University of Hormozgan

Journal of Aquatic Ecology

ISSN Print: 2322-2751 ISSN Online: 2980-9355

Homepage: https://jae.hormozgan.ac.ir

# Bioremediation of heavy metals from desalination wastewater using microalgae *Dunaliella salina*

Maryam Moezzi[1]✉, Mohammad Seddiq Mortazavi[4], Masoud Seydgar[2], Mohammad Reza Zahedi[1], Seyedeh Leili Mohebi[1], Mohammad Sheikhasadi[1], Gholamali Akbarzadeh Chomachaei[1], Fereshteh Saraji[1], Hadi Koohkan[1], Roudabeh Rufchaie[3], and Mansour Sharifian[4]

1. Persian Gulf and Oman Sea Ecological Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran.
2. National Artemia Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Urmia, Iran.
3. Inland Water Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran.
4. Iranian Fisheries Science Research Institute, Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

## Article Info

**Article type:**
Research Article

**Article history:**
Received: 27 May 2025
Accepted: 24 September 2025
Published: 12 May 2026

✉**Corresponding Author:**
maryammoezzi1360@gmail.com

***Keywords***:
*Desalination plant,*
*effluent,*
*microalgae,*
*heavy metals,*
*Dunaliella salina*.

## ABSTRACT

The rapid expansion of desalination plants worldwide, including in Iran, has raised increasing concerns regarding the management, disposal, and environmental impacts of desalination effluents. The present study was conducted at the Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Institute to evaluate the feasibility of reducing heavy metal concentrations in desalination plant effluents using a biological treatment approach based on the microalga *Dunaliella salina*. The experiment was carried out over a 14-day period using three treatments with three replicates each: (1) cultivation of *D. salina* in seawater with a salinity of 38 ppt; (2) cultivation in desalination plant effluent with a salinity of 65 ppt; and (3) cultivation in seawater adjusted to the same salinity level as the desalination effluent. Initially, the concentrations of heavy metals including Ni, Pb, Cr, Zn, Cu, Cd, and Fe were measured in both seawater and desalination effluent samples. During the experiment, microalgal cell density was monitored, and the removal efficiency of heavy metals was determined at the end of the cultivation period. Analysis of variance (ANOVA) demonstrated significant differences among treatments in algal cell density ($p \leq 0.05$). The highest cell density was observed in treatment 1 ($52.8 \times 10^6$ cells $mL^{-1}$), whereas the lowest density occurred in treatment 3 ($0.44 \times 10^6$ cells $mL^{-1}$). The percentages of heavy metal removal by *D. salina* in treatments 1, 2, and 3, respectively, were as follows: Fe (77.21%, 80.59%, 77.54%), Zn (42.76%, 46.43%, 55.28%), Cu (35.35%, 48.79%, 41.18%), Ni (45.18%, 26.31%, 41.55%), Pb (76.83%, 74.66%, 75.75%), Cr (42.92%, 37.49%, 35.50%), and Cd (26.55%, 24.34%, 29.19%). Except for Pb, significant differences were observed between treatments 1 and 2 as well as between treatments 2 and 3 ($p \leq 0.05$). The relatively high removal efficiency observed in treatment 2 may be associated with the uptake and utilization of heavy metals by the microalgae as micronutrients required for growth and metabolism. Overall, the findings indicate that *D. salina* effectively reduced heavy metal concentrations in desalination effluents through biological absorption and accumulation processes. Considering that heavy metal concentrations were reduced to levels closer to environmental standards following microalgal cultivation, the use of *D. salina* may represent a promising and environmentally sustainable strategy for mitigating heavy metal pollution and improving the ecological quality of desalination plant wastewater before discharge into marine environments.

CC BY NC

Publisher: University of Hormozgan

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-10-14 ]

# EXTENDED ABSTRACT

## Introduction

Freshwater is an essential natural resource that supports human societies, agriculture, industry, and aquatic ecosystems. Over recent decades, rapid population growth, industrialization, and increasing water demand have intensified pressure on conventional freshwater resources (Jones *et al.,* 2019; Panagopoulos *et al.,* 2019). Consequently, many countries have increasingly relied on seawater desalination as an effective and sustainable approach for freshwater production. In the Persian Gulf region, desalination of seawater represents one of the primary sources of potable water. However, desalination processes generate large volumes of hypersaline effluents containing various pollutants that are discharged into marine environments.

Among these pollutants, heavy metals are of particular environmental concern because of their persistence, bioaccumulation potential, and toxic effects on aquatic organisms and ecosystems. Therefore, the development of environmentally sustainable approaches for reducing pollution from desalination effluents has become increasingly important. In recent years, biological treatment methods using salinity-tolerant aquatic organisms, including microalgae, macroalgae, and certain zooplankton species, have received considerable attention for their capacity to absorb and remove pollutants from aquatic systems (Sohrabipour, 2014).

The microalga *Dunaliella salina* is recognized as a highly salinity-tolerant species with the potential to absorb and accumulate heavy metals from aquatic environments. Considering the rapid expansion of desalination plants in Iran, particularly in Hormozgan Province, the present study aimed to evaluate the feasibility of using *D. salina* as a biological agent for reducing heavy metal concentrations in desalination plant effluents.

## Materials and Methods

In this study, physicochemical parameters including salinity, temperature, and pH were measured at the desalination plant site. Effluent samples were then transferred to the Persian Gulf and Oman Sea Ecological Research Institute for heavy metal analysis. The experiment was conducted over a 14-day period using three treatments with three replicates each: (1) cultivation of *D. salina* in seawater (treatment 1), (2) cultivation in desalination plant effluent (treatment 2), and (3) cultivation in seawater adjusted to the same salinity as the desalination effluent (treatment 3). The microalgae were cultured in filtered and sterilized seawater or effluent supplemented with modified Johnson medium (Borowitzka, 2005) under standard laboratory conditions (Vijayaraghan *et al*., 2005).

Cell density and growth trends of *D. salina* were monitored every two days and recorded as cells $mL^{-1}$ (Hasle et al., 1996). At the beginning and end of the experiment, heavy metal concentrations in the culture medium were measured. To determine heavy metal removal efficiency, water samples were centrifuged at 3000 rpm to separate algal biomass from the

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-10-14 ]

liquid phase and then filtered through 0.45 µm filter paper to ensure complete removal of cells. Concentrations of Cd, Pb, Ni, Cr, Zn, Cu, and Fe were analyzed using ICP-AES (Hassan and Basahi, 2013; Al-Dhaibani *et al.,* 2013), and heavy metal removal percentages were subsequently calculated (Lawal *et al.,* 2020).

## Results

The results demonstrated significant differences in the growth performance of *D. salina* among treatments ($p \leq 0.05$). Treatment 1 exhibited the highest final cell density ($52.8 \pm 26.59 \times 10^6$ cells $mL^{-1}$), whereas treatment 3 showed the lowest final density ($0.44 \pm 1.13 \times 10^6$ cells $mL^{-1}$). The growth trend in treatment 1 remained positive throughout the experimental period and differed significantly from the other treatments ($p \leq 0.05$). Analysis of heavy metal removal efficiency showed that treatment 2 exhibited the highest removal percentages for certain metals, particularly iron ($80.45 \pm 0.27\%$) and copper ($48.86 \pm 0.15\%$), which differed significantly from the other treatments ($p \leq 0.05$). In contrast, treatment 1 demonstrated the highest removal percentages for lead ($76.99 \pm 0.44\%$), chromium ($42.95 \pm 0.06\%$), and nickel ($45.12 \pm 0.22\%$), despite the higher initial concentrations of these metals in treatment 2. Furthermore, treatment 3 exhibited the highest removal efficiency for cadmium ($29.23 \pm 0.21\%$) and zinc ($55.63 \pm 0.19\%$), showing significant differences compared with the other treatments. Overall, the results confirmed that cultivation of *D. salina* reduced heavy metal concentrations in desalination effluents under different salinity conditions.

## Conclusion

The present study evaluated the feasibility of reducing heavy metal pollution in desalination plant effluents using a biological treatment method based on cultivation of *D. salina*. Physicochemical analyses indicated that the temperature and pH of the effluent were within suitable ranges for aquaculture conditions in Hormozgan Province, although the elevated salinity limited its suitability for many aquatic species. The growth performance of *D. salina* demonstrated that this microalga was capable of surviving and proliferating under desalination effluent conditions. Moreover, the significant reduction in heavy metal concentrations following cultivation confirmed the ability of the microalga to absorb and remove pollutants from the culture medium.

Therefore, *D. salina* can be considered a promising bioremediation and biofiltration organism for reducing heavy metal pollution in desalination plant effluents. The application of this biological approach may contribute to improving the environmental sustainability of desalination activities and reducing the ecological impacts of effluent discharge into marine ecosystems.

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-10-14 ]

بوم‌شناسی آبزیان
شاپا چاپی: ۲۷۵۱-۲۳۲۲ شاپا الکترونیکی: ۹۳۵۵-۲۹۸۰
https://jae.hormozgan.ac.ir
دانشگاه هرمزگان

# پالایش زیستی فلزات سنگین از تلخاب آب شیرین کن با استفاده از ریزجلبک *Dunaliella salina*

**مریم معزی[۱]✉، محمد صدیق مرتضوی [۴]، مسعود صیدگر[۲]، محمدرضا زاهدی[۱]، سیده لیلی محبی[۱]، محمد شیخ اسدی[۱]، غلامعلی اکبرزاده چماچایی[۱]، فرشته سراجی[۱]، هادی کوهکن[۱]، رودابه روفچایی[۳]، منصور شریفیان[۴]**

۱. پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران.
۲. مرکز تحقیقات آرتمیای کشور، موسسه تحقیقات شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران.
۳. پژوهشکده آبزی‌پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران.
۴. موسسه تحقیقات شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

**اطلاعات مقاله**

**نوع مقاله:**
مقاله پژوهشی

**تاریخ دریافت:** ۱۴۰۴/۰۳/۰۶
**تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۴/۰۷/۰۲
**تاریخ انتشار:** ۱۴۰۴/۱۲/۰۵

✉ **نویسنده مسئول:**
maryammoezzi1360@gmail.com

**کلیدواژه‌ها:**
تلخاب آب‌شیرین‌کن،
ریز جلبک،
فلزات سنگین،
*Dunaliella salina* .

**چکیده**

با توسعه آب‌شیرین‌کن‌ها در دنیا از جمله ایران نگرانی درباره تلخاب، دفع مناسب و کاهش بار آلودگی آن وجود دارد. مطالعه حاضر با هدف امکان‌سنجی کاهش آلاینده‌های فلزات سنگین تلخاب به‌روش زیستی، تابستان سال ۱۴۰۳ در مقیاس آزمایشگاهی در سالن آبزی‌پروری پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس و دریای‌عمان انجام شد. این پژوهش طی دوره ۱۴ روزه در ۳ تیمار: کشت ریز جلبک *Dunaliella salina* در آب دریا با شوری ppt ۳۸ (تیمار ۱)، تلخاب آب‌شیرین‌کن با شوری ppt ۶۵ (تیمار ۲) و آب دریای به شوری تلخاب رسیده (تیمار۳) با ۳ تکرار اجرا شد. ابتدا فلزات سنگین (نیکل، سرب، قلع، روی، مس، کادمیوم، آهن) در تلخاب و آب دریا مورد سنجش قرار گرفت. سپس تراکم سلولی *D.salina* طی دوره و میزان حذف فلزات سنگین پایان دوره مورد سنجش و محاسبه قرار گرفت. نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد اختلاف معنی‌داری بین بیشترین و کمترین تراکم سلولی که به ترتیب متعلق به تیمار اول $۵۲/۸ \times ۱۰^{۶}$ سلول در میلی‌لیتر و تیمار سوم $۴۴/۰ \times ۱۰^{۶}$ سلول در میلی لیتر بود وجود داشت ($p\leq ۰/۰۵$). درصد حذف فلزات سنگین توسط *D.salina* به‌ترتیب در تیمار اول، دوم و سوم برای آهن (۷۷/۲۱، ۸۰/۵۹، ۷۷/۵۴)، روی (۴۲/۷۶، ۴۶/۴۳، ۵۵/۲۸)، مس (۳۵/۳۵، ۴۸/۷۹، ۴۱/۱۸)، نیکل (۴۵/۱۸، ۲۶/۳۱، ۴۱/۵۵)، سرب (۷۶/۸۳، ۷۴/۶۶، ۷۵/۷۵)، کروم (۴۲/۹۲، ۳۷/۴۹، ۳۵/۵۰) و کادمیوم (۲۶/۵۵، ۲۴/۳۴، ۲۹/۱۹) درصد بود. نتایج حاصله، اختلاف معنی‌داری بین تیمار اول و دوم و همچنین بین تیمار دوم و سوم به جز فلز سرب نشان داد ($p\leq ۰/۰۵$). از اینرو تیمار دوم که از تلخاب استفاده شده بود درصد حذف فلزات سنگین بالاتری داشت. احتمال می‌رود نتایج فوق به‌دلیل استفاده ریزجلبک از آن‌ها به‌عنوان مواد ریزمغذی بوده است. بنابراین می‌توان گفت *D.salina* با حذف فلزات سنگین از تلخاب، غلظت آن‌ها را کاهش داده بود. بنابراین می‌توان کشت ریزجلبک *D.salina* را به عنوان راهکاری مؤثر جهت کاهش آلاینده‌های فلزات سنگین و متعادل‌سازی آب خروجی آب‌شیرین‌کن از نقطه نظر آلودگی پیشنهاد داد.

ناشر: دانشگاه هرمزگان.

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-10-14 ]

## مقدمه

طی چند دهه گذشته، به دلیل رشد چشمگیر جمعیت انسانی و فعالیت‌های صنعتی، منجر به تقاضای قابل توجهی برای آب شیرین و تمیز شده است، از اینرو امنیت آب در سطح جهانی رو به وخامت گذاشته است (Danoun., 2007; Jones *et al*., 2019; Omerspahic *et al*.,2022). برای رویارویی با این چالش‌ها و پاسخگویی به فشارهای تقاضا، یافتن جایگزین جدیدی برای منابع آب بسیار مهم است، زیرا می‌توان گفت منابع آب طبیعی در اثر تغییرات آب و هوایی، شهرنشینی گسترده و آلودگی مداوم منابع آب شیرین تقریباً از بین رفته‌اند (Servic,2006; Dias *et al*.,2015). در نتیجه، اکثر کشورها بر روی روش‌های موجود جهت جمع‌آوری منابع آب متعارف تمرکز کرده‌اند که نگرانی بزرگی برای آینده بشریت است و باید به آن پرداخته شود (Mansour *et al*.,2017; Panagopoulos *et al*., 2019).

در برخی از خشک‌ترین بخش‌ها، به ویژه کشورهای حوزه خلیج‌فارس که در آن آب آشامیدنی تمیز و طبیعی در دسترس نیست یا بسیار محدود است یکی از مهمترین راهکارها برای تأمین آب شرب آشامیدنی و یا در بخش کشاورزی و صنایع، آب شیرین‌کن‌ها می‌باشند. در مناطق جنوبی کشور ایران بدلیل کمبود منبع آب شیرین، از طریق نمک‌زدایی از آب‌های سواحل خلیج فارس و دریای عمان آب تمیز و شیرین به دست می‌آید. نمک‌زدایی یک فرآیند چند مرحله‌ای است که آب شور را به دو محصول تقسیم می‌کند: محصول اول آب شیرین و محصول جانبی آن آب نمک بسیار غلیظ است (Mavukkandy *et al*., 2019). طی این فرآیند مقادیر زیادی تلخاب (آب نمک غلیظ) نیز به دریا تخلیه می‌شود. تلخاب خروجی توانایی تغییر شوری، قلیائیت و میانگین دمای آب دریا را دارد و می‌تواند باعث تغییر در برخی فاکتورها شود (Danoun.,2007). شوری این تلخاب حداقل دو برابر بیشتر از آب دریا غلظت دارد. همچنین برخی ترکیبات فلزات سنگین و آلودگی‌های دیگر در آن وجود دارد. در نتیجه، نمک‌زدایی از آب دریا به ویژه در مناطقی که آب شیرین کمیاب است، مانند خاورمیانه و شمال آفریقا (MENA) که نیمی از تمام فعالیت‌های شیرین‌سازی آب‌های شور جهانی را تشکیل می‌دهند، رواج بیشتری پیدا کرده است (Blanco-Marigorta *et al*., 2017; Fernández-Torquemada *et al*., 2019; Jones *et al*., 2019).

منبع اصلی آلودگی ناشی از صنعت نمک‌زدایی، کیفیت آب دریا، کلرزنی اولیه، مواد شیمیایی که طی فرآیندهای کنترل رسوب، کف و خوردگی اضافه می‌شوند می‌باشد. این آلاینده‌ها در دو نوع اصلی و به شکل سمی شامل مواد شیمیایی آلی و فلزات سنگین وجود دارند. ترکیبات آلی در نهایت به کربن و هیدروژن تجزیه می‌شوند. اما فلزات به مواد کم‌ضرر تجزیه نمی‌شوند. آن‌ها می‌توانند در جایی که آزاد می‌شوند تجمع یابند، مشروط بر اینکه توسط جزر و مد، جریان‌ها، طوفان‌ها و لایروبی جابجا نشوند (Arain *et al*., 2002). تخلیه فلزات سنگین از طریق تلخاب آب‌شیرین‌کن‌ها یک مشکل جدی آلودگی است. این فلزات در طبیعت تجمع‌پذیر و سمی هستند (Chandy,1999). همچنین اثر فلزات سنگین، به ویژه مس، روی، کادمیوم، سلنیوم، می‌تواند هم‌افزایی باشد (Ben-Amotz.,2003). بنابراین با توجه به دغدغه‌های پیش رو در زمینه دفع تلخاب آب‌شیرین‌کن‌ها و همچنین روشی مؤثر برای کاهش میزان آلودگی، پژوهشگران و محققین بدنبال راهکارهای مناسب و کاربردی جهت کاهش میزان آلودگی و دفع مناسب این تلخاب‌ها هستند.

بسیاری از پژوهشگران معتقدند که با استفاده از دستگاه آب‌شیرین‌کن دریایی و سایر شیوه‌های مؤثر نمک‌زدایی، می‌توان به آن به جای یک مشکل زیست محیطی به یک فرصت اقتصادی هم نگاه کرد. برجای ماندن حجم زیادی از نمک در فرآیندهای نمک‌زدایی، به‌عنوان یک معضل اساسی معرفی می‌شود، این درحالیست که با ساماندهی مناسب، می‌توان از این تلخاب و نمک‌های استخراج شده بهره برد. همچنین با برنامه‌ریزی و تولید برخی گونه‌های آبزی به عنوان یک موجود فیلترکننده و حامل ترکیبات، تا جایی که امکان دارد از میزان بعضی آلودگی‌ها کاست. تحقیقات و مطالعات مستمر و متعددی جهت استفاده و یا دفع این تلخاب‌ها صورت گرفته است این روش‌ها می‌تواند فیزیکی، شیمیایی و یا زیستی باشد. در میان روش‌های ذکر شده، اخیراً استفاده از روش زیستی با رشد گونه‌های خاصی از آبزیان و بسترسازی استخرهای آبزی‌پروری و استفاده از ریزجلبک‌ها و ماکروجلبک‌ها و برخی

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-10-14 ]

گونه‌های پلانکتونی جانوری که مقاوم به‌شوری هستند بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Meng *et al*.,2009; Sohrabipour *et al*.,2014).

بر اساس تحقیقات انجام شده اغلب جلبک‌های تک سلولی توانایی تغلیظ فلزات سنگین را در خود دارند. جلبک‌ها پس از ذخیره‌سازی فلزات سنگین در خود می‌توانند فلزات را از حالت محلول از آب خارج نموده و آنرا به سطوح بالاتر زنجیره غذایی انتقال دهند (Khummongko *et al*., 1982). برخی از انواع این ریزجلبک‌ها شامل گونه‌های *Spirulina*، *Chlorella*، *Haematococcus* و *Dunaliella* می‌باشد که می‌توانند در آب‌های بسیار شور، سریع و به‌طور فراوان رشد کنند (Abdel-Raouf *et al*., 2012). تصفیه زیستی با جلبک‌ها به دلیل قابلیت‌های فتوسنتزی آن‌ها، تبدیل انرژی خورشیدی به زی‌توده‌های مفید و ترکیب مواد مغذی مانند نیتروژن و فسفر که باعث اتروفیکاسیون می‌شوند جذاب است (De la Nou and Basseres, 1989). علاوه‌بر این در مقایسه با فرآیندهای تصفیه فیزیکی و شیمیایی، تصفیه مبتنی بر جلبک می‌تواند به‌طور بالقوه، حذف مواد مغذی را به روشی ارزان‌تر، اقتصادی‌تر و از نظر اکولوژیکی ایمن‌تر و با مزایای اضافی بازیابی منابع، انجام دهد (Bhatnagar and Kumari, 2013). در مطالعات متعدد گزارش شده بسیاری از جاذب‌های زیستی از زی‌توده جلبکی گرفته تا قارچی و باکتریایی جهت این کار مورد استفاده قرار گرفتند (Mclean and Beveridge, 2001; Fredrickson *et et al*., 2005). مطالعات زیادی جهت آزمایش امکان استفاده از انواع مختلف فاضلاب برای کشت ریزجلبک‌ها انجام شده بود (Kong *et al*.,2010). Wang و همکاران (2010) گزارش کردند که رشد ریزجلبک‌ها در مرکزی غنی از مواد مغذی گزینه جدیدی جهت کاهش بار مواد مغذی و فلزات سنگین از فاضلاب می‌باشد (Wang *et al*.,2010). بنابراین ریزجلبک *Dunaliella* می‌تواند به‌عنوان یک موجود کاهنده سمیت فلزات سنگین از فاضلاب آلوده برای سلامت انسان استفاده شود (Qari and Hassan, 2014). با توجه به توسعه یافتن تأسیسات آب‌شیرین‌کن در دنیا و همچنین در کشورمان ایران به‌خصوص در استان جنوبی کشور هرمزگان، که چند سالی است جهت تأمین آب صنایع و شرب مورد استفاده قرار می‌گیرند، مسلماً این تأسیسات دارای حجم بالایی تلخاب هستند که نیاز مطالعاتی بیشتری در زمینه متعادل سازی و کاهش آلاینده‌های تلخاب احساس می‌شود. بنابراین بررسی امکان رشد گونه ریزجلبکی *D.salina* در تلخاب آب‌شیرین‌کن با شوری حداقل دو برابر آب دریا و دارای آلاینده‌های همچون فلزات سنگین، به‌عنوان گونه‌ای که مقاوم به شوری وهمچنین قادر به جذب نمک و برخی آلاینده‌ها به‌خصوص فلزات سنگین می‌باشد مورد توجه قرار بود و نیاز به بررسی در شرایط موجود در استان هرمزگان را داشت. از این‌رو در این مطالعه به بررسی امکان‌سنجی کاهش غلظت برخی آلاینده‌های فلزات سنگین در خروجی واحدهای آب‌شیرین‌کن ساحلی به روش زیستی پرداخته شد.

## مواد و روش‌ها

جهت انجام این تحقیق ابتدا یکی از آب‌شیرین‌کن‌ها در محدوده غرب شهر بندرعباس نزدیک مجتمع کشتی‌سازی با مشخصات جغرافیایی ۲۷/۰۳۳۱۵ ، ۵۵/۹۳۵۴۲ انتخاب و حجم ۴ تن تلخاب حاصل از شیرین‌سازی به روش اسمز معکوس برداشت و برای استفاده طی دوره آزمایش در مخازن پلی‌اتیلنی دربدار ذخیره و توسط ماشین، در تابستان ۱۴۰۳ به سالن بخش آبزی‌پروری پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان واقع در شهر بندرعباس منتقل شد. فاکتورهای اولیه شامل شوری، دما و pH آب در محل برداشت تلخاب توسط دستگاه مولتی‌پارامتر آکوآرد ساخت آلمان اندازه‌گیری و نمونه‌ای از تلخاب جهت سنجش میزان فلزات سنگین (نیکل، سرب، قلع، روی، مس، کادمیوم، آهن) مورد نظر تلخاب به پژوهشکده منتقل شد. آزمایش مورد نظر در ۳ تیمار شامل کشت ریزجلبک *D.salina* در آب دریا با شوری ۳۸ ppt (تیمار ۱)، تلخاب آب‌شیرین‌کن با شوری ۶۵ ppt (تیمار ۲) و آب دریای به شوری تلخاب رسیده (تیمار ۳) طی یک دوره ۱۴ روزه در ۳ تکرار انجام گرفت. استوک خالص *D.salina* از آزمایشگاه مرکزی فایکولب پژوهشکده آب‌های داخلی بندر انزلی تهیه شد. سپس استوک میکروجلبک *D.salina* به ظروف ۵۰۰ سی‌سی و پس از آن در ظروف ۱ الی ۵ لیتری حاوی آب فیلتر و استریل شده‌ی دریا، آب فیلتر شده‌ی دریا به همراه نمک دریا (به ازای هر ppt ۱ افزایش شوری ۱ گرم نمک دریا به آب دریا افزوده شد) به‌عنوان آب به شوری تلخاب رسیده و تلخاب

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-10-14 ]

آب‌شیرین‌کن به همراه محیط کشت اختصاصی (جانسون تغییر یافته) (Borowitzka, 2005; Chen and pan., 2005) منتقل شد و در شرایط دمایی ۲۴ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد و زیر نور با شدت ۴۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس (شرایط استاندارد) کشت داده شد (Lavens and Sorgeloos, 1996; Vijayaraghan *et al*.,2005 ). از ابتدای شروع آزمایش و کشت ریزجلبک، جهت بررسی روند رشد و تراکم سلولی، یک روز در میان پس از همگن سازی محیط کشت، چند سی‌سی نمونه از ظروف تیمارهای آزمایش برداشت و پس از فیکس کردن توسط فرمالین ٪۴ با استفاده از لام هموسیتومتر و میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰x (نیکون اینورت $T_{100}$) شمارش سلولی انجام گرفت و بر حسب سلول در میلی‌لیتر ثبت گردید (Hasle *et al*., 1996).

جهت سنجش میزان فلزات سنگین حذف شده از آب، ابتدا و پایان دوره سنجش فلزات سنگین از آب محیط کشت ریزجلبک انجام گرفت (Qari and Hassan, 2014). بدین صورت که حجم مشخصی از آب جهت جداسازی فاز آب و سلول‌های جلبکی برداشت و با دور ۳۰۰۰ توسط سانتریفیوژ جداسازی و سپس توسط کاغذ فیلتر ۰/۴۵ میکرون فیلتر شد. پس از فیلتراسیون آماده سازی نمونه با افزودن اسیدسولفوریک غلیظ (۹۶ درصد) تا رساندن pH نمونه‌ها به زیر ۲ انجام شد. نمونه‌ها در شیشه‌های تیره آزمایشگاهی نگهداری و به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه، محلول استاندارد ppm ۱۰۰۰ هر فلز تهیه و با آب مقطر جهت تهیه محلول وورک (work solution) رقیق گردید و پس از آن برای هر فلز محلول استاندارد در غلظت‌های مورد نظر تهیه شد. سپس توسط دستگاه طیف‌سنجی انتشار اتمی پلاسمای جفت القایی منحنی کالیبراسیون هر فلز رسم گردید. اندازه‌گیری فلزات سنگین با استفاده از دستگاه ICP-AES (شرکت Agilent مدل series-۷۰۰) مورد سنجش قرار گرفت ( Hassan and Basahi, 2013; Al- Dhaibani *et al*., 2013). سپس با استفاده از رابطه ۱ درصد حذف (R) محاسبه گشت (Lawal *et al*., 2020).

$$R=\frac{(Ci-Ce)}{Ci}*100 \qquad \text{رابطه ۱)}$$

$C_i$ و $C_e$ به ترتیب غلظت اولیه و نهایی محلول بر حسب میکروگرم در لیتر است. درصد ریکاوری و LOD هر فلز برای دستگاه به شرح ذیل بود ( جدول ۱ ).

**جدول ۱- درصد ریکاوری و LOD هر فلز**

| فلزات سنگین | آهن | روی | سرب | نیکل | مس | کروم | کادمیوم |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **درصد ریکاوری** | ۹۸/۱ | ۹۶/۶ | ۹۷/۵ | ۱۰۱ | ۹۸/۳ | ۹۸/۸ | ۱۰۲/۲ |
| **LOD(ppb)** | ۶/۲ | ۳/۷ | ۱/۳ | ۶/۴ | ۶/۱ | ۵/۶ | ۰/۵ |

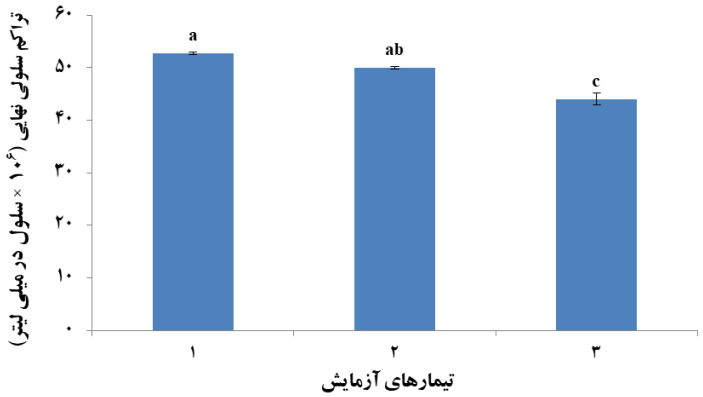
تجزیه و تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶) انجام شد. اطلاعات و داده‌های بدست آمده در نرم‌افزار اکسل (۲۰۱۰) وارد و نتایج توصیفی بصورت جدول و نمودار تهیه گردید. پس از کنترل همگنی واریانس‌ها با آزمون لون و نرمال بودن داده‌ها به‌وسیله آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، جهت مقایسه تیمارها از آنالیز واریانس یک‌طرفه و از پس آزمون توکی جهت مقایسه میانگین تیمارها استفاده شد. در مواقعی که داده‌ها نرمال نبودند از آزمون ناپارامتریک کروسکال والیس و یا کولموگروف- اسمیرنوف جهت مقایسه تیمارها استفاده شد. آنالیزهای آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد و نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه گردید.

## نتایج

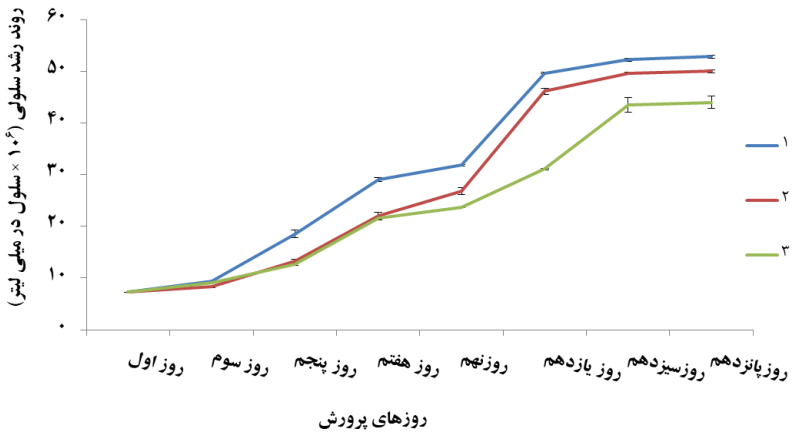
[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-10-14 ]

نتایج فاکتورهای اولیه فیزیکی–شیمیایی تلخاب در زمان برداشت و انتقال آن به سالن آبزی‌پروری پژوهشکده نشان داد میزان دما ۳۲ درجه سانتی‌گراد، pH برابر با ۸/۱۳ و شوری ۶۵ ppt ثبت گردید.

نتایج آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA نشان داد، که تراکم سلولی نهایی شمارش شده در این تحقیق در تیمار ۱ با میانگین (±se) ۲۶۵۹۱۵ ± ۱۰^۶ × ۵۲/۸ سلول در میلی‌لیتر بیشترین تراکم و تیمار ۳ با میانگین ۱۱۳۷۲۴۸ ± ۱۰^۶ × ۴۴/۰ سلول در میلی‌لیتر کمترین تراکم سلولی را داشت (شکل ۱). این نتایج نشان دهنده اختلاف معنی‌داری بین این دو تیمار بود ($p\leq$ ۰/۰۵). همچنین نتایج حاصله نشان داد تیمار ۲ نیز دارای تراکم سلولی با میانگین ۲۶۵۹۱۵ ± ۱۰^۶ × ۵۰/۰ سلول در میلی‌لیتر بود که با تیمار ۱ اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p\leq$ ۰/۰۵) (شکل ۱). همچین روند رشد ریزجلبک *D.salina* از ابتدای دوره تا انتهای دوره و رسیدن به فاز نهایی، رشد افزایشی و مثبتی داشت که این روند رشد در تیمار اول بهتر و همچنین تراکم سلولی روزانه آن طی دوره نسبت به بقیه تیمارها بیشتر و دارای اختلاف معنی‌دار بود ($p\leq$ ۰/۰۵) (شکل ۲).




**شکل ۱- تراکم سلولی نهایی ریزجلبک *D.salina* در هر تیمار در شرایط آزمایشگاهی**




**شکل ۲- روندرشد ریزجلبک *D.salina* در هر تیمار در شرایط آزمایشگاهی**

در تحقیق حاضر ابتدا فلزات سنگین (میکروگرم در لیتر) نمونه آب تیمارهای آزمایش همراه با محیط کشت اختصاصی *D.salina* (جانسون تغییریافته) اندازه‌گیری شد (جدول ۱). پس از اتمام دوره آزمایش نیز مجدد میزان فلزات سنگین در نمونه آب تیمارهای آزمایش مورد بررسی و سنجش قرار گرفت. سپس با توجه به میزان اولیه و نهایی فلزات، درصد حذف فلزات سنگین از محیط

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-10-14 ]

کشت ریزجلبک محاسبه گردید. نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) اختلاف معنی‌داری را بین تمامی تیمارهای آزمایش نشان داد ($p\leq$ ۰/۰۵ ) (جدول ۳).

نتایج بدست آمده از محاسبه درصد حذف فلزات سنگین (میانگین ± انحراف معیار) توسط جلبک *D.salina* در شکل (۳) نشان داده شده است. نتایج نشان داد در تیمار ۲ (تلخاب آب‌شیرین‌کن) در فلزاتی مانند آهن ( ۰/۲۷± ۸۰/۴۵ ) و مس ( ۰/۱۵± ۴۸/۸۶ ) که میزان اولیه آن بالاتر از بقیه فلزات نسبت به تیمارهای دیگر بود درصد حذف نیز بیشتر بوده است که اختلاف معنی‌داری را با تیمارهای دیگر نشان داد ($p\leq$ ۰/۰۵ ) (شکل ۳). اما در سرب (۰/۴۴± ۷۶/۹۹)، کروم (۰/۰۶± ۴۲/۹۵) و نیکل (۰/۲۲± ۴۵/۱۲) درصد حذف در تیمار ۱ (آب دریا) نسبت به بقیه تیمارها بیشتر بود و نیز اختلاف معنی داری مشاهده شد ($p\leq$ ۰/۰۵ ) (شکل ۳). اما میزان اولیه سرب، کروم و نیکل در آب تلخاب نسبت به بقیه بیشتر بود. نتایج همچنین برای تیمار ۳ (آب دریای به‌شوری تلخاب رسیده) فلزاتی نظیر کادمیوم (۰/۲۱± ۲۹/۲۳) و روی (۰/۱۹± ۵۵/۶۳) دارای درصد حذف بالاتری بودند که البته میزان اولیه آن‌ها (جدول ۲) نیز در تلخاب بالاتر بود. همچنین اختلاف معنی‌داری را نیز با تیمارهای دیگر در درصد حذف نشان داد ($p\leq$ ۰/۰۵ ) (شکل ۳).

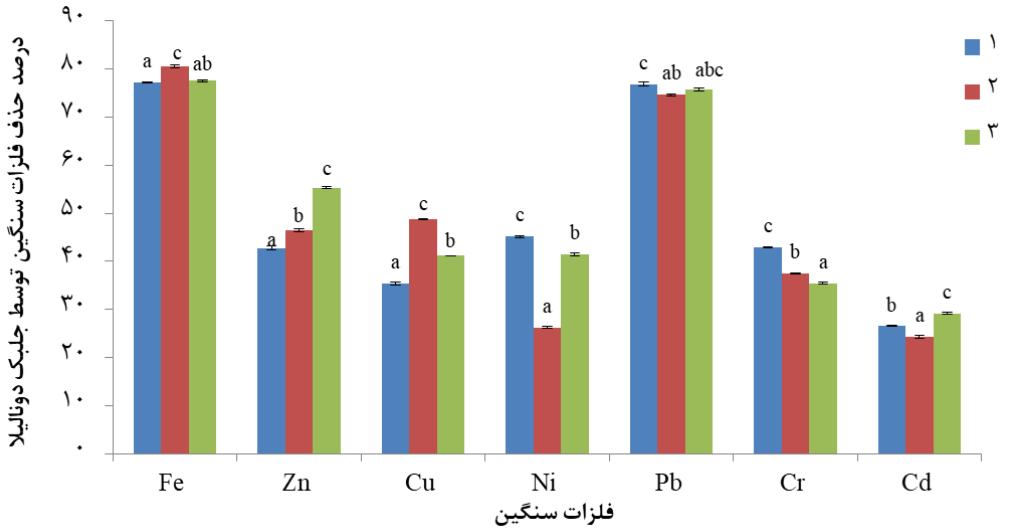
**جدول ۲- میزان فلزات سنگین (میانگین ± انحراف معیار) اندازه‌گیری شده در آب تیمارهای آزمایش در ابتدای دوره (µg/l)**

| فلزات سنگین | تیمار ۱ | تیمار ۲ | تیمار ۳ |
|---|---|---|---|
| **آهن** | ۶۹۷۵/۰۷ ± ۳۰/۳۲ | ±۰۰/۱۰۵۴۰ ۸/۹۲ | ±۸۹/۷۱۷۲ ۲۴/۴۶ |
| **روی** | ±۶۹/۸۳۲۰/۲۹ | ±۰۹/۱۴۴۵ ۲/۲۳ | ±۴۴/۸۵۳ ۵/۳۰ |
| **سرب** | ±۹۵/۷۰/۱۳ | ±۷۸/۱۸۰/۱۶ | ±۹۱/۷۰/۱۰ |
| **نیکل** | ±۲۰/۴۰/۰۵ | ±۶۸/۴۰/۱۲ | ±۸۲/۴۰/۰۷ |
| **مس** | ±۶۳/۱۲۹۴ ۳/۴۰ | ±۷۷/۱۵۰۸۱/۱۱ | ±۵۳/۱۳۵۳۰/۷۷ |
| **کروم** | ±۲۵/۱۰/۰۵ | ±۳۲/۱۰/۰۷ | ±۱۴/۱۰/۰۴ |
| **کادمیوم** | ±۴۵/۷۰/۱۱ | ±۵۵/۸۰/۱۵ | ±۶۳/۷۰/۱۱ |

**جدول ۳-آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA بین تیمارها (اختلاف معنی دار بین تیمارها ($p\leq$ ۰/۰۵))**

| فلزات سنگین | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|
| **آهن** | ۲ | ۱۰/۴۱۵ | ۸۳/۸۶۹ | ۰/۰۰۰ |
| **روی** | ۲ | ۱۲۴/۲۱۷ | ۴۵۹/۴۰۱ | ۰/۰۰۰ |
| **مس** | ۲ | ۱۳۶/۱۳۳ | ۱۴۱۷/۲۳۱ | ۰/۰۰۰ |
| **نیکل** | ۲ | ۳۰۰/۸۶۹ | ۱۸۱۷/۵۵۳ | ۰/۰۰۰ |
| **سرب** | ۲ | ۳/۵۴۳ | ۹/۹۰۲ | ۰/۰۱۳ |
| **کروم** | ۲ | ۴۴/۲۱۹ | ۹۳۸/۳۹۷ | ۰/۰۰۰ |
| **کادمیوم** | ۲ | ۱۷/۶۹۰ | ۱۰۳/۳۸۰ | ۰/۰۰۰ |

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-10-14 ]




**شکل ۳- میانگین (± انحراف معیار) درصد حذف فلزات سنگین توسط ریزجلبک *D.salina* در تیمارهای آزمایش (حروف غیرمشابه نشانه اختلاف معنی‌دار تیمارها برای هر فلز سنگین می‌باشد)**

## بحث

مطالعات متعددی در زمینه آب‌شیرین‌کن‌ها و اثرات منفی آن صورت گرفته است. اما در زمینه کاهش آلاینده‌های مختلف بخصوص کاهش فلزات سنگین از تلخاب آب‌شیرین‌کن‌ها به روش‌های زیستی نیاز به مطالعات بیشتری می‌باشد (Madkour *et al*., 2023; Ziaei *et al*., 2023; Musa *et al*.,2024). اخیراً از بین روش‌های مختلفی که در جهت تصفیه فاضلاب و تلخاب آب‌شیرین‌کن‌ها استفاده می‌شود (Chen *et al*.,2009; Meng *et al*.,2009; Ghanbari *et al*.,2023)، روش زیستی بیشتر مورد توجه می‌باشد و بر روی آن مطالعات کمتری صورت گرفته است (Qari and Hassan, 2014; Mawed *et al*.,2022). بنابراین انجام مطالعات متعدد و انتخاب گونه مناسب که ضمن کمک به کاهش میزان آلاینده‌ها، منجر به تولید محصولاتی شود که کاربرد تجاری و صنعتی هم نیز داشته باشد، مهم بوده و همچنین از پایه‌های اساسی در استفاده چند منظوره نیز می‌باشد (de Souza Celente *et al*.,2024; Matos *et al*.,2024)، که این خود نیز می‌تواند موجب تبدیل تهدید زیست‌محیطی تلخاب آب‌شیرین‌کن‌ها به یک فرصت اقتصادی بزرگ گردد (Fath,2018; de Souza Celente *et al*.,2024; Matos *et al*.,2024). از آبزیانی که مطالعات تقریباً بسیاری در زمینه پرورش و کشت آن در شوری‌های بالا صورت گرفته است ریزجلبک‌ها هستند. به دلیل خصوصیات غیرسمی و مغذی، به‌عنوان غذای مهم برای بسیاری از آبزیان پیشنهاد می‌شوند (Saeed *et al*., 2019). در استفاده از ریزجلبک‌ها به عنوان یک راه حل زیستی با بهره‌وری اقتصادی بالا، گونه‌های متعددی از جلبک‌های سبز و سیانوفیسه‌ها بیشتر مورد مطالعه قرار گرفتند و نتایج این مطالعات نشان داده است که این گونه‌ها قادرند در شوری بالای تلخاب آب‌شیرین‌کن‌ها و در معرض دمای بالا و شدت نور زیاد عملکرد تولیدی داشته باشند (Meng *et al*.,2009; Chen *et al*.,2010). در تحقیق کنونی که با هدف پالایش زیستی فلزات سنگین از تلخاب آب‌شیرین‌کن با استفاده از ریزجلبک *D.salina* انجام شد با پرورش این گونه در تلخاب آب‌شیرین‌کن در مقایسه با آب دریا و و همچنین آب دریایی که شوری آن به شوری تلخاب رسیده بود پرداخته شد. در ابتدای دوره سنجشی از فاکتورهای اولیه فیزیکی–شیمیایی تلخاب انجام شد که نشان داد میزان دما ۳۲ درجه سانتی‌گراد و pH برابر با ۸/۱۳ محدوده مناسب برای پرورش آبزیان در منطقه استان هرمزگان بود. اما شوری ۶۵ ppt تنها برای پرورش برخی گونه‌ها می‌توانست مفید باشد. مطالعات متعدد و برخی سازمان‌های حفاظت محیط زیست حد مجاز و استاندارد رشد مناسب فاکتورهای فیزیکی–شیمیایی آبزیان دریایی را برای دما بسته به موجود آبزی بین ۳۴–۲۰ درجه سانتی‌گراد، برای pH بین ۸/۵–۶/۵ و برای شوری کمتر از ppt ۳۵–۳۸ گزارش دادند (CCME, 2019; EPA, 2020; Aldrees *et al*., 2022). بنابراین با توجه به نتایج حاصله در تحقیق کنونی فاکتورهای مذکور در محدوده‌ی استاندارد قرار داشت و شوری بالا نیز برای گونه مورد نظر در این تحقیق قابل تحمل بود

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-10-14 ]

بخصوص که هدف از اندازه‌گیری این فاکتورها، امکان پرورش گونه ریزجلبکی *D.salina* بود که گونه‌ای مقاوم به شوری و دما و مورد نظر جهت انجام تحقیق کنونی بود. کیفیت محیط پرورش که شامل فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب است یک شاخص اساسی و حیاتی برای رشد است. چرخهٔ حیات و رشد بهینه و مطلوب تا حد زیادی به کیفیت آب بستگی دارد. این پارامترها مانند دما، شوری، pH، اکسیژن محلول و ترکیب شیمیایی آب از عوامل ضروری در وضعیت سلامت موجود پرورشی هستند (Zhang *et al*.,2016). مطالعه حاضر پس از کشت *D.salina* در تیمارهای مورد نظر به بررسی امکان رشد و روند رشد این ریزجلبک پرداخت. که نتایج آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA نشان داد، تراکم سلولی نهایی در تیمار ۱ بیشترین بوده و تیمار ۳ کمترین تراکم سلولی را داشت ( شکل ۱ ). این نتایج نشان دهنده اختلاف معنی‌داری بین این دو تیمار بود ($p\leq$۰/۰۵). همچنین تیمار ۲ تراکم سلولی نزدیک به تیمار ۱ که با آب دریا کشت داده شده بود داشت و اختلاف معنی‌داری هم با تیمار ۱ نشان نداد ($p>$۰/۰۵) (شکل ۱ ). این موضوع نشان دهنده آن بود که ریزجلبک *D. salina* قادر به تحمل شوری بالا و رشد مناسب در تلخاب آب‌شیرین‌کن بود. همچین روند رشد این ریزجلبک از ابتدای دوره تا انتهای دوره و رسیدن به فاز نهایی رشد افزایشی و مثبت بود که این روند رشد در تیمار اول بهتر بود که نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با تیمارهای دیگر در اکثر روزهای پرورش بود ($p\leq$۰/۰۵) (شکل ۲ ). با توجه به میزان تراکم سلولی و روند رشد سلول‌ها در ۳ تیمار می‌توان نتیجه گرفت که رشد سلول‌های جلبکی *D.salina* در تلخاب آب‌شیرین‌کن مناسب و دارای رشد خوبی بود. همانطور که در مطالعه‌ی Sohrabipour و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند گونه‌های جنس‌هایی مانند *Spirulina*، *Chlorella*، *Haematococcus* و *Dunaliella* نیز با رشد سریع و فراوان خود در آب‌های شدیداً شور و با دمای بالا توده زیستی فراوانی تولید می‌کنند. موضوع رشد مناسب گونه *D.salina* در مطالعه دیگری توسط Qari و Hassan (۲۰۱۴) گزارش داده شد که ریزجلبک *D.salina* یکی از ریزجلبک‌های شورپسند بود. به‌علاوه قابلیت کشت سریع و نسبتاً بالایی داشت و تولید توده زیستی بالا و محتوای چربی بالایی می‌کرد (Qari and Hassan., 2014). همچنین در تحقیقاتی دیگر توسط Salmaninejad که به بررسی تأثیر محیط‌کشت و شدت نور بر میزان کاروتنوئیدها و رشد *D. salina* در شش تیمار محیط‌کشتی با شوری ۱/۰۳، ۲/۹۹ و ۴/۹۶ مولار در شدت نور ۴۰ ، ۱۲۰ و ۲۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه در دریاچه ارومیه پرداخت. نتایج نشان داد که افزایش شدت نور از ۴۰ به ۲۰۰ میکرومول در هر سه شوری مورد آزمایش مسبب افزایش تراکم سلولی و سنتز میزان کاروتنوئید بود (Salmaninejad, 2016). از اینرو نتایج حاصل تحقیق کنونی نتایجی همسو با نتایج دیگر محققین را نشان داد که می‌تواند تأییدی بر امکان داشتن توده زیستی مناسب و بالا از کشت ریزجلبک *D. salina* در تلخاب آب شیرین‌کن و یا آب‌های با شوری بالاتر از آب دریا بود.

وجود فلزات سنگین در آب‌ها بخصوص آب مورد استفاده فعالیت‌های آبزی‌پروری، آلاینده‌های خطرناکی محسوب می‌شوند که خطرات سمی را برای موجودات آبزی و محیط آبی ایجاد می‌کنند (Musa *et al*.,2024). همچنین این فلزات به سختی از بین می‌روند و برای مدت طولانی در بدن موجودات انباشته می‌شوند (Lambert *et al*., 2000; Briffa *et al*., 2020). فلزات سنگین به سختی تجزیه می‌شوند و خطری بالقوه برای اکوسیستم‌های آبی هستند (Zhang *et al*., 2023). فلزات سنگین زمانی که وارد ستون آب می‌شوند به‌مرور به لایه‌های پایین‌تر آب می‌روند و بر موجوداتی مانند صدف‌ها، خرچنگ‌ها و میگوهایی که به دنبال غذا به ته آب می‌روند تأثیر می‌گذارند (Chan *et al*., 2021)، این مسأله باعث ایجاد فرصت برای ورود به بدن موجودات می‌گردد. غلظت فلزات در موجودات آبزی چندین برابر بیشتر از آب است (Younis *et al*., 2021). کشت ریزجلبک‌ها از مواردی است که می‌تواند تا حدودی به جذب و کاهش فلزات سنگین در آب‌های آلوده کمک شایانی کند. مطالعه کنونی هم نیز با هدف پالایش فلزات سنگین توسط ریزجلبک *D. salina* انجام شد. نتایج حاصله از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) بررسی پالایش فلزات سنگین توسط ریزجلبک *D. salina* از تلخاب آب شیرین‌کن نشان داد بین تمامی تیمارهای کشت ریزجلبک *D. salina* اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۳ ). همچنین نتایج بدست آمده از سنجش فلزات سنگین و درصد حذف آن توسط *D. salina*، در تیمار ۱ برای سرب، کروم و نیکل، در تیمار ۲ برای آهن و مس و در تیمار ۳ برای روی و کادمیوم از همه بیشتر بود (شکل ۳ ). آنالیز واریانس یک‌طرفه بین هر کدام از تیمارها نشان داد که میانگین درصد حذف هر کدام از فلزات سنگین اختلاف معنی‌داری بین دو

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-10-14 ]

تیمار ۲ و تیمار ۱ (که به عنوان شاهد درنظر گرفته شد) و همچنین بین دو تیمار ۲ و ۳ نیز داشت ($p\leq$۰/۰۵). نتایج تحقیق کنونی در کاهش فلزات سنگین توسط ریزجلبک *D .salina* نشان از همراستا بودن نتایج بدست آمده با نتایج دیگر مطالعاتی که در این زمینه انجام شده بود داشت. مطالعات مشابهی بر روی امکان حذف برخی فلزات سنگین توسط ریزجلبک‌ها به‌روش زیستی پرداخت که نتایج تقریباً مشابهی با نتایج مطالعه کنونی داشت. این نتایج در مطالعه‌ای توسط Ebadati و همکارانش سال ( ۲۰۰۵) گزارش شد که بیشترین فلزات سنگین موجود در سیستم‌های آبی مس، روی، کادمیوم، جیوه، سرب و نیکل بودند. این عناصر در غلظت‌های بیش از حد آستانه، برای موجودات سمی و در غلظت‌های پایین‌تر برای متابولیسم ضروری بودند (Ebadati *et al*.,2005). همچنین در مطالعه‌ای که توسط Moura و de Lacerda (۲۰۱۸) به منظور تعیین میزان و نحوه تغییرات فلزات سنگین در اندام‌های گیاهان آبزی و رسوبات میانکاله انجام شد، بیشترین میزان جذب فلزات سنگین، صرف نظر از گونه آبزی متعلق به فلز روی بود و نتایج نشان داد که درصد جذب فلزات سنگین از طریق رسوبات کمتر و درصد جذب آن‌ها از طریق برگ و آب بیشتر بود ( Moura and de Lacerda., 2018). نتایج این مطالعات همراستا و مؤید کاهش و حذف فلزات سنگین از طریق موجودات زنده و به روش زیستی بود. مطالعه مشابه دیگری توسط Qari و Hassan (۲۰۱۴) انجام شد که در آن سمیت و جذب زیستی فلزات سنگین توسط *Dunaliella sp*. مورد بررسی قرار گرفت. سلول‌های *Dunaliella* ابتدا به مدت هفت روز در نمونه‌های فاضلاب جمع‌آوری‌شده از منابع مختلف در جده (KSA ) کشت داده شد. نتایج آن مطالعه نشان داد سرعت جذب به قدری سریع بود که ۷۴ درصد فلزات به روش زیستی در ساعات اولیه جذب شدند. حداکثر ظرفیت جذب زیستی *D.salina* برای سرب ۰/۷۹ میلی‌گرم در هر ۷۵ سلول جلبک برآورد شد. سایر عناصر با سرعت نسبتاً پایین‌تری جذب شدند. نتایج همچنین بیان کننده آن بود که جنس‌های *Dunaliella* قادر به حذف زیستی فلزات سنگین از فاضلاب در غلظت (حدود ۸۵ میلی‌گرم در لیتر) هستند. جذب زیستی *Dunaliella* برای تصفیه فاضلاب حاوی فلزات سنگین در این تحقیق بالا و مفید بود (Qari and Hassan.,2014). نتایج مطالعات Qari و Hassan در سال ۲۰۱۴ تقریباً مشابه و همسو با نتایج بدست آمده در تحقیقق کنونی بود. تحقیق کنونی هم نیز درصد جذب مثبتی را توسط ریزجلبک *D.salina* نشان داد که سبب حذف مقداری از فلزات سنگین از محیط آب آزمایش در تیمارهای کشت جلبک شد. این موضوع همسو و مشابه نتایج تحقیقات گذشته در ارتباط با حذف زیستی فلزات سنگین از محیط آب توسط ریزجلبک‌ها بود. Meng و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند برخی از گونه‌ها نظیر *Scendesmus* قادرند میزان نمک‌های موجود در تلخاب‌های شدیداً شور را تا سه برابر کاهش داده و میزان جذب نمک و فلزات سنگین را به محدوده طبیعی برسانند که مشکلی در دفع آن به آب‌های ساحلی دریا نداشته باشند (Meng *et al*.,2009). همچنین در گزارشی دیگر Wangو همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که رشد ریزجلبک‌ها در مرکزی غنی از مواد مغذی گزینه‌ی جدیدی جهت کاهش بار مواد مغذی از فاضلاب می‌باشد (Wang *et al*.,2010). از اینرو با توجه به نتایج همسو تحقیق کنونی و دیگر مطالعات انجام شده می‌توان نتیجه گرفت کاهش مثبت فلزات سنگینی توسط ریزجلبک‌ها و به روش زیستی امکان‌پذیر است. که احتمالاً بدلیل آن است که برخی از این فلزات به‌عنوان مواد ریزمغذی مورد نیاز جهت رشد ریزجلبک‌ها می‌باشد و بدلیل نیاز ضروری آن‌ها برای سنتز بیشتر مورد مصرف قرار گرفتند. بنابراین کشت گونه‌های ریزجلبکی با توجه به نتایجی که در این تحقیق بدست آمد و همچنین نتایج مشابه بدست آمده در مطالعات دیگر می‌توان از روش زیستی جهت کااهش مقادیری از فلزات سنگین تلخاب آب‌شیرین‌کن‌ها و یا فاضلاب‌های آلوده قبل از رهاسازی به محیط طبیعت استفاده کرد.

## نتیجه‌گیری

به‌منظور کاهش آلاینده‌های فلزات سنگین موجود در تلخاب آب‌شیرین‌کن استفاده از روش زیستی که از روش‌های مرسوم است جهت اجرای تحقیق پیشنهاد شد. هدف از اجرای این پروژه سعی در حذف فلزات سنگین توسط ریزجلبک از محیط بود. بدین منظور یک پروژه بصورت پایلوت و به منظور کاهش آلودگی تلخاب آب‌شیرین‌کن ساحلی در استان هرمزگان انجام گرفت. که به کشت ریز جلبک *Dunaliella* در ۳ تیمار اقدام شد. نتایج نشان داد که فاکتورهای فیزیکی–شیمیایی اولیه آب نظیر پارامترهایی مانند دما، شوری و pH در دامنه استاندارد برای فعالیت آبزی‌پروری بود. روند رشد تیمارها نیز بررسی گردید و نتایج نشان دادند که

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-10-14 ]

تراکم سلولی در تیمار ۲ نیز از نظر تراکم اختلاف معنی‌داری با تیماری که در آب دریا کشت داده شد نداشت، اما با توجه به اینکه شوری بالا بود رشد خوبی را از خود نشان داد. که این موضوع نشان می‌دهد رشد و تراکم‌پذیری گونه جلبکی *D.salina* در تلخاب با شوری بالغ بر ppt ۶۵ مثبت بود. آلاینده‌های فلزات سنگین شامل: نیکل، سرب، قلع، مس، آهن در ابتدای شروع تحقیق و پس از دوره پرورش ریزجلبک سنجش شد. میزان فلزات سنجش شده از نظر استاندارد آبزی‌پروری در محدوده مرز استاندارد قرار داشتند. از طرفی در بررسی حذف فلزات سنگین نتایج بدست آمده در کشت *D.salina* در تیمارهای آزمایش نشان داد (شکل ۳) که ریزجلبک *D.salina* توانسته میزان فلزات سنگین آب را کاهش دهد و سبب حذف بخشی از میزان آلاینده‌های فوق گردد. بنابراین به‌عنوان یک موجود زیست پالا قابلیت استفاده در تلخاب‌های آب‌شیرین کن را می‌تواند داشته باشد. از اینرو ریزجلبک *D.salina* با توجه به اینکه هزینه اقتصادی کمی جهت تولید آن نیاز است می‌تواند گزینه مناسبی جهت کاهش آلاینده‌ها از محیط تلخاب نسبت به سایر روش‌ها باشد و همچنین گزینه مناسبی برای کشت در فاضلاب‌ها و تلخاب آب‌شیرین‌کن‌ها محسوب گردد.

## سپاسگزاری

این مقاله بخشی از طرح پژوهشی می‌باشد که با عنوان کنترل و مدیریت تلخاب آب شیرین‌کن‌های مستقر در نواحی ساحلی استان هرمزگان اجرا شد. نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از آقای دکتر محمد پسند به عنوان حامی مالی و جناب آقای دکتر محمدصدیق مرتضوی به‌عنوان مجری اصلی طرح و حامی و پیگیری‌کننده در اجرای روند پروژه‌های زیرطرح و از تمامی همکاران گرامی بخش اکولوژی بخصوص سرکار خانم مولایی و همچنین بخش آبزی‌پروری پژوهشکده و جناب اقای دکتر بهزادی به‌عنوان معاونت پشتیبانی و برنامه‌ریزی سپاسگزاری نمایند.

## References

Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A.A. and Ibraheem, I., 2012. Microalgae and wastewater treatment. *Saudi journal of biological sciences,* 19(3), pp.257-275 https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005

Al-Dhaibani, A.N., EL-Nakhlawy, F.S., Alsolaimani, S.G. and Almehmadi, F.M., 2013. Phytoremediation of cadmium contaminated soil by sunflower. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 7, pp.888-894. URL: http://www.ajbasweb.com/ajbas/2013/may/888-894.pdf

Aldrees, A., Khan, M.A., Tariq, M.A.U.R., Mustafa Mohamed, A., Ng, A.W.M. and Bakheit Taha, A.T., 2022. Multi-expression programming (MEP): water quality assessment using water quality indices. *Water*, 14(6), p.947. https://doi.org/10.3390/w14060947

Arain, R., Shahzad, K. and Hamoud, A.A., 2002. Desalination Plant Effluents Analysis [online]. United Arab Emirates Conference Paper · March 2002.

Ben-Amotz, A., 2003. industrial production of microalgal cell-mass and secondary products-major industrial species: Dunaliella. Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology, pp.273-280.Bhatnagar, S. and Kumari, R., 2013. https:// doi:10.1002/9780470995280.

Bhatnagar, S. and Kumari, R., 2013. Bioremediation: a sustainable tool for environmental management–a review. *Annual Review and Research in Biology*, 3(4), pp.974-993. URL: https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/.

Blanco-Marigorta, A. M., Lozano-Medina, A., and Marcos, J. D. 2017. A Critical Review of Definitions for Exergetic Efficiency in Reverse Osmosis Desalination Plants. *Energy*, 137, 752–760. https:// doi: 10.1016/j.energy.2017.05.136

Borowitzka, M. A., 2005, Carotenoid production using microorganisms, AOCS Press, chapter 9.

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-10-14 ]

Briffa, J., Sinagra, E., and Blundell, R., 2020. Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon*, 6(9), E04691. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.E04691

CCME., 2019. Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life. Canadian Council of Ministers of the Environment. http://www.ccme.ca/en/resources/canadian_environmental_quality_guidelines/calculators.html.

Chan, W.S., Routh, J., Luo, C., Dario, M., Miao, Y., Luo, D., and Wei, L., 2021. Metal accumulations in aquatic organisms and health risks in an acid mineaffected site in South China. *Environmental Geochemistry and Health*, 43(11), 4415–4440. https:// doi.org/10.1007/s10653-021-00923-0/figures/7

Chandy, J.P., 1999. Heavy metal tolerance in chromogenic and non-chromogenic marine bacteria from Arabian Gulf. *Environmental Monitoring and Assessment,* 59, pp.321-330. https://doi.org/10.1023/A:1006173722510

Chen, H. and Pan, S.S., 2005. Bioremediation potential of spirulina: toxicity and biosorption studies of lead. Journal of Zhejiang University-SCIENCE B, 6(3), pp.171-174. https://doi.org/10.1631/jzus.2005.B0171

Chen, P., M. Min, Y. Chen, L. Wang, Y. Li, Q. Chen, C. et al., 2009. Review of biological and engineering aspects of algae to fueapproach. In*ternational Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 2(4), pp.1-30. https://doi: 10.3965/j.issn.1934-6344.2009.04.001-030

Chen, P., Min, M., Chen, Y., Wang, L., Li, Y., Chen, Q., Wang, C., Wan, Y., Wang, X., Cheng, Y. and Deng, S., 2010. Review of biological and engineering aspects of algae to fuels approach. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 2(4), pp.1-30. https://doi.org/10.3965/j.issn.1934-6344.2009.04.001-030.

Danoun, R., 2007. Desalination Plants: Potential impacts of brine discharge on marine life. Final Project 05/06/2007. The university of Sydney Australia.

De la Noüe, J. and Basseres, A., 1989. Biotreatment of anaerobically digested swine manure with microalgae. *Biological wastes*, 29(1), pp.17-31. https://doi.org/10.1016/0269-7483(89)90100-6.

De Souza Celente, G., de Souza Schneider, R.D.C., Rizzetti, T.M., Lobo, E.A. and Sui, Y., 2024. Using wastewater as a cultivation alternative for microalga Dunaliella salina: Potentials and challenges. *Science of the Total Environment*, 911, p.168812. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.168812

Dias, A., Dhawde, R., Surve, N., Weinberg, A., Birdi, T. and Mistry, N., 2015. Impact Of Climate Changes on Water Availability and Quality in the State of Maharashtra in Western India. Asian Journal of Microbioly, *Biotechnology and Environmental Science*, 17(4), pp.1071-1081. https://www.researchgate.net/publication/295857242

Ebadati, F., Esmaeeli, A. and Riahi, B.A., 2005. Heavy metals in macrophyts and sediments of Minkaleh wetland.31(37):53-57. https://www.magiran.com/p278888 (In Persian)

EPA.,2020. Water Quality Criteria. United States Environmental Protection Agency. Boyd, C.E. and Boyd, C.E., 2020. Water quality protection. Water quality: an introduction, pp.379-409. https://doi.org/10.1007/978-3-030-23335-8_18

Fath, B.D., 2018. Encyclopedia of ecology. Elsevier Publishers.

Fernández-Torquemada, Y., Carratalá, A. and Lizaso, J.L.S., 2019. Impact of brine on the marine environment and how it can be reduced. *Desalination and Water Treatment*, 167, pp.27-37. https://doi.org/10.5004/dwt.2019.24615.

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-10-14 ]

Fredrickson, J.K., Kostandarithes, H.M., Li, S.W., Plymale, A.E. and Daly, M., 2000. Reduction of fe (III), cr (VI), U (VI), and tc (VII) by Deinococcus radiodurans R1. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(5), pp.2006-2011. https://doi.org/10.1128/AEM.66.5.2006-2011.2000

Hasle, G.R., Syvertsen, E.E., Steidinger, K.A., Tangen, K. and Tomas, C.R., 1996. Identifying marine diatoms and dinoflagellates. Elsevier. Academic press Inc.

Hassan, I.A. and Basahi, J.M., 2013. Assessing Roadside Conditions and Vehicular Emissions Using Roadside Lettuce Plants. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22(2). http://www.pjoes.com/pdf-88990-22849?filename=Assessing+Roadside.pdf.

Jones, E., Qadir, M., van Vliet, M. T. H., Smakhtin, V., and Kang, S., 2019. The State of Desalination and Brine Production: A Global Outlook. Sci. *Total Environ*. 657, 1343–1356. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.076

Khummongkol, D., Canterford, G.S. and Fryer, C., 1982. Accumulation of heavy metals in unicellular algae. *Biotechnology and Bioengineering*, 24(12), pp.2643-2660. https://doi.org/10.1002/bit.260241204

Kong, Q.X., Li, L., Martinez, B., Chen, P. and Ruan, R., 2010. Culture of microalgae Chlamydomonas reinhardtii in wastewater for biomass feedstock production. A*pplied Biochemistry and Biotechnology*, 160, pp.9-18. https://doi.org/10.1007/s12010-009-8670-4

Lambert, M., Leven, B.A. and Green, R.M., 2000. New methods of cleaning up heavy metal in soils and water. Environmental Science and Technology Briefs for Citizens, 7(4), pp.133-163. published by the Hazardous Substance Research Centers.

Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture (No. 361). Food and Agriculture Organization (FAO). Rome, FAO. 1996. 295p. https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/w3732e

Lawal, A.A., Hassan, M.A., Farid, M.A.A., Yasim-Anuar, T.A.T., Yusoff, M.Z.M., Zakaria, M.R., Roslan, A.M., Mokhtar, M.N. and Shirai, Y., 2020. Production of biochar from oil palm frond by steam pyrolysis for removal of residual contaminants in palm oil mill effluent final discharge. *Journal of Cleaner Production,* 265, p.121643. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121643

Madkour, K., Dawood, M.A., Sorgelos, P. and Sewilam, H., 2023. Effects of desalination brine on the fecundity of brine shrimp fed on rice bran. *Annuals of Animal Science*, 23(3), pp.869-875. https://doi:10.2478/aoas-2023-0033

Mansour, S., Arafat, H.A. and Hasan, S.W., 2017. Brine management in desalination plants. *Desalination Sustainability*, pp.207-236. https://doi.org/10.1016/j.desal.2020.114760

Matos, Â.P., Saldanha-Corrêa, F.M.P., Hurtado, G.R., Vadiveloo, A. and Moheimani, N.R., 2024. Influence of desalination concentrate medium on microalgal metabolism, biomass production and biochemical composition. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 99(2), pp.321-329. https://doi.org/10.1002/jctb.7565

Mavukkandy, M.O., Chabib, C.M., Mustafa, I., Al Ghaferi, A. and AlMarzooqi, F., 2019. Brine management in desalination industry: From waste to resources generation. *Desalination*, 472, p.114187. https://doi.org/10.1016/j.desal.2019.114187

Mawed, S.A., Centoducati, G., Farag, M.R., Alagawany, M., Abou-Zeid, S.M., Elhady, W.M., El-Saadony, M.T., Di Cerbo, A. and Al-Zahaby, S.A., 2022. Dunaliella salina Microalga Restores the Metabolic Equilibrium and Ameliorates the Hepatic Inflammatory Response Induced by Zinc

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-10-14 ]

Oxide Nanoparticles (ZnO-NPs) in Male Zebrafish. *Biology*, 11(10), p.1447. https://doi.org/10.3390/biology11101447

McLean, J. and Beveridge, T.J., 2001. Chromate reduction by a pseudomonad isolated from a site contaminated with chromated copper arsenate. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(3), pp.1076-1084. https://doi.org/10.1128/AEM.67.3.1076-1084.2001

Meng, X., Yang, J., Xu, X., Zhang, L., Nie, Q. and Xian, M., 2009. Biodiesel production from oleaginous microorganisms. *Renewable Energy*, 34(1), pp.1-5. https://doi.org/10.1016/j.renene.2008.04.014

Ghanbari, F., Heravi, H. and Mirbolooki, H., 2023. Spirulina, wastewater dye absorbent microalgae. https://doi.org/ 10.61186/jert.46107.8.14.19

Moura, V.L. and de Lacerda, L.D., 2018. Contrasting mercury bioavailability in the marine and fluvial dominated areas of the Jaguaribe River basin, Ceará, Brazil. B*ulletin of Environmental Contamination and Toxicology,* 101, pp.49-54. https://doi.org/ 10.1007/s00128-018-2368-7.

Musa, M., Buwono, N.R., Lusiana, E.D., Mahmudi, M., Arsad, S., Sianturi, J., Lestari, A. and Simanjuntak, E., 2024. Microplastics with Heavy Metals Pollution in Water Supply of Litopenaeus Vannamei Aquaculture in Probolinggo, Indonesia. *Journal of Ecological Engineering*, 25(12). https://doi.org/10.12911/22998993/195184

Omerspahic, M., Al Jabri, H. and Saadaoui, I., 2022. Characteristics of Desalination Brine and Its Impacts on Marine Chemistry and Health, With Emphasis on the Persian/Arabian Gulf: A Review. *Frontiers in Marine Science*, p.525. https://doi.org/10.3389/fmars.2022.845113

Panagopoulos, A., Haralambous, K. J., and Loizidou, M., 2019. Desalination Brine Disposal Methods and Treatment Technologies - A Review. Science of Total Environment, 693, 133545. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.351

Qari, H.A. and Hassan, I.A., 2014. Removal of pollutants from waste water using Dunaliella Algae. *Biomedical & Pharmacology Journal*, 7(1), pp.147-151.

Saeed, M.O., Ershath, M.M. and Al-Tisan, I.A., 2019. Perspective on desalination discharges and coastal environments of the Arabian Peninsula. *Marine Environmental Research*, 145, pp.1-10. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2019.02.005

Salmaninejad, M., 2016. Effect of culture mediums and light intensity on growth and carotenoides of Dunaliella salina in Urmia Lake. *Journal of Plant Research* (*Iranian Journal of Biology*), 28(4), pp.771-783. https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23832592.1394.28.4.9.0 (In Persian)

Service, R.F., 2006. Desalination freshens up. https://doi.org/10.1126/science.313.5790.1088

Sohrabipour J., Rabiei R., and Rabiei E.,2014. Optimum Use of Desalination Effluent. presented at the Regional Conference on the Sea, *Development and Water Resources of the Persian Gulf* Coastal Areas. https://civilica.com/doc/3933892. (In Persian)

Vijayaraghavan, K., Jegan, J., Palanivelu, K. and Velan, M., 2005. Biosorption of copper, cobalt and nickel by marine green alga Ulva reticulata in a packed column. Chemosphere, 60(3), pp.419-426. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.12.016

Wang, L., Min, M., Li, Y., Chen, P., Chen, Y., Liu, Y., Wang, Y. and Ruan, R., 2010. Cultivation of green algae Chlorella sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162, pp.1174-1186. https://doi.org/10.1007/s12010-009-8866-7

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-10-14 ]

Younis, E.M., Abdel-Warith, A.W.A., Al-Asgah, N.A., Elthebite, S.A. and Rahman, M.M., 2021. Nutritional value and bioaccumulation of heavy metals in muscle tissues of five commercially important marine fish species from the Red Sea. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(3), pp.1860-1866. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.12.038

Zhang, H., Sun, Z., Liu, B., Xuan, Y., Jiang, M., Pan, Y., Zhang, Y., Gong, Y., Lu, X. and Yu, D. 2016. Dynamic Changes of Microbial Communities in *Litopenaeus Vannamei* Cultures and The Effects of Environmental Factors. *Aquaculture*, 455, 97-108. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.01.011

Zhang, S., Fu, K., Gao, S., Liang, B., Lu, J., and Fu, G.,2023. Bioaccumulation of heavy metals in the water, sediment, and organisms from the sea ranching areas of Haizhou Bay in China. *Water*, 15(12), 2218. https://doi.org/10.3390/w15122218

Ziaei, S., Ahmadzadeh, H. and Es' haghi, Z., 2023. Dynamic removal of Pb (II) by live Dunaliella salina: a competitive uptake and isotherm model study. *Environmental Monitoring and Assessment,* 195(6), p.682. https://doi.org/ 10.20473/jafh.v11i3.34790

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-10-14 ]