., Peng, B. and Aluwihare, L., 2022. Photochemical (UV-vis/H₂O₂) degradation of carotenoids: Kinetics and molecular end products. *Chemosphere*, 286, 131697.
 36. Volesky, B., 2001. Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. *Hydrometallurgy*, 59(2-3), pp.203-216.
 37. Wang, S., Verma, S. K., Hakeem Said, I., Thomsen, L., Ullrich, M. S. and Kuhnert, N., 2018. Changes in the fucoxanthin production and protein profiles in *Cylindrotheca closterium* in response to blue light-emitting diode light. *Microbial cell factories*, 17, 1-13.
 38. Yip, W. H., Joe, L. S., Mustapha, W. A. W., Maskat, M. Y. and Said, M., 2014. Characterisation and stability of pigments extracted from *Sargassum binderi* obtained from Semporna, Sabah. *Sains Malaysiana*, 43(9), 1345-1354.