وزارت‌جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور – پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

عنوان :

تعیین عوامل موثر بر رشد و شکوفایی جلبک *Cochlodinium polkrikoides*

مجری :

عیسی عبدالعلیان

شماره ثبت
۴۳۰۸۵

وزارت‌جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

عنوان پروژه : تعیین عوامل موثر بر رشد وشکوفایی جلبک *Cochlodinium polkrikoides*

شماره مصوب پروژه : ۸۸۰۲۴-۱۲-۷۵-۲

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : عیسی عبدالعلیان

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) : -

نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : عیسی عبدالعلیان

نام و نام خانوادگی همکار(ان) : مریم معزی، حجت اله فروغی فرد، غلامعلی اکبر زاده ، مسعود غریب نیا ، کاظم خدادی جوکار، کیومرث روحانی قادیکلایی ، عباس متین فر

نام و نام خانوادگی مشاور(ان) : -

نام و نام خانوادگی ناظر(ان) : -

محل اجرا : استان هرمزگان

تاریخ شروع : ۸۸/۷/۱

مدت اجرا : ۲ سال و ۶ ماه

ناشر : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ‌انتشار : سال ۱۳۹۲

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است .

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

پروژه : تعیین عوامل موثر بر رشد وشکوفایی جلبک *Cochlodinium polkrikoides*

کد مصوب : ۸۸۰۲۴ -۱۲ -۷۵-۲

شماره ثبت (فروست) : ۴۳۰۸۵ تاریخ : ۹۲/۳/۲۶

با مسئولیت اجرایی جناب آقای عیسی عبدالعلیان دارای مدرک تحصیلی کارشناسی ارشد در رشته شیلات می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح نژاد و تکثیر و پرورش آبزیان در تاریخ ۹۱/۱۱/۱ مورد ارزیابی و با نمره ۱۶ و رتبه خوب تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد □ پژوهشکده ■ مرکز □ ایستگاه □

با سمت کارشناس در پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان مشغول بوده است.

به نام خدا

عنوان	« فهرست مندرجات »	صفحه

چکیده ۱
۱- مقدمه ۲
۲- مواد و روشها ۱۵
۳- نتایج ۲۶
۴- بحث ۴۲
۵- نتیجه گیری ۵۱
پیشنهادها ۵۲
منابع ۵۵
پیوست ۵۸
چکیده انگلیسی ۶۹

چکیده

شکوفایی مضر جلبکی که باعث تغییر رنگ در منطقه وسیعی از آب‌های ساحلی خلیج‌فارس ایران گردیده برای اولین بار در مرداد ۱۳۸۷ مشاهده شده است. گونه مسبب این شکوفایی که *Cochlodinium polykrikoides* شناسایی گردیده باعث مرگ و میر گسترده‌ای از آبزیان در خلیج‌فارس شده است. به منظورتعیین پارامترهای بهینه رشد بر گونه یاد شده، نمونه‌برداری از آبهای ساحلی صورت گرفته و پس از آداپتاسیون در آب دریای فیلترشده با استفاده از ویژگی نورگرایی مثبت ، اقدام به جداسازی و خالص‌سازی نموده و به کمک محیط کشت‌های تغییر یافته A۱،A۲ و A۳ با تیمارهای مختلف شوری ۳۰، ۳۲ و ۳۵ (ppt) ، دمایی(۲۰، ۲۳، ۲۶ و ۲۸°C) و نوری ۳۵، ۷۰ و ۹۰ ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) و با تراکم ۵۰ cell/ml ذخیره‌سازی و کشت داده شد. نتایج نشان داده است که بهترین محیط کشت جهت تولید انبوه این جلبک، محیط کشت A۲، شوری ۳۲ ppt، درجه حرارت ۲۶ °C و شدت نور ۹۰ ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) با ۱۳ ساعت تاریکی و ۱۱ ساعت روشنایی بوده بطوریکه سلول‌های جلبکی درآکواریوم های ۶۰ لیتری به تراکم تقریبی ۳۲ میلیون سلول در لیتر و با زنجیره‌های ۱۶ تایی رسیده است. بر اساس نتایج بدست آمده در صورت فراهم بودن محیط کشت مناسب جهت رشد جلبک، چنانچه شرایط فیزیکی (نور و درجه حرارت) در مقادیر یاد شده در طول دوره ثابت بماند و دچار نوسانات زیاد بخصوص حرارتی نشود، بلوم جلبکی از روز ۸ الی ۱۰ شروع شده و تا روز ۲۴ الی ۲۸ ادامه خواهد یافت. در غیر اینصورت جلبک ها به سرعت رسوب نموده و از بین خواهد رفت.

واژه‌های کلیدی: شکوفایی مضر جلبکی، *Cochlodinium polykrikoides*، خالص سازی، عوامل محیطی بهینه رشد، خلیج فارس

۱-مقدمه

خلیج فارس و دریای عمان از مهمترین اکوسیستم های آبی کشور و منطقه محسوب شده و اهمیت آنها از جنبه های مختلف مطرح می باشد. تغییرات جوی حاکم بر جهان از جمله گرم شدن کره زمین ، وقوع زلزله در مناطق مختلف و طوفانهای شدید اقیانوسی در سالیان اخیر با سرعت بیشتری در حال رخ دادن می باشد که با توجه به ارتباطات جوی و آبی حاکم بر کره زمین و پیامد آن تحت تأثیر قرار گرفتن خلیج فارس و دریای عمان از طریق اقیانوس هند،تأثیرات این رخدادهای طبیعی در آبهای این دو منطقه نیز قابل مشاهده بوده است. در بررسی های بعمل آمده در ارتباط با پایش شکوفایی جلبکی که از سال ۱۳۷۳ الی ۱۳۸۶ در منطقه صورت پذیرفته،عمده شکوفایی ها ناشی از بلوم گونه هایی مانند،*Nitzschia* sp، *Noctiluca* sp، *Trichodesmium* sp، *Oscilatoria* sp بوده است(روحانی، ۱۳۷۷ و گزارش پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان در کمیته ملی کشند) که بالطبع ناشی از بروز تغییرات در شرایط زیست محیطی این اکوسیستم ها می باشد. پدیده شکوفایی جلبکی ناشی از تولید مثل سریع پلانکتون های گیاهی بوده که گمان می رود عوامل مختلفی همچون درجه حرارت، شوری و نور، بعنوان فاکتور های اصلی برای بقاء و تولید ارگانیزم های بوجود آورنده کشند قرمز دخالت داشته باشند (Sunda *et al*.,2006). شکوفایی پلانکتونی در اکثر آبهای جهان مشاهده می شود و در خلیج فارس و دریای عمان نیز در طی سالهای ۸۱-۱۳۷۰ بیش از ۳۶ بار مشاهده شده است(روحانی قادیکلاهی،۱۳۷۷). وقوع شکوفایی جلبک(کشند قرمز) در اوایل پاییز ۱۳۸۷ در خلیج فارس و بخشی از دریای عمان که توسط جلبک تاژک دار *Cochlodinium polkrikoides* از رده Dinophyceae صورت پذیرفت، باعث مرگ و میر فراوان آبزیان منطقه شد. بروز کشند قرمز وابسطه به بعضی از عوامل اکولوژیک و فرآیند های اقیانوسی بوده و می تواند بوسیله فاکتور های متعددی تحت تاثیر قرار گیرد که در این بین به نظر می رسد درجه حرارت، شوری و نور، بعنوان فاکتور های اصلی برای بقاء و تولید ارگانیزم های بوجود آورنده کشند قرمز دخالت داشته باشند(Sunda *et al*.,2006). مطالعات آزمایشگاهی متعددی ثابت کرده که فاکتور های محیطی همچون درجه حرارت،شوری و

نور و همچنین جریانات دریایی مانند جذر و مد می توانند بطور معنی داری بر روی میزان رشد گونه های مضر جلبکی تاثیر گذاشته و همچنین نقش حیاتی را در تشکیل یا از بین رفتن شکوفایی ایفا نمایند (Nagasoe *et al.*,2007) *al.*,2006 &Matsubara *et*

تاکنون شکوفایی *Cochlodinium polkrikoides* عامل مرگ و میر زیادی از آبزیان پرورشی در مناطق مختلف دنیا از جمله سواحل ژاپن در سال ۱۹۷۷ (Kumada *et al.*,1980) و ۱۹۸۶ (Yuki and Yoshimatsu , 1989) ، خلیج phosphorescent در Puerto Rico (Margalof,1961) ، خلیج کالیفرنیا در مکزیک(Garate-Lizarraya *et al.*,2000)، خلیج Quanshou در چین (Du *et al.*,1993) و گواتمالا (Rosales-Loessener *et al.*,1996) بوده است.در کشور کره جنوبی اولین کشند قرمز ثبت شده در سال ۱۹۸۲ بوده و بطور مکرر تا سال ۱۹۸۹ اتفاق افتاده است (Kim,1998) که گونه *Cochlodinium polykrikoides* رایج ترین داینوفلاژه مسئول مرگ و میر ماهیان بوده است(Kim,1997). همچنین سال ۱۹۹۵کشند قرمز وسیعی در کره اتفاق افتاد که باعث مرگ و میر در سطح وسعی از ماهیان پرورشی شده و خسارتی تقریبا معادل ۹۵/۵ میلیون دلار به صنعت شیلات وارد نمود.

داینوفلاژله ها گروه مهمی از فیتوپلانکتون های دریایی بشمار می روند که شکوفایی ناشی از برخی از گونه های آن مشکلات زیادی را برای اکوسیستم های آبی و آبزی پروری از طریق تولید سموم و کاهش اکسیژن محیط (Kim *et al.*, 2002) ایجاد نموده و فعالیت صید و صیادی را مورد تهدید قرار داده که مشکلات زیست محیطی و اکولوژیکی را به همراه خواهد داشت ، چنانچه اقدام فوری در جهت یافتن راه حلی مناسب که کمترین آسیب را به اکوسیستم آبی و آبزیان وارد نماید، صورت نگیرد ، عواقب ناشی از این شکوفایی، صدمات جبران ناپذیری را بر اکوسیستم و آبزیان وارد نموده و جامعه صیادان و آبزی پروران را با مشکل جدی مواجه خواهد نمود.بنابراین برای جلوگیری از خسارت احتمالی ناشی از کشند قرمز ، باید اقدام به انجام یکسری مطالعات و آزمایشاتی در جهت مبارزه فیزیکی و بیولوژیکی بر روی آن نمود. که لازمه آن داشتن جلبک خالص و با تراکم زیاد می باشد.لذا برای نیل به این مهم، باید به بهترین شرایط فیزیکی و شیمیایی محیط رشد که بتوان در کوتاهترین زمان

مقدار زیادی جلبک با تراکم زیاد، تولید نماید، دست یافت. بنابراین هدف از انجام این مطالعه ، دستیابی : ۱ - شرایط بهینه دمایی بر اساس شرایط آب و هوایی منطقه ۲- شرایط بهینه شوری بر اساس نوع محیط کشت تهیه شده ۳- شرایط بهینه نوری (روشنایی) بر اساس شرایط جغرافیایی منطقه ، بوده است.

۱-۱-۱- شکوفایی جلبکی

تولید مثل سریع پلانکتون گیاهی را شکوفایی (bloom) می‌نامند. در اثر حضور رنگدانه‌هایی که در این سلول‌های جلبکی وجود دارد رنگ آب تغییر می کند، به همین جهت این پدیده را کشند قرمز نیز می‌نامند. تغییر رنگ آب بصورت قرمز، زرد، نارنجی، قهوه‌ای، سبز و ارغوانی دیده شده و گاهی به همراه آن بوی بدی نیز به مشام می‌رسد.

این پدیده در اکثر آب‌های جهان دیده می‌شود. همچنین در آب‌های خلیج فارس بارها مشاهده و گزارش‌های متعددی در مورد این پدیده وجود دارد. این رویداد اگر به صورت موقت و ناپایدار و ناشی از گونه‌هایی که سمیتی برای آنان ذکر نشده باشد چندان نگران کننده نمی‌باشد ولی اگر بصورت پایدار در آید ممکن است خسارات جبران ناپذیری بر اکوسیستم آبی و آبزیان وارد نماید.

شکوفایی بصورت پایدار می‌تواند سبب کمبود اکسیژن منطقه (شب هنگام) شده و در نتیجه خفگی آبزیان را در بر داشته باشد و گاهاً ترشحات ژله ای آنها به حالت لزج و چسبنده دیده می شود بطوری که وقتی آب را در دست گرفته از بین انگشتان بصورت یک توده غلیظ خارج می‌شود که در این مرحله بیشترین مرگ و میر موجودات دریایی اتفاق می افتد.

در گذشته همه شکوفایی جلبکی را، بدون در نظر گرفتن رنگ آب، تحت نام کشند قرمز (red tide) می‌شناختند. ولی امروزه دانشمندان ترجیح می‌دهند که اصطلاح شکوفایی مضر جلبکی (HABs) را بکار ببرندکه همزمان با

گرم شدن کره زمین و افزایش آلودگی آب‌های ساحلی ناشی از آبزی‌پروری، تناوب شکوفایی‌های مضر جلبکی همچنین بزرگی و مدت زمان پایداری آن در حال افزایش می‌باشد (Gobler *et al.*, 2008) .

۲-۱-۱- انواع شکوفایی جلبکی

- شکوفایی برخی از گونه‌هایی که اساساً بی ضرر بوده ولی باعث تغییر رنگ آب می‌شوند که در نتیجه آن عمق نفوذ نور کم شده و بی‌مهرگان بستر دریا در اثر افت اکسیژن می‌میرند.
- شکوفایی گونه‌هایی که تولید سموم قوی چون PSP, DSP, ASP, CFP, NSP و CTP می‌کنند که در زنجیره غذایی انباشته شده و باعث انواع بیماری‌های گوارشی و عصبی در انسان و جانوران عالی می‌گردد.
- شکوفایی گونه‌هایی که در بیشتر موارد برای انسان غیرسمی بوده اما برای ماهیان و بی‌مهرگان (مخصوصا در کشت متراکم) با ایجاد مسمومیت، تخریب یا گرفتگی آبشش‌ها، باعث مرگ ماهیان می‌گردند.
- شکوفایی گونه‌هایی که تولید سمومی می‌کنند که برای انسان مضر بوده و بوسیله هوا و به صورت اسپری از مناطق شکوفایی به سواحل انتقال می‌یابد.

از ۵۰۰۰ گونه جلبک دریایی، ۳۰۰ گونه باعث تغییر رنگ آب می‌گردند که حدود ۷۵ تای آن تولید سموم قوی می‌کنند.

عموماً ۶ نوع سم توسط جلبک‌ها تولید می‌گردد که عبارتند از:

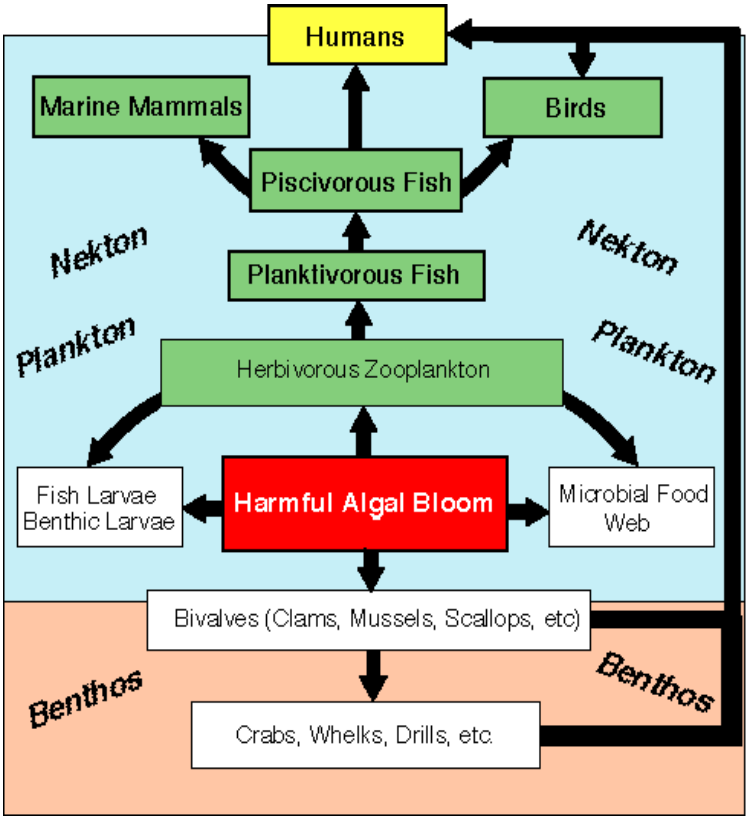
- PSP- Paralytic shellfish poisoning
- DSP-Diarrheic shellfish poisoning
- ASP- Amnesic shellfish poisoning
- NSP- Neurotic shellfish poisoning
- CFP- Ciguatera fish poisoning
- CTP- Cyanobacterial toxicity poisoning

حد قابل قبول سم در بافت نرمتنان

- PSP – 80 µg of STX per 100 g tissue
- DSP – 20 -40 µg per 100 g tissue
- ASP – 2 mg per 100g tissue
- NSP – 20 MU per 100 g tissue

۳-۱-۱- اثرات شکوفایی مضر جلبکی(HABs) بر چرخه غذایی دریا و انسان

شکوفایی مضر جلبکی اثرات متفاوتی را بر زنجیره غذایی در دریا و انسان ها گذاشته ، از یک طرف موجودات بنتیک از جمله دوکفه ای ها و خرچنگ ها را تحت تاثیر قرار داده و از طرف دیگر بر موجودات گیاهی و جانوری شناور در آب که مورد تغذیه لارو ماهیها قرار می گیرند، اثر گذاشته که در نهایت این زنجیره به پرندگان، پستانداران دریایی و انسان ختم می گردد(شکل ۱).



شکل ۱: اثرات شکوفایی مضر جلبکی(HABs) بر چرخه غذایی دریا و انسان
(با اندکی تغییر بر گرفته از (Matsuoka, 2006

٤-۱-۱- رده بندی گونه کوکلودینیوم

Division: Dinophya
Class : Dinophyceae
Order : Gymnodinales
Family : Gymnaceae
Genus : Cochlodinium
Species: *Cochlodinium polykrikoides*(margalef 1961)

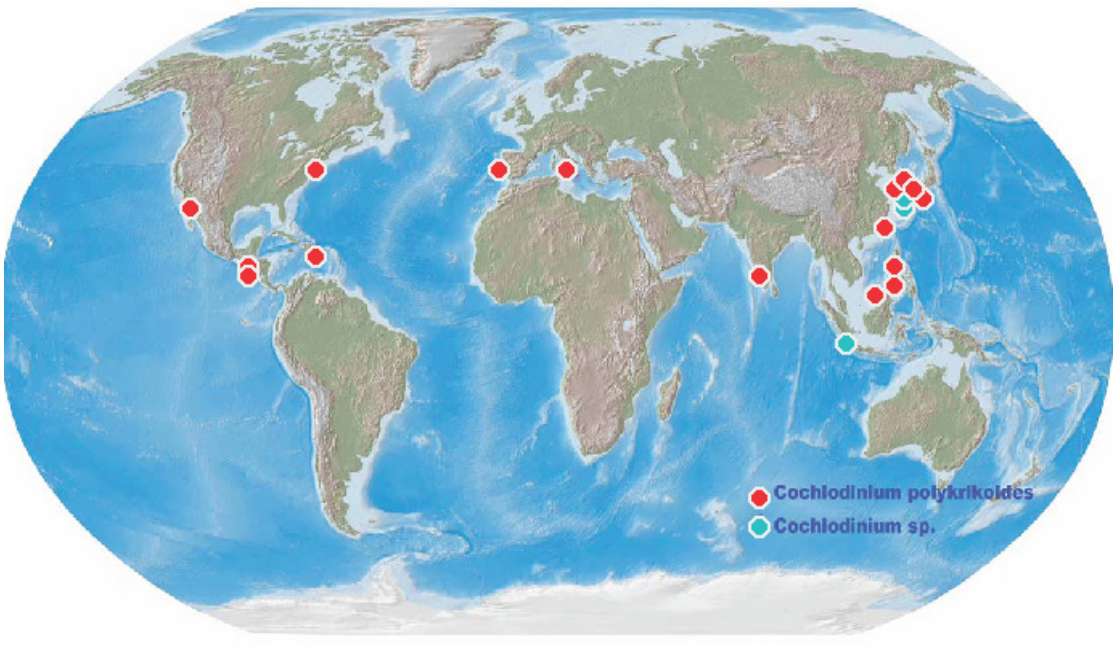
۵-۱-۱-گونه های مختلف *Cochlodinium* موجود در دنیا و آسیا

تاکنون در حدود ۴۲ گونه از این جلبک در دنیا شناسایی شده است (جدول۱). این جلبک پراکنش جهانی داشته و از نقطه نظر اکولوژیکی در آبهای گرمسیری تا معتدل گرم شامل دریای کارائیب، بخش های شرقی و غربی اقیانوس آرام، شرق اقیانوس اطلس، اقیانوس هند و دریای مدیترانه(شکل ۲ و ۳) و همچنین در آبهای سرد (۳۰°C-۱۱) با شوری متوسط ppt ۳۴-۳۰ پراکنش جهانی داشته و گسترش می یابند (Kudela *et al.,* 2008) .

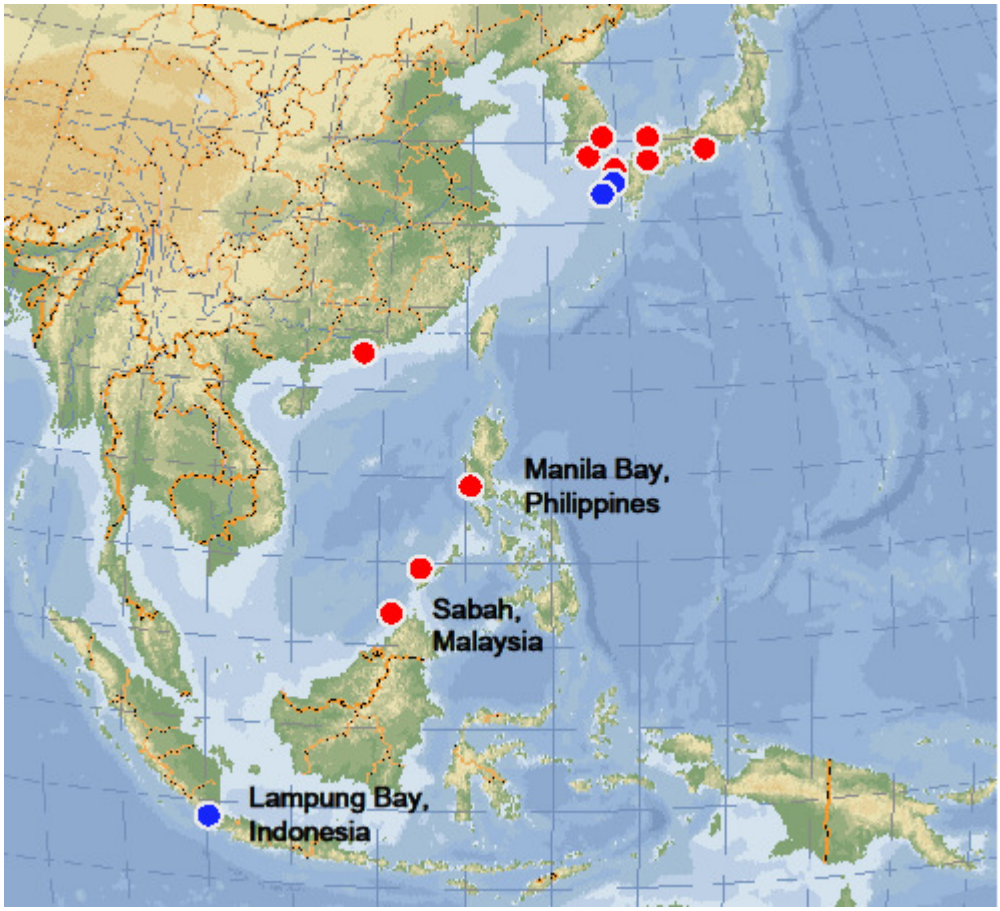
تاکنون شکوفایی ناشی از *C. polykrikoides* ، عامل مرگ و میر زیادی از آبزیان پرورشی در مناطق مختلفی از دنیا از جمله سواحل ژاپن، خلیج phosphorescent در Puerto Rico ، خلیج کالیفرنیا در مکزیک، خلیج Quanshou در چین و گواتمالا بوده است اما بیشترین شکوفایی های گزارش شده از آبهای کره جنوبی می باشد. تعداد دفعات شکوفایی این گونه از ۳ بار در سال ۱۹۸۲ تا ۲۸ بار در سال ۱۹۹۵ رسیده است.

جدول ۱: گونه‌های مختلف داینوفلاژله *Cochlodinium polykrikoides* با اندکی تغییر بر گرفته از (Matsuoka, 2006).

C. achromaticum Lebour 1925	*C. helikoides* Lebour 1925
C. adriaticum Schiller 1933	*C. helix*(pouchet) Lemmarmann 1899
C. angustatum Kofoid et Swezy 1921	*C. heterolobatum* Silva 1967
C.archimedes (pouchet) Lemmarmann 1899	*C.lebourae* Kofoid et Swezy 1921
C.atromaculatum Kofoid et Swezy 1921	*C.longum* Lohmann 1908
C.augustatum Kofoid et Swezy 1921	*C.miniatum* Kofoid et Swezy 1921
C.brandtii Wulff 1916	*C.moniliforme* Margalef 1961
C.catenatum Okamura 1916	*C.pellucidum* Lohmann 1908
C.cavatum Kofoid et Swezy 1921	*C.pirum* (Schutt) Lemmermann 1899
C.cereum Kofoid et Swezy 1921	*C. polykrikoides* Margalef 1961
C.cnidophorum Biecheler 1939	*C. pulchellum* Lebour 1917
C.citron Kofoid et Swezy 1921	*C. pupa* Lebour 1925
C.clarissimum Kofoid et Swezy 1921	*C.radiatum* Kofoid et Swezy 1921
C.conspiratum Kofoid et Swezy 1921	*C.rosaceum* Kofoid et Swezy 1921
C.constriclum (Schutt) Lemmermann 1899	*C.schuettii* Kofoid et Swezy 1921
C.convolutum Kofoid et Swezy 1921	*C.scintillans* Kofoid et Swezy 1921
C.distortum Kofoid et Swezy 1921	*C.strangulatum* (Schutt) Schutt 1896
C.elongatum Kofoid et Swezy 1921	*C.turbineum* Kofoid et Swezy 1921
C.faurei Kofoid et Swezy 1921	*C.victum* Kofoid et Swezy 1921
C.flavum Kofoid et Swezy 1921	*C.virescens* Kofoid et Swezy 1921
C.geminatum (Schutt) Schutt 1896	*C.volutum* Kofoid et Swezy 1921



شکل ۲: پراکنش گونه های مختلف Cochlodinium در دنیا

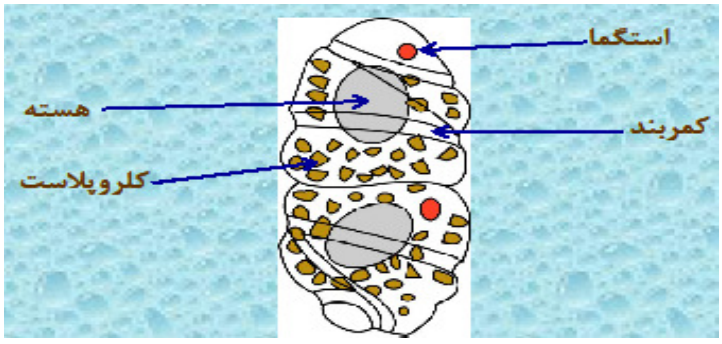


شکل ۳: پراکنش گونه های مختلف Cochlodinium درآسیا

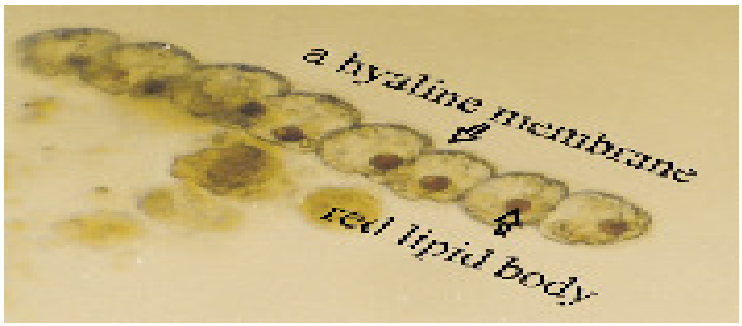
٦-١-١- زیست شناسی

جلبک *C. polykrikoides* یک گونه فتوسنتزی با تعداد زیادی کلروپلاست سبز متمایل به زرد یا قهوه ای بوده که دارای یک هسته در بخش جلویی(epitheca) و یک لکه چشمی قرمز رنگ نیز در بخش پشتی(epitheca) می باشد. یک کمربند(cingulum) به طول ۱/۵ دور در اطراف سلول دیده می شود(شکل ۴) که گونه های مختلف بر اساس موقعیت و میزان چرخش این کمربند شناسایی می گردند(Matsuoka, 2006).

این جلبک اغلب تشکیل زنجیره های کوتا ۲ ، ۴ و ۸ سلول (ندرتاً ۱۶ سلول) داده و گاهاً هم بصورت منفرد دیده می‌شوند (Gobler *et al.*, 2008). اندازه سلولی آن µm ۴۰–۲۵ می باشد.



شکل ٤: شکل شماتیک جلبک *C. polykrikoides* با اندکی تغییر بر گرفته از (Matsuoka, 2006)



شکل ٥: سیست آبگین و غشای شفاف نازک آبگین جلبک *C. polykrikoides*
(با اندکی تغییر بر گرفته از Kim et al. 2007)

این جلبک برای اولین بار در سال ۱۹۶۱ توسط مارگا لف در دریای کارائیب و سواحل جنوبی Puerto Rico شناسایی گردید.در تراکم های بالا به رنگ قهوه ای تند (همانند قهوه) و در تراکم های پایین به رنگ قهوه ای روشن در می آید.

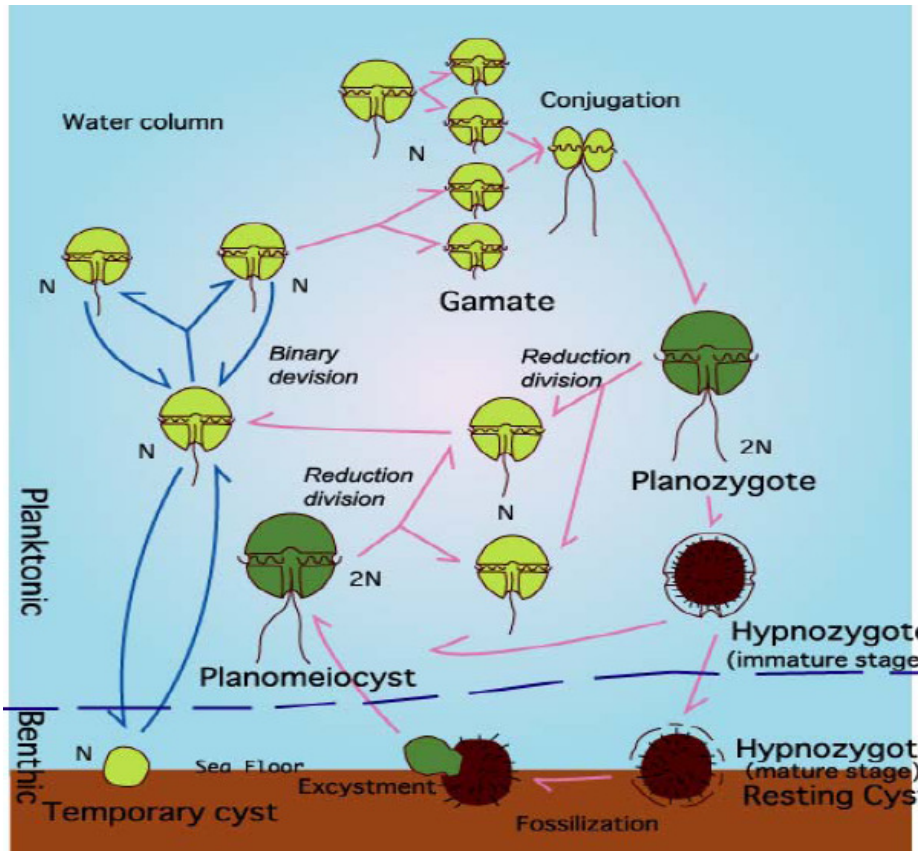
Cocholdinium polykrikoides یک گونه میکسوتروف بوده که قادر است دیگرگونه‌های فیتوپلانکتونی با اندازه کمتر از ۱۱ میکرون از جمله *Isochrysis galbana* ، *Rhodomonas salina*، *Heterosigma akashiwo* و حتی *Amphidinium carterae* را مورد تغذیه قرار دهد (Jeong *et al.*, 2004). از سوی دیگر میزان چرندگی(تغذیه) *Cochlodinium polykrikoides* از دیگر فیتوپلانکتون‌ها به میزان نور و یا نوترینت‌های مورد دسترس آن بستگی دارد (Jeong *et al.*, 2004). مطالعات نشان داده که شکوفایی جلبک *C. polykrikoides* هنگامی اتفاق می‌افتد که ترموکلاین وجود ندارد و درجه‌حرارت رسوبات کف حدود ۲۰°C یا بیشتر می‌باشد. ثابت شده است، آب‌های اندکی یوتروف، با ppm COD ۱ برای رشد این گونه مناسب است. از نظر اکولوژیکی این جلبک هم در آبهای مناطق گرم و هم سرد (۳۰°C -۱۱) و با شوری متوسط ppt ۳۴- ۳۰ پراکنش جهانی داشته و رشد و گسترش می یابد (Kudela *et al*.,2008).

۷-۱-۱- شرایط رشد جلبک

جلبک *C. polykrikoides* یک گونه همه جازی بوده و در آبهای مناطق معتدل تا گرمسیری یافت می شود. در شرایط طبیعی این جلبک در آبهایی با شوری ppt ۳۶-۳۲ ، و درجه حرارت ۲۸°C-۲۵ دیده می شود ولی در شرایط آزمایشگاهی، شرایط بهینه برای بیشینه رشد، در شوریppt ۳۵-۲۸ و درجه حرارت ۲۷°C-۲۰ می باشد (Kim *et al*.,2004).

۸-۱-۱- چرخه زندگی داینوفلاژله ها

گونه‌های مختلف داینوفلاژلاها که قبلا به عنوان گونه‌های فتوتروف شناخته می شده‌اند، امروزه به عنوان گونه‌های میکسوتروف در نظر گرفته می شوند (Stoecker 1999; Skovgaard, 2000). این گونه ها معمولا از طریق غیر جنسی (تقسیم دو تایی از طریق شکافت) تکثیر می‌یابند. پس از همجوشی جنسی، پلانوزایگوت هایی تشکیل شده و برای چند روزی به شکل پلانکتونی شناور در آمده و تحرک خود را از دست داده و به هیپوزایگوت(سیست نهفته) تبدیل می گردند. در خلال این دوره زمانی کوتا، به شکل غیر فعالی به مکانی که جریان آب ضعیف یا کم است آورده می شوند. سیت نهفته می تواند نقش اکولوژیکی مهمی را به عنوان بذر (seedlings) در شکوفایی های مجدد و همچنین پراکنش آن در مناطق مختلف جغرافیایی، داشته باشد. سیست نهفته پیش از اینکه به شکل فعال تحت شرایط مناسب تبدیل گردد، نیاز به دوره خواب اجباری دارد (۲ هفته تا ۵ ماه بسته به نوع گونه)(شکل۶) . در خلال خفتگی، سیست ها ممکن است به مناطقی که جریان آب آرام می باشد به کف بستر گلی یا شنی سقوط نمایند. این سیست ها تحت شرایط پایین اکسیژن و درجه حرارت برای مدت ۶ سال در رسوبات زنده مانده و در صورت قرار گرفتن در شرایط مناسب محیطی، مجدداً بصورت موفقیت آمیزی شروع به رویش دوباره می نمایند .



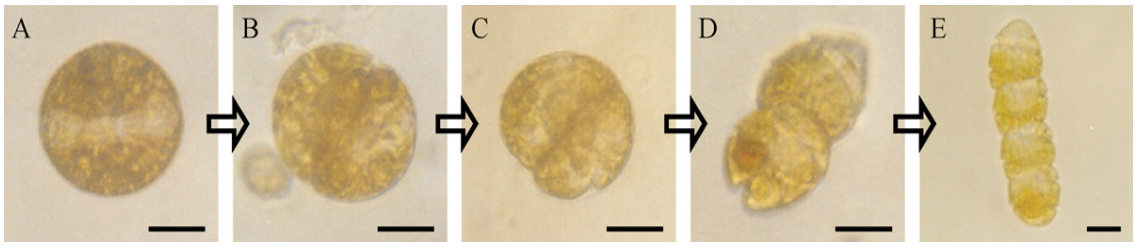
شکل ٦: چرخه عمومی زندگی دینوفلاژلاها (با اندکی تغییر بر گرفته از (Matsuoka, 2006)

۹-۱-۱- چرخه زندگی *C. polykrikoides*

این جلبک تولید سیستی می‌نمایدکه غیرمتحرک، بی‌رنگ و تقریبا فاقد کلروپلاست بوده و سیست آبگین (hyaline cysts) نامیده شده و به وسیله یک غشای شفاف نازک آبگین (hyaline membrane) احاطه می‌شود(شکل۵). بعد از ۶ ماه نگهداری سیست جلبک *C. polykrikoides* در تاریکی و درجه حرارت ۴ ºC، بعد از قرار گرفتن در نور و درجه‌حرارت مناسب بصورت موفقیت‌آمیزی سیست‌های آبگین جوانه می‌زند.

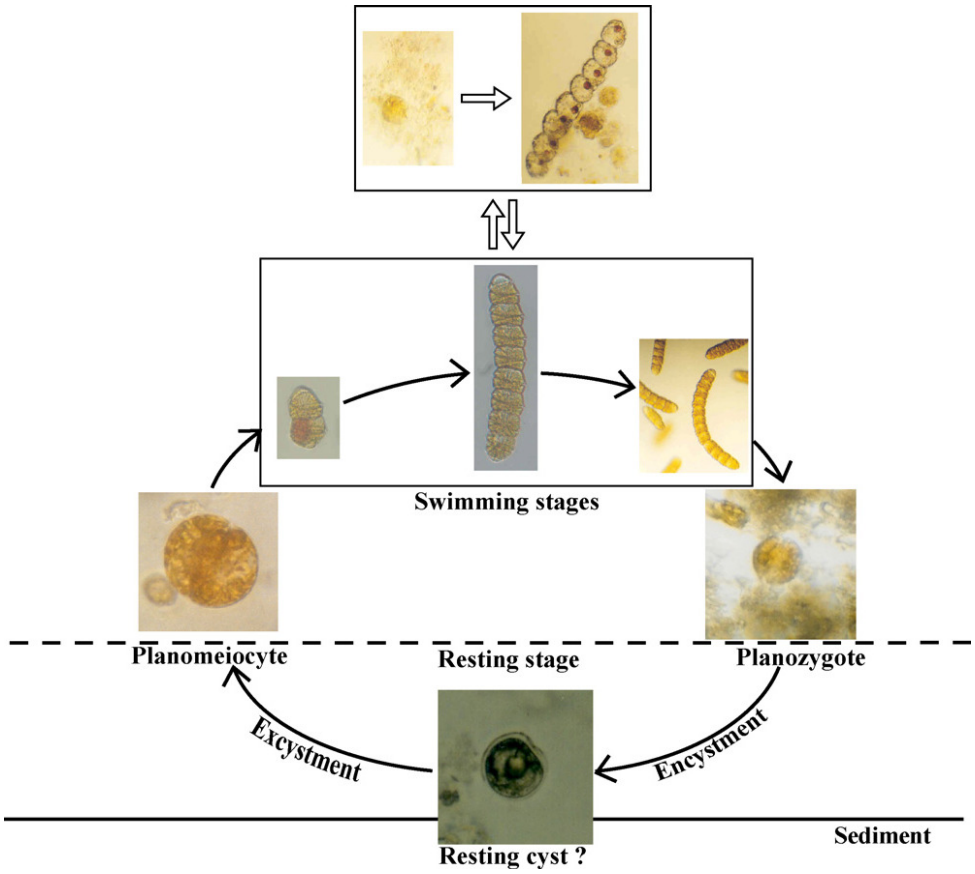
چرخه زندگی از نقطه نظر ریخت‌شناسی شامل دو مرحله می باشد: مرحله زره‌دار و بدون زره.

الف- شکل رویشی آن که بدون زره (unarmored) بوده و در درجه حرارت های بالا(۳۰ ºC-۲۰)



شکل ۷: روند تکاملی نوع زره دار (armored) به سلول رویشی بدون زره (unarmored) پلانکتونی (بر گرفته از Kim et al. 2007)

هنگام شکوفایی ها و در فاز رویشی در آب دریا دیده می شود و شکل زره دارآن (armored) که پیش و پس از شکوفایی دیده می شود (شکل ۷). به عبارتی دیگر اشکال زره دارآن ، بعنوان حد واسط، می تواند به سیست خفته (پلانوزایگوت) یا به شکل سلول رویشی بدون زره (پلانومیوسیست) تبدیل گردد (Kim *et al.*, 2007) .



شکل ۸: چرخه زندگی جلبک *C. polykrikoides* (با اندکی تغییر برگرفته از Kim et al. 2007)

۲- مواد و روشها

۲-۱- مواد و وسایل مورد استفاده در این مطالعه شامل: آکواریوم ، ترازو دیجیتال (با دقت یک هزارم گرم) ، تعداد ۱۰ نوع آنتی بیوتیک، انواع مواد معدنی و شیمیایی، ویتامین ، اتوکلاو ۱۰۰ لیتری، انکوباتور فن دار، Oven ، شوری سنج، نور سنج، لامپ مهتابی، پمپ هوا،چهار پایه UV جهت ضد عفونی فضای اتاق، دستگاه UV جهت ضد عفونی آب، پمپ وکیوم، میکروسکوپ اینورت، انواع ظروف شیشه ای،

۲-۲- روشها

روش کار بر پنج محور استوار بوده است.

۱- جدا سازی و خالص سازی

۲- تهیه محیط کشت مناسب

۳-آزمایشات مربوط به قرار دادن جلبک خالص سازی شده در معرض عوامل محیطی مختلف

۴-کشت و تولید انبوه جلبک

۵- آزمایشات مربوط به تاثیر گذاری جلبک های ماکروسکوپی بر روند رشد جلبک *C. polykrikoides*

۲-۲-۱- نمونه برداری و خالص سازی جلبک میکروسکوپی

نمونه برداری در آبان ۱۳۸۷ از مناطق مختلف آبهای ساحلی و دور از ساحل و در فاصله ۳۰۰- ۲۰۰ متری ساحل و یا از مناطقی که شکوفایی اینگونه رخ داده بود با استفاده از بطر یهای نمونه بردار صورت گرفت سپس از خلال تور پلانکتون **100** میکرون عبور داده شده تا مواد زائد از نمونه اصلی جدا شود. سپس آب محتوی جلبک به آرامی و بدون اینکه ضربات فیزیکی زیادی به آنها وارد شود، به آزمایشگاه منتقل شد. پس از انتقال جلبک ها به

آزمایشگاه ابتدا باید عمل آداپتاسیون اولیه صورت پذیرد. بنابراین ابتدا به آرامی آب محتوی جلبک را در داخل ظروف شیشه ای مختلف ریخته و درب آن را بسته تا ارتباط آن با محیط بیرون قطع گردد ، سپس بدون اینکه ظروف را جابجا نموده و یا تکان داده شود ، در مجاورت نور مهتابی قرار داده و دمای اتاق همانند دمای محیط یکسان سازی می گردد . این مرحله معمولاً ۷-۵ روز طول کشید.در طول این مدت بدلیل تغییرات دمایی که معمولا در طول شبانه روز اتفاق می افتد وتقریباً هم غیر قابل کنترل می باشد ، باعث میشود سلول های ضعیف تر و آسیب دیده ، به ته ظرف رسوب نموده و سلول های سالم تر و فعال تر در فضای آب شناور شوند.

پس از مرحله اول آداپتاسیون، مرحله دوم آن یعنی آداپتاسیون با آب دریا که فیلتر شده صورت پذیرفت. بدین صورت که ابتدا آب دریای تازه را به منظور حفظ فلور باکتریایی بدلیل همزیستی احتمالی این جلبک با باکتری (Fukami *et al*., 1992:Imai *et al*., 1993, 1995 : Kim *et al*.,1998 : Lovejoy *et al*.,1998) ، از خلال کاغذ صافی ۴۵ ٪ میکرون عبور داده (بدون اتوکلاو شدن) ودر داخل ظروف استریل که تقریباً ۴/۵ از حجم یا ارتفاع آن تیره شده بود ،ریخته و نگهداری شد . در این مرحله سلول های جمع شده از ظرف قبل به ظروف جدید منتقل می شوند و این عمل چند بار و به فاصله ۷-۵ روز تکرار می شود. در مرحله بعد،آب دریای استریل شده را به همراه محیط کشت F2 –SI (Guillard,1975) در درون لوله های آزمایش استریل شده ای که ۴/۵ ارتفاع آن تیره شده(پی نوشت۱) ، به همراه انواع مختلف آنتی بیوتیک ریخته و سپس سلول های جمع آوری شده از مرحله قبل را به این لوله ها انتقال می دهیم . در این لوله ها بدلیل فضای محدود رقابتی برای دریافت نور از یک طرف و وجود آنتی بیوتیک های مختلف (Droop,1967) در محیط آب از طرف دیگر و همچنین بدلیل تحرک زیاد این جلبک (*C. polykrikoides*) و فتوتروپیسم مثبت آنها ، باعث می شود تا تراکم شان در لایه بالایی آب (لوله آزمایش) به سرعت افزایش یافته و این عمل خود باعث جلوگیری از نفوذ نور به لایه های پایینتر شده ودر نتیجه از تکثیر سایر موجودات از جمله دیاتومه ممانعت بعمل می آید. این فرایند به همراه جابجایی و انتقال پی در پی

ومداوم در فاصله زمانی ۷-۵ روز و در یک مدت زمان ۵-۴ ماه ، باعث می شود تا استوک خالص از این گونه بدست آید این روش که با کمک نور صورت می پذیرد، بنام روش تکرار شستشو(جابجایی) با کمک پیپت های نازک می باشد (Kim *et al,* 2004).

۲-۲-۲- تهیه محیط کشت های مختلف

با توجه به اینکه در بحث خالص سازی و کشت جلبک یکی از مشکلترین و وقت گیر ترین کارها ، تهیه محیط کشت می باشد ، بنابر این همزمان با پایان خالص سازی جلبک ، اقدام به تهیه و آزمایش محیط کشت های مختلف گردید. برای این کار محیط کشت های مختلف از جمله گیلارد (f_2,f) و TMRL Z ، Walen ، محیط کشت جامد و نیمه جامد (آگار) و همچنین ۲۵ ترکیب تغییر یا فته مختلف از محیط کشت f2 (Guillard,1975) تهیه و مورد آزمایش قرار گرفتند(پی نوشت های۲ ، ۳ ، ۴ ، ۵ ، ۶) و در نهایت ۳ محیط کشت از f2 تغییر یافته که مناسبتر از بقیه بودند جهت انجام آزمایشات اصلی در داخل لوله های آزمایش و یک محیط کشت هم جهت تولید انبوه جلبک در آکواریوم ها مورد استفاده قرار گرفتند(پی نوشت های ۷ ، ۸ ، ۹ ، ۱۰).

۳-۲-۲-آزمایشات مربوط به تعیین اثر پارامتر های محیطی بر رشد جلبک

الف- آزمایشات دما، شوری و نور

آزمایشات رشد جلبک در طرح فاکتوریل با ۳۶ ترکیب مختلف شامل ۴ تیمار دمایی (۲۰، ۲۳ ، ۲۶ ، ۲۸ °C)، ۳ تیمار شوری (۳۰، ۳۲، ۳۵ PPT) و ۳ تیمار نور (۳۵ ، ۷۰ و ۹۰ $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) صورت پذیرفت. شوری‌های کمتر از PPT ۳۵ با افزودن آب مقطر به آب دریا بدست آمد (Kim, 2004). برای کاهش شوک ناشی از تغییرات شوری و دما، ابتدا کشت‌های حاوی جلبک (استوک ها)، با استفاده از روش جابجایی گام به گام مطابق وش(Yamaguchi (1989

and Honjo طی یک دوره ۱ ماهه شرایط آزمایشگاهی موردنظر آداپته شده‌اند. تیمارها در ۳ تکرار ودر لوله‌های آزمایش شیشه‌ای در پوش‌دار هم اندازه (۱۰۰ mm ×۱۶) حاوی ۸ میلی لیتر محیط کشت F2 تغییر یافته بدون سیلیکات (Guillard,1975) انجام شد.

تمامی تیمارها با تراکم ۵۰ سلول در میلی لیتر ذخیره‌سازی شده و برای جلوگیری از تجمع و لخته شدن سلولها، ۲ بار در روز به آرامی تکان داده شدند(Kim *et al.*, 2004). تیمارهای مختلف نوری توسط لامپ مهتابی فلورسنت سفید و در یک سیکل روشنایی- تاریکی ۱۳:۱۲ (Kim *et al*, 2004 and Band-Schmidt, 2004) تامین شده و میزان نور نیز بصورت روزانه با یک دستگاه نور سنج (flurometer) مدل LX-1108 کنترل و تنظیم گردید.

ب- تعیین نرخ رشد

پس از پایان دوره آزمایش ، در شرایط کاملاً استریل و پس از همگن کردن محتویات لوله های آزمایش،با استفاده از پیپت پاستور کاملا استریل، مقدار ۰/۱ سی سی از نمونه داخل لوله را برداشته و بر روی لام شمارش سدویک رافتر ریخته و با استفاده از یک قطره محلول لوگل آن را فیکس، و سپس با کمک یک دستگاه میکروسکوپ اینورت TS100 و یک دستگاه شمارشگر دیجیتال (LABTRON مدل LC-10) اقدام به شمارش و ثبت تعداد سلولهای جلبکی و همچنین بررسی وضعیت جلبک از نظر تعداد سلول های تشکیل شده روزانه تعیین گردید

$$\mu = (Ln_{N2} - Ln_{N1}) / (t_2 - t_1)$$

که N1 و N2 تعداد سلول فیتوپلانکتونی در زمان‌های t_1 (روز اول) و t_2 (روز آخر) می‌باشد.

٤-۲-۲-کشت و تولید انبوه جلبک

با توجه به اینکه این پروژه یکی از پروژه های زیر بنایی در راستای مبارزه با کشند قرمز ناشی از جلبک *C. polykrikoides* می باشد ، و اجرای تعداد زیادی از پروژه ها منوط به تولید انبوه و به حجم رساندن این جلبک

می باشد، لذا با توجه به حساسیت زیاد این جلبک نسبت به تغییرات محیطی و عدم در اختیار داشتن فرمولی مناسب جهت تولید آزمایشگاهی و تولید انبوه، تلاش های بسیار زیادی صورت پذیرفت تا بتوان این گونه را در ظروف بزرگتر با تراکم زیاد کشت داده و در ضمن هزینه تولید را کاهش داد. در این رابطه ظروف مختلفی از جمله گالن های شفاف ۲۰ لیتری و همچنین تانک های ۳۰۰ و ۱۰۰۰ لیتری PVC و آکواریوم های ۸۰-۶۰ لیتری مورد آزمایش قرار گرفت ولی از آنجا که کشت و نگهداری این جلبک شرایط محیطی بخصوصی در جهت دریافت نور وکنترل دمای محیطی را طلب می نماید، لذا پس از تلاش های فراوان مشخص شد که در آکواریوم بهترین جواب را می توان دریافت نمود.پس از مشخص شدن نوع ظرف، جهت کشت انبوه، ابتدا آب دریای ۳۲ppt را با استفاده از ظروف ۲۰ لیتری و یک دستگاه اتوکلاو استریل نموده و پس از خنک شدن و رسیدن به شرایط دمایی آزمایشگاه به داخل آکواریوم ریخته و و پس از اضافه نمودن محیط کشت و استوک جلبک، سطح باز بالای آکواریوم را جهت قطع ارتباط با شرایط محیطی خارج از آکواریوم، با پلاستیک و چسب می پوشانیم. برای اینکه کشت این جلبک با موفقیت انجام شود، دو کار اصلی را باید انجام داد. اولا قسمت پایین آکواریم تا ارتفاع ۳۰-۲۰ سانتی متر را با استفاده از رنگ تیره و یا نوار چسب پهن مشکی، تاریک نمود و ثانیاً یک جریان هوای ملایم بصورت حباب (هر۲ ثانیه یک حباب) از روز سوم جهت جلوگیری از چسبندگی جلبک ها (دراثرتغییر شرایط محیطی) به شیشه آکواریوم به هنگام ازدحام در لایه بالایی سطح آب، در اکواریوم برقرار شد.پس از کشت جلبک چنانچه شرایط محیطی در طول دوره مساعد باشد و دچار نوسانات زیاد بخصوص حرارتی نشود، جلبک از روز ۱۰ الی ۱۵ شروع به بلوم می نماید (بر اساس نتایج و تجربیات شخصی)(پی نوشت ۱۱).

۵-۲-۲-آزمایشات مربوط به تاثیر جلبک های ماکروسکوپی بررشد جلبک *C. polykrikoides*

آزمایشات مربوط به این مرحله به دو طریق صورت پذیرفت:

۱- تاثیر عصاره جلبک های ماکروسکوپی بررشد جلبک *C. polykrikoides*

۲- کشت توام جلبک های ماکروسکوپی تازه(زنده) و جلبک *C. polykrikoides*

کشت جلبک *C. polykrikoides* با استفاده از عصاره جلبک های ماکروسکوپی

الف- جمع آوری نمونه و آماده سازی

جدول شماره ۲ موقعیت جغرافیایی ایستگاههای نمونه برداری جلبک های ماکروسکوپی را نشان می دهد که از چهار منطقه مختلف از سواحل و جزایر استان هرمزگان(شکل ۸) و در ماه های بهمن و اسفند از ناحیه بین جزرومدی مناطق یاد شده جمع آوری شده است.

جدول ۲: مختصات جغرافیایی ایستگاههای نمونه برداری جلبک های ماکروسکوپی در سواحل و جزایر هرمزگان

Seaweed species	Location	Geographic coordinates	Ecological habitat	Date of Sampling*
Green seaweed				
U. lactuca	Larak Island	26° 52' N, 56° 24' E	sandy-muddy	April
E. intestialis	Bandar Lengeh	26° 32' N, 54° 52' E	sandy-muddy	Augest
Brown seaweed				
C. sinuosa	Larak Island	26° 52' N, 56° 24' E	sandy-rocky	March
S. illicifolium	Bandar Lengeh	26° 32' N, 54° 52' E	rocky	May
Red seaweed				
G. corticata	Qeshm Island	26° 55' N, 56° 14' E	rocky	April
H. valentiea	Qeshm Island	26° 55' N, 56° 14' E	sandy-muddy	May

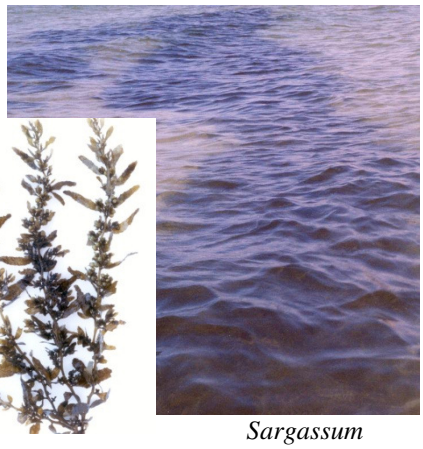
در کل ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفت (شکل۱۰) که شامل: دو جلبک سبز *Ulva lactuca* Linnaeus, *Enthromorpha intistialis* (Linnaeus)، دو جلبک قهوه ای *Colpomenia sinuosa*, *Sargassum illicifolium* (Turner) و دو جلبک قرمز *Gracilaria corticata* و (Turner) *Hypnea valentiea* .

شکل ۹: ایستگاه های نمونه برداری جلبک های ماکروسکوپی مورد بررسی

Gracilaria corticata

Hypnea valentiea

Red seaweed

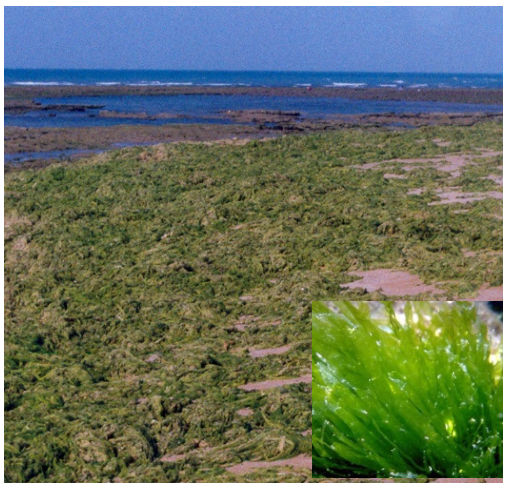


Sargassum illicifolium

Colpomenia sinuosa

Brown **seaweed**

Ulva lactuca



Enthromorpha intestialis

Green seaweed

شکل ۱۰: شش گونه از جلبک ماکروسکوپی مورد بررسی در آزمایش

بلافاصله بعد از جمع آوری جلبک، نمونه های بصورت ابتدایی درهمان محل جمع آوری، تمیز (جدا نمودن ذرات شن و ماسه و دیگر ارگانیسم های چسبیده به تال جلبکی) و با آب دریا شستشو داده شد. پس از انتقال به آزمایشگاه نیز نمونه ها مجددا با آب شیرین برای برداشت کامل مواد زائد چسبنده شستشو گردید. نمونه ها بعد از برداشت آب اضافه با استفاده از فریز درایر خشک و به کمک دستگاه خرد کن پودر گردیده و سپس از خلال الک ۲۰۰ میکرون عبور داده و در ظروف شیشه ای مات در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری گردید.

ب- عصاره گیری از جلبک های ماکروسکوپی

بمنظور استخراج عصاره از جلبکهای ماکروسکوپی، از روشحلال آبی استفاده گردید.

تهیه عصاره با استفاده از حلال آبی: جهت تهیه عصاره با استفاده از حلال آبی، به ازای هر ۱ گرم پودر جلبکی خشک ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه شد (Renjun,*et al*.2007) و بمدت ۲۴ ساعت در تاریکی در شرایط درجه‌حرارت اتاق(C ۲۰) نگهداری شده ودر طی این مدت چندین با تکان داده شد. سپس بخش آبی حاوی مواد محلول را به ارلن دیگر انتقال داده و مجدداً ۵۰ میلی لیتر آب مقطر روی رسوب باقیمانده میریزیم و این عمل را سه بارو (برای بار دوم و سوم به مدت چند ساعت) انجام می‌دهیم و سپس عصاره‌ها با هم مخلوط و به کمک انکوباتور فن دار در دمای C۲۰ قرار داده تا خشک گردد(Rohani *et al*.,2011). جهت تهیه استوک، به ازای ۴۰ میلی‌گرم پودر عصاره خشک یک میلی‌لیتر از آب مقطر را به آن اضافه نموده و از خلال کاغذ صافی ۰/۴۵ µm فیلتر گردید تا عصاره ای با غلظت $0.2\ \mu g\ ml^{-1}$ بدست آید(Cho *et al*., 1999).

در این مرحله از آزمایش در مجموع ۷ تیمار در نظر گرفته شد که شامل:

۱- شاهد ۲-*Ulva lactuca* ۳- *Enthromorpha intestialis* ۴- *Hypnea valentiea* ۵- *Gracilaria cortica*

۶- *Colpomenia sinuosa* ۷- *Sargassum illicifolium*

بود. که عصاره های بدست آمده از محلول آبی حاصل از این جلبک ها پس از آماده سازی ، با مقادیر ۰/۲ ، ۰/۴ ، ۰/۸ ، ۱/۶ ، ۲ (ml/lit) به ارلن های ۵۰۰ سی سی محتوی جلبک *Cochlodinium polykrikoides* با تراکم ۱۰۰۰cell/ml (Jae-Hawan, *et al*.2000) به همراه محیط کشت f2 تغییر یافته ای که در خلال انجام این پروژه بدست آمد ، اضافه شد. تیمارها در شرایط اپتیمم، حرارتی(۲۶ درجه سانتیگراد) که توسط یک دستگاه کولر گازی و روشنایی (۹۰ $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) که توسط لامپ فلورسنت سفید و در یک سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ تامین می شد (Kim *et al*., 2004) و بصورت روزانه با یک دستگاه نور سنج (flurometer) مدل LX-1108 کنترل و تنظیم می گردید، نگهداری شدند. جهت بررسی روند رشد و همچنین شمارش سلول های جلبکی، در پایان روز ۱۵ از تیمارها نمونه برداری شده و مورد شمارش قرار گرفتند.

ج- کشت توام جلبک *C. polykrikoides* با استفاده از بافت زنده جلبک‌های ماکروسکوپی:

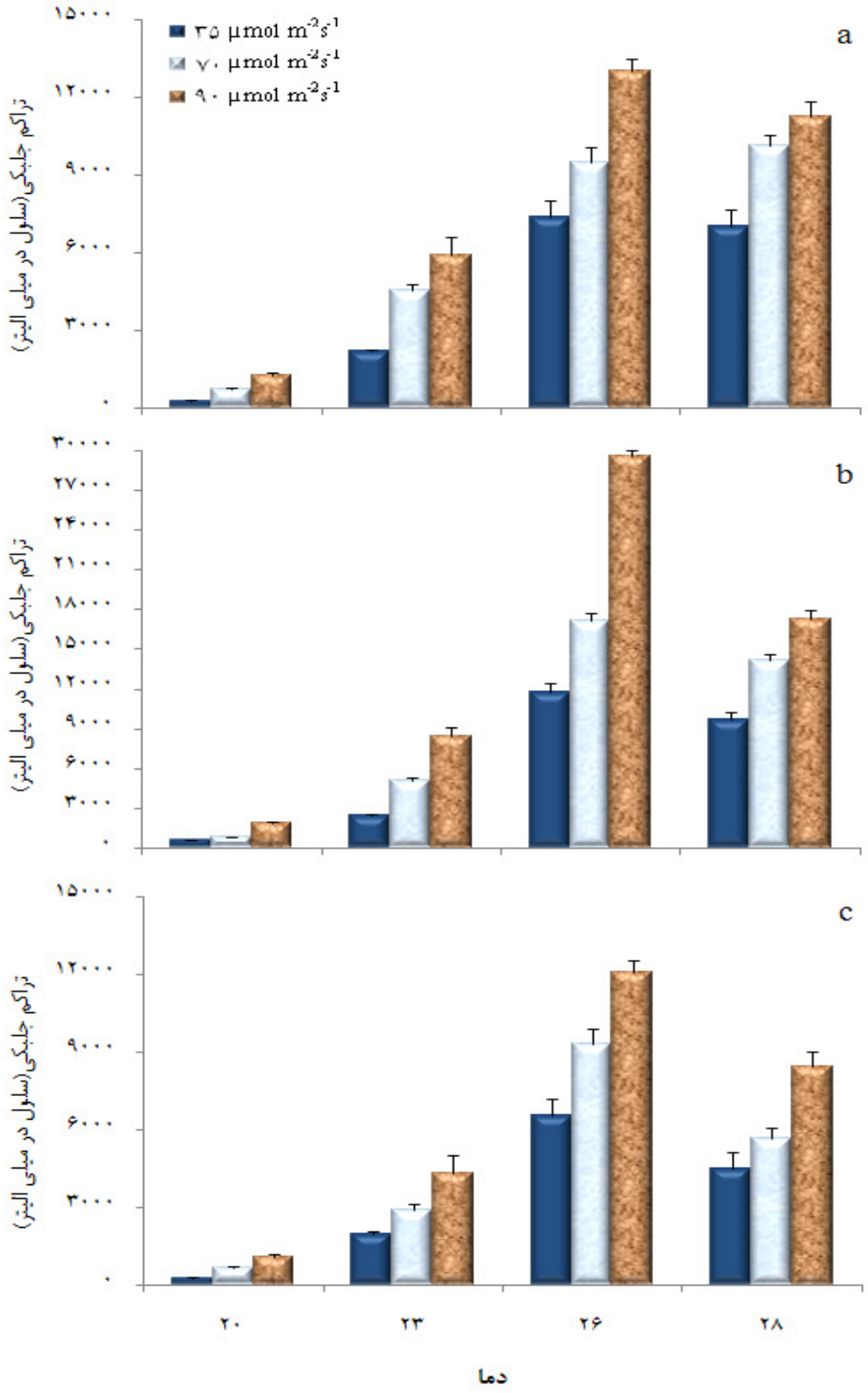
این مرحله از آزمایش بدلیل در اختیار نداشتن جلبک تازه فقط با ۳ گونه جلبک ماکروسکوپی صورت پذیرفت . تیمار ها شامل ۱- شاهد (تیمار هم بدون جلبک ماکروسکوپی و فقط با محیط کشت F2 تغییر یافته) ۲- *Enthromorpha intestialis* ۳- *Hypnea valentiea* ۴- *Colpomenia sinuosa* بوده است. در این مرحله، پس از انتقال جلبک ها ی زنده به آزمایشگاه و شستشوی آنها و جدا سازی موجودات مزاحم و در نهایت شستشو با محلول آنتی بیوتیک (Jae-Hwan *et al*.,2000)، آنها را در تیمار های ۲/۵ ، ۵ و ۱۰ گرم در لیتر به درون ارلن های محتوی آب دریای استریل شده با شوری ppt ۳۲ به همراه مقداری محیط کشت F2 تغییر یافته، انتقال داده شدند..

تیمار ها در ۳ تکرار انجام شد. پس از آن به هر کدام از تیمار ها و تکرار ها (ارلن های محتوی جلبک ماکروسکوپی) به ازای هر میلی لیتر محیط کشت، تعداد ۱۰۰۰ سلول جلبک *Cochlodinium polykrikoides* اضافه گردید. سپس به مدت ۱۵ روز در شرایط استاندارد آزمایشگاه (شرایط یاد شده بالا) نگهداری و پس از آن مورد بررسی و شمارش قرار گرفتند (Renjum, *et al*.2007;Jae-Hwan. *Et al*.2000) .

۳-نتایج

۳-۱- محیط کشت ۱

نتایج حاصل از بررسی میزان رشد جلبک *Cochlodinium polykrikoides* در محیط کشت یک، در هر یک از تیمارهای انتخابی درجه حرارت ، نور و شوری های مختلف در شکل۱۱ (a,b,c) آمده است. محدوده تغییرات تراکم جلبکی بدست آمده در محیط کشت یک برابر با ۳۰۴۳۰ – ۹۰ سلول در میلی لیتر بوده که بیشترین آن متعلق به تیمار دمایی ۲۶ درجه سانتیگراد ، شوری ۳۲ppt و نور $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$ ۹۰ بوده است. نتایج آنالیز واریانس یکطرفه نیز نشان داد که در هر یک از تیمارهای مربوط به شوری و نور های انتخابی بین تیمار های دمایی از نظر میزان تراکم جلبکی اختلاف معنی داری وجود دارد ($p<0/05$)(جدول۳).



شکل ۱۱: تغییرات تراکم سلول جلبک *C. polykrikoides* در تیمارهای مختلف دمایی و نوری در شوری‌های ۳۰ (a، ۳۲ (b و ۳۵ ppt (c در محیط کشت ۱

جدول ۳: تغییرات تراکم (میانگین ± انحراف معیار) جلبکی در تیمار های انتخابی و آزمون مقایسه چند گانه توکی جهت مقایسه تراکم جلبکی بین تیمارهای دمایی انتخابی در هر یک از تیمارهای شوری و نور مورد مطالعه(محیط کشت A1).

	شوری ۳۵			شوری ۳۲			شوری ۳۰		
	نور ۳	نور ۲	نور ۱	نور ۳	نور ۲	نور ۱	نور ۳	نور ۲	نور ۱
دمای ۱	۱۱۰۰ ±۱۴۵^{a}	۶۶۰ ± ۸۵^{a}	۲۷۷ ±۳۱^{a}	۱۹۳۴ ±۸۵^{a}	۸۱۰±۴۶^{a}	۵۹۰±۱۶۰^{a}	۱۲۷۰±۱۹۰^{a}	۷۴۰±۱۰۵^{a}	۲۵۳ ±۸۵^{a}
دمای ۲	۴۳۱۳±۴۰۵^{b}	۲۹۲۰± ۲۰۳^{b}	۱۹۹۳ ±۱۹۶^{b}	۸۳۷۳ ±۱۱۵۰^{b}	۵۰۴۷ ±۵۶۰^{b}	۲۴۳۷ ±۲۱۶^{b}	۵۹۳۰±۱۲۱۸^{b}	۴۵۴۰± ۴۳۷^{b}	۲۱۹۷ ±۱۵۳^{a}
دمای ۳	۱۲۰۹۰±۱۵۸۵^{c}	۹۳۵۳ ± ۶۸۲^{c}	۶۵۶۳ ±۶۲۸^{c}	۲۹۵۸۳ ±۷۵۰^{c}	۱۷۱۱۷ ±۱۷۲۲^{c}	۱۱۷۸۷ ±۱۶۷۴^{c}	۱۳۰۶۷ ±۸۱۶^{c}	۹۵۱۳ ± ۱۰۲۳^{c}	۷۴۰۷ ±۱۱۰۲^{b}
دمای ۴	۸۴۲۷ ±۹۷۹^{d}	۵۶۷۰ ± ۶۲۹^{d}	۴۵۰۳ ±۶۰۵^{d}	۱۷۲۸۷ ± ۹۲۳^{d}	۱۴۱۵۳±۳۹۴^{d}	۹۶۴۰±۱۴۳۵^{d}	۱۱۲۶۰±۱۰۶۸^{c}	۱۰۱۴۰± ۷۲۲^{c}	۷۰۲۳ ±۱۱۱۵^{b}

* حروف نامشابه در هر ستون به نشانه معنی دار بودن است($p<0/05$).

نور ۱ = ۳۵ $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$

نور ۲ = ۷۰ $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$

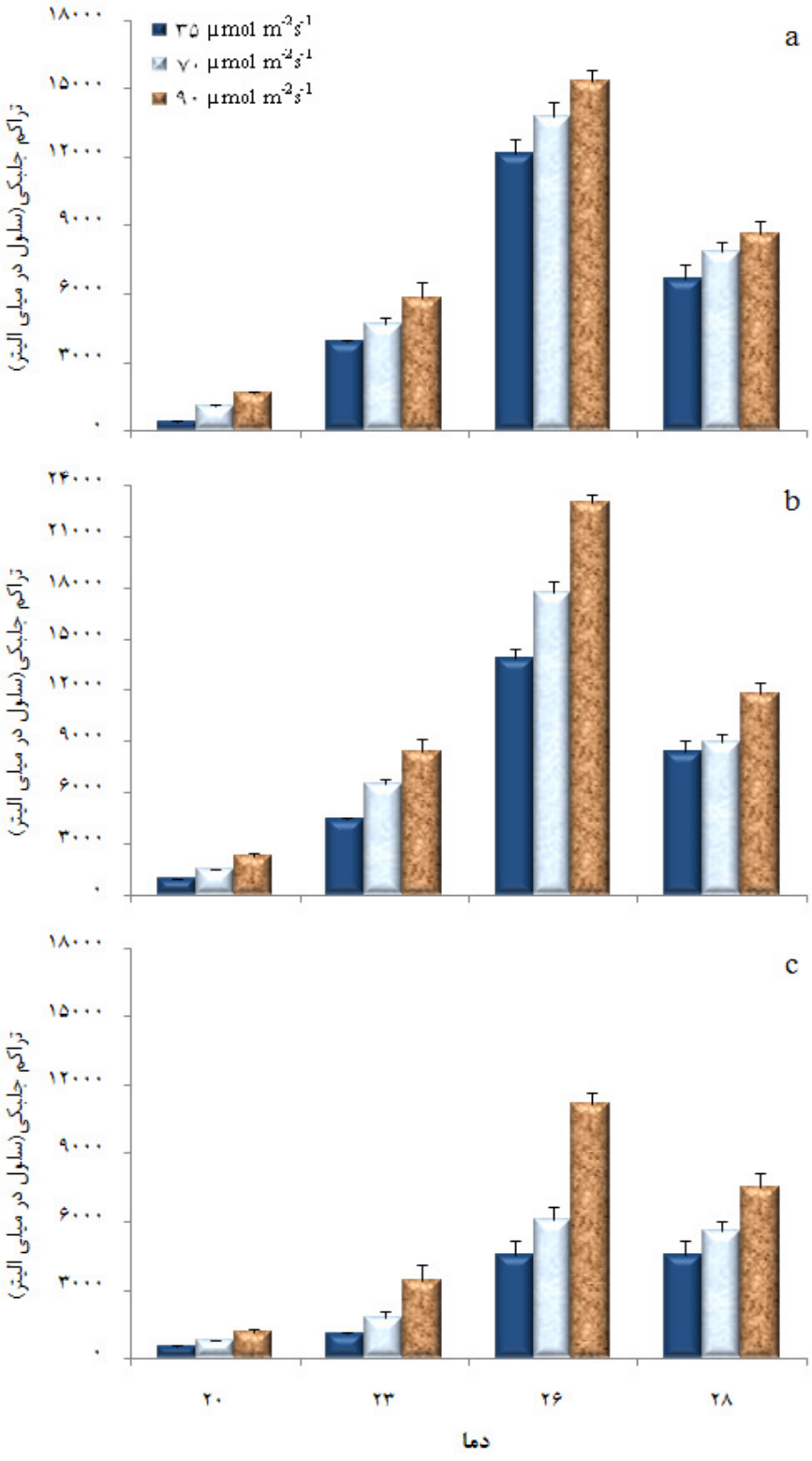
نور ۳ = ۹۰ $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$

جدول ٤ : نتایج آنالیز واریانس دوطرفه جهت بررسی اثرات متقابل تیمار های مورد نظر بر تراکم جلبکی در محیط کشت ۱

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
دما	۲۳۹۷۴۱۵۹۴۶	۳	۷۹۹۱۳۸۶۴۹	۱۱۹۶	.۰۰۰
شوری	۵۰۰۷۷۰۹۶۳	۲	۲۵۰۳۸۵۴۸۲	۳۷۵	.۰۰۰
نور	۴۵۲۱۰۶۵۲۰	۲	۲۲۶۰۵۳۲۶۰	۳۳۸	.۰۰۰
شوری ×دما	۳۵۷۹۲۴۴۰۰	۶	۵۹۶۵۴۰۶۷	۸۹	.۰۰۰
نور ×دما	۱۸۲۶۱۹۱۱۲	۶	۳۰۴۳۶۵۱۹	۴۶	.۰۰۰
نور × شوری	۹۶۹۷۶۱۱۴	۴	۲۴۲۴۴۰۲۹	۳۶	.۰۰۰
نور × شوری ×دما	۹۴۰۴۵۹۲۱	۱۲	۷۸۳۷۱۶۰	۱۲	.۰۰۰
خطا	۴۸۱۱۸۴۰۱	۷۲	۶۶۸۳۱۱		
تغییرات کل	۹۳۳۶۹۳۵۸۰۱	۱۰۸			

۲-۳- نتایج محیط کشت ۲

نتایج حاصل از بررسی میزان رشد جلبک *C. polykrikoides* در محیط کشت ۲ در هر یک از تیمارهای دما ، نور و شوری های مختلف در شکل۱۲(a,b,c) آمده است. نتایج نشان داد که در طی دوره بررسی، محدوده تراکم جلبکی در این محیط کشت برابر با ۲۴۶۰ – ۲۷۰ سلول در میلی لیتر بوده است. بطوریکه بیشترین مقدار مشاهده شده در تیمار دمایی ۲۶، شوری۳۲ و نور $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$ ۹۰ (شکل۱۲b) و کمترین آن در تیمار دمایی ۲۰، شوری ۳۰ و نور $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$ ۳۵ به ثبت رسید (شکل ۱۲a).



شکل ۱۲: تغییرات تراکم سلول *C. polykrikoides* در تیمارهای مختلف دمایی و نوری در شوری‌های a) ۳۰، b) ۳۲ و c) ۳۵ ppt در محیط کشت۲

جدول ۵: تغییرات تراکم (میانگین ± انحراف معیار) جلبکی در تیمار های انتخابی و آزمون مقایسه چند گانه توکی جهت مقایسه تراکم جلبکی بین تیمارهای دمایی انتخابی در هر یک از تیمارهای شوری و نور مورد مطالعه(محیط کشت۲ A).

	شوری ۳۰			شوری ۳۲			شوری ۳۵		
	نور ۱	نور ۲	نور ۳	نور ۱	نور ۲	نور ۳	نور ۱	نور ۲	نور ۳
دمای ۱	۳۷۰±۹۲^{a}	۱۱۲۳±۱۰۷^{a}	۱۶۲۳±۲۴۰^{a}	۹۶۷±۱۶۸^{a}	۱۵۳۳±۲۱۵^{a}	۲۳۴۳±۴۳۰^{a}	۵۲۰±۸۲^{a}	۷۷۳±۱۸۲^{a}	۱۱۸۰±۱۶۷^{a}
دمای ۲	۳۹۲۳±۵۷۸^{b}	۴۷۲۳±۴۳۴^{b}	۵۷۹۳±۶۰۱^{b}	۴۴۴۰±۸۴۹^{b}	۶۵۸۷±۱۵۶۷^{b}	۸۴۳۷±۹۱۹^{b}	۱۰۸۷±۱۴۲^{a}	۱۸۱۳±۳۰۷^{a}	۳۴۰۳±۴۹۵^{a}
دمای ۳	۱۲۱۹۰±۱۸۶۴^{b}	۱۳۸۳۷±۷۴۵^{c}	۱۵۳۶۳±۱۲۰۰^{c}	۱۳۸۶۰±۱۵۲۲^{c}	۱۷۷۹۳±۱۱۵۵^{c}	۲۳۰۶۳±۱۹۰۸^{c}	۴۵۸۷±۷۵۹^{b}	۶۰۷۷±۹۸۰^{b}	۱۱۱۹۷±۱۰۹۶^{b}
دمای ۴	۶۶۵۷±۱۳۹۰^{c}	۷۸۹۰±۱۶۲۶^{d}	۸۶۲۷±۱۰۸۰^{d}	۸۴۶۰±۶۴۲^{d}	۹۰۲۷±۱۴۷۱^{b}	۱۱۸۲۷±۱۵۸۲^{b}	۴۵۶۷±۱۳۳۲^{b}	۵۶۴۰±۷۲۳^{b}	۷۵۱۰±۱۲۹۰^{c}

حروف نامشابه در هر ستون به نشانه معنی دار بودن است($p<0/05$).

نور ۱ = ۳۵ $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$

نور ۲ = ۷۰ $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$

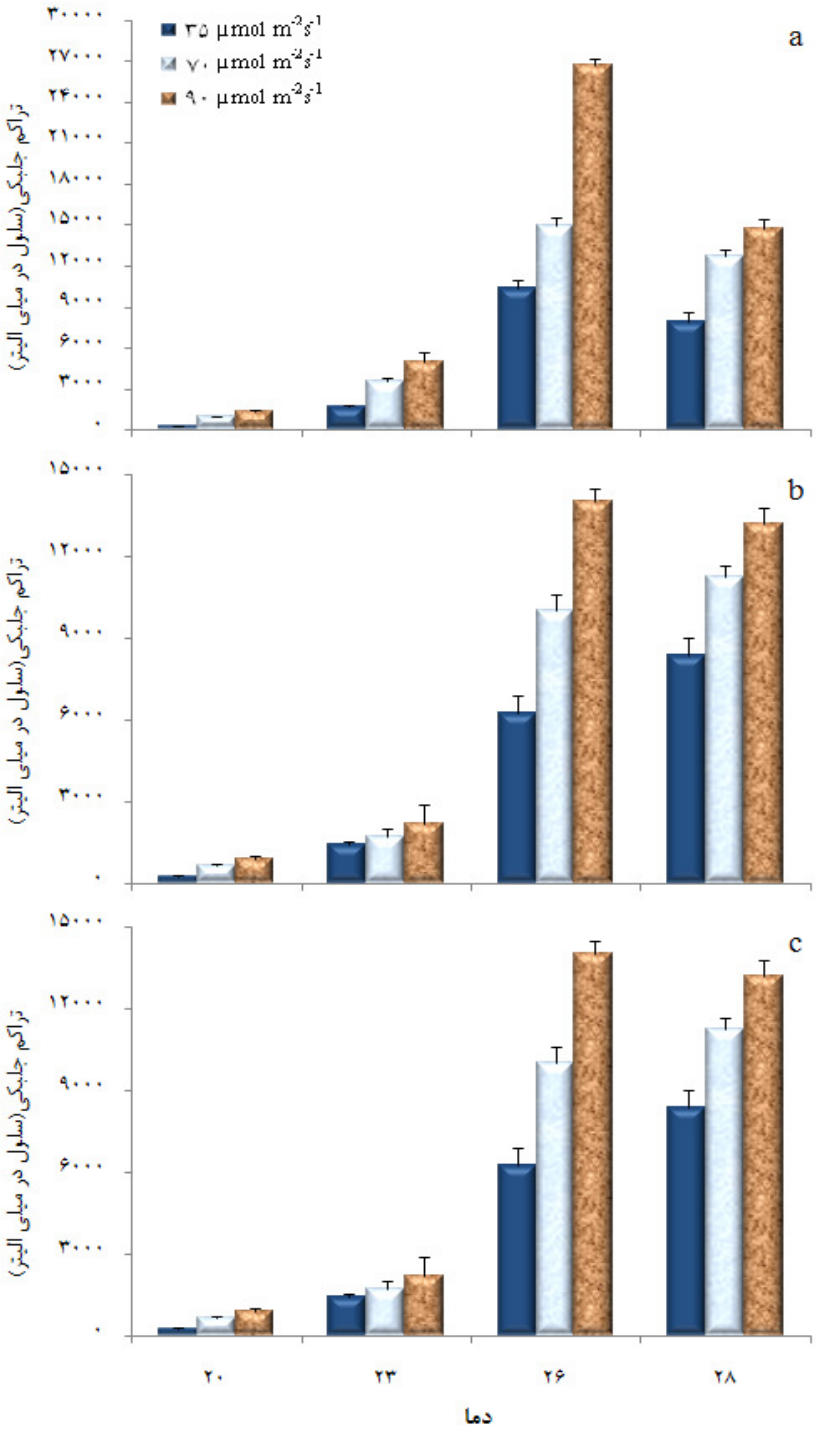
نور ۳ = ۹۰ $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$

جدول ٦: نتایج آنالیز واریانس چند راهه جهت بررسی اثرات متقابل تیمار های مورد نظر بر تراکم جلبکی در محیط کشت ۲

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
دما	۲۱۰۴۱۷۲۹۷۳۸	۳	۷۰۱۳۹۰۹۹۱۸	۷۰۲	.۰۰۰
شوری	۴۵۲۱۲۵۱۳۹	۲	۲۲۶۰۶۲۵۶۹۸	۲۲۶	.۰۰۰
نور	۱۹۰۵۱۰۵۱۷	۲	۹۵۲۵۵۲۵۸۸	۹۵	.۰۰۰
شوری ×دما	۲۵۲۶۰۰۱۸۰	۶	۴۲۱۰۰۰۳۰	۴۲	.۰۰۰
نور ×دما	۶۸۰۱۵۷۱۸۳	۶	۱۱۳۳۵۹۵۲	۱۱	.۰۰۰
نور × شوری	۲۰۰۲۲۲۹۴۸	۴	۵۰۰۵۵۷۴	۵	.۰۰۱
نور × شوری ×دما	۱۹۰۲۲۹۴۸۳	۱۲	۱۵۸۵۲۴۵۴	۹	.۰۱۵
خطا	۷۱۸۹۶۷۳۳۸۳	۷۲	۹۹۸۵۶۶		
تغییرات کل	۷۹۳۰۸۸۴۵۰۰۸	۱۰۸			

۳-۳- محیط کشت ۳

محدوده تغییرات تراکم جلبکی بدست آمده در محیط کشت ۳ برابر با cell/ml ۲۸۲۴۰ – ۱۰۰ که بیشترین آن در تیمار دمایی ۲۶، شوری ۳۰ و نور μmol $m^{-2}s^{-1}$ ۹۰ و کمترین آن در تیمار دمایی ۲۰ ،شوری ۳۵ و نور mol $m^{-2}s^{-}$ ^{1} ۳۰μ بوده است. نتایج حاصل از بررسی میانگین های مربوط به میزان رشد جلبک *C. polykrikoides* در محیط کشت ۳ در هر یک از تیمار ها ی انتخابی درجه حرارت ، نور و شوری های مختلف درشکل های ۱۳ (a,b,c) آمده است.



شکل ۱۳: تغییرات تراکم سلول جلبک *C. polykrikoides* در تیمارهای مختلف دمایی و نوری در شوری‌های ۳۰ (a ، ۳۲ (b و ۳۵ ppt (c در محیط کشت ۳

جدول ۷: تغییرات تراکم (میانگین ± انحراف معیار) جلبکی در تیمار های انتخابی و آزمون مقایسه چند گانه توکی جهت مقایسه تراکم جلبکی بین تیمارهای دمایی انتخابی در هر یک از تیمارهای شوری و نور مورد مطالعه(محیط کشت۳ A).

	شوری ۳۵			شوری ۳۲			شوری ۳۰		
	نور ۳	نور ۲	نور ۱	نور ۳	نور ۲	نور ۱	نور ۳	نور ۲	نور ۱
دمای ۱	۶۱۰±۱۷۱^{a}	۴۴۷±۶۷^{a}	۱۵۰±۴۶^{a}	۹۰۷±۱۱۵^{a}	۶۶۷±۱۷۶^{a}	۲۴۳±۳۱^{a}	۱۳۵۰±۲۶۵^{a}	۹۴۰±۱۱۵^{a}	۲۴۰±۹۶^{a}
دمای ۲	۱۳۶۳±۱۹۰^{b}	۱۲۹۳±۲۳۷^{b}	۹۲۷±۹۱^{b}	۲۲۱۳±۱۷۸^{b}	۱۷۴۷±۱۹۵^{b}	۱۴۶۷±۱۵۵^{b}	۵۰۳۳±۱۰۴۰^{b}	۳۵۷۱±۵۹۸^{b}	۱۶۹۰±۳۹۳^{b}
دمای ۳	۱۰۱۱۰±۹۸۶^{d}	۶۵۳۰±۹۶۰^{d}	۴۰۵۳±۱۵۶^{d}	۱۴۰۱۷±۱۳۱۱^{d}	۱۰۰۳۰±۱۱۰۱^{d}	۶۲۶۷±۸۵۰^{d}	۲۶۷۷۷±۱۴۱۳^{d}	۱۵۰۲۷±۲۱۸۸^{d}	۱۰۳۶۷±۸۱۰^{d}
دمای ۴	۷۵۶۷±۹۳۹^{c}	۵۷۸۴±۱۰۰۰^{c}	۴۵۷۳±۶۸۵^{c}	۱۳۲۱۳±۹۷۴^{c}	۱۱۲۹۷±۱۰۳۴^{c}	۸۳۷۰±۱۰۳۳^{c}	۱۴۸۲۳±۱۰۹۱^{c}	۱۲۷۸۳±۱۴۰۱^{c}	۷۹۹۷±۱۲۳۲^{c}

* حروف نامشابه در هر ستون به نشانه معنی دار بودن است($p<0/05$).

نور ۱ = ۳۵ $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$

نور ۲ = ۷۰ $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$

نور ۳ = ۹۰ $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$

جدول ۸ : نتایج آنالیز واریانس دوطرفه جهت بررسی اثرات متقابل تیمار های مورد نظر بر تراکم جلبکی در محیط کشت A3

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
دما	۲۳۳۹۶۴۳۹۹۱	۳	۷۷۹۸۸۱۳۳۰	۱۱۲۰	.۰۰۰
شوری	۴۰۹۲۳۱۱۸۰	۲	۲۰۴۶۱۵۵۹۰	۲۹۴	.۰۰۰
نور	۳۳۴۰۳۵۹۳۴	۲	۱۶۷۰۱۷۹۶۷	۲۴۰	.۰۰۰
شوری ×دما	۳۱۷۲۳۹۸۰۳۴	۶	۵۲۸۷۳۳۰۱	۷۶	.۰۰۰
نور ×دما	۲۵۶۳۳۸۷۹۷	۶	۴۲۷۲۳۱۳۳	۶۱	.۰۰۰
نور × شوری	۶۶۰۴۹۶۹۴	۴	۱۶۵۱۲۴۲۳۳	۲۴	.۰۰۰
نور × شوری ×دما	۶۲۳۰۱۸۹۸۴	۱۲	۵۱۹۱۸۲۵	۷	.۰۰۰
خطا	۵۰۱۵۷۴۱۳	۷۲	۶۹۶۶۳۵۱		
تغییرات کل	۷۶۶۷۰۷۷۲۴۹	۱۰۸			

٤-۳- نرخ رشد ویژه

نتایج حاصل ازبررسی و مقایسه نرخ رشد ویژه جلبک *C. polykrikoides* مابین سه محیط کشت در هر یک از تیمار های مربوط به شوری ، دما و نور در جداول ۱۸-۹ آمده است. نتاج نشان داد که محدوده تغییرات نرخ رشد ویژه در طی دوره مورد مطالعه ۰/۵۲ – ۰/۲۳ و میانگین نرخ رشد ویژه برابر با ۰/۱ ± ۰/۴۱ بوده است.نتایج بررسی میانگین ها نشان داد که در هر یک از تیمارهای شوری ۳۰، ۳۲ و ۳۵ میانگین نرخ رشد ویژه بترتیب برابر با ۰/۰۶ ± ۰/۴۲ ، ۰/۰۶ ± ۰/۴۲ و ۰/۰۶ ± ۰/۳۹ بوده است.

جدول ۹ : نتایج آنالیز واریانس مربوط به رشد ویژه ما بین محیط کشت های مختلف در هر یک از تیمار های شوری

محیط کشت	شوری		
	30	**32**	**35**
M1	0.41 ± 0.06	0.43 ± 0.06[a]	0.40 ± 0.06
M2	0.42 ± 0.05	0.44 ± 0.05[a]	0.39 ± 0.05
M3	0.42 ± 0.07	0.40 ± 0.07[b]	0.38 ± 0.07

جدول ۱۰ : نتایج آنالیز واریانس مربوط به رشد ویژه ما بین شوری های مختلف در هر یک از تیمار های محیط کشت

شوری	محیط کشت		
	M1	M2	M3
30	0.41 ± 0.06	0.42 ± 0.05[ab]	0.42 ± 0.07[b]
32	0.43 ± 0.06	0.44 ± 0.05[b]	0.40 ± 0.07[ab]
35	0.40 ± 0.06	0.39 ± 0.05[a]	0.38 ± 0.07[a]

جدول ۱۱: نتایج آنالیز واریانس دو طرفه جهت بررسی اثرات متقابل دونوع تیمار (شوری و محیط کشت) بر تغییرات نرخ رشد جلبک در طی دوره مورد مطالعه

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
شوری	.063	2	.032	8.874	.000
محیط کشت	.020	2	.010	2.868	.058
محیط * شوری کشت	.018	4	.005	1.290	.274
خطا	1.125	315	.004		
تغییرات کل	56.078	324			

R Squared = .083 (Adjusted R Squared = .060)

نتایج آنالیز واریانس دو طرفه حاکی اثرات متقابل دو نوع تیمار(محیط و نور) بر تغییرات نرخ رشد در طی دوره بررسی بوده است(جدول ۱۶).بررسی نتایج حاصل از اثرات متقابل دو نوع تیمار نشان می دهد که بیشترین میزان نرخ رشد بدست آمده متعلق به تیمار نوری ۹۰ در محیط کشت یک بوده است.

جدول ۱۲: نتایج آنالیز واریانس مربوط به رشد ویژه ما بین محیط کشت های مختلف در هر یک از تیمار های دمایی

شوری	درجه حرارت			
	20	23	26	28
M1	0.33 ± 0.03^{ab}	0.41 ± 0.02^{a}	0.47 ± 0.02	0.46 ± 0.02
M2	0.35 ± 0.03^{b}	0.41 ± 0.03^{a}	0.47 ± 0.03	0.45 ± 0.02
M3	0.31 ± 0.04^{a}	0.38 ± 0.03^{b}	0.46 ± 0.03	0.46 ± 0.02

جدول ۱۳: نتایج آنالیز واریانس مربوط به رشد ویژه ما بین دما های مختلف در هر یک از تیمار های محیط کشت

شوری	محیط کشت		
	M1	M2	M3
20	0.33 ± 0.03^{a}	0.35 ± 0.035^{a}	0.31 ± 0.04^{a}
23	0.41 ± 0.02^{b}	0.41 ± 0.03^{b}	0.38 ± 0.03^{b}
26	0.47 ± 0.02^{c}	0.47 ± 0.03^{c}	0.46 ± 0.03^{c}
28	0.46 ± 0.02^{c}	0.45 ± 0.02^{d}	0.46 ± 0.02^{c}

جدول ١٤ : نتایج آنالیز واریانس دو طرفه جهت بررسی اثرات متقابل دونوع تیمار (دما و محیط کشت) بر تغییرات نرخ رشد جلبک در طی دوره مورد مطالعه

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
محیط کشت	.020	2	.010	14.088	.000
دما	.956	3	.319	438.346	.000
دما * محیط کشت	.024	6	.004	5.448	.000
خطا	.227	312	.001		
تغییرات کل	56.078	324			

جدول ۱۵: نتایج آنالیز واریانس مربوط به رشد ویژه ما بین محیط کشت مختلف در هر یک از تیمار های نوری

محیط کشت	نور		
	35	70	90
M1	0.39 ± 0.07	0.42 ± 0.06	0.44 ± 0.05
M2	0.40 ± 0.06	0.42 ± 0.05	0.44 ± 0.05
M3	0.38 ± 0.08	0.41 ± 0.06	0.42 ± 0.06

جدول ۱۶: نتایج آنالیز واریانس مربوط به رشد ویژه ما بین شدت نور های مختلف در هر یک از تیمار های محیط کشت

نور	محیط کشت		
	M1	**M2**	**M3**
35	0.39 ± 0.07^{a}	0.40 ± 0.06^{a}	0.38 ± 0.08^{a}
70	0.42 ± 0.06^{ab}	0.42 ± 0.05^{ab}	0.40 ± 0.06^{ab}
90	0.44 ± 0.05^{b}	0.44 ± 0.05^{b}	0.42 ± 0.06^{b}

جدول ۱۷: نتایج آنالیز واریانس دو طرفه جهت بررسی اثرات متقابل دونوع تیمار (نور و محیط کشت) بر تغییرات نرخ رشد جلبک در طی دوره مورد مطالعه

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
محیط کشت	.020	2	.010	2.909	.056
نور	.095	2	.048	13.535	.000
نور * محیط کشت	.002	4	.001	.152	.962
خطا	1.109	315	.004		
تغییرات کل	56.078	324			

a R Squared = .096 (Adjusted R Squared = .073)

جدول ۱۸: نتایج آنالیز واریانش چند متغیره جهت بررسی اثرات تجمعی تیمار های مختلف مورد مطالعه بر روی نرخ رشد ویژه جلبک *C. polykrikoides*

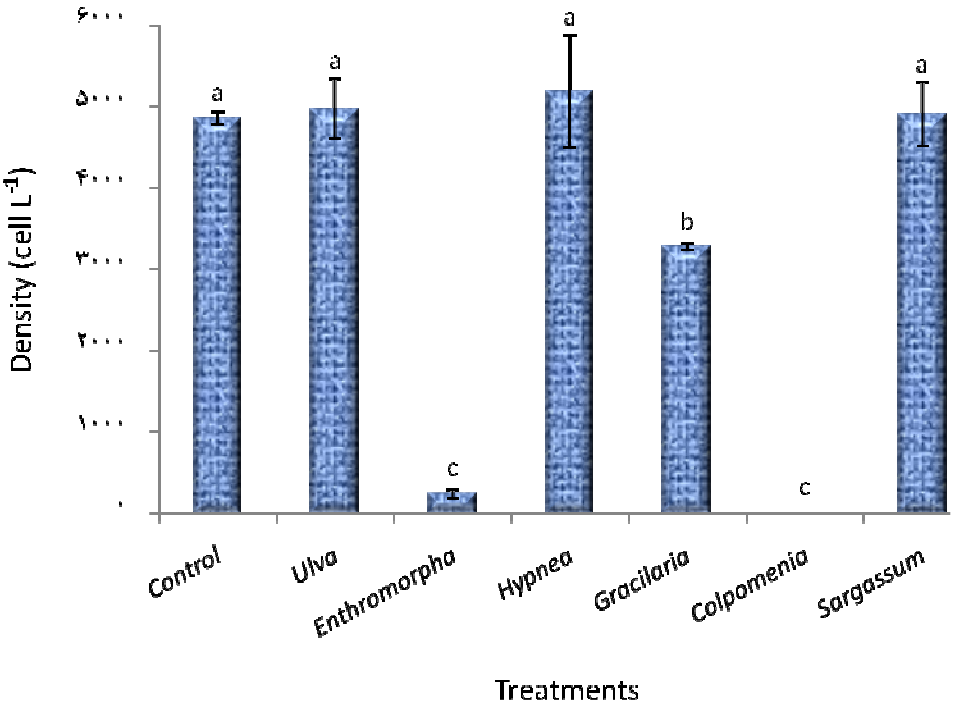
منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
محیط کشت	.020	2	.010	158.8	.000
دما	.956	3	.319	4941.5	.000
شوری	.063	2	.032	491.3	.000
نور	.095	2	.048	739.0	.000
دما * محیط کشت	.024	6	.004	61.4	.000
محیط کشت * شوری	.018	4	.005	71.5	.000
نور * محیط کشت	.002	4	.001	8.3	.000
محیط کشت * دما *شوری*نور	.034	84	.000	6.2	.000
خطا	.014	216	6.45		
تغییرات کل	56.078	324			

a R Squared = .989 (Adjusted R Squared = .983)

۵-۳- نتایج تاثیر جلبک های ماکروسکوپی بررشد جلبک *C. polykrikoides*

الف : عصاره جلبک های ماکروسکوپی بر رشد جلبک *C. polykrikoides*

نتایج آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون درون گروهی توکی حاصل از تاثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بر روی رشد جلبک *Cochlodinium Polykrikoides* نشان داد که مابین تیمار های مورد بررسی از نظر تراکم، اختلاف معنی داری وجود داشته است($p<0.05$). بطوریکه از نتایج آزمون توکی می توان دریافت که مابین تیمار های ۱ ، ۲ ، ۴ و ۷ اختلاف معنی داری مشاهده نشده است در صورتی که هر یک از تیمار های فوق الذکر خود با تیمارهای ۳ ، ۵ ، ۶ از نظر میزان تراکم محاسبه شده تفاوت معنی داری را از خود نشان داده اند.

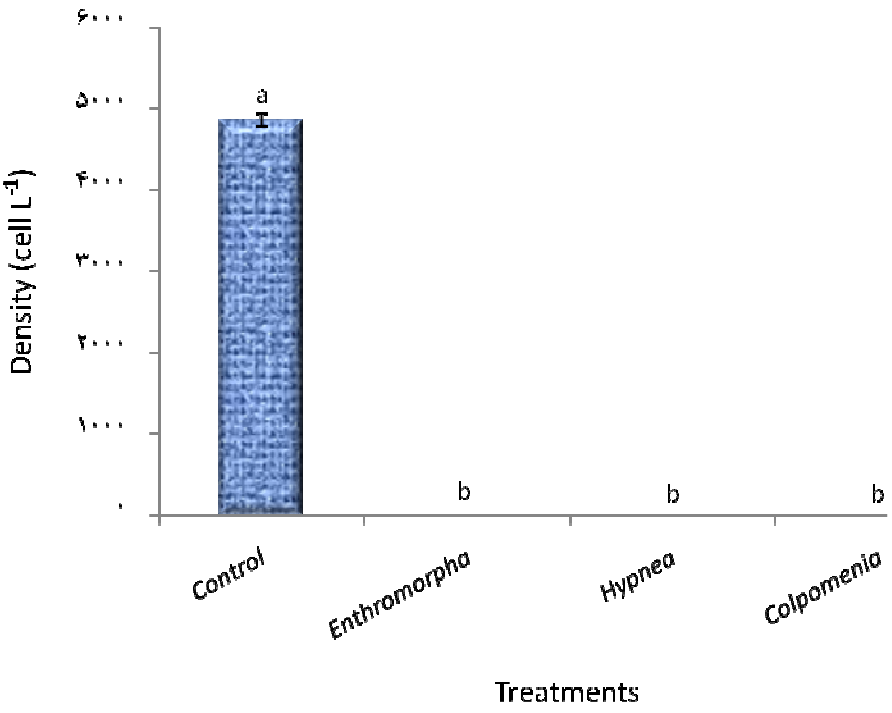


شکل ١٤: نتایج آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون درون گروهی توکی حاصل از تاثیر عصاره ٦ گونه جلبک ماکروسکوپی بر روی رشد جلبک *Cochlodinium Polykrikoides*

حروف نا مشابه نشانه معنی دار بودن است(p‹./5).

ب : نتایج کشت توام جلبک های ماکروسکوپی تازه(زنده) و جلبک *C. polykrikoides*

نتیجه آزمون توکی جهت بررسی و مقایسه تیمارهای انتخابی (اثر جلبک ماکروسکوپی تازه بر رشد جلبک *Cochlodinium polykrikoides*) نشان داد که مابین این تیمارها از نظر میزان تراکم بدست آمده اختلاف معنی داری وجود داشته است (p‹./5). بطوریکه نتایج نشان داد که این اختلاف مابین تیمار۱(شاهد) و سایر تیمار ها بوده است ولی بین تیمارهای ۲ ، ۳ و ۴ هیچگونه اختلاف معنی داری از نظر میزان تراکم محاسبه شده وجود نداشته است.



شکل ۱۵: نتایج آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون درون گروهی توکی حاصل از تاثیر بافت تازه ۳ گونه جلبک ماکروسکوپی بر روی رشد جلبک *Cochlodinium Polykrikoides*

حروف نا مشابه نشانه معنی دار بودن است(p<./5)

٤-بحث

از نظر اکولوژیک ، سه ویژیگی مشترک برای بروز پدیده کشنده قرمز وجود دارد. نخست افزایش جمعیت،دوم، عوامل پشتیبانی کننده همچون عوامل محیطی مناسب (پارامتر های رشد) از قبیل درجه حرارت، شوری، مواد مغذی و در نهایت حفظ شکوفایی و جابجایی آن به وسیله جریانات باد و آب(Steidinger,1975). نتایج حاصل از بررسی میزان رشد جلبک *C. polykrikoides* در محیط کشت یک، در هر یک از تیمارهای انتخابی درجه حرارت ، نور و شوری های مختلف در شکل۱۱ (a,b,c) آمده است.محدوده تغییرات تراکم جلبکی بدست آمده در محیط کشت یک برابر با ۳۰۴۳۰ – ۹۰ سلول در میلی لیتر بوده که بیشترین آن متعلق به تیمار دمایی ۲۶ درجه سانتیگراد ، شوری ۳۲ppt و نور $90 \mu mol\ m^{-2}s^{-1}$ بوده است.بررسی میانگین های تراکم جلبکی بدست آمده نشان داد که در محیط کشت اول بیشترین میانگین تراکم سلول جلبکی محاسبه شده (۲۹۵۸۳ ±۴۳۳ cell/ml) متعلق به تیمار دمایی ۲۶ درجه سانتیگراد ، شوری ppt ۳۲ و نور $90 \mu mol\ m^{-2}s^{-1}$ (شکل۱۱– b) و کمترین آن (۲۵۳ ±۴۹ cell/l) مربوط به تیمار دمایی ۲۰ ، شوری ۳۰ و نور ۲۵۰۰ لوکس بوده است(شکل ۱۱a). که نشان دهنده وابستگی شدید این جلبک به مجموعه عوامل محیطی بخصوص دما و شوری آب می باشد بطوریکه Kim و همکاران (۲۰۰۴) در آزمایشات خود به این موضوع اذعان داشته و با اندکی اختلاف به اپتیمم دمایی $25^{\circ} C$ و شوری ۳۴ppt رسیده اند که این اختلاف با توجه به شرایط خاص جغرافیایی این منطقه که طول مدت روز و مدت زمان تابش آن بیشر است، امری کاملاً طبیعی بنظر می رسد و این موضوع در ملاقات حضوری با پروفسور Kim مورد تایید نامبرده نیز قرار گرفته است. نتایج آنالیز واریانس یکطرفه نیز نشان داد که در هر یک از تیمارهای مربوط به شوری و نور های انتخابی بین تیمار های دمایی از نظر میزان تراکم جلبکی اختلاف معنی داری وجود دارد($p<0/05$) (جدول۳). از طرفی نتایج آماری نشان داد که در هر یک از تیمارهای مربوط به شوری در تیمار های مختلف، بین تیمار های نوری انتخاب شده از نظر تراکم های جلبکی بدست آمده اختلاف معنی دار وجود داشته است(جدول۴). نتایج آنالیز واریانس چند متغیره نشان داد که هر

یک از تیمار های انتخاب شده (نور، درجه حرارت و شوری) و بر همکنش آنها تاثیر معنی داری ($p<0/05$) را بر روی رشد و تراکم جلبکی در طی دوره بررسی گذاشته است (جدول۴). همچنین نتایج فوق نشان داده است که مشارکت درجه حرارت از نقطه نظر معنی دار بودن، بیشتر از شوری و شوری نیز بیشتر از نور بوده است. نتایج مشابهی نیز توسط Kim و همکاران (۲۰۰۴) در مورد این گونه بدست آمده که درجه حرارت بیشترین تاثیر را بر روی رشد جلبک فوق الذکر داشته است. همچنین Xu و همکاران (۲۰۱۰) نتیجه مشابهی را بر روی گونه *Prorocentrum donghaiens* بدست آورده است.

نتایج حاصل از بررسی میزان رشد جلبک C. polykrikoides در محیط کشت ۲ در هر یک از تیمارهای دما ، نور و شوری های مختلف در شکل۱۲(a,b,c) آمده است. نتایج حاصل از این محیط کشت نیز همانند محیط کشت ۱ نشان داد که در طی دوره بررسی، محدوده تراکم جلبکی در این محیط کشت برابر با ۲۴۶۰ – ۲۷۰ سلول در میلی لیتر بوده و بیشترین مقدار مشاهده شده در تیمار دمایی ۲۶، شوری۳۲ و نور ۹۰μmol m-2s-1 (شکل۱۲b) و کمترین آن در تیمار دمایی۲۰، شوری۳۰ و نور۳۵ μmol m-2s-1 به ثبت رسید (شکل ۱۲a).بررسی میانگین ها با توجه به نمودار های بدست آمده نشان داد که بیشترین تراکم سلول جلبکی (۱۹۰۸± ۲۳۰۶۳ cell/ml) متعلق به تیمار دمایی۲۶ ، شوری ۳۲ و نور ۹۰μmol m-2s-1 بوده است. در حالیکه کمترین مقدار میانگین بدست آمده برابر با ۹۲± ۳۷۰ cell/ml که در تیمار دمایی ۲۰، شوری۳۰ و نور ۳۵ μmol m-2s-1 بدست آمد(جدول۵). در مطالعه ای که توسط Oh و همکاران در سال ۲۰۱۰ در رابطه با اثر درجه حرارت، شوری و نور بر روی داینوفلاژله C. polykrikoides صورت پذیرفت، به این نتیجه رسیدند که حداقل درجه حرارت برای زنده ماندن این گونه، ۱۵°C بوده و در شوری های پایینتر از ۲۵ و بالاتر از ppt ۳۵ قادر به رشد نمی باشند. همچنین Kim و همکاران (۲۰۰۴) با بررسی اثرات این سه فاکتور (که در طیف وسیعی صورت پذیرفت) بر روی رشد این جلبک به این نکته اشاره نموده و بیان کردن که این جلبک درجات حرارت و شوری های بالاتر (۲۵°C–۲۰ و

۳۰–۳۵ppt) را برای رشد بهتر ترجیع می دهند. نتایج آنالیز واریانس یکطرفه نشان داد که در هر یک از تیمار های شوری و نوری، مابین تیمارهای دمایی از نظر میزان تراکم جلبکی اختلاف معنی داری وجود دارد($p<0/05$) (جدول۵).از طرفی نتایج آماری نشان داد که در هر یک از تیمار های شوری، مابین تیمارهای نوری انتخاب شده از نظر تراکم های بدست آمده اختلاف معنی دار وجود داشته است($p<0/05$). نتایج آنالیز واریانس چند متغیره نیز نشان داد که هر یک از تیمار های انتخاب شده تاثیر معنی داری را بر روی رشد و تراکم جلبکی گذاشته است($p<0/05$) (جدول۶).

محدوده تغییرات تراکم جلبکی بدست آمده در محیط کشت ۳ برابر با ۲۸۲۴۰cell/ml – ۱۰۰ که بیشترین آن در تیمار دمایی ۲۶، شوری ۳۰ و نور ۹۰μmol m-2s-1 و کمترین آن در تیمار دمایی ۲۰ ،شوری ۳۵ و نور mol m-2s-1 ۳۰μ1 بوده است. نتایج حاصل از بررسی میانگین های مربوط به میزان رشد جلبک C. polykrikoides در محیط کشت ۳ در هر یک از تیمار ها ی انتخابی درجه حرارت ، نور و شوری های مختلف درشکل ۱۵ (a,b,c) آمده است. با توجه به نمودارهای بدست آمده ، بیشترین تراکم سلول جلبکی(۸۱۶ cell/ml± ۲۷۷۷۷) متعلق به شوری ۳۰ppt، درجه حرارت ۲۶ و نور ۹۰μmol m-2s-1 بوده، در صورتیکه کمترین میانگین (۲۷ cell/ml± ۱۵۰) محاسبه شده متعلق به تیمار دمایی۲۰، شوری ۳۰ و نور ۳۵ μmol m-2s-1 بوده است. بدست آمدن بیشترین تراکم در این محیط کشت در شوری ppt ۳۰ با توجه به اختلاف این محیط کشت با محیط کشت ۱و۲ از نظر نوع و مقادیر مواد تشکیل دهنده شاید امری طبیعی بنظر برسد کما اینکه این گونه از نقطه نظر اکولوژیکی می تواند در آبهای مناطق سردسیری و گرمسیری و در یک محدوده حرارتی و شوری بتر تیب ، ۳۰–۱۱ °C و ppt ۳۴ –۳۰ پراکنش جهانی داشته و رشد و گسترش یابد(Kudela et al.,2008). از سوی دیگر در مطالعه ای که توسط Yamaguchi و همکاران (۱۹۹۱) بر روی گونه Chattonella antiqa صورت پذیرفت، اپتیمم درجه حرارت و شوری به ترتیب

°C ۲۵ و ppt ۲۵ و برای گونه Ch. Antique ، ۲۵°C و ppt ۲۰ و برای گونه Ch.verruculosa که توسط Yamaguchi و همکاران (۱۹۹۷) بیان گردید، °C ۱۵ و ppt ۲۵ تعیین شد.

نتایج آنالیز واریانس یکطرفه (آزمون توکی) نشان داد که در هر یک از تیمار های مربوط به شوری و نورها ی انتخابی مابین تراکم جلبکی بدست آمده اختلاف معنی داری وجود دارد (جدول ۷ و۸).

نتایج مربوط آنالیز واریانس دو طرفه حاکی از معنی دار بودن اثرات متقابل و همزمان هر یک از تیمارهای مورد نظربر تغییرات تراکم جلبکی بوده است.بطویکه نتایج حاصله نشان داد که بهترین تیماراز نظر میزان رشد جلبکی مربوط به دمای ۳۲ درجه سانتیگراد ، شوری ppt ۳۲ و نور μmol m-2s-1 ۹۰ بوده است(جدول۷ و ۸).

بطور کلی علاوه بر شرایط محیطی (دما، نور، شوری) که می تواند در به تراکم رسیدن سلول ها و افزایش رشد جلبک C. polykrikoides موثر باشد، نمی توان به راحتی از نقش مواد تشکیل دهنده محیط کشت چشم پوشی نمود. Lee و Lee (۲۰۰۶) در مطالعه ای که بر روی بررسی فاکتور های موثر بر پیدایش شکوفایی دینوفلاژله C. polykrikoides انجام داد، اظهار نمودند که به نظر می رسد ترکیبات مواد مغذی در محیط کشت F2 همچون biotin ، B12 ، Mo ، Zn ، Cu ، Co ، Mn ، Fe، P ، N و تیامین هیچگونه دخالتی در شروع شکوفایی این جلبک نداشته و این محیط کشت نمی تواند محیطی مناسب برای کشت این جلبک باشد بنظر می رسد که این مطلب، با توجه به نتایج بدست آمده از ۳ نوع محیط کشت آزمایش شده در این مطالعه بخصوص محیط کشت ۱و۲ که از تغییر محیط کشت F2 حاصل شده است و تمامی عناصر یاد شده را نیز در ترکیب خود دارا می باشد، نمی تواند چندان به واقعیت نزدیک باشد. از سوی دیگر Lee (۲۰۰۶) بیان نمود که یکی از ویژه گی های متمایز گونه C. polykrikoides این است که در آبهای آزاد، جایی که آب کاملاً تمیز ودارای کمترین آلودگی باشد ، وجود داشته و تکامل می یابند. این نکته نیز درست بنظر نمی رسد زیرا همانطوریکه می دانیم خلیج فارس بخصوص نیمه شمالی آن بدلیل تردد کشتی های نفتکش و تجاری و فعالیت های ناشی از صنایع نفت و گاز و پتروشیمی

ودفع فاضلاب شهری و خانگی، یکی از مکان های بسیار آلوده از نظر فلزات سنگین و نیترات و فسفات بوده و با توجه به اینکه یکی از شاخص های اصلی آلودگی آبها، افزایش بیش از حد فلزات سنگین و نیترات و فسفات می باشد و از طرفی با توجه به شکوفایی عظیم C. polykrikoides رخ داده در خلج فارس و همچنین نتایج بدست آمده از آزمایش محیط کشت های مختلف حاوی مواد فوق الذکر، در این بررسی و همچنین نتایج بدست آمده توسط Lee و همکاران (۲۰۰۲) که بیان نمودند شکوفایی دایونوفلاژله های Heterosigma akashiwo و Prorocentrum Spp. عمدتاً در آبهای آلوده صورت می گیرد، همگی گواه این مطلب بوده و میتواند قابل تعمق باشد. از طرف دیگر C. polykrikoides یک گونه میکسو تروف بوده و علاوه بر استفاده از نوترینت های موجود در آب، گونه های فیتوپلانکتونی با اندازه کمتر از ۱۱ میکرون از جمله Isochrysis galbana ، Rhodomonas salina ، Heterosigma akashiwo و حتی Amphidinium carterae را مورد تغذیه قرار داده و میزان تغذیه از این گونه ها نیز به میزان نور و یا نوترینت های قابل دسترس در آب بستگی دارد(Jeong et al.,2004; Stoecker,1999; Skovaard,2000).

نتایج حاصل ازبررسی و مقایسه نرخ رشد ویژه جلبک C. polykrikoides مابین سه محیط کشت در هر یک از تیمار های مربوط به شوری ، دما و نور در جداول ۱۸-۹ و شکل های آمده است. نتاج نشان داد که محدوده تغییرات نرخ رشد ویژه در طی دوره مورد مطالعه ۰/۵۲ – ۰/۲۳ و میانگین نرخ رشد ویژه برابر با ۰/۱ ± ۰/۴۱ بوده است.نتایج بررسی میانگین ها نشان داد که در هر یک از تیمارهای شوری ۳۰، ۳۲ و ۳۵ میانگین نرخ رشد ویژه بترتیب برابر با ۰/۰۶ ± ۰/۴۲ ، ۰/۰۶ ± ۰/۴۲ و ۰/۰۶ ± ۰/۳۹ بوده است. نتایج آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون درون گروهی توکی نشان داد که در محیط کشت ۱ مابین تیمار های مختلف شوری اختلاف معنی داری از نظر میزان نرخ رشد ویژه وجود ندارد. در صورتی که در محیط کشت های ۲ و ۳ مابین شوری های مختلف این اختلاف از نظر میزان رشد ویژه مشاهده می گردد(وجود اختلاف معنی دار در محیط کشت ۲ مابین تیمار

های شوری ۳۲ و ۳۵ و در محیط کشت ۳ مابین تیمار های ۳۰ و ۳۵). همچنین نتایج آزمون توکی نشان داد که که درهر یک از تیمار های شوری ۳۰، ۳۵ تفاوت معنی داری مابین سه نوع محیط کشت از نظر میزان نرخ رشد ویژه وجود نداشته در صورتی که در شوری ۳۲ مابین محیط کشت ۳ با محیط کشت های ۱ و ۲ این تفاوت از نظر میزان نرخ رشد معنی دار بوده است($p<0/05$). مابین محیط کشت ۱ و۲ نیز تفات معنی داری از نظر میزان نرخ رشد مشاهده نگردید (جداول ۹ و۱۰). نتایج آنالیز واریانس دو طرفه(اثرات نوع محیط کشت و تیمار های مختلف شوری) حاکی از عدم معنی دار بودن اثر متقابل دو تیمارنامبرده بر همدیگر بوده است..با توجه به بررسی نمودار اثرات متقابل دو تیمار شوری و محیط کشت می توان در یافت که بیشترین نرخ رشد ویژه(۰/52 day-1) در شوری ۳۲ متعلق به محیط کشت ۱ بوده است. در مطالعه ای که توسط Matsubara و همکاران در سال ۲۰۰۷ بر روی داینوفلاژله ی Akashiwo sanguine صورت پذیرفت، بیشینه رشد ویژه این جلبک(۱/۱۳ day-1) را در شوری ppt ۲۰ بدست آوردنده اند همچنین در مطالعه ای دیگر که توسط Oh و همکاران (۲۰۱۰) بر روی C. polykrikoides انجام پذیرفت، بیشینه رشد ویژه (۰/۳۵ day-1) را در شوری ppt۳۰ و Kim و همکاران (۲۰۰۴) مقدار آن را ۰/۴۱day-1 و در شوری ppt ۳۴ بدست آوردند. نتایج مطالعات آماری حاصل از تست توکی نشان می دهد که در شوری ۳۲ مابین سه نوع محیط کشت اختلاف معنی داری وجود دارد . بطوری نتایج نشان داد که در این شوری (ppt ۳۲) میزان نرخ رشد مابین محیط کشت ۱ و ۲ معنی دار نبوده در صورتی که هر یک از این دو محیط کشت با محیط کشت سوم تفاوت معنی داری را از خود نشان داده اند ، که علت آن کاهش قابل توجه میزان نرخ رشد در محیط کشت ۳ بوده است (جدول۱۱).

بررسی و مقایسه میانگین های مربوط به تغییرات نرخ رشد ویژه نشان داد که در هر یک از تیمار های دمایی(بجز دمای ۲۰درجه) هیچ اختلاف معنی داری مابین محیط کشت ها از نظر میزان نرخ رشد وجود ندارد در صورتی که نتایج مربوط به آزمون توکی نشان می دهد که در هر یک از تیمار های دمایی مابین سه نوع محیط کشت

انتخابی از نظر میزان نرخ رشد بدست آمده اختلاف معنی داری وجود داشته است.(جداول ۱۱ ،۱۲). نتایج آنالیز واریانس دو طرفه(نوع محیط کشت و تیمار های مختلف دمایی) حاکی از معنی دار بودن اثرات متقابل دو تیمارنامبرده بر همدیگر درمیزان نرخ رشد جلبک بوده است.بطوریکه نتایج نشان داد که بیشترین میزان نرخ رشد محاسبه شده مربوط به محیط کشت ۱ در دمای ۲۶ درجه بدست آمده است(1-day 2./. ±۴۷/.) اما نتایج آماری نشان می دهد که در این تیمار دمایی مابین میزان نرخ رشد در ۳ نوع محیط کشت اختلاف معنی داری مشاهده نگردیده است.(جدول۱۳).kim وهمکاران(۲۰۰۴) بیشینه رشد ویژه جلبک C. polykrikoides را (1-day۴۱/.) را در درجه حرارت $^{\circ}C$ ۲۵ بدست آوردند که اندکی کمتر از مقدار بدست آمده در این مطالعه بوده است. همچنین oh و همکاران (۲۰۰۷) بیشیه رشد ویژه (1-day۰/۳۵) را برای گونه فوق در دمای $^{\circ}C$ ۲۰ وMatsubara و همکاران در سال ۲۰۰۷ برای داینوفلاژله ی Akashiwo sanguine (1-day ۱/۱۳) را در دمای $^{\circ}C$ ۲۵ بدست آورده اند . در رابطه با مطالعه اثرات نور نتایج آماری نشان می دهد که در هر یک از محیط کشت ها مابین تیمار های نوری از نظر میزان نرخ رشد بدست آمده اختلاف معنی داری وجود دارد در صورتی که این اختلاف در هریک از تیمار های نوری مابین محیط های مختلف مورد مطالعه مشاهده نمی گردد(جداول ۱۴ و۱۵). نتایج آنالیز واریانس دو طرفه حاکی اثرات متقابل دو نوع تیمار(محیط و نور) بر تغییرات نرخ رشد در طی دوره بررسی بوده است(جدول ۱۶).بررسی نتایج حاصل از اثرات متقابل دو نوع تیمار نشان می دهد که بیشترین میزان نرخ رشد بدست آمده متعلق به تیمار نوری ۹۰ در محیط کشت یک با میانگین نرخ رشد ویژه ۰/۰۵ ± ۰/۴۴ بوده است.اما باید توجه داشت که در این تیمار نوری مابین محیط کشت های مختلف از نظر میزان نرخ رشد بدست آمده تفاوت معنی داری مشاهده نگردیده است. بطور کلی با بررسی نتایج انالیز واریانس چند متغیره (جدول۱۸) جهت مطالع اثرات ۴ نوع تیمار مورد مطالعه یعنی دما ، نور ، شوری و نوع محیط کشت بر روی میزان نرخ رشد ویژه جلبک می توان دریافت که در این مطالعه بیشترین نرخ رشد بدست آمده

متعلق به محیط کشت۱ ، شوری ۳۲ ، دمای ۲۶ و نور ۹۰ بوده که این نتایج با نتایج بدست آمده توسط kim و همکاران(۲۰۰۴) که حداکثر رشد ویژه را در دمای ۲۵ °C و شوری ۳۴ و نور ۹۰μmol m-2s-1 بدست آورد که اندکی کمتر از مقدار بدست آمده در این مطالعه بوده است. Xu و همکاران (۲۰۱۰) بیشینه رشد ویژه را برای گونه Prorocentrum donghaiens که از داینوفلاژله ها می باشد، در درجه حرارت ۲۷ °C ، ۰/۷۷ day-1 بد ست آوردند که تفاوت زیادی را با نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان می دهد. همچنین Yamaguchi و همکاران (۱۹۹۷) مقدار رشد ویژه را برای داینوفلاژله Heterocapsa circularisquama در دمای ۳۰ °C ، ۱/۳ day-1 و Yamamoto و همکاران (۲۰۰۲) برای گونه Gymnodinium catenatum در دمای ۲۵ °C و شوری ۳۰ ppt ، day-۰/۴۱۱ بدست آورده اند. در مطالعه دیگر Matsubara و همکاران (۲۰۰۷) بیشینه مقدار رشد ویژه را در درجه حرارت ۲۵ °C ، شوری ۲۰ ppt و تحت شرایط شدت نور اشباع ۱۱۴μmol m-2s-1 و همچنین oh و همکاران (۲۰۱۰) بیشیه این مقدار را در دمای ۲۰ °C ، شوری ۳۰ ppt و تحت شرایط شدت نور ۱۱۴ μmol m-2s-1 < بدست آوردند. درجه حرارت می تواند تعیین کننده ویژه‌گی اکوتیپ های مختلف باشد(1998, and fraga Hallegraeff) از اینرو به عنوان مثال ، بیشینه درجه حرارت ثبت شده برای گونه Gymnodinium catenatum در سواحل colina ۲۵ °C -۲۳ (Morales –Blake, 2ooo) و برای همین گونه در خلیج کالیفر نیای مکزیک °C ۲۹ – ۲۱ گزارش شده است(Band-Schmidt et al .,2004). در حالیکه کمترین آن متعلق به محیط کشت ۳ ، شوری ۳۵ ppt ، دمای ۲۰ °C ونور ۳۵ μmol m-2s-1 بوده است.

نتایج آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون درون گروهی توکی حاصل از تاثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بر روی رشد جلبک Cochlodinium Polykrikoides نشان داد که مابین تیمار های مورد بررسی از نظر تراکم، اختلاف معنی داری وجود داشته است($p<0.05$). بطوریکه از نتایج آزمون توکی می توان دریافت که مابین تیمار های ۱ ، ۲ ، ۴ و ۷ اختلاف معنی داری مشاهده نشده است در صورتی که هر یک از تیمار های فوق الذکر خود

با تیمارهای ۳ ، ۵ ، ۶ از نظر میزان تراکم محاسبه شده تفاوت معنی داری را از خود نشان داده اند. در مطالعه ای که اثر ضد جلبکی فلورانتین استخراج شده از جلبک قهوه ای Ecklonia kurome بر روی شکوفایی حاصل از سه گونه جلبک دایونوفلاژله Chattonella antiqua و Cochlodinium polykrikoides و Karenia mikimotoi نشان داده است که طی مدت ۲۴ ساعت بعد از اضافه نمودن این ماده به محیط کشت، بیش از ۹۹ درصد آنها از بین رفته اند. از طرفی اثر این ماده را بر روی سه گونه آبزی دیگر مطالعه نموده ولی هیچگونه مرگ و میری مشاهده نگردید(Nagayama et al.,2003).

نتیجه آزمون توکی جهت بررسی و مقایسه تیمارهای انتخابی (اثر جلبک ماکروسکوپی تازه بر رشد جلبک Cochlodinium polykrikoides) نشان داد که مابین این تیمارها از نظر میزان تراکم بدست آمده اختلاف معنی داری وجود داشته است ($p<0.05$). بطوریکه نتایج نشان داد که این اختلاف مابین تیمار ۱ (شاهد) و سایر تیمار ها بوده است ولی بین تیمارهای ۲ ، ۳ و ۴ هیچگونه اختلاف معنی داری از نظر میزان تراکم محاسبه شده وجود نداشته است. Chunrong و همکاران در سال ۲۰۰۸ در مطالعه ای که بر روی شکوفایی دایونوفلاژله Alexandrium tamarense انجام داده اند، اثر جلبک تازه و عصاره جلبک ماکروسکوپی Ulva lactuca را بر روی رشد دایونوفلاژله مورد نظر مورد بررسی قرار دادند و بیان نمودند که عصاره این جلبک اثر آللوپاتی منفی بر رشد این جلبک داشته است.

۵- نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پروژه نشان داده است که:

۱ - با توجه به حساس بودن جلبک Cochlodinium polykrikoides و نازک و ظریف بودن پوسته آن که در اثر تغییر شرایط محیطی سریعاً ترکیده و بصورت لخته در می آید بنابر این بهترین راه خالص سازی آن از طریق استفاده از نور می باشد.

۱ – با توجه به اینکه ایران در منطقه ای از کره زمین قرار دارد که طول مدت روشنایی روز بیشتر از مناطق آسیای جنوب شرقی و ... می باشد لذا گونه هایی را که از آبهای این منطقه جدا می شوند جهت پرورش نیز بر خلاف نتایج سایر محققان در مناطق مختلف جهان که مدت زمان روشنایی مورد نیاز را ۱۲:۱۲ ساعت (روشنایی – تاریکی) بیان نمودند، به روشنایی بیشتری نیاز داشته و بر اساس نتایج این تحقیق مدت زمان ۱۳ الی ۱۴ ساعت روشنایی نتایج بهتری را از نظر تراکم و مدت زمان به تراکم رسیدن داده است.

۳ – با توجه به تراکم های نوری بررسی شده در این تحقیق، بهترین تراکم نوری برای رشد مناسب این جلبک برابر با ۹۰μmol m-2s-1 (۶۵۰۰ لوکس) بوده که توسط لامپ مهتابی سفید تامین شده است.

۴- بر اساس نتایج بدست آمده ، بهترین درجه حرارت برای رشد و به تراکم رسیدن این جلبک، ۲۶-۲۵ درجه سانتی گراد می باشد.

۵- از میان سه شوری بررسی شده در این آزمایش که شامل شوری های ۳۰ ، ۳۲ و ppt ۳۵ بوده است با توجه به به شرایط و خصوصیات آبهای این منطقه و همچنین نوع و ترکیب مواد متشکله محیط کشت استفاده شده در این تحقیق بر خلاف شوری های اعلام شده در رفرنس های خارجی، شوری ppt ۳۲ برای کشت و پرورش این جلبک مناسبتر تشخیص داده شد.

پیشنهادها

با توجه به اینکه در طی دهه های گذشته شکوفایی پلانکتونی مضر بخصوص گونه های مختلف داینوفلاژله ها که در پی تغییرات مختلف در شرایط آب و هوایی کره زمین و همچنین شرایط زیست محیطی اکوسیستم های آبی سراسر جهان و در چند سال اخیر در خلیج فارس بوجود آمده و باعث خسارات جبران ناپذیر اقتصادی – اجتماعی و زیست محیطی فراوانی نیز گردیده است لذا پیشنهاد می گردد:

تعداد بیشتری از گونه های داینوفلاژله از جمله *Noctiluca* sp. ، *Gymnodinium* sp. و ....که شکوفایی‌شان در طی دو سه سال گذشته در خلیج فارس به کرات مشاهده شده و باعث بروز صدمات اقتصادی-اجتماعی و زیست محیطی نیز شده است، از آب دریا جدا و خالص سازی شده و با تعیین شرایط اپتیمم رشد با توجه به شرایط منطقه ای خودمان اقدام به نگهداری آنها در قالب بانک پلانکتونی از گونه های داینوفلاژله بومی نموده تا در زمان مقتضی با انجام پروژه های مناسب در جهت یافتن راهکارهایی برای مقابله با پدیده بلوم ناشی از داینوفلاژله ها در مواقع اضطراری و قبل از بروز هرگونه عوارض اقتصادی- اجتماعی، اقدام نمود.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکترمحمد صدیق مرتضوی، ریاست محترم و همچنین مهندس رضا دهقانی معاونت محترم پژوهشی، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان بخاطر حمایت های همه جانبه شان در جهت اجرای پروژه صمیمانه تشکر می نمایم. از مشاوران پروژه آقایان دکتر کیومرث روحانی قادیکلایی و دکتر عباس متین فر که در اجرای این پروژه از ابتدا تا انتها یار و یاور اینجانب بوده اند، کمال تشکر را دارم. از ریاست محترم موسسه تحقیقات شیلات ایران جناب آقای دکتر عباسعلی مطلبی و همچنین معاونت محترم تحقیقاتی موسسه جناب آقای دکتر مصطفی شریف روحانی و همچنین دکتر نگارستان رییس بخش اکولوژی که در زمان بحران کشند قرمز خلیج فارس، در اجرای این طرح تحقیقاتی از هیچ گونه حمایت مادی و معنوی دریغ ننمودند، تشکر و قدر دانی می نمایم . از همکاران محترم پروژه و بخش آبزی پروری، سرکار خانم مهندس مریم معزی و همچنین سرکار خانم مهندس فاطمه بناورویی که در اجرای پروژه از ابتدا تا انتها نقش ویژه و موثری را داشته اند، کمال تشکر را دارم. از رییس محترم بخش آبزی پروری پژوهشکده جناب آقای مهندس حجت اله فروغی فرد به جهت هماهنگی و همکاری و همچنین مهندس مسعود غریب نیا به جهت همکاری در جهت اجرای پروژه صمیمانه تشکر می نمایم. از همکاران بخش اکولوژی، آقایان مهندس کاظم خدادادی جوکار و مهندس غلامعلی اکبر زاده و همچنین سرکار خانم مهندس فرشته سراجی که در انتقال نمونه از دریا به آزمایشگاه همکاری لازم را داشته اند، کمال تشکر را می نمایم. از کارگران زحمتکش بخش آقایان محمود واحدی و محسن ذاکری که در همه حال یار و یاور ما بوده و می باشند کمال تشکر را دارم.

از همکاران محترم مالی آقایان غلام محسنی و سعید محمدی، قاسم حبیب اله زاده و سرکار خانم روشن و همچنین همکاران طرح و برنامه آقای محمد علی کریمی و سرکار خانم فخریه راهگل وهمچنین همه عزیزان همکار اداری که به نوعی در اجرای این پروژه دخیل بوده ولی نام شان درج نشده است، ضمن طلب پوزش، از

همگی آنها تشکر می نمایم. در پایان از درگاه خداوند متعال برای همه این عزیزان آرزوی سلامتی و سربلندی و موفقیت در همه امورات زندگی می نمایم.

منابع

روحانی قادیکلایی،ک.، ۱۳۷۷. مطالعه کمی (کلروفیل a)، کیفی(ترکیب گونه ای) و نوسانات فصلی فیتوپلانکتون های آب های ساحلی جزیره لاوان . پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی تهران واحد شمال. کتابخانه پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان.

- Band-Schmidt C.J.; Morquech L.; Lechuga-Deveze C.H. and Anderson D.M. 2004. Effect of growth medium, temperature,salinity and seawater source on the growth Gymnodinium Catenatum (Dinophyceae) from Bahia concepcion, Gulf of California, Mexico.J.plankton research.26,1459-1470.
- Chang M. and Kim W.S. 1997. Prologue and epilogue to the first international symposium on plankton blooms. Ocean Res., 19, 135–137.
  Cho E.S.; Kim C.S.; Lee S.G. and Chung Y.K. 1999. Binding of alcian blue applied to harmful Microalgae from Korean coastal waters. Bull Natl Fish Res Dev Inst 55:133–138.
- Droop M.R. 1967. A procedure for routine purtification of algal cultures with antibiotics. Brit phycol Bul 3: l295-297.
- Du Q.; Huang Y. and Wang X. 1993. Toxic dinoflagellate red tide by a Cochlodinium sp. along the coast of Fujian, China. In Smayda, T. J. and Shimizu, Y. (eds), Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea. Elsevier, New York, pp. 235–238.
- Guillard R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In Smith, W. L. and Chanley, M. H. (eds), Cultures of Marine Invertebrate Animals. Plenum Press, New York, pp. 29–60.
- Garate-Liza´rraga L.; Bustillos-Guzma´n; J.J.; Morquecho L. and Lechuga-De´veze C. 2000. First outbreak of *Cochlodinium polykrikoides* in the Gulf of California. Harmful Algae News, Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, 21, 7 pp.
- Gobler C.J.; Berry D.L.; Anderson O.R.; Burson A.; Koch F.; Rodgers B.S.; Moore L.K.; Goleski J.A.;Allam B Bowser P.; Tang Y.Z. and Nuzzi R. 2008. Characterization,dynamics, and ecological impacts of harmful *Cochlodinium polykrikoides* blooms on eastern Long Island, NY, USA. *Harmful Algae,* 7: 293–307.
- Hallegraeff G. M. and Fraga S. 1998. Bloom dynamics of the toxic dinoflagellate Gymnodinium catenatum, with emphasis on Tasmanian and Spanish coastal waters. In Anderson, D. M., Cembella, A. D. and Hallegraeff, G. M. (ed.), Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms. Vol.41,pp 59–80.
- Imai I.; Ishida Y. and Hata Y. 1993. Killing of marine phytoplankton by a gliding bacterium Cytophaga sp., isolated from the coastal sea of Japan. *Mar Biol*, 116:527–532.
- Imai I.; Ishida Y.; Sakaguchi K. and Hata Y. 1995. Algicidal marine bacteria isolated from northern Hiroshima Bay, Japan. *Fish Sci.*, 61:628–636.
- Jeong H.J.; Yoo Y.D.; Kim J.S.; Kim T.H.; Kim J.H.; Kang N.S. and Yih W. 2004. Mixotrophy in the Phototrophic Harmful Alga *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophycean): Prey Species, the Effects of Prey Concentration, and Grazing Impact. *J. Eukaryot Microbiol,* 51: 563–569.
- Kumada, K., Takeda, K. and Aramaki, T. (1980) III. Yatsushiro Kaiiki, Yatsushiro Kai-2. In Fisheries Agency, Fukuokaken Suisan Shikenjyou, Sagaken Suisan Shikenjyou, Nagasaki Suisan Shikenjyou, Kumamoto Suisan Shikenjyou and Kagoshima Suisan Shikenjyou (eds), Kyushu Seiganiki Akashiwo Yosatsu Chosa Houkokusho, pp. 125–136.
- Kim H.G. 1997. Recent harmful algal blooms and mitigation strategies in Korea. *Ocean Res.,* 19, 185–192.
- Kim H.G. 1998. Harmful algal blooms in Korean coastal waters focused on three fish-killing dinoflagellates. In Kim, H. G., Lee, S. G. and Lee, C. K. (eds), Harmful Algal Blooms in Korea and China. National Fisheries Research and Development Institute, Pusan, Republic of Korea, pp. 1–20.

- Kim M.C.; Yoshinaga I. Imai I.; Nagasaki K. Itakura S. and Ishida Y. 1998. A close relationship between algicidal bacteria and termination of Heterosigma akashiwo (Raphidophyceae) bloom in Hiroshima Bay, Japan. *Mar Ecol Prog Ser,* 170:25–32.
- Kim C.H.; Cho H.J.; Shin J.B.; Moon C.H. and Matsuoka K. 2002. Regeneration from hyaline cysts of *Cochlodinium polykrikoides* (Gymnodiniales, Dinophyceae), a red tide organism along the Korean coast. *Phycologia*, 41, 667–669.
- Kim D.I.; Matsuyama Y.; Nagasoe S.; Yamaguchi M.; Yoon Y.H.; Oshima Y.; Imada N. and Honjo T. 2004. Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the harmful red tide dinoflagellate Cochlodinium polykrikoides Margalef (Dinophyceae). *J.plankton.Res*, 26: 61-66.
- Kim C.J.; Kim H.G.; Kim C.H. and Oh H.M. 2007. Life cycle of the ichthyotoxic dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* in Korean coastal waters. *Harmful Algae,* 6:104–111
- Kudela R.M.; Ryan J.P.; Blakely M.D.; Lane J.Q. and Peterson T.D. 2008. Linking the hysiology and ecology of *Cochlodinium* to better understand harmful algal bloom events: A comparative approach, *Harmful Algae*, 7: 278–292.
- Lovejoy C.; Bowman J.P. and Hallegraeff G.M. 1998. Algicidal effects of a novel marine Pseudoalteromonas isolate (class Proteobacteria, gamma subdivision) on harmful algal bloom species of the genera *Chattonella, Gymnodinium*, and Heterosigma. *Appl Environ Microbiol* , 64:2806–2813.
- Lee S.G.; Kim H.G.; Bae H.M.; Kang Y.S.; Jeong C.S.; Lee C.K.; Kim S.Y.; Kim C.S.; Lim W. A. and Cho U.S. 2002. Handbook of Harmful Marine Algal Blooms in Korean Waters. *Nat. Fish. Res. Devel. Inst., Republic of Korea*, p. 172.
- Lee Y.S. and Lee S.Y. 2006. Factors affecting outbreaks of *Cochlodinium polykrikoides* blooms in coastal areas of Korea. *Marine Pollution Bulletin,* 52: 626–634.
- Margalef R. 1961. Hidrografı´a y fitoplancton de un a´rea marina de lacosta meridional de Puerto Rico. Invest. *Pesq. Tomo*, 18: 33–96.
- Morales-Blake A.; Herna´ndez-Becerril D. and Cavazos-Guerra C. 2000. Registros de mareas rojas en las bahı´as de Manzanillo, Colima,Me´xico. In Rı´os-Jara, E., Jua´rez-Carillo, E., Pe´rez-Pen˜a,M., Lo´pez-Uriarte, E., Robles-Jarero, E. G., Herna´ndez-Becerril, D. U. and Silva-Briano, M. (eds), Estudios sobre el plancton en Me´xico y el Caribe. Sociedad *Mexicana de Planctologıay Universidad de Guadalajara, Guadalajara*, pp. 81–82.
- Matsubara T.; Nagasoe S.; Yamasaki Y.; Shikata T.; Shimasaki Y.; Oshima Y. and Honjo T. 2007. Effects of temperature, salinity, and irradiance on the growth of thedinoflagellate *Akashiwo sanguinea*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 342: 226–230.
- Nagasoe S.; Kim D.; Shimasaki Y.; Oshima Y.; Yamaguchi M. and Honjo T. 2006. Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the red tidedinoflagellate *Gyrodinium instriatum* Freudenthal et Lee. *Harmful Algae,* 5: 20–25.
- Oh S.J.; Kim C.H.; Kwon H.K. and Yang H.S. 2010. Effects of water temperature, salinity, and irradiance on the growth of harmful dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides. Korean Journal of Fisheries and Aquatic Science,* 43:715-722.
- Rosales-Loessener F.; Matsuoka K.; Fukuyo Y. and Sanchez E. H. 1996. Cysts of harmful dinoflagellates found from Pacific coastal waters of Guatemala. In Yasumoto, T., Oshima, Y. and Fukuyo, Y. (eds), Harmful and Toxic Algal Blooms. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Sendai, pp. 193–195.

Rohani-ghadikolaei K.; Abdulalian E.; Aghajari N.; Aftabsavar Y. and Ng W.K. 2011. The effect of seaweed extracts, as a supplement or alternative culture medium, on the growth rate and biochemical composition of the microalga, *Isochrysis galbana. Aquaculture Research*. DOI:10.1111/j. 1365-2109.2011.02951.x.

Steidinger K.A. 1975. Basic factors influencing red tides. In LoCicero, V. R. (ed.), Proceedings of the First International Conference on Toxic Dinoflagellates. Massachusetts Science and Technology Foundation, Massachusetts, pp. 153–162.

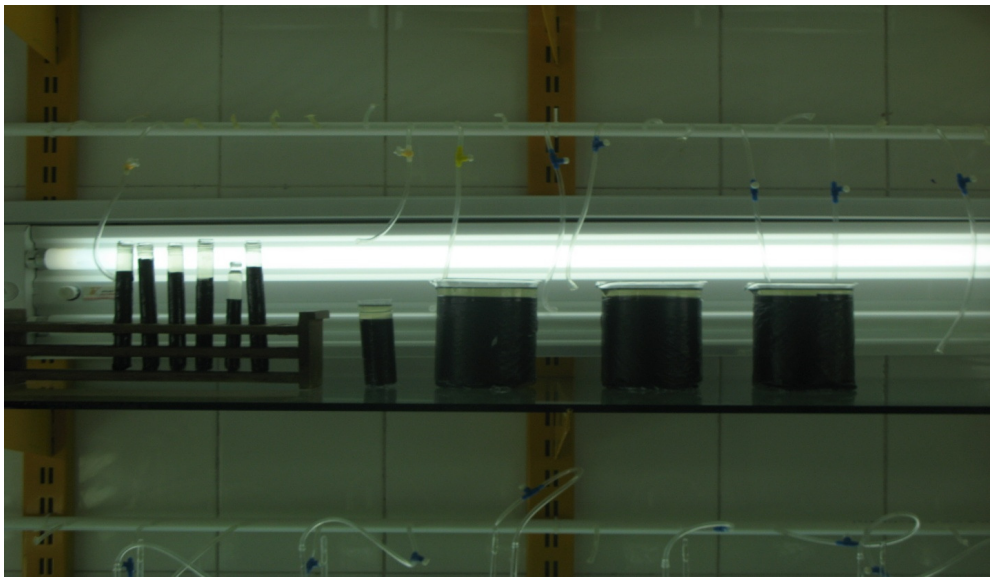
- Stoecker D.K. 1999. Mixotrophy among dinoflagellates. *J. Eukaryot. Microbiol.,* 46:397–401.
- Skovgaard A. 2000. A phagotrophically derivable growth factor in the plastidic dinoflagellate *Gyrodinium resplendens* (Dinophyceae). *J. Phycol.,* 36:1069–1078.
- Sunda W.G.; Graneli E. and Gobler C.J. 2006. Positive feedback and the developmentand persistence of ecosystem disruptive algal blooms. *J. Phycol.* 42, 963–974.
- Xu N.; Duan S.; Li A.; Zhang C.; Cai Z.; Cai Z. and Hu Z. 2010. Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the harmful dinoflagellate Prorocentrum donghaiense Lu. *J. harmful algae,* 9: 13-17.

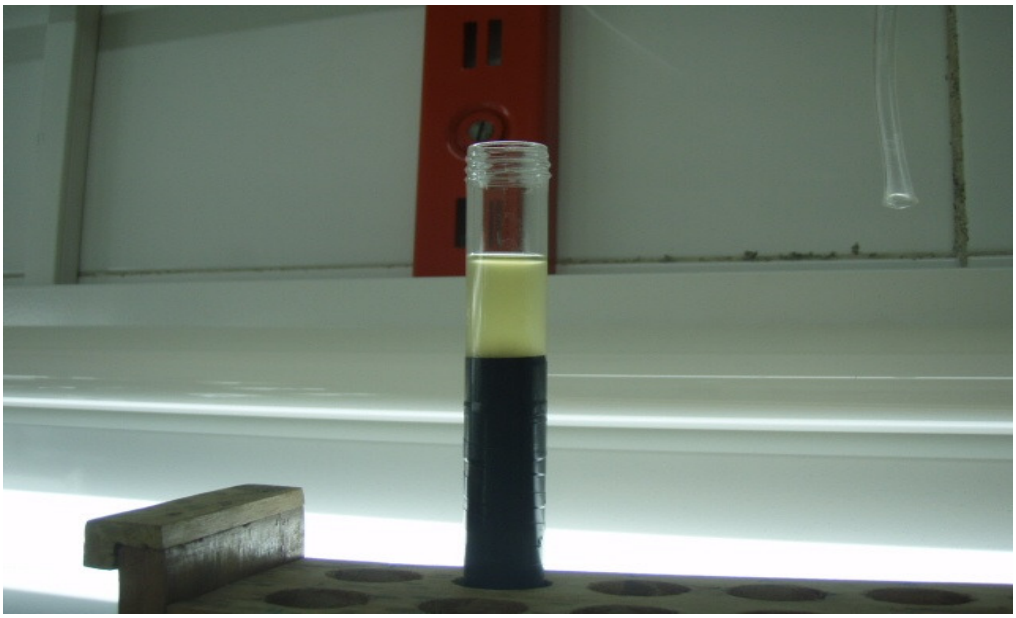
Yamaguchi M. and Honjo T. 1989. Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the noxious red tide flagellate *Gymnodinium nagasakiense* (Dinophyceae). Nippon Suisan Gakkaishi, 55: 2029–2036.

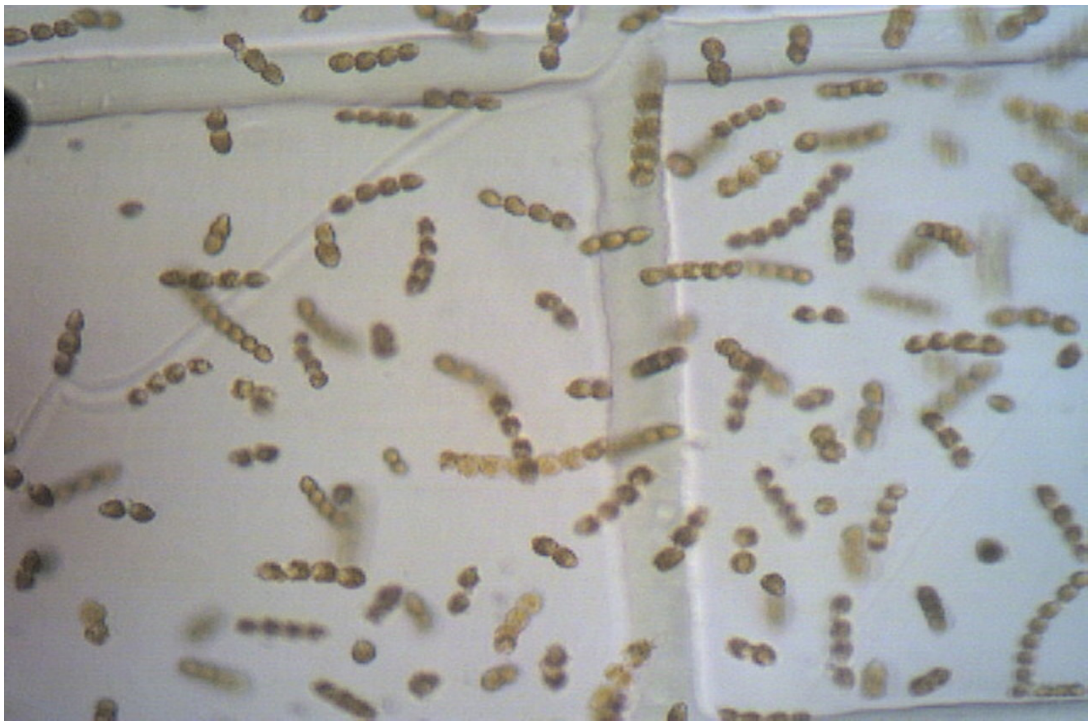
- Yamaguchi M.; Imai I. and Honjo T. 1991. Effect of temperature, salinity and irradiance on the growth of the noxious red tide flagellate *Chattonella antiqua* and C. marina (Rhaphidophyceae). Nippon Suisan Gakkaishi, 57: 1277–1284.
- Yamaguchi M.; Itakura S.; Nagasaki K.; Matsuyama Y.; Uchida T.and Imai I. 1997. Effect of temperature and salinity on the growthof the red tide flagellates *Heterocapsa circularisquama* (Dinophyceae) and *Chattonella verruculosa* (Rhaphidophyceae). *J. Plankton Res.,* 19:1167–1174.
- Yamamoto T.; Oh S. and Kataoka Y. 2002. Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) isolated from Hiroshima Bay Japan. *Fisheries Science*, 68: 356-363.
- Yuki K. and Yoshimatsu S. 1989**.** Two fish-killing species of *Cochlodinium* from Harima Nada, Seto Inland Sea, Japan. In Okaichi, T., Anderson, D. M. and Nemoto, T. (eds), Red Tides: Biology, Environmental Science, and Toxicology. pp. 451–454.

پیوست

پیوست ۱: ظروف تیره شده جهت خالص سازی جلبک *Choclodinium polykrikoides*







سلول های Choclodinium polykrikoides حاصل از خالص سازی و کشت در محیط آزمایشگاه

پیوست ۲ : ترکیب و آماده سازی محیط کشت گیلارد با اندکی تغییر بر گرفته از(Smith et al., 1993)

Component	Stock Solution	Quantity	Molar Concentration in Final Medium
$NaNO_3$	75 g L^{-1} dH_2O	1 mL	8.82×10^{-4} M
NaH_2PO_4 H_2O	5 g L^{-1} dH_2O	1 mL	3.62×10^{-5} M
Na_2SiO_3 $9H_2O$	30 g L^{-1} dH_2O	1 mL	1.06×10^{-4} M
trace metal solution	(see recipe below)	1 mL	---
vitamin solution	(see recipe below)	0.5 mL	---

Trace metal solution

Component	Primary Stock Solution	Quantity	Molar Concentration in Final Medium
$FeCl_3$ $6H_2O$	---	3.15 g	1.17×10^{-5} M
Na_2EDTA $2H_2O$	---	4.36 g	1.17×10^{-5} M
$CuSO_4$ $5H_2O$	9.8 g L^{-1} dH_2O	1 mL	3.93×10^{-8} M
Na_2MoO_4 $2H_2O$	6.3 g L^{-1} dH_2O	1 mL	2.60×10^{-8} M
ZnSO4 $7H_2O$	22.0 g L^{-1} dH_2O	1 mL	7.65×10^{-8} M
$CoCl_2$ $6H_2O$	10.0 g L^{-1} dH_2O	1 mL	4.20×10^{-8} M
$MnCl_2$ $4H_2O$	180.0 g L^{-1} dH_2O	1 mL	9.10×10^{-7} M

Vitamin solution

Component	Primary Stock Solution	Quantity	Molar Concentration in Final Medium
Thiamine HCl (vit. B_1)	---	200 mg	2.96×10^{-7} M
Biotin (vit. H)	0.1 g L^{-1} dH_2O	10 mL	2.05×10^{-9} M
Cyanocobalamin (vit. B_{12})	1.0 g L^{-1} dH_2O	1 mL	3.69×10^{-10} M

پیوست ۳ : ترکیب و آماده سازی محیط کشت والن با اندکی تغییر بر گرفته از (Laing, 1991)

Constituents	Quantities
Solution A (at 1 ml per liter of culture)	
Ferric chloride ($FeCl_3$)	0.8 g[(a)]
Manganous chloride ($MnCl_2$, $4H_2O$)	0.4 g
Boric acid (H_3BO_3)	33.6 g
EDTA[(b)], di-sodium salt	45.0 g
Sodium di-hydrogen orthophosphate (NaH_2PO_4, $2H_2O$)	20.0 g
Sodium nitrate ($NaNO_3$)	100.0 g
Solution B	1.0 ml
Make up to 1 litre with fresh water[(c)]	Heat to dissolve
Solution B	
Zinc chloride ($ZnCl_2$)	2.1 g
Cobaltous chloride ($CoCl_2$,6 H_2O)	2.0 g
Ammonium molybdate ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}$, $4H_2O$)	0.9 g
Cupric sulphate ($CuSO_4$, $5H_2O$)	2.0 g
Concentrated HCl	10.0 ml
Make up to 100 ml fresh water[(c)]	Heat to dissolve
Solution C (at 0.1 ml per liter of culture)	
Vitamin B_1	0.2 g
Solution E	25.0 ml
Make up to 200 ml with fresh water[(c)]	
Solution D (for culture of diatoms-used in addition to solutions A and C, at 2 ml per liter of culture)	
Sodium metasilicate (Na_2SiO_3, $5H_2O$)	40.0 g
Make up to 1 litre with fresh water[(c)]	Shake to dissolve
Solution E	
Vitamin B_{12}	0.1 g
Make up to 250 ml with fresh water[(c)]	
Solution F (for culture of *Chroomonas salina* - used in addition to solutions A and C, at 1 ml per liter of culture)	
Sodium nitrate ($NaNO_3$)	200.0 g
Make up to 1 litre with fresh water[(c)]	

پیوست ٤ : ترکیب و مواد تشکیل دهنده محیط کشت F2 تغییر یافته ١

محیط کشت١ - محلول p_1	
آب مقطر	١٠٠٠ ml
EDTA	/8 gr
$Mncl_2.4H_2O$	/7 gr
$CoCL_2.6H_2O$	/005 gr
$ZnCL_2$	/06 gr
H_2Seo_3	200 µg
محلولp_2	
آب مقطر	١٠٠٠ ml
H_3BO_3	١٣ gr
محلول ویتامین	
آب مقطر	١٠٠٠ ml
B_1	2 gr
B_{12}	/2 mg
Biotin	/2 mg
محلولP_3	
Sea water	2000 ml
$NaNO_3$	/4 gr
$NaH_2po_4.2H_2O$	/04 gr
Na_3EDTA	/03 gr
FeEDTA	/002 gr
Tris (hydroxymethyl amino methane)	/8 gr
P1	١٦ ml
P2	٨ ml
Vitamin mixture solution	١ ml

پیوست ۵ : ترکیب و مواد تشکیل دهنده محیط کشت F2 تغییر یافته ۲

محیط کشت2 – محلول p_1	
آب مقطر	۱۰۰۰ ml
EDTA	/8 gr
$Mncl_2.4H_2O$	/7 gr
$CoCL_2.6H_2O$	/005 gr
$ZnCL_2$	/06 gr
H_2Seo_3	200 µg
محلول p_2	
آب مقطر	۱۰۰۰ ml
H_3BO_3	6/5 gr
محلول ویتامین	
آب مقطر	۱۰۰۰ ml
B_1	2 gr
B_{12}	/2 mg
Biotin	/2 mg
محلولP_3	
Sea water	2000 ml
$NaNO_3$	/4 gr
$NaH_2po_4.2H_2O$	/04 gr
Na_3EDTA	/03 gr
FeEDTA	/002 gr
Tris (hydroxymethyl amino methane)	/8 gr
P1	8 ml
P2	4 ml
Vitamin mixture solution	/5 ml
Ampicilin	400 µg
Kanamycin	1.6 mg
Neomycin	1.6 mg

پیوست ٦ : ترکیب و مواد تشکیل دهنده محیط کشت F2 تغییر یافته ۳

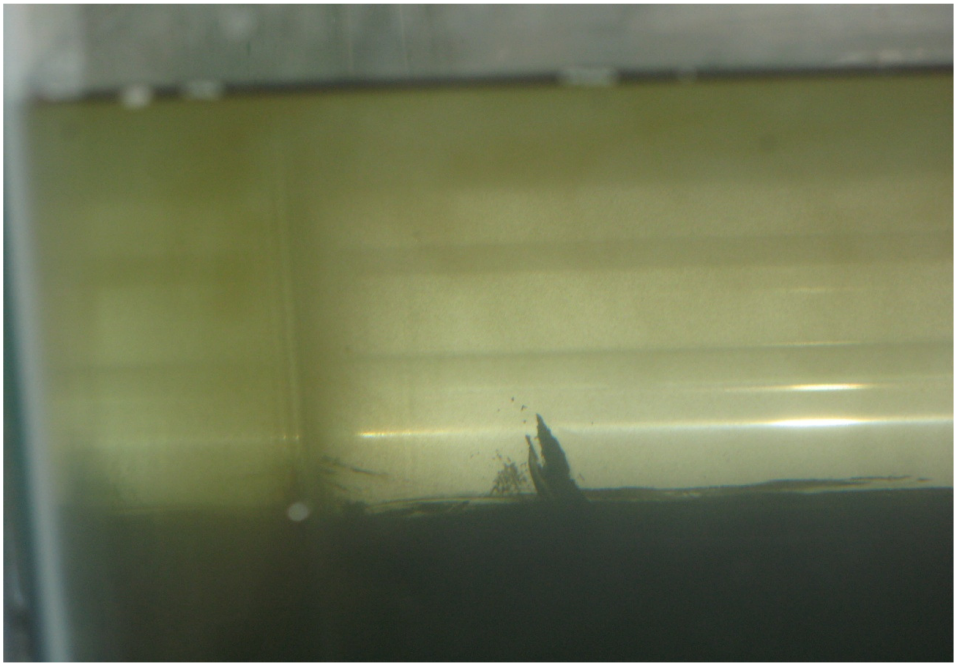
محلول p_1	
آب مقطر استریل	۵۰۰ ml
$Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$	351 ml
Na - EDTA	300 ml
محلول p_2	
آب مقطر استریل	100 ml
Na_2EDTA	100 mg
H_3B0_3	114 mg
$FeCl_3.6H_2O$	4.9 mg
$MnSo_4.H_2o$	16.4 mg
$ZnSo_4.7H_2o$	2.2 mg
$CoSo_4.7H_2o$	./48 mg
محلول p_3	
$NaNo_3$	350 mg
Na glycerophosphate.$5H_2o$	5o mg
P_1	25 ml
P_2	25 ml
Vitamin B_{12}	10 µg
Thimine	./5 mg
biotin	5 µg
Tris	500 mg

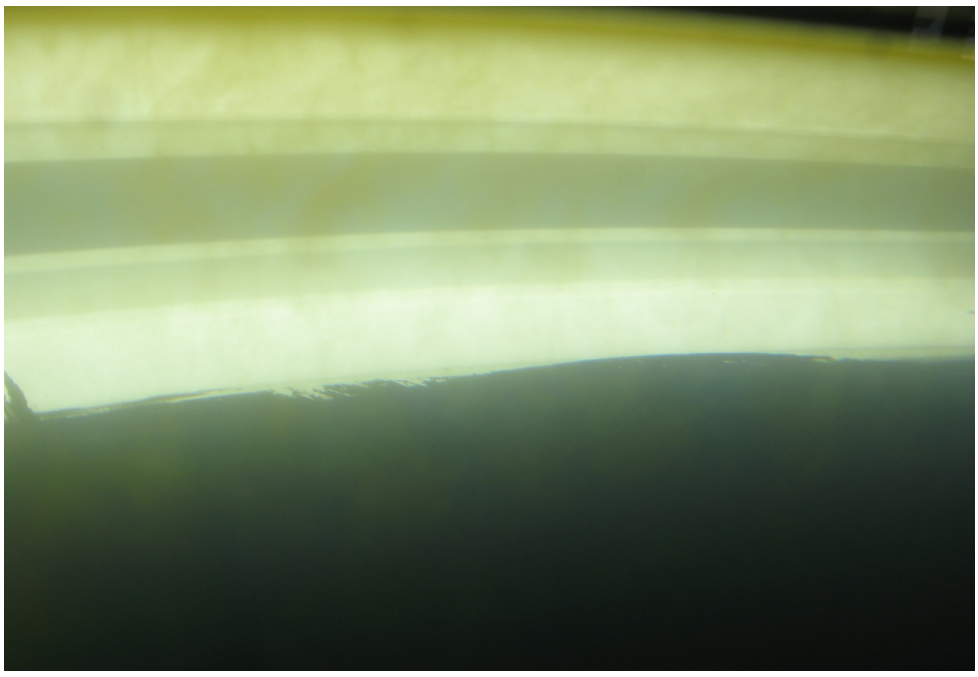
۲۰ میلی لیتر از محلول p_3 به ۱ لیتر آب دریای استریل شده اضافه می شود.

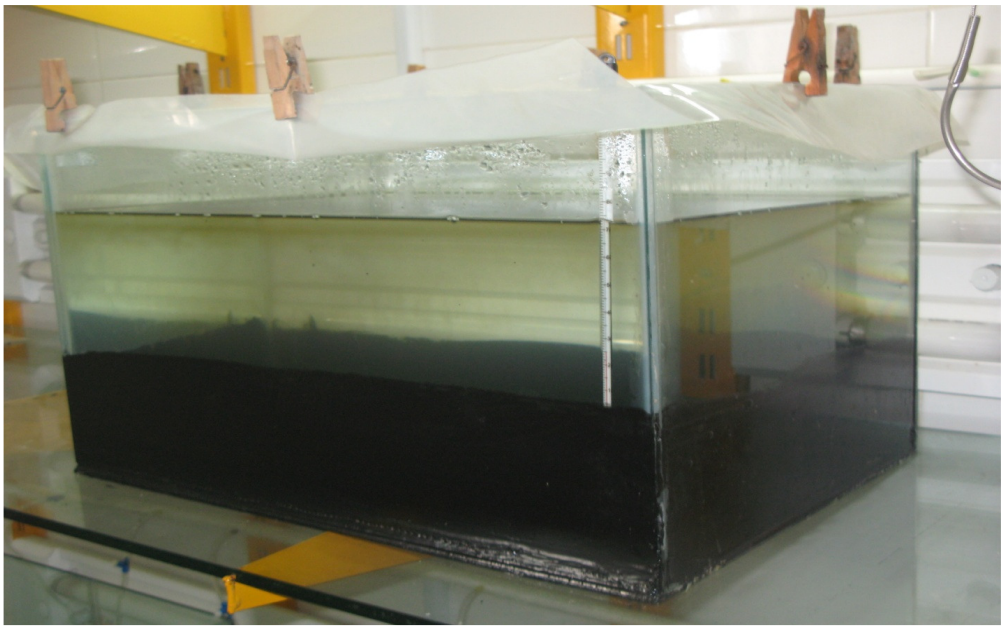
پیوست ۷ : ترکیب و مواد تشکیل دهنده محیط کشتF2 تغییر یافته ٤ جهت کشت انبوه در داخل آکواریوم

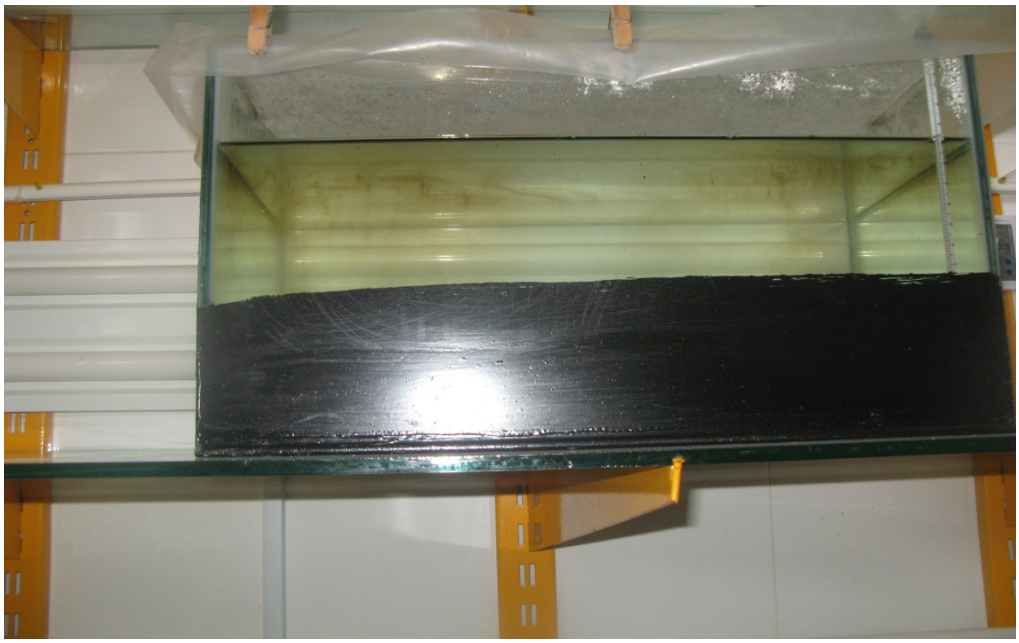
محیط کشت انبوه – محلول p_1	
آب مقطر	۱۰۰۰ ml
EDTA	/۰۵ gr
$Mncl_2.4H_2O$	/۴ gr
$CoCL_2.6H_2O$	/۰۰۳ gr
$ZnCL_2$	/۰۵۵ gr
H_2Seo_3	200 µg
محلولp_2	
آب مقطر	۱۰۰۰ ml
H_3BO_3	6/۱۸ gr
محلول ویتامین	
استریل آب مقطر	500 ml
B_1	۱ gr
B_{12}	۱۵۰ µg
Biotin	۱۵۰ µg
محلولP_3	
Sea water	۱000 ml
$NaNO_3$	/۲ gr
$NaH_2po_4.2H_2O$	/۰۲ gr
Na_3EDTA	/۰۱۵ gr
FeEDTA	/۰۰۱ gr
Tris (hydroxymethyl amino methane)	/۰۲ gr
P1	۱۲ ml
P2	۵ ml
Vitamin mixture solution	/5 ml

پیوست ۸: آکواریوم های محتوی جلبک بلوم کرده *Choclodinium polykrikoides*









Abstract:

Harmful algal blooms resulting in red discoloration of coastal waters in the Persian Gulf, Iran were first observed in January 2007. The species responsible for the bloom, which was identified as *Cochlodinium polykrikoides*, coincided with massive aquatic organisms' mortalities in the Persian Gulf. In order to provide optimum growth and bloom forming, *C. polykrikoides* cells were sampled during the bloom conditions in the coastal waters of Persian Gulf. After adaptation in filtered seawater, they isolated by positive phototropism characteristic of this species to light. They were grown in modified media culture at different salinity (30, 32 and 35ppt), temperature (20, 23, 26 and 28ºC) and intensity (35, 70 and 90 µmol m^{-2} s^{-1}) with an initial cell density of 50 cell mL^{-1}. The results of the present study clearly showed that the highest alga biomass was obtained following culture by using A2 medium under the 32ppt salinity, 26°C temperature, and under a 11h light:13h dark photoperiod regime at a light intensity of 90 µmol m^{-2} s^{-1} provided by cool white fluorescent tubes. Mean cell density of *C. polykrikoides* in a 60 liter tank for ten days reached to 32×10^6 cell L^{-1}. Moreover, individual *C. polykrikoides* chain with 18 cells was observed for the first time in cultures. Based on the results from the present study, as mentioned above, providing suitable media culture and physical condition (light intensity and temperature), bloom forming of *C. polykrikoides* start from day 8 to 10 and will be continued until day 24 t0 28. In the other hand, *C. polykrikoide* cells immediately crashed and destroyed.

Key words: Harmful algal bloom, *Cochlodinium polykrikoides*, isolation, optimum growth, Environmental parameters, Persian Gulf

Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION – Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center

---

Project Title : Determination of effective parameters on growth and bloom forming of *Cochlodinium polykrikoides*
Approved Number: 2-75-12-86049
Author: Eisa Abdolaliyan
Project Researcher : Eisa Abdolaliyan
Collaborator(s) *:* A. MATINFAR ,K. Roohani ghadikolahi, M. Moezi , H. Fourooghi fard, M. Gharibnia, G. A. Akbarzadeh, K. Khodadadi-Jokar
Advisor(s): -
Supervisor: -
Location of execution : Hormozgan province
Date of Beginning : 2010
Period of execution : 2 Years & 6 Months
Publisher : ***Iranian Fisheries Research Organization***
Date of publishing : ***2014***

All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION -
Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center

Project Title :

Determination of effective parameters on growth and bloom forming of *Cochlodinium polykrikoides*

Project Researcher :

Eisa Abdolaliyan

Register NO.
43085