

## بررسی اثر غلظت‌های مختلف فسفر بر رشد جلبک سیانوباکتر *Jaaginema sp.* و تأثیر سمیت آن بر آبزیان

نگین حیدری<sup>۱\*</sup>، پرینا نجاتخواه<sup>۲</sup>، زهره رمضانپور<sup>۳</sup>، میترا صباحی اصل<sup>۴</sup>

### چکیده

سمومی که در آبهای جاری و در دریاها به وسیله جلبکها تولید می‌شوند در صورتیکه به وسیله انسان، ماهیها و حیوانات خورده شوند می‌تواند اثرات مخرب و حتی کشنده داشته باشند. این سموم در هنگام ایجاد بلوم توسط سیانوباکتريا در آب ایجاد می‌شوند. عوامل زیادی از جمله نور، حرارت، دی اکسید کربن، مواد فسفره و نیتروژنه در تشکیل بلوم و رشد سریع جلبکها دخالت دارند. در پژوهش حاضر اثر غلظت‌های مختلف فسفر بر میزان رشد جلبک سیانوباکتر *Jaaginema sp.* با هدف بررسی اثر تحریک کنندگی یا باز دارندگی این ماده بر رشد این جلبک مورد بررسی قرار گرفت. پس از خالص سازی جلبک *Jaaginema sp.* آزمایش با ۲ گروه تیمار و یک گروه شاهد در ۴ تکرار (در مجموع ۹ گروه) با استفاده از محیط کشت‌های Z8 و BG11 (با تغییرات فسفات در تیمارها) در شرایط آزمایشگاهی (دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۲۲۰۰ لوکس) قرار داده شد و پس از ۴۸ ساعت این گونه رنگهای متفاوتی از زرد در BG11 تا سبز فسفوری در Z8 را نشان داد. ریشه‌ها به مدت ۲۰ روز، به طور روزانه به وسیله لام هموسیتمتر شمارش شدند. سرعت رشد ویژه ( $\mu$ ) و میزان تقسیم سلولی در روز (G) برای هر گروه محاسبه شد. نتایج بدست آمده نشان داد که افزایش فسفات به میزان دو برابر (۱-۶/۲g) بسیار مؤثرتر از سه برابر (۱-۹/۳g) برای رشد این سیانوباکتر می‌باشد. با آزمایشاتی که انجام شد رشد جلبک *Jaaginema sp.* در مقدار ذکر شده بیشتر بوده و مقدار بالاتر از این عدد می‌تواند رشد باز دارنده داشته باشد. نتایج تایید می‌نماید فسفر عامل محدود کننده برای رشد این سیانوباکتر بوده و در شکوفایی و آزاد شدن سم آن در تشکیل شکوفایی و رشد سریع جلبکی دخالت دارند.

واژگان کلیدی: فسفات، سیانو باکتر، *Jaaginema sp.*، رشد، شکوفایی جلبکی

### مقدمه

جلبک *Jaaginema sp.* از شاخه جلبکهای سبز -

آبی (Cyanophyta) می‌باشد. این جلبک از راسته اوسیلاتوریالس (Oscillatoriales) و متعلق به خانواده سودوآنابنا (Pseudanabaenaceae) می‌باشد. عوامل متعددی بر رشد و پراکنش فیتوپلانکتونها مؤثر است که می‌توان به عوامل زیستی و غیر زیستی اشاره کرد. که در

۱، ۲ و ۴- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، دانشکده‌ی علوم و فنون دریایی، گروه بیولوژی دریا

۳- انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاوباری

\*-نویسنده مسئول Negin.heidary@gmail. Com

مجموع عوامل غیر زیستی شامل دی اکسید کربن، اکسیژن، عناصری مانند نیتروژن، فسفر، کلسیم، آهن، مس و... و مواد مغذی می باشد و از عوامل زیستی میتوان به نرخ رشد و فشار چرندگان اشاره کرد (۱). با توجه به اینکه جلبکهای مختلف تحت شرایط محیطی متفاوت دارای رشد یکسانی نخواهند بود و با توجه به اهمیت اقتصادی این جلبکها در زمینه های غذایی، دارویی، ویتامینی و غیره، ضرورت رشد سریعتر و ارزانتر احساس می گردد. از اینرو با تغییر بعضی از عناصر غذایی میتوان میزان رشد و تراکم سلولی را به حداکثر مقدار خود بخصوص در مقادیر انبوه رساند. لذا مباحث مطالعاتی بر روی تأثیر میزان این عناصر روی واریته‌ها و گونه‌های بومی کشورمان صورت گیرد تا بتوان گامی جهت خود کفایی و رفع مشکلات آبی پروری برداشت.

فسفر نقش اساسی در رشد گیاهان دارد. اهمیت این عنصر در فعالیتهای متابولسمی و بیولوژیکی می باشد. این عنصر به اشکال مختلفی دیده می شود: بصورت فسفاتهای محلول، فسفر بصورت اسید، فسفر قابل انحلال که عمدتاً فسفات فریک و فسفات کلسیم است، فسفر آلی، فسفر کلوییدی و همچنین فسفر آلی معلق (۹). جلبکها با دارا بودن آنزیم فسفاتاز قادرند در بیرون سلول خود مواد فسفر دار را هیدرولیز و سپس جذب کنند ولی این عمل به دو علت به آسانی میسر نیست: اولاً همه جلبکها در این رابطه قابلیت یکسانی ندارند و ثانیاً فسفات آلی به آسانی ارتو فسفات (فسفات معدنی) قابل مصرف نیست. (۳)

سیانو باکتریها انتشار و پراکندگی وسیعی در طبیعت دارند. توده آنها به وضوح و با چشم غیر مسلح قابل رویت هستند. شرایط مناسب محیط باعث ازدیاد جمعیت و شکوفا شدن و ایجاد بلوم در آب می گردد. تجمع بیش از حد جلبکهای سبز- آبی در سطح آب موجب اشباع شدن آب از اکسیژن، کاهش CO<sub>2</sub> و در نتیجه کاهش فتوسنتز و تثبیت ازت هوا می گردد.

جلوگیری از فتوسنتز در نهایت به از بین رفتن جلبکها و سپس به تجزیه آنها توسط باکتریها منجر می شود استفاده سریع از اکسیژن توسط باکتریها، کاهش اکسیژن آب را در پی دارد که این مساله حیات آبیان را به خطر انداخته موجب مرگ و میر آنها میشود. از اثرات نامطلوب دیگر، ایجاد بلوم توسط جلبکهای سبز- آبی و آزاد شدن سموم در آب است. تاکنون حدود ۲۵ گونه جلبک سبز- آبی گزارش شده است که تولید سم می کنند. سمومی که در آبهای جاری و در دریاها به وسیله جلبکها تولید می شود در صورتیکه به وسیله انسان، ماهیها و حیوانات خورده شود می تواند اثرات مخرب و حتی کشنده داشته باشد. سموم تولید شده توسط جلبکهای سبز- آبی را در سه گروه قرار داده اند:

۱- نروتوکسین (Neurotoxins) این سموم از جلبکهای سبز- آبی مانند آنابنا، اسیلاتوریا و افانیزومنون استخراج شده اند. نروتوکسین ها آلکالوئیدهایی هستند که ساختمان مشابه با سموم تولید شده توسط دینوفیتا دارند. اثرات این سموم بر جانوران و انسان به صورت فلج شدن اعضا، ترشح زیاد بزاق و ... تظاهر می کند.

۲- هپاتوکسین (Hepatotoxins) که به سموم کبدی معروفند توسط جلبکهای سبز- آبی نظیر میکروسیستیس، اوسیلاتوریا و آنابنا تولید می شود و اثرات این سموم بر جانوران شامل: تجمع خون در کبد، استفراغ، اسهال، ضعف، شوک، اختلال در تنفس و ... می باشد. به طوری که در مدت ۲ الی ۲۴ ساعت منجر به مرگ می شود.

۳- لیپوپلی ساکاریدها که این سموم ساختار بسیار متنوعی دارند و از چربی و قندهای مختلف تشکیل شده اند. این سموم در هنگام بلوم توسط سیانوباکتیریا در آب ایجاد می شوند. عوامل زیادی از جمله نور، حرارت، CO<sub>2</sub>، مواد فسفره و نیتروژنه در تشکیل بلوم و رشد سریع جلبکها دخالت دارند (۴).

## مواد و روش کار

نمونه برداری از تالاب انزلی، منطقه نهنگ روگا در مرداد ماه ۱۳۸۶ توسط تور پلانکتون گیری ۲۵ میکرون انجام شد. سپس جداسازی جلبک *Jaaginema sp.* از میان سایر میکرو ارگانیسمها توسط روش پیپت و هوک انجام شد (۹). پس از آن خالص سازی جلبک در اتاق کشت که توسط اشعه ماوراء بنفش (UV) استریل شده بود صورت گرفت. دمای اتاق کشت ۲۵ درجه سانتی گراد با نور ۲۲۰۰ لوکس که توسط دستگاه لوکس متر اندازه گرفته شد. محیط کشت‌های تهیه شده برای این جلبک با توجه به رفرنس‌ها محیط کشت Z8 و BG11 در نظر گرفته شد. برای بررسی غلظتهای مختلف فسفر بر رشد سیانوباکتر *Jaaginema sp.* در لوله‌های آزمایش به مقدار ۱۰ میلی لیتر محیط کشت Z8 ریخته شد و پس از استریل شدن توسط دستگاه اتوکلاو از نمونه‌های تغلیظ و خالص شده تزریق به لوله‌های استریل انجام شد. در این بررسی ۲ تیمار با غلظت‌های مختلف فسفر به ترتیب دو برابر (۶/۲ g l-1) و سه برابر (۹/۳ g l-1) و یک شاهد (۳/۱ g l-1) استفاده شد. که هر یک در چهار تکرار مورد بررسی قرار گرفت. پس از همگن نمودن، یک سی سی از این محلول هر ۴۸ ساعت یکبار در شرایط آزمایشگاهی (دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتی گراد و شدت نور ۲۲۰۰ لوکس) با استفاده از لام هموسیتومتر و میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰ شمارش شد. همچنین تعداد سلولهای هر ریشه به طور تصادفی در بزرگنمایی ۴۰ و ۱۰۰ بررسی شد. شمارش جلبکها به مدت ۲۰ روز انجام پذیرفت. جهت آنالیز داده‌ها و استفاده از نرم افزار SPSS و آنوا یکطرفه و برای ترسیم نمودارها و جداول از نرم افزار Excel استفاده شد. مقادیر  $\mu$  و G از معادلات زیر به دست آمدند: (Fogg&Thake;1987)

$\mu$ : میزان سرعت رشد ویژه (d-1)

$$\mu = (\ln x_0 - \ln x_1) / (t_0 - t_1)$$

X1: میانگین تعداد سلولها در زمان t1

$$G = \ln 2 / \mu$$

X0: میانگین تعداد سلولها در زمان t0

G: میزان تقسیم سلولی در روز (d)

## نتایج:

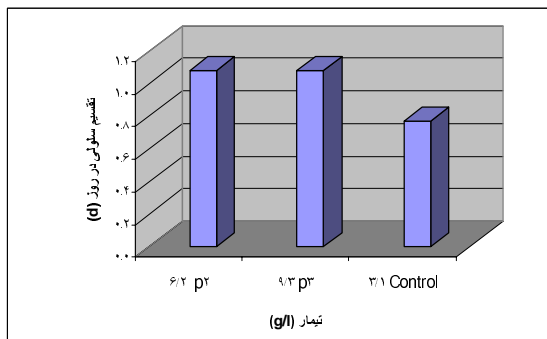
*Jaaginema sp.* از جلبکهای رشته ای غیر منشعب بدون اسپور است. رشته‌ها میتوانند به آهستگی در طول باریک شده، جاگینما خودش فتوستتیز، دفع، رشد و تقسیم را انجام می دهد و مانند تک سلولی‌ها عمل می کند. قطر ریشه های آن بین ۱ تا ۳۰ میکرون تغییر می یابد ریشه های آن ممکن است به صورت انفرادی و یا مجتمعی که داخل یکدیگر قرار می گیرند در طبیعت دیده شوند. (۲) (شکل شماره ۱ و ۲)



شکل شماره ۱ - *Jaaginema sp.* جداسازی شده از منطقه نهنگ روگا در سال ۱۳۸۶ (X 200).



شکل شماره ۲ - *Jaaginema sp.* جداسازی شده از منطقه نهنگ روگا در سال ۱۳۸۶ (X 200).



نمودار شماره ۳ - میزان تقسیم سلولی در روز بر حسب غلظت های مختلف فسفر G

### بحث:

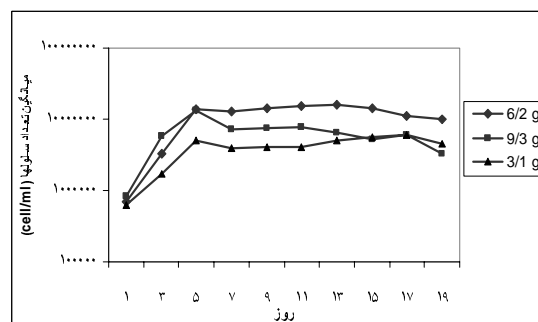
*Jaaginema sp.* در انواع آبها به صورت پلانکتون و یا کف زی روی صخره ها و خاک مشاهده می شود. (۲) وقتی این جلبک رشد کرد سلولهای رویشی از فضای مرده ریشه می شکند و به تکه های ریشه هور موگونیوم گویند، بنابراین تولید مثل این تیره به وسیله ایجاد هورموگون انجام می شود (۳).

*Jaaginema sp.* بسیار شبیه اوسیلاتوریا می باشد. در مطالعه ای که در مورد اثر غلظت های مختلف نیترات به فسفات بر رشد اوسیلاتوریا انجام گرفت می توان گفت که سیانو باکتر اوسیلاتوریا گرانولهای فسفات را در فاز القاء رشد و فاز سریع الرشد (فاز ۱ و ۲) از چرخه رشد برای خود ذخیره کرده و با در دست داشتن فسفات کافی می تواند رشد بهتری داشته باشد (۸).

از آنجایی که بیشتر جلبکهای سمی آبهای تازه و روان و همچنین برخی گونه های دریایی سمی، متعلق به سیانوفیسه ها می باشد از اینرو شناخت گونه های سمی و اثرات آنها مورد توجه است. از سال ۱۸۷۸ گزارشات در مورد جلبکها و سمیت شان برای حیوانات ارائه گردیده است.

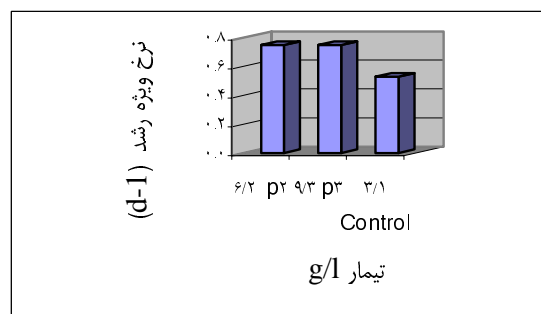
در مطالعه ای محققین نشان دادند که سیانوباکتریهای همچون *Lyngbya majuscula* در اثر شکوفایی که ایجاد می کنند باعث کاهش اکسیژن آب و آزاد شدن سموم می گردند. وجود این سموم در آب نه تنها حیات آبزیان را تهدید می کند بلکه آشامیدن آب آلوده باعث

نتایج حاصله در مورد غلظت های مختلف فسفر نشان داد که *Jaaginema sp.* تقریباً در هر سه تیمار در روز پنجم به اوج رشد خود می رسد و در روز پانزدهم به فاز مرگ نزدیک می گردد (نمودار ۱).



نمودار شماره ۱ - مقایسه رشد جلبک *Jaaginema sp.* در تیمارهای مختلف فسفر

فسفر به جز آنهایی که توسط مواد آلی مشخصی آلوده می شوند، در آبهای طبیعی به میزان کم وجود دارد و میزان کم آن ممکن است رشد بعضی گونه ها را محدود کند. از اینرو سیانوباکتر *Jaaginema sp.* با در دسترس داشتن میزان فسفر کافی سریع رشد کرده و همانطور که در نمودار مشاهده می شود در غلظت دو برابر فسفر (6/2 g/l-1) رشد بهتری از ۳ برابر فسفر و شاهد دارد. البته این نتایج طبق بررسی با آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA one way) و بر اساس آزمون جدا ساز دانکن (Duncan) اختلاف معناداری را نشان داد (نمودار ۲ و ۳).



نمودار شماره ۲ - سرعت رشد ویژه ۱۱ بر حسب غلظت های مختلف فسفر

- Oliver, P., Shaw, G., (1999): Bloom of the Cyanobacterium *Lyngbya majuscula* in coastal waters of Queensland. In: Charpy, L., Larkum, A.W.D. (Eds.), Proceeding of the International Symposium on Marine Cyanobacteria, November 1997. Institut Oceanographique, Paris
- 5- Foog, G.E.; B.Thake., (1987): Algal culture and phytoplankton ecology (3rd edition), the University of Wisconsin press, pp-12-56.
- 6- Hewson, I., O'Neil, J.M., Dennison, W.C., (2001). Virus-like particles associated with *Lyngbya majuscula* (Cyanophyta, Oscillatoriaceae) Bloom decline in Moreton Bay, Australia. Aquatic Microbial Ecology 25, 207-213.
- 7- Kruskopf, M., Du Plessis, S., (2005): Growth and filament length of the bloom forming *Oscillatoria simplicissima* (Oscillatoriales, Cyanophyta) in varying N and P Concentrations, Biota BD, Finland .
- 8- Trrota, P., (1975): Outline of aquaculture, japan international cooperation agency Government of Japan. PP.131-144.
- مرگ انسان و بسیاری از حیوانات، از جمله گاو، گوسفند، اسب، سگ و غیره شده است (۵).
- همچنین در سال ۲۰۰۱ گزارشی از توکسین های جلبک های سبز-آبی داد بدین صورت که جلبک های سبز-آبی دریایی توکسیک عمدتاً متعلق به اسیلاتوریاسه (Oscillatoriaceae) می باشند. توکسین یافت شده در جلبک *Lyngbya spp.* دریایی ممکن است مسؤل ایجاد عوارض پوستی در شناگران باشد (۷).
- از اینرو شناخت سیانوباکتريا از جمله جلبک *Jaaginema sp.* و عوامل مؤثر بر رشد آن از دلایل انتخاب این پژوهش است.

## تشکر و قدردانی

از همکاری های ارزشمند آقای مهندس پرندآور مسؤل محترم آزمایشگاه اکولوژی و خانم ها مهندس مرجان صادقی و مهندس عما ارشد مسؤلین محترم آزمایشگاه آب شناسی انستیتو تحقیقات بین المللی پرورش ماهیان خاویاری و آقای دکتر دادمان برای مساعدت های لازم در زمینه اجرای پژوهش کمال تشکر و قدردانی را داریم.

## منابع

- ابراهیم زاده، ح. (۱۳۷۲): فیزیولوژی گیاهی، جلد سوم: متابولیسم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه ۵۱۴.
- ۱- بلچر، ه. (۱۳۸۵): راهنمای شناسایی جلبک های آب های شیرین. ترجمه محمدی. انتشارات آبزیان. تهران، ایران.
- ۲- ریاحی، ح. (۱۳۸۱): جلبک شناسی. انتشارات دانشگاه الزهرا (س)، چاپ دوم. صفحه ۹۰-۵۴.
- ۳- قربانی، ش. سادات سوار، ن (۱۳۸۵): مبانی جلبک شناسی. ویراستار: یوسفی، ف. انتشارات امید، صفحه ۲۳۰.
- 4- Dennison, W.C., Neil O., Duffy, E. J.M.,

