تغییرات شاخص‌های رشد، تراکم و انواع کلروفیل جلبک‌های کلرلا (Chlorella Vulgaris B.) و دونالیه لا (Dunaliella Tertiolecta B.) در غلظت‌های مختلف پودر گیاهان آبزی تیفا (Typha latifolia L.) و سیپروس (Cyperus longus L.)

سیده میترا عقیلی، کارشناس ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، مازندران، ایران.

مسعود هدایتی‌فرد*، دانشیار دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، مازندران، ایران.

سعید سلطانی، استادیار دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، مازندران، ایران.

E-mail* : Hedayati.m.@qaemiau.ac.ir

دریافت: ۱۳۹٤/۰۲/۲۷- پذیرش: ۱۳۹٤/۰۵/۰۷

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی تاثیر حضور گیاهان آبزی تیفا و سیپروس بر رشد و فعالیت آللوپاتی جلبک‌های کلرلا و دونالیه لا انجام‌شد. بدین منظور، اثر شِش غلظت (۰، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳، ۰/۰۶، ۰/۱۲ و ۰/۲٤ گرم در لیتر) وزن خشک گیاهان آبزی تیفا و سیپروس در ۱۰۰ سی‌سی جلبک‌های کلرلا و دونالیه لا در مدت پرورش به‌طور جداگانه بررسی شد. در پایان مقادیر کلروفیل‌های a، b کل و کاروتنوئیدها در جلبک‌ها اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد که با افزایش حضور پودر گیاه تیفا میزان کاروتنوئیدها و تمام کلروفیل‌ها در هردو جلبک افزایش یافته اما فقط روی رشد کلرلا تفاوت معنی داری را نشان‌داد. در جلبک کلرلا، بیشترین و کمترین میزان کلروفیل‌ها به ترتیب در غلظت‌های ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ گرم در لیتر دیده شد ولی بیشترین و کمترین غلظت کاروتنوئیدها در تیمارهای شاهد و ۰/۲٤ گرم در لیتر محاسبه شد. همچنین با افزایش حضور پودر گیاه سیپروس، مقادیر تمام کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها در هردو جلبک کاهش یافت و روی رشد هر دو جلبک نیز تاثیر معنی داری داشت. در جلبک دونالیه لا، بیشترین و کمترین میزان غلظت کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها به‌ترتیب مربوط به تیمارهای ۰/۰۶ و ۰/۰۳ گرم در لیتر بود ولی با افزایش غلظت سیپروس، غلظت کلروفیل‌ها کاهش یافت، درحالی‌که بیشترین غلظت کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدهای کلرلا در غلظت ۰/۱۲ اما کمترین آنها به‌ترتیب در غلظت‌های ۰/۰۶ و ۰/۰۳ گرم در لیتر دیده شد. همچنین نتایج نشان داد که فعالیت آللوپاتی پودر خشک هر دو گیاه آبزی تیفا و سیپروس بر روی رشد هردو جلبک تاثیر معنی‌داری داشت.

واژه‌های کلیدی: جلبک، کاروتنوئید، کلروفیل، گیاهان آبزی.

۱- مقدمه

جلبک‌ها موجوداتی فتواتوتروف هستند که تولیدکننده اصلی مواد آلی در محیط‌های آبی می‌باشند. در بوم‌سازگان‌های آبی جلبک‌ها و فیتو پلانکتون‌ها بخش مهمی از زنجیره غذایی موجودات آبزی و ماهی‌ها را تشکیل می‌دهند. بنابراین بخش عمده‌ای از تولیدات آبزیان مستقیماً وابسته به وجود آنها است. همچنین

*نویسنده مسئول

جلبک‌ها به‌واسطه عمل فتوسنتز و متصاعد نمودن اکسیژن، محیط اطراف خود را اکسیژنه نموده و برای حیات آبزیان مساعد می‌نمایند و به‌عنوان یک منبع غذایی برای ماهیان، دوزیستان، پستانداران و دیگر جانوران از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. وابستگی انسان به ماهی و سایر جانوران آبزی برای تکمیل خوراک خود واقعیتی غیر قابل‌انکار است. بنابراین جلبک‌ها به‌طور غیرمستقیم ارزش بسیار زیادی برای انسان‌ها دارند (Sano et al, 1988; Sano & Tanaka, 1987). ریزجلبک‌ها در تغذیه لارو آبزیان پرورشی از قبیل برخی ماهیان، عمده نرم‌تنان، سخت‌پوستان و نیز در پرورش زئوپلانکتون‌های مورد استفاده در آبزی‌پروری (غذای زنده مثل دافنی، روتیفر و..) به‌کار می‌روند (کیانمهر، ۱۳۸۱).

جلبک دونالیه لا[1] یکی از مشهورترین ریزجلبک‌ها از شاخه Chlorophyta، رده Chlorophyceae، راسته Volvocales و خانواده Chlamydomonadaales می‌باشد (Ben-Amotz & Avron,1990). یک آلگ سبز تک‌سلولی دوتاژکه و بدون دیوارهٔ سلولی با اندازه متوسط ۸ تا ۱۲ میکرون است که حاوی رنگدانه بتاکاروتن و اسیدهای حلال مواد محرک ایمنی مانند فیکوسیانین، پلی ساکاریدها، آهن و روی می‌باشد (Qureshi & Ali, 1996). بتاکاروتن یکی از رنگدانه‌های طبیعی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی است و به‌دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی که این رنگدانه دارد که از آن در تهیه مکمل‌های غذایی و مواد دارویی استفاده می‌شود (Tim et al, 2007). تغذیه با جلبک دونالیه‌لا، به‌دلیل وجود مقدار فراوان بتاکاروتن باعث افزایش فعالیت کمپلمان (عامل مکمل) و لیزوزیم شده و در نهایت باعث افزایش سطوح ایمنی بدن می‌شود (Amar et al, 2004). جلبک کلرلا ولگاریس[2] ازشاخه Chlorophyta، رده Chlorophyceae، راسته Chlorococcales و خانواده Oocystaceae می باشد (اسماعیلی ساری، ۱۳۸۱). این جلبک میکروسکوپی با قطر ۲ تا ۱۰ میکرون، ساکن در آب‌های شیرین بوده و همانند گیاهان، از فعال‌ترین موجودات فتوسنتزکننده و دارای کلروفیل با تراکم بالا است (صفری،۱۳۹۰). سلول‌های گرد با غشاء بسیار نازک، کلروپلاست فنجانی شکل و بزرگ و دارای واکوئل نامتقارن و به رنگ سبز می‌باشد (محمدی، ۱۳۸۵).

از دیگرسو، تیفا[3] یا لویی، گیاهی‌است آبزی به ارتفاع ۱۰۰ تا ۲۵۰ سانتیمتر که برگ‌ها در دو ردیف اطراف ساقه به‌شکل شمشیری به پهنای ۱ تا ۲ سانتیمتر که از هر دو سطح پهن است و طول آن گاهی تا یک متر می‌رسد. این گیاه در حاشیه مرداب‌ها، باتلاق‌ها، مزارع برنج، کانال‌های آبرسانی در مزارع، باغ‌ها و سواحل رودخانه‌هایی که عمق ساحل آن کم و آب آن جریان کند دارد، می‌روید (حسن‌عباسی، ۱۳۷۷).

همچنین سیپروس[4] با نام بومی اویارسلام، گیاهی است علفی، ریزوم‌دار، کم و بیش معطر به ارتفاع تا ۱۰۰ سانتیمتر، با برگ‌هایی بلند به طول ۵۰ تا ۶۰ سانتیمتر و پهنای تا یک سانتیمتر که معمولاً در ساخت سبد و حصیر استفاده می‌شود (حسن‌عباسی،۱۳۷۷). این گیاه مخصوص زمین‌های پست و آبگیرهای حاشیه برکه‌ها، مرداب‌ها، نیزارها و رودخانه‌هاست و از گیاهان تالاب‌های مازندران به‌شمار می‌رود (حسن‌عباسی،۱۳۷۷). اویارسلام دارای موادی است که قادر است از رشد گیاهانی که همراه آن رشد یافته‌اند، جلوگیری کند (Horowitz & Friedman ، 1971). عمده ماده تولید شده در آن ترکیبات فنولی است که به‌عنوان یک عامل بازدارنده عمل می‌کند (Drost & Doll، 1980).

از جمله مکانیسم‌های گیاهان آبزی، رقابت برای کسب مواد غذایی و نور مناسب برای رشد بهینه خود می‌باشد. برای این منظور، زمانی که عوامل مورد نیاز برای رشد بهینه کاهش می‌یابند، این دسته از موجودات شروع به سنتز ترکیبات فعال ثانویه می‌نماید تا در رقابت به‌وجود آمده بین آنها موفق گردند. نظر به اهمیت گیاهان آبزی و جلبک‌ها به‌عنوان تولیدکنندگان اصلی مواد آلی در محیط‌های آبی جهت تغذیه موجودات آبزی به‌ویژه

ماهی‌ها، ضرورت مطالعه تاثیر متقابل آنها بر یکدیگر در محیط آبی ضروری است.

Bruckner و همکاران (۲۰۰۳) اهمیت بوم‌شناسی گیاه آمباریو[۵] در شرایط آزمایشگاهی به‌عنوان یکی از شایع‌ترین علف‌های هرز یکساله واقع شده در زمین‌های زراعی مجارستان را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که در سه غلظت عصاره (۱۰ و ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، باعث ممانعت رشد جلبک‌های کلامیدوموناس[۶] و کلرلا[۷] گردید. نتایج نشان داد که هرچه غلظت عصاره بالاتر باشد باعث افزایش بازدارندگی در رشد جلبک می‌گردد.

Ferrier و همکاران (۲۰۰۵) تاثیر کاه جو را در کنترل رشد ۱۲ گونه از جلبک‌ها بررسی نمودند. الکل کاه جو مانع رشد سه جلبک مزاحم معمول در آب شیرین می‌شود و از طرف دیگر گونه‌های مثل اسپیروژیرا[۷] و ناویکولا[۸] باعث افزایش رشد قابل‌ملاحظه‌ای در حضور کاه می‌شوند.

پیشنهاد می‌شود که استفاده از کاه جو تاثیری روی رشد جلبکی در این اکوسیستم‌ها ندارد.

نتایج Mulderij و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد رشد فیتوپلانکتون تحت‌تاثیر دو ماکروفیت استراتیوتیس[۹] و کارا[۱۰] متفاوت می‌باشد و فقط برای گونه‌های ماکروفیت که پتانسیل آللوپاتی بالایی دارند مثل S. Aloides ممکن است تاثیر قابل ملاحظه‌ای داشته باشد. Fergola و همکاران (۲۰۰۷) نیز تاثیر بازدارنده کلرلا[۱۱] بر روی پسودوکیرچنریلا[۱۲] را نشان دادند. Fergola و همکاران (۲۰۰۷) ، نتایج چندین آزمایش جدید درباره رقابت آللوپاتیک بین دو گونه جلبک کلرلا و پسودوکیرچنریلا[۱۲] را گزارش‌دادند. آن‌ها نشان دادند ترکیب شیمیایی تولیدشده توسط کلرلا تاثیر بازدارنده روی پسودوکیرچنریلا داشته است. کیارستمی (۱۳۸۲)، تاثیر آللوپاتیک برخی علف‌های هرز بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های ارقام مختلف گندم را مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد که فعالیت آللوپاتی عصاره آبی علف‌های هرز در بین گونه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری داشت. مناف‌فر و همکاران (۱۳۸۵)، تاثیر عصاره دانه گیاه سنجد تلخ ۱۳ را علیه آلودگی جلبک دونالیه لا[۱۴] به مژک‌داران تک‌سلولی مهاجم در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار دادند.

بررسی تاثیر طولانی‌مدت عصاره بر روی نمونه آلوده‌شده نشان‌داد که این عصاره در ۷۲ ساعت هیچ تاثیر منفی بر توده جلبکی نداشت. شجیع و همکاران (۱۳۸٤)، اثر آللوپاتی عصاره آبی شاخساره توق بر جوانه‌زنی و رشد اولیه ذرت، کلزا، کنجد و نخود را بررسی‌کردند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که افزایش غلظت عصاره آبی توق به‌طور معنی‌داری باعث کاهش جوانه‌زنی و رشد در هر چهار گیاه شد.

به‌طوری‌که ذرت کمترین و کنجد بیشترین حساسیت را به دگرآسیبی توق را از میان بذور مورد آزمایش را داشتند.

محدودیت ذخایر زیستی و روند رو به رشد جمعیت جهان، ضرورت دقت و توجه بیش از پیش در بهره‌برداری از منابع‌طبیعی و ذخایر زیستی و مطالعه هرچه بیشتر جهت دستیابی به منابع زیستی جدید را آشکار می‌سازد. محیط طبیعی آب‌بندان، غنی از مواد غذایی ارزشمند از قبیل توده‌های فیتوپلانکتونی و زئوپلانکتون و گیاهان آبزی مفید دیگر برای تغذیه کپور ماهیان می‌باشد. با توجه به اهمیت گیاهان آبزی و جلبک‌ها به‌عنوان تولیدکنندگان اصلی مواد آلی در محیط‌های آبی جهت تغذیه موجودات آبزی به‌ویژه ماهی‌ها، ضرورت مطالعه تاثیر آللوپاتی آنها بر یکدیگر در محیط آبی ضروری به‌نظر می‌رسد.

به‌علت پیچیدگی محیط آب، تاکنون گزارش‌های ناهماهنگی درباره دگرآسیبی گیاهان آبزی ارائه شده، بنابراین با اجرای این پژوهش، اثر گیاهان آبزی از جمله تیفا و سیپروس بر روی رشد جلبک‌های دونالیه لا و کلرلا در محیط طبیعی همچون آب‌بندان بررسی شد. لازم به ذکر است که چنین پژوهشی تاکنون انجام نشده است.

۲- روش‌ها

۲-۱- تهیه نمونه

جلبک خالص از پژوهشکده اکولوژی دریای خزر واقع در ساری و آزمایشگاه جلبک‌شناسی علوم و تحقیقات تهران تهیه شد. گیاهان آبزی از آب‌بندان روستای فرح آباد ساری و در فصل تابستان جمع‌آوری گردید. این آب‌بندان در ارتفاع ۲۲ متری از سطح دریا واقع‌شده‌است. گیاهان انتخاب‌شده کامل، سالم و شاداب بوده و دارای کلیه اجزا و عاری از آفت و یا بیماری بودند. گیاهان جمع‌آوری‌شده بلافاصله به آزمایشگاه کشت میکروجلبک دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی منتقل شدند. ابتدا هرگونه گرد و خاک و گِل بر روی ریشه و یا ساقه و برگ گیاه، برطرف شد.

جهت شناسایی دقیق از کلید گیاه‌شناسی کتاب فلور ایران (حمدی و اسدی، ۱۳۸۲) استفاده شد. سپس گیاهان در اتاق تاریک با جریان هوا پهن گردید تا خشک شوند (Bruckner et al, 2003). بعد از خشک‌شدن کامل گیاهان، با استفاده از دستگاه آسیاب برقی نمونه‌های گیاهی خردشده و داخل بسته‌های پلاستیکی با الصاق برچسب نام گیاه قرار داده شد. سپس بسته‌های پلاستیکی جهت ادامه مراحل تحقیقی داخل یخچال نگهداری شد.

به‌منظور بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف گیاهان آبزی بر روی جلبک‌ها، برای هر کدام از تیمارهای محیط کشت جلبک شِش غلظت متفاوت از پودر خشک گیاه (۰/۰۱۵ ، ۰/۰۳ ، ۰/۰۶ ، ۰/۱۲ ، ۰/۲٤ گرم پودر خشک در لیتر) و با سِه تکرار در نظر گرفته شد. همزمان سِه محیط کشت شاهد بدون گیاه نیز تهیه شد. در کل ۱۵ عدد ظرف برای تیمارها و سِه عدد شاهد تهیه شد.

میزان روشنایی بین ۳ تا ۵ هزار لوکس، ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بر محیط‌های کشت اعمال شد. ابتدا اندازه‌گیری آللوپاتی و سپس اندازه‌گیری میزان کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید انجام گرفت. سپس اعداد به‌دست آمده از اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی با قرار دادن میزان جذب (اسپکتروفتومتر) در فرمول به‌دست آمد (Lichtenthaler & Wellburn ,1985).

برای انجام محاسبه، ۰/۰۵ گرم جلبک در ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده و محلول حاصل با کاغذ واتمن شماره یِک صاف گردید و حجم نهایی به ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس جذب محلول در طول موج‌های ٤۷۰، ٦٤٦ و ٦٦۳ نانومتر با اسپکتروفتومتر UV-Visble اندازه‌گیری و با استفاده از فرمول‌های مربوطه غلظت کلروفیل a، b و کلروفیل کل تعیین‌گردید (Lichtenthaler & Wellburn ,1985).

۲-۲- تیماردهی جلبک‌ها با گیاهان آبزی

نخست در ظروف شیشه‌ای به حجم ۱۰۰ سی‌سی جلبک دونالیه لا با pH ۷/۵ و جلبک کلرلا با pH ٦/۷ به‌طور جداگانه اضافه شد. سپس گیاه مورد نظر در شِش غلظت متفاوت ۰ ،۰/۰۱۵ ، ۰/۰۳ ، ۰/۰٦ ، ۰/۱۲ ، ۰/۲٤ گرم پودر خشک (Jin & Dong, 2003) با ترازوی دیجیتالی توزین گردید و پودر گیاه در داخل کیسه‌های پارچه‌ای ریخته و سپس کیسه‌های حاوی گیاه را درون ظروف شیشه‌ای حاوی جلبک قرارداده شد. به مدت هشت روز این ظروف شیشه‌ای حاوی جلبک و پودر گیاه از نظر pH و هوادهی مورد بررسی قرار گرفتند و یک روز در میان، میزان رشد جلبک تک‌سلولی از طریق اندازه‌گیری میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و یادداشت شد. بعد از پایان هشت روز، ظروف شیشه‌ای حاوی جلبک و گیاه از سیستم هوادهی جدا شد و برای اندازه‌گیری کلروفیل به آزمایشگاه جلبک‌شناسی انتقال یافت. سپس یک گرم بافت جلبک تازه را در یک هاون چینی حاوی پنج سی‌سی بافر تریس HCL ۰/۰۵ مولار با pH = ۷/۵ به‌طور کامل ساییده و محلول همگن در دمای چهار درجه سانتیگراد به مدت ۲۵ دقیقه با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ کالیبره شده، با دور ٦۵۰۰ rpm بدست آمد و با استون ۸۰ درصد به حجم پنج سی‌سی رسانده شد. از طرف دیگر محلول بالای لوله به حجم ۱۰

سی‌سی رسانده و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب در سه طول موج ٤٧٠، ٦٤٦ و ٦٦٣ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Jin & Dong, 2003).

۲-۳- تجزیه و تحلیل آماری

نتایج تمامی آزمون‌ها از میانگین سه تکرار به‌دست آمد. تجزیه و تحلیل آماری آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده از برنامه نرم‌افزاری SPSS for Windows, 18.05 انجام و جهت تعیین اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها، از آزمون دانکن (Duncan) درسطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده‌گردید. برای بررسی نرمال بودن داده‌ها آزمون کولموگراف – اسمیرنوف انجام شد. نمودارها توسط نرم افزار (2010) Excel^{TM} با استفاده از میانگین و انحراف معیار (Mean±SD) ترسیم گردید.

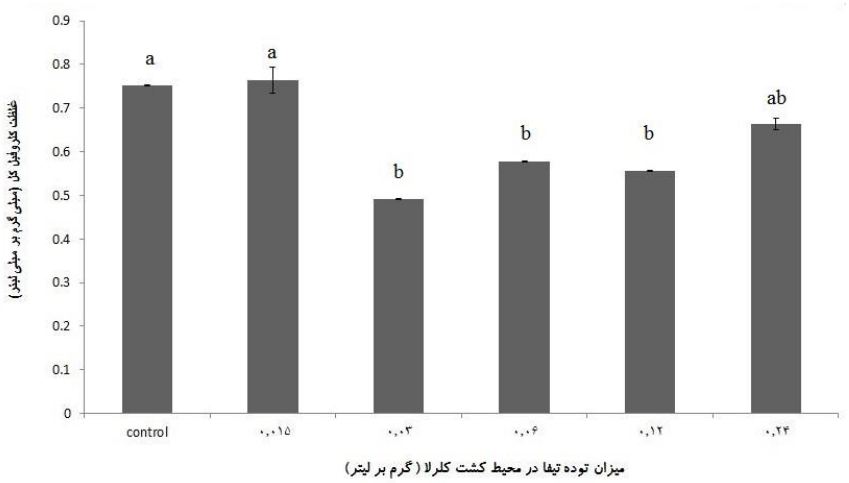
۳- نتایج

۳-۱- اثر گیاه تیفا

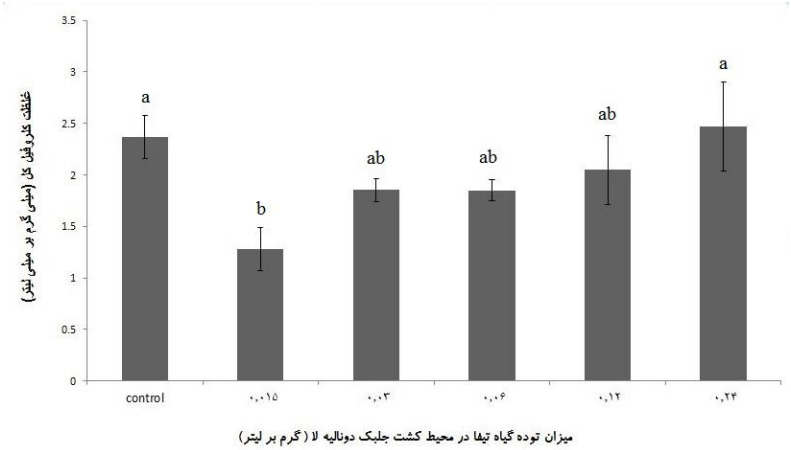
نتایج حاصل از میزان جذب غلظت‌های مختلف پودر گیاه تیفا در ۱۰۰ سی‌سی جلبک کلرلا و دونالیه لا در مدت هشت روز در طول موج ۵۳۰ نانومتر (جدول ۱) نشان داد که میانگین میزان جذب در روز شروع برای جلبک کلرلا ۰/٦٦٨ و برای جلبک دونالیه لا ۱/۰٦٤ بوده است. بیشترین میزان جذب برای جلبک کلرلا مربوط به تیمار یک در روز دوم و برای جلبک دونالیه لا مربوط به تیمار شش در روز هشتم بوده است. نتایج حاصل از روند تغییرات جمعیتی جلبک‌های کلرلا و دونالیه لا در دوره هشت روزه تحت تیمارهای مختلف گیاه تیفا در طول موج ۵۳۰ نانومتر نشان‌داد که تیمارهای مختلف پودر خشک گیاه تیفا از نظر تاثیر بر روی رشد جلبک کلرلا دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P<0.05$) و در جلبک دونالیه لا دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشد ($P>0.05$). شکل ۱ میزان کلروفیل جلبک کلرلا و شکل ۲ میزان کلروفیل جلبک دونالیه لا را نشان می‌دهند که در دوره هشت روزه تحت تاثیر تیمارهای مختلف پودر خشک گیاه تیفا قرارگرفته‌اند. نتایج نشان‌داد که تیمارهای مختلف تیفا بر روی میزان کلروفیل جلبک کلرلا دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P<0.05$) به‌عبارت دیگر میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل در بین تیمارهای شاهد، ۲ و ۳ دارای اختلاف معنی‌دار است ($P<0.05$). از نظر میزان کاروتنوئید نیز بین تیمار شاهد با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P<0.05$) و بر روی کلروفیل جلبک دونالیه لا دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشد ($P>0.05$). به عبارت دیگر غلظت‌های مختلف پودر خشک گیاه تیفا بر روی میزان کلروفیل a، b، کلرفیل کل و کاروتنوئیدهای جلبک دونالیه لا تفاوتی را نشان‌نداد. با افزایش غلظت پودر خشک گیاه تیفا در تیمار شِش (با غلظت ۰/۲٤ گرم درلیتر)، غلظت شاخص‌های کلروفیل a ، b، کل و کاروتنوئیدها افزایش یافت ($p<0.05$).

جدول ۱. میانگین میزان جذب غلظت‌های مختلف گیاه تیفا در ۱۰۰ سی‌سی محیط کشت جلبک‌های کلرلا و دونالیه لا در مدت هشت روز (در طول موج ۵۳۰ نانومتر)

میانگین جذب	روز شروع		روز دوم		روز چهارم		روز ششم		روز هشتم	
تیمار	کلرلا	دونالیه لا	کلرلا	دونالیه لا	کلرلا	دونالیه لا	کلرلا	دونالیه لا	کلرلا	دونالیه لا
شاهد	۰/٦٦٨	۱/۰٦٤	۱/٤٤٦	۳/۰۱٦	۱/٥۲۸	۲/۸۷٤	۱/٦۳۲	۲/۷۱٦	۱/۷٥٦	۲/۸۷۳
۰/۰۱٥	۰/٦٦٨	۱/۰٦٤	۱/۹۱۸	۲/٦٦	۱/۸۹٥	۲/۳٦۸	۱/۹۰٤	۲/٦۹٥	۱/٦۹٦	۲/۷۷٤
۰/۰۳	۰/٦٦٨	۱/۰٦٤	۱/۸۱	۲/٦٦۲	۱/۷۱٤	۲/٤۷۳	۱/٦۳٦	۲/۷۱٥	۱/٤۱۸	۳/۰۸
۰/۰٦	۰/٦٦٨	۱/۰٦٤	۱/۷۱۸	۲/۳۲۲	۱/٦۷٤	۲/٦۰۱	۱/٥۲٦	۲/٤۸٦	۱/٤٥٤	۲/٥
۰/۱۲	۰/٦٦٨	۱/۰٦٤	۱/٦٥٦	۲/٥۹	۱/٦۰۱	۲/٤٦٤	۱/٥٤	۲/۹۷۳	۱/٥۰٤	۲/٦٤۷
۰/۲٤	۰/٦٦٨	۱/۰٦٤	۱/٤۸٦	۲/٦۱٤	۱/۳۹۳	۲/٥۰۳	۱/۳٤۹	۲/۸٦۱	۱/۲٦۹	۳/٦۰٦



شکل ۱. میزان کلروفیل جلبک کلرلا در دوره هشت روزه تیماردهی با پودر خشک گیاه تیفا (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشند.



شکل ۲. میزان کلروفیل جلبک دونالیه لا در دوره هشت روزه تیماردهی با پودر خشک گیاه تیفا (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

۳-۲- اثر گیاه سیپروس

نتایج حاصل از میزان جذب غلظت‌های پودر گیاه سیپروس در ۱۰۰ سی‌سی جلبک کلرلا و دونالیه لا در مدت هشت روز در طول موج ۵۳۰ نانومتر (جدول ۲) نشان داد که میانگین میزان جذب در روز شروع برای جلبک کلرلا ۰/۴۰۳ و برای جلبک دونالیه لا ۰/۲۲۲ بوده است. بیشترین میزان جذب برای جلبک کلرلا مربوط به تیمار پنج در روز هشتم و برای جلبک دونالیه لا مربوط به تیمار سه در روز ششم بوده است.

نتایج حاصل از روند تغییرات جمعیتی جلبک‌های کلرلا و دونالیه لا در دوره هشت روزه تحت تیمارهای مختلف گیاه سیپروس در طول موج ۵۳۰ نانومتر نشان‌داد که تیمارهای مختلف پودرخشک گیاه سیپروس از نظر تاثیر بر روی رشد جلبک کلرلا و دونالیه لا دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P<0.05$).

جدول ۲. میانگین میزان جذب غلظت‌های مختلف گیاه سیپروس در ۱۰۰ سی‌سی محیط کشت جلبک‌های کلرلا و دونالیه لا در مدت هشت روز (در طول موج ۵۳۰ نانومتر)

میانگین جذب	روز شروع		روز دوم		روز چهارم		روز ششم		روز هشتم	
تیمار	کلرلا	دونالیه‌لا	کلرلا	دونالیه‌لا	کلرلا	دونالیه‌لا	کلرلا	دونالیه‌لا	کلرلا	دونالیه‌لا
شاهد	۰/۴۰۳	۰/۲۲۲	۰/۸۹۴	۲/۶۱۹	۰/۹۵۴۷	۲/۸۷۶	۰/۰۳۱۳	۳/۰۳	۱/۲۰۱۳۳	۱/۹۱۳
۰/۰۱۵	۰/۴۰۳	۰/۲۲۲	۰/۷۴۸۶۷	۲/۱۶۷	۰/۹۱۶	۲/۶۳۱	۱/۰۱۹۳	۲/۹۴۸	۱/۲۰۶۶۷1	۱/۷۴۵
۰/۰۳	۰/۴۰۳	۰/۲۲۲	۰/۶۴۴	۲/۵۲۶	۰/۷۰۷۳	۲/۹۹۲	۰/۷۶۲۷	۳/۱۵۴	۰/۶۹۵۳۳	۲/۱۵
۰/۰۶	۰/۴۰۳	۰/۲۲۲	۰/۶۲۵۳۳	۲/۳۶۵	۰/۶۷	۲/۵۴۴	۰/۷۶۴	۲/۵۴۲	۱/۰۷۵۳۳	۱/۳۱
۰/۱۲	۰/۴۰۳	۰/۲۲۲	۰/۷۸۴	۲/۲۰۳	۱/۰۰۶۷	۲/۳۷۶	۱/۰۹۲	۲/۵۸۹	۱/۲۵۱۳۳	۱/۳۶۴
۰/۲۴	۰/۴۰۳	۰/۲۲۲	۰/۷۵۲۶۷	۱/۸۷۴	۰/۹۳	۱/۹۸۷	۱/۱۰۲۰۷	۲/۲۹۲	۱/۲۴۲	۱/۱۰۲

شکل ۳ میزان کلروفیل جلبک کلرلا و شکل ٤ میزان کلروفیل جلبک دونالیه لا را در دوره هشت روزه که تحت تیمارهای مختلف پودر خشک گیاه سیپروس قرارگرفته‌اند، نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که تیمارهای مختلف سیپروس بر روی میزان کلروفیل جلبک‌های کلرلا و دونالیه لا دارای اختلاف معنی دار می‌باشد ($P<0.05$). همچنین غلظت‌های مختلف پودر خشک گیاه سیپروس بر روی مقادیر کلروفیل کل، a، b و کاروتنوئیدهای کلرلا دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P<0.05$). بیشترین میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید در غلظت ۰/۱۲ و کمترین میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل در غلظت ۰/۰۶ گرم درلیتر ثبت و کمترین مقدار کاروتنوئید در غلظت ۰/۰۳گرم در لیتر ثبت شد.

اثر تیمارهای مختلف پودر خشک گیاه سیپروس بر روی رشد جلبک دونالیه‌لا نیز نتایج مشابهی به همراه داشت. به‌طوری‌که روی شاخص رشد جلبک موثر بود ($P<0.05$). ولی پودر سیپروس بر روی میزان کلروفیل های دونالیه لا تاثیری نداشته ($P>0.05$) ولی روی کارتنوئیدها موثر بود ($P<0.05$).

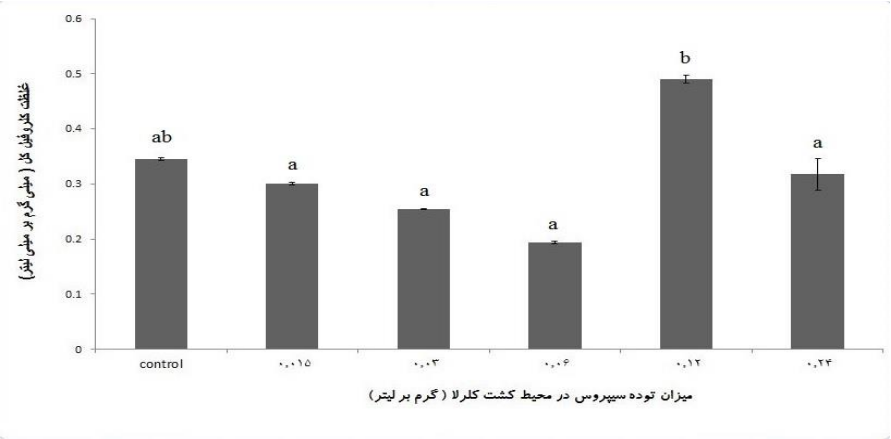
در جدول ۳، میانگین و انحراف معیار غلظت کاروتنوئیدهای جلبک‌های کلرلا و دونالیه‌لا در تیماردهی هشت روزه با غلظت‌های مختلف پودرگیاهان تیفا و سیپروس نشان داده که مطابق نتایج، غلظت کاروتنوئیدها در جلبک‌هایی که با پودر گیاه تیفا تیماردهی شده بودند، همواره بالاتر از نمونه‌هایی بود که تحت تاثیر پودر گیاه سیپروس قرار داشتند.

با افزایش غلظت حضور پودر تیفا، کاروتنوئیدهای جلبک کلرلا کاهش یافت، درحالی‌که در جلبک دونالیه لا چنین روندی مشاهده نشد. این روند نامنظم، در اثر حضور پودر گیاه سیپروس بر روی غلظت کاروتنوئیدهای هر دو جلبک ذکرشده نیز مشابه بود.

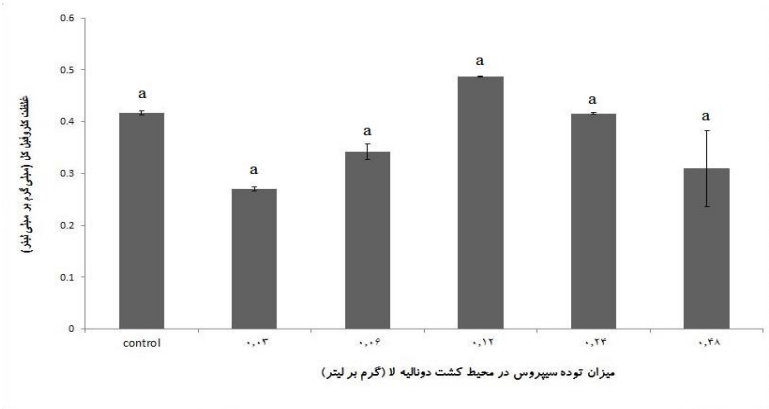
٤- بحث

نتایج نشان داد که تاثیر تیمارهای مختلف پودر خشک گیاه تیفا بر روی میزان کلروفیل‌های a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید جلبک کلرلا موثر است که با پژوهش Fergola و همکاران (۲۰۰۷) در مورد تاثیر بازدارنده کلرلا ولگاریس بر روی جلبک پسودوموناس و پژوهش کیارستمی (۱۳۸۲) در مورد تاثیر معنی‌دار آللوپاتیک برخی علف‌های هرز بر روی رشد ارقام مختلف گندم همسو می باشد.

همچنین غلظت‌های مختلف پودر خشک گیاه تیفا بر روی رشد جلبک دونالیه لا تاثیری ندارد، ولی بر روی رشد جلبک دونالیه لا مؤثر است. به‌طوری‌که با افزایش غلظت پودر خشک گیاه تیفا، غلظت کلروفیل جلبک دونالیه لا نیز افزایش می‌یابد.



شکل ۳. میزان کلروفیل جلبک کلرلا در دوره هشت روزه تیماردهی با پودر خشک گیاه سیپروس (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



شکل ٤. میزان کلروفیل جلبک دونالیه لا در دوره هشت روزه تیماردهی با پودر خشک گیاه سیپروس (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد

جدول ۳. میانگین غلظت کاروتنوئیدهای جلبک‌های کلرلا و دونالیه لا در تیماردهی هشت روزه با غلظت‌های مختلف پودر گیاهان تیفا و سیپروس در ۱۰۰ سی‌سی محیط کشت (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)

میانگین جذب		روز هشتم	
تیمار	پودر گیاه	کلرلا	دونالیه لا
شاهد	تیفا	۰/۳٦±۰/۰۱	۲/۸۰±۰/٦۳
	سیپروس	۰/۱۵±۰/۰۱	۰/۳۹±۰/۰۷
۰/۰۱۵	تیفا	۰/۳۱±۰/۰۳	۱/٦۰±۰/۱۹
	سیپروس	۰/۱٦±۰/۰۰	۰/۳۵±۰/۰۷
۰/۰۳	تیفا	۰/۲٤±۰/۰۰	۲/۹۸±۰/۱٤
	سیپروس	۰/۰۹±۰/۰۰	۰/۳۸±۰/۱۰
۰/۰٦	تیفا	۰/۲۷±۰/۰۰	۲/۲۹±۰/۱۳
	سیپروس	۰/۱۷±۰/۰۱	۰/٦۲±۰/۱۲
۰/۱۲	تیفا	۰/۲۵±۰/۰۰	۲/۵۰±۰/۵۵
	سیپروس	۰/۲۲±۰/۰۲	۰/۵۵±۰/۰۵
۰/۲٤	تیفا	۰/۱۹±۰/۰۰	۳/۱۱±۰/۹٦
	سیپروس	۱/۵۵±۰/۰۲	۰/۳۷±۰/۱۲

پژوهش حاضر مطابق با بررسی‌های انجام‌شده توسط Ferrier و همکاران (۲۰۰۵) و منافف‌ر و همکاران (۱۳۸۵) که به ترتیب بر روی عدم تاثیر کاه جو بر روی رشد جلبکی و عصاره دانه گیاه سنجد تلخ بر روی جلبک دونالیه لا می‌باشد.

از سوی دیگر، غلظت‌های مختلف پودر خشک گیاه سیپروس بر روی رشد جلبک کلرلا نیز حاکی از موثر بودن آن است، به‌طوری‌که ابتدا میزان کلروفیل‌ها افزایش می‌یابد ولی در بیشترین غلظت (یعنی ۰/۲٤ گرم در لیتر) مجددا کاهش می‌یابد. بررسی‌های Mulderij و همکاران (۲۰۰۷) پیرامون اثر فیتوپلانکتون روی ماکروفیت Chara sp. و Stratiotes aloides نیز موید نتایج پژوهش حاضر است.

همچنین غلظت‌های مختلف پودر خشک گیاه سیپروس بر روی رشد جلبک دونالیه‌لا نیز موثر بود، به‌طوری‌که با افزایش غلظت گیاه سیپروس، میزان غلظت کلروفیل‌های جلبک *دونالیه لا* کاهش می‌یابد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که افزایش حضور گیاه سیپروس موجب کاهش رشد جلبک دونالیه لا می‌گردد. بررسی‌های شجیع و همکاران (۱۳۸٤) اثر معنی‌دار آللوپاتی عصاره آبی گیاه توق را بر روی رشد چهار گیاه ذرت، کلزا، کنجد و نخود را نشان داد که با افزایش غلظت آن، به‌طور معنی‌داری رشد هر چهار گیاه کاهش می‌یابد. همچنین این پژوهش با نتیجه پژوهش‌های Bruckner و همکاران (۲۰۰۳) و Ferrier و همکاران (۲۰۰۵) و Wang و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت دارد. حضور گیاه تیفا موجب افزایش غلظت کاروتنوئیدهای جلبک‌های کلرلا و دونالیه لا در مقایسه با گیاه سیپروس می‌گردد. افزایش غلظت پودر تیفا اثر معکوسی روی کاروتنوئیدهای جلبک کلرلا داشت، در حالی‌که در مورد جلبک دونالیه لا چنین روندی دیده نمی‌شود. از طرفی تغییرات میزان حضور پودر سیپروس نتایج متفاوتی در مقادیر کارتنوئید هر دو جلبک دارد. Amar و همکاران (۲۰۰٤) و Lichtenthaler و Wellburn (۱۹۸۵) نیز هیچ روند منظمی در شرایط مشابه گزارش نکرده و این پدیده صرفاً در پژوهش کنونی و پیرامون افزایش حضور گیاه تیفا بر روی افت میزان کاروتنوئیدهای جلبک کلرلا دیده شد.

۵- جمع‌بندی و نتیجه‌گیری

در بررسی رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل‌های a، b، کلروفیل کل و همچنین غلظت کاروتنوئیدها، نتایج به‌دست آمده نشان‌دهنده تاثیر گیاهان آبزی تیفا و سیپروس بر روی جلبک‌های دونالیه لا و کلرلا می‌باشد. براساس یافته‌های پژوهش حاضر، اگرچه حضور گیاه تیفا تاثیری روی رشد جلبک دونالیه لا ندارد، اما برعکس بر روی رشد کلرلا موثر است. همچنین حضور پودر سیپروس در محیط، بر رشد هر دو جلبک دونالیه لا و کلرلا موثر بود. از دیگر سو، فعالیت آللوپاتی پودر خشک گیاهان آبزی فوق بر روی رشد دو جلبک مذکور نیز موثر اما متفاوت است. گیاه تیفا با ترشح مواد آللوشیمیایی اثر محرکی بر روی رشد جلبک کلرلا داشته، درحالی‌که بر روی جلبک دونالیه لا تاثیری نمی‌گذارد. گیاه سیپروس نیز اثر بازدارندگی بر روی رشد هر دو جلبک داشته است.

٦- پی نوشت‌ها

1- Dunaliella tertiolecta.
2- Chlorella Vulgaris.
3- Typha Latifolia.
4- Cyperus Longus.
5 -Ambario Artemisiifolia L.
6 -Chlamydomonas Sp.
7- Chlorella Vulgaris.
8- Spirogyra Sp.
9 -Navicula Sp.
10- Stratiotes Aloides.
11- Chara Sp.
12- Chlorella Vulgaris.
13- Pseudokirchneriella Subcapitata.
14- Chlorella Vulgaris.
15- Pseudokirchneriella Subcapitata.
16 -Azandirachta Indica.
17 -Dunaliella Teriolecta.

۷- منابع

- اسماعیلی‌ساری، ع؛ (۱۳۷۹) "جلبک‌ها، قارچ‌ها و بی‌مهرگان آب شیرین"، انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران، چاپ اول، ۵۳۱ ص.

- حسن عباسی، ن؛ (۱۳۷۷) "گیاهان آبزی"، انتشارات پدیده ، گرگان، ۲۲۸ ص.

- حمدی، م. و اسدی، م. (۱۳۸۲) "فلور ایران تیره تیفا"، انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها ومراتع کشور، چاپ اول، شماره ٤٢، ٣٤ ص.

- شجیع، ا. گواهی، م. و صفاری، م. (١٣٨٤) "بررسی اثر آللوپاتی عصاره آبی شاخساره توق بر جوانه‌زنی و رشد اولیه ذرت، کلزا، کنجد و نخود"، اولین همایش ملی حبوبات مشهد، صفحات ۵۱۰ تا۵۱۲.

- صفری، ر. ابطحی، ب. و طیبی، پ. (۱۳۹۰) "بررسی اثرات بازدارندگی عصاره جلبک کلرلا ولگاریس روی باکتری باسیلوس در محیط کشت آزمایشگاهی"، مجله علمی پژوهشی علوم و فناوری غذایی، سال سوم، شماره دوم، تابستان ۹۰، ۳۳-۲۷.

- کیارستمی، خ. (۱۳۸۲) "تاثیرآللوپاتیک برخی علف‌های هرز بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های ارقام مختلف گندم"، مجله پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی، شماره٦١، صفحات ٦٦ تا ٧٣.

- کیانمهر، ه. (۱۳۸۱) "مبانی جلبک شناسی"، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۲۵ ص.

- محمدی، ه. (۱۳۸۵) "راهنمایی شناسایی جلبک‌های آب شیرین"، انتشارات علمی‌آبزیان، چاپ دوم، ٨٦ ص.

- مناف‌فر، ر. ملکی، ر. آتشبار، ب. و آق، ن. (۱۳۸۵) "استفاده از عصاره دانه گیاه Azadirachta indica علیه مژک‌داران تک‌سلولی مهاجم در محیط پرورش متراکم جلبک تک‌سلولی Dunalilla tertiolecta"، مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، شماره۷۱، صفحات ۸۲ تا ۸۸.

- Amar, E.C., Kiron, V., Satoh S. and Watanabe, T., (2004) "Enhancement of innate immunity in rainbow trout (Oncorhynchus Mykiss) associated with dietary intake of carotenoids from natural products", Tokyo University of Marine Science and Technology, Minato, Japan. pp: 527- 537.

- Ben-Amotz, A., and Avron, M., (1990) "The Biotechnology of Cultivating the halo tolerant alga dunaliella", TIBTECH, 8: 124-129.

- Bruckner, D.J., Lepossa, A., Herpai, Z., (2003) "Inhibitory effect of Ragweed (Ambario artemisiifolia L.)-inflorescence extract on the germination of Amaranthus Hypochondriacus L. and growth of two soil algae", Chemosphere, 51: 515–519.

- Drost, D.C., and Doll, J.D., (1980) "The Allelopathic effect of yellow Nutsedge (Cyperus esculentus) on corn (zea mays) and soybean (Glycine max)", Weed Science, 28: 229-233.

- Fergola, P., Cerasuolo, M., Pollio, A., Pinto, G., and DellaGreca, M., (2007) "Allelopathy and Competition between Chlorella Vulgaris and Pseudokirchneriella subcapitata: Experiments and Mathematical Model", Ecological Modeling, 208: 205-214.

- Ferrier, M.D., Butler S.B.R., Terlizzi, D.E., and Lacouture, R.V., (2005) "The effects of Barley straw (Hordeum vulgare) on the growth of Freshwater algae", Bioresource Technology, 96: 1788–1795.

- Horowitz, M., and Friedman, T., (1971) "Biological activity of Subterranean residues of Cynodon Dactylon, Sorghum balepense, and Cyperus Rotundus", Weed Research, 11: 88- 93.

-Jin Q., and Dong, S., (2003) "Comparative studies on the Allelopathic effects of two different strains of Ulva pertusa on Heterosigma akashiwo and Alexandrium tamarense", Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 293: 41-55.

-Lichtenthaler, H.K., and Wellburn, A.R., (1985) "Determination of Total Carotenoids and Chlorophylls a and b of Leaf in Different Solvents", Biol. Soc. Trans., 11: 591-592.

- Mulderij, G., Van Nes, E.H., and Van Donk, E., (2007) "Macrophyte–phytoplankton interactions: The relative importance of Allelopathy versus other factors", Ecological modeling, 204: 85-92.

- Qureshi, M.A., and Ali, R.A., (1996) "Spirulina Platensis Exposure Enhances Macrophage Phagocytic Fonction in Cats". Immunopharmacol, 18: 457-463.

- Wang, Y., Yu, Z., Song, X., Tang, X., and Zhan, Sh., (2007) "Effects of Macroalgae Ulva Pertusa (Chlorophyta) and Gracilaria lemaneiformis (Rhodophyta) on growth of four species of bloom-forming Dinoflagellates", Aquatic Botany, 86: 139–147.

- Sano, T., and Tanaka, Y., (1987) "Effect of dried, powdered Chlorella Vulgaris on Experimental Atherosclerosis and Alimentary Hypercholesterolemia in Cholesterol-fed Rabbits", Artery, 76-84.

-Tim, J., Bowden, T.J., Thompson, K.D., Morgan, A.L., and Nikoskelainen, S., (2007) "Seasonal variation and immune response: A fish Perspective", Department of Zoology, University of Aberdeen, Scotland, UK, pp: 695-70

-Sano T., Kumanoto, Y., and Kamiya, N., (1988) "Effect of lipophilic extract of Chlorella Vulgaris on Alimentary Hyperlipidemia in Cholesterol-fed rats", Artery, 15: 217-224.