



<https://bjm.ui.ac.ir/?lang=en>

Journal of Microbial Biology

E-ISSN: 3060-7647

13<sup>rd</sup> Year, Vol. 13, No. 51, 2024 pp. 51- 80

Received: 04/07/2024

Accepted: 01/09/2024

**(Research Paper)**

**Studying the effect of salinity stress on the absorption of heavy metals by two strains of terrestrial and aquatic cyanobacteria *Alborzia kermanshahica* and *Desmonostoc alborizicum***

**Bahareh Nowruzi**<sup>1</sup> 

Department of biotechnology, faculty of converging sciences and technologies, Islamic Azad University, science and research branch, Tehran, Iran

[bahareh.nowruzi@srbiau.ac.ir](mailto:bahareh.nowruzi@srbiau.ac.ir)

**Mahshid Alibabaei**

Department of biotechnology, faculty of converging sciences and technologies, Islamic Azad University, science and research branch, Tehran, Iran

[mahshid74babaie@gmail.com](mailto:mahshid74babaie@gmail.com)

**Abstract**

Cyanobacteria are prokaryotes found in many heavy metal polluted environments. Since their photosynthetic system has an urgent need for metals, the homeostasis of these micronutrients in cyanobacteria has been widely studied. The aim of this article is to compare the ability of two single-celled and filamentous strains of *Alborzia kermanshahica* and *Desmonostoc alborizicum* to remove heavy metals and different concentrations of sodium chloride salt. In this study, after the cultivation of two cyanobacterial strains, the morphology of the strains, determination of dry weight, protein and extracellular polysaccharides were studied in different environments, then atomic absorption spectroscopy was used to estimate the removal rate of heavy metals. Volatile compounds were identified using an atomic absorption spectrometer. The results showed that the soil single-cell strain had a greater ability to remove heavy metals than the aquatic filamentous strain and the ability to grow at different salt concentrations. In the control cultures, the amount of dry cell weight, exopolysaccharides and protein in the single-cell strain was 1.70, 1.32 and 1.5 times higher than in the filamentous strain, respectively. This caused the single-cell strain to remove the three metals nickel, chromium and copper in the first ten minutes in control cultures without sodium chloride. However, the amount of protein in both strains decreased in the presence of heavy metals. Although the absorption of heavy metals decreases with time, the results of statistical analyses show that the single-cell strain of *Alborzia kermanshahica* is resistant to salt, in fact there is a significant increase in exopolysaccharides and cell dry weight at a salt concentration of 0.5%. Sodium chloride compared to the control culture demonstrates

---

<sup>1</sup> Corresponding Author

3060-7647/ © 2024 The Authors

This is an open access article under the CC BY-NC-ND/4.0/ License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



Nowruzi, B., & Alibabai, M. Studying the effect of salinity stress on the absorption of heavy metals by two strains of terrestrial and aquatic cyanobacteria *Alborzia kermanshahica* and *Desmonostoc alborizicum*. *Journal of Microbial Biology*, 2024; 13 (51): 51-80.

[10.22108/bjm.2024.142035.1601](https://doi.org/10.22108/bjm.2024.142035.1601)

this. In addition, the highest levels of exopolysaccharide, protein and carbohydrate were observed in the nickel-containing culture medium for both strains studied. The results of volatile compound analysis using GC-MS showed an increase in ester, ketone, alcohol, benzene and aldehyde compounds, which may play an important role in salinity stress management and heavy metal removal. The results of this study show that *A. kermanshahica* strain can be a good candidate for heavy metal removal in saline environments.

**Keywords:** Metal removal capability, extracellular polymeric substances, cyanobacteria, *A. kermanshahica*, *D. alborizicum*, salinity stress.

## Introduction

Recent research has drawn considerable attention to the biological capabilities of cyanobacteria, particularly in the areas of heavy metal removal and tolerance to environmental stresses such as salinity. These photosynthetic microorganisms are recognised as effective bioremediation tools due to their remarkable ability to produce exopolysaccharides and proteins, as well as their adaptability to different environments, strains, *Alborzia kermanshahica*, a unicellular terrestrial species, and *Desmonostoc alborizicum*, a filamentous aquatic species, to respond to heavy metals such as nickel, copper and lead, as well as their tolerance to salinity under varying concentrations of sodium chloride. The primary objective of this research was to compare these two strains in terms of their heavy metal removal capabilities and growth under saline conditions.

## Materials and Methods

### Cultivation of Cyanobacterial Strains

The cyanobacterial strains *A. kermanshahica* and *D. alborizicum* were obtained from the Alborz Herbarium and cultured in BG110 and Z8 liquid media, respectively. *A. kermanshahica* belongs to the family *Chroococcaceae* and the order *Chroococcales*, while *D. alborizicum* belongs to the family *Nostocaceae* and the order *Nostocales*. The samples were maintained in a growth chamber at 28°C under continuous fluorescent light for 30 days. The mother cultures were then inoculated into media containing different concentrations of sodium chloride (0.5%, 1% and 1.5%), with one medium used as a control. After preparation and sterilization of the media, their pH was adjusted to approximately 7.2 and the cultures were incubated at 28°C for 48 hours.

### Measurement of Physiological Parameters:

#### 1. Determination of Dry Weight:

To determine dry weight, cell biomass was collected at intervals of 6, 12, 25 and 48 hours. After filtration through cellulose nitrate filters (0.45 µm), the biomass was dried at 100°C for 2 hours.

#### 2. Measurement of Exopolysaccharides (EPS):

Extracellular polysaccharide (EPS) extraction was performed according to the method of Norouzi and colleagues. Cells were separated by centrifugation at room temperature and the supernatant was used for polysaccharide extraction. The resulting precipitate was dissolved in boiled distilled water, centrifuged again, washed with ethanol, dissolved in double distilled water, and stored at -4°C.

#### 3. Measurement of Carbohydrate and Protein Content:

Carbohydrate content was measured using the phenol-sulfuric acid method with glucose as standard. Protein content was measured using the Lowry method and the absorbance was recorded at 750 nm using a biophotometer.

#### 4. Estimation of Heavy Metal Removal:

Dialysis bags containing culture medium were placed in a 0.1 M HCl solution. Then 50 mL of treated cultures were added to 490 mL of metal solution (Cu (II), Cr (III), and Ni (II)) at a

concentration of 0.001 g/L. The mixture was kept at 30°C with continuous stirring for 24 hours. The biomass was separated from the metal solution and the metal content in the supernatant was measured by atomic absorption spectrometry at 232 nm for copper, 359.9 nm for chromium and 324.7 nm for nickel.

### 5. Identification of Volatile Compounds

A 50 mL sample of the cyanobacterial culture was centrifuged and combined with a methanolic solution and 2 M HCl at 100°C for 4 hours. After centrifugation, the supernatant was collected for analysis using a GC-MS system (model TQ-8050).

### Discussion of Results and Conclusion

Data analysis was performed using one-way ANOVA and Duncan's post-hoc test at a significance level of 0.05, using SPSS software version 26.

#### Morphological and Growth Analysis:

In *A. kermanshahica* strain, in culture media with different concentrations of sodium chloride (0.5%, 1% and 1.5%), after 48 hours, cells in the control medium were observed as single cells or small colonies with a thick sheath and varying colors from yellow-green to olive-green. With increasing salt concentration, the cell aggregates became darker and larger, and the colour of the medium changed from olive green to yellow. In the *D. alborizicum* strain, hormogonia and heterocysts were clearly observed in the culture medium. With increasing salinity, cells appeared in chains and heterocysts gradually deteriorated. At higher salt concentrations, filaments and heterocysts were destroyed and cells were observed individually.

#### Cellular Dry Weight:

In the control culture medium, the cell dry weight of *A. kermanshahica* increased significantly after 48 hours. In media containing 0.5% and 1% sodium chloride, the dry weight of this strain was the highest and greater than that of *D. alborizicum*.

#### Exopolysaccharides (EPS):

The *A. kermanshahica* strain produced the highest amount of EPS in the control medium during the first 48 hours. With increasing sodium chloride concentration, the amount of EPS first increased and then decreased. The *D. alborizicum* strain produced less EPS but increased significantly over the 48 hour period.

#### Protein calculation:

The *A. kermanshahica* strain initially showed the highest protein content in the control culture medium, but, the protein content decreased over time. At higher salt concentrations, the protein content decreased significantly. A similar decrease in protein content was observed in the *D. alborizicum* strain, with a significant reduction compared to the control medium.

#### Investigation of Heavy Metal Removal:

##### 1. Chromium Removal:

In this study the chromium removal on dry weight basis by *A. kermanshahica* and *D. alborizicum* was compared. During the first ten minutes, *A. kermanshahica* performed better than *D. alborizicum* in the control medium (155 mg per gram) and in the medium with 0.5% salt (100 mg per gram). As time progressed and at 1% and 1.5% salt concentrations, *A. kermanshahica* still showed higher absorption (80 and 60 mg per gram, respectively), although in some cases the differences decreased.

##### 2. Nickel Removal:

In this study, nickel absorption based on dry weight by *A. kermanshahica* and *D. alborizicum* was investigated. In the control medium, *A. kermanshahica* absorbed 200 mg nickel per gram

dry weight in the first ten minutes, which was less than *D. alborizicum*. In the 0.5% salt medium, no significant difference in nickel absorption (200 mg per gram) was observed between the two strains. In the 1% salt medium, *A. kermanshahica* performed significantly better in the first ten minutes with an absorption of 150 mg. However, in the 1.5% salt medium, there was no significant difference in nickel absorption between the two strains (100 mg per gram).

### 3. Copper Ion Removal:

In this study, the removal of copper ions on a dry weight basis by *A. kermanshahica* and *D. alborizicum* was investigated. In the control medium, both strains showed no significant difference in copper removal at 150 mg per gram dry weight. In the 0.5% salt medium, *A. kermanshahica* performed significantly better in the first ten minutes, removing 140 mg of copper, but then absorption decreased. At the end of the absorption period, *A. kermanshahica* still performed better. In the 1% salt medium, *A. kermanshahica* initially showed a better performance (100 mg), but at the end of the absorption period, *D. alborizicum* had a higher absorption. In the 1.5% salt medium, *A. kermanshahica* initially showed higher absorption (80 mg), but by the end of the absorption period, *D. alborizicum* performed better.

### Comparison of Exopolysaccharides (EPS) in the Presence of Heavy Metals and Various Concentrations of Sodium Chloride:

In the medium containing 0.5% sodium chloride, *A. kermanshahica* produced the highest amount of EPS in the presence of heavy metals, especially nickel, compared to *D. alborizicum*. At 1% and 1.5% salt concentrations, there was a significant difference in EPS production in the presence of chromium and copper, with *D. alborizicum* showing less significant differences in EPS production compared to *A. kermanshahica*. Overall, the highest EPS production was reported in response to nickel, followed by copper and chromium, with the lowest amount observed in the control media.

### Comparison of Protein Levels in the Presence of Heavy Metals and Salinity:

When examining protein levels in the presence of heavy metals, the highest protein levels were observed in response to nickel in both *A. kermanshahica* and *D. alborizicum*. Across different concentrations of sodium chloride, the most significant heavy metal removal was associated with nickel, while there was no significant difference in protein levels between copper, chromium and the control at 1% and 1.5% salt concentrations.

### Comparison of Carbohydrate Levels in the Presence of Heavy Metals and Salinity:

At 0.5% sodium chloride concentration, *A. kermanshahica* showed the highest ability to remove nickel, while no significant difference was observed in the removal of copper and chromium. *D. alborizicum* also showed the highest removal of nickel, but with increasing salt concentration the carbohydrate content decreased significantly.

### Identification of Volatile Compounds Using GC-MS:


*A. kermanshahica* showed a greater ability to remove heavy metals and grow in different salt concentrations compared to *D. alborizicum*. Analysis of the volatile compounds in this strain by GC-MS revealed the identification of 19 volatile compounds including aldehydes, ketones, benzene compounds, acids, esters and alcohols under control conditions and in the presence of 0.5% sodium chloride and nickel. These compounds included 2-methylfuran, 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, methyl acetate, ethyl acetate, 2-butanone, 2-pentanone, ethanol, acetic acid, 3-methylbutyl ester, 1-butanol, 1,3-dimethylbenzene, 2-methyl-1-propanol, 3-methyl-1-butanol, 3-hydroxy-2-butanone, acetic acid, benzaldehyde, 2-phenylethanol, 1-octen-3-ol, 3-octen-2-ol and 4-octen-3-one. These compounds may play an important role in salinity stress management and heavy metal removal.

## Conclusion

The results of this study indicate that the unicellular strain *Alborzia kermanshahica* has a greater ability to remove heavy metals and tolerate saline conditions than the filamentous strain *Desmonostoc alborizicum*. Under controlled conditions, the dry cell weight, exopolysaccharides and protein content of the unicellular strain were 1.70, 1.32 and 1.50 times higher, than those of the filamentous strain, respectively, indicating superior metabolic and biological adaptability to different environmental conditions. In addition, the unicellular strain showed significantly higher heavy metal removal capacity during the first 10 minutes under controlled conditions, especially in the presence of nickel, copper and lead. The significant increase in exopolysaccharides and dry cell weight in the unicellular strain at 0.5% sodium chloride concentration highlights the high resistance of this strain to salinity stress.

The results showed that in both strains the highest levels of heavy metal removal were for nickel, followed by copper and lead. In addition, higher concentrations of exopolysaccharides, proteins and carbohydrates were observed in cultures containing nickel, suggesting a stimulatory role of nickel in the production of these metabolites. Volatile compound analysis using GC-MS also revealed a significant increase in the diversity and concentration of ester, ketone, alcohol, benzene and aldehyde compounds under salinity stress and heavy metal conditions. These compounds are likely to play a key role in the defence mechanisms of cyanobacteria against environmental stressors.

## مطالعه اثر تنش شوری بر جذب فلزات سنگین توسط دو سویه سیانوباکتری خاکزی و آبی *Desmonostoc alborizicum* و *Alborzia kermanshahica*

بهاره نوروزی \* 

<sup>۱</sup>گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های همگرا، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
[bahareh.nowruzi@srbiau.ac.ir](mailto:bahareh.nowruzi@srbiau.ac.ir)

مهشید علی بابائی

<sup>۱</sup>گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های همگرا، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
[mahshid74babaie@gmail.com](mailto:mahshid74babaie@gmail.com)

### چکیده

سیانوباکتری‌ها پروکاریوت‌های هستند که در بسیاری از محیط‌های آلوده به فلزات سنگین یافت می‌شوند. از آنجایی که سیستم فتوسنتزی آنها نیاز مبرم به فلزات دارد، هومئوستاز این ریزمغذی‌ها به‌طور گسترده در سیانوباکتری‌ها درخور توجه قرار گرفته است. هدف از این مقاله مقایسه توانایی دو سویه تک‌سلولی و ریشه‌ای *Desmonostoc alborizicum* و *Alborzia kermanshahica* در مواجهه با حذف فلزات سنگین و غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم است. در این مطالعه پس از کشت دو سویه سیانوباکتری، مورفولوژی سویه‌ها، تعیین وزن خشک، پروتئین و پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی در محیط‌های مختلف بررسی شدند. سپس به‌منظور تخمین میزان حذف فلزات سنگین و درنهایت شناسایی ترکیبات فرار از دستگاه جذب اتمی استفاده شد. نتایج نشان دادند سویه تک‌سلولی خاکزی در مقایسه با سویه ریشه‌ای آبی توانایی بیشتری هم در مقابله با حذف فلزات سنگین و هم قابلیت رشد بیشتر در غلظت‌های مختلف نمک داشت. در کشت‌های کنترل میزان وزن خشک سلولی، آگزوپلی‌ساکاریدها و پروتئین در سویه تک‌سلولی به‌ترتیب ۱/۷۰، ۱/۳۲ و ۱/۵ برابر بیشتر از سویه ریشه‌ای گزارش شد. همین امر باعث شد در کشت‌های کنترل فاقد کلرید سدیم سویه تک‌سلولی در ده دقیقه اول، توانایی بیشتری در حذف سه فلز نیکل، کرم و مس داشته باشد؛ با این حال، میزان پروتئین‌ها در هر دو سویه به‌صورت چشمگیری در مواجهه با فلزات سنگین کاهش یافت. با اینکه میزان جذب فلزات سنگین با گذشت زمان کاهش می‌یابد، نتایج حاصل از آنالیزهای آماری نشان می‌دهند سویه تک‌سلولی *Alborzia kermanshahica* مقاوم به شوری است. درواقع، افزایش معنادار آگزوپلی‌ساکاریدها و وزن خشک سلولی در غلظت ۰/۵ درصد نمک کلرید سدیم در مقایسه با کشت کنترل، صحت این موضوع را ثابت می‌کند. علاوه بر آن، در محیط کشت‌های حاوی نیکل، بیشترین میزان آگزوپلی‌ساکارید، پروتئین و کربوهیدرات در هر دو سویه مطالعه‌شده مشاهده شد. نتایج حاصل از آنالیز ترکیبات فرار به کمک دستگاه GC-MS، افزایش ترکیبات استری، کتونی، الکلی، بنزنی و آلدئیدی را نشان دادند که می‌توانند نقش مهمی در مواجهه با تنش شوری و حذف فلزات سنگین داشته باشند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهند سویه *A. kermanshahica* می‌تواند کاندیدای خوبی برای حذف فلزات سنگین در محیط‌های شور باشد.

**کلمات کلیدی:** حذف فلز، مواد پلیمری خارج سلولی، سیانوباکتری، *A. kermanshahica*، *D. alborizicum*، تنش شوری

نویسنده مسئول مکاتبات \*

نوروزی، بهاره، علی بابائی، مهشید. مطالعه تاثیر تنش شوری بر جذب فلزات سنگین توسط دو سویه سیانوباکتری خاکزی و آبی *Alborzia kermanshahica*

و *Desmonostoc alborizicum*. زیست‌شناسی میکروبی، ۱۳؛ ۱۴۰۳، ۵۱-۸۰. [10.22108/bjm.2024.142035.1601](https://doi.org/10.22108/bjm.2024.142035.1601)

3060-7647/ © 2024 The Authors

This is an open access article under the CC BY-NC-ND/4.0/ License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



## مقدمه

آلودگی منابع آب آشامیدنی با فلزات سنگین یکی از مهم‌ترین مسائل زیست‌محیطی و بهداشتی در جهان امروز است. روش‌های مختلفی برای حذف و بازیافت فلزات سنگین از آب پیشنهاد شده‌اند؛ از جمله جذب، رسوب‌زدایی شیمیایی، اکسایش و کاهش شیمیایی، تبادل یونی و بازیابی از طریق تبخیر. با این حال، این روش‌ها اغلب هزینه‌بر و نیازمند تجهیزات و مواد شیمیایی پیشرفته هستند که باعث شده است استفاده از روش‌های بیولوژیکی به‌عنوان جایگزینی مقرون‌به‌صرفه و سازگار با محیط زیست درخور توجه قرار گیرد (۱).

در میان سیانوباکتری‌ها، گونه‌هایی که اگزوپلی‌ساکارید خارجی تولید می‌کنند، کاندیدای مناسبی برای حذف و بازیابی فلزات از آب آلوده هستند. آلودگی فلزی یک مشکل بزرگ است؛ به‌ویژه در مناطقی که در حال توسعه هستند و راه‌های معمول برخورد با آن خیلی پرهزینه است یا فقط مشکلات بیشتری ایجاد می‌کنند (۲). به همین دلیل، استفاده از تکنیک‌های بیولوژیکی به‌عنوان یک روش زیست‌محیطی امن توصیه می‌شود. جذب بیولوژیکی فلزات به دو مرحله تقسیم می‌شود؛ جذب غیرفعال که عموماً جذب سریع در سطح سلول است و جذب فعال که وابسته به انرژی است (۳). مواد پلیمری خارج سلولی این موجودات شامل ترکیبات پیچیده‌ای از بیوپلیمرها هستند که قادر به جذب یون‌های مثبت فلزات سنگین هستند. این بیوپلیمرها شامل پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها، اسید یوورنیک و چربی‌ها هستند که ویژگی‌های فیزیولوژیکی، رئولوژیکی و شیمیایی منحصربه‌فردی دارند و به جذب مؤثر فلزات کمک می‌کنند (۴).

چالش مهم این است که عوامل مهمی از جمله پارامترهای فیزیکی مانند pH، دما، نور، هوادهی و شرایط کشت (میکسوتروفی/هتروتروفی) بر تولید اگزوپلی‌ساکاریدها توسط سیانوباکتری‌ها تأثیرگذار

هستند. سیانوباکتری‌ها، توانایی بالایی برای مقابله با شوری دارند؛ زیرا از استراتژی‌های متعددی برای سازگاری با این شرایط سخت استفاده می‌کنند؛ از جمله تجمع اسمولیت‌های آلی مانند گلیسین بتائین، سوکروز، گلوکوزیل گلیسرول و ترهالوز برای محافظت در برابر تغییرات فشار اسمزی و شوری که این ترکیبات می‌توانند از تخریب آنزیم‌ها در شرایط شوری جلوگیری کنند (۵) و سلول را در برابر تأثیرات مخرب نمک‌ها، مانند کاهش فعالیت سنتز CO<sub>2</sub> محافظت کنند (۶). عوامل محیطی شامل فلزات سنگین، منابع (فسفات - نیترژن و سولفات) هستند که هر کدام می‌توانند به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم بر فرایند تولید اگزوپلی‌ساکاریدها تأثیر بگذارند و برای سازگاری با محیط‌های شور بررسی شوند. این شرایط محیطی در تولید اگزوپلی‌ساکاریدها توسط سیانوباکتری‌ها بهبود ایجاد می‌کند که می‌تواند در برنامه‌های کاربردی مختلف مانند تصفیه آب، تولید انرژی، فناوری‌های پزشکی و نقش حفاظتی سیانوباکتری استفاده شود (۷) و علاوه بر آن، شرایط میکسوتروفی و هتروتروفی تولید اگزوپلی‌ساکاریدها را افزایش می‌دهد (۸).

تحقیقات نشان داده است جذب فلز توسط سیانوباکتری‌های زنده و مرده تفاوت چندانی ندارد که این امر نشان می‌دهد متابولیسم سلولی در این فرایند نقش ندارد. جذب یون‌های فلزی توسط سیانوباکتری‌های کپسول‌دار به دلیل حضور گروه‌های کربوکسیل و هیدروکسیل در پلی‌ساکاریدهای کپسولی آنها است. این پلی‌ساکاریدها می‌توانند فلزاتی مانند مس، کادمیوم و روی را جذب کنند (۹). پیش‌تیمار توده زنده سیانوباکتری‌ها با قلیا نیز منجر به افزایش ظرفیت جذب فلزات کروم، سرب و مس می‌شود و امکان استفاده مجدد از توده زنده پس از تجزیه فلزات فراهم می‌آید. برخی سیانوباکتری‌ها توانایی جذب فلزات بالایی دارند که این امر تولید زیست‌توده بالا را

نگهداری شدند. بعد از کشت به مدت ۳۰ روز، تلقیح از نمونه کشت مادر به محیط کشت‌های حاوی غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم (۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد)، انجام و یک محیط کشت نیز به‌عنوان کنترل استفاده شد. پس از آماده‌سازی و سترون‌سازی محیط کشت‌ها، pH آنها به حدود ۷/۲ تنظیم شد و کشت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (۱۴).

### اندازه‌گیری پارامترهای فیزیولوژیکی

#### تعیین وزن خشک

برای تعیین وزن خشک سلول، بیومس سلولی در زمان‌های ۶، ۱۲، ۲۵ و ۴۸ ساعت جمع‌آوری شد و بعد از فیلتراسیون از طریق فیلتر نیترات سلولزی (۰/۴۵ میکرومتر) به مدت ۲ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد (۱۵، ۱۶).

#### اندازه‌گیری اگزوپلی‌ساکاریدها

استخراج پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی (EPS) با استفاده از روش نوروزی و همکاران در سال ۲۰۱۳ (۱۶) انجام شد. کشت‌های ۳۰ روزه برای جداسازی EPS استفاده شدند. سلول‌ها در دمای اتاق با سانتریفیوژ  $g \times 10700$  به مدت ۱۰ دقیقه جدا شدند. بخش رویی در مرحله بعد برای جداسازی پلی‌ساکاریدهای محلول استفاده شد. رسوب حاصله با مقدار مناسبی از آب مقطر، به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جوشیده شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و دوباره در ۰/۰۵ درصد TCA، حل و سپس در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت جوشیده شد. بعد از سرد شدن محلول حاصل، مخلوط در  $g \times 10700$  به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. بخش رویی شامل EPS، جدا و هم حجم آن، اتانول اضافه شد. مخلوط در ۴ درجه سانتی‌گراد و روشنایی ممتد فلورسنت با شدت  $300 \mu\text{e}/\text{m}^2/\text{s}$  به مدت ۳۰ روز

پراهمیت می‌کند (۱۰). جذب فلز توسط سیانوباکتری‌ها به گونه و نوع خاص فلز بستگی دارد؛ برای مثال، نتایج مطالعات نشان داده‌اند پلی‌ساکاریدهای حاصل از سیانوباکتریوم سمی *Microcystis* توانایی بالایی در جذب فلزات دارد. این گونه ظرفیت بالایی در حذف فلزات از محیط‌های آبی دارد و تمایل بیشتری به جذب کادمیوم نسبت به نیکل و جذب آهن نسبت به مس نشان داده است. جذب فلزات توسط *Microcystis* به شدت وابسته به pH محیط است و این گونه تمایل بیشتری به جذب مس، نیکل و روی دارد (۱۱).

دو نوع متفاوت سویه سیانوباکتری استفاده شده‌اند. *Alborzia kermanshahica* یک نوع سیانوباکتری تک‌سلولی است که از مزارع کشاورزی استان کرمانشاه جداسازی شد (۱۲). سیانوباکتری *Desmonostoc alborizicum* از آب قنات در گرگان، استان مازندران شناسایی شده است (۱۳). هدف از این مطالعه کشت دو سویه سیانوباکتری *A. kermanshahica* و *D. alborizicum* در محیط‌های حاوی نمک کلرید سدیم و سنجش میزان بیومس سلولی، پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی و شناسایی ترکیبات فرار با استفاده از GC-MS و توانایی آنها را در حذف فلزات سنگین است.

#### کشت سویه‌های سیانوباکتری‌ها

کشت سویه‌های سیانوباکتریایی *A. kermanshahica* و *D. alborizicum* از مجموعه کشت سیانوباکتری‌های دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات هرابریموم البرز دریافت شد و در محیط‌های کشت مایع BG110 و Z8 به ترتیب کشت داده شدند. *A. kermanshahica* متعلق به تیره Chroococcales و راسته Chroococcaceae است و *D. alborizicum* متعلق به تیره Nostocaceae و راسته Nostocales است. نمونه‌های خالص شده در اتاقک رشد با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و روشنایی ممتد فلورسنت با شدت  $300 \mu\text{e}/\text{m}^2/\text{s}$  به مدت ۳۰ روز

کشت سیانوباکتری محاسبه شد. تمام آزمایشات سه بار انجام شدند و اطلاعات به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارزیابی شد. میزان حذف فلزات طبق معادله ۱ به صورت میلی‌گرم حذف فلزات به ازای هر گرم وزن خشک بیان شد.

$$\text{معادله ۱: } q (\text{mg g}^{-1}) = v (C1 - C2) \text{ m}^{-1}$$

V: حجم نمونه (در لیتر)، Ci: غلظت ابتدایی فلز و C2 غلظت نهایی فلز (میلی‌گرم بر لیتر)، m: مقدار وزن خشک (گرم)

وزن خشک بیومس نیز با فیلتراسیون کشت‌های دیالیز شده و خشک کردن فیلترها در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد تعیین شد (۱۹، ۲۰).

#### شناسایی ترکیبات فرار سویه *A. kermanshahica*

۵۰ میلی‌لیتر از کشت حاوی سویه سیانوباکتری، سانتریفوژ و محلول متانولی با ۲ مولار HCl به مدت ۴ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد ترکیب شد. سپس محلول حاصل با سرعت ۸۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رویی جمع‌آوری شد و به بالن، منتقل و به دستگاه روتاری وصل شد. پس از اتمام کار با روتاری، ۲ میلی‌لیتر هگزان به محتویات داخل بالن، اضافه و سپس محتویات بالن از فیلتر PTEF با اندازه منافذ ۰/۴۵ میکرومتر داده شد. محلول حاصل دوباره با سرعت ۸۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه، سانتریفوژ و محلول رویی برای آنالیز با دستگاه GC-MS (مدل TQ-8050 شیمادزو ژاپن) جمع‌آوری شد (۱۴).

#### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه (one-way anova) و آزمون تعقیبی چنددامنه‌ای دانکن با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ تحلیل شد. سطح معناداری  $p \leq 0.05$  در نظر گرفته شد.

سانتریفوژ شد. رسوب حاصل، دوبار با اتانول ۹۶ درصد، شسته و در  $g \times 10700$  به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ شد. رسوب نهایی در ۱ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر، حل و در ۴-درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

#### اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات و پروتئین

میزان کربوهیدرات‌ها به روش فنل / اسید سولفوریک و با استفاده از گلوکز به عنوان منبع استاندارد برحسب میلی‌گرم بر لیتر اندازه‌گیری شد. در این روش، ۲۰۰ میکرولیتر از محلول پلی‌ساکاریدی با ۲۰۰ میکرولیتر فنل و ۱ میلی‌لیتر اسید سولفوریک، مخلوط و پس از ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، میزان جذب نمونه‌ها در ۴۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۷) و اندازه‌گیری میزان پروتئین به روش Lowry در طول موج ۷۵۰ نانومتر با استفاده از بیوفومتر اندازه‌گیری شد. نتایج از داده‌های سه تکرار به دست آمدند (۱۸).

#### تخمین میزان حذف فلزات سنگین

برای تخمین میزان حذف فلزات سنگین، کیسه‌های دیالیز حاوی محیط کشت درون محلول ۰/۱ مولار HCL قرار گرفتند تا یون‌های فلزی باند شده با گروه‌های با بار منفی حذف شوند. سپس کشت‌ها با آب دیالیز شدند و ۵۰ میلی‌لیتر از کشت‌های تیمار شده درون ۴۹۰ میلی‌لیتر از محلول فلزی (Cu(ii), Cr(iii), Ni(ii)) با غلظت ۰/۰۰۱ گرم بر لیتر قرار گرفتند و به مدت ۲۴ ساعت با چرخش مداوم در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در پایان آزمایش، بیومس از محلول فلزی با سانتریفوژ در  $g \times 3000$  برای ۷ دقیقه جدا شد؛ این کار با فیلتراسیون با کاغذ واتمن ۰/۷ میکرومتری نیز انجام گرفت. محتوای نهایی فلزات در سوپرناتانت با جذب اتمی در طول موج ۲۳۲ نانومتر برای مس، ۳۵۹/۹ نانومتر برای کروم و ۳۲۴/۷ نانومتر برای نیکل با استفاده از جذب اتمی، اندازه‌گیری و میزان حذف فلزات از محلول با تفاوت در غلظت فلز در قبل و بعد از تماس با

## نتایج

## نتایج حاصل از مورفولوژی سویه سیانوباکتری

*A. kermanshahica*

کشت هر دو سویه در محیط کشت‌های حاوی غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم (۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) در شکل (a-۱ و b) نشان داده شده است. بعد از ۴۸ ساعت از کشت، مورفولوژی سویه سیانوباکتری *A. kermanshahica* در غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم (۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) در شکل (a-۲، b، c، d، e و f) نشان داده شده است. در محیط کشت کنترل، سلول‌ها به صورت منفرد یا به صورت کلونی‌های ۲ تا ۴ سلولی دیده شدند که توسط یک غلاف ضخیم احاطه شده بودند و به مرور به شکل نیم کره و در مجموعه‌های ۱۶-۴ سلولی با غلاف نازک و بی‌رنگ مرتب شدند. رنگ سلول‌ها از زرد مایل به سبز تا سبز زیتونی متغیر

بود و تقسیم سلولی به روش شکافت دوتایی انجام می‌شد که در شکل (d-۲) مشخص است. در ۰/۵ درصد کلرید سدیم سلول‌ها به تجمعات ۸ سلولی با غلاف تیره تبدیل شدند و در شکل (e-۲) رنگ آنها کمی تیره‌تر شد؛ اما در غلظت ۱ درصد کلرید سدیم تجمعات دو سلولی افزایش یافت، غلاف‌ها بی‌رنگ شدند و سلول‌ها به رنگ سبز لجنی مات درآمدند. تراکم سلولی به‌طور چشمگیری کاهش یافت و در شکل (f-۲) رنگدانه‌های سلولی محو شدند. در محیط کشت‌های مایع، با افزایش کلرید سدیم تا ۱/۵ درصد، پس از ۴۸ ساعت رنگ محیط از سبز زیتونی به زرد تغییر کرد در شکل (g-۲) که نشان‌دهنده تخریب سلول‌ها و نشت رنگدانه‌ها به محیط کشت بود.



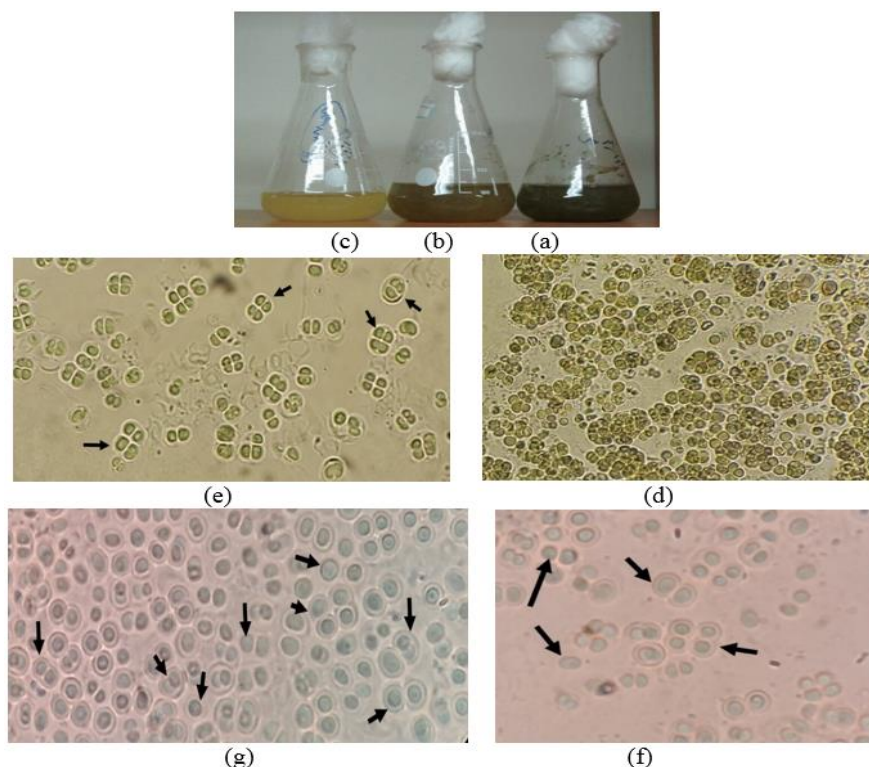
(a)



(b)

شکل ۱. کشت دو سویه *A. kermanshahica* و *D. alborizicum* به مدت ۳۰ روز به ترتیب در محیط کشت‌های BG 110 و Z8 کشت شدند (a). کشت در محیط کشت‌هایی حاوی نمک کلرید سدیم در غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم (۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) مشاهده می‌شوند (b).

Figure 1. Cultivation of strains *A. kermanshahica* and *D. alborizicum* for thirty days in BG110 and Z8 culture media, respectively (a). Cultures in media containing sodium chloride at different concentrations (0.5%, 1%, and 1.5%) are observed (b).



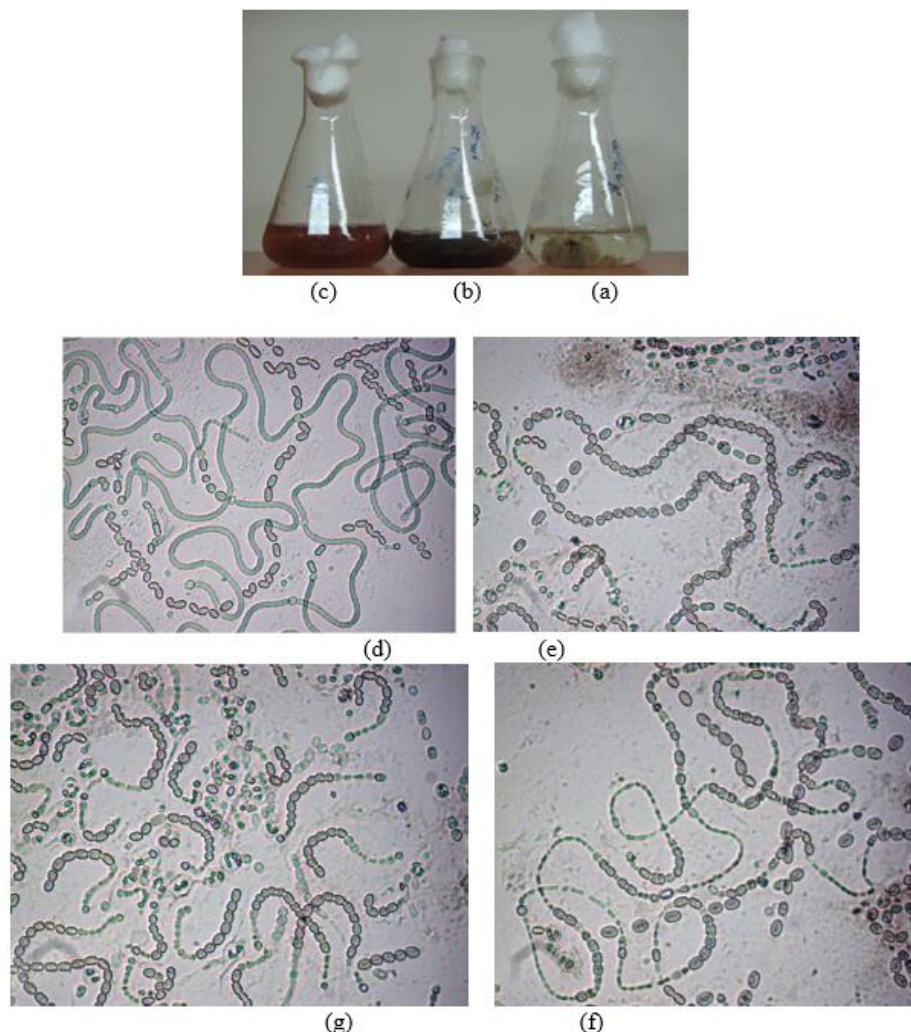
شکل ۲. تصویر میکروسکوپ نوری سویه سیانوباکتری *A. kermanshahica* در محیط کشت‌های حاوی ۰/۵ درصد نمک (a)، ۱ درصد نمک (b) و ۱/۵ درصد نمک (c) مشاهده می‌شوند. تصویر میکروسکوپ نوری سویه *A. kermanshahica* در محیط کشت‌های کنترل (d)، ۰/۵ درصد نمک (e)، ۱ درصد نمک (f) و ۱/۵ درصد نمک (g) مشاهده می‌شود.

Figure 2. Light microscopy images of the cyanobacterium strain *A. kermanshahica* in culture media containing 0.5% salt (a), 1% salt (b), and 1.5% salt (c) are shown. Light microscopy images of strain *A. kermanshahica* in control media (d), 0.5% salt (e), 1% salt (f), and 1.5% salt (g) are also observed.

ریسه‌ای دارند؛ اما در برخی مناطق جدا می‌شوند و هتروسیست‌ها همچنان وجود دارند. تغییر رنگ محیط کشت تا قهوه‌ای مایل به قرمز با افزایش شوری مشهود است که به ترشح پیگمان‌های فرعی فتوسنتزی (۳-۳) مشخص است و این نتایج حساسیت بالای این سویه به شوری را نشان می‌دهند. در غلظت‌های نمک ۱ و ۱/۵ درصد، به ترتیب در شکل (۳-f و g)، فیلامنت‌ها تخریب شده و سلول‌ها از درون تریکوم و ریسه خارج شده‌اند و به صورت منفرد یافت می‌شوند. این درهم‌گسیختگی ناشی از تنش شوری بوده است و موجب تخریب هتروسیست‌ها و قطعه‌قطعه شدن فیلامنت می‌شود.

### نتایج حاصل از مورفولوژی سویه سیانوباکتری *D. aborizicum*

شکل ۳ کشت سویه سیانوباکتری *D. aborizicum* در محیط حاوی نمک با غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد در قسمت‌های (a)، (b) و (c) نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، هورموگونیا با طول‌های مختلف غالب هستند. سلول‌های هورموگونیا که معمولاً کوچک‌تر و طولی‌تر از سلول‌های چهارگوش فیلامنت‌های رویشی هستند، در نهایت به هتروسیست تمایز می‌یابند و فیلامنت وارد مرحله رشد رویشی می‌شود که در شکل (۳-d) مشخص است. آکینت‌ها به صورت سلول‌های متراکم و زنجیره‌وار مشاهده می‌شوند. در تنش شوری با غلظت ۰/۵ درصد تخریب کمتر بوده است و سلول‌ها سعی در حفظ حالت



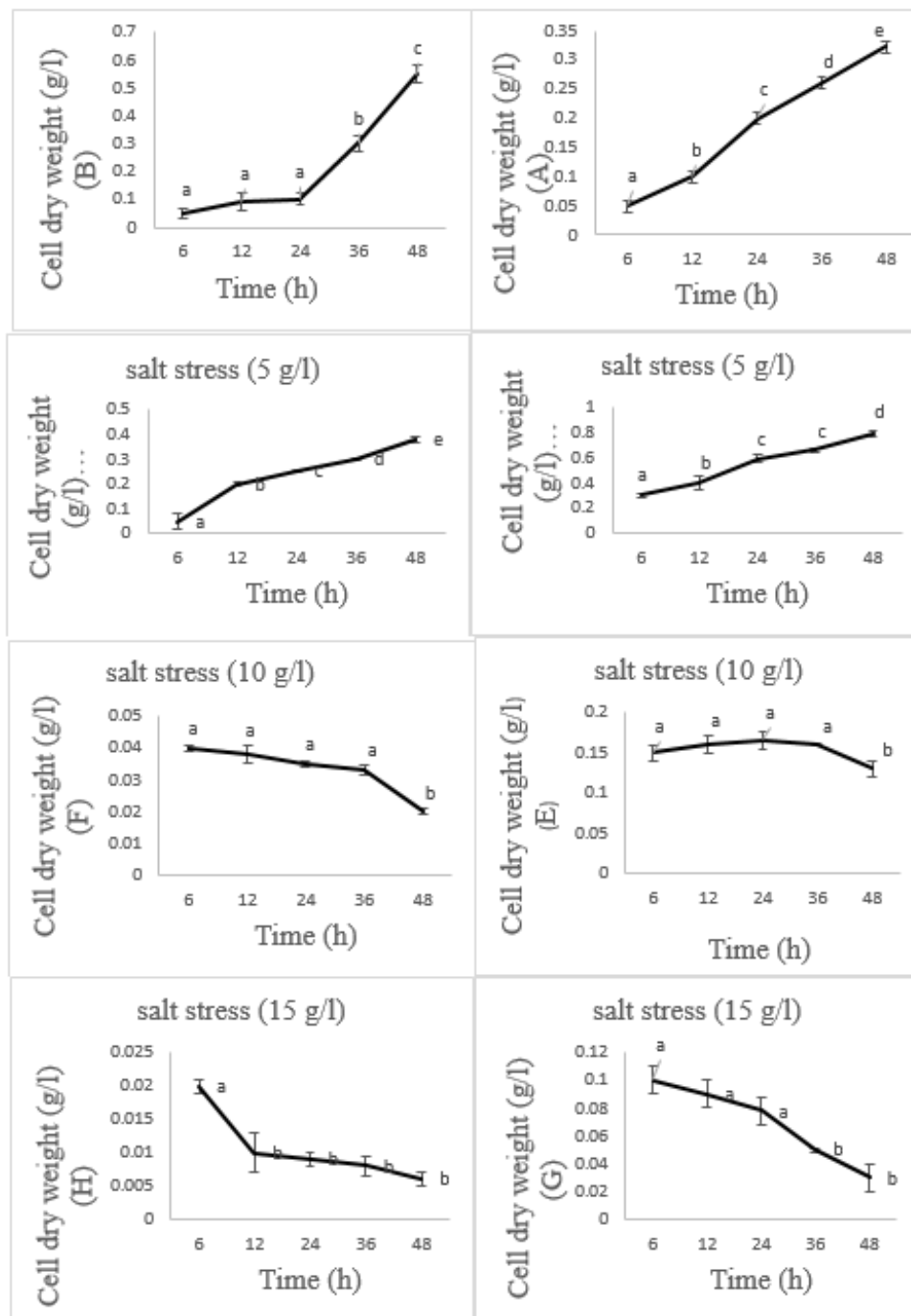
شکل ۳. کشت سویه سیانوباکتری *D. alborizicum* در محیط کشت‌های حاوی ۰/۵ درصد نمک (a)، ۱ درصد نمک (b) و ۱/۵ درصد نمک (c) مشاهده می‌شوند. علاوه بر آن، مورفولوژی سویه‌های سیانوباکتری *D. alborizicum* در محیط کشت کنترل (d)، ۰/۵ درصد نمک (e)، ۱ درصد نمک (f) و ۱/۵ درصد نمک (g) مشاهده می‌شود.

Figure 3. The cultivation of the cyanobacterium strain *D. alborizicum* in culture media containing 0.5% salt (a), 1% salt (b), and 1.5% salt (c) is shown. Additionally, the morphology of the cyanobacterium strain *D. alborizicum* in control media (d), 0.5% salt (e), 1% salt (f), and 1.5% salt (g) is observed.

میزان وزن خشک سلولی را داشتند (شکل ۴- c). در محیط کشت‌های حاوی ۱ درصد نمک کلرید سدیم، وزن خشک سلولی در هر دو سویه در شکل (۴- e و f) پس از ۴۸ ساعت به‌طور معناداری افزایش یافتند؛ اما در پایان ۴۸ ساعت، میزان وزن خشک سلولی *A. kermanshahica* به‌طور معناداری بیشتر از *D. alborizicum* بود.

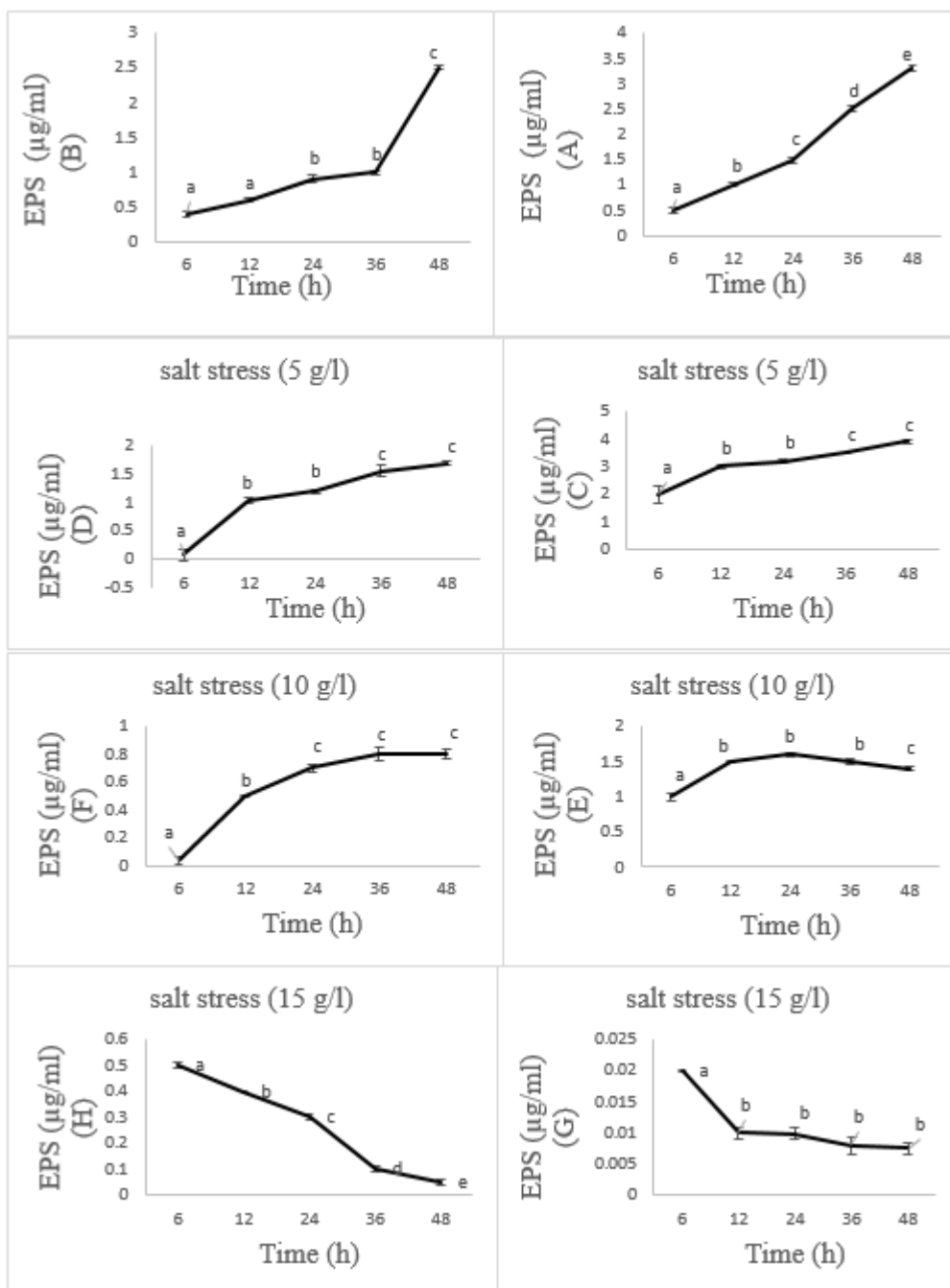
### نتایج حاصل از تعیین وزن خشک سلولی

در محیط کشت کنترل، تفاوت معناداری در وزن خشک سلولی تا ۲۴ ساعت اول در کشت کنترل سویه *A. kermanshahica* مشاهده نشد (شکل ۴- a)؛ اما با گذشت زمان تا ۴۸ ساعت، با افزایش معنادار، وزن خشک سلولی به‌طور چشمگیری افزایش یافت (شکل ۴- b). محیط کشت‌های حاوی ۰/۵ درصد نمک کلرید سدیم *A. kermanshahica* بعد از ۴۸ ساعت بیشترین



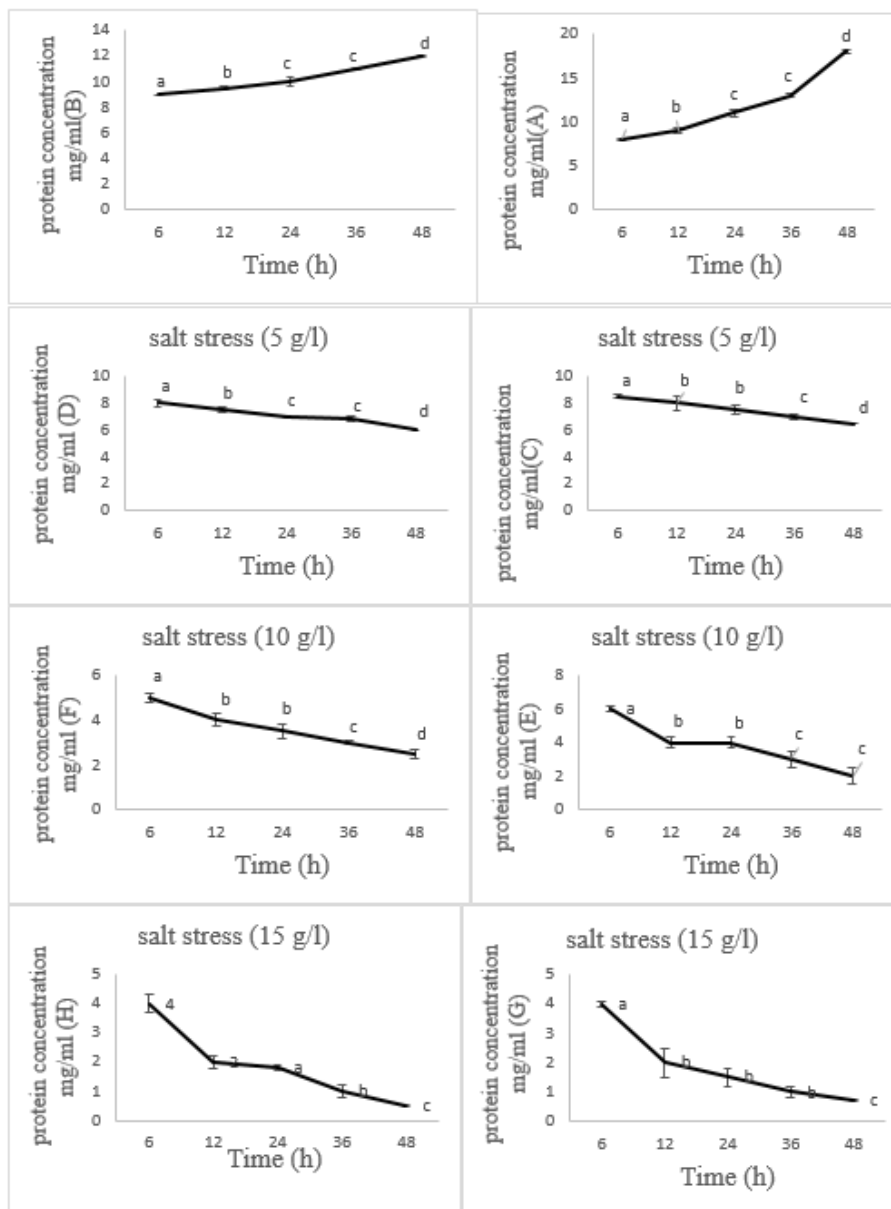
شکل ۴. وزن خشک سلول *A. kermanshahica* (a, c, e, g) و *D. alborizicum* (b, d, f, h) در محیط کشت‌های با غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم. بارهای عمودی نشان‌دهنده انحراف از میانگین داده‌های حاصل از سه تکرار هستند و حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنادار در میزان وزن خشک سلول در زمان‌های مختلف است.

Figure 4. Dry weight of cells *A. kermanshahica* (a, c, e, g) and *D. alborizicum* (b, d, f, h) in culture media with different concentrations of sodium chloride salt. Vertical bars indicate the deviation from the mean of data obtained from three replicates, and different letters represent significant differences in cell dry weight at different times.



شکل ۵. محاسبه آگزوپلی ساکاریدهای *A. kermanshahica* (a, c, e, g) و *D. alborizicum* (b, d, f, h) در محیط کشت‌های با غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم. بارهای عمودی نشان‌دهنده انحراف از میانگین داده‌های حاصل از سه تکرار هستند و حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنادار در میزان آگزوپلی ساکاریدها در زمان‌های مختلف‌اند.

Figure 5. Quantification of exopolysaccharides in *A. kermanshahica* (a, c, e, g) and *D. alborizicum* (b, d, f, h) in culture media with different concentrations of sodium chloride. Vertical bars indicate the deviation from the mean of data obtained from three replicates, and different letters represent significant differences in exopolysaccharide levels at different times.



شکل ۶. محاسبه پروتئین‌های *A. kermanshahica* (a, c, e, g) و *D. alborizicum* (b, d, f, h) در محیط کشت‌های با غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم. بارهای عمودی نشان‌دهنده انحراف از میانگین داده‌های حاصل از سه تکرار هستند و حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنادار در میزان پروتئین در زمان‌های مختلف‌اند.

Figure 6. Quantification of proteins in *A. kermanshahica* (a, c, e, g) and *D. alborizicum* (b, d, f, h) in culture media with different concentrations of sodium chloride. Vertical bars indicate the deviation from the mean of data obtained from three replicates, and different letters represent significant differences in protein levels at different times.

معناداری به‌سرعت افزایش یافتند (شکل ۵- a, b). در مقابل، *D. alborizicum* حساسیت نشان داد و میزان آگزوپلی‌ساکاریدهای آن به‌طور معناداری کاهش یافت. محیط کشت‌های حاوی ۱ درصد نمک کلرید سدیم، *A. kermanshahica* در ۲۴ ساعت اول بیشترین میزان

### نتایج حاصل از میزان پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی (EPS)

بیشترین میزان آگزوپلی‌ساکارید را سویه *A. kermanshahica* در ۴۸ ساعت کشت در محیط کشت کنترل داشت. میزان تولید آگزوپلی‌ساکاریدها با افزایش

A. در ۱۰ دقیقه اول، میزان حذف کروم توسط *kermanshahica* (۱۰۰ میلی گرم حذف فلزات به ازای هر گرم وزن خشک) در شکل (c-۷) بیشتر از *alborizicum* در شکل (d-۷) بود. سپس با تفاوت معناداری میزان جذب کاهش یافت و در پایان دوره جذب، میزان جذب در سویه *D. alborizicum* بیشتر بود. در محیط کشت با غلظت ۱ درصد نمک، در ۱۰ دقیقه اول تفاوت معناداری بین دو سویه A. *kermanshahica* و *D. alborizicum* به ترتیب در شکل (e-۷ و f) گزارش نشد؛ اما در پایان ۹۰ دقیقه، میزان جذب در *A. kermanshahica* (۸۰ میلی گرم حذف فلزات به ازای هر گرم وزن خشک) به طور معناداری بیشتر بود. در محیط کشت با غلظت ۱/۵ درصد نمک در ۱۰ دقیقه اول و ۹۰ دقیقه آخر، حذف کروم A. *kermanshahica* (۶۰ میلی گرم حذف فلزات به ازای هر گرم وزن خشک) در شکل (g-۷) به طور معناداری بیشتر از *D. alborizicum* در شکل (h-۷) بود. سپس میزان جذب کاهش یافت و در پایان دوره جذب، میزان جذب در *A. kermanshahica* به طور معناداری بیشتر بود.

میزان جذب نیکل در محیط کشت کنترل در ۱۰ دقیقه اول توسط *A. kermanshahica* (۲۰۰ میلی لیتر حذف فلزات به ازای هر گرم وزن خشک) در شکل (a-۸) کمتر از *D. alborizicum* در شکل (b-۸) بود. در محیط کشت با غلظت ۰/۵ درصد نمک، میزان جذب نیکل در دو سویه *A. kermanshahica* و *D. alborizicum* در شکل (c-۸ و d) به ترتیب در ابتدا و انتهای دوره جذب (۲۰۰ میلی لیتر حذف فلزات به ازای هر گرم وزن خشک) تفاوت معناداری نداشتند. در محیط کشت با غلظت ۱ درصد نمک، میزان جذب نیکل در ۱۰ دقیقه اول در سویه *A. kermanshahica* (۱۵۰ میلی لیتر حذف فلزات به ازای هر گرم وزن خشک) در شکل (e-۸) به طور معناداری بیشتر از *D.*

اگرزوبلی ساکارید را در شکل (e-۵) تولید کرد. سپس میزان آن به طور معناداری کاهش یافت و در سویه *alborizicum* در شکل (f-۵) میزان اگرزوبلی ساکاریدها کمتر از *A. kermanshahica* بود؛ اما به طور معناداری در طول ۴۸ ساعت افزایش یافت.

### نتایج حاصل از محاسبه میزان پروتئین

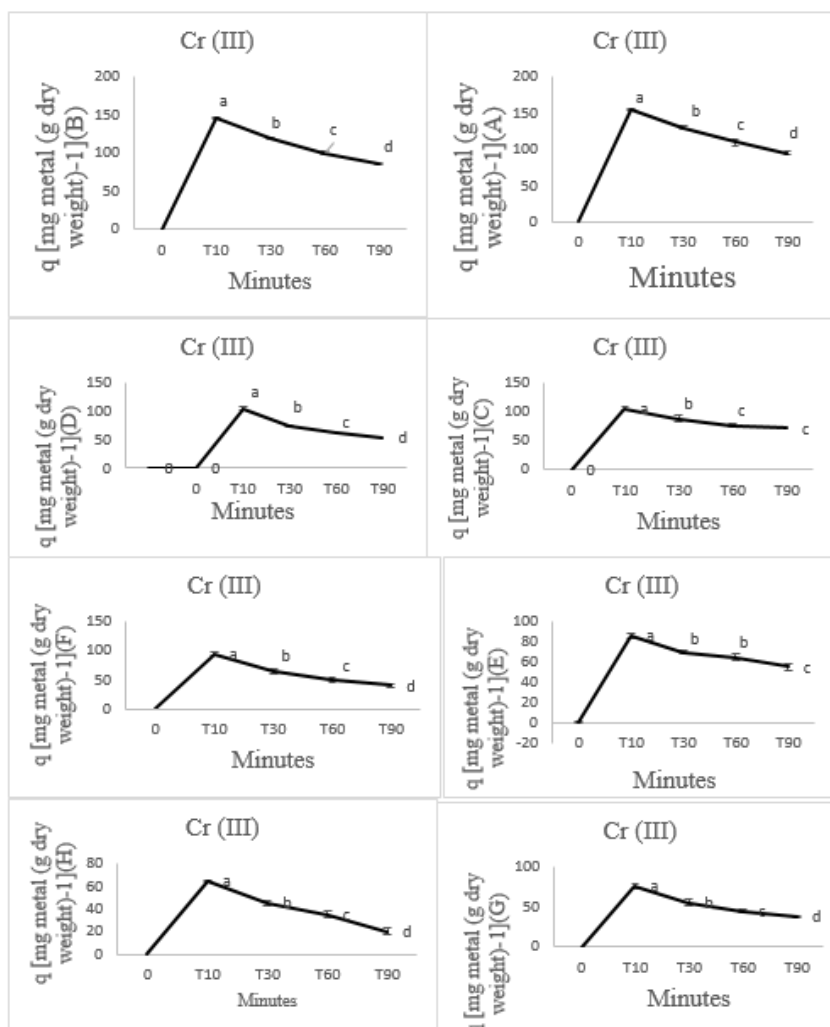
بیشترین میزان پروتئین در ۴۸ ساعت کشت را سویه *A. kermanshahica* داشت. میزان پروتئینها با گذشت زمان به میزان ۰/۳ برابر نسبت به کنترل افزایش معناداری یافت (شکل ۶- a, b). در محیط کشت های حاوی ۰/۵ درصد نمک کلرید سدیم، سویه تک سلولی *A. kermanshahica* در ابتدای کشت بیشترین میزان پروتئین را داشت؛ اما با گذر زمان، میزان پروتئین با افزایش معناداری کاهش یافت. در مقایسه با محیط کشت کنترل، کاهش معناداری در میزان پروتئین در هر دو سویه *A. kermanshahica* و *D. alborizicum* به ترتیب در شکل (۶- c و d) تا انتهای دوره کشت نشان داده شد. در محیط کشت حاوی غلظت ۱ درصد نمک کلرید سدیم، سویه *A. kermanshahica* در ابتدای کشت دارای بیشترین میزان پروتئین بود و با گذشت زمان، این میزان به طور معناداری کاهش یافت. هر دو سویه *A. kermanshahica* و *D. alborizicum* به ترتیب در شکل (۶- e و f) نسبت به محیط کشت کنترل، در طول دوره کشت، کاهش معناداری در میزان پروتئین داشتند.

### نتایج حاصل از تخمین میزان حذف فلزات سنگین

میزان حذف فلز کروم در محیط کشت کنترل در ۱۰ دقیقه اول، توسط *A. kermanshahica* (۱۵۵ میلی گرم حذف فلزات به ازای هر گرم وزن خشک) در شکل (۷- a) به طور معناداری بیشتر از *D. alborizicum* در شکل (b-۷) بود. در محیط کشت با غلظت ۰/۵ درصد نمک

شکل (g-۸ و h) به ترتیب در ابتدا و انتهای دوره جذب (۱۰۰ میلی‌لیتر حذف فلزات به‌ازای هر گرم وزن خشک) تفاوت معناداری نداشتند.

در *alborizicum* در شکل (f-۸) گزارش شد. در محیط کشت با غلظت ۱/۵ درصد نمک، میزان جذب نیکل در دو سویه *A. kermanshahica* و *D. alborizicum*



شکل ۷. میزان حذف کروم *A. kermanshahica* (a, c, e, g) و *D. alborizicum* (b, d, f, h) در محیط کشت‌های با غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم. بارهای عمودی نشان‌دهنده انحراف از میانگین داده‌های حاصل از سه تکرار هستند و حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنادار در میزان حذف کروم در زمان‌های مختلف‌اند.

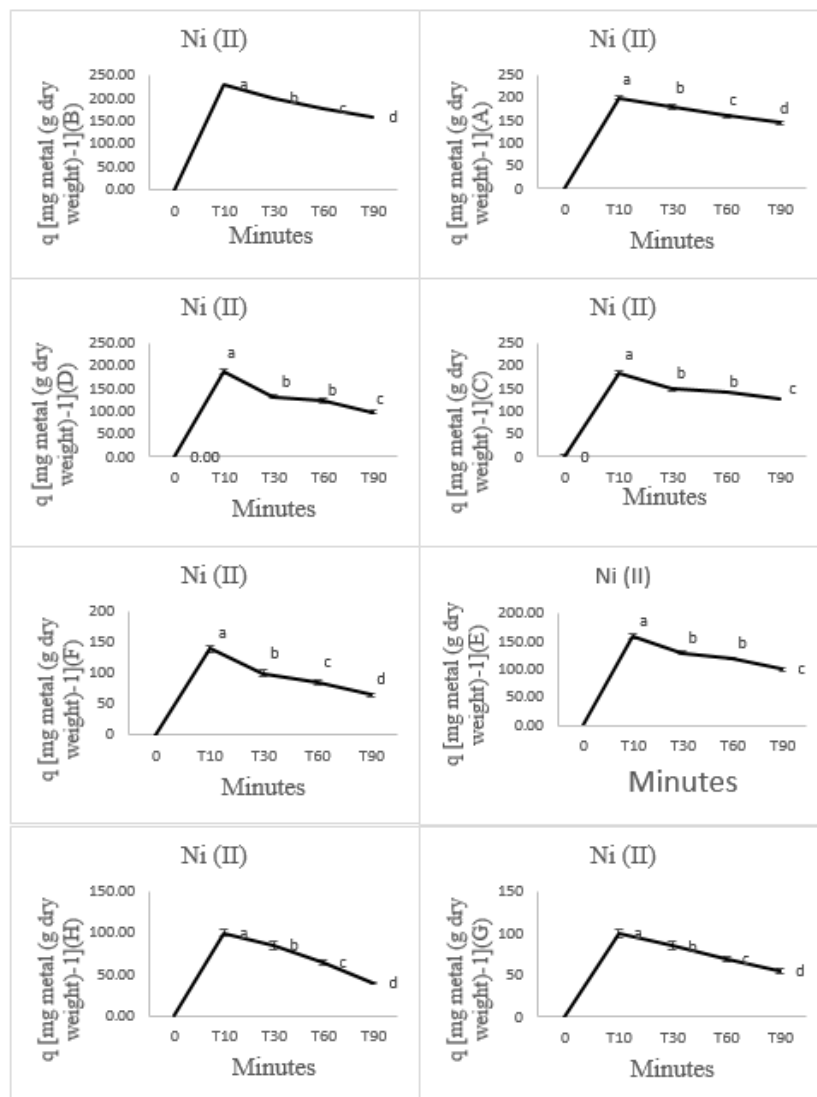
Figure 7. Chromium removal efficiency of *A. kermanshahica* (a, c, e, g) and *D. alborizicum* (b, d, f, h) in culture media with different concentrations of sodium chloride. Vertical bars indicate the deviation from the mean of data obtained from three replicates, and different letters represent significant differences in chromium removal at different times.

اول، حذف یون مس در *A. kermanshahica* (۱۴۰) میلی‌لیتر حذف فلزات به‌ازای هر گرم وزن خشک) در شکل (c-۹) به‌طور معناداری بیشتر از *D. alborizicum* در شکل (d-۹) بود؛ اما سپس میزان جذب کاهش یافت. در پایان دوره جذب، میزان حذف یون مس در

حذف یون مس در محیط کشت کنترل در هر دو سویه *A. kermanshahica* و *D. alborizicum* به ترتیب در شکل (a-۹ و b) (۱۵۰ میلی‌لیتر حذف فلزات به‌ازای هر گرم وزن خشک) تفاوت معناداری نداشتند. در محیط کشت با غلظت ۰/۵ درصد نمک، در ۱۰ دقیقه

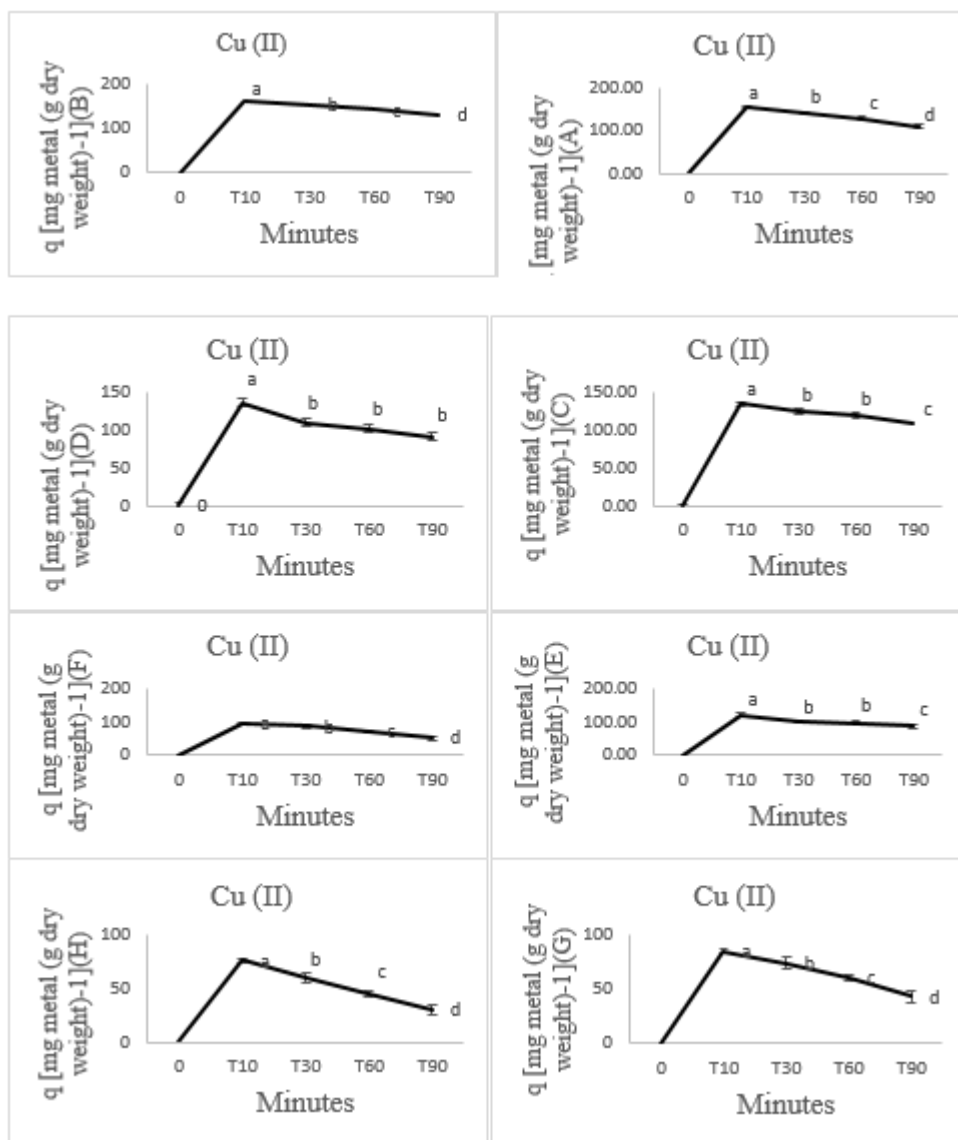
محیط کشت با غلظت ۱/۵ درصد نمک نیز در ۱۰ دقیقه اول، حذف یون مس در *A. kermanshahica* (۸۰ میلی‌لیتر حذف فلزات به‌ازای هر گرم وزن خشک) در شکل (g-۹) بیشتر از *D. alborizicum* در شکل (h-۹) بود و سپس با تفاوت معناداری میزان جذب کاهش یافت. در پایان دوره جذب تفاوت معنادار بیشتر در سویه *D. alborizicum* مشاهده شد.

*A. kermanshahica* به‌طور معناداری بیشتر از *D. alborizicum* بود. در محیط کشت با غلظت ۱ درصد نمک در ۱۰ دقیقه اول و ۹۰ دقیقه آخر، حذف یون مس در شکل (e-۹) *A. kermanshahica* (۱۰۰ میلی‌لیتر حذف فلزات به‌ازای هر گرم وزن خشک) بیشتر از *D. alborizicum* در شکل (f-۹) بود و سپس میزان جذب کاهش یافت. در پایان دوره جذب تفاوت معنادار بیشتر در سویه *D. alborizicum* مشاهده شد.



شکل ۸. میزان حذف نیکل *A. kermanshahica* (a, c, e, g) و *D. alborizicum* (b, d, f, h) در محیط کشت‌های با غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم. بارهای عمودی نشان‌دهنده انحراف از میانگین داده‌های حاصل از سه تکرار هستند و حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنادار در میزان حذف نیکل در زمان‌های مختلف‌اند.

Figure 8. Nickel removal efficiency of *A. kermanshahica* (a, c, e, g) and *D. alborizicum* (b, d, f, h) in culture media with different concentrations of sodium chloride. Vertical bars indicate the deviation from the mean of data obtained from three replicates, and different letters represent significant differences in nickel removal at different times.



شکل ۹. میزان حذف مس *A. kermanshahica* (a, c, e, g) و *D. alborizicum* (b, d, f, h) در محیط کشت‌های با غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم. بارهای عمودی نشان‌دهنده انحراف از میانگین داده‌های حاصل از سه تکرار هستند و حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنادار در میزان حذف مس در زمان‌های مختلف‌اند.

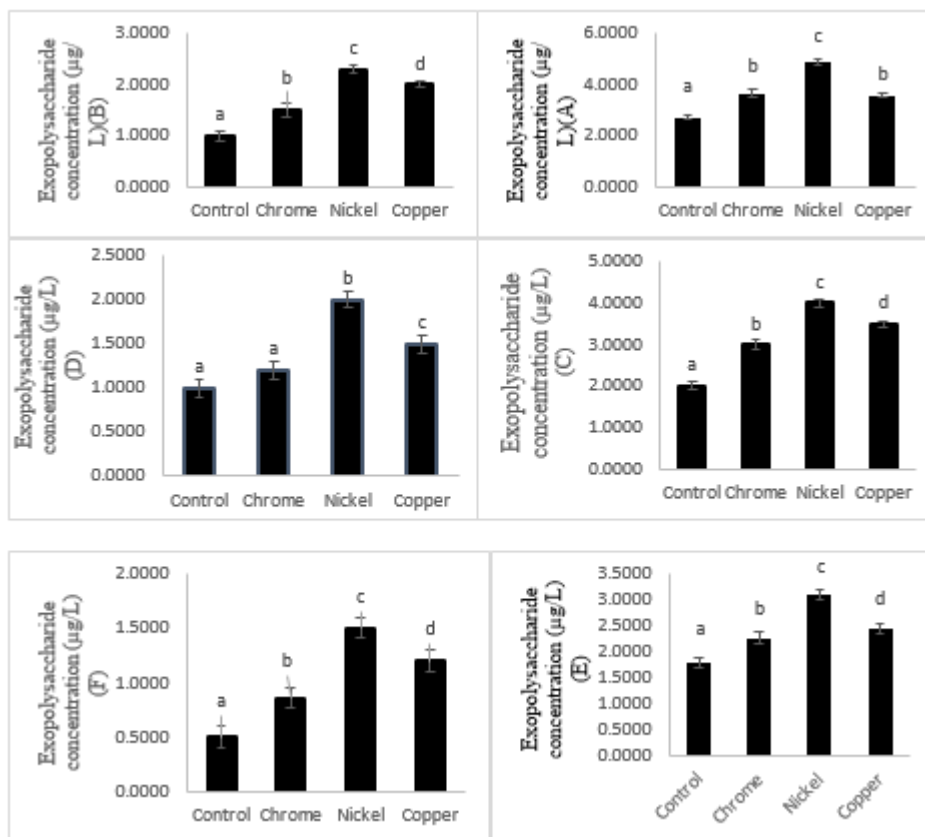
Figure 9. Copper removal efficiency of *A. kermanshahica* (a, c, e, g) and *D. alborizicum* (b, d, f, h) in culture media with different concentrations of sodium chloride. Vertical bars indicate the deviation from the mean of data obtained from three replicates, and different letters represent significant differences in copper removal at different times.

*A. kermanshahica* بیشترین میزان آگزوپلی ساکاریدها (EPS) را نشان داد. در غلظت‌های بالاتر نمک ۱ درصد *D. alborizicum* و *A. kermanshahica* در دو سویه به شکل (c-۱۰ و d) و ۱/۵ درصد نمک در شکل (۱۰-۱) و e و f) به ترتیب سویه‌ها، تفاوت معناداری بین فلزات کروم و مس را گزارش می‌دهند. میزان

نتایج حاصل از مقایسه میزان پلی ساکاریدهای خارج سلولی (EPS) در حضور فلزات سنگین و غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم محیط حاوی ۰/۵ درصد نمک کلرید سدیم دو سویه *A. kermanshahica* و *D. alborizicum* به ترتیب در شکل (a-۱۰ و b) در مقابل فلزات سنگین، به‌ویژه نیکل،

غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم، بیشترین میزان به ترتیب متعلق به نیکل، مس و سپس کروم بود و کمترین میزان متعلق به کشت‌های کنترل گزارش شد.

اگرچه ساکاریدها در سویه *D. alborizicum* در غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم در مواجهه با فلزات سنگین مختلف، تفاوت معنادار کمتری را در *A. kermanshahica* نشان داد. با این حال، در



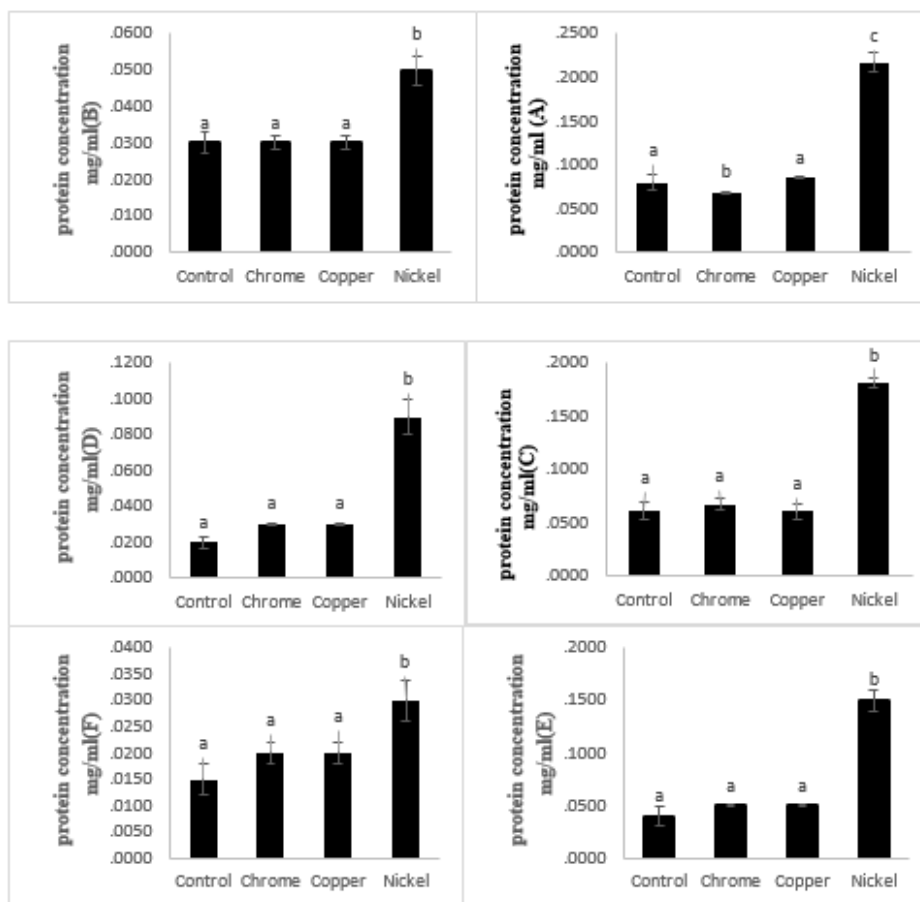
شکل ۱۰. نتایج حاصل از مقایسه میزان (EPS) *A. kermanshahica* (a, c, e, g) و *D. alborizicum* (b, d, f, h) در محیط کشت‌های با غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم. بارهای عمودی نشان‌دهنده انحراف از میانگین داده‌های حاصل از سه تکرار هستند و حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنادار در میزان EPS در زمان‌های مختلف‌اند.

Figure 10. Results of comparing exopolysaccharide (EPS) levels in *A. kermanshahica* (a, c, e, g) and *D. alborizicum* (b, d, f, h) in culture media with different concentrations of sodium chloride. Vertical bars indicate the deviation from the mean of data obtained from three replicates, and different letters represent significant differences in EPS levels at different times.

در همه غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم، بیشترین حذف فلزات سنگین با تفاوت معناداری متعلق به فلز نیکل بود؛ درحالی‌که تفاوت معناداری در غلظت‌های ۱ و ۱/۵ درصد نمک در دو سویه در میزان پروتئین بین فلزات مس، کروم و کنترل مشاهده نشد.

### نتایج حاصل از مقایسه میزان پروتئین در حضور فلزات سنگین و شوری

شکل ۱۱ نتایج مقایسه میزان پروتئین دو سویه *A. kermanshahica* و *D. alborizicum* را نشان می‌دهد. در هر دو سویه بیشترین میزان پروتئین در مواجهه با فلز سنگین نیکل یافت شد.



شکل ۱۱. نتایج حاصل از مقایسه میزان پروتئین *A. kermanshahica* (a, c, e, g) و *D. alborizicum* (b, d, f, h) در محیط کشت‌های با غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم. بارهای عمودی نشان‌دهنده انحراف از میانگین داده‌های حاصل از سه تکرار هستند و حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنادار در میزان پروتئین در زمان‌های مختلف‌اند.

Figure 11. Results of comparing protein levels in *A. kermanshahica* (a, c, e, g) and *D. alborizicum* (b, d, f, h) in culture media with different concentrations of sodium chloride. Vertical bars indicate the deviation from the mean of data obtained from three replicates, and different letters represent significant differences in protein levels at different times.

میزان در حذف فلز نیکل بیشترین میزان را دارد و میزان کربوهیدرات با افزایش میزان نمک کاهش معناداری می‌یابد.

#### شناسایی ترکیبات فرار با استفاده از روش طیف‌سنجی جرمی-کروماتوگرافی گازی-GC-MS

نتایج حاصل از آنالیزهای آماری در مراحل قبل نشان دادند سویه *A. kermanshahica* در مقایسه با سویه *D. alborizicum* هم در مقابله با حذف فلزات سنگین توانایی بیشتری دارد و هم قابلیت رشد بیشتر در غلظت‌های مختلف نمک را داشت. درواقع، افزایش

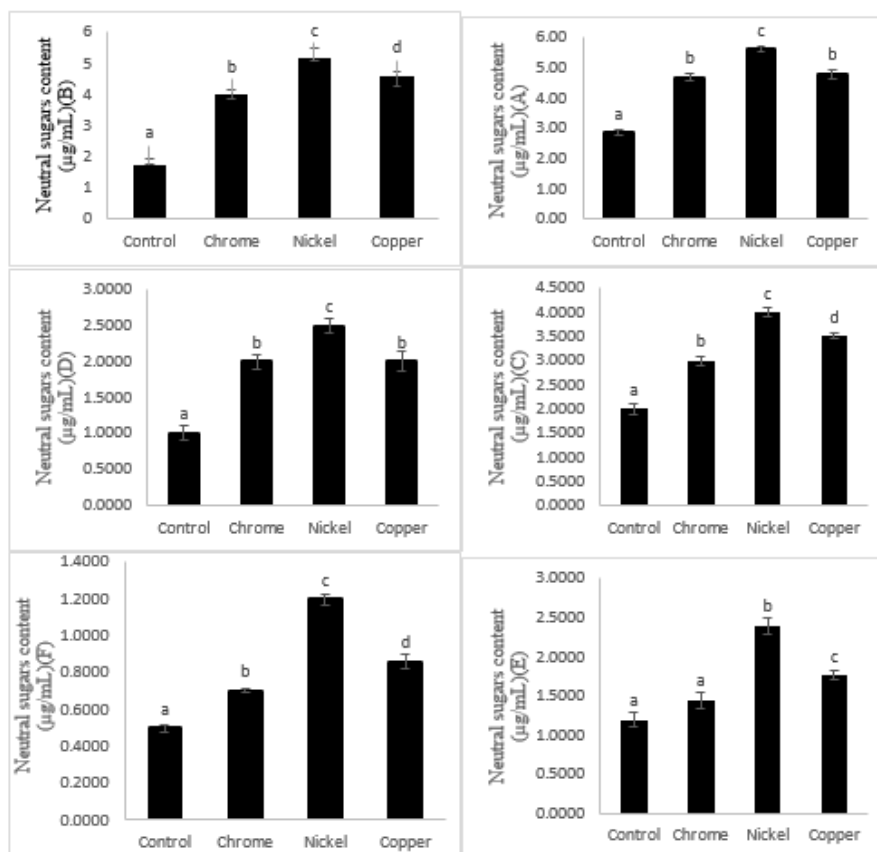
#### نتایج حاصل از مقایسه میزان کربوهیدرات‌ها در حضور فلزات سنگین و شوری

همان‌طور که از نتایج حاصل از آنالیز آماری مشخص است، در سویه‌های *A. kermanshahica* و *D. alborizicum* در حضور فلزات سنگین و در غلظت ۰/۵ درصد نمک کلرید سدیم، *A. kermanshahica* بیشترین توانایی را در حذف فلز نیکل دارد (شکل ۱۲-ا)؛ درحالی‌که تفاوت معناداری در مورد فلزات مس و کروم وجود ندارد. سویه *D. alborizicum* در شکل (۱۲-ب) در غلظت ۰/۵ درصد نمک کلرید سدیم در مواجهه با فلزات سنگین مختلف گزارش می‌شود که این

کلرید سدیم و فلز سنگین نیکل، در مجموع ۱۹ ترکیب فرار (شامل آلدهیدها، کتونها، ترکیبات بنزنی، اسیدی، استری و الکی) را شناسایی کرد در جدول ۱ در محیط کشت کنترل که شامل (۲-متیل فوران، ۳-متیل بوتانال، ۲-متیل بوتانال، متیل استر اسید استیک، اتیل استر اسید استیک، ۲-بوتانون، ۲-پنتانون، اتانول، اسید استیک، ۳-متیل بوتیل استر، ۱-بوتانول، ۱، ۳-دی-متیل بنزن، ۲-متیل-۱-پروپانول، ۳-متیل-۱-بوتانول، ۳-هیدروکسی-۲-بوتانون، استیک اسید، بنزالدئید، ۲-فنیل اتانول، ۱-اکتن-۳-ال، ۳-اکتن-۲-ال، ۴-اکتن-۳-اون) بود (شکل ۱۳).

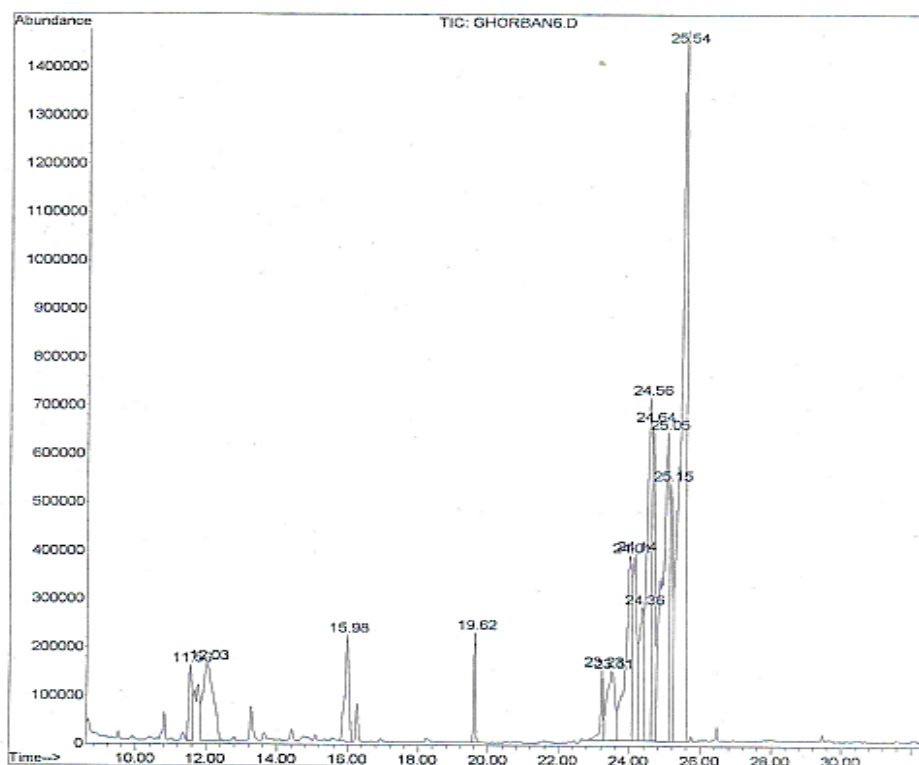
معدادار آگروپلی ساکاریدها و وزن خشک سلولی در غلظت ۰/۵ درصد نمک در محیط کشت‌های حاوی نیکل در مقایسه با کشت کنترل صحت این موضوع را ثابت می‌کند؛ به همین دلیل، شناسایی ترکیبات فرار تنها در این سویه آنالیز شد.

آنالیز ترکیبات فرار به کمک دستگاه GC-MS افزایش ترکیبات استری، کتونی، الکی، بنزنی و آلدهیدی را نشان داد که می‌توانند نقش مهمی در مواجهه با تنش شوری و حذف فلزات سنگین داشته باشند. آنالیز ترکیبات فرار سویه *A. kermanshahica* با استفاده از روش طیف‌سنجی جرمی-کروماتوگرافی گازی در شرایط کنترل و در حضور ۰/۵ درصد نمک



شکل ۱۲. نتایج حاصل از مقایسه میزان کربوهیدرات‌ها *A. kermanshahica* (a, c, e, g) و *D. alborizicum* (b, d, f, h) در محیط کشت‌های با غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم. بارهای عمودی نشان‌دهنده انحراف از میانگین داده‌های حاصل از سه تکرار هستند و حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنادار در میزان کربوهیدرات‌ها در زمان‌های مختلف‌اند.

Figure 12. Results of comparing carbohydrate levels in *A. kermanshahica* (a, c, e, g) and *D. alborizicum* (b, d, f, h) in culture media with different concentrations of sodium chloride. Vertical bars indicate the deviation from the mean of data obtained from three replicates, and different letters represent significant differences in carbohydrate levels at different times.



شکل ۱۳. نتایج حاصل از مطالعات GC-Mass در مواجهه با ۰/۵ درصد نمک کلرید سدیم و فلز سنگین نیکل *A. kermanshahica*.  
Figure 13. Results of GC-MS analysis of *A. kermanshahica* exposed to 0.5% sodium chloride and nickel heavy metal.

جدول ۱. مقایسه ترکیبات فرار سویه *A. kermanshahica* در مواجهه با ۰/۵ درصد نمک کلرید سدیم و فلز سنگین نیکل  
Table 1. Comparison of volatile compounds in *A. kermanshahica* exposed to 0.5% sodium chloride and nickel heavy metal.

peak ids	۰/۵ درصد نمک کلرید سدیم و فلز سنگین نیکل		control		کاهش یا افزایش
	RT(min)	Abundance	RT(min)	Abundance	
2-methylfuran	۴/۵۵	۸/۵۰۵	۴/۵۵	۱۰/۹۰۵	کاهش
3-methylbutanal, 2-methylbutanal	۵/۱۵	۱۰/۸۶۴	۵/۱۵	۱۲/۷۳۸	کاهش
acetic acid methyl ester	۷/۰۲	۸/۸۸۶	۷/۰۲	۱۰/۱۹۱	کاهش
acetic acid ethyl ester	۷/۴۱	۵/۸۱۸	۷/۴۱	۵/۲۷۶	افزایش
2-butanone	۸/۳۴	۵/۸۴۵	۸/۳۴	۳/۴۴۶	افزایش
2-pentanone	۸/۸۶	۶/۷۱۲	۸/۸۶	۶/۱۱۳	افزایش
ethanol	۹/۲۱	۱/۷۸۲	۹/۲۱	۱/۷۱۸	افزایش
acetic acid, 3-methylbutyl ester	۱۳/۳۳	۳/۷۹۷	۱۳/۳۳	۱/۹۵۱	افزایش
1-butanol	۱۳/۸۱	۳/۵۹۸	۱۳/۸۱	۵/۵۸۵	کاهش
1,3-di methyl benzene	۱۴/۶۸	۳/۳۴۱	۱۴/۶۸	۱/۳۳۲	افزایش
2-methyl-1-propanol	۱۵/۰۴	۹/۸۱۶	۱۵/۰۴	۸/۱۱۴	افزایش
3-methyl-1-butanol	۱۵/۶۳	۷/۲۴۶	۱۵/۶۳	۱۰/۵۱۴	کاهش
3-hydroxy-2-butanone	۱۷/۲۶	۴/۸۹۱	۱۷/۲۶	۴/۲۲۸	افزایش
acetic acid	۲۰/۸۱	۳/۸۶۳	۲۰/۸۱	۳/۹۶۳	کاهش
benzaldehyde	۲۲/۸۳	۴/۳۴۲	۲۲/۸۳	۱/۸۰۹	افزایش
2-phenylethanol	۲۸/۴۴	۱/۶۱۴	۲۸/۴۴	۳/۰۶۹	کاهش
1-octen-3-ol	۸/۷۹	۳/۵۱۴	۲۸/۷۹	۴/۶۰۴	کاهش
3-octen-2-ol	۲۹/۵۶	۲/۶۹۷	۲۹/۵۶	۲/۲۳۸	افزایش
4-octen-3-one	۳۰/۲۱	۲/۸۶۸	۳۰/۲۱	۲/۲۰۶	افزایش

## بحث

منجر به محافظت آنها در برابر شسته شدن توسط جریان‌های آب می‌شود (۲۴). در تحقیق نوروزی و همکاران (۲۰۲۱) پوشش لایه لزج احاطه‌کننده تریکوم‌ها در گونه‌های نوستوک *N. commune* نشان داد نقش مهمی در جذب ریشه‌ها به داخل محیط مایع، حرکت، جذب نور و مواد غذایی دارد. به طور کلی، پلی‌ساکاریدهای سیانوباکتریایی می‌توانند به عنوان منابع قابل قبولی برای تولید صنعتی در زمینه‌های مختلف از جمله کشاورزی، غذا، دارویی و بیوشیمیایی و در ثبات کیفیت مواد به طور مؤثر استفاده شوند (۲۵). در مقایسه، تحقیقات Carpine و همکاران و نوروزی و همکاران بیشتر بر نقش پلی‌ساکاریدها در حفاظت سیانوباکتری‌ها در شرایط خشکی و کاربردهای صنعتی این ترکیبات تمرکز داشتند. در این تحقیق توانایی دو سویه سیانوباکتری *Alborzia kermanshahica* و *Desmonostoc alborizicum* در حذف فلزات سنگین و مقاومت به شوری بررسی شد. این مطالعه نشان داد سویه تک سلولی *A. kermanshahica* در شرایط شوری و برای حذف فلزات سنگین عملکرد بهتری نسبت به سویه ریشه‌ای دارد. تحقیقات پیشین بر اهمیت پلی‌ساکاریدها در حفاظت از سیانوباکتری‌ها در شرایط خشکی تأکید داشتند؛ در حالی که این تحقیق به کاربردهای عملی سویه‌های خاص سیانوباکتری در شرایط شوری و آلودگی به فلزات سنگین پرداخته است.

در تحقیق Borah و همکاران (۲۰۱۸) روی سیانوباکتری‌ها، به ویژه در شرایط شوری نشان داد با افزایش تولید آگروپلی‌ساکاریدها تحمل نمک و متابولیسم کربوهیدرات نیز بهبود می‌یابد. برخی نمونه‌های استثنا مانند *C. capsulate* و *Cyanothece sp.* دارای کپسول‌های ضخیمی هستند که حفاظت مؤثری در برابر تنش‌های اسمزی فراهم می‌کنند و با افزایش غلظت نمک کلرید سدیم، هیچ تأثیری بر تولید

در این تحقیق تأثیر شرایط مختلف محیطی بر سنتز پلی‌ساکاریدها در سویه‌های مختلف سیانوباکتری بررسی شد. نتایج نشان دادند در شرایط شوری بالا، تولید پلی‌ساکاریدها به طور چشمگیری افزایش می‌یابد. این افزایش علاوه بر اینکه به محافظت از سلول‌ها در برابر شوری کمک می‌کند، مقاومت در برابر دهیدراسیون و حملات ویروسی را نیز بهبود می‌بخشد. همچنین، مشاهده شد سیانوباکتری‌هایی که پلی‌ساکاریدهای بیشتری تولید می‌کنند، در محیط‌های خشک و شسته شدن توسط جریان‌های آب، بقای بیشتری دارند. این یافته‌ها اهمیت پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی را به عنوان مکانیسم دفاعی چندگانه در سیانوباکتری‌ها تأیید می‌کند و نشان می‌دهد این ترکیبات می‌توانند نقش حیاتی در بقا و سازگاری این موجودات با شرایط محیطی نامساعد داشته باشند (۲۱).

تحقیق Roncero-Ramos و همکاران (۲۰۱۹) روی گونه‌ای از نوستوک به نام *N. commune* نشان می‌دهد پلی‌ساکاریدهای این سلول با تشکیل ماتریکس خارج سلولی، رنگدانه جذب‌کننده UV (سایتونمین)، ترکیب‌های اسید آمینه‌ای مایکوسپورین مانند (MMAs) و سوپراکسید دیسموتازها شامل آهن فعال را به سلول‌ها القا می‌کنند و از تابش‌های مضر UV نیز محافظت می‌کنند تا سلول در شرایط خشکی زنده بماند (۲۲).

Carpine و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند پلی‌ساکاریدها نقش مهمی در حفاظت از سیانوباکتری‌ها در شرایط خشکی دارند (۲۳). در تحقیق نوروزی و همکاران (۲۰۲۲) از این پلیمرها به عنوان ترکیب بافری استفاده شد و به جمع‌آوری و آزادسازی آرام آب کمک کرد. تراکم موسیلاژ احاطه‌کننده تریکوم‌های سویه نوستوک *N. commune* باعث حفاظت آنها در محیط‌های خشک می‌شود. علاوه بر این، خاصیت هیدروفوبیک آگروپلی‌ساکاریدها در سیانوباکتری‌ها

شرایط سخت معرفی شود.

تحقیقات اخیر Singh و همکاران (۲۰۱۹) در زمینه سیانوباکتریولوژی نشان می‌دهد مورفوتیپ‌های فاقد کپسول از سیانوباکتری‌ها در تحقیقات بیوتکنولوژیک نقش مهمی دارند. عدم وجود لایه کپسول می‌تواند فرایندهای جداسازی ترکیبات فعال زیستی و تحلیل‌های زیست‌شناسی مولکولی را آسان‌تر کند (۲۹). همچنین، تحقیق Moore و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد مورفوتیپ‌های کپسول‌دار در حمایت از رشد سیانوباکتری‌ها در برابر تنش‌های محیطی اهمیت دارند. برای مقابله با تنش‌های مختلف محیطی، سیانوباکتری‌ها استراتژی‌هایی مانند افزایش محتوی کلروفیل، افزایش نرخ فتوسنتز، افزایش قدرت جذب روشنایی و بی‌کربنات، اشباع‌شدن دستگاه فتوسنتزی از CO<sub>2</sub> و افزایش واکنش تنفسی را به کار می‌گیرند (۳۰).

مطالعات اخیر توسط Brandenburg و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد زمانی که سیانوباکتری‌ها تحت تأثیر فلزات سنگین قرار می‌گیرند، تغییر در سطوح پروتئین‌ها در فرایندهای مرکزی متابولیک آنها، از جمله فتوسنتز و متابولیسم کربن اتفاق می‌افتد. *Synechocystis* PCC6803، در مواجهه با فلزاتی مانند نیکل، کبالت یا کادمیوم، کاهش کلی در سطح پروتئین‌های مرتبط با فتوسنتز یا متابولیسم کربن مشاهده می‌شود که نشان‌دهنده تأثیر متابولیسم فلزات بر فعالیت‌های بیولوژیکی سیانوباکتری‌ها است (۳۱). کاهش مشابهی در فراوانی پروتئین بعد از فقر آهن در PCC7120 *Anabaena* اتفاق افتاد. در *Cyanothece* sp. CCY0110 که در محیطی کشت داده شد که کادمیوم یا مس به آن اضافه شده بود نیز همین اتفاق افتاد. تحقیقات Norena-Caro و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد پاسخ‌های مرتبط با تنش‌های فلزی شامل فعال‌سازی مکانیسم‌های پروتئین‌های چاپرونی و تنش‌های ضداکسیداتیو در سیانوباکتری‌ها در هنگام در معرض

اگزوپلی‌ساکارید نمی‌گذارد یا کمتر اثرگذار هستند (۲۶). در تحقیقات دیگر توسط Simonazzi و همکاران (۲۰۲۱)، سویه‌های استثنای دیگری مانند *Anabaena* sp. 33047 و *Synechococcus* sp. شرایط خاص مانند فاز ثابت رشد به‌علت محدودیت مواد غذایی ضروری یا دیازوتروفی، تولید اگزوپلی‌ساکاریدها را افزایش می‌دهند (۲۷). همچنین در تحقیق دیگر توسط Hasegawa و همکاران (۲۰۱۹)، سیانوباکتری هالوفیلیک *Aphanothece halophytica* GR02 نیز در مقابل تغییرات غلظت نمک، تنوعی در مواد آلی مانند رامنوز و گالاکتوز نشان می‌دهند در ساخت پلی‌ساکاریدهای محلول نقش دارند. شوری به‌عنوان مانعی برای رشد ریزجلبک‌ها، از سمیت داخلی یون‌های غیرآلی، جلوگیری و سنتز ترکیبات محافظت‌کننده اسمزی را تحریک می‌کند. سیانوباکتری‌ها با ساخت و تجمع سوکروز، گلیکوزیل گلیسرول و گلوتامات بتائین به‌عنوان حل‌شونده‌های سازشی اسمزی، در برابر تنش شوری مقاومت می‌کنند و نقش مهمی در تبدیل ذخایر قندی به گلیکوژن پس از برطرف‌شدن تنش شوری دارند (۲۸). در مقایسه، این تحقیق به‌طور خاص به بررسی توانایی دو سویه سیانوباکتری *Alborzia kermanshahica* و *Desmonostoc alborizicum* در حذف فلزات سنگین و مقاومت به شوری پرداخته است. تحقیقات Simonazzi و Hasegawa بیشتر به شرایط خاص تولید اگزوپلی‌ساکاریدها و پاسخ‌های سیانوباکتری‌ها به شوری پرداخته‌اند؛ درحالی‌که تحقیق ما بر ویژگی‌های عملکردی و کاربردهای عملی سویه‌های خاص سیانوباکتری در شرایط شوری و آلودگی به فلزات سنگین تمرکز دارد؛ به‌ویژه سویه *A. kermanshahica* در شرایط شوری و برای حذف فلزات سنگین عملکرد بهتری نسبت به سویه ریشه‌ای دارد و می‌تواند به‌عنوان یک کاندیدای مناسب برای کاربردهای محیطی در

پروتئین‌های متصل به فلز در فضای خارج سلولی، به‌ویژه متالوتیونین‌ها، پروتئین‌های متصل به متالوتیونین‌ها، فریتین، پروتئین‌های تثبیت‌کننده منگنز در فتوسیستم II، پلاستوسیانین و پروتئین‌های متصل به فلزات در *Synechococcus* در یازی، FutA2 در *Synechococcus* و همولوگ آنها در *Synechococcus* در یازی، CopM در *Synechocystis* و همولوگ All7633 در *Anabaena* و پروتئین‌های فریتین مانند در *Anabaena* نقش مهمی در مقاومت به فلزات دارند. این پروتئین‌ها نه تنها در فضای خارج سلولی، بلکه در داخل سلول نیز می‌توانند نقش‌های مختلفی داشته باشند؛ مانند عملکرد متالوتیونین‌ها که علاوه بر اتصال به فلزات، ممکن است نقشی مشابه آگزوپروتئین‌ها در فضای خارج سلولی داشته باشند (۳۴).

تحقیقات جدید Singh و همکاران (۲۰۱۹) نشان می‌دهد کاهش دسترسی زیستی و کاهش تحرک یون‌های فلزات سنگین اهمیت زیادی دارد تا خطرات جذب و انباشت آنها در محیط کاهش یابد. روش‌های بیولوژیکی، میکروبی‌ها، جذب یون‌های فلزی را با استفاده از مکانیزم‌های مقاومتی مانند تبادل یونی و کمپلکس‌سازی کمپلکس‌سازی، رسوب‌گیری<sup>۱</sup> و شلاته‌کردن<sup>۲</sup> انجام می‌دهند؛ در نتیجه، استفاده از میکروبی‌ها به‌عنوان راهکاری کارآمد و کم‌هزینه‌تر برای کاهش آلاینده‌های فلزی در محیط‌های صنعتی و فاضلاب‌ها شناخته شده است (۳۵). مطالعات Tiwari و همکاران (۲۰۲۰) نشان می‌دهد سلول‌های زنده و مرده از مکانیزم‌های مختلفی برای جذب یون‌های فلزی استفاده می‌کنند. سلول‌های زنده برای حفظ حیات خود به شرایط محیطی خاصی نیاز دارند؛ درحالی‌که سلول‌های مرده به شرایط خاص کمتری نیاز دارند و به همین دلیل بهتر می‌توانند یون‌های فلزی را جذب کنند.

قرار گرفتن با فلزات افزایش می‌یابند. برخی از این پروتئین‌ها، مانند HspA، تحت تأثیر حرارت قرار می‌گیرند و در معرض نیکل افزایش می‌یابند. قرار گرفتن در معرض نیکل همچنین منجر به افزایش فراوانی در پروتئین NrsB می‌شود که در تحمل نیکل و کبالت نقش دارد. در گونه *Synechococcus*، برخی پروتئین‌ها تحمل زیادی نسبت به مس نشان می‌دهند (۳۲). در مقایسه، تحقیق ما به تحلیل دقیق توانایی دو سویه سیانوباکتری *Alborzia kermanshahica* و *Desmonostoc alborizicum* در حذف فلزات سنگین و مقاومت به شوری پرداخته است. نتایج نشان دادند سویه تک‌سلولی *A. kermanshahica* در شرایط شوری و برای حذف فلزات سنگین عملکرد بهتری نسبت به سویه ریشه‌ای دارد. تحقیقات قبلی بر تغییرات پروتئین‌های مرکزی متابولیک و مکانیسم‌های پاسخ به تنش‌های فلزی متمرکز بودند؛ درحالی‌که تحقیق ما بر ویژگی‌های خاص و کاربردهای عملی سویه‌های سیانوباکتری در محیط‌های آلوده به فلزات سنگین و شور تمرکز دارد و نشان می‌دهد *A. kermanshahica* می‌تواند کاندیدای خوبی برای حذف فلزات سنگین در محیط‌های شور باشد.

تحقیقات اخیر توسط Romeu و همکاران (۲۰۲۲) در زمینه پروتئومیکس سیانوباکتری‌ها نشان می‌دهد علاوه بر پویایی فرایندهای داخل سلولی، شناخت نقش دینامیک ایفا شده توسط پروتئین‌های خارج سلولی نیز برای درک بهتر از تکامل، پیدایش دیواره سلولی، چسبندگی و تشکیل بیوفیلم در این میکروبی‌ها بسیار اساسی است. یافته‌های این تحقیقات منجر به شناسایی تعداد زیادی از آگزوپروتئین‌ها با عملکردهای مختلف و پروتئین‌های فرضی با عملکرد نامشخص شد (۳۳).

نقش عملکردی آگزوپروتئوم‌ها در مقاومت به فلزات توسط Zappa و Bauer (۲۰۱۷) نشان داد

<sup>1</sup> Precipitation

<sup>2</sup> Chelation

معداداری افزایش *kermanshahica* در  
 آگزوپلی ساکاریدها و وزن خشک سلولی در غلظت ۰/۵ درصد نمک کلرید سدیم نشان داد. همچنین، بیشترین میزان حذف فلزات سنگین در هر دو سویه مربوط به نیکل، مس و سرب بود. تحلیل ترکیبات فرار به کمک GC-MS نیز نشان داد ترکیبات استری، کتون، الکل، بنزی و آلدئیدی در مواجهه با تنش شوری و حذف فلزات سنگین افزایش یافتند. تحقیق Rath و همکاران بر کارایی آگزوپلی ساکاریدهای زیست‌توده مرده در جذب فلزات سنگین در شرایط اسیدی متمرکز است؛ درحالی‌که تحقیق ما بر کارایی سویه‌های خاص سیانوباکتری در حذف فلزات سنگین و مقاومت به شوری تأکید دارد و نشان می‌دهد *A. kermanshahica* کاندیدای مناسبی برای حذف فلزات سنگین در شرایط شوری است.

تحقیقات اخیر Van و همکاران (۲۰۲۲) نشان داده است سیانوباکتری *Calothrix marchica* با تولید پلی ساکاریدهای کپسولی با محتوای قند اسیدی بالا، به‌طور مؤثری یون‌های فلزی را جذب می‌کند. این سیانوباکتری به‌ویژه قادر است یون‌های سرب را با میزان جذب تا حدود ۶۵ میلی‌گرم بر گرم جذب کند (mg/g ۶۵ Pb<sup>2+</sup>/g). علاوه بر آن، گونه‌های دیگری مانند *Nostoc* و *Cyanospira capsulata* نشان داده‌اند در شرایط مختلف، قادر به جذب بیشتر یون‌های مس نسبت به یون‌های نیکل و روی هستند؛ هرچند راندمان حذف آنها بین این گونه‌ها متفاوت است (۳۷).

تحقیقات جدید Gupta و Diwan (۲۰۱۷) نشان می‌دهد تکنیک‌های بی‌حرکت‌سازی سیتیک، مانند اتصال سلول‌های باکتری به سطوح جامد، تولید آگزوپلی ساکارید را بدون تغییر سرعت رشد افزایش می‌دهند؛ برای مثال، *Chryseomonas luteola* در بستر آلژینات توانسته است جذب یون‌های کادمیوم و کبالت را به ترتیب به میزان ۶۴/۱۰ و ۵۵/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر

آگزوپلی ساکاریدها یا همان مواد خارج سلولی میکروبی، از طریق تعامل با یون‌های فلزی با بار مثبت و سطوح منفی خود، امکان حذف این یون‌ها را از محیط با استفاده از مکانیسم‌هایی مانند تبادل یونی، کمپلکس‌سازی و رسوب‌دهی فراهم می‌آورند (۱۸).

آگزوپلی ساکاریدهای زیست‌توده مرده که از باکتری‌های مانند *Ochrobactrum anthropi* از طریق تحقیق Rath و همکاران (۲۰۲۲) جدا شده‌اند، در شرایط خاصی از pH و غلظت یون فلزی، مانند کادمیوم، آگزوپلی ساکاریدهای زیست‌توده مرده قابلیت جذب و حذف بالایی دارند؛ برای مثال، در pH اسیدی حدود ۲، می‌توانند تا ۲۶ میلی‌گرم بر لیتر از یون‌های مس را از غلظت اولیه ۶/۹۱ ppm جذب کنند. همچنین، باکتری‌های مختلف مانند *Bacillus cereus*، *Bacillus pumilus* و *Pantoea agglomerans* در شرایط اسیدی با ۲-۳ pH، بیش از ۸۵ درصد از کروم موجود در محیط را حذف می‌کنند؛ با این حال، تجزیه و تحلیل جذب یونی فلزات نشان می‌دهد آگزوپلی ساکاریدهای جداشده از زیست‌توده مرده نسبت به زیست‌توده نامتحرک (مقاوم در برابر فلزات سنگین)، یون‌های مس، کادمیوم و سرب کمتری را جذب می‌کنند (۳۶). در مقابل، تحقیق ما به بررسی توانایی دو سویه سیانوباکتری *Alborzia kermanshahica* و *Desmonostoc alborizicum* در حذف فلزات سنگین و مقاومت به شوری پرداخته است. نتایج نشان دادند سویه تک‌سلولی *A. kermanshahica* نسبت به سویه ریشه‌ای، توانایی بیشتری در حذف فلزات سنگین و رشد در شرایط شوری دارد. در کشت‌های کنترل، سویه تک‌سلولی میزان وزن خشک سلولی، آگزوپلی ساکاریدها و پروتئین بیشتری نسبت به سویه ریشه‌ای داشت و در شرایط فاقد کلرید سدیم نیز توانایی بیشتری در حذف فلزات نشان داد. میزان پروتئین‌ها در هر دو سویه در مواجهه با فلزات سنگین کاهش یافت؛ اما سویه تک‌سلولی *A.*

آبزی توانایی بیشتری هم در حذف فلزات سنگین و هم قابلیت رشد بیشتر در غلظت‌های مختلف نمک داشت. در کشت‌های کنترل میزان وزن خشک سلولی، آگزوپلی ساکاریدها و پروتئین در سویه تک سلولی به ترتیب ۱/۷۰، ۱/۳۲ و ۱/۵ برابر بیشتر از سویه ریشه‌ای گزارش شد. همین امر باعث شد در کشت‌های کنترل فاقد شوری نیز سویه تک سلولی در ۱۰ دقیقه اول، توانایی بیشتری در حذف هر سه فلز داشته باشد. افزایش معنادار آگزوپلی ساکاریدها و وزن خشک سلولی در غلظت ۰/۵ درصد نمک در سویه تک سلولی نشان دهنده مقاومت این سویه به شوری است. در هر دو سویه بیشترین میزان حذف فلزات سنگین به ترتیب متعلق به نیکل، مس و سرب است و بیشترین میزان آگزوپلی ساکارید، پروتئین و کربوهیدرات در محیط کشت‌های حاوی نیکل در هر دو سویه گواه این ادعا است. نتایج حاصل از آنالیز ترکیبات فرار به کمک دستگاه GC-MS، افزایش ترکیبات استری، کتونی، الکلی، بنزنی و آلدئیدی را نشان دادند که می‌توانند نقش مهمی در مواجهه با تنش شوری و حذف فلزات سنگین داشته باشند.

افزایش دهد. تغییرات شیمیایی مانند استیله شدن و فسفوریلاسیون، فعالیت‌های بیولوژیکی آگزوپلی ساکاریدها را اصلاح می‌کنند. پلیمرهای اصلاح شده با فسفوریلاسیون بالا، ظرفیت جذب یون‌های فلزی را به طور چشمگیری افزایش می‌دهند (۳۸). نتایج مطالعات اخیر می‌تواند الگویی کارساز در آینده‌ای نزدیک برای افزایش جذب فلزات سنگین باشند. در مقابل، تحقیق ما روی سیانوباکتری‌های *Desmonostoc* و *Alborzia kermanshahica* *alborizicum* متمرکز بود و نشان داد سویه تک سلولی *A. kermanshahica* نسبت به سویه ریشه‌ای توانایی بهتری در حذف فلزات سنگین و رشد در شرایط شوری دارد. Gupta و Diwan به بهبود جذب فلزات از طریق اصلاح شیمیایی پرداختند؛ درحالی که تحقیق ما بر کاربرد خاص سیانوباکتری‌ها در محیط‌های شور تأکید دارد.

### نتیجه گیری کلی

در این مطالعه توانایی دو سویه مختلف تک سلولی و ریشه‌ای در مواجهه با حذف فلزات سنگین و غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم بررسی شد. نتایج نشان دادند سویه تک سلولی خاکزی در مقایسه با سویه ریشه‌ای

### References

- Santini G, Biondi N, Rodolfi L, Tredici MR. Plant biostimulants from cyanobacteria: An emerging strategy to improve yields and sustainability in agriculture. *Plants*, 2021; 10(4): 643. <https://doi.org/10.3390/plants10040643>
- Debnath S, Muthuraj M, Bandyopadhyay TK, Bobby MN, Vanitha K, Tiwari ON, et al. Engineering strategies and applications of cyanobacterial exopolysaccharides: A review on past achievements and recent perspectives. *Carbohydrate Polymers*, 2023, 121686. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121686>
- Najafi Y, Nowruzzi B, Sari AH. Review on the combined effect of cold plasma treatment technology and cyanobacteria in heavy metal removal such as Zinc, Calcium, and Magnesium. *Iranian Journal of Applied Physics*, 2023; 13(1): 75-116. <https://doi.org/10.22051/ijap.2023.41033.1289> [In Persian].
- Kumar A, Ramamoorthy D, Verma DK, Kumar A, Kumar N, Kanak KR, et al. Antioxidant and phytonutrient activities of *Spirulina platensis*. *Energy Nexus*, 2022; 6: 100070. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100070>
- Boyanova P, Bosakova-Ardenska A, Gradinarska D, Petkova N, Panayotov P, editors. *Ice cream supplemented with Spirulina platensis: Antioxidant and color stability*. AIP Conference Proceedings; 2023: AIP Publishing. <https://doi.org/10.1063/5.0173329>

6. Waditee-Sirisattha R, Kageyama H. Halotolerance, stress mechanisms, and circadian clock of salt-tolerant cyanobacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2023; 107 (4): 1129-41. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12390-x>
7. Laroche C. Exopolysaccharides from microalgae and cyanobacteria: diversity of strains, production strategies, and applications. *Marine drugs*, 2022; 20(5): 336. <https://doi.org/10.3390/md20050336>
8. Wang H, Hu X, Shao C, Elshobary M, Zhu F, Cui Y, et al. Optimizing mixotrophic cultivation of oil-rich *Tribonema minus* using volatile fatty acids and glycerin: a promising approach for pH-controlling and enhancing lipid productivity. *Journal of Cleaner Production*, 2023; 402: 136733. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.136733>
9. Garlapati D, Chandrasekaran M, Devanesan A, Mathimani T, Pugazhendhi A. Role of cyanobacteria in agricultural and industrial sectors: an outlook on economically important byproducts. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019; 103: 4709-21. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09811-1>
10. Arias DM, García J, Uggetti E. Production of polymers by cyanobacteria grown in wastewater: Current status, challenges and future perspectives. *New Biotechnology*, 2020; 55: 46-57. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2019.09.001>
11. Al-Amin A, Parvin F, Chakraborty J, Kim Y-I. Cyanobacteria mediated heavy metal removal: a review on mechanism, biosynthesis, and removal capability. *Environmental Technology Reviews* 2021; 10(1): 44-57. <https://doi.org/10.1080/21622515.2020.1869323>
12. Mareš J, Johansen JR, Hauer T, Zima Jr J, Ventura S, Cuzman O, et al. Taxonomic resolution of the genus *Cyanothece* (Chroococcales, Cyanobacteria), with a treatment on *Gloeotheca* and three new genera, *Crocospaera*, *Rippkaea*, and *Zehria*. *Journal of Phycology*, 2019; 55(3): 578-610. <https://doi.org/10.1111/jpy.12853>
13. Nowruzi B, Becerra-Absalón I, Metcalf JS. A novel microcystin-producing cyanobacterial species from the genus *Desmonostoc*, *Desmonostoc alborizicum* sp. nov., isolated from a water supply system of Iran. *Current Microbiology*, 2023; 80(1): 49. <https://doi.org/10.1007/s00284-022-03144-5>
14. Eydelkhani M, Kiabi S, Nowruzi B. In vitro assessment of the effect of magnetic fields on efficacy of biosynthesized selenium nanoparticles by *Alborzia kermanshahica*. *BMC Biotechnology*, 2024; 24(1): 27 <https://doi.org/10.1186/s12896-024-00855-4>
15. Nowruzi B, Soares F. *Alborzia kermanshahica* gen. nov., sp. nov. (Chroococcales, Cyanobacteria), isolated from paddy fields in Iran. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2021; 71(6): 004828. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004828>
16. Nowruzi B, Khavari-Nejad R, Sivonen K, Kazemi B, Najafi F, Nejadstari T. Optimization of cultivation conditions to maximize extracellular investments of two *Nostoc* strains. *Algalological Studies*, 2013; 142(1): 63-76. <https://doi.org/10.1127/1864-1318/2013/0066>
17. Kushwaha D, Upadhyay S, Mishra PK. Growth of cyanobacteria: optimization for increased carbohydrate content. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2018; 184: 1247-62. <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2620-3>
18. Tiwari ON, Muthuraj M, Bhunia B, Bandyopadhyay TK, Annapurna K, Sahu M, et al. Biosynthesis, purification and structure-property relationships of new cyanobacterial exopolysaccharides. *Polymer Testing*. 2020; 89: 106592. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106592>
19. Gao F. Iron-sulfur cluster biogenesis and iron homeostasis in cyanobacteria. *Frontiers in Microbiology*, 2020; 11: 165. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00165>
20. Ghorbani E, Nowruzi B, Nezhadali M, Hekmat A. Metal removal capability of two cyanobacterial species in autotrophic and mixotrophic mode of nutrition. *BMC Microbiology*, 2022; 22(1): 58. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02471-8>
21. Chorus I, Fastner J, Welker M. Cyanobacteria and cyanotoxins in a changing environment: Concepts, controversies, challenges. *Water*, 2021; 13(18): 2463. <https://doi.org/10.3390/w13182463>
22. Roncero-Ramos B, Román J, Gómez-Serrano C, Cantón Y, Ación F. Production of a bio-crust-cyanobacteria strain (*Nostoc commune*) for large-scale restoration of dryland soils. *Journal of Applied Phycology*, 2019; 31: 2217-30. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-1749-6>
23. Carpine R, Olivieri G, Hellingwerf KJ, Pollio A, Marzocchella A. Industrial

- production of poly- $\beta$ -hydroxybutyrate from CO<sub>2</sub>: can cyanobacteria meet this challenge?. *Processes*, 2020; 8 (3): 323. <https://doi.org/10.3390/pr8030323>
24. Nowruzi B, Porzani SJ. Study of temperature and food-grade preservatives affecting the in vitro stability of phycocyanin and phycoerythrin extracted from two Nostoc strains. *Acta Biologica Slovenica*, 2022; 65(1): 28-47. <https://doi.org/10.14720/abs.65.1.16225>
  25. Nowruzi B, Porzani SJ. Toxic compounds produced by cyanobacteria belonging to several species of the order Nostocales: A review. *Journal of Applied Toxicology*, 2021; 41(4): 510-48. <https://doi.org/10.1002/jat.4088>
  26. Borah D, Nainamalai S, Gopalakrishnan S, Rout J, Alharbi NS, Alharbi SA, et al. Biolubricant potential of exopolysaccharides from the cyanobacterium *Cyanothece epiphytica*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2018; 102: 3635-47. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8892-x>
  27. Simonazzi M, Pezolesi L, Galletti P, Gualandi C, Pistocchi R, De Marco N, et al. Production of polyhydroxybutyrate by the cyanobacterium cf. *Anabaena* sp. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021; 191: 91-92. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.054>
  28. Hasegawa D, Kito K, Maeda T, Rai V, Cha-Um S, Tanaka Y, et al. Functional characterization of aminotransferase involved in serine and aspartate metabolism in a halotolerant cyanobacterium, *Aphanothece halophytica*. *Protoplasma*, 2019; 256: 1727-1736. <https://doi.org/10.1007/s00709-019-01414-x>
  29. Singh S, Kant C, Yadav RK, Reddy YP, Abraham G. Cyanobacterial exopolysaccharides: composition, biosynthesis, and biotechnological applications. *Cyanobacteria*, 2019; 347-58 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814667-5.00017-9>
  30. Moore KA, Altus S, Tay JW, Meehl JB, Johnson EB, Bortz DM, et al. Mechanical regulation of photosynthesis in cyanobacteria. *Nature Microbiology*, 2020; 5(5): 757-67. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0684-2>
  31. Brandenburg F, Klähn S. Small but smart: on the diverse role of small proteins in the regulation of cyanobacterial metabolism. *Life*, 2020; 10(12): 322. <https://doi.org/10.3390/life10120322>
  32. Norena-Caro DA, Zuniga C, Pete AJ, Saemundsson SA, Donaldson MR, Adams AJ, et al. Analysis of the cyanobacterial amino acid metabolism with a precise genome-scale metabolic reconstruction of *Anabaena* sp. UTEX 2576. *Biochemical Engineering Journal*, 2021; 171: 108008. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2021.108008>
  33. Romeu MJ, Domínguez-Pérez D, Almeida D, Morais J, Araújo MJ, Osório H, et al. Hydrodynamic conditions affect the proteomic profile of marine biofilms formed by filamentous cyanobacterium. *npj Biofilms and Microbiomes*, 2022; 8(1): 80. <https://doi.org/10.1038/s41522-022-00340-w>
  34. Zappa S, Bauer CE. The maintenance of iron homeostasis among prokaryotic phototrophs. *Modern Topics in the Phototrophic Prokaryotes: Metabolism, Bioenergetics, and Omics* 2017: 123-61. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-51365-2\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-51365-2_4)
  35. Singh JS, Kumar A, Singh M. Cyanobacteria: a sustainable and commercial bio-resource in production of bio-fertilizer and bio-fuel from waste waters. *Environmental and Sustainability Indicators* 2019; 3: 100008. <https://doi.org/10.1016/j.indic.2019.100008>
  36. Rath S, Palit K, Das S. Variable pH and subsequent change in pCO<sub>2</sub> modulates the biofilm formation, synthesis of extracellular polymeric substances, and survivability of a marine bacterium *Bacillus stercoris* GST-03. *Environmental Research* 2022; 214: 114128. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114128>
  37. Van Camp C, Fraikin C, Claverie E, Onderwater R, Wattiez R. Capsular polysaccharides and exopolysaccharides from *Gloeotheca verrucosa* under various nitrogen regimes and their potential plant defence stimulation activity. *Algal Research*, 2022; 64: 102680. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102680>
  38. Gupta P, Diwan B. Bacterial exopolysaccharide mediated heavy metal removal: a review on biosynthesis, mechanism and remediation strategies. *Biotechnology Reports*, 2017; 13: 58-71. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.12.006>