magiran.com

استفاده از ساکارز، بعنوان یک محافظ اسمزی در افزایش مقاومت آزولا (*Azolla filiculoides* Lam.) به تنش شوری و گرما

محمود اصفیاء[۱]*؛ امیر قلاوند[۲]؛ حسین حیدری شریف آباد[۳]؛
شعبانعلی نظامی بلوچی[۴] و قربان نورمحمدی[۵]
m.asfia@altmed.ir
۱ و ۵- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران صندوق پستی: ۷۷۵-۱۴۵۱۵
۲- دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس
۳ - سازمان ترویج، آموزش و تحقیقات کشاورزی، تهران صندوق پستی: ۱۱۱۳-۱۹۳۹۵
۴- موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۸۶ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۸۷

چکیده

تأثیر افزودن ۲/۷۵ تا ۱۱ مول ساکارز در محیط کشت آزولا (*Azolla filiculoides* Lam.) بعنوان یک محافظ اسمزی، بر زمان دو برابر شدن آزولا، درصد بقاء و درصد شادابی، در شرایط تنش شوری (هدایت الکتریکی ۷ تا ۱۸/۸ میلی زیمنس بر سانتیمتر) و تنش گرمای شدید (۴۲/۳۶ درجه سانتیگراد)، با شرایط محیطی بهینه (دمای ۲۴/۱۸ درجه سانتیگراد، هدایت الکتریکی ۰/۶۵ میلی زیمنس بر سانتیمتر و شدت نور ۲۱۰۰ لوکس) در قالب دو طرح آزمایشی بلوکهای کاملاً تصادفی با ۴ تکرار، در اطاقک رشد، مورد بررسی قرار گرفت. در شرایط بهینه رشد (عدم وجود تنش گرما)، افزودن مقادیر مختلف ساکارز به محیط کشت‌هایی با شوری ۰/۶۵، ۷/۸ و ۱۸ میلی زیمنس بر سانتیمتر، اختلاف معنی‌داری بر درصد شادابی ($P>0.01$) و درصد بقاء ($P>0.05$) آزولا نسبت به محیط کشت شاهد (فاقد ساکارز) ایجاد نکرد. در تنش گرمای شدید (۴۲/۳۶ درجه سانتیگراد) و تنش شوری متوسط (۹/۱ میلی زیمنس بر سانتیمتر)، افزودن ۵/۵ مول ساکارز به محیط کشت، باعث افزایش معنی دار درصد شادابی ($P<0.01$) و درصد بقاء ($P<0.05$) آزولا نسبت به محیط کشت شاهد (فاقد ساکارز) شد. در تنش گرمای شدید، افزودن ۵/۵ مول ساکارز به آب دریای خزر، باعث افزایش معنی‌دار سرعت رشد آزولا (کاهش زمان دو برابر شدن)، نسبت به شوری‌های کمتر شد ($P<0.05$).

لغات کلیدی: آزولا، تنش شوری، تنش گرما، ساکارز، محافظ اسمزی

* نویسندهٔ مسئول

magiran.com

مقدمه

آزولا (*Azolla*) نام جنس نوعی سرخس آبزی است که از طریق زندگی همزیستی با یک سیانوباکتر، بنام آزولی *Anabaena azollae*، ازت هوا را تثبیت کرده و بعنوان یک کود سبز، یا در کشت همزمان با برنج، توان تامین نیتروژن مورد نیاز این گیاه را که غذای اصلی بیش از نیمی از جمعیت جهان است، را دارا می‌باشد (اصفیاء ، ۱۳۶۴). آزولا در هر سال توان تثبیت ۲/۴ تن ازت و ۱۴/۵ تن کربن (۴۸ تن دی اکسید کربن) اتمسفر در هکتار را دارد. آزولا گیاهی است غنی از پروتئین و از آن در تغذیه دام بویژه ماهی استفاده می‌شود. مصرف دیگر آزولا استفاده از آن برای تصفیه آب و فاضلاب می‌باشد (Myslicki, 2007).

آزولا (*Azolla filiculoides*) گونه سازگار در شمال کشور بوده و گونه‌ای است مقاوم به سرما که درجه حرارت بهینه شب و روز برای رشد آن ۲۴/۱۸ درجه سانتیگراد می‌باشد. این رقم مقاومترین گونهٔ آزولا به شوری است و در کشور چین از آن برای اصلاح خاکهای شور استفاده شده است (Asfia, 1987). حد تحمل این گونه به شوری آب تا هدایت الکتریکی ۱۰ میلی‌زیمنس بر سانتیمتر می‌باشد (اصفیاء و همکاران، ۱۳۷۹).

متابولیت‌های سازگاری (محافظ اسمزی)، ترکیباتی هستند که در همهٔ موجودات زنده وجود داشته و در شرایط تنش‌های مختلف محیطی، در سیتوپلاسم سلولها تجمع یافته و باعث افزایش فشار اسمزی، ثبات پروتیین‌ها و غشای سلولی و در نتیجه افزایش مقاومت گیاهان می‌شوند. محافظ اسمزی‌ها از نظر ساختمان شیمیایی شامل: بتائین‌ها مانند گلایسین بتائین، پرولین بتائین؛ پولیولها و قندها مانند ساکارز، ترهالوز و مانیتول و اسیدهای آمینه مانند پرولین هستند (Thomashow, 1999).

بهترین منبع کربن برای آزولا (*Azolla caroliniana*) بترتیب ساکارز، گلوکز، مالتوز و فروکتوز بوده و حد بهینهٔ غلظت کربوهیدراتها در محیط کشت ۲ درصد و pH بهینه ۴ تا ۶/۵ می‌باشد (Nickell, 1961).

بررسی‌های Gouffi و همکاران در سال ۱۹۹۸ نشان دادندکه افزودن ساکارز (شکر معمولی) به محیط کشت شور، باعث افزایش رشد، در سیانوباکتر *Sinorhizobium meliloti* شد.

سیانوباکترها قدرت سازگاری با دامنهٔ وسیعی از شرایط محیطی را دارا هستند (Nishida & Murata, 1996). این ویژگی باعث شده است که از سیانوباکترها بعنوان یک الگوی مناسب برای مطالعات مربوط به مکانیزمهای مولکولی واکنش به تنش‌ها استفاده نمایند (Suleyman, 2000).

مطالعهٔ واکنش سیانوباکتر *Synechococcus sp.* به تنش شوری نشان داد که در این شرایط پمپهای Na^+/H^+ در غشاء سلولی سیانوباکتر فعال شده و در عوض جذب یک مولکول H^+، یک مولکول Na^+ به خارج از سلول پمپ می‌شود. همچنین این بررسی‌ها نشان داد که در تنش شوری شدید، میزان تنفس به شدت افزایش یافته و تجمع ترکیبات آلی تنظیم کننده اسمزی مثل ساکارز، ترهالوز، گلایسین بتائین و گلوکوزیل گلایسرول در سیانوباکتر، در رابطه با افزایش مقاومت به تنش شوری شدید، مشاهده گردید (Hageman & Murata, 1997; Hayashi & Murata, 1998). Murata و Wada در سال ۱۹۹۵ نقش آنزیمهای acyl-lipid desaturase را در مقاومت و سازگاری به سرما در سیانوباکترها شرح دادند. Bhagwat و Apte در سال ۱۹۸۹ پروتئین‌های القاءکننده شوک حرارتی، شوری و تنش اسمزی را در سیانوباکتر آنابنا شناسایی کردند. Lin در سال ۱۹۸۷ اعلام نمود که تحمل گیاه آزولا به شرایط نامساعد محیطی، از جمله گرما، سرما و نور، بوسیلهٔ سیانوباکتر همزیست کنترل می‌شود. Van Hove در سال ۱۹۸۹ نیز اعلام کرد، در آزولا حساسیت سیانوباکتر همزیست به شوری، بسیار بیشتر از میزبان می‌باشد.

طبق بررسی‌های Myslicki در سال ۲۰۰۶ در دانشگاه دوسلدورف مهمترین مصرف آزولا در کشورهای صنعتی، استفاده از آن در تصفیه فاضلابها، به منظور حذف فلزات سنگین و ترکیبات ازته می‌باشد. Yissum Research Development Company در سال ۲۰۰۱ یک روش بیولوژیک ابتکاری برای حذف فلزات سنگین از فاضلابها بوسیله آزولا بعنوان یک صافی زیستی (Biofilter) اختراع کرد. در رابطه با استفاده از آزولا بعنوان یک صافی زیستی، در یک بررسی که توسط آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا در دانشگاه فنی Montana به منظور تصفیه آب تالاب Breckley در آزمایشگاه انجام شد، مشخص گردید که صافیهای آزولا توانستند غلظت Fe, Cu, Cr, Cd, Al و سرب را به حداقل رسانده و pH آب را از ۲/۸۵ به ۵/۶ تا ۶/۱ برسانند (EPA, 1996). در یک بررسی آزمایشگاهی که در سازمان محیط زیست استان گیلان انجام شد، مشخص گردید که مخلوطی مساوی از آزولا و عدسک آبی (*Lemna minor*)، باعث

magiran.com

گرایش pHهای قلیایی و اسیدی محیط کشت در دامنه ۳/۱ تا ۱۱ را به طرف pH خنثی (۷) شدند (اصفیاء و همکاران، ۱۳۷۹).

هدف از اجرای این تحقیق، بررسی حد اکثر تحمل آزولا (*Azolla filiculoides*) به شوری آب با استفاده از ساکارز بعنوان یک محافظ اسمزی در دمای بهینه رشد و در تنش گرما بود. به منظور اجرای یک پژوهش کاربردی، در تیمارهای شور، از آب چاه مسجد جمکران و آب دریای خزر در ساحل امیرآباد بهشهر (شوری ۷/۸ و ۱۸/۲۵ میلی زیمنس بر سانتیمتر)، استفاده گردید.

مواد و روش کار

آزولای مورد استفاده بعنوان بذر از آبراهۀ خروجی تالاب انزلی به دریای خزر با دامنۀ شوری ۰/۷ تا ۴ میلی زیمنس بر سانتیمتر برداشت شد.

برای تهیۀ محیط کشت شاهد از عناصر غذائی مورد نیاز رشد آزولا، استاندارد انسیتو بین‌المللی تحقیقات برنج (IRRI) در فیلیپین، در آب مقطر (اصفیاء و همکاران، ۱۳۷۱) و در مورد آب چاه مسجد جمکران، چون مقادیر فسفر، کلسیم و منیزیم آن بیشتر از حد استاندارد بود، از کلیۀ عناصر غذایی رشد بجز این سه عنصر در تهیۀ محیط کشت استفاده شد. در مورد آب دریای خزر نیز چون سه عنصر مزبور بیشتر از حد استاندارد و میزان پتاسیم این آب مساوی با حد استاندارد بود، محیط کشت با افزودن کلیه عناصر غذایی رشد بجز چهار عنصر فسفر، کلسیم، منیزیم و پتاسیم تهیه شد (جدول ۱).

برای گرفتن آب بین فروندهای آزولا از دو لایه روزنامه در طرفین و دو لایه دستمال کاغذی در وسط استفاده شد. به منظور تعیین وزن خشک بذر (آزولای تازه)، در هر نوبت دو نمونۀ هم وزن از آزولای زهکشی شده را توزین کرده، از یک نمونه بعنوان بذر و از نمونۀ دیگر برای تعیین وزن خشک، با استفاده از آون و دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت استفاده شد. به منظور تعیین وزن خشک گیاه در پایان دورۀ آزمایش، مجموعۀ فروندهای تلف شده و زنده آزولا را از هر کرت برداشت کرده و داخل قیف بوخنر با جریان آب شیر آزمایشگاه برای جدا کردن جلبکها، املاح و سایر مواد، کاملاً شسته و سپس فروندها به مدت ۲۴ ساعت در آون، با دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد خشک و سپس توزین شد. برای تعیین زمان دو برابر شدن (سرعت رشد) آزولا از فرمول زیر استفاده شد:

$$D.T. = \frac{\Delta t . \ln 2}{\ln W_2 - \ln W_1}$$

که در آن D.T. زمان دو برابر شدن، Δt طول دورۀ آزمایش به روز، W_1 و W_2 بترتیب وزن خشک بذر و وزن خشک فروندها در پایان دورۀ آزمایش و ln، لگاریتم طبیعی بود (اصفیاء و همکاران، ۱۳۷۱). آزمایشها در اطاقک رشد که ساخت کارخانه Snijders Scientific B. Ctilburg مدل G۱۲۰ بود انجام شد.

magiran.com

جدول ۱: ترکیب شیمیایی آب چاه مسجد جمکران، آب دریای خزر و سایر محیط‌های کشت

تیمار	شوری (میلی زیمنس بر سانتیمتر)	قلیائیت (pH)	نسبت جذب سدیم	Ca (ppm)	P (ppm)	Mg (ppm)	K (ppm)
عناصر غذایی استاندارد + آب مقطر	۰/۶۵	۵/۵	۰/۳۹۵	۴۰	۲۰	۴۰	۴۰
آب چاه مسجد جمکران	۷/۸	۷/۸	۲۱۵/۷۵۸	۱۱۰	۱۱۰	۸۷۰	۱۶
۵۰ درصد آب دریای خزر + ۵۰ درصد آب مقطر	۹/۱۳	۷/۵	۹۷/۷۰۰	۱۷۸	۷۲	۴۵۳	۲۰
آب دریای خزر (ساحل امیر آباد)	۱۸/۲۵	۷/۶	۱۹۵/۴۰۰	۳۵۶	۱۴۴	۹۰۵	۴۰

بعلت اینکه بر اثر تنشهای شوری و گرما در اغلب مواقع قسمتی از یک فروند آزولا آسیب می‌دید و تعیین شدت آسیب دیدگی از نظر وجود حیات از طریق کاشت مجدد و یا سایر طرق با روند ادامه آزمایش و تعیین W_2 مغایرت داشت، لذا برای تعیین درصد بقاء و درصد شادابی آزولا از میانگین اظهار نظر سه نفر آماربردار که مرکب از نگارنده و دو نفر از تکنسین‌های آزمایشگاه بود، استفاده گردید.

هر کرت آزمایشی از یک ظرف پلاستیکی تشکیل شده بود که روی سطح خارجی آن اول رنگ سفید و بعد از خشک شدن رنگ، روی آن رنگ مشکی زده شد. مواد شیمیایی مورد استفاده در تهیه محیط کشت و ساکارز، ساخت کارخانه مرک آلمان بود. در آزمایش اول نقش سطوح مختلف ساکارز و شوری محیط کشت، بر درصد شادابی و درصد بقای فروندهای آزولا در شرایط دمایی بهینهٔ رشد، یعنی دمای شب و روز ۱۸ و ۲۴ درجه سانتیگراد، مورد بررسی قرار گرفت. در این رابطه یک طرح آزمایشی RCB با ۴ تکرار و ۹ تیمار در اطاقک رشد با طول روز ۱۶ ساعت، شدت نور ۲۱۰۰ لوکس و رطوبت محیط ۸۵ درصد انجام شد. طول دوره آزمایش ۹۶ ساعت و میزان بذر در هر کرت ۰/۲ گرم بود. تجزیه واریانس بر روی درصد شادابی و درصد بقاء انجام شد. در آزمایش دوم، نقش افزودن ۵/۵ مول ساکارز به محیط کشت، بعنوان یک محافظ اسمزی، بر زمان دو برابر شدن، درصد شادابی و درصد بقای فروندهای آزولا به تنش شوری ۶۵/. تا ۱۸/۲۵ میلی زیمنس بر سانتیمتر، در شرایط تنش گرمای شدید (دمای روز ۴۲ و دمای شب ۳۶ درجه سانتیگراد)، مورد بررسی قرار گرفت. در این رابطه یک طرح آزمایشی بلوکهای کاملاً تصادفی با ۴ تکرار و ۸ تیمار در اطاقک رشد با طول روز ۱۶ ساعت، شدت نور ۲۱۰۰ لوکس و رطوبت محیط ۸۵ درصد انجام شد. طول دوره آزمایش ۴۸ ساعت (Δt) و میزان بذر در هر کرت ۰/۲ گرم (W_1) بود. بعد از آماربرداری، چون در بعضی از کرتها W_2 از W_1 کمتر بود، در رابطه با تبدیل داده‌ها، W_1 به ۰/۰۷ گرم و داده‌های مربوط به W_2، درصد شادابی و درصد بقا بترتیب به $\sqrt{x_i+1}$ ، $\sqrt{x_i}$ ، $\sqrt{x_i}$ تبدیل و پس از محاسبه زمان دوبرابر شدن ، تجزیهٔ واریانس صورت گرفت (جدول ۳). برای تجزیه واریانس از نرم افزار MSTAT-C نسخه ۳ استفاده شد.

نتایج

در شرایط بهینه رشد (عدم وجود تنش گرما)، افزودن سطوح ۲/۷۵ ، ۵/۵ ، ۸/۲۵ و ۱۱ مول ساکارز به محیط کشت هایی با شوری ۰/۶۵، ۷/۸ و ۱۸ میلی زیمنس بر سانتیمتر، اختلاف معنی‌داری بر درصد شادابی ($P>0.01$) و درصد بقاء ($P>0.05$) آزولا نسبت به محیط کشت شاهد (فاقد ساکارز) ایجاد نکرد (جدول ۲).

از طرف دیگر در این شرایط بدون توجه به وجود یا عدم وجود ساکارز در محیط کشت، درصد شادابی آزولا تا شوری ۷/۸، نسبت به شوری ۱۸/۲۵ میلی زیمنس بر سانتیمتر (شوری آب دریای خزر)، در حد معنی‌داری بیشتر بود ($P<0.01$). در همین شرایط

magiran.com

افزودن ۱۱ مول ساکارز به محیط کشت، باعث کاهش معنی‌دار بقاء آزولا در شوری ۱۸/۸۲ نسبت به شوری ۷/۸ و ۶۵/ میلی زیمنس بر سانتیمتر شد ($P<0.05$).

اما در تنش گرمای شدید (۳۶/ ۴۲ درجه سانتیگراد) و تنش شوری متوسط (۹/۱ میلی زیمنس بر سانتیمتر)، افزودن ۵/۵ مول ساکارز به محیط کشت، باعث افزایش معنی‌دار درصد شادابی ($P<0.01$) و درصد بقاء ($P<0.05$) آزولا نسبت به محیط کشت شاهد (فاقد ساکارز) شد (جدول ۳).

بررسی‌های انجام شده در مجموع نشان می‌دهد که بین تنش گرمای شدید و تنش شوری در رابطه با سرعت رشد، شادابی و بقاء آزولا ارتباط مستقیم وجود دارد.

جدول ۲ : تأثیر سطوح مختلف ساکارز بر درصد شادابی و درصد بقای آزولا در شرایط تنش شوری در دمای بهینه رشد

فرمول محیط کشت	ساکارز (مول)	شوری (میلی زیمنس بر سانتیمتر)	درصد شادابی (دانکن- ۰/۰۱)	درصد بقاء (دانکن- ۰/۰۵)
استاندارد IRRI	۰	۰/۶۵	۹۸/۲۵ a	۹۵/۰۰ a
استاندارد IRRI	۲/۷۵	۰/۶۵	۹۵/۵۰ ab	۹۵/۷۵ a
آب چاه مسجد جمکران	۰	۷/۸	۸۲/۵۰ abc	۹۱/۰۰ ab
آب چاه مسجد جمکران	۲/۷۵	۷/۸۵	۹۰/۵۰ ab	۹۱/۰۰ ab
آب دریای خزر	۰	۱۸/۲۵	۸۰/۰۰ abcd	۸۴/۷۵ abc
آب دریای خزر	۲/۷۵	۱۸/۳۲	۷۷/۵۰ abcd	۸۹/۰۰ b
آب دریای خزر	۵/۵	۱۸/۷۵	۷۱/۲۵ bcd	۷۹/۵۰ bc
آب دریای خزر	۸/۲۵	۱۸/۸	۶۶/۷۵ cd	۸۳/۷۵ abc
آب دریای خزر	۱۱/۰۰	۱۸/۸۲	۶۵/۰۰ d	۷۶/۷۵ c

* میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، با هم اختلاف معنی‌دار ندارند ($P>0.01$, 0.05).

جدول ۳ : نقش استفاده از ۵/۵ مول ساکارز در محیط کشت، بعنوان یک محافظ اسمزی، بر درصد شادابی، درصد بقاء و زمان دو برابر شدن (D.T. روز) آزولا، در شرایط تنش شوری و گرما

فرمول محیط کشت	شوری (میلی زیمنس برسانتیمتر)	ساکارز (مول)	میانگین		
			زمان دوبرابر شدن (روز) (۰/۰۵)	درصد شادابی (۰/۰۱)	درصد بقاء (۰/۰۵)
استاندارد IRRI	۰/۶۵	۰	۱/۶۹۸ b	۵/۰۰۰ b	۱/۹۹۹ b
استاندارد IRRI	۰/۶۵	۵/۵	۱/۵۷۳ ab	۶/۴۱۱ b	۳/۸۹۳ b
آب چاه مسجد جمکران	۷/۸	۰	۱/۴۵۱ ab	۵/۰۰۰ b	۱/۹۹۹ b
آب چاه مسجد جمکران	۷/۸	۵/۵	۱/۱۷۰ a	۲۳/۶۱۰ ab	۱۴/۱۵۳ b
۵۰ درصد آب دریای خزر + ۵۰ درصد آب مقطر	۹/۱۰	۰	۱/۷۲۰ b	۱۶/۰۳۲ b	۶/۸۴۳ b
۵۰ درصد آب دریای خزر + ۵۰ درصد آب مقطر	۹/۱۰	۵/۵	۱/۳۷۲ ab	۵۰/۱۶۹ a	۴۴/۷۵۶ a
آب دریای خزر	۱۸/۱۷	۰	۱/۴۶۷ ab	۵/۰۰۰ b	۱/۹۹۹ b
آب دریای خزر	۱۸/۱۷	۵/۵	۱/۱۶۳ a	۲۴/۱۹۷ ab	۱۰/۷۹۸ b

*میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، با هم اختلاف معنی‌دار ندارند ($P>0.01$, 0.05).

magiran.com

بحث

قندها بعنوان یک محافظ اسمزی برای باکتری‌ها بندرت مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Mikkat *et al.*, 1997). در این بین بررسی‌های Gouffi و همکاران در سال ۱۹۹۸نشان داده است که ساکارز یک محافظ اسمزی قوی برای سیانوباکتر همزیست یونجه، شبدر و باقلا، (*Sinorhizobium meliloti*) می‌باشد. بررسی Lambert و همکاران در سال ۱۹۹۷ نشان داد که افزودن ساکارز و مالتوز به فرمول سیانوباکتر (*S. meliloti*) برای پوشش بذر یونجه، تا چند برابر باعث افزایش جوانه زنی و بقای یونجه در شرایط تنش اسمزی شد. بررسی‌های Lin در سال ۱۹۸۷ در انستیتوی بین‌المللی تحقیقات برنج نشان داد که امکان تولید ارقام دورگ آزولا از طریق تعویض آنابنا وجود داشته و تحمل آزولا در مقابل تنشهای محیطی از جمله گرما، سرما و نور بوسیله سیانوباکتر همزیست کنترل می‌شود. Waditee و همکاران در سال ۲۰۰۲ در دانشگاه میجوی ژاپن موفق به تولید سیانوباکتر آب شیرین *Synechococcus* نوترکیب با ژن مقاومت به شوری برای کشت این گیاه در آب دریا شدند.

بررسی‌های انجام شده در این تحقیق، در رابطه با استفاده خارجی از ساکارز بعنوان یک محافظ اسمزی در محیط کشت آزولا (*Azolla filiculoides* Lam.) نشان داد که غنی‌سازی آب چاه مسجد جمکران و غلظت ۵۰ درصد آب دریای خزر (شوری ۷/۸ و ۹/۱ میلی زیمنس بر سانتیمتر) با ۵/۵ مول ساکارز در شرایط تنش گرمای شدید (دمای شب و روز ۴۲/۳۶ درجه سانتیگراد)، باعث افزایش مقاومت آزولا به تنش شوری و گرما و در نتیجه افزایش معنی‌دار عملکرد نسبت به شاهد (محیط کشت غیر شور و فاقد ساکارز) شد. این دستاورد با یافته‌های Lee و همکاران در سال ۱۹۹۷ در زمینه تاثیر ژن DNAK1 در سیانوباکتر *Aphanothece halophytic* که در آن واحد، عامل ایجاد مقاومت به تنشهای شوری و گرماست و همینطور یافته Azolla Event در سال ۲۰۰۸ در زمینه وجود همبستگی مثبت بین مقاومت به شوری و غلظت گاز کربنیک جو، در آزولا مطابقت دارد. از طرف دیگر پتانسیل آزولا در گرایش pHهای اسیدی و قلیایی محیط کشت به طرف خنثی (اصفیاء و همکاران ، ۱۳۷۹و EPA, 1996) و نقش آزولا بصورت زنده یا خشک بعنوان یک پالایشگر آب و فاضلاب از فلزات سنگین، مواد آلی و گازها توسط محققینی از جمله ;Zhao & Duncan, 1997 ; EPA, 1996 ;Myslicki, 2007 و YRDC, 2001 بیان شده است. جهت رفع مشکل تصفیه آب در سیستمهای پرورش ماهی مدار بسته، آبهای ورودی و خروجی در سیستم پرورش ماهیهای سردآبی آبراهه‌ای از این گیاه می‌توان استفاده نمود. در ضمن امکان تولید علوفه آزولا بعنوان یک فعالیت آبزی‌پروری در مناطقی از کشور یا سایر نقاط جهان که دارای منابع زیاد آب شور تا لب-شور و هوای گرم هستند، مانند استانهای فارس، قم، خوزستان، سیستان و بلوچستان، کرمان، هرمزگان و بوشهر و همچنین در مزارع ساحلی دریای خزر یا دریاچه‌ها و تالابهای لب شور داخلی به منظور تولید علوفه یا یک کود ازته آلی می‌توان از آزولا استفاده نمود. همین طور بهبود کیفی آب بویژه کاهش قلیائیت (pH) و سپس استفاده از این آب در کشت نباتاتی همچون برنج، پنبه، جو، چغندرقند و یونجه و بهره‌گیری از این آبهای اصلاح شده در مزارع پرورش میگو یا سایر آبزیان می‌تواند مورد استفاده قرارگیرد.

در رابطه با تامین ساکارز بعنوان محافظ اسمزی، بایستی در زمینه استفاده از ملاس یا قراردادن چغندرعلوفه‌ای در تناوب زراعی و تولید مواد قندی از خاک اره از طریق تخمیر، بررسی‌هایی صورت گیرد.

منابع

اصفیاء ، م. ، ۱۳۶۴. آزولا و نقش آن در تامین کود ازته مورد نیاز شالیکاری. بخش کشاورزی، سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران. ۲۷ صفحه.

اصفیاء، م. ؛ احمدیان تهرانی، پ. ؛ زالی، ع. و صانعی شریعت پناهی، م. ، ۱۳۷۱. موتاژنز آزولا. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران. ۲۳۱ صفحه.

اصفیاء، م. ؛ قلاوند، ا. ؛ حیدری شریف آباد، ح. ؛ نورمحمدی، ق. و نظامی بلوچی، ش.ع. ، ۱۳۷۹. مطالعهٔ اکوفیزیولوژی آزولا در شرایط تالاب انزلی. پایان‌نامه دکترا، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران. ۲۹۲ صفحه.

Asfia, M. ,1987. The first report of current Iranian Azolla Research Project. IRRI publication, SB208.1987.R4 A8 . 54P.

Azolla Events , 2008 . en.wikipedia.org/ wiki/ Azolla _event. On 10 September 2007 at 23:48.

Bhagwat, A.A. and Apte, S.K. , 1989. Comparative

magiran.com

analysis of proteins induced by heatchock, salinity, and osmotic stress in the nitrogen–fixing cyanobacterium *Anabaena sp.* Strain L-31. Journal of Bacteriology, Vol. 171, pp.5187- 5189.

EPA (U.S Environmental Protection Agency) , 1996. Berkeley Pit Innovative Technologies Project. www.epa.gov/ORD/NRMRL/std/mtb/mwt /a4/a468.pdf. on 5 April 2007 at 5:15.

Gouffi, K. ; Pichereau, V. ; Thomas, D. and Blanco, C. , 1998. Sucrose is a nonaccumulated osmoprotectant in *Sinorhizobium meliloti.* Journal of Bacteriologyl. Vol. 180, No. 19, pp.5044- 5051.

Hageman, M. and Murata, N. , 1997. Environmental stresses. *In*: (ed. AK Rai), Cyanobacterial nitrogen metabolism and environmental biotechnology. Springer, Heidelberg; Narosa Publishing House, New Delhi, India, pp.156-221.

Hayashi, H. and Murata, N. , 1998. Genetically engineered enhancement of salt tolerance in higher plants. Molecular Mechanisms and Molecular Regulation. Elsevier, Amsterdam, pp.133-148.

Myslicki, L. , 2007. Invasive alien species fact sheet– *Azolla filiculoides* From: Online database of the North European and Baltic Network on invasive alien species–NOBANIS. University of Coimbra, Course of Limnology.

Lambert, A. : Le Rudulier, D. and Bazin, M. , 1997. Alfalfa seed coating with *Sinorhisobium meliloti* and desiccation stress tolerance. Abstract, Vol. 11, No. 30, 126P. In abstracts of the 11th International Congress on Nitrogen Fixation.

Lin, Ch. , 1987. Study on the association between *Anabaena azollae* and *Azolla microphylla*, during germination of megasporocarps. PhD. Thesis, University of Philippines, Los Banos. 17P.

Mikkat, S. ; Effinert, U. and Hagemann, M. , 1997. Uptake and use of the osmoprotective compounds trehalose, glucosylglycerol, and sucrose by the cyanobacterium *Synechocystis sp.* PCC6803. Arch Microbiology, Vol. 167, pp.112-118.

Murate, N. and Wada, H. , 1995. Acyl-lipid desaturases and their importance in the tolerance and acclimatization to cold in cyanobacteria. Biochemistry Journal, Vol. 308, pp.1-8.

Nickell, L.G. , 1961. Physiological studies with Azolla under aseptic conditions. Gasper Campos 841, Yicente Lopez, FNGBM, Argentina, pp.49-54.

Nishida, I. and Murata, N. , 1996. Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, Vol. 47, pp.541-568.

Suleyman, I. , 2000. Inactivation of photosystems I and II in response to osmotic stress in *Synechococcus*, contribution of water channels. Plant Physiology,Vol. 122, pp.1201-1208.

Van Hove, C. , 1989. Azolla and its multiple uses with emphasis on Africa. FAO, 1989.

Waditee, R. ; Hibiano,T. ; Nakamara, T. and Takabe,T. , 2002. Overexpression of a Na^+/H^+ antiporter confers salt tolerance on a freshwater cyanobacterium making it capable of growth in sea water. PNAS, Vol. 99, No. 6, pp.4109-4114.

Yissum Research Development Company , 2001. Biological process for removing heavy metals from effluents. www.cleanedge.com/story.plp?nID=1131. on 12 may 2007 at 10:10.

Zhao, M. and Duncan, J.R. , 1998. Removal and recovery of nickle from soloution and electeroplating rinse effluent using *Azolla filiculoides*. Process Biochemistry, Vol. 33, No. 3, pp.249-255.

magiran.com

Investigation of the role of exogenous use of sucrose as an osmoprotectant in increasing *Azolla filiculoides* resistance to air high temperature and salt stress

Asfia, M.[1]*; Ghalavand A.[2] ; Heidari Sharifabad H.[3] ; Nezami Baluchi Sh. [4] and Noormohammadi Gh.[5]

m.asfia@altmed.ir

1,5- Science and Research Branch, Islamic Azad Uinversity, P.O.Box: 14515-775 Tehran, Iran

2- Faculty of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran

3- Agricultural Research Education and Extension Organization, P.O.Box: 19395-1113 Tehran, Iran

4- Iranian Fisheries Resrach Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran

Recieved: Feburary 2007 Accepted: July 2008

Keywords: Azolla, Salt stress, Heat stress, Sucrose, Osmoprotectants

Abstract

Influence of 2.75 to 11 moles sucrose as an exogenous osmoprotectant on salt stressed (7.8-9.1 and 18.2 mS/cm) and temperature stressed (42.36°C) Azolla (*A. filiculoides* Lam.) was studied. Results showed that enriching salt stressed (9.1 mS/cm) Azolla by 5.5 moles sucrose significantly increased survival percent (S%) and freshness percent (F%), in comparison with control treatment in which no sucrose was used. Enriching Azolla media by 2.75, 5.5 and 8.25 moles sucrose in optimum growth condition (24.18°C and 0.65 mS/cm), had no significant effects on growth doubling time (D.T), S% and F% in comparison with control. Enriching Azolla media by 11 moles sucrose in optimum growth condition decreased significantly the S% and F%, in comparison with control plots. Enriching Azolla media by 5.5 moles sucrose, in all salinity levels (0.65, 7.8, 9.1 and 18.25 mS/cm), and air temperatures (24.18 and 42.36°C), non increased S% and F% but not significantly and decreased D.T. A positive correlation was observed between high air temperature and medium salinity in Azolla growth.

* Corresponding author