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

عنوان پروژه تحقیقاتی :

مطالعه تأثیر پارامترهای فیزیکی ، بیولوژیکی و شیمیایی بر روی رشد و شکوفایی جلبک تاژکدار *Cochlodinium polykrikoides*

مجری:
مریم معزی

شماره ثبت

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

عنوان پروژه : مطالعه تأثیر پارامترهای فیزیکی ، بیولوژیکی و شیمیایی بر روی رشد و شکوفایی جلبک تاژکدار *Cochlodinium polykrikoides*

شماره مصوب پروژه : ۸۸۰۲۵ -۱۲ -۷۵-۲

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : مریم معزی
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) :
نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : مریم معزی
نام و نام خانوادگی همکار(ان) : کیومرث روحانی قادیکلایی، عیسی عبدالعلیان ، حجت اله فروغی‌فرد، مسعود غریب نیا
نام و نام خانوادگی مشاور(ان) : -
نام و نام خانوادگی ناظر(ان) : -

محل اجرا : استان هرمزگان
تاریخ شروع : ۸۸/۱۱/۱
مدت اجرا : ۲ سال و ۵ ماه
ناشر : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
شمارگان (تیتراژ) : ۲۰ نسخه
تاریخ انتشار : سال۱۳۹۲

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 : **مطالعه تأثیر پارامترهای فیزیکی ، بیولوژیکی و شیمیایی بر روی رشد و شکوفایی جلبک تاژکدار** ***Cochlodinium polykrikoides***

کد مصوب : **۸۸۰۲۵ -۱۲ -۷۵-۲**

شماره ثبت (فروست) : تاریخ :

با مسئولیت اجرایی سرکار خانم مریم معزی دارای مدرک تحصیلی کارشناسی ارشددر رشته مهندس منابع طبیعی – گرایش شیلات می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح نژاد و تکثیر و پرورش آبزیان در تاریخ ۹۱/۱۱/۱۵ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد □ پژوهشکده ■ مرکز □ ایستگاه □

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

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

Project Title :
Study on effects of physical , biological and chemical parameters on growth and bloom-forming of dinoflagellates *Cochlodinium polykrikoides*

Project Researcher :

Maryam Moezzi

Register NO.

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

Project Title : Study on effects of physical , biological and chemical parameters on growth and bloom-forming of dinoflagellates *Cochlodinium polykrikoides*

Approved Number:2 -75-12-88025
PROJECT: **Maryam Moezzi**
Author: Maryam Moezzi

Project Researcher : Maryam Moezzi

Collaborator(s) *:* **K. Roohani ghadikolahi, Essa Abdolalian , H. Forooghi fard, M. Gharibnia**
Advisor(s): -
Supervisor: -
Location of execution : Hormozgan province
Date of Beginning : 2010
Period of execution : 2 Years & 5 Months
Publisher : *Iranian Fisheries Research Organization*
Circulation : *20*
Date of publishing : *2013*
All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

فهرست مطالب

چکیده: ۱

مقدمه: ۲

کلیات: ۶

مواد و روشها: ۲۱

نتایج: ۳۸

بحث: ۶۴

نتیجه گیری: ۸۱

پیشنهادات: ۸۳

تشکر و قدردانی: ۸۴

فهرست منابع: ۸۵

ضمائم: ۹۲

چکیده به زبان انگلیسی: ۹۵

فهرست جداول

جدول ۱: گونه‌های مختلف جلبک *C. polykrikoides*.....۱۲

جدول ۲ : مختصات جغرافیایی ایستگاههای نمونه برداری جلبک های ماکروسکوپی در سواحل و جزایر هرمزگان.....۲۸

جدول۳ : درصد بازدارندگی تأثیر دوزهای مختلف خاک رس بر روی جلبک *C. polykrikoides*.....۳۹

جدول۴ : درصد بازدارندگی تأثیر غلظتهای مختلف عصاره حلال آبی جلبک ماکروسکوپی بر روی رشد جلبک *C. polykrikoides*.....۴۴

جدول۵ : تأثیر دوزهای مختلف عصاره حلال آبی جلبک ماکروسکوپی بر روی نرخ رشد ویژه رشد جلبک *C. polykrikoides*.....۴۷

جدول ۶ : تأثیر دوزهای مختلف عصاره حلال آبی جلبک ماکروسکوپی بر روی وزن خشک جلبک *C. polykrikoides*.....۵۰

جدول۷: تأثیر وزنهای مختلف جلبکهای ماکروسکوپی بر روی درصد بازدارندگی رشد جلبک *C. polykrikoides*.....۵۴

فهرست شکل‌ها

شکل ۱: اثرات شکوفایی مضر جلبکی(HABs) بر چرخه غذایی دریا و انسان.....۸
شکل ۲ : شکل شماتیک جلبک *C. polykrikoides* ۹
شکل۳ : سیست آبگین و غشای شفاف نازک آبگین جلبک *C. polykrikoides* ۱۰
شکل۴: پراکنش گونه های مختلف *Cochlodinium* در دنیا.....۱۳
شکل۵ : پراکنش گونه های مختلف *Cochlodinium* درآسیا.....۱۳
شکل۶: چرخه عمومی زندگی دینوفلاژلاها.....۱۵
شکل۷: روند تکاملی نوع زره دار (armored) به سلول رویشی بدون زره (unarmored) پلانکتونی.....۱۶
شکل ۸ : چرخه زندگی جلبک *C. polykrikoides*.....۱۶
شکل ۹: مکانیسم اثر خاک رس بر روی جلبک در محیط طبیعی.....۱۹
شکل ۱۰: آماده سازی و تهیه دوغاب خاک رس.....۲۴
شکل ۱۱: آزمایشات مربوط به افزودن خاک رس در غلظتهای مختلف.....۲۵
شکل ۱۲ : شش گونه جلبک ماکروسکوپی مورد آزمایش.....۲۷
شکل ۱۳: ایستگاه های نمونه برداری جلبک های ماکروسکوپی مورد بررسی ۲۸
شکل ۱۴: جمع آوری و نگهداری نمونه جلبکهای ماکروسکوپی تا زمان استفاده جهت آزمایشات.....۲۹
شکل ۱۵:خشک کردن جلبک و تهیه پودر خشک.....۳۳
شکل ۱۶: عصاره گیری و تهیه استوک عصاره جلبکهای ماکروسکوپی.....۳۳
شکل ۱۷: نمونه های کشت داده شده با گونه های مختلف جلبک تازه.....۳۴
شکل ۱۸ : کشت انبوه در آکواریوم و انجام آزمایشات مواد شیمیایی.....۳۷
شکل ۱۹: درصد کارایی دوزهای مختلف خاک رس در زمان ۲ ساعت.....۴۰
شکل ۲۰ : درصد کارایی دوزهای مختلف خاک رس در زمان ۴ ساعت.....۴۰
شکل ۲۱ : درصد کارایی دوزهای مختلف خاک رس در زمان ۲۰ ساعت.....۴۱
شکل ۲۲: درصد کارایی دوزهای مختلف خاک رس در زمان ۲۴ ساعت.....۴۱
شکل ۲۳ : درصد بازدارندگی تأثیر دوز ۰/۲گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides* ۴۲
شکل ۲۴: درصد بازدارندگی تأثیر دوز ۰/۸گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides* ۴۳
شکل ۲۵: درصد بازدارندگی تأثیر دوز ۱/۶ گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides* ۴۳

شکل ۲۶: تأثیر دوز ۰/۲ گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی مختلف بر روی نرخ رشد ویژه جلبک *C. polykrikoides* ۴۵
شکل ۲۷: تأثیر دوز ۰/۸ گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی مختلف بر روی نرخ رشد ویژه جلبک *C. polykrikoides* ۴۵
شکل ۲۸ : تأثیر دوز ۱/۶ گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی مختلف بر روی نرخ رشد ویژه جلبک *C. polykrikoides* ۴۶
شکل ۲۹: تأثیر دوز ۰/۲ گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی مختلف بر روی وزن خشک جلبک *C. polykrikoides* ۴۸
شکل ۳۰ : تأثیر دوز ۰/۸گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی مختلف بر روی وزن خشک جلبک *C. polykrikoides* ۴۸
شکل ۳۱ : تأثیر دوز ۱/۶گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی بر روی مختلف وزن خشک جلبک *C. polykrikoides* ۴۹
شکل ۳۲ : تأثیر دوز ۰/۲گرم در لیترعصاره ترکیبی حلال آبی و آلی(متانول) گونه های جلبکی مختلف بر روی درصد بازدارندگی رشد در جلبک *C. polykrikoides* ۵۱
شکل ۳۳ : تأثیر دوز ۰/۲گرم در لیترعصاره ترکیبی حلال آبی و آلی(متانول) گونه های جلبکی مختلف بر روی نرخ رشد ویژه جلبک *C. polykrikoides* ۵۱
شکل ۳۴ : تأثیر دوز ۰/۲گرم در لیترعصاره ترکیبی حلال آبی و آلی(متانول) گونه های جلبکی مختلف بر روی وزن خشک جلبک *C. polykrikoides* ۵۲
شکل ۳۵ : تأثیر وزن ۲/۵ گرم بافت تازه گونه های جلبکهای ماکروسکوپی مختلف بر روی درصد بازدارندگی رشد جلبک *C. polykrikoides* ۵۳
شکل ۳۶ : تأثیر وزن ۵ گرم بافت تازه گونه های جلبکهای ماکروسکوپی مختلف بر روی درصد بازدارندگی رشد جلبک *C. polykrikoides* ۵۳
شکل ۳۷ : تأثیر وزن ۲/۵ گرم بافت تازه گونه های جلبکی مختلف بر روی نرخ رشد ویژه جلبک *C. polykrikoides* ۵۵
شکل ۳۸ : تأثیر وزن ۵ گرم بافت تازه گونه های جلبکی مختلف بر روی نرخ رشد ویژه جلبک *C. polykrikoides* ۵۵
شکل ۳۹ : وزن خشک جلبکی در تأثیر وزن ۲/۵ گرم بافت تازه گونه های جلبکی مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides* ۵۶
شکل ۴۰ : تأثیر وزن ۵ گرم بافت تازه گونه های جلبکی مختلف بر روی وزن خشک جلبک *C. polykrikoides* ۵۶

شکل ۴۱ : تأثیر محیط کشت آبی حاوی گونه های جلبک های ماکروسکوپی تازه بر روی درصد بازدارندگی رشد جلبک *C. polykrikoides* ۵۷
شکل ۴۲ : تأثیر محیط کشت آبی حاوی گونه های جلبک های ماکروسکوپی تازه بر روی نرخ رشد ویژه جلبک *C. polykrikoides* ۵۷
شکل ۴۳ : تأثیر محیط کشت آبی حاوی گونه های جلبک های ماکروسکوپی تازه بر روی وزن خشک جلبک *C. polykrikoides* ۵۸
شکل ۴۴ : درصد کارایی ماده اسید استیک پس از ۲ در دوزهای مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides* ۵۹
شکل ۴۵ : درصد کارایی ماده اسید استیک پس از ۴ در دوزهای مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides* ۵۹
شکل ۴۶ : درصد کارایی ماده اسید استیک پس از ۲۰ در دوزهای مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides* ۶۰
شکل ۴۷ : درصد کارایی ماده اسید استیک پس از ۲۴ در دوزهای مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides* ۶۰
شکل ۴۸ : درصد کارایی ماده پراکسید هیدروژن پس از ۲ در دوزهای مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides* ۶۱
شکل ۴۹ : درصد کارایی ماده پراکسید هیدروژن پس از ۴ در دوزهای مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides* ۶۱
شکل ۵۰ : درصد کارایی ماده پراکسید هیدروژن پس از ۲۰ در دوزهای مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides* ۶۲
شکل ۵۱ : درصد کارایی ماده پراکسید هیدروژن پس از ۲۴ در دوزهای مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides* ۶۲

فهرست ضمائم

ضمیمه ۱ : ترکیب و مواد تشکیل دهنده محیط کشت F_2 تغییر یافته ۲..... ۹۲
ضمیمه ۲ : آکواریوم های محتوی جلبک *C. polykrikoides* بلوم کرده..... ۹۳

چکیده

کشند قرمز پدیده ای طبیعی است که به کرات درآبهای سواحل خلیج فارس و دریای عمان اتفاق می افتد. شکوفایی مضر جلبکی *Cochlodinium polykrikoides* برای اولین بار در مرداد سال ۱۳۸۶ و همزمان با مرگ و میر فراوان آبزیان مشاهده شد و سبب خسارات اقتصادی قابل توجه و اثرات منفی محیط زیست آبی خلیج فارس گردید. هدف از این مطالعه ارزیابی مستقیم کنترل و یا کاهش شکوفایی جلبک *C. polykrikoides* از طریق روشهای فیزیکی (ماده منعقد کننده خاک رس با دوزهای ۰/۵ ، ۱ ، ۱/۵، ۲، ۴ و ۱۰ گرم در لیتر)، بیولوژیکی[۶ گونه جلبک دریایی با استفاده از بافت تازه، عصاره(آبی و ترکیبی آلی و آبی) و محیط کشت آبی فیلتر شده] و شیمیایی (پراکسید هیدروژن ، پرمنگنات پتاسیم ، سولفات مس ،اسید استیک و هیپوکلرید سدیم با غلظتهای ۰/۰۵ ، ۰/۱ ، ۰/۵ ،۱ ، ۱/۵ گرم بر لیتر) بود. نتایج روش فیزیکی نشان داد که استفاده از دوغاب خاک رس در غلظت ۴ و۱۰ گرم در لیتر بطور جدی سبب جلوگیری از رشد جلبک *C. polykrikoides* شد و درصد کارایی حذف سلولهای جلبکی با استفاده از دوغاب خاک رس بعد از گذشت ۲۴ ساعت ۹۹ درصد بود. جلبکهای دریایی نشان داده اندکه بیشترین اثر بازدارندگی رشد روی *C. polykrikoides* استفاده از عصاره حلال های آبی *Colpomenia sinuosa* ، استفاده از عصاره ترکیبی حلال های آبی و آلی(متانول) *Ulva lactuca, Sargassum illicifolium* و *Gracilaria corticata* ، استفاده از بافت تازه جلبکی *Enthromorpha intistialis* ، *C. sinuosa* و *Hypnea valentiea* ومحیط کشت فیلتر شده *E. intistialis* بوده است. نتایج به وضوح نشان داده اند که منعقد کننده پرمنگنات پتاسیم ، سولفات مس و هیپوکلرید سدیم بالاترین درصدکارایی (۱۰۰ درصد) حذف سلولهای جلبکی*C. polykrikoides* را درکمترین غلظت(۰/۰۵ گرم در لیتر) دارا بود. نهایتاً این آزمایش بیان می کند که استفاده از خاک رس و جلبکهای دریایی می تواند به عنوان راهکاری برای کنترل HAB_S در آبهای ساحلی خلیج فارس استفاده گردد .

واژه‌های کلیدی : شکوفایی مضر پلانکتونی، *C. polykrikoides* ، عصاره جلبک دریایی ، دوغاب خاک رس ، خلیج فارس

۱- مقدمه

تولید مثل سریع پلانکتونهای گیاهی را شکوفایی می‌نامند،که در اثر حضور رنگدانه‌های موجود در این سلول‌های جلبکی 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 بوی بدی نیز به مشام می رسد.

این پدیده در اکثر آب‌های جهان دیده می‌شود و یک پدیده جهانی می باشد و شواهد جدید نشان داده است که تعداد و شدت آن در حال افزایش است و مشکلات عدیده ای را برای صنعت صید و صیادی، آبزی پروری و همچنین بر محیط زیست محیطهای آبی و موجودات آن بوجود آورده است. این پدیده بیش از سه دهه است که گسترش یافته است و تأثیر زیادی بر آبهای ساحلی گذاشته است. تکرار و کثرت شکوفایی جلبکی با تعداد فاکتورهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی رابطه دارد که شامل گونه های بیگانه ای می شود که از طریق آب توازن کشتیها یا آزمایشات آبزی پروری و یا نتیجه تغییرات آ و هوایی است که در نتیجه فعالیتهای انسانی همچون افزایش جمعیت، مواد مصرفی، برداشت منابع و کنترل آبهای جاری می باشدکه احتمال می رود تمامی این موارد باعث افزایش پدیده شکوفایی جلبکی مضر گردد(Tamadoni jahromi *et al*.,2011). این پدیده نتیجه شکوفایی بزرگ و عظیم میکروآلگهای مضر دریایی می باشد که بطور فصلی و در فصول مختلف اتفاق می افتد و می تواند باعث خسارات جدی باشد. کشند قرمزهمچنین در آب‌های خلیج فارس بارها مشاهده شده وگزارش‌های متعددی در مورد این پدیده وجود دارد. طی سالهای ۸۱-۱۳۷۰ بیش از ۳۶ بار در خلیج فارس و دریای عمان نیز مشاهده شده است(گزارش پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان در کمیته ملی کشند)که می تواند بوسیله آب توازن کشتیهایی که در بین خلیج فارس و تنگه هرمز و دریای عمان در رفت و آمد هستند اتفاق بیافتد(Tamadoni jahromi *et al*.,2011). خلیج فارس و دریای عمان از مهمترین اکوسیستم های آبی کشور و منطقه محسوب می شود 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 است که با توجه به ارتباطات جوی و آبی حاکم بر کره زمین و پیامدآن، خلیج فارس و دریای عمان از طریق اقیانوس هند تحت تأثیر قرار گرفته و تأثیرات این رخدادهای طبیعی در آبهای این دو منطقه نیز قابل مشاهده است، که نتیجه این رخدادهای طبیعی گاهاً می تواند در برخی مناطق منجر به ایجاد این پدیده نیز شود .

در بررسی های بعمل آمده در ارتباط با پایش شکوفایی جلبکی که از سال ۱۳۷۳ الی ۱۳۸۶ در منطقه صورت پذیرفته است، عمده شکوفایی ها ناشی از شکوفایی گونه هایی مانند *Trichodesmium* ، *Noctiluca* sp، *Nitzschia* sp، 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.

در پی وقوع شکوفایی جلبک(کشند قرمز) در اوایل پاییز ۱۳۸۷ در خلیج فارس و بخشی از دریای عمان که توسط جلبک تاژک دار *C. polykrikoides* از رده *Dinophyceae* صورت پذیرفت ، باعث مرگ و میر فراوان آبزیان منطقه شده است (Sunda *et al.*,2006). تاکنون شکوفایی *C. polykrikoides* عامل مرگ و میر زیادی از آبزیان پرورشی در مناطق مختلف دنیا از جمله سواحل ژاپن در سال ۱۹۷۷ (Yuki and Yoshimatsu , 1989) ، خلیج فسفوریسنت[1] درپورتوریکو[2] (Margalof ,1961) ، خلیج کالیفرنیا در مکزیک (Garate-Lizarraya *et al.*, 2000)، خلیج کوانشو[3] 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,1997). این داینوفلاژله از طریق تولید ماده لزج و موکوس مانند وکاهش اکسیژن باعث مرگ و میر آبزیان دریای و آبزیان پرورشی در سطح وسیعی گردیده است. در این میان دینوفلاژلاها گروه مهمی از فیتوپلانکتون‌های دریایی بشمار می روند که شکوفایی ناشی از برخی از گونه‌های آن مشکلات زیادی را برای

[1] - phosphorescent bay
[2] - Puerto Rico
[3] - Quanshou bay

اکوسیستم‌های آبی و آبزی‌پروری از طریق تولید سموم و کاهش میزان اکسیژن محیط ایجاد نموده است(Kim *et al.*, 2002) و فعالیت صید و صیادی را مورد تهدید قرار داده ومشکلات زیست محیطی و اکولوژیکی را به همراه خواهد داشت و 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 می نماید و جامعه صیادان و آبزی پروران را با مشکل جدی مواجه خواهد نمود. اثرات شکوفایی ناشی از کشند قرمز بخشی نیازمند بهبود آبهای ورودی به ساحل دریا از طریق تصفیه فاضلاب‌های شهری، آبهای ورودی کشاورزی و همچنین کانال‌های خروجی مزارع پرورش آبزیان است و بخشی دیگر که مرتبط به شرایط جوی و آب و هوایی است که از کنترل بشر خارج است. بنابراین برای جلوگیری از خسارت احتمالی ناشی از کشند قرمز ، باید اقدام به انجام یکسری مطالعات و آزمایشاتی در جهت کنترل فیزیکی و بیولوژیکی بر روی آن نمود. راهکارهای زیادی برای کنترل شکوفایی و کاهش اثرات شکوفایی این گروه از پلانکتون‌ها صورت گرفته است (کنترل فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک)، ولی در هر حال کنترل فقط در یک منطقه محدود همچون هچری ها و استخرهای تکثیر وپرورش عملی می باشد و تحقیقات جهت دستیابی به روشهای مختلف جهت کنترل این پدیده در حال گسترش می‌باشد.

لذا برای دستیابی به روشهای مختلف کنترل ابتدا باید آن جلبک را خالص و جداسازی کرد و سپس روشهای کنترل آن را مورد بررسی قرار می دهیم که علاوه بر کم هزینه بودن اثر خود را در کوتاهترین زمان ممکن ایجاد کند و همچنین کمترین اثرات زیست محیطی را هم بر اکوسیستم های محیط های آبی و پرورشی داشته باشد. بنابراین هدف کلی از این مطالعه کاهش اثرات مضر شکوفایی جلبک *C. polykrikoides* بر سلامت عمومی ، اقتصاد و اکوسیستم های ساحلی از طریق:

۱- تأثیر جلبکهای ماکروسکوپی بر روی رشد و بازماندگی داینوفلاژله *C. polykrikoides*

۲- تعیین کارآمدی خاک رس در برداشت و حذف سلول جلبکی *C. polykrikoides* از ستون آب دریا

۳- بررسی میزان کارآمدی مواد شیمیایی پراکسید هیدروژن ، پرمنگنات پتاسیم ، سولفات مس ،اسید استیک و هیپوکلرید سدیم در از بین بردن جلبک *C. polykrikoides*

۲-کلیات

۲-۱- شکوفایی جلبکی

پدیده شکوفایی جلبکی یک رخداد جهانی نیز می باشد که 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 باشد که سمیتی برای آنان ذکر نشده است چندان نگران کننده نیست 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 برداشته باشد و گاهاً به حالت لزج و چسبنده دیده می شود که در این مرحله بیشترین مرگ و میر موجودات دریایی اتفاق می افتد. درگذشته همه شکوفایی جلبکی را، بدون در نظر گرفتن رنگ آب، تحت نام کشند قرمز [1]می‌شناختند ولی امروزه دانشمندان ترجیح می‌دهندکه اصطلاح شکوفایی مضر جلبکی[2] (HAB_s) را بکار ببرند که همزمان با گرم شدن کره زمین، افزایش آلودگی آب‌های ساحلی و استفاده از آن برای آبزی‌پروری، تناوب شکوفایی‌های مضر جلبکی و مدت زمان پایداری آن در حال افزایش می‌باشد (Gobler *et al.*, 2008).

۲-۲- انواع شکوفایی جلبکی

- شکوفایی گونه‌هایی که اساساً بی ضرر بوده ولی باعث تغییر رنگ آب می‌شود که در نتیجه آن عمق نفوذ نور کم شده و بی‌مهرگان بستر 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.

---

[1] - Red tide
[2] - Harmful algae bloom

- 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 سمی 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 گونه آن تولید سموم قوی می‌کنند.

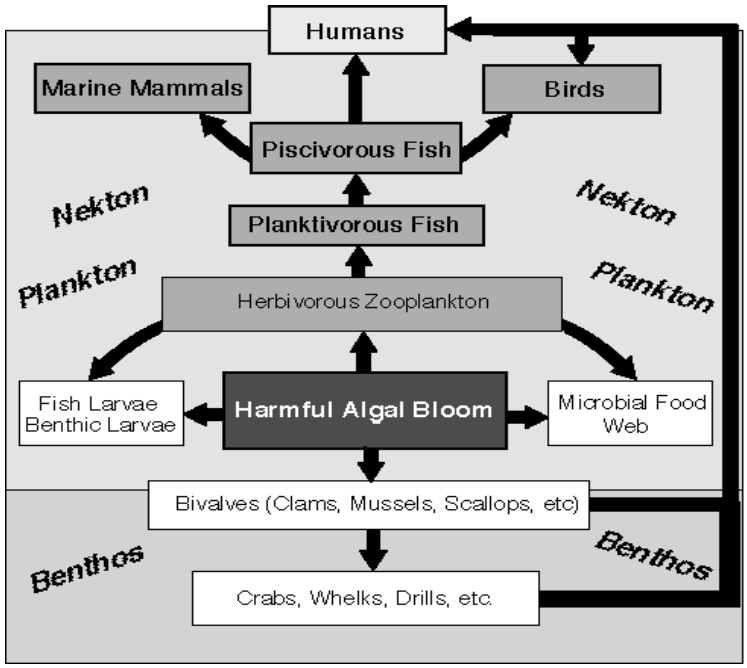
عموماً ۶ نوع سم توسط جلبک‌ها تولید می‌گردد که عبارتند از: PSP[1]، DSP[2]، ASP[3]، NSP[4]، CFP[5]، CTP[6] که حد قابل قبول این سمها در بافت نرمتنان به شرح ذیل است

- PSP – 80 µg of 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

۲-۳- اثرات شکوفایی مضر جلبکی 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(شکل۱).

[1] -Paralytic shellfish poisoning
[2] - Diarrheic shellfish poisoning
[3] - Amnesic shellfish poisoning
[4] - Neurotic shellfish poisoning
[5] - Ciguatera fish poisoning
[6] - Cyanobacterial toxicity poisoning



شکل ۱: اثرات شکوفایی مضر جلبکی(HABs) بر چرخه غذایی دریا و انسان (Matsuoka, 2006)

یکی از گونه هایی که سبب پدیده شکوفایی جلبکی می شود *C. polykrikoides* است که اثرات جبران ناپذیری را می تواند بر پیکره آبی و موجودات آن داشته باشد. در پی وقوع شکوفایی جلبک تاژک دار *C. polykrikoides* در اوایل پاییز ۱۳۸۷ در خلیج فارس و بخشی از دریای عمان مرگ و میر فراوان آبزیان منطقه را باعثشد(Sunda *et al.*,2006).

۲-۴- رده بندی

Division: ***Dinophya***

Class : ***Dinophyceae***

Order : ***Gymnodinales***

Family : ***Gymnaceae***

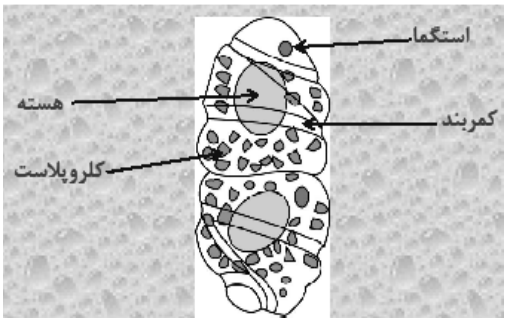
Genus : ***Cochlodinium***

Species: ***Cochlodinium polykrikoides*****(Margalef 1961)**

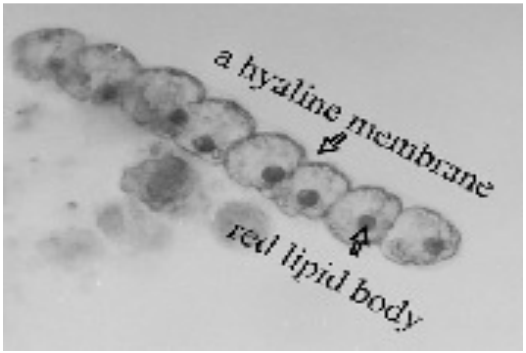
۲-۵- زیست شناسی

جلبک *C. polykrikoides* یک جلبک دریایی تک سلولی می باشد که به گروه داینوفلاژله ها تعلق دارد این جلبک یک گونه فتوسنتزکننده 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 کوتاه 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. این جلبک برای اولین بار در سال ۱۹۶۱ توسط مارگا لف در سواحل جنوبی پورتوریکو[1] و دریای کارائیب[2] 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.



شکل ۲ : شکل شماتیک جلبک *C. polykrikoides* (Matsuoka, 2006)



[1] - South coast Puerto Rico
[2] - Caraeb sea

شکل۳: سیست آبگین و غشای شفاف نازک آبگین جلبک *C. polykrikoides* (Kim *et al.* 2007).

C. polykrikoides یک گونه میکسوتروف[1] بوده که از دیگرگونه‌های فیتوپلانکتونی با اندازه کمتراز۱۲میکرون ازجمله *Isochrysis galbana* ، *Rhodomonas salina* ، *Heterosigma akashiwo* و حتی *Amphidinium carterae* تغذیه می کند(Jeong *et al.*, 2004). از سوی دیگر میزان چرندگی جلبک *C. polykrikoides* از دیگر گونه های فیتوپلانکتونی به میزان نور و یا مواد مغذی مورد دسترس آنها بستگی دارد (Jeong *et al.*, 2004). مطالعات نشان داده که شکوفایی جلبک *C. polykrikoides* هنگامی اتفاق می‌افتد که ترموکلاین وجود ندارد و درجه حرارت کف رسوبات حدود ۲۰ ºC یا بیشتر می‌باشد. ثابت شده است، آب‌های اندکی یوتروف، با COD به میزان ppm ۱ برای رشد این گونه مناسب است. از نظر اکولوژیکی این جلبک می‌تواند هم در آبهای مناطق گرم و هم سرد (۳۰ ºC -۱۱) و با شوری متوسط ppt ۳۴-۳۰ پراکنش جهانی داشته و رشد و گسترش یابد (Kudela *et al*.,2008).

۲-۶ – گونه های مختلف ***Cochlodinium*** موجود در دنیا وآسیا

تاکنون در حدود ۴۲ گونه از این جلبک در دنیا شناسایی شده است(جدول۱). این جلبک پراکنش جهانی داشته و 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 ۴ و ۵) و همچنین در آبهای (۳۰ ºC- ۱۱) با شوری متوسط ppt ۳۴-۳۰ پراکنش جهانی داشته و گسترش می یابند (Kudela *et al.*, 2008).

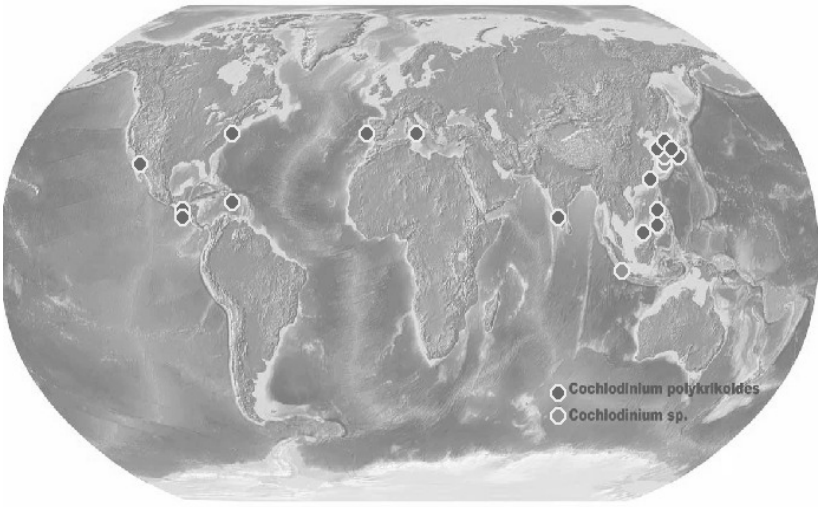
تاکنون شکوفایی ناشی از *C. polykrikoides* ، عامل مرگ و میر زیادی از آبزیان پرورشی در مناطق مختلفی از دنیا از جمله سواحل ژاپن، خلیج فسفورسنت در پورتوریکو، خلیج کالیفرنیا در مکزیک، خلیج کوانشو در چین

[1] - mixotroph

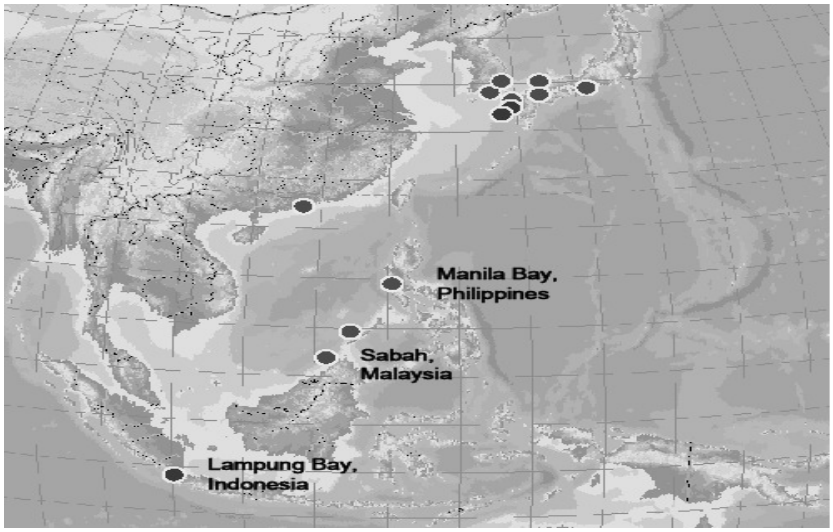
و گواتمالا بوده است اما بیشترین شکوفایی های گزارش شده از آبهای کره جنوبی می باشد. تعداد دفعات شکوفایی این گونه از ۳ بار در سال ۱۹۸۲ به ۲۸ بار در سال ۱۹۹۵ رسیده است.

جدول شماره ۱: گونه‌های مختلف جلبک *C. polykrikoides* (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



شکل۴: پراکنش گونه های مختلف *Cochlodinium* در دنیا(Matsuoka, 2006)



شکل۵: پراکنش گونه های مختلف *Cochlodinium* درآسیا(Matsuoka, 2006)

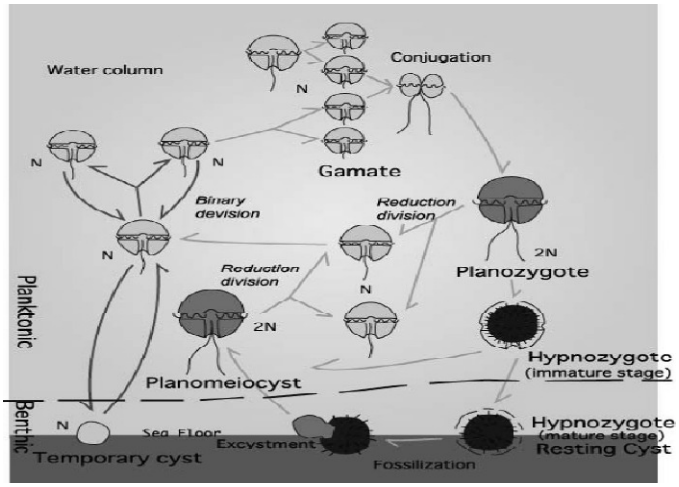
۲-۷- شرایط رشد جلبک

جلبک *C. polykrikoides* یک گونه همه جازی بوده و در آبهای مناطق معتدل تا گرمسیری یافت می شوند. در شرایط طبیعی این جلبک در آبهایی با شوری ppt ۳۴-۳۲ و درجه حرارت°C ۲۸ - ۲۵ بوده ولی در شرایط آزمایشگاهی، شرایط بهینه برای بیشینه رشد، در شوری ppt ۳۵-۲۸ و درجه حرارت°C ۲۷-۲۰ می باشد(Kim *et al.*, 2004).

۲-۸- چرخه زندگی داینوفلاژله ها

گونه‌های مختلف داینوفلاژلاها که قبلاً 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 کوتاه، به شکل غیر فعالی به مکانی که جریان آب ضعیف یا کم است آورده می شوند. سیست نهفته غیر متحرک ، بی رنگ و تقریباً فاقد کلروپلاست بوده و سیست آبگین نامیده می شود که بوسیله یک غشای شفاف نازک آبگین احاطه می شود و می تواند نقش اکولوژیکی مهمی را به عنوان بذر[1] در شکوفایی های مجدد و همچنین پراکنش آن در مناطق مختلف جغرافیایی، دارا 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 در شرایط اکسیژن و درجه حرارت پایین برای مدت ۶ سال در رسوبات زنده مانده و درصورت قرار گرفتن در شرایط مناسب محیطی مجدداً بصورت موفقیت آمیزی شروع به رویش دوباره می نمایند.

[1] - seedlings



شکل۶: چرخه عمومی زندگی دینوفلاژلاها (Matsuoka, 2006)

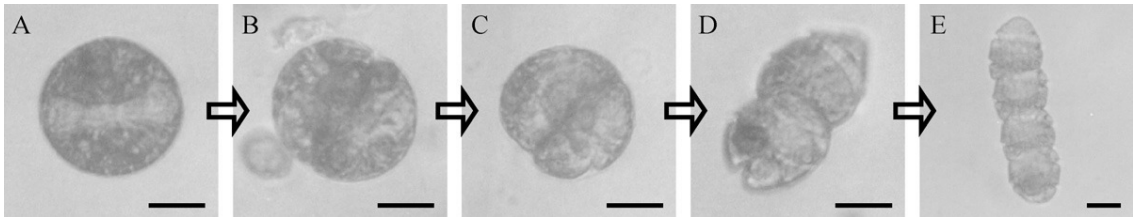
۲-۹- چرخه زندگی ***C. polykrikoides***

این جلبک تولید سیستی آبگین (hyaline cysts) می نماید و بوسیله یک غشای شفاف نازک آبگین[1] احاطه می گردد(شکل۷). پس از ۶ ماه نگهداری سیست جلبک *C. polykrikoides* در تاریکی و درجه حرارت ۴ درجه سانتیگراد، آنها را در معرض نور و درجه حرارت مناسب قرار دادند و بصورت موفقیت‌آمیزی سیست‌های آبگین جوانه زدند.

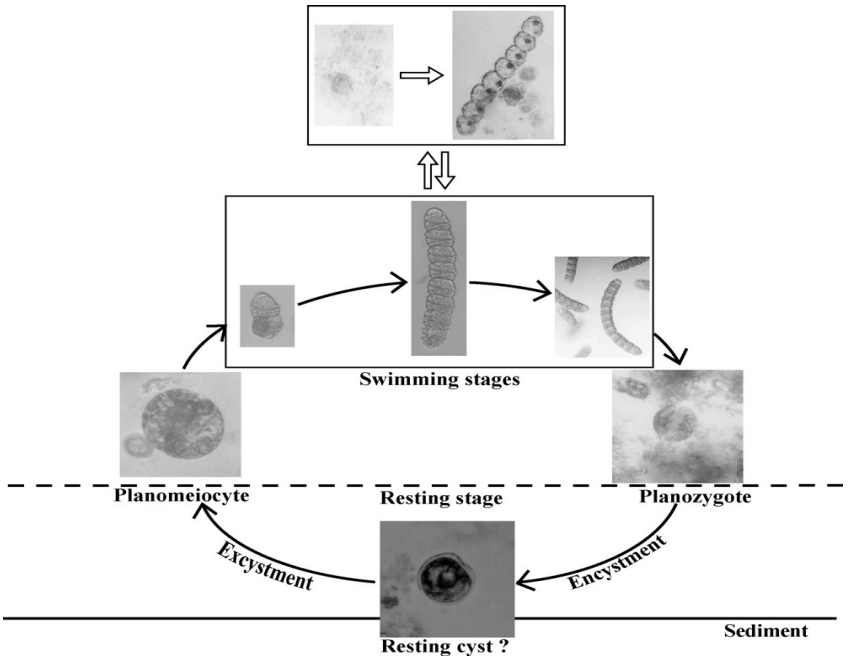
چرخه زندگی از نقطه نظر ریخت‌شناسی شامل دو مرحله می باشد ۱) مرحله زره‌دار ۲)بدون زره . شکل رویشی آن بدون زره[2] بوده و در درجه حرارت های بالا(۲۰-۳۰ ºC) به هنگام شکوفایی ها و در فاز رویشی در آب

[1] - hyaline membrane
[2] - unarmored

دریا دیده می شود و شکل زره دار[1] آن که قبل و بعد 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).



شکل۷: روند تکاملی نوع زره دار (armored) به سلول رویشی بدون زره (unarmored) پلانکتونی(Kim *et al.* 2007)



[1] - armored

شکل ۸: چرخه زندگی جلبک *C. polykrikoides* (Kim *et al.* 2007)

۲-۱۰- انواع روشهای کنترل با شکوفایی مضر پلانکتونی

در سالهای اخیر مشکل کشند قرمز که یک پدیده طبیعی است در سطح جهان فراگیر شده و بطور فراوان اتفاق می افتد که سبب کاهش اقتصادی صید و صیادی، آبزی پروری، تأثیر بر سلامتی انسان و اثرات زیست محیطی داشته است. کشتن ماهیان بوسیله این پدیده محدودیت بزرگی را برای توسعه صنعت آبزی پروری و جانوران دریایی در معرض خطر، ایجاد نموده است از اینرو پایش و پیش بینی شکوفایی مضر به منظور اتخاذ تدابیر مناسب و فوری و کنترل آن اجتناب ناپذیر است. وقتیکه شکوفایی وارد مرحله مضر همچون مرگ و میر ماهیان می شود باید اقدام فوری جهت پایش صورت گرفته و اندازه گیری های دقیق برای کاهش خسارات شیلاتی صورت گیرد بدون تردید HABs در سالهای بعدی بدلیل اینکه سیست آن در بستر بطور فراوان موجود بوده و با فراهم شدن شرایط مساعد دوباره شکوفا می شود و مجدداً به وقوع خواهد پیوست به همین دلیل تحقیقات گسترده ای را برای مدیریت وکنترل آن می طلبد. هیچ قانون عمومی وجود ندارد که تراکم سلول های جلبکی مضر را در این پدیده دقیقاً مشخص کرد به عنوان مثال در تراکم پائین ۱۰۰۰ cell/L > بدون تغییر رنگ آب گونه *A.tamarense* در نرمتنان تولید سم PSP می نماید و این در حالیست که گونه *Gyrodinium aureolum* با تراکم بالاتر از ۱۰،۰۰۰،۰۰۰ cell/L باعث تغییر رنگ آب شده و سبب مرگ ماهیان و موجودات بنتیکی می گردد. گونه *C. polykrikoides* بوسیله تولید حجم زیادی از ماده لزج و موکوس مانند و کاهش اکسیژن باعث مرگ و میر ماهیان و نرمتنان صدفدار می گردد. دانشمندان زیادی به منظور کاهش خسارات وارده به ماهیگیران و پرورش دهندگان مطالعات فیزیولوژیکی و اکولوژیکی انجام داده اند و روشهایی را برای کنترل این پدیده پیشنهاد کرده اند یکی از این روشها کنترل فیزیکی با استفاده از خاک رس است که برای رسوب دادن موجودات کشند استفاده می گردد(Na *et al.*,1998 و Choi *et al.*,1998) هر چند که این موجودات ممکن است

تأثیر بالقوه ای را بر زیستگاه داشته باشند. همچنین مواد شیمیایی چون سولفات مس(Steidinger,1983)، پراکسید هیدروژن(Pyu *et al.*,1998) و تیروزین(Koji *et al.*,1998) به عنوان عامل ضد جلبکی جهت کاهش اثرات HAB_s به عنوان عامل کنترل شیمیایی پیشنهاد شده است که البته این عامل می تواند اثرات پاکسازی در سطح وسیعی از موجودات داشته باشد اما تحقیقات دیگری صورت گرفته تا از مواد ضد جلبکی بی خطر برای محیط زیست و موجودات دیگر جهت کنترل این پدیده تحت عنوان کنترل بیولوژیکی استفاده گردد که استفاده از جلبکهای دریایی بطور وسیع و با توجه به گسترش فصلی هر گونه (Hasler and Jones,1949) و باکتریها و ویروسها (Zheng, 2005) پیشنهاد گردیده است با توجه به اینکه می تواند اثراتی را بر موجودات دیگر و پیکره محیط زیست آنها داشته باشد بنابراین هیچ یک از این تکنیکهای کنترل شکوفایی مضر پلانکتونی بطور خاص بی تأثیر نیست ولیکن برای رفع این مشکل در محیطهای محصور و همچنین استفاده از روش فیزیکی که خطرات کمتری دارد در محیطهای دریایی این تکنیکها پیشنهاد شده و استفاده می شود. این تکنیکها به شرح ذیل می باشد:

۱- کنترل فیزیکی

این روش یکی از روشهای کار آمد جهت برطرف ساختن شکوفایی پلانکتونی می باشد در کنترل فیزیکی از خاک رس استفاده می شود خاک رس بدلیل کارایی بالا در از بین بردن داینوفلاژله ها به عنوان مطمئن ترین و مؤثرترین روش کنترل شکوفایی جلبکی داینوفلاژلا معرفی شده است خاک رس ارزان، فراوان و به آسانی در دسترس می باشد (Beaulieu,2005).کارایی بالای آن در حذف و از بین بردن آن بیش از ۸۰٪ و گاهاً ٪۹۹-۹۵٪ می باشد و با توجه به سازگاری آبزیان در ستون و بستر آب با مقادیر متنابهی از مواد معدنی موجود در خاک رس که ازطریق رودخانه و محیط اطرافشان وارد محیط آب می شود دارای حداقل اثرات زیان آور بر موجودات آبزی و محیط زیست آنها دارد. اثرات بد پخش خاک رس آنقدر پر اهمیت نیست که بر روی کیفیت آب و بستر تأثیری داشته باشد. همچنین هیچ اثر سمی مستقیمی بر روی آبزیان ندارد و

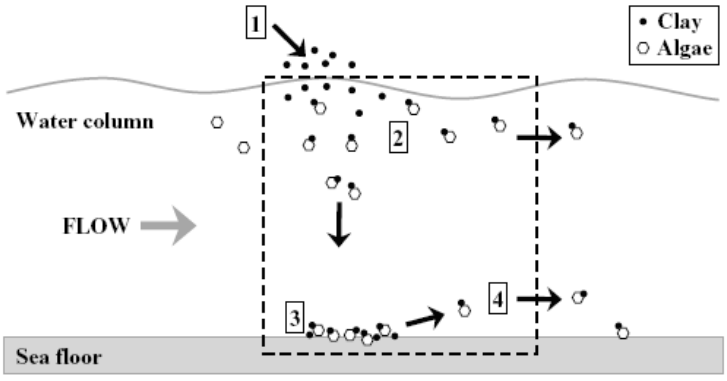
در نهایت استفاده از خاک رس غلظت مواد سمی را در سوسپانسیون آب دریا با اثر بر روی سلول کاملاً کاهش می دهد. اگر قبل از خاک رس از فلوکوله کننده شیمیایی چون پلی آلومین کلراید استفاده شود این تأثیر را از طریق افزایش پلهای ارتباطی روی سطح ذرات سریعترمی سازد. همچنین مرگ سلولهای جلبکی بر اثر تماس مستقیم با دانه های خاک رس بوجود می آید نه با آزادسازی مواد سیتو تکسین که توسط خاک رس رهاسازی می شود.کارایی خاک رس در رفع این پدیده حدود ۸۰٪ می باشد که آزمایش آن در محیط طبیعی با شرایط آزمایشگاهی اختلاف چندانی ندارد. مکانیسم اثر خاک رس بر روی سلولهای جلبکی در طبیعت به صورت زیر می باشد:

الف) اسپری نمودن خاک رس بر روی سطح آب

ب) چسبیدن خاک رس به سلول جلبکی

ج) رسوب مجموعه جلبک و خاک رس به کف بستر

د) به حالت معلق در آمدن مجموعه با افزایش جریان آب



شکل ۹: مکانیسم اثر خاک رس بر روی جلبک در محیط طبیعی(۱) اسپری نمودن خاک رس بر سطح آب (۲) چسبیدن خاک رس به سلول جلبکی (۳) رسوب مجموعه جلبک و خاک رس به کف (۴) به حالت معلق در آمدن مجموعه با افزایش جریان آب (Beaulieu,2005).

۲- کنترل بیولوژیکی

استفاده از عوامل بیولوژیک برای کاهش اثرات شکوفایی این گروه از فیتوپلانکتونها از دیگر راه حل ها می باشد. در آبهای شیرین برای کنترل شکوفایی ناشی از جلبکهای سبز – آبی از تغییر ساختار هرم غذایی به منظور افزایش تغذیه جلبک توسط چرندگان زئوپلانکتونی همچون کلادوسرها، لارو ماهیان، میکروزئوپلانکتونهایی چون روتیفر و مژکداران برای کاهش و کنترل شکوفایی داینوفلاژلا ها پیشنهاد می شود. یکی دیگر از راهکارهای کنترل بیولوژیکی شکوفایی جلبکی مضر(داینوفلاژلاها) استفاده از جلبک های ماکروسکوپی می باشد. جلبکهای دریایی بطور وسیعی پخش می شوند و فراوانی گونه های آنها به آسانی قابل شناسایی است، به عنوان یک پتانسیل منابع ضد جلبکی قیمت نسبتاً پائین و مناسبی دارند. واکنش بین جلبکهای ماکروسکوپی و میکروسکوپی بطور سالم برای کنترل شکوفایی مضر جلبکی در نواحی ساحلی استفاده می شود. جلبکهای ماکروسکوپی با داشتن رابطه آنتاگونیستی(ضد هم) هم در محیطهای طبیعی و هم در محیطهای آزمایشگاهی شناسایی شده اند(Hasler and Jones,1949). تحقیقات زیادی در این زمینه صورت گرفته که نشان داده گیاهان ماکروفیت مواد شیمیایی تولید می کنند که از رشد برخی جلبکهای میکروسکوپی دیگر جلوگیری می کند(Smith and Horne,1988 و Sfriso and Pavoni,1994). حتی یکسری از این مواد شناسایی و استخراج شده اند که بطور موفقیت آمیزی برای کنترل HAB خالص سازی شده اند(Nakai *et al*.,1999,2000 ;Jeong Jin and Dong,2003 ;Jin *et al*.,2000; Suzuki *et al*.,1998 *al*.,2005). بنابراین از عصاره جلبکهای دریایی، بافت تازه جلبکها و نیز آب محیط کشت حاوی جلبک تازه برای فعالیتهای ضد جلبکی نیز استفاده می شود و با بررسی دقیقتر آنها می توان برای کنترل انتخابی گونه های جلبکی مضر از علفهای دریایی و عصاره آنها که اثرا ت ضد جلبکی دارند استفاده کرد(Jeong *et al*.,2000).

۳- کنترل شیمیایی

استفاده از این روش برای کاهش شکوفایی داینوفلاژله ها مورد توجه زیادی قرار نگرفت بدلیل اینکه اثرات زیادی را بر روی سایر آبزیان دارد این روش بیشتر برای تمیز ساختن آبهای آشامیدنی و سیستمهای تصفیه آب شیرین تدارک دیده شده است. این مواد می تواند شامل سولفات مس، اکسیدانهای شیمیایی مانند کلرین، پراکسید، ازون و کلرامین باشد. در مطالعه ای که اثر پراکسید هیدروژن بر روی گونه *Gymnoidinum nagasakiense* مورد بررسی قرار گرفت این گونه پس از طی ۳۰ دقیقه با غلظت ۶-۵/۴ میلی گرم در لیتر از آن ماده متلاشی گردید. این روش می تواند اثرات کشنده گی بر روی سایر جلبکها و آبزیان داشته باشد. بنابراین سعی دراستفاده از این روش در کنترل مستقیم شکوفایی سلولهای جلبکی مضر ممکن است اثرات و نتایج ناخواسته بدی را در محیطهای طبیعی بدنبال داشته باشد(Chorus and Bartram,1999).

۳- مواد و روشها

۳-۱- مواد و وسایل مورد نیاز

مواد و وسایل مورد نیاز در این مطالعه عبارت بودند از: آکواریوم ، ترازو دیجیتال با دقت یک هزارم گرم(مارک AND مدلFX-۳۰۰i) ، اتوکلاو ۱۰۰ لیتری (مارک ریحان طب)، انکوباتور فن دار(مارک فن آزما)، اون (Oven) (مارک فن آزما)، شوری سنج(مارک ATAGO)، نور سنج(مارک LUTRON مدل ۱۱۰۸-LX)، لامپ مهتابی، پمپ هوا، چهار پایه UV جهت ضد عفونی فضای اتاق، دستگاه UV جهت ضد عفونی آب، پمپ وکیوم، میکروسکوپ اینورت نیکون(مدلTS۱۰۰)، انواع ظروف شیشه ای، الک ۲۵۰ میکرون، لام سدویک، لامل شیشه ای کوچک، پیپت شیشه ای بلند، پیپت پاستور، شیلنگ هوا، تعداد ۳ نوع آنتی بیوتیک(مارک SIGMA)، انواع مواد معدنی و شیمیایی(جهت تهیه محیط کشت جلبک)(مارک مرک)، ۳ نوع

ویتامین(مارک مرک)، خاک رس، مواد شیمیایی (مارک مرک) مانند پراکسید هیدروژن، پرمنگنات پتاسیم، سولفات مس، اسید استیک و هیپوکلرید سدیم، متانول، آب مقطر، جلبک های ماکروسکوپی بومی منطقه

۳-۲-روشها

روش کار در چهار مرحله به شرح ذیل انجام شد:

۱- کشت انبوه جلبک در آکواریوم

۲- استفاده از خاک رس جهت بررسی تأثیر آن به عنوان یک روش فیزیکی بر روی جلبک *C. polykrikoides*

۳- استفاده از جلبکهای ماکروسکوپی جهت بررسی تأثیر آن به عنوان روش بیولوژیکی (بررسی اثر آللوپاتیک) بر روی جلبک *C. polykrikoides*

الف - آزمایشات مربوط به تأثیر عصاره بخش آبی جلبکهای ماکروسکوپی بر روی جلبک *C. polykrikoides*

ب - آزمایشات مربوط به تأثیر عصاره ترکیب بخش آلی و آبی جلبکهای ماکروسکوپی بر روی جلبک *C. polykrikoides*

ج - آزمایشات مربوط به تأثیر کشت توأم جلبکهای ماکروسکوپی تازه و زنده با جلبک *C. polykrikoides*

د - آزمایشات مربوط به تأثیر محیط کشت حاوی جلبک های ماکروسکوپی تازه بر روی جلبک *C. polykrikoides*

۴- استفاده از موادی چون پراکسید هیروژن، پرمنگنات پتاسیم ، سولفات مس ، اسید استیک و هیپوکلرید سدیم به عنوان یک روش کنترل شیمیایی بر روی جلبک *C. polykrikoides*

۳-۲ -۱- کشت انبوه جلبک در آکواریوم

برای این کار ابتدا باید نمونه خالص شده از این جلبک را در اختیار داشت تا بتوان آن را در محیط آزمایشگاه و در آکواریوم کشت داد. جهت بدست آوردن نمونه خالص، از مناطقی که شکوفایی این گونه جلبکی رخ داده بود نمونه برداری در آبان ۱۳۸۷ صورت گرفت و به آزمایشگاه منتقل شد. سپس توسط عبدالعلیان و همکاران(سال ۱۳۹۱) خالص سازی انجام گرفت.

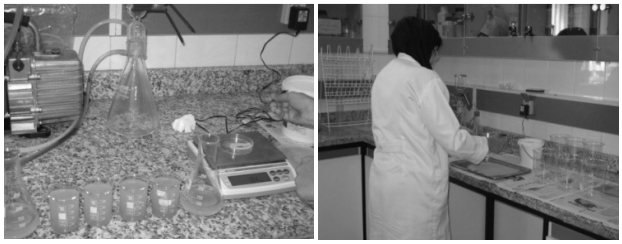
پس از بدست آمدن گونه خالص، از آکواریوم های ۸۰-۶۰ لیتری جهت کشت و نگهداری این جلبک استفاده شد. جهت کشت انبوه، ابتدا آب دریای ۳۲ppt را با استفاده از ظروف ۲۰ لیتری و یک دستگاه اتوکلاو استریل نموده و پس از خنک شدن و رسیدن به شرایط دمایی آزمایشگاه به داخل آکواریوم ریخته شد. پس از اضافه نمودن محیط کشت (ضمیمه۱) و استوک جلبک (تراکم ۱۰۰۰ cell/ml)، شرایط روشنایی (۹۰ $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) و دمایی (۲۶ درجه سانتیگراد) مناسب برای آن ایجادگردید. سطح باز بالای آکواریوم جهت قطع ارتباط با شرایط محیطی خارج از آکواریوم، با پلاستیک و چسب پوشانده گشت. جهت کشت موفقیت آمیز دو کار اصلی انجام شد: اولا قسمت پایین آکواریم تا ارتفاع ۳۰-۲۰ سانتی متر با استفاده از رنگ تیره و یا نوار چسب پهن مشکی، تاریک گشت 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 گردید. چنانچه پس از کشت جلبک شرایط محیطی در طول دوره مساعد و زیاد دچار نوسانات حرارتی نمی شد، جلبک از روز ۱۰ الی ۱۵ شروع به شکوفایی می کرد و روز ۲۸-۲۴ به اوج رشد رسیده و قابل برداشت می گردید(ضمیمه۲).

۳-۲-۲- استفاده از خاک رس جهت بررسی تأثیر آن به عنوان یک روش فیزیکی بر روی جلبک ***C. polykrikoides***

۳-۲-۲-۱- آماده سازی دوغاب خاک رس

پس از جداسازی و خالص سازی گونه جلبکی، در حجم آکواریومهای ۶۰-۴۰ لیتری به کشت انبوه رسیدند. در ابتدا تعدادی نمونه خاک رس به منظور انجام آزمایشات مربوط به کنترل فیزیکی از مناطق مختلف استان جمع آوری گشت و جهت تعیین میزان درصد رس فعال آن مورد آزمایش و بررسی قرار گرفت. از خاکهای

مورد بررسی هر نمونه که درصد رس[1] آن بیشتر و مناسبتر بود مورد استفاده قرار گرفت. برای این کار از فرمول و روش ارائه شده توسط مولد و ملنتیردر سال ۱۹۸۴ استفاده گردید، که میزان درصد رس بدست آمده در نمونه مورد استفاده ٪ ۳۹/۲ بود که از منطقه حاجی آباد در استان هرمزگان فراهم گردید(ضمیمه۳). پس از تعیین درصد رس جهت انجام آزمایشات دوغابی از خاک رس در دوزهای مختلف شامل ۰/۵ ، ۱/۵ ، ۱ ، ۲ ، ۴ و ۱۰ گرم در لیتر (Choi *et al*.,1998) تهیه گشت. جهت تهیه دوغاب ابتدا با الک ۲۵۰ میکرون خاک رس الک شد، سپس هر یک از مقادیر فوق در ۵۰ سی سی آب شیرین حل گردید و از خلال فیلتر ۶۰ میکرون عبور داده شد(Beaulieu *et al*.,2005) (شکل ۱۰) و سپس جهت تعیین بهترین میزان درصد کارایی خاک رس برای رسوب دهی جلبک مضر *C. polykrikoides* از آن استفاده گردید.



الف ب

شکل ۱۰: آماده سازی و تهیه دوغاب خاک رس. الف) الک کردن خاک رس ب) تهیه دوغاب خاک رس

۳-۲-۲-۲- نحوه آزمایش با دوغاب خاک رس

بدین منظور ابتدا میزان یک لیتر از جلبک *C. polykrikoides* که در آکواریومهای ۶۰ لیتری کشت داده شده بود به بشرهای یک لیتری منتقل گردید و هر کدام از مقادیر فوق به عنوان یک تیمار آزمایش انتخاب شد.سپس هرکدام از تیمارهای فوق در سه تکرار یعنی در سه عدد بشر یک لیتری وهمچنین سه تکرار برای کنترل مورد آزمایش قرار گرفت. شروع آزمایش پس از ریختن یک لیتر *C. polykrikoides* با تراکم مشخص (بین ۱۵-۱۴

[1] - clay

میلیون سلول در لیتر) بوسیله مقادیر مختلف خاک رس که به صورت دوغاب تهیه گشته بود مورد بررسی قرار گرفت. پس از همگن سازی، دوغاب به ظروف حاوی جلبک اضافه گشت ،که بعد از اضافه نمودن دوغاب خاک رس تراکم جلبکی پس از ۲۰،۴،۲ و ۲۴ ساعت (Beaulieu *et al*.,2005) در ستون آب بشرها مورد بررسی قرار گرفت(شکل۱۱) که بدین منظور از هر تیمار و هر تکرار آن میزان یک میلی لیتر نمونه در ساعات مورد نظر برداشت شد و بر روی لام سدویک مدرج ریخته و با محلول فرمالین یک درصد تثبیت گردید. سپس تراکم سلولی شمارش و ثبت گردید. درصد کارایی برداشت جلبکی با استفاده از فرمول ارائه شده زیر(Sengco *et al*.,2001) محاسبه گشت.

$$RE\%=1-(FDT/FDC)\times100$$

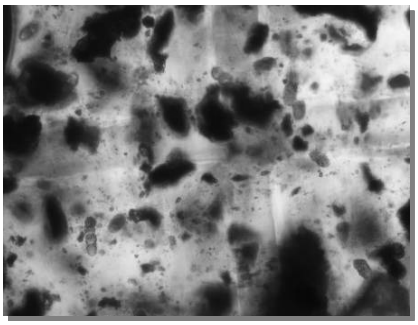
RE : درصد کارایی برداشت جلبکی

FDT: تراکم نهایی سلولهای کشت داده شده در تیمار آزمایش

FDC: تراکم نهایی سلولهای کشت داده شده در شاهد

الف

ب



ج

د

شکل ۱۱: آزمایشات مربوط به افزودن خاک رس در غلظتهای مختلف. الف)ظروف حاوی نمونه جلبکی. ب) افزودن دوغاب خاک رس. ج) سلولهای ته نشین شده در کف ارلن. د)نمونه ارلن حاوی گونه جلبکی قبل از افزودن دوغاب

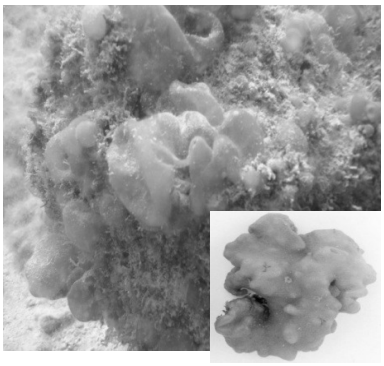
۳-۲-۳- استفاده از جلبکهای ماکروسکوپی جهت بررسی تأثیر آن به عنوان روش بیولوژیکی (بررسی اثر آللوپاتیک) بر روی جلبک ***C. polykrikoides***

۳-۲-۳-۱- جمع آوری جلبک ماکروسکوپی

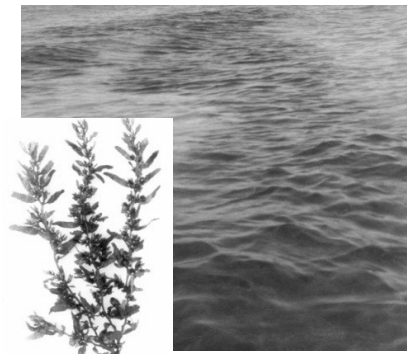
جدول شماره ۲ موقعیت جغرافیایی ایستگاههای نمونه برداری جلبک های ماکروسکوپی را نشان می دهد که از چهار منطقه مختلف از سواحل و جزایر استان هرمزگان(جدول ۲)(شکل۱۳) در ماه های بهمن و اسفند از ناحیه بین جزرومدی جمع آوری گردید.

در کل ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی مورد بررسی(شکل ۱۲) شامل: دو جلبک سبز *Ulva lactuca Enthromorpha intistialis* ، دو جلبک قهوه ای *Colpomenia sinuosa, Sargassum illicifolium* و دو جلبک قرمز *Gracilaria corticata* و *Hypnea valentiea* بود. نمونه های تازه تحت شرایط سرما و در یخدان به آزمایشگاه منتقل گردید.

Seaweed brown



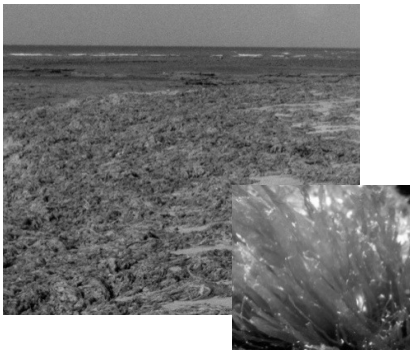
Colpomenia sinuosa



Sargassum illicifolium

green seaweed

ulva lactuca



Enthromorpha intistialis

seaweed red

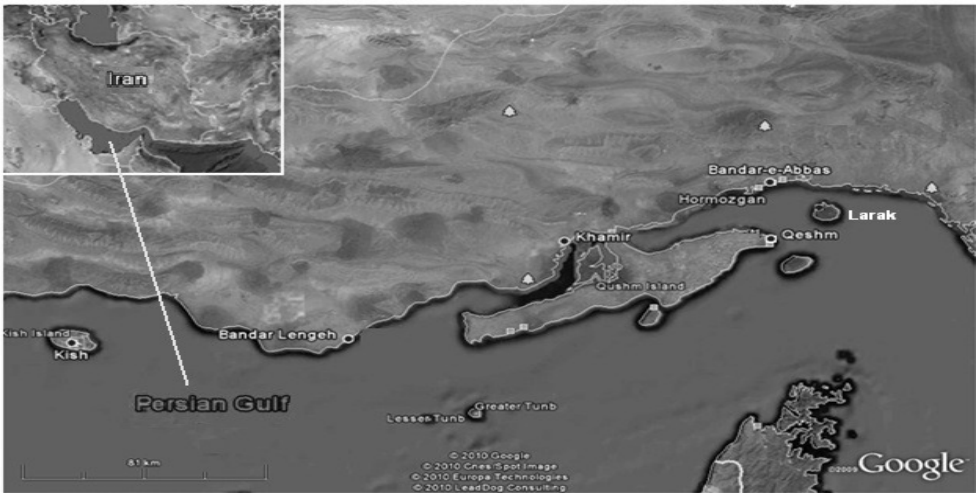
Hypnea valentiea

Gracilaria corticata

شکل ۱۲ : شش گونه جلبک ماکروسکوپی مورد آزمایش

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

گونه جلبک	مکان	مختصات جغرافیایی	زیست گاه اکولوژیکی	تاریخ نمونه برداری
جلبک سبز				
U. lactuca	جزیره لارک	26° 52' N, 56° 24' E	ماسه ای-گلی	فروردین
E. intestialis	بندرلنگه	26° 32' N, 54° 52' E	ماسه ای-گلی	مرداد
جلبک قهوه ای				
C. sinuosa	جزیره لارک	26° 52' N, 56° 24' E	ماسه ای-صخره ای	اسفند
S. illicifolium	بندرلنگه	26° 32' N, 54° 52' E	صخره ای	اردیبهشت
جلبک قرمز				
G. corticata	جزیره قشم	26° 55' N, 56° 14' E	صخره ای	فروردین
H. valentiea	جزیره قشم	26° 55' N, 56° 14' E	ماسه ای-گلی	اردیبهشت



شکل ۱۳: ایستگاه های نمونه برداری جلبک های ماکروسکوپی مورد بررسی(سایت Google earth)

۳-۲-۳-۲- آماده سازی جلبک ماکروسکوپی

بلافاصله بعد از جمع آوری جلبک، نمونه ها 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. سپس نمونه ها در پارچه های مرطوب و درون یخدان به پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان ، آزمایشگاه بخش آبزی پروری منتقل گردید. پس از انتقال به آزمایشگاه نیز نمونه ها مجدداً از موجودات چسبیده به تالهای آنها و ذرات شن و ماسه پاکسازی و تمیز گردید و با آب شیرین شستشو شد.

۳-۲-۳-۳- نگهداری جلبک ماکروسکوپی تازه

بدین منظور تعدادی از تالهای سالم جلبک ماکروسکوپی جدا گردید و پس از پاکسازی آن از مواد زائد با آب استریل وفیلتر شده دریا شستشو گشت. سپس با استفاده مخلوطی از آنتی بیوتیکهای پنیسیلین، کلرانفنیکل، پلی میکسین و نئومایسین ضدعفونی صورت گرفت(Jeong *et al*.,2000). پس از آن به آکواریوم های ۶۰ لیتری حاوی آب دریای فیلتر شده و استریل منتقل گردید. جهت انجام آزمایشات مربوط به تأثیر جلبک های ماکروسکوپی(کشت توأم ، عصاره آبی و آلی و محیط کشت فیلتر شده جلبک تازه) مقداری مواد مغذی به آن اضافه شد که از آنها در مراحل بعدی استفاده گردد(شکل ۱۴).

الف ب ج

شکل ۱۴: جمع آوری و نگهداری نمونه جلبکهای ماکروسکوپی تا زمان استفاده جهت آزمایشات. الف) توزین نمونه پس از پاکسازی و شستشو. ب) نگهداری نمونه در آکواریوم به همراه مواد مغذی. ج) نمونه برداری از سواحل صخره ای اطراف قشم

۳-۲-۳-۴- عصاره گیری از جلبک ماکروسکوپی با استفاده از حلالهای مناسب (آلی و آبی) و تهیه استوک عصاره

بمنظور استخراج عصاره از جلبکهای ماکروسکوپی، بعد از جداسازی مواد زائد، شستشو و نیز استریل کردن تالهای آن با ترکیبی از آنتی بیوتیکها، هر نمونه به تفکیک گونه آن در یک سبد تمیز جداگانه قرار داده شد که آب اضافه آن گرفته شود. سپس نمونه ها با استفاده از فریز درایر(یا اینکه در دمای اتاق و در فضای تمیز قرار داده شود و یا اینکه در دمای ۲۰ ºC در انکوباتور فن دار قرار داده شود) خشک شد و بعد با استفاده از خرد کن برقی پودر گردید. سپس پودر خشک آن در شرایط سرما در فریزر تا زمان عصاره گیری نگهداری گشت (شکل ۱۵ و ۱۶).

تهیه عصاره با استفاده از حلال آبی

بمنظور استخراج عصاره این جلبکها ، به ازای هر ۲۰ میلی گرم میزان یک میلی لیتر(هر ۱ گرم پودر خشک جلبک میزان ۵۰ سی سی آب مقطر) آب مقطر استریل به آن اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی و دمایی ۲۰ ºC قرار داده شد(Wang *et al.*,2007). هر چند ساعت یکبار ظرف آن تکان داده شد و پس از ۲۴ ساعت بخش آبی و مایع آن به ارلن دیگری منتقل گردید و مجدداً به میزان ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل به رسوب باقیمانده در ظرف اضافه گشت، این عمل سه بار تکرار شد(در دفعات دوم و سوم این زمان به ۸-۶ ساعت کاهش یافت) و بخش آبی آن در دفعه دوم و سوم پس از افزودن آب مقطر بعد از ۸-۶ ساعت جدا و به ارلن دیگری منتقل گشت. سپس بخش عصاره آبی استخراج شده با هم مخلوط گردید(Wang *et al.*,2007) و به

کمک دستگاه سانترفیوژ مواد معلق آن جدا شد. پس از آن عصاره های استخراج شده با فیلتر ۰/۴۵ میکرون فیلتر شد(Cho *et al*.,1999) و به کمک انکوباتور فن دار در دمای ۲۰°C در شرایط تاریکی قرار گرفت تا خشک شود(Rohani *et al*.,2011) (شکل ۱۵).

تهیه عصاره با استفاده از حلال آلی

برای تهیه عصاره بخش آلی با استفاده از حلال متانول روش کار به همان شکل روش فوق اجرا گردید. به ازای هر ۲۰ میلی گرم میزان یک میلی لیتر(هر ۱ گرم پودر خشک جلبک میزان ۵۰ سی سی متانول) حلال متانول به آن اضافه شد. این کار برای سه بار به همان روش فوق انجام گشت. سپس عصاره استخراج شده در هر سه دفعه با هم مخلوط گردید و به کمک دستگاه سانترفیوژ مواد معلق آن جدا شد. پس از آن عصاره های استخراج شده با فیلتر ۰/۴۵ میکرون فیلتر شد(Cho *et al*.,1999) و به کمک انکوباتور فن دار در دمای ۲۰°C در شرایط تاریکی قرار گرفت که خشک شود(Rohani *et al*.,2011)(شکل ۱۵).

تهیه استوک عصاره ترکیبی بخش آلی و آبی

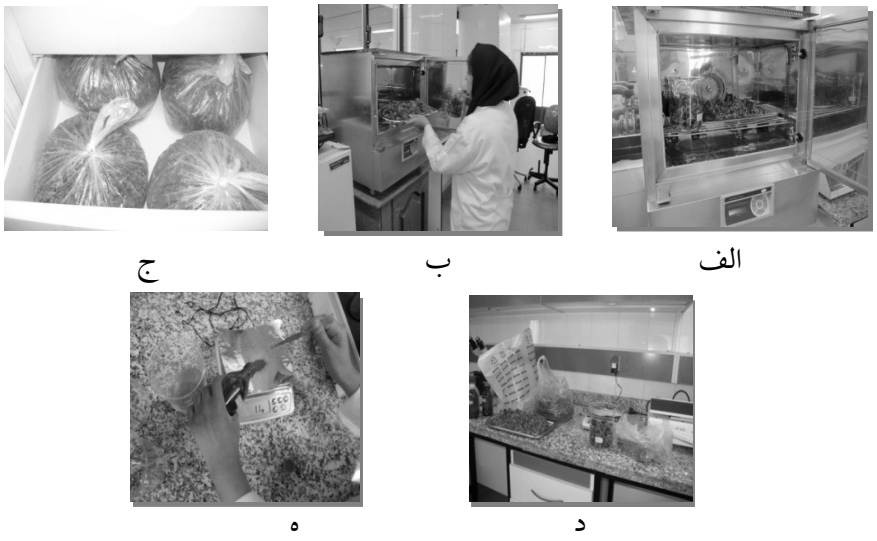
جهت تهیه این استوک به ازای ۴۰ میلی گرم پودر عصاره خشک بطور جداگانه از هر کدام از عصاره بخش آبی و آلی بترتیب یک میلی لیتر آب مقطر و یک میلی لیتر متانول به آنها اضافه گردید و همزده شد. سپس آن دو با هم ترکیب و مخلوط گشتند و از خلال کاغذ صافی ۰/۴۵ µm فیلتر گردید تا عصاره ای با دوز $\mu g\ ml^{-1}$ ۰/۲ (۰/۲ گرم در لیتر) بدست آید. پس از آن با توجه به غلظت مورد نظر جهت انجام آزمایشات با آب مقطر استریل رقیق سازی گردید(شکل ۱۶) (Cho *et al*., 1999).

این مرحله از آزمایش در دو فاز ۱- استفاده از عصاره حلال آبی ۲- استفاده از عصاره ترکیبی حلال آلی و آبی انجام شد.

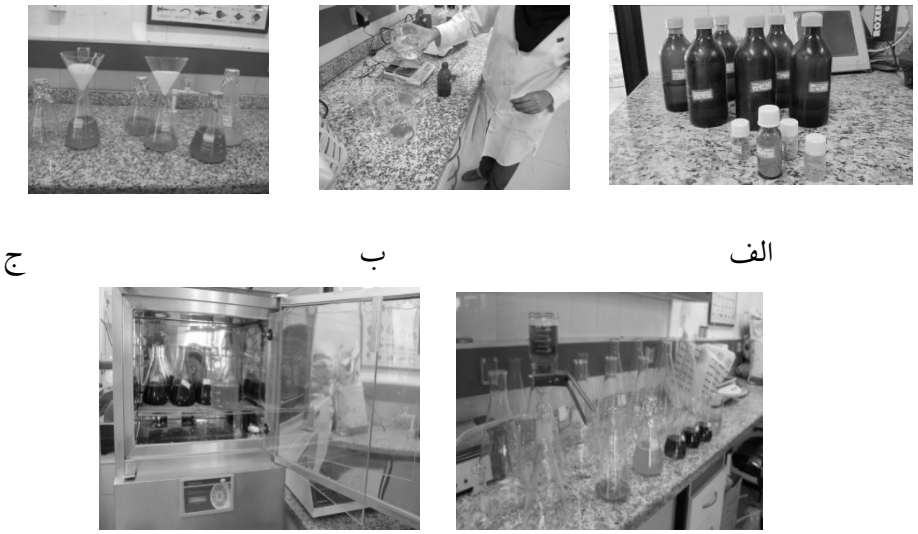
در فاز اول در مجموع ۷ تیمار در نظر گرفته شد که شامل ۱- شاهد۲- *U.lactuca* ۳- *E.intestialis* ۴- *H.valentiea* ۵- *G.cortica* ۶- *C.sinuosa* ۷- *S. illicifolium* بود. هر تیمار در سه تکرار مورد آزمایش قرار گرفت، که در این فاز از عصاره های حلال آبی استخراج شده این جلبکها استفاده گردید. عصاره این جلبک ها پس از آماده سازی ، با مقادیر ۰/۲ ، ۰/۸ و ۱/۶ (گرم در لیتر) به ارلن های ۵۰۰ سی سی محتوی جلبک *C. polykrikoides* با تراکم(cell/ml)۱۰۰۰ (Jeong *et al*.2000) به همراه محیط کشت f_2 تغییر یافته (رونوشت ۱) اضافه گردید و تیمار شاهد نیز بدون عصاره و تنها با محیط کشت f_2 کشت داده شد. تیمارها در شرایط مناسب حرارتی(۲۵-۲۶ درجه سانتیگراد) و روشنایی ($۹۰\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) توسط لامپ فلورسنت سفید و در یک سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ (Kim *et al*., 2004) به مدت ۱۵ روز کشت و نگهداری گشت. جهت بررسی روند رشد و همچنین شمارش سلول های جلبکی بصورت یک روز در میان از تیمارها نمونه برداری انجام گرفت و شمارش شدند(شکل ۱۶).

در فاز دوم از عصاره ترکیبی حلال آلی متانول و حلال آبی استخراج شده این ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی استفاده شد. در این فاز عصاره های بدست آمده از حلال آلی متانول و عصاره های حلال آبی(آب مقطر) در مقادیر ۰/۲ گرم در لیتر توزین و سپس به عصاره حلال آبی یک میلی لیتر آب مقطر و به عصاره حلال آلی یک میلی لیتر متانول اضافه گردید و بخوبی همزده شد. سپس آن دو عصاره با هم ترکیب و با مقداری آب مقطر رقیق گشت. سپس از خلال کاغذ فیلتر ۰/۴۵ میکرون عبور داده شد(Wang *et al*.,2007 ; Cho *et al*.,1999) (شکل ۱۶). پس از آماده سازی استوک ترکیب عصاره حلالهای آلی و آبی مانند بخش قبل در ۷ تیمار ۱- شاهد ۲- *U.lactuca* ۳- *E.intestialis* ۴- *H.valentiea* ۵- *G.cortica* ۶- *C.sinuosa* ۷- *S.illicifolium* مورد آزمایش قرار گرفت. هر تیمار در سه تکرار بررسی شد. استوک عصاره بدست آمده در دوز ۰/۲ گرم در لیتر به هر تکرار از هر تیمار درارلن های ۵۰۰ سی سی محتوی جلبک *C. polykrikoides* با تراکم ۱۰۰۰cell/ml (Jeong *et al*.2000) به همراه محیط کشت F_2 تغییر یافته اضافه گردید و تیمار شاهد نیز بدون عصاره و تنها با

محیط کشت F_2 کشت داده شد. تیمارها در شرایط مناسب حرارتی(۲۵-۲۶ درجه سانتیگراد) و روشنایی ($۹۰\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) توسط لامپ فلورسنت سفید و در یک سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ (Kim *et al.*, 2004) به مدت ۱۵ روز کشت و نگهداری شدند. سپس جهت بررسی روند رشد و شمارش سلولهای جلبکی بصورت یک روز در میان نمونه برداری انجام گرفت و یک میلی لیتر نمونه با محلول فرمالین ٪۱ ثابت گردید و با استفاده از لام سدویک و شمارشگر دیجیتالی شمارش انجام پذیرفت.



شکل ۱۵:خشک کردن جلبک و تهیه پودر خشک. الف)قرار دادن جلبک در انکوباتور. ب)جلبک خشک شده و خارج کردن آن از انکوباتور. ج)بسته بندی و نگهداری در فریزر. د)توزین و آسیاب جلبک خشک. ه)توزین پودر جلبک و آماده سازی جهت تهیه عصاره

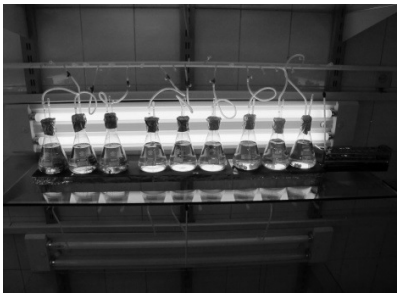


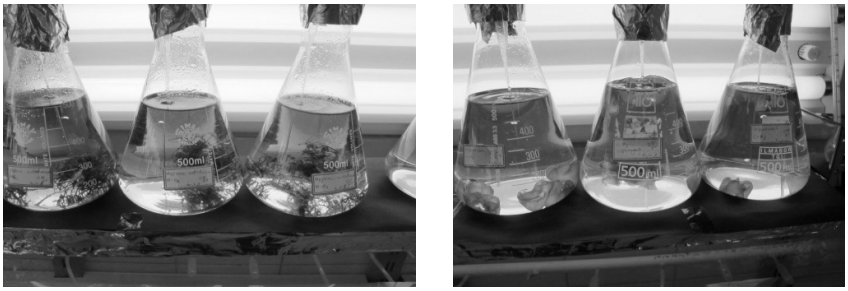
د و

شکل ۱۶: عصاره گیری و تهیه استوک عصاره جلبکهای ماکروسکوپی. الف) نمونه های پودر خشک جلبک ماکروسکوپی. ب) ریختن حلال بر روی پودر خشک جلبک. ج) فیلتر کردن عصاره استخراج شده بخش آبی و عصاره بخش آلی. د) فیلتر عصاره استخراج شده با استفاده از کاغذ فیلتر ۰/۴۵ میکرون. و) قرار دادن عصاره های فیلتر شده در شرایط استاندارد در انکوباتور فن دار جهت خشک شدن

۳-۲-۳-۵- کشت توأم جلبک ***C. polykrikoides*** با استفاده از بافت زنده جلبک‌های ماکروسکوپی

در این مرحله از آزمایش از هر گروه جلبکی(سبز،قرمز و قهوه ای) یک گونه جلبکی جمع آوری گردید و نمونه ها در ۴ تیمار شامل ۱- شاهد ۲- *E.intestialis* ۳- *H.valentiea* ۴- *C.sinuosa* مورد بررسی قرار گرفت. در این مرحله پس از انتقال جلبکها ی زنده به آزمایشگاه، شستشوی آنها و جدا سازی موجودات مزاحم ، در نهایت با محلول آنتی بیوتیک شستشو داده شد، سپس هر کدام از آنها در ۲ تیمار وزنی ۲/۵ و ۵ گرم در لیتر و در ۳ تکرار به درون ارلن های ۵۰۰ سی سی محتوی آب دریای استریل شده با شوری ppt ۳۲ قرار گرفت. سپس مقداری محیط کشت F_2 تغییر یافته اضافه و بعد جلبک *C. polykrikoides* با تراکم سلولی ۱۰۰۰ در میلی لیتر ، انتقال داده شد (شکل ۱۷). پس از آن به مدت ۱۵ روز در شرایط استاندارد آزمایشگاه (شرایط ذکر شده در فوق) نگهداری شدند (Wang *et al.*,2007). جهت بررسی روند رشد و شمارش تراکم سلولی آنها یک روز در میان به میزان یک سی سی نمونه برداشت و با استفاده از فرمالین ٪۱ ثابت و روی لام سدویک به کمک شمارشگر دیجیتال مورد شمارش قرار می گرفتند.





شکل ۱۷: نمونه های کشت داده شده با گونه های مختلف جلبک تازه

۳-۲-۳-۶- کشت جلبک ***C. polykrikoides*** با محیط کشت فیلتر شده جلبک تازه

بدین منظور از هر گروه جلبکی سبز، قرمز و قهوه ای یک گونه به ترتیب ۱- *E.intestialis* ۲- *H.valentiea* ۳- *C.sinuosa* انتخاب و در فصل رویش آن از سواحل و اطراف جزایر استان جمع آوری گردید. پس از انتقال جلبکهای زنده به آزمایشگاه، شستشو و جدا سازی موجودات مزاحم انجام و در نهایت با محلول آنتی بیوتیک شستشو شد. از هر کدام از گونه ها به میزان ۱۰ گرم در لیتر وزن تر توزین و به ارلن های حاوی آب دریای فیلتر شده منتقل گردید و به مدت ۷ روز در معرض نور با دوره روشنایی:تاریکی ۱۲:۱۲ همراه با هوادهی قرار داده شد. بعد از ۷ روز آب حاوی این جلبکها توسط کاغذ فیلتر ۰/۴۵ میکرون فیلتر و به ارلن های ۵۰۰ سی سی به همراه محیط کشت تغییر یافته F_2 و تراکم سلولی ۱۰۰۰ سلول در میلی لیتر از جلبک *C. polykrikoides* انتقال یافت. سپس به مدت ۱۵ روز در شرایط استاندارد آزمایشگاه (شرایط ذکر شده در فوق) نگهداری شد(Wang *et al.*,2007). جهت بررسی روند رشد و شمارش تراکم سلولی آنها یک روز در میان به میزان یک سی سی نمونه برداشت و با استفاده از فرمالین ٪۱ ثابت و روی لام سدویک به کمک شمارشگر دیجیتال مورد شمارش قرار می گرفتند.

۳-۲-۳-۷- تعیین نرخ رشد ویژه

پس از پایان دوره آزمایشات مربوط به بررسی تأثیر جلبکهای ماکروسکوپی (در تمامی فازها) با استفاده از پیپت پلاستیکی یکبار مصرف استریل، مقدار ۱ سی سی از نمونه ارلن ها برداشت و بر روی لام شمارش سدویک رافتر ریخته و با استفاده از یک قطره محلول فرمالین ٪۱ فیکس گردید. سپس با کمک یک دستگاه میکروسکوپ اینورت TS100 و یک دستگاه شمارشگر دیجیتال (LABTRON مدل LC-10) شمارش انجام شد و تعداد سلولهای جلبکی ثبت گشت و همچنین وضعیت جلبک از نظر تعداد سلول های تشکیل شده روزانه بررسی و تعیین گردید، که با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

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

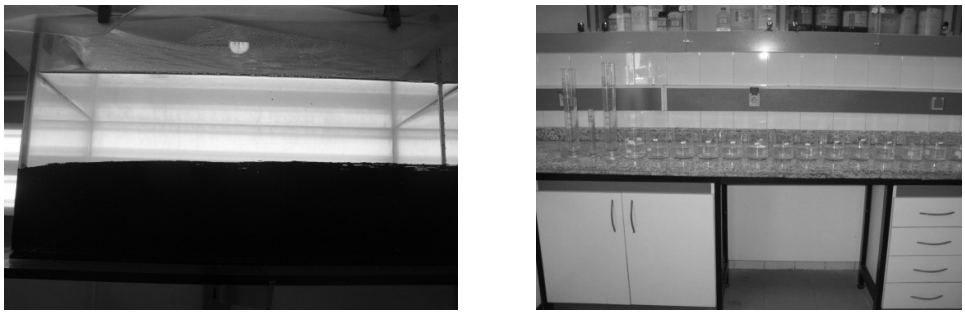
که N1 و N2 تعداد سلول فیتوپلانکتونی در زمان‌های t_1 (روز اول)و t_2 (روز آخر) می‌باشد (Yim *et al.*,2004)(Nan *et al.*,2008).

۳-۲-۳-۸- تعیین وزن خشک جلبکی

پس از پایان دوره آزمایشات مربوط به بررسی تأثیر جلبکهای ماکروسکوپی (در تمامی فازها) با استفاده از پیپت مدرج، میزان ۱۰ سی سی از نمونه کشت داده شده برداشت و توسط دستگاه پمپ وکیوم از خلال کاغذ فیلتر ۰/۴۵ میکرون عبور داده شد. قبل از آن کاغذ فیلتر تمییز بدون جلبک وزن گردید و پس از آن نمونه فیلتر شد و کاغذ همراه جلبک با استفاده از ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ وزن و ثبت گردید. سپس کاغذ در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه آون قرار داده شد. بعد از آن مجدداً کاغذ وزن گردید و از وزن اولیه کاغذ تفریق شد. عدد حاصل نشان دهنده وزن خشک جلبک بود که بر عدد ۱۰ تقسیم گردید که میزان وزن خشک در هر سی سی بدست آید.

۳-۲-۴- استفاده از موادی چون پراکسید هیدروژن ، پرمنگنات پتاسیم ، سولفات مس ، اسید استیک و هیپوکلرید سدیم به عنوان روش کنترل شیمیایی بر روی جلبک ***C. polykrikoides***

این روش به عنوان یک روش کنترل شیمیایی در ۵ تیمار ماده شیمیایی با نامهای پراکسید هیدروژن ، پرمنگنات پتاسیم، سولفات مس، اسید استیک و هیپوکلرید سدیم دردوزهای ۰/۰۵ ، ۰/۱ ، ۰/۵ ،۱ ، ۱/۵ گرم بر لیتر و هر غلظت از هر ماده شیمیایی در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور پس از کشت انبوه در آکواریوم های ۶۰ لیتری مقدار ۹۰۰ سی سی استوک برداشت و پس از شمارش و تعیین تراکم سلولی دربشرهای یک لیتری ریخته شد. سپس دوزهای مختلف مواد در ۱۰۰ سی سی آب شیرین بصورت محلول در آماده شد و به بشر ها اضافه گردید. جهت بررسی اثر این مواد در فواصل زمانی ۲ ، ۴ ،۲۰ و ۲۴ ساعت تراکم سلولی بشرهای حاوی جلبک اندازه گیری و داده های آن ثبت گشت(شکل ۱۸).



شکل ۱۸ : کشت انبوه در آکواریوم و انجام آزمایشات مواد شیمیایی

۳-۳- تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات و داده‌های بدست آمده در نرم‌افزار Excel وارد شده و نتایج توصیفی بصورت جدول و نمودار تهیه گردید. تحلیل آماری نتایج در برنامه SPSS و با بکارگیری آزمون‌های پارامتری (آنالیز و واریانس یک‌راهه و

دوراهه و آزمون‌های تفریقی Duncan) جهت مقایسه داده‌ها در سطح معنی دار برای داده ها ۰/۰۵ > P انجام گرفت.

۴- نتایج

۴-۱- تأثیر خاک رس بر روی جلبک ***C. polykrikoides***

نتایج حاصل از انجام آزمایشات مربوط به بررسی تأثیر دوغاب خاک رس بر روی رسوبدهی جلبک *C. polykrikoides* در جدول ۳ نشان داده شده است . نتایج حاصل از آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون درون گروهی توکی در تیمار های مختلف خاک رس که در زمانهای مختلف ۲،۴،۲۰ و ۲۴ ساعت مورد بررسی قرار گرفت نشان داد تیمار اول خاک رس یعنی ۰/۵گرم در لیتر بیشترین درصد کارایی را در زمان ۲ ساعت با میانگین ۵۳/۳ درصد و کمترین میزان را در زمان ۴ ساعت با میانگین ۳۹/۰ درصد دارا بوده است که اختلاف معنی داری در سطح P<۰/۰۵ بین بقیه ساعات وجود نداشت.

در تیمار ۲ خاک رس (۱گرم در لیتر) بیشترین درصد کارایی مربوط به تیمار زمانی ۲۰ ساعت با میانگین ۳۳/۰ درصد و کمترین آن با میانگین ۱۶/۳ درصد مربوط به زمان ۲ ساعت بود که اختلاف معنی داری در سطح P<۰/۰۵ بین آنها وجود داشت.

در تیمار ۳ خاک رس (۱/۵ گرم در لیتر) از مقایسه بین تیمارهای زمانی مختلف مشاهده شد که بیشترین درصد کارایی مربوط به زمان ۴ ساعت با میانگین ۲۵/۳ درصد و کمترین درصد کارایی با میانگین ۱/۷ درصد مربوط به تیمار زمانی ۲۴ ساعت بوده که اختلاف معنی داری را در سطح P<۰/۰۵ نشان دادند.

در تیمار ۴ خاک رس با میزان ۲ گرم خاک در لیتر بیشترین درصد کارایی خاک رس با میانگین ۳۳/۳ درصد در زمان ۴ ساعت و کمترین آن ۱۱/۳ درصد در زمان ۲۰ ساعت را نشان داد که اختلاف معنی داری بین آنها در سطح P<۰/۰۵ مشاهده گردید.

تیمار ۵ خاک رس به مقدار ۴ گرم در لیتر دارای بیشترین درصد کارایی در زمان ۲۰ و ۲۴ ساعت با میانگین ۹۹/۰ درصد و کمترین درصد کارایی با میانگین ۲۶/۷ درصد در زمان ۲ ساعت بود که اختلاف معنی داری را در سطح P<۰/۰۵ نشان دادند.

در تیمار ۶ خاک رس با میزان ۱۰ گرم در لیتر بیشترین درصد کارایی در زمان ۲۰ و ۲۴ ساعت با میانگین ۹۹/۰ درصد و کمترین آن در زمان ۲ ساعت با میزان ۳۶/۷ درصد وجود داشت که اختلاف معنی داری را بین آنها در سطح P<۰/۰۵ نشان داد.

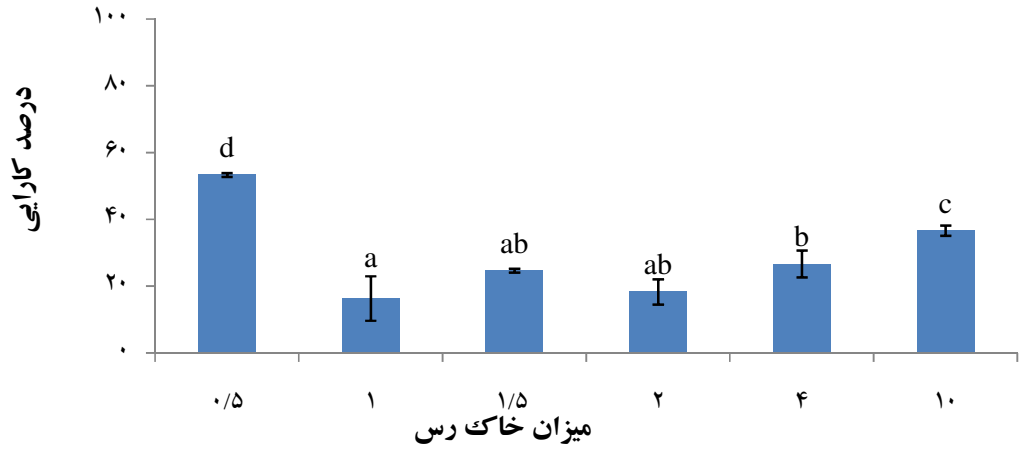
جدول۳: درصد بازدارندگی تأثیر دوزهای مختلف خاک رس بر روی جلبک *C. polykrikoides*

زمان / دوز خاک رس	۲ ساعت	۴ ساعت	۲۰ساعت	۲۴ ساعت
۰/۵ گرم در لیتر	۵۳/۳۳ ± ۰/۵۷^{a}	± ۱۰/۰۰^{a} ۳۹/۰۰	± ۸/۱۸^{a} ۴۵/۰۰	۴۶/۳۳ ± ۰/۵۷^{a}
۱ گرم در لیتر	۱۶/۳۳ ±۶/۶۵^{a}	۲۷/۰۰ ± ۱/۰۰^{ab}	± ۵/۲۹^{b} ۳۳/۰۰	۳۰/۶۶ ± ۰/۵۷ ^{b}
۱/۵ گرم در لیتر	۲۴/۶۶ ±۰/۵۷^{b}	۲۵/۳۳ ±۳/۲۱^{b}	± ۱/۰۰^{b} ۲۴/۰۰	۱/۶۶ ± ۰/۵۷^{a}
۲ گرم در لیتر	۱۸/۳۳ ± ۳/۷۸ ^{a}	۳۳/۳۳ ±۳/۷۸^{b}	± ۵/۱۳^{a} ۱۱/۳۳	۲۰/۳۳ ±۲/۵۱^{a}
۴ گرم در لیتر	۲۶/۶۶ ±۴/۰۴^{a}	۴۸/۰۰ ±۴/۵۸ ^{b}	۹۹/۰۰ ± ۰^{c}	۹۹/۰۰ ± ۰^{c}
۱۰ گرم در لیتر	۳۶/۶۶ ± ۱/۵۲^{a}	۵۱/۶۶ ±۴/۵۰^{b}	۹۹/۰۰ ± ۰^{c}	۹۹/۰۰ ± ۰^{c}

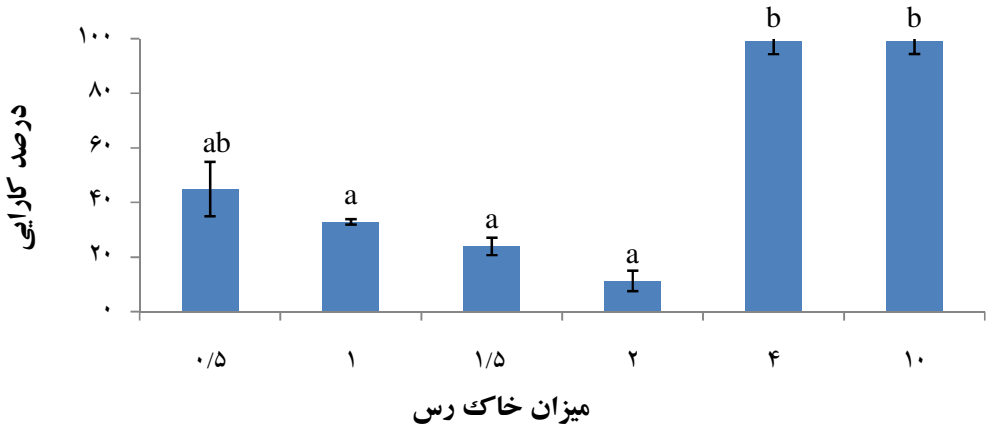
حروف نا متشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد (P<۰/۰۵).

بطور کلی به تفکیک زمانهای مختلف ۲۰،۴،۲ و ۲۴ ساعت تمامی دوزهای مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان دادند که در زمان ۲ ساعت بیشترین درصد کارایی را تیمار ۰/۵گرم خاک رس با میانگین ۵۳/۳ و کمترین را تیمار ۱ گرم با میانگین ۱۶/۳ داشت که اختلاف معنی داری را در سطح P <۰/۰۵ نشان دادند(شکل۱۹). در

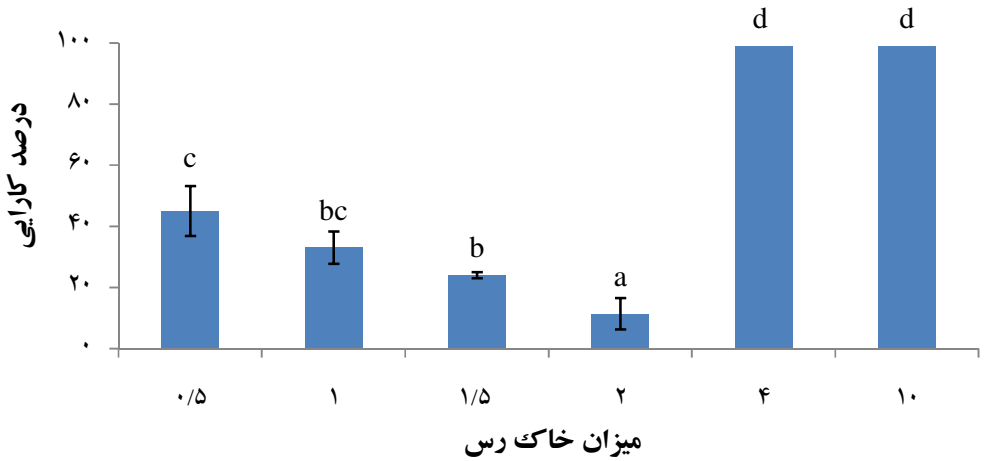
زمان ۴ ساعت بیشترین درصد کارایی را ۱۰ گرم خاک رس با میانگین ۵۱/۷ درصد و کمترین را تیمار ۱/۵ گرم با میانگین ۲۵/۳ نشان داد که دارای اختلاف معنی داری در سطح P<۰/۰۵ بودند(شکل ۲۰). در ۲۰ ساعت پس از پاشیدن دوغاب خاک رس بیشترین درصد کارایی مربوط به تیمار ۴ و ۱۰ گرم خاک رس با میانگین ۹۹/۰ درصد و کمترین آن مربوط به تیمار ۲ گرم با میانگین ۱۱/۳بوده است که دارای اختلاف معنی داری بین کمترین و بیشترینها در سطح P<۰/۰۵ بودند(شکل ۲۱). آنالیز داده ها در زمان ۲۴ ساعت نشان داد که بیشترین درصد کارایی در تیمار ۴ و ۱۰ گرم خاک رس با میانگین ۹۹/۰ درصد و کمترین آن در تیمار ۱/۵ گرم با میانگین ۱/۷ وجود داشت که دارای اختلاف معنی دار در سطح P<۰/۰۵ بودند(شکل ۲۲).



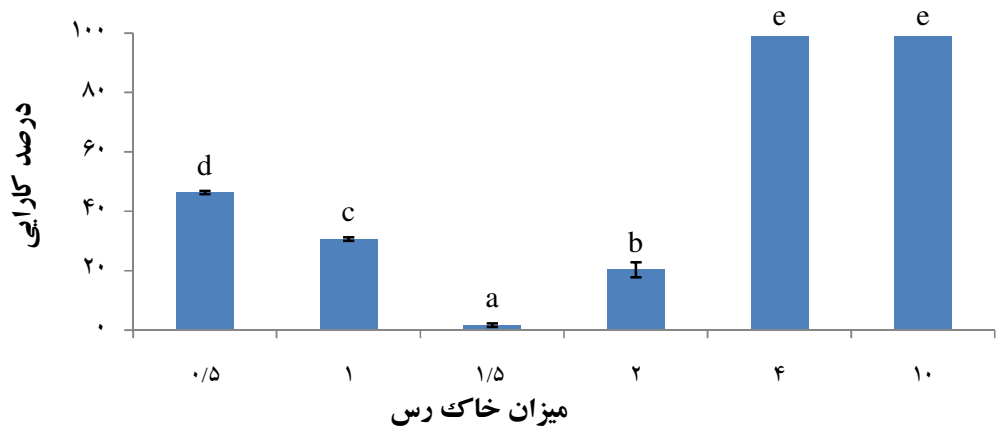
شکل ۱۹: درصد کارایی دوزهای مختلف خاک رس در زمان ۲ ساعت



شکل ۲۰ : درصد کارایی دوزهای مختلف خاک رس در زمان ۴ ساعت



شکل ۲۱ : درصد کارایی دوزهای مختلف خاک رس در زمان ۲۰ ساعت



شکل ۲۲: درصد کارایی دوزهای مختلف خاک رس در زمان ۲۴ ساعت

۴-۲- تأثیر جلبک های ماکروسکوپی بررشد جلبک ***C. polykrikoides***

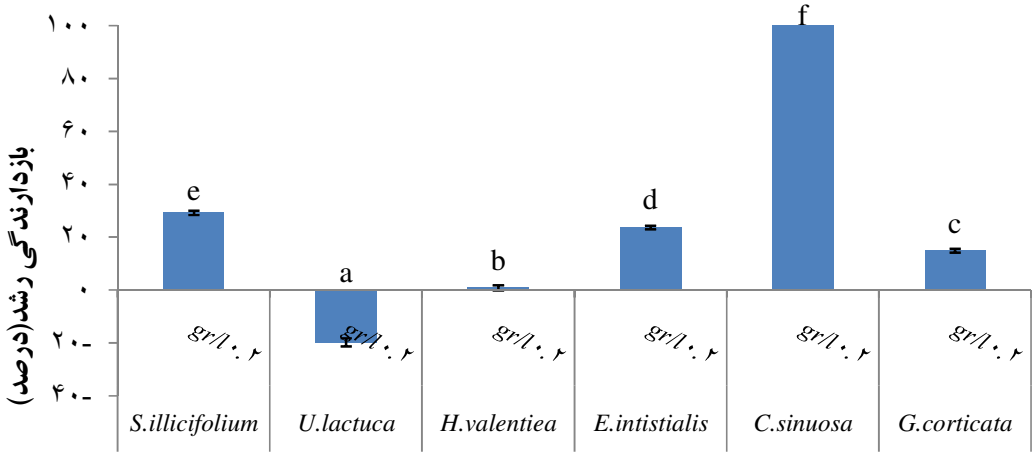
۴-۲-۱- نتایج تأثیر عصاره آبی جلبک های ماکروسکوپی بر رشد جلبک ***C. polykrikoides***

۴-۲-۱-۱- بررسی تأثیر عصاره حلال آبی بر روی درصد بازدارندگی رشد جلبک ***C. polykrikoides*** **(IR)**

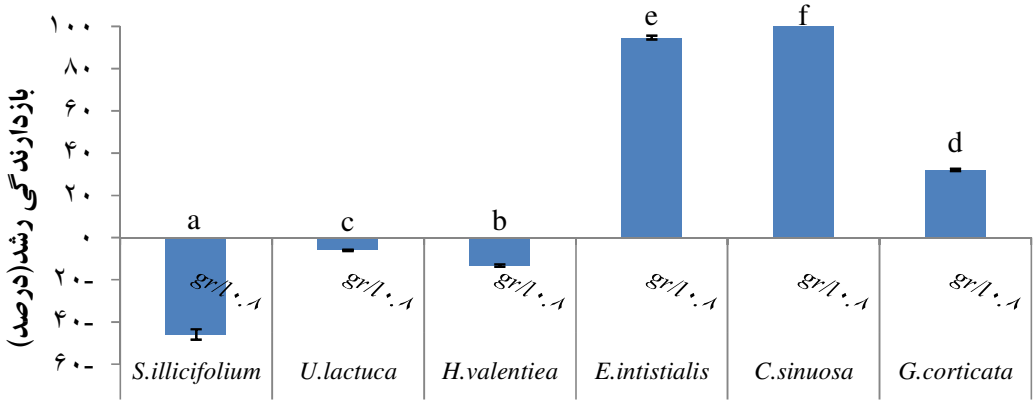
نتایج بررسی درصد بازدارندگی تأثیرعصاره آبی جلبک های ماکروسکوپی بر رشد جلبک *C. polykrikoides* در شکل ۲۴،۲۳ و ۲۵ نشان داده شده است. نتایج آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون درون گروهی توکی حاصل از تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بر روی رشد جلبک *C. polykrikoides* نشان داد که در دوز ۰/۲ گرم در لیتر کمترین درصد بازدارندگی مربوط به جلبک *U.lactuca* با میانگین ۱۹/۷- و بیشترین درصد بازدارندگی ۱۰۰ درصد و مربوط به جلبک *C.sinuosa* بود که اختلاف معنی داری در سطح P<۰/۰۵ داشتند(شکل۲۲). در تیمار آزمایشی دوز ۰/۸ گرم در لیتر نتایج نشان دادند که کمترین درصد بازدارندگی مربوط به جلبک *S.illicifolium* با میانگین ۴۵/۸- درصد و بیشترین درصد بازدارندگی۱۰۰ درصد متعلق به جلبک *C.sinuosa* بود که اختلاف معنی داری را نشان داد(P<۰/۰۵) (شکل۲۳).

در بررسی تأثیر دوز ۱/۶ عصاره حلال آبی بر روی جلبک *C. polykrikoides* نتایج نشان دادند که کمترین درصد بازدارندگی ۱۱/۵- مربوط به جلبک *U.lactuca* و بیشترین درصد بازداندگی ۱۰۰ درصد و متعلق به

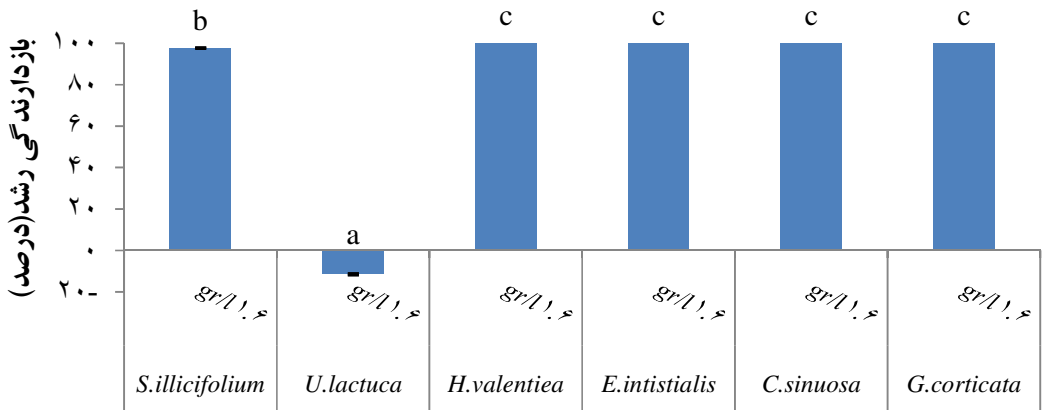
جلبک *C.sinuosa* ، *E.intestialis* ، *H.valentiea* ، *G.cortica* بود که اختلاف معنی داری را با کمترین درصد بازدارندگی در سطح P<۰/۰۵ نشان دادند(شکل۲۴).



شکل ۲۳ : درصد بازدارندگی تأثیر دوز ۰/۲گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides*



شکل ۲۴: درصد بازدارندگی تأثیر دوز ۰/۸گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides*



شکل ۲۵: درصد بازدارندگی تأثیر دوز ۱/۶ گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides*

در بررسی نتایج آماری داده های مربوط به تأثیر دوزهای مختلف عصاره حلال آبی جلبکهای ماکروسکوپی بر روی *C. polykrikoides* به تفکیک تأثیر دوزهای مختلف هر جلبک، در جلبک *U.lactuca* مشاهده شد که بیشترین درصد کارایی در دوز ۰/۸ با میانگین ۶/۰- و کمترین در دوز ۰/۲ با میانگین ۱۹/۷- درصد بوده است که اختلاف معنی داری را در سطح P<۰/۰۵ نشان دادند. این نتایج در جلبک *S.illicifolium* نشان داد که کمترین درصد بازدارندگی ۴۵/۸- در دوز ۰/۸ و بیشترین آن ۹۷/۷ در دوز ۱/۶گرم در لیتر بود که اختلاف معنی داری بین آنها مشاهده شد(P<۰/۰۵). نتایج مورد بررسی در جلبک *H.valentiea* مشخص نمود که کمترین درصد کارایی ۱۳/۷- مربوط به دوز ۰/۸ گرم در لیتر و بیشترین آن ۱۰۰ درصد در دوز ۱/۶ بوده که اختلاف معنی داری را در سطح P<۰/۰۵ نشان دادند. در جلبک *E.intestialis* کمترین درصد کارایی در دوز ۰/۲ و با میانگین ۲۳/۷ و بیشترین مقدار ۱۰۰ درصد و متعلق به دوز ۱/۶ بود که اختلاف معنی داری داشتند (P<۰/۰۵). این نتایج در جلبک *C.sinuosa* نشان دهنده کارایی ۱۰۰ درصد در تمامی دوزها بود و هیچ گونه اختلاف معنی داری بین آنها وجود نداشت. در نتایج آماری جلبک *G.cortica* مشاهده شد که کمترین درصد کارایی ۱۴/۹ و در دوز

۰/۲ گرم در لیتر و بیشترین آن ۱۰۰ درصد و مربوط به دوز ۱/۶ بود که اختلاف معنی داری در سطح P<۰/۰۵ نشان داد(جدول۴).

جدول۴ : درصد بازدارندگی تأثیر غلظتهای مختلف عصاره حلال آبی جلبک ماکروسکوپی بر روی رشد جلبک *C. polykrikoides*

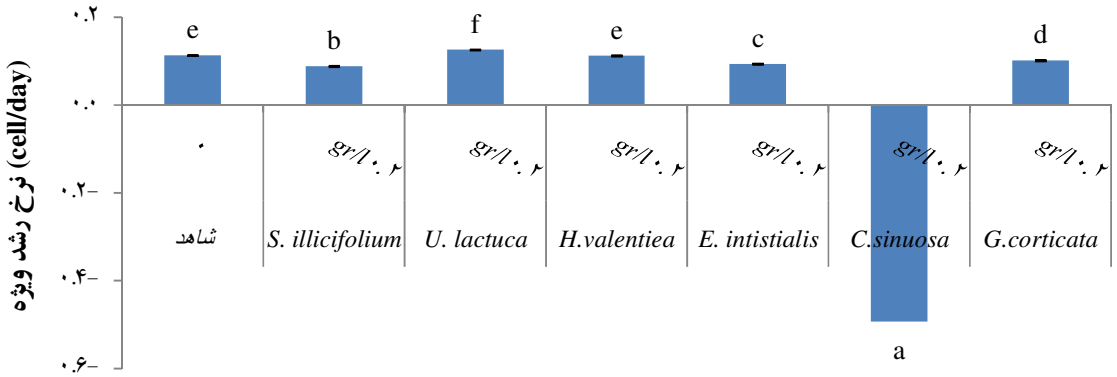
دوز عصاره / نوع جلبک	۰.۲ گرم در لیتر	۰.۸ گرم در لیتر	۱.۶ گرم در لیتر
Sargassum illicifolium	۲۹/۲ ± ۰/۸^{b}	−۴۵/۸ ±۲/۵ ^{a}	۹۷/۷ ± ۸/۲^{c}
Ulva lactuca	−۱۹/۷ ± ۱/۶ ^{a}	−۶/۰ ±۰/۳^{c}	−۱۱/۵ ± ۰/۴ ^{b}
Hypnea valentiea	۰/۹ ±۰/۹^{b}	−۱۳/۲ ±۰/۶^{a}	۱۰۰/۰ ± ۰^{c}
Enthromorpha intistialis	۲۳/۷ ±۰/۶^{a}	۹۴/۸ ± ۰/۹^{b}	۱۰۰/۰ ± ۰^{c}
Colpomenia sinuosa	۱۰۰/۰ ± ۰^{a}	۱۰۰/۰± ۰^{a}	۱۰۰/۰ ± ۰^{a}
Gracilaria corticata	۱۴/۹ ± ۰/۷^{a}	۳۲/۰ ± ۰/۵^{b}	۱۰۰/۰ ± ۰^{c}

حروف نا متشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد (P<۰/۰۵).

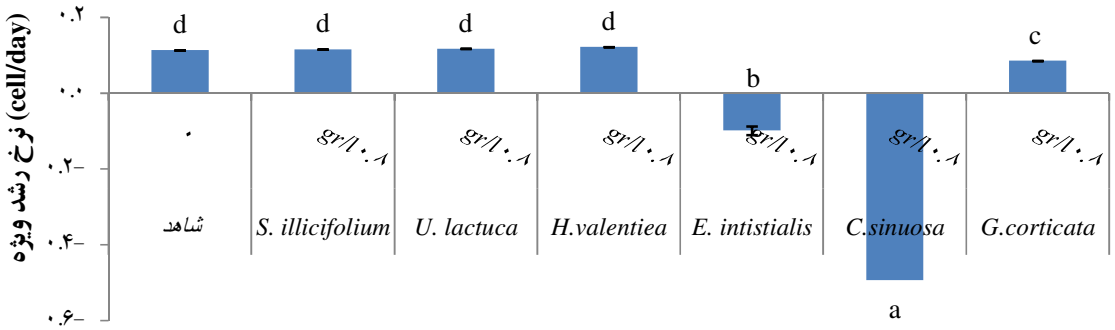
۴-۲-۱-۲- بررسی تأثیر عصاره حلال آبی بر نرخ رشد ویژه جلبک ***C. polykrikoides*** (**SGR**)

نتایج داده های مربوط به بررسی نرخ رشد ویژه حاصل از تأثیر عصاره حلال آبی جلبکهای ماکروسکوپی در شکل ۲۷،۲۶ و ۲۸ نشان داده شده است. نتایج آنالیز آماری در دوز ۰/۲ مشخص نمود که بیشترین نرخ رشد ویژه جلبک *C. polykrikoides* مربوط به جلبک *U.lactuca* با میانگین ۰/۱۲۶ و کمترین آن *C.sinuosa* با میانگین ۰/۴۹۳- بود که درسطح P<۰/۰۵ اختلاف معنی داری را نشان داد(شکل ۲۶). در دوز ۰/۸گرم در لیتر بیشترین نرخ رشد ۰/۱۲۲ و متعلق به جلبک *H.valentiea* و کمترین مقدار آن ۰/۴۹۳- مربوط به جلبک *C.sinuosa* بود که اختلاف معنی داری را نشان دادند و این اختلاف هم در دوز ۰/۲ و هم ۰/۸ بین کمترین نرخ رشد و تیمار

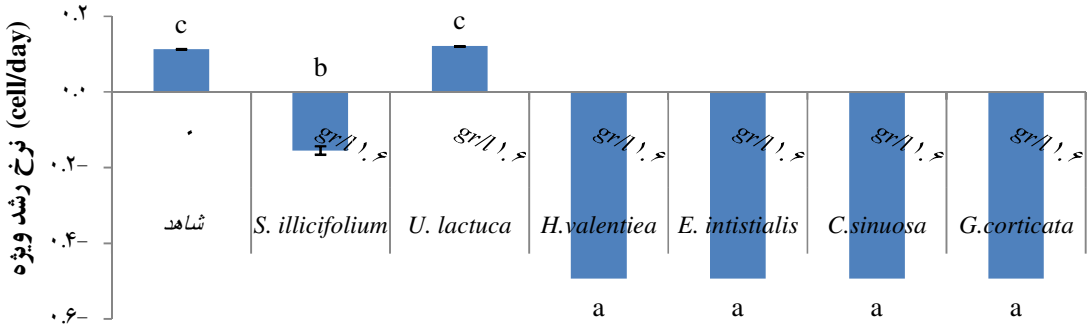
شاهد معنی دار بود($P<0/05$)(شکل ۲۷). در دوز ۱/۶ نتایج نشان داد که کمترین نرخ رشد ۰/۴۹۳- و مربوط به جلبک *H.valentiea*، *C.sinuosa*، *E.intestialis* و *G.cortica* بود و بیشترین آن ۰/۱۲۰ مربوط به جلبک *U.lactuca* بود که اختلاف معنی داری بین آنها وجود داشت($P<0/05$)(شکل ۲۸).



شکل ۲۶: تأثیر دوز ۰/۲ گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی مختلف بر روی نرخ رشد ویژه جلبک *C. polykrikoides*



شکل ۲۷: تأثیر دوز ۰/۸ گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی مختلف بر روی نرخ رشد ویژه جلبک *C. polykrikoides*



شکل ۲۸ : تأثیر دوز ۱/۶ گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی مختلف بر روی نرخ رشد ویژه جلبک *C. polykrikoides*

در بررسی نتایج آماری داده های مربوط به تأثیر دوزهای مختلف عصاره حلال آبی جلبکهای ماکروسکوپی بر روی *C. polykrikoides* به تفکیک تأثیر دوزهای مختلف هر جلبک در جلبک *C.sinuosa* نشان داد که نرخ رشد در هر سه دوز ۰/۴۹۳- بوده و اختلاف معنی داری با تیمار شاهد با میانگین ۰/۱۱۳ نشان دادند(P<۰.۰۵). در جلبک *U.lactuca* بیشترین نرخ رشد ۰/۱۲۶در دوز ۰/۲ گرم در لیتر و کمترین در تیمار۰/۸ گرم در لیتر با میانگین ۰.۱۱۷۳ بود که با بیشترین نرخ رشد و همچنین تیمار شاهد با میانگین ۰/۱۱۳ اختلاف معنی داری را نشان داد(P<۰/۰۵). این نتایج در جلبک *S.illicifolium* بیشترین نرخ رشد را در دوز ۰/۸با میانگین ۰/۱۱۵ و کمترین را در دوز ۱/۶ با میانگین ۰/۱۵۴- نشان داد و اختلاف معنی داری بین آنها و نیز بین کمترین و تیمار شاهد مشاهده شد(P<۰/۰۵). در *H.valentiea* نشان دادند که بیشترین نرخ رشد متعلق به دوز ۰/۸ با میانگین ۰/۱۲۲و کمترین متعلق به تیمار ۱/۶ با میانگین ۰/۴۹۳- بوده است که اختلاف معنی داری بین آنها مشاهده شد و همچنین نیز بین کمترین نرخ رشد و تیمار شاهد اختلاف معنی دار بود(P<۰/۰۵). نتایج حاصل از بررسی در *E.intestialis* نشان داد که بیشترین نرخ رشد ۰/۰۹۳ در دوز ۰/۲ و کمترین آن ۰/۴۹۳- در دوز ۱/۶ بود که بین آنها اختلاف معنی دار وجود داشت و نیز بین کمترین و تیمار شاهد هم اختلاف معنی دار مشاهده شد (P<۰/۰۵

). در *G.cortica* بیشترین نرخ رشد ۰/۱۰۱ در دوز ۰/۲ و کمترین ۰/۴۹۳- در دوز ۱/۶ بود که دارای اختلاف معنی دار نیز بودند و همچنین بین آنها با تیمار شاهد نیز اختلاف معنی دار بود (P<۰/۰۵).

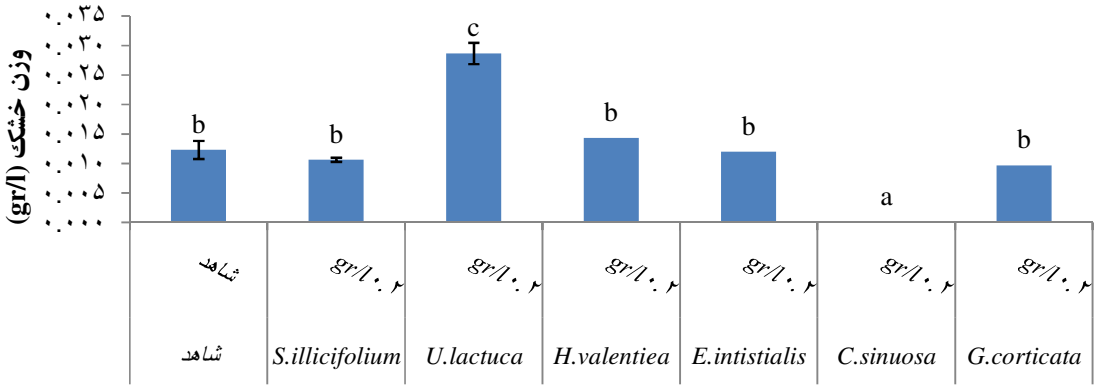
جدول ۵: تأثیر دوزهای مختلف عصاره حلال آبی جلبک ماکروسکوپی بر روی نرخ رشد ویژه رشد جلبک *C. polykrikoides*.

دوز / عصاره / نوع جلبک	۰.۲ گرم در لیتر	۰.۸ گرم در لیتر	۱.۶ گرم در لیتر	شاهد
U.lactuca	± ۰/۰۰۰۷[a] ۰/۱۲۶۰	۰/۱۱۷۳ ±۰/۰۰۰۴[a]	۰/۱۲۰۹ ±۰/۰۰۰۱[a]	± ۰/۰۰۰۳[b] ۰/۱۱۳۲
S.illicifolium	± ۰/۰۰۰۹[b] ۰/۱۱۲۵	۰/۱۲۲۰ ± ۰/۰۰۰۵[c]	−۰/۴۹۳۴ ± ۰۰[a]	± ۰/۰۰۰۳[b] ۰/۱۱۳۲
H.valentiea	± ۰/۰۰۰۹[b] ۰/۰۸۸۵	۰/۱۱۵۴ ±۰/۰۰۰۳ [c]	−۰/۱۵۴۳ ±۰/۰۱۱۱[a]	± ۰/۰۰۰۳[b] ۰/۱۱۳۲
E.intistialis	±۰/۰۰۰۴[c] ۰/۰۹۳۹	±۰/۰۱۱۳[b] −۰/۰۹۸۴	−۰/۴۹۳۴ ± ۰۰[a]	± ۰/۰۰۰۳[b] ۰/۱۱۳۲
C.sinuosa	−۰/۴۹۳۴ ± ۰۰[a]	−۰/۴۹۳۴ ± ۰۰[a]	−۰/۴۹۳۴ ± ۰۰[a]	± ۰/۰۰۰۳[b] ۰/۱۱۳۲
G.corticata	±۰/۰۰۰۷[c] ۰/۱۰۱۷	۰/۰۸۵۵ ±۰/۰۰۰۴[b]	−۰/۴۹۳۴ ± ۰۰[a]	± ۰/۰۰۰۳[b] ۰/۱۱۳۲

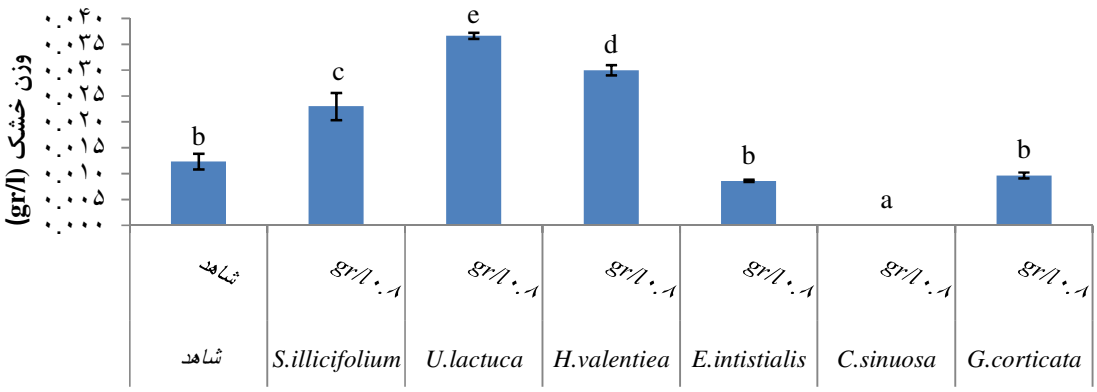
حروف نا متشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد (P<۰/۰۵).

۴-۲-۱-۳- بررسی تأثیر عصاره حلال آبی بر روی وزن خشک جلبک ***C. polykrikoides*** (**DW**)

نتایج حاصل از بررسی در شکل ۲۹، ۳۰ و ۳۱ نمایان است. نتایج آماری حاصل از این بررسی در دوز ۰/۲ نشان داد که بیشترین وزن خشک ۰/۰۲۸۶ و متعلق به جلبک *U.lactuca* وکمترین آن صفر و متعلق به جلبک *C.sinuosa* بوده است و اختلاف معنی داری با یکدیگر داشتند (P<۰/۰۵). در دوز ۰/۸ نتایج نشان دادند که بیشترین وزن خشک ۰/۰۳۶۶متعلق به *U.lactuca* و کمترین آن صفر و مربوط به*C.sinuosa* بود که اختلاف معنی داری بین آنها وجود داشت (P<۰.۰۵). این بررسی ها در دوز ۱/۶ نشان داد که بیشترین میزان وزن خشک ۰/۰۲۱۳و مربوط به*U.lactuca* و کمترین مقدار صفر و متعلق به جلبکهای *G.cortica* ، *C.sinuosa*، *E.intestialis* و *H.valentiea* بود که اختلاف معنی داری بین کمترین و بیشترین مقدار وجود داشت(P<۰/۰۵).

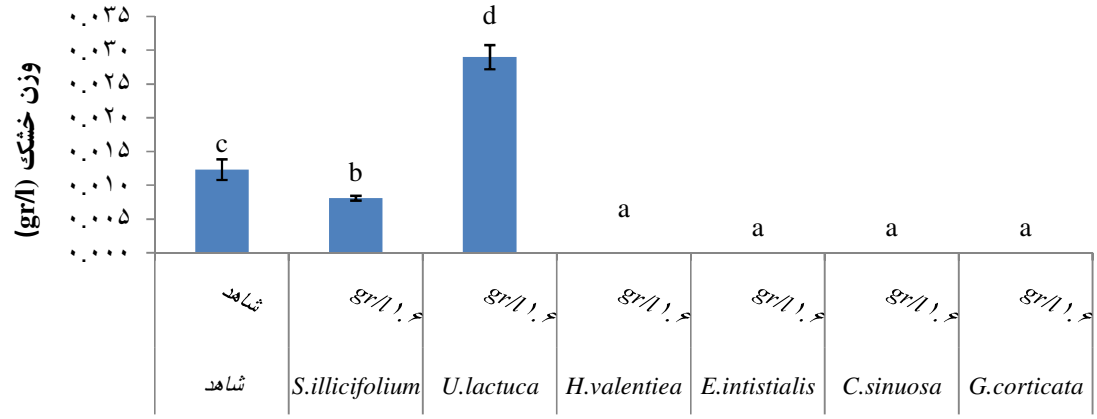


شکل ۲۹: تأثیر دوز ۰/۲ گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی مختلف بر روی وزن خشک جلبک *C. polykrikoides*



شکل ۳۰: تأثیر دوز ۰/۸گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی مختلف بر روی وزن خشک جلبک

C. polykrikoides



شکل ۳۱: تأثیر دوز ۱/۶گرم در لیترعصاره حلال آبی گونه های جلبکی بر روی مختلف وزن خشک جلبک

C. polykrikoides

در بررسی نتایج آماری داده های مربوط به تأثیر دوزهای مختلف عصاره حلال آبی جلبکهای ماکروسکوپی بر روی *C. polykrikoides* به تفکیک تأثیر دوزهای مختلف هر جلبک مشخص شد که *C.sinuosa* بیشترین وزن خشک را در شاهد با میانگین ۰/۰۱۲۳ و کمترین میزان صفر را در دوز۰/۲، ۰/۸ و ۱/۶ دارا بود و اختلاف معنی داری بین آنها و نیز بین کمترین و تیمار شاهد وجود داشت($P<۰/۰۵$). در جلبک *E.intestialis* کمترین وزن خشک صفر در دوز ۱/۶ و بیشترین ۰/۰۱۲۳در شاهد بود که اختلاف معنی داری با یکدیگر و نیز بین کمترین و تیمار شاهد مشاهده شد($P<۰/۰۵$). نتایج بررسی در *G.cortica* نشان داد که کمترین وزن خشک صفر در

دوز۱/۶ بود و اختلاف معنی داری را با تیمار شاهد که بیشترین وزن خشک را داشت در سطح۰/۰۵> P نشان دادند. در نتایج آماری *H.valentiea* که کمترین وزن خشک صفر در دوز ۱/۶ و بیشترین وزن خشک ۰/۰۳۰۰ در دوز ۰/۸ بود که اختلاف معنی داری را نشان داد(P<۰/۰۵). نتایج بررسی در دوزهای مختلف *S.illicifolium* مشخص نمود که کمترین وزن خشک ۰/۰۰۸۰ در دوز ۱/۶ و بیشترین ۰/۰۲۳۰ در دوز ۰/۸ بود که اختلاف معنی داری بین آنها وجود داشت(P<۰/۰۵). در نتایج آماری *U.lactuca* مشاهده شد که کمترین وزن خشک ۰/۰۱۲۳ و مربوط به شاهد و بیشترین وزن خشک ۰/۰۳۶۶ مربوط به دوز ۰/۸ بود که اختلاف معنی داری بین آنها مشاهده شد(P<۰/۰۵)(جدول۶).

جدول۶: تأثیر دوزهای مختلف عصاره حلال آبی جلبک ماکروسکوپی بر روی وزن خشک جلبک

. C. polykrikoides

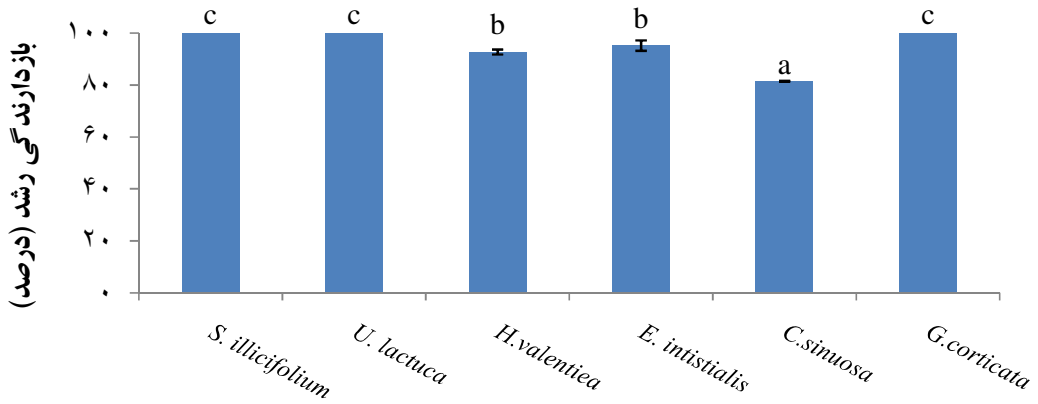
دوز عصاره / نوع جلبک	۰.۲ گرم در لیتر	۰.۸ گرم در لیتر	۱.۶ گرم در لیتر	شاهد
U.lactuca	۰/۰۲۸۶ ±۰/۰۱۵^{b}	۰/۰۳۶۶ ±۰/۰۰۵^{c}	۰/۰۲۱۳ ±۰۰^{b}	۰/۰۱۲۳ ± ۰/۰۰۱۵^{a}
S.illicifolium	± ۰/۰۱۷^{ab} ۰/۰۱۰۶	۰/۰۲۳۰ ±۰/۰۲۶^{c}	۰/۰۰۸۰ ±۰/۰۰۵^{a}	۰/۰۱۲۳ ± ۰/۰۰۱۵^{b}
H.valentiea	۰/۰۱۴۳ ±۰/۰۰۴^{b}	۰/۰۳۰۰ ±۰/۰۰۵^{c}	۰۰ ±۰۰^{a}	۰/۰۱۲۳ ± ۰/۰۰۱۵^{b}
E.intistialis	۰/۰۱۲۰ ±۰/۰۱۰^{c}	۰/۰۰۸۶ ± ۰/۰۰۳^{b}	۰۰±۰۰^{a}	۰/۰۱۲۳ ± ۰/۰۰۱۵^{c}
C.sinuosa	۰۰ ±۰۰^{a}	۰۰ ± ۰۰^{a}	۰۰ ±۰۰^{a}	۰/۰۱۲۳ ± ۰/۰۰۱۵^{b}
G.corticata	۰/۰۰۹۶ ± ۰۰^{b}	۰/۰۰۹۶ ± ۰۰^{b}	۰۰ ±۰۰^{a}	۰/۰۱۲۳ ± ۰/۰۰۱۵^{c}

حروف نا متشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد (P<۰/۰۵).

۴-۲-۲- نتایج تأثیر عصاره ترکیبی حلالهای آبی و آلی بر جلبک های ماکروسکوپی بر رشد جلبک ***C. polykrikoides***

۴-۲-۲-۱- بررسی درصد بازدارندگی رشد جلبک ***C. polykrikoides*** در اثر تأثیر عصاره ترکیبی حلال آبی و آلی (**IR**)

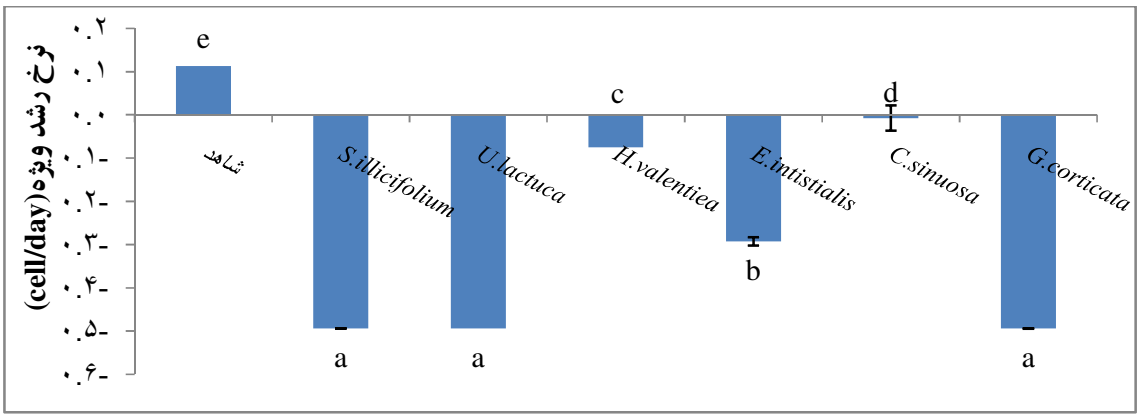
نتایج حاصل از محدوده تغییرات رشد جلبکی در شکل ۳۲ نمایان شده است. نتایج حاصل از آنالیز واریانس یکطرفه در فاز آزمایشی تأثیر عصاره ترکیبی حلال آبی و آلی نشان داد که از بین شش گونه جلبکی در سه گروه جلبکی(سبز، قرمز و قهوه ای) جلبک قهوه ای *C.sinuosa* دارای کمترین درصد باز دارندگی رشد با میانگین ۸۱/۵ درصد و جلبک های *U.lactuca* ، *S.illicifolium* ، *G.cortica* با ۱۰۰ درصد بازدارندگی دارای بیشترین بازدارندگی رشد بودند که اختلاف معنی داری در سطح P<۰/۰۵ ما بین کمترین و بیشترین بازدارندگی رشد مشاهده گردید.



شکل ۳۲: تأثیر دوز ۰/۲گرم در لیترعصاره ترکیبی حلال آبی و آلی(متانول) گونه های جلبکی مختلف بر روی درصد بازدارندگی رشد در جلبک *C. polykrikoides*

۴-۲-۲-۲- بررسی تأثیر عصاره ترکیبی حلال آبی و آلی بر روی نرخ رشد ویژه جلبک ***C. polykrikoides*** (**SGR**)

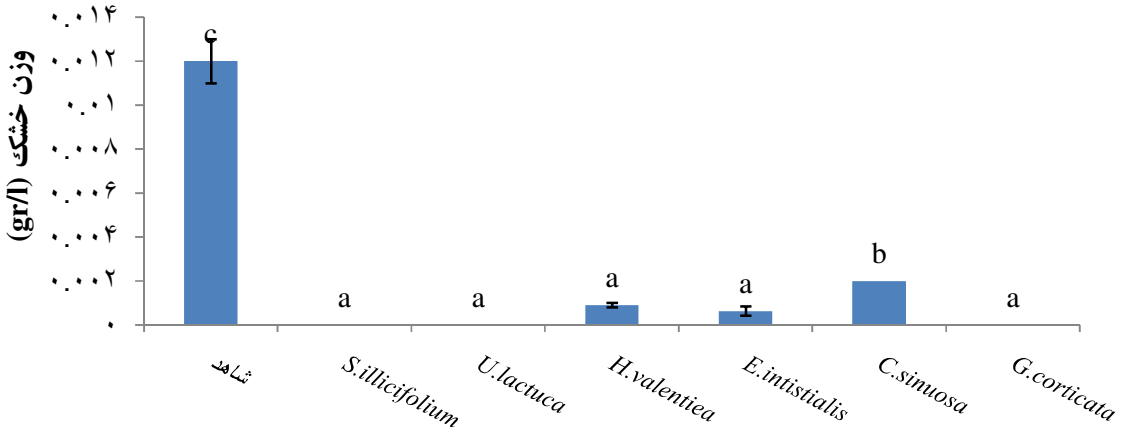
نتایج مربوط به نرخ رشد ویژه جلبک *C. polykrikoides* در شکل ۳۳ نشان داده شده است. نتایج آنالیز واریانس یکطرفه داده ها مشخص نمود که بیشترین نرخ رشد ویژه مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۰/۱۱۳ و کمترین نرخ رشد ویژه مربوط به سه گروه جلبکی *G.cortic* ,*U.lactuca* و *S. illicifolium* با میانگین ۰/۴۹۳- بوده است که ما بین کمترین و بیشترین نرخ رشد ویژه اختلاف معنی داری در سطح P<۰/۰۵ وجود داشت .



شکل ۳۳ : تأثیر دوز ۰/۲گرم در لیترعصاره ترکیبی حلال آبی و آلی(متانول) گونه های جلبکی مختلف بر روی نرخ رشد ویژه جلبک *C. polykrikoides*

۴-۲-۲-۳- بررسی تأثیر عصاره ترکیبی حلال آبی و آلی بر روی وزن خشک جلبک ***C. polykrikoides*** (**DW**)

نتایج حاصله در شکل ۳۴ نمایان شده است. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری واریانس یکطرفه داده ها نشان داد که بیشترین وزن خشک جلبکی مربوط به گروه آزمایشی شاهد با میانگین ۰/۰۱۲ و کمترین میانگین وزن خشک جلبکی صفر و مربوط به گروه های جلبکی *U.lactuca* ، *E.intestialis* ، *S.illicifolium* ، *H.valentiea* ، *G.cortica* بوده است که مابین کمترینها و بیشترین وزن خشک اختلاف معنی داری در سطح P<۰/۰۵ مشاهده شد.

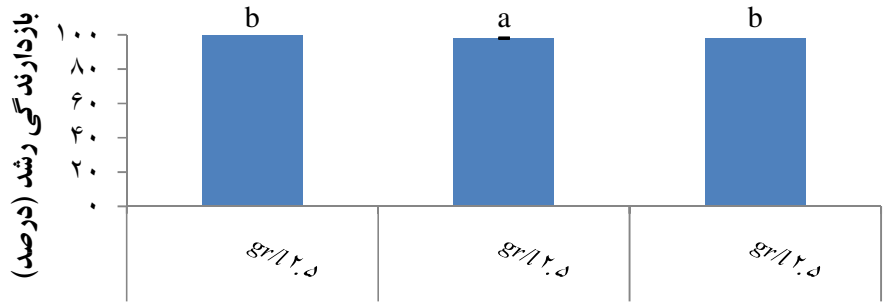


شکل ۳۴: تأثیر دوز ۰/۲گرم در لیترعصاره ترکیبی حلال آبی و آلی(متانول) گونه های جلبکی مختلف بر روی وزن خشک جلبک *C. polykrikoides*

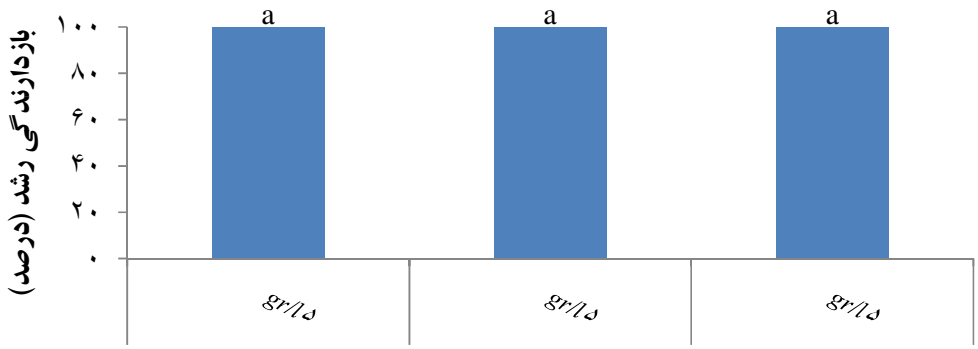
۴-۲-۳- نتایج کشت توأم جلبک های ماکروسکوپی تازه(زنده) با جلبک ***C. polykrikoides***

۴-۲-۳-۱- بررسی تأثیر کشت توأم بافت تازه و زنده جلبکهای ماکروسکوپی بر روی درصد بازدارندگی رشد جلبک ***C. polykrikoides*** (**IR**)

نتایج بررسی درصد بازدارندگی تأثیر کشت توأم بافت تازه و زنده جلبکهای ماکروسکوپی با*C. polykrikoides* در شکل ۳۵ و ۳۶ نشان داده شده است. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل درون گروهی توکی داده ها نشان داد، بین بافت تازه سه گروه جلبکی در وزن ۲/۵ گرم ۱۰۰ درصد بازدارندگی وجود داشت که مربوط به *H.valentiea* و *C.sinuosa* بود و کمترین مقدار ۹۸ درصد مربوط به جلبک *E.intestialis* بود که اختلاف معنی داری بین آنها در سطح $P<۰/۰۵$ مشاهده شد. این نتایج در تیمار وزنی ۵ گرم نشان داد که تمامی تیمارهای آزمایش اختلاف معنی داری در سطح $P<۰/۰۵$ نداشتند و با ۱۰۰ درصد بازدارندگی بیشترین درصد بازدارندگی را بر روی رشد جلبک *C. polykrikoides* دارا بودند.



شکل ۳۵: تأثیر وزن ۲/۵ گرم بافت تازه گونه های جلبکهای ماکروسکوپی مختلف بر روی درصد بازدارندگی رشد جلبک *C. polykrikoides*



شکل ۳۶: تأثیر وزن ۵ گرم بافت تازه گونه های جلبکهای ماکروسکوپی مختلف بر روی درصد بازدارندگی رشد جلبک *C. polykrikoides*

اما ما بین گروههای جلبکی در هر دو تیمار وزنی کمترین درصد بازدارندگی را *E.intestialis* با میانگین ۹۸ درصد دارا بود و بقیه جلبکها در بقیه اوزان بیشترین درصد بازدارندگی یعنی ۱۰۰ درصد را دارا بودند که بین کمترین و بیشترین درصد بازدارندگی اختلاف معنی داری مشاهده شد(جدول۷).

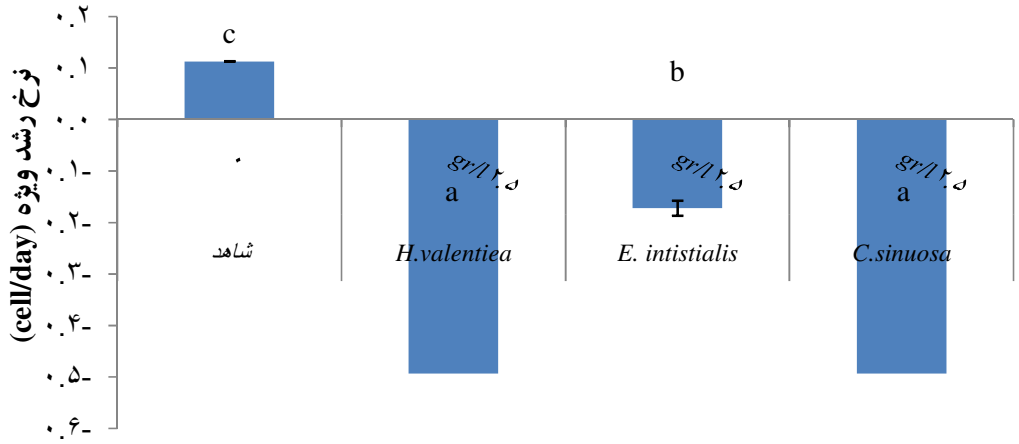
جدول۷: تأثیر وزنهای مختلف جلبکهای ماکروسکوپی بر روی درصد بازدارندگی رشد جلبک *C. polykrikoides* .

وزن بافت تازه / نوع جلبک	۲.۵ گرم در لیتر	۵گرم در لیتر
H.valentiea	۱۰۰/۰۰±۰۰^{b}	۱۰۰/۰۰±۰۰^{a}
E.intestialis	۹۸/۱۶±۰/۳۶^{a}	۱۰۰/۰۰±۰۰^{a}
C.sinuosa	۱۰۰/۰۰±۰۰^{a}	۱۰۰/۰۰±۰۰^{a}

حروف نا متشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد (P<۰.۰۵).

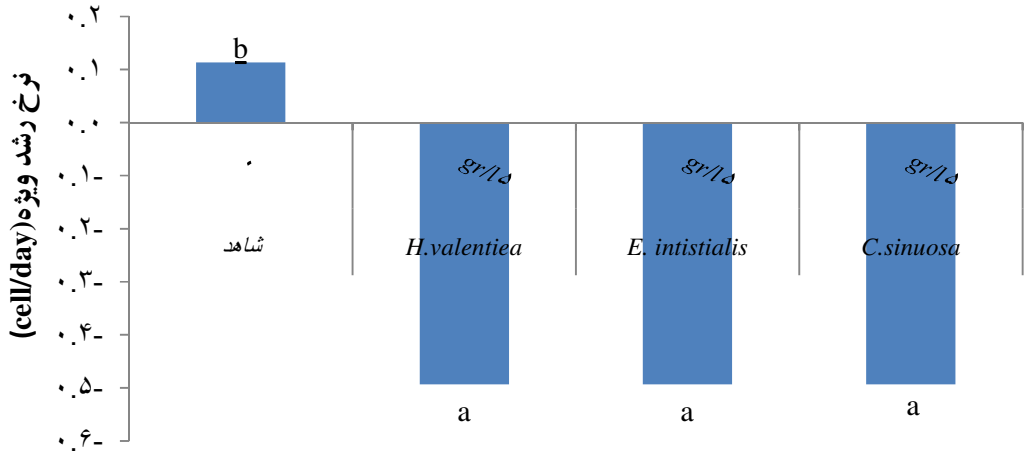
۴-۲-۳-۲- بررسی نرخ رشد ویژه در کشت توأم بافت تازه و زنده جلبکهای ماکروسکوپی با ***C. polykrikoides*** **(SGR)**

نتایج داده های این آزمایش درشکل ۳۷ و ۳۸ مشخص شده است. نتایج حاصل از آنالیز واریانس یکطرفه داده نشان داد که بیشترین نرخ رشد ویژه مربوط به تیمار شاهد با میانگین وزنی ۰/۱۱۳ و کمترین آن مربوط به تیمار آزمایشی *H.valentiea* و *C.sinuosa* در هر دو وزن و *E.intestialis* در وزن ۵ گرم با میانگین وزنی ۰/۴۹۳- بود که اختلاف معنی داری را در سطح P<۰/۰۵ نشان دادند.



شکل ۳۷: تأثیر وزن ۲/۵ گرم بافت تازه گونه های جلبکی مختلف بر روی نرخ رشد ویژه جلبک

C. polykrikoides

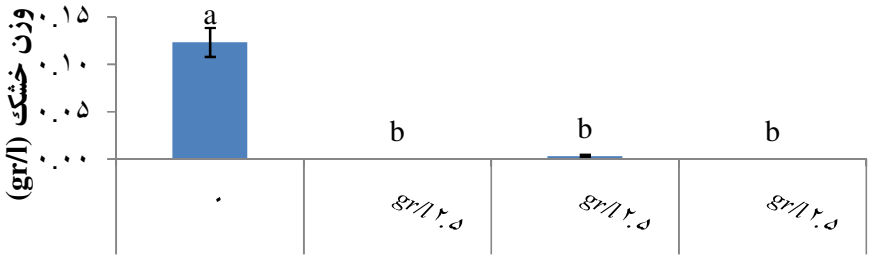


شکل ۳۸: تأثیر وزن ۵ گرم بافت تازه گونه های جلبکی مختلف بر روی نرخ رشد ویژه جلبک

C. polykrikoides

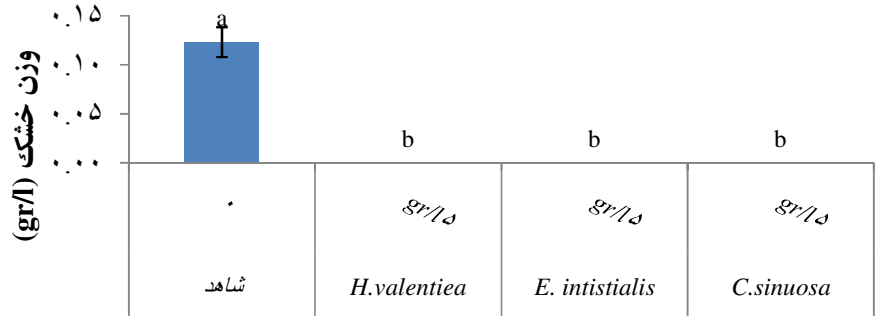
۴-۲-۳-۳- بررسی وزن خشک جلبکی در کشت توأم بافت تازه و زنده جلبکهای ماکروسکوپی با ***C. polykrikoides*** (**DW**)

نتایج حاصل از داده های این آزمایش درشکل ۳۹ و ۴۰ نشان داده شده است. نتایج آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون درون گروهی توکی حاصل از کشت توأم بافت تازه و زنده جلبکهای ماکروسکوپی با *C. polykrikoides* نشان داد که بیشترین وزن خشک جلبکی مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۰/۰۱۲۳ و کمترین وزن خشک جلبکی صفر و مربوط به هر دو تیمار وزنی در جلبکهای *H.valentiea* و *C.sinuosa* و وزن ۵ گرم در *E.intestialis* بود که اختلاف معنی داری در سطح $P<۰/۰۵$ بین آنها وجود داشت.



شکل ۳۹ : وزن خشک جلبکی در تأثیر وزن ۲/۵ گرم بافت تازه گونه های جلبکی مختلف بر روی جلبک

C. polykrikoides

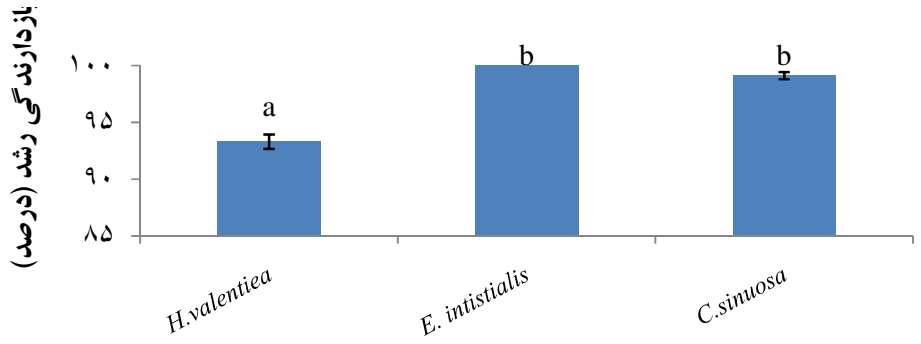


شکل ۴۰ : تأثیر وزن ۵ گرم بافت تازه گونه های جلبکی مختلف بر روی وزن خشک جلبک *C. polykrikoides*

۴-۲-۴- نتایج کشت توأم محیط کشت آبی حاوی جلبک های ماکروسکوپی تازه(زنده) با جلبک ***C. polykrikoides***

۴-۲-۴-۱- بررسی تأثیر کشت توأم محیط کشت آبی جلبکهای ماکروسکوپی تازه (زنده) بر روی درصد بازدارندگی رشد جلبک ***C. polykrikoides*** **(IR)**

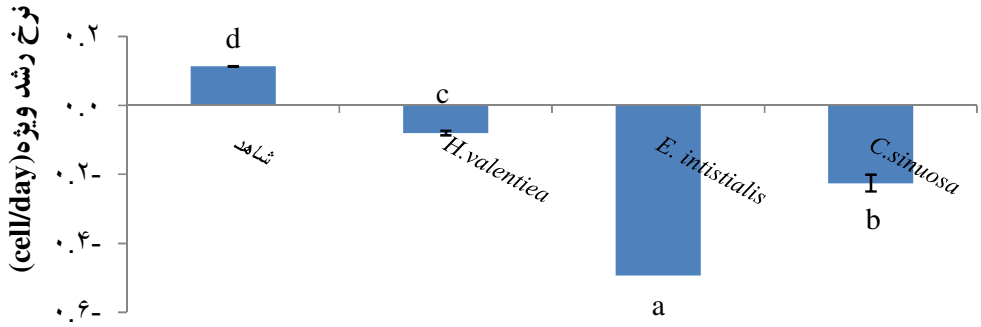
نتایج حاصل از بررسی ها در شکل ۴۱ نشان داده شده است. نتیجه آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون توکی جهت بررسی و مقایسه تیمارهای انتخابی نشان داد که بیشترین درصد بازدارندگی رشد در بین سه گروه جلبکی مربوط به *H.valentiea* با میانگین ۹ درصد و کمترین آن مربوط به *E.intestialis* با میانگین ۱ درصد بود که اختلاف معنی داری در سطح $P<۰/۰۵$ بین آنها مشاهده شد.



شکل ۴۱ : تأثیر محیط کشت آبی حاوی گونه های جلبک های ماکروسکوپی تازه بر روی درصد بازدارندگی رشد جلبک *C. polykrikoides*

۴-۲-۴-۲- بررسی تأثیرکشت توأم محیط کشت آبی جلبکهای ماکروسکوپی تازه (زنده) بر روی نرخ رشد ویژه جلبک ***C. polykrikoides*** **(SGR)**

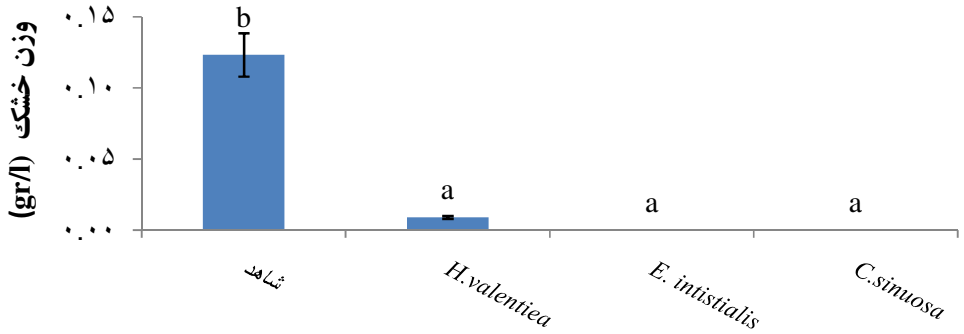
نتایج بررسی نرخ رشد ویژه در شکل ۴۲ نشان داده شده است. تجزیه تحلیل آماری داده ها با آزمون توکی نشان داد که بیشترین نرخ رشد ویژه سه گروه جلبکی *C. polykrikoides* مربوط به شاهد با میانگین ۰/۱۱۳ و کمترین میزان مربوط به گروه آزمایشی جلبک *E.intestialis* با میانگین ۰/۴۹۳- بود که اختلاف معنی داری در سطح P<۰/۰۵ بین آنها وجود داشت.



شکل ۴۲ : تأثیر محیط کشت آبی حاوی گونه های جلبک های ماکروسکوپی تازه بر روی نرخ رشد ویژه جلبک *C. polykrikoides*

۴-۲-۴-۳- بررسی وزن خشک جلبکی در کشت توأم محیط کشت آبی جلبکهای ماکروسکوپی تازه(زنده) با جلبک ***C. polykrikoides*** (DW)

نتایج حاصله در شکل ۴۳ مشخص شده است. در تست آماری واریانس یکطرفه و آزمون توکی نتایج نشان دادند که کمترین میزان وزن خشک جلبکی صفر و مربوط به جلبک *E.intestialis* و *C.sinuosa* بود و بیشترین میزان مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۰/۰۱۲۳بود که اختلاف معنی داری بین آنها در سطح P<۰/۰۵ وجود داشت.

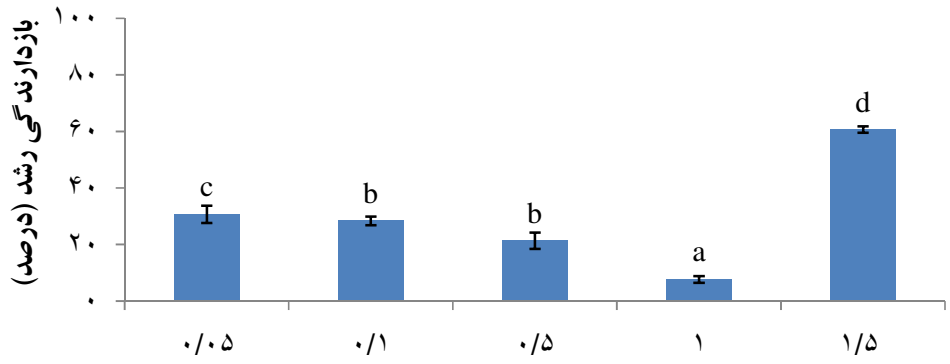


شکل ۴۳ : تأثیر محیط کشت آبی حاوی گونه های جلبک های ماکروسکوپی تازه بر روی وزن خشک جلبک *C. polykrikoides*

۴-۳- تأثیر استفاده از موادی چون پراکسید هیدروژن، پرمنگنات پتاسیم ، سولفات مس ، اسید استیک و هیپوکلرید سدیم بر روی جلبک ***C. polykrikoides***

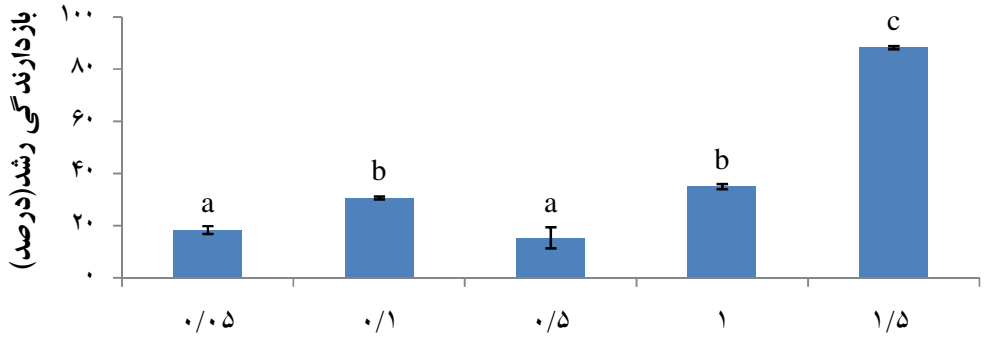
۴-۳-۱- اسید استیک

نتایج مورد بررسی این آزمایش در ۴۶،۴۵،۴۴ و ۴۷ مشخص می باشد. نتایج آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون درون گروهی توکی نشان داد که در بررسی تمامی دوزها در زمان ۲ ساعت بیشترین درصد کاریی اسید استیک ۶۰/۶۷ درصد و مربوط به دوز ۱/۵ گرم در لیتر و کمترین آن ۷/۶۷ مربوط به دوز ۱ گرم بوده است که اختلاف معنی داری را در سطح P<۰/۰۵ نشان داد.



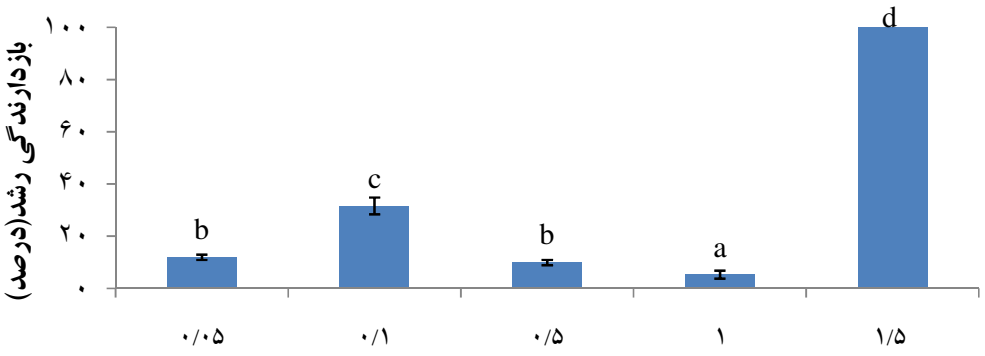
شکل ۴۴ : درصد کارایی ماده اسید استیک پس از ۲ در دوزهای مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides*

در زمان ۴ ساعت نتایج مشخص نمودند که بیشترین درصد کارایی مربوط به دوز ۱/۵ گرم با میانگین ۸۸/۳۳ و کمترین مقدار ۱۵/۳۳ مربوط به تیمار ۰/۵ گرم اسید استیک بوده است که اختلاف معنی داری را در سطح $P<۰/۰۵$ داشتند اما تیمار ۰/۵ گرم با دوز ۰/۰۵ گرم در زمان ۴ ساعت اختلاف معنی داری را نشان ندادند.



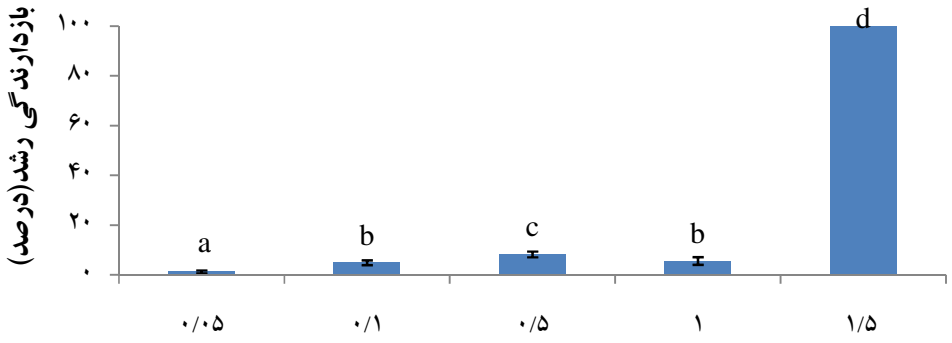
شکل ۴۵ : درصد کارایی ماده اسید استیک پس از ۴ در دوزهای مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides*

نتایج حاصل از آنالیز زمان ۲۰ ساعت نشان داد که بیشترین درصد کارایی ۱۰۰/۰۰ درصد و مربوط به تیمار ۱/۵ گرم و کمترین آن ۵/۳۳ درصد مربوط به دوز ۱ گرم بوده و اختلاف معنی داری را در سطح $P<۰/۰۵$ نشان دادند.



شکل ۴۶ : درصد کارایی ماده اسید استیک پس از ۲۰ در دوزهای مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides*

نتایج تجزیه و تحلیل آماری حاصل از آزمون توکی و آنالیز واریانس یکطرفه نشان داد که پس از ۲۴ ساعت بیشترین درصد کارایی ۱۰۰/۰۰ متعلق به دوز ۱/۵گرم و کمترین آن ۱/۳۳ مربوط به دوز ۰/۰۵گرم بود و اختلاف معنی داری در سطح P<۰/۰۵ مشاهده شد.

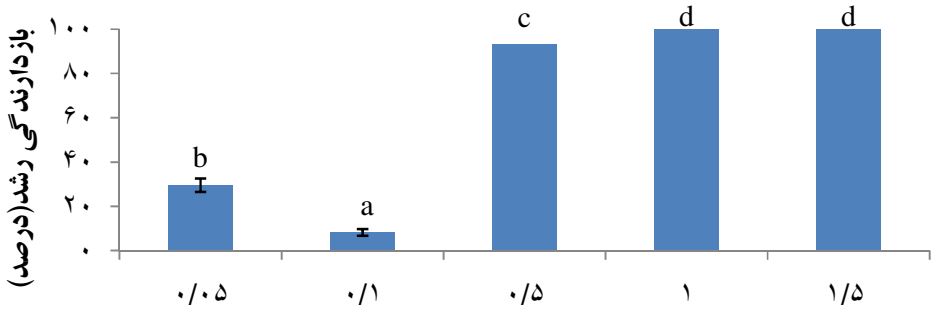


شکل ۴۷ : درصد کارایی ماده اسید استیک پس از ۲۴ در دوزهای مختلف بر روی جلبک *C. polykrikoides*

۴-۳-۲- پراکسید هیدروژن

نتایج حاصل از بررسی ها در شکل ۴۸،۴۹،۵۰ و ۵۱ نشان داده شده است. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری داده ها در بررسی دوزهای مختلف پراکسید هیدروژن نشان داد که در زمان ۲ ساعت بیشترین درصد کارایی

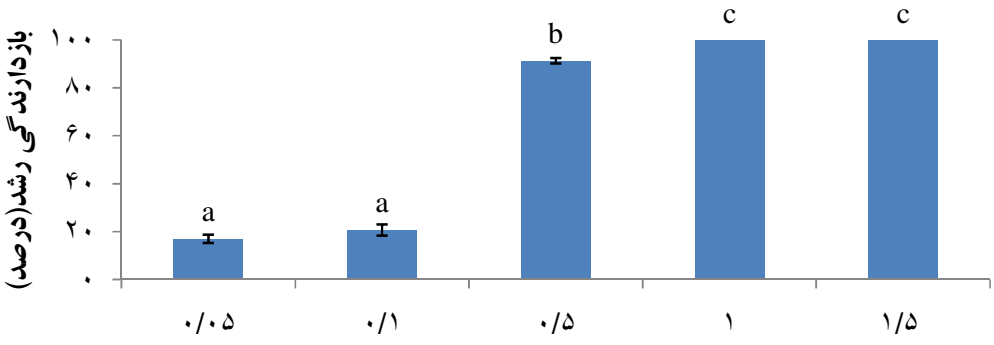
۱۰۰/۰۰ درصد و مربوط به دوز ۱ و ۱/۵ گرم و کمترین آن ۸/۳۳ درصد و مربوط به دوز ۰/۱ گرم بود که اختلاف معنی داری را در سطح P<۰/۰۵ نشان داد.



شکل ۴۸ : درصد کارایی ماده پراکسید هیدروژن پس از ۲ در دوزهای مختلف بر روی جلبک

C. polykrikoides

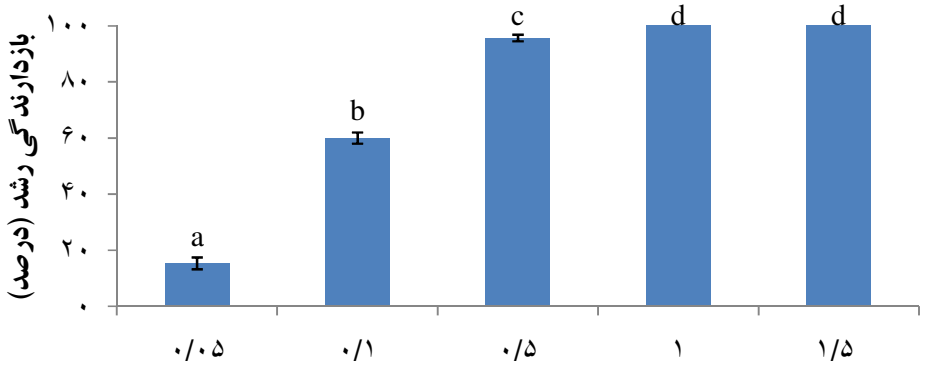
نتایج حاصله در زمان ۴ ساعت دارای بیشترین درصد کارایی در دوز ۱ و ۱/۵گرم ۱۰۰/۰۰ درصد و کمترین کارایی در دوز ۰/۰۵گرم با میانگین ۱۷/۰۰ بود و اختلاف معنی داری بین آنها در سطح P<۰/۰۵ مشاهده شد.



شکل ۴۹ : درصد کارایی ماده پراکسید هیدروژن پس از ۴ در دوزهای مختلف بر روی جلبک

C. polykrikoides

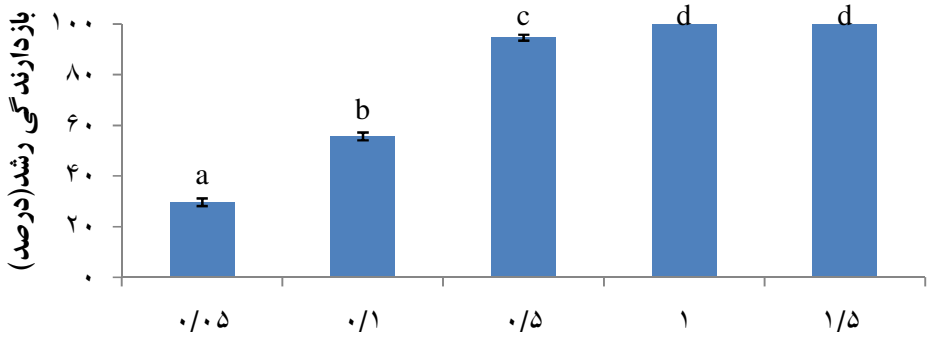
در تیمار زمانی ۲۰ ساعت همچنین نیز بیشترین درصد کارایی در دوز ۱ و ۱/۵گرم ۱۰۰/۰۰ درصد و کمترین میزان ۱۵/۳۳ در دوز ۰/۰۵ گرم مشاهده شد که اختلاف معنی داری در سطح P<۰/۰۵ بین آنها وجود داشت.



شکل ۵۰ : درصد کارایی ماده پراکسید هیدروژن پس از ۲۰ در دوزهای مختلف بر روی جلبک

C. polykrikoides

تیمار ۲۴ ساعت در تمامی غلظتهای پراکسید هیدروژن نشان داد که بیشترین درصد کارایی در دوزهای ۱ و ۱/۵ گرم ۱۰۰/۰۰ درصد و کمترین مقدار ۲۹/۶۷ درصد در دوز ۰/۰۵گرم وجود داشت که دارای اختلاف معنی داری در سطح P<۰/۰۵ نیز بود.



شکل ۵۱ : درصد کارایی ماده پراکسید هیدروژن پس از ۲۴ در دوزهای مختلف بر روی جلبک

C. polykrikoides

۴-۳-۳- سولفات مس ، پرمنگنات پتاسیم و هیپوکلرید سدیم

نتایج آنالیز واریانس یکطرفه در سه ماده سولفات مس، پرمنگنات پتاسیم و هیپوکلرید سدیم نشان داد که این سه ماده در تمامی دوزها از همان زمان ۲ ساعت ابتدای بررسی، سبب رسوبدهی کامل سلولها شد و درصد کارایی آنها در تمامی دوزها و ساعتها ۱۰۰ درصد بود که بالاترین درصد کارایی را داشت و اختلاف معنی داری نیز ما بین آنها در سطح $P<۰/۰۵$ مشاهده نشد.

۵- بحث

پدیده شکوفایی مضر پلانکتونی(HAB) از طریق تولید سم و عدم تولید سم توسط گروهی از پلانکتونها می تواند برای بی مهرگان و موجودات بالاتر از سطح تولید زنجیره غذایی مانند ماهیان و پستانداران دریایی از طریق تجمع سم و یا از طریق ایجاد تغییراتی فیزیکی یا اکولوژیکی خطراتی را بوجود آورد (Grant *et al*.,2003). این پدیده در جهان افزایش یافته و از اهمیت بالایی بخصوص زمانی که در نزدیکی سواحل اتفاق می افتد برخوردار است و اثراتی را بر روی ماهیگیری و پرورش آبزیان دریایی نشان داده است و بی درنگ این مسأله محققین را وادار به انجام تحقیقاتی در زمینه کنترل و کنترل این پدیده نموده است(Grant *et al*.,2003). در این پژوهش به بررسی چند روش مختلف جهت کنترل و کنترل با این پدیده پرداخته شده است که نتایج ذیل را بدنبال داشته است

۵-۱- کنترل فیزیکی

در این روش که از خاک رس استفاده شد نتایج در نمودارهای نشان داده شدند. نتایج حاصل از آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA و آزمون درون گروهی توکی بر روی تراکم های بدست آمده در ساعتهای ۲،۴،۲۰ و۲۴ ساعت پس از اضافه نمودن دوغاب خاک رس مشخص نمودند که در زمان ۲ ساعت بیشترین درصد کارایی را دوز ۰/۵ گرم در لیتر خاک رس با میانگین ۵۳/۳۳ درصد دارا بود و پس از آن دوز ۱۰ گرم در لیتر با میانگین ۳۶/۶۷ دارای بیشترین مقدار بود که این دو اختلاف معنی داری را در سطح $P<0.05$ نشان دادند(شکل ۱۹). در زمان ۴ ساعت بیشترین درصد کارایی ۵۱/۶۷ و ۴۸/۰۰ درصد که به ترتیب متعلق به دوز ۱۰ و ۴ گرم در لیتر خاک رس بود پس از آن دوز ۰/۵ گرم در لیتر با میانگین ۳۹/۰۰ درصد بود که با دو دوز ۱۰ و ۴ گرم اختلاف معنی داری نشان ندادند و کمترین آن ۲۵/۳۳ درصد مربوط به دوز ۱/۵ گرم بود که اختلاف معنی داری با دوزهای ۱۰ و ۴ گرم در لیتر در سطح $P<0.05$ داشتند(شکل ۲۰). در زمان ۲۰ ساعت پس از ریختن دوغاب

خاک رس بیشترین درصد کارایی ۹۹/۰۰ درصد و در دوزهای ۴ و ۱۰ گرم در لیتر بود و کمترین ۱۱/۳۳ مربوط به دوز ۲ گرم می شد که اختلاف معنی داری را نشان دادند($P<0.05$)(شکل ۲۱). در زمان ۲۴ ساعت همچنین بیشترین درصد کارایی خاک رس متعلق به دوزهای ۴ و ۱۰ گرم در لیتر با میانگین ۹۹/۰۰ درصد و کمترین آن ۱/۶۷ متعلق به دوز ۱/۵گرم بود که اختلاف معنی داری را نشان دادند($P<0/05$)(شکل ۲۲). این نتایج نشان دادند که دوز ۰/۵ گرم در لیتر در تمامی ساعات بررسی شده ۲۰،۴،۲ و ۲۴ ساعت اختلاف معنی داری نشان نداده اند و در زمان ۲ ساعت بیشترین کارایی را نسبت به تمامی دوزها داشته است که در کوتاه مدت اثرات خوبی را ایجاد کرد اما در کل دوزها ۴ و ۱۰ گرم در طولانی مدت اثرات بیشتری را بر کاهش تراکم سلولی جلبک مضر *C. polykrikoides* داشته است که این نتیجه در زمانهای ۴ ساعت اختلاف معنی داری را با دوز ۰/۵ گرم در لیتر نشان نداد ولی در زمانهای ۲۰ و ۲۴ ساعت پس از ۴ و ۱۰ گرم در لیتر بیشترین تأثیر را دارا بوده است اما با دوزهای ۴ و ۱۰ گرم اختلاف معنی داری نشان داد. بنابراین چون در این تحقیق نیاز به تأثیر طولانی مدت جهت کاهش تراکم سلولی جلبک مضر بود (با توجه به اینکه اثرات زیست محیطی آنچنانی نداشته باشد) دوز ۴ و ۱۰ گرم مناسب تر است و بدنبال آن دوز ۰/۵ گرم در لیتربهترین جواب را داده است. در تحقیقی دیگر گزارش شد که استفاده از خاک رس یک روش کنترلی بسیار مؤثر و ارزان قیمت و سریع با تأثیر اندک زیست محیطی با کارایی حذف ۹۹ درصد در کنترل پدیده HAB بخصوص برای گونه *C. polykrikoides* می باشد(Anderson,1997) که این نشان می دهد نتایج بدست آمده در این تحقیق با آن مشابه بوده است ، همچنین در گزارشی دیگر که در سال ۲۰۰۴ ارائه شد بیان کرد که خاک رس تا ۸۰ درصد قابلیت حذف سلولهای جلبک مضر *C. polykrikoides* را دارا می باشد که بستگی به نوع خاک استفاده شده نیز دارد، همچنین نشان داد که با افزایش دوز دوغاب خاک رس قابلیت حذف سلولهای جلبک مضر *C. polykrikoides* افزایش می یابد (Anderson and Sengco.,2004) که با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش نیز مشاهده شد میزان حذف سلولهای جلبکی با افزایش دوز خاک رس افزایش یافت. گزارشی دیگرنشان داد که استفاده میزان ۰/۴ گرم در

لیتر خاک رس قابلیت حذف سلولهای جلبک مضر *C. polykrikoides* را ۹۰ تا ۹۹ درصد تا عمق ۲ متری دارا می باشد(Kim *et al*.,2000) که این نتایج مشابه تحقیقات انجام شده در این پژوهش بود و در تمامی تحقیقات ارایه شده در بالا بر این نکته اشاره داشتند که با افزایش دوز خاک رس میزان حذف تراکم جلبکی بیشتر اتفاق می افتد اما بهترین میزان برای این کار دوز ۰/۴ گرم در لیتر است. البته کنترل کشند قرمز توسط خاک رس موضوع مهمی در زمینه مدیریت محیط زیست دریا جهت حذف و از بین بردن میکرو جلبکهای مضر ایجاد کننده پدیده HAB می باشد که ممکن است استفاده از این روش اثرات زیست محیطی جبران ناپذیری را در بر داشته باشد مثل استفاده میزان دوزهای بالا از خاک رس که احتمال دارد بر موجودات بنتیک اثرات سویی داشته باشد(Anderson & Sengco.,2004). اما در نهایت نتیجه ای که از این و تحقیقات دیگر بدست آمده است نشان دهنده همسو بودن این مطالعه می باشد اختلافات اندکی که نیز بین تحقیقات مختلف وجود دارد بدلیل متفاوت بودن شرایط اکولوژیکی و نیز نوع خاک های مورد استفاده می باشد.

۵-۲- کنترل بیولوژیکی

یکی دیگر از روشهای کنترل و یا کنترل با پدیده جلبکی مضر استفاده از جلبکهای ماکروسکوپی بدلیل داشتن اثرات آللوپاتیکی آنها می باشد که از رشد و نمو جلبکهای ناخواسته‌ای چون فیتوپلانکتونها، کلادوفورا و همچنین باکتریها به میزان قابل ملاحظه‌ای جلوگیری نموده است، از اینرو می‌توان بعنوان علف‌کش ، بدون اثرات جانبی بر روی آبزیان پرورشی و اثرات زیست محیطی نامطلوب استفاده نمود(Bazes *et al*., 2006). در این تحقیق بخشهای مختلف جلبک های ماکروسکوپی استفاده شد و داده های بدست آمده نتایج زیر را بونبال داشت:

۵-۲-۱- تأثیر عصاره حلال آبی جلبکهای ماکروسکوپی

در این مطالعه از ۶ گونه جلبکی جهت بررسی کنترل بیولوژیکی گونه جلبکی مضر *C. polykrikoides* استفاده گردید که درشکل ۲۳،۲۲ و ۲۴ و جدول۴ نشان داده شده است این قسمت از آزمایشات کنترل بیولوژیکی با بررسی ۳ دوز مختلف ۰/۲ ، ۰/۸ و ۱/۶ گرم در لیترعصاره حلال آبی جلبکهای ماکروسکوپی ۶ گونه انجام پذیرفت که آنالیز واریانس یکطرفه آزمون درون گروهی توکی حاصل از تأثیر این ۳ دوز از این ۶ گونه جلبکی بر روی رشد جلبک *C. polykrikoides* نشان داد که در دوز ۰/۲ گرم در لیتر کمترین درصد بازدارندگی رشد را جلبک *U.lactuca* با میانگین ۱۹/۷۳- و بیشترین درصد بازدارندگی۱۰۰/۰۰ درصد و مربوط به *C.sinuosa* بود که اختلاف معنی داری با کمترین درصد بازدارندگی در سطح P<۰/۰۵ داشت. بعد از *C.sinuosa* جلبک *S.illicifolium* با میانگین ۲۹/۲۱ بیشترین درصد بازدارندگی را داشت که اختلاف معنی داری را با دو گونه فوق نشان داد(P<۰/۰۵). در دوز ۰/۸ گرم در لیتر کمترین درصد بازدارندگی را جلبک *S.illicifolium* با میانگین ۴۵/۸۳- و بیشترین بازدارندگی رشد۱۰۰/۰۰ درصد و در جلبک *C.sinuosa* مشاهده شد که اختلاف معنی داری را در سطح P<۰/۰۵ نشان دادند. در این دوز پس از جلبک *C.sinuosa* جلبک *E.intistialis* با میانگین ۹۴/۸۱ درصد بیشترین درصد بازدارندگی را نشان داد که البته اختلاف معنی داری را با جلبک *C.sinuosa* با بیشترین درصد بازدارندگی نشان داد(P<۰/۰۵). در دوز ۱/۶ گرم در لیتر بیشترین بازدارندگی رشد ۱۰۰/۰۰ درصد متعلق به جلبکهای *H.valentiea* ، *E.intistialis* ، *C.sinuosa* و *G.corticata* و پس از آن *S.illicifolium* با میانگین ۹۷/۷۱ بود که اختلاف معنی داری در سطح P<۰/۰۵ نشان دادند و کمترین مقدار مربوط به جلبک *U.lactuca* با میانگین ۱۱/۴۷- بود که اختلاف معنی داری را با تمامی جلبکها نشان داد. بنابراین جلبک *C.sinuosa* در تمامی دوزها بیشترین تأثیر بر روی بازدارندگی رشد سلولهای جلبکی *C. polykrikoides* داشت و پس از آن در دوز ۰/۲گرم در لیتر جلبک *S.illicifolium* و در دوز ۰/۸ گرم در لیتر جلبک *E.intistialis* بیشترین تأثیر بر روی رشد سلولهای جلبکی *C. polykrikoides* داشت. در تحقیقی دیگر که در سال ۲۰۰۷ بر روی گونه *Prorocentrum donghaiense* انجام شد از بین سه گونه جلبک ماکروسکوپی مورد آزمایش *Ulva linza* ، *Corallina pilulifera* و

Sargassum thunbergii با دوز عصاره حلال آبی ۰/۲، ۰/۸و ۱/۶ و دوزهای دیگر نتیجه شد که هر چه بر میزان دوز عصاره افزوده می شود میزان کاهش رشد سلولی *P.donghaiense* افزایش می یابد که البته در هر گونه کمی متفاوت است. همچنین برای کاهش خطاهای آزمایش این مطالعه تحت شرایط استاندارد وکنترل شده انجام پذیرفت(Wang *et al*.,2007) که این کار نیز در پژوهش کنونی مورد توجه قرار گرفت. بنابراین نتایجی که در این تحقیق بدست آمد هم راستا با تحقیق وانگ و همکارانش در سال ۲۰۰۷ بود و این نشان می دهد که اثر چنین نتیجه ای بدلیل ترشح مواد آللوپاتیکی بازدارنده رشد بوده است. در تحقیقی دیگر که(Jeong *et al*.,2000) انجام شد از عصاره جلبکی *Corallina pilulifera* و ۲۸ گونه جلبکی دیگر جهت بررسی تأثیر آن بر روی رشد *C. polykrikoides* استفاده شد و نتایج نشان دادند که افزودن ۰/۰۵ گرم در لیتر از عصاره حلال آبی این جلبکها به محیط کشت سلولهای جلبکی *C. polykrikoides* تنها در گونه جلبکی *Corallina pilulifera* بیشترین تأثیر را در بیشتر غلظتها داشت و در بقیه گونه ها یا باعث رشد آنها شده بود و یا اینکه تنها در بالاترین غلظت تأثیر آن مثبت بوده و باعث کاهش رشد شده بود که برخی از این گونه ها شامل *Sargassum sagamianum* ، *Enthermorpha linza* و *Ulva pertusa* بود که تحقیق کنونی نیز با نتایج حاصل از تحقیقات جیونگ و همکارانش در سال ۲۰۰۰ تقریباً مشابه بوده است و در هر دو تأثیر ترشح یکسری مواد آللوپاتیکی و اثر بازدارندگی رشد را به اثبات می رساند. در سال ۲۰۰۸ در مطالعه ای که بر روی شکوفایی داینوفلاژله *Alexandrium tamarense* انجام شد، اثر جلبک تازه و عصاره جلبک ماکروسکوپی *Ulva lactuca* را بر روی رشد داینوفلاژله مورد نظر مورد بررسی قرار دادند و بیان نمودند که عصاره این جلبک اثر آللوپاتی منفی بر رشد این جلبک داشته است (Nan *et al*., 2008). در گزارشاتی دیگر بیان شده است که جلبکهای ماکروسکوپی از رشد و نمو جلبکهای ناخواستهای چون فیتوپلانکتونها، کلادوفورا و همچنین باکتریها به میزان قابل ملاحظهای جلوگیری نموده است، از اینرو می‌توان بعنوان علف‌کش و بدون اثرات جانبی بر روی آبزیان پرورشی و اثرات زیست محیطی نامطلوب استفاده نمود (Bazes *et al*., 2006).

درآزمایشات مربوط به بررسی عصاره حلال آبی جلبکهای ماکروسکوپی پس از اتمام دوره کشت این گونه مضر پلانکتونی (*C. polykrikoides*) میزان وزن خشک جلبکی هم نیز مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۳۰،۲۹ و ۳۱) که در دوز ۰/۲گرم در لیتر بیشترین وزن خشک متعلق به تیمار عصاره جلبکی*U.lactuca* بود که میانگین آن ۰/۰۲۸۶گرم در لیتر بود و کمترین میزان، صفر و مربوط به گونه *C.sinuosa* بود که نشان می دهد باعث عدم رشد و کاهش میزان رشد نسبت به تراکم اولیه ذخیره سازی شده بود، که این نیز در اثر ترشح ترکیبات آللوپاتیکی بازدارنده از جلبک ماکروسکوپی مورد آزمایش بوده است و اختلاف معنی داری را در سطح P<۰/۰۵ بین کمترین و بیشترین میزان نشان داد. در دوز ۰/۸گرم در لیتر باز کمترین وزن خشک، صفر و متعلق به گونه *C.sinuosa* و بیشترین وزن خشک مربوط به جلبک *U.lactuca* بود که میانگین آن ۰/۰۳۶۶ گرم در لیتر بود که بین کمترین و بیشترین میزان اختلاف معنی داری در سطح P<۰/۰۵ وجود داشت. در غلظت ۱.۶ گرم در لیترکمترین میزان وزن خشک جلبکی صفر و متعلق به گونه *H.valentiea* ، *E.intistialis* ، *C.sinuosa* و *G.corticata* بود و بیشترین میزان متعلق به گونه *U.lactuca* با میانگین ۰/۰۲۱۳گرم در لیتر بوده است که ما بین کمترین و بیشترین میزان وزن خشک جلبکی اختلاف معنی داری در سطح P<۰/۰۵ مشاهده شد. نتایج مربوط به وزن خشک نشان می دهد که در تیمارهایی که مواد مترشحه آللوپاتیکی بازدارنده رشد اثر گذار بوده است میزان وزن خشک از شرایط تیمار شاهد کمتر و یا صفر بوده است و در تیمارهایی که مواد مترشحه اثر بازدارندگی نداشته اند میزان وزن خشک بیشتر از تیمار شاهد و یا در حد آن بوده است که نشان دهنده عدم فعالیت بازدارندگی آن گونه جلبکی بر روی رشد *C. polykrikoides* بوده است. در تحقیقی که در سال ۲۰۰۷ بر روی گونه *Prorocentrum donghaiense* انجام شد از بین سه گونه جلبک ماکروسکوپی مورد آزمایش *Ulva linza* ، *Corallina pilulifera* و *Sargassum thunbergii* با دوز عصاره حلال آبی ۰/۲، ۰/۸و ۱/۶ و دوزهای دیگر نتیجه شد که هر چه بر میزان دوز عصاره افزوده می شود میزان کاهش رشد سلولی *Prorocentrum donghaiense* افزایش می یابد که البته در هر گونه کمی متفاوت بود که نیز تأثیر آن بر روی وزن خشک جلبکی نیز بیانگر اثر

مثبت آللوپاتیکی بازدارندگی رشد بوده است (Wang *et al*.,2007) که نتیجه آن با آنچه در تحقیق کنونی بدست آمد مشابه نیز بود. بنابراین نتایجی که در این تحقیق بدست آمد هم راستا با تحقیق وانگ و همکارانش در سال ۲۰۰۷ بود و این نشان می دهد که اثر چنین نتیجه ای بدلیل ترشح مواد آللوپاتیکی بازدارنده رشد بوده است. در مطالعه دیگری اثر ضد جلبکی فلورانتین استخراج شده از جلبک قهوه ای *Ecklonia kurome* بر روی شکوفایی حاصل از سه گونه جلبک داینوفلاژله *Chattonella antiqua* و *Cochlodinium polykrikoides* و *Karenia mikimotoi* نشان داد که طی مدت ۲۴ ساعت بعد از اضافه نمودن این ماده به محیط کشت، بیش از ۹۹ درصد آنها از بین رفته اند و نیز به همان ترتیب وزن خشک بدست آمده از تیمارهای مورد آزمایش کاهش یافته که نشان دهنده عدم رشد آنها در اثر تزریق عصاره جلبکی به محیط کشت گونه های فوق الذکر بوده است. 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).

دراین تحقیق که به بررسی اثر عصاره حلال آبی ۶ گونه مختلف جلبک ماکروسکوپی پرداخته شد نرخ رشد ویژه گونه *C. polykrikoides* پس از اتمام دوره آزمایش محاسبه گردید و مشاهده شد (شکل ۲۶ ،۲۷ و ۲۸) که در دوز ۰/۲ گرم در لیتر بیشترین نرخ رشد ویژه متعلق به تیمار عصاره جلبکی *U.lactuca* با میانگین ۰/۱۲۶ می باشد و کمترین میزان مربوط به گونه *C.sinuosa* با میانگین ۰/۴۹۳- بود که نشان دهنده عدم رشد و کاهش میزان رشد نسبت به تراکم اولیه ذخیره سازی شده و تراکم نهایی بدست آمده در تیمار شاهد نیز می باشد که این نیز در اثر ترشح ترکیبات آللوپاتیکی بازدارنده از جلبک ماکروسکوپی مورد آزمایش بوده است و اختلاف معنی داری را در سطح $P<0/05$ بین کمترین و بیشترین میزان نشان داد. در دوز ۰/۸گرم در لیتر باز کمترین نرخ رشد ویژه متعلق به گونه *C.sinuosa* با میانگین ۰/۴۹۳- و بیشترین نرخ رشد ویژه مربوط به جلبک *H.valentiea* با میانگین ۰/۱۲۲ بود که ما بین کمترین و بیشترین میزان نرخ رشد ویژه اختلاف معنی داری در سطح $P<0/05$ وجود داشت. در دوز ۱/۶ گرم در لیتر همچنان کمترین نرخ رشد ویژه جلبکی متعلق به گونه *H.valentiea* ،

E.intistialis ، *C.sinuosa* و *G.corticata* با میانگین ۰/۴۹۳- و بیشترین میزان متعلق به گونه *U.lactuca* با میانگین ۰/۱۲۰ بوده است که ما بین کمترین و بیشترین میزان رشد ویژه جلبکی اختلاف معنی داری در سطح P<۰/۰۵ مشاهده شد. این نتایج نشان دهنده آن بود که نسبت به تیمار شاهد آن گونه های جلبکی که باعث بازدارندگی رشد شده بود دارای نرخ رشد ویژه کمتری نسبت به تیمار شاهد بودند، که در تمامی دوزها کمترین نرخ رشد ویژه به گونه جلبکی *C.sinuosa* تعلق داشت. در مطالعه دیگری اثر ضد جلبکی فلورانتین استخراج شده از جلبک قهوه ای *Ecklonia kurome* بر روی شکوفایی حاصل از سه گونه جلبک داینوفلاژله *Chattonella antiqua* و *Cochlodinium polykrikoides* و *Karenia mikimotoi* نشان داد که طی مدت ۲۴ ساعت بعد از اضافه نمودن این ماده به محیط کشت، بیش از ۹۹ درصد آنها از بین رفته اند. همچنین در تحقیقی که توسط جیونگ و همکارانش در سال ۲۰۰۰ انجام شد از عصاره جلبکی *Corallina pilulifera* و ۲۸ گونه جلبکی دیگر جهت بررسی تأثیر آن بر روی رشد *C. polykrikoides* استفاده شد و نتایج نشان دادند که افزودن ۰/۰۵ گرم در لیتر از عصاره حلال آبی این جلبکها به محیط کشت سلولهای جلبکی *C. polykrikoides* تنها در گونه جلبکی *Corallina pilulifera* بیشترین تأثیر را در بیشتر دوزها داشت و در بقیه گونه ها یا باعث رشد آنها شده بود و یا اینکه تنها در بالاترین دوز تأثیر آن مثبت بوده و باعث کاهش رشد شده بود که نرخ رشد ویژه در گونه هایی که رشد مثبت داشته اند بالا بوده است که برخی از این گونه ها شامل *Sargassum sagamianum* ، *Enthermorpha linza* و *Ulva pertusa* است و در گونه هایی همچون گونه جلبکی *Corallina pilulifera* که رشد منفی داشتند نرخ رشد ویژه پایین بوده است. تحقیق کنونی نیز با نتایج حاصل از تحقیقات جیونگ و همکارانش در سال ۲۰۰۰ تقریباً مشابه بوده است و در هر دو تأثیر ترشح یکسری مواد آللوپاتیکی با اثر بازدارندگی رشد را به اثبات می رساند.

۵-۲-۲- تأثیر عصاره ترکیبی حلال آبی و آلی (متانول) جلبکهای ماکروسکوپی

نتیجه آزمون توکی جهت بررسی و مقایسه تیمارهای انتخابی (اثر عصاره حلال آبی و آلی (متانول) جلبکهای ماکروسکوپی بر رشد جلبک *C. polykrikoides* با دوز ۰/۲گرم در لیتر نشان داد(شکل ۳۲) که بیشترین اثر

بازدارندگی ۱۰۰/۰۰ درصد بود و در سه گونه *U.lactuca* , *S.illicifolium* و *G.corticata* مشاهده شد که اختلاف معنی داری بین آنها نبود و کمترین اثر بازدارندگی متعلق به گونه های *E.intistialis* و *H.valentiea* به ترتیب با میانگین ۹۵/۲۱ و ۹۲/۷۶ درصد بود، که ما بین آنها نیز اختلاف معنی داری در سطح $P<۰/۰۵$ وجود نداشت . این نتایج نشان می دهد که عصاره ترکیبی حلال های آلی (متانول) و آبی دارای مواد شیمیایی جدا شده از بافت خشک این جلبکهای ماکروسکوپی بوده که در برخی از گونه های جلبکی مضر دارای اثر بازدارندگی آللوپاتی مثبت و در برخی گونه ها دارای اثر منفی بازدارندگی آللوپاتی می باشد که در این تحقیق بیشتر گونه ها اثر بازدارندگی مثبت بر روی رشد جلبک *C. polykrikoides* داشتند. در تحقیقی دیگر که توسط جیونگ و همکارانش در سال ۲۰۰۰ انجام شد از عصاره ترکیبی حلال آبی و آلی متانول جلبک *Corallina pilulifera* و ۲۸ گونه جلبکی دیگر جهت بررسی تأثیر آن بر روی رشد *C. polykrikoides* استفاده شد و نتایج نشان دادند که افزودن ۰/۴ و ۰/۸ گرم در لیتر از عصاره ترکیبی حلال آبی و آلی(متانول) این جلبکها به محیط کشت سلولهای جلبکی *C. polykrikoides* تنها در گونه جلبکی *Corallina pilulifera* بیشترین تأثیر را ما بین دوزهای دیگر داشت و باعث حذف کامل تمامی سلولهای جلبکی شده بود و در بقیه گونه ها رشد آنها را باعث شده بود که تمامی مراحل آزمایش در شرایط کنترل شده و استاندارد نوری و دمایی و PH انجام شد، که نتایج حاصل از تحقیق کنونی نیز با نتایج حاصل از تحقیقات جیونگ و همکارانش در سال ۲۰۰۰ تقریباً همراستا بود و در هر دو تأثیر ترشح یکسری مواد آللوپاتیکی با اثر بازدارندگی رشد را به اثبات می رساند.

در تحقیق حاضر نتایج آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون درون گروهی توکی اثر عصاره ترکیبی حلال آبی و آلی (متانول) با دوز ۰/۲گرم در لیتر جلبکهای ماکروسکوپی بر روی وزن خشک جلبک *C. polykrikoides* نشان داد(شکل ۳۴)که کمترین وزن خشک جلبکی، صفر بود و به گونه های *U.lactuca* ، *S.illicifolium* ، *G.corticata* و *E.intistialis* تعلق داشت و بیشترین میزان وزن خشک جلبکی مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۰/۱۲۰ بود، که اختلاف معنی داری بین کمترین و بیشترین میزان وزن خشک نیز مشاهده شد. نتایج حاصله نشان داد در

تیمارهایی که عصاره جلبکی اثرآللوپاتی بازدارندگی مثبت داشته میزان وزن خشک جلبکی نیز کاهش یافته و یا صفر شده است و در تیمارهایی که اثرآللوپاتی بازدارندگی منفی بوده میزان وزن خشک نسبت به تیمار شاهد افزایش یافته و یا در حد آن بوده است. در مطالعه دیگری که توسط وانگ و همکارانش در سال ۲۰۰۷ بر روی گونه *Prorocentrum donghaiense* انجام شد از بین سه گونه جلبک ماکروسکوپی مورد آزمایش *Ulva linza* ، *Corallina pilulifera* و *Sargassum thunbergii* با دوزهای عصاره ترکیبی حلال آبی و آلی (متانول) ۰/۲۵، ۰/۵ ، ۱ ، ۲ و ۴ مشخص شد که با افزایش دوز عصاره بر میزان رشد جلبکی اثر گذاشته و باعث کاهش تراکم سلولی *Prorocentrum donghaiense* گردید که برای هر گونه کمی متفاوت و برابر ۰/۱ برای *Corallina pilulifera* ، ۰/۲ برای *Ulva linza* و ۰/۴ برای *Sargassum thunbergii* بود که کاهش وزن خشک را در تیمارهایی که رشد آنها نسبت به شاهد کم شده بود در پی داشت. نتایج بدست آمده در تحقیق کنونی هم راستا با تحقیق وانگ و همکارانش در سال ۲۰۰۷ بود و این نشان می دهد که اثر چنین نتیجه ای بدلیل ترشح مواد آللوپاتیکی بازدارنده رشد بوده است.

در بررسی آماری نتایج حاصل از آنالیز واریانس یکطرفه و توکی نشان داده شد(شکل ۳۳) که میزان نرخ رشد ویژه حاصل از تأثیرعصاره ترکیبی حلال آبی و آلی (متانول) با دوز ۰/۲ گرم در لیتر جلبکهای ماکروسکوپی بر روی جلبک *C. polykrikoides* در گونه های *U.lactuca* ، *S.illicifolium* و *G.corticata* کمترین نرخ رشد ویژه را نشان داد که اختلاف معنی داری بین آنها سطح $P < ۰/۰۵$ مشاهده نشد. بیشترین میزان نرخ رشد ویژه متعلق به تیمار شاهد با میانگین ۰/۱۱۳ بود که اختلاف معنی داری با کمترین نرخ رشد ویژه داشت ($P<۰/۰۵$). این نتایج اذعان می دارد که افزایش عصاره ترکیبی حلال آبی و آلی (متانول) به محیط کشت جلبک *C. polykrikoides* در این آزمایش باعث کاهش تراکم سلولی شده و بدنبال آن کاهش نرخ رشد ویژه را نسبت به تیمار شاهد داشت. در تحقیقی دیگر توسط جیونگ و همکارانش در سال ۲۰۰۰ انجام شد از عصاره ترکیبی حلال آبی و آلی متانول جلبک *Corallina pilulifera* و ۲۸ گونه جلبکی دیگر جهت بررسی تأثیر آن بر روی رشد

C. polykrikoides استفاده شد و نتایج نشان دادند که افزودن ۰/۴ و ۰/۸ گرم در لیتر از عصاره ترکیبی حلال آبی و آلی(متانول) این جلبکها به محیط کشت سلولهای جلبکی *C. polykrikoides* تنها در گونه جلبکی *Corallina pilulifera* بیشترین تأثیر را بین دوزهای دیگرداشت و باعث حذف کامل تمامی سلولهای جلبکی شده بود، که نرخ رشد ویژه سلولهای جلبکی آنها نسبت به تیمار پایین ترین بود. نتایج حاصل از تحقیق کنونی نیز با نتایج تحقق قبلی در یک راستا بود و احتمالاً بدلیل تأثیر ترشح مواد آللوپاتیکی بازدارنده رشد بوده است.

۵-۲-۳- تأثیر بافت تازه جلبک های ماکروسکوپی

نتایج آنالیز واریانس دوطرفه حاصل از بررسی تأثیر بافت تازه سه گونه از جلبک های ماکروسکوپی از سه گروه جلبکهای سبز ، قهوه ای و قرمز (*E.intistialis* ، *C.sinuosa* و *H.valentiea*) بر روی جلبک *C. polykrikoides* در دو وزن ۲/۵ و ۵ گرم در لیتر نشان داد (شکل ۳۵ و ۳۶) که بیشترین بازدارندگی ۱۰۰/۰۰ درصد و در وزن ۲/۵ گرم در لیتر متعلق به دو گونه *C.sinuosa* و *H.valentiea* بود و کمترین درصد بازدارندگی ۹۸/۱۶ درصد متعلق به گونه *E.intistialis* بود که اختلاف معنی داری در سطح $P<۰/۰۵$ نشان دادند. در وزن ۵ گرم هر سه گونه دارای بازدارندگی ۱۰۰ درصد بودند و اختلاف معنی داری در آنها مشاهده نشد. در تحقیقی دیگر که توسط وانگ و همکارانش در سال ۲۰۰۷ بر روی گونه *Prorocentrum donghaiense* انجام شد از بافت تازه و تالهای تازه سه گونه جلبک ماکروسکوپی *Ulva linza* ، *Corallina pilulifera* و *Sargassum thunbergii* با اوزان ۰ ، ۰/۶۲۵ ،۱/۲۵ ، ۲/۵ ، ۵ و ۱۰ گرم در لیتر استفاده شده بود که اضافه نمودن تالهای جلبکی تازه باعث از بین رفتن و کاهش تراکم سلولی *Prorocentrum donghaiense* گردید که برای گونه *Corallina pilulifera* وزن بیشتر از ۰/۶۲۵ گرم در لیتر ، برای *Ulva linza* وزن بیشتر از ۱/۲۵ گرم در لیتر و در گونه *Sargassum thunbergii* بطور چشمگیری رشد متوقف شد. نتایج بدست آمده در تحقیق کنونی هم راستا با تحقیق وانگ و همکارانش در سال ۲۰۰۷ بود و این نشان می دهد که چنین نتیجه ای بدلیل ترشح مواد آللوپاتیکی بازدارنده رشد بوده است. در

تحقیقی دیگر توسط وان دنک و وان دی بوند و در سال ۲۰۰۲ انجام شد یافتند که استفاده از جلبک *Chara aspera* زمانی باعث کاهش رشد گونه *Scenedesmus acutus* می شود که جلبک *Chara aspera* در محیط کشت این گونه در طول آزمایش وجود داشته باشد و این در صورتی است که نمی توان اثبات کرد زمانی که جلبک *Chara aspera* در محیط موجود است گونه میکروسکوپی *Scenedesmus acutus* وجود داشته باشد. این نتایج نشان می دهند که یک موجود زنده می تواند تحت تأثیر طبیعت آلل های مواد شیمیایی مترشحه از یکسری جلبکهای ماکروسکوپی که در معرض آن است قرار گیرد.

نتایج آماری وزن خشک جلبکی در تأثیر سه گونه جلبکی فوق در شکل ۳۹ و ۴۰ نشان داده شده است و بیانگر آن است که بیشترین وزن خشک در وزن ۲.۵ گرم در لیتر بافت تازه متعلق تیمار شاهد با میانگین ۰/۱۲۳ و پس از آن جلبک *E.intistialis* با میانگین ۰/۰۰۳ وکمترین وزن خشک صفر و مربوط به دو گونه *C.sinuosa* و *H.valentiea* بود که اختلاف معنی داری بین کمترین و بیشترین وزن خشک مشاهده شد ($P<0.05$). در وزن ۵ گرم در لیتر نیز تمامی گونه های جلبکی اثر توقف رشد را بر روی گونه *C. polykrikoides* داشتند و میزان وزن خشک حاصل از آن صفر بود و بیشترین میزان متعلق به تیمار شاهد بود که اختلاف معنی داری بین شاهد و بقیه تیمارها وجود داشت. این نتایج اذعان می دارد که استفاده از بافت تازه جلبک های ماکروسکوپی می تواند باعث عدم رشد برخی گونه های مضر پلانکتونی باشد که در نهایت توقف رشد در طول انجام آزمایش کاهش وزن خشک را بدنبال خواهد داشت. نان و همکاران در سال ۲۰۰۸ در مطالعه ای که بر روی شکوفایی داینوفلاژله *Alexandrium tamarense* انجام داده اند، اثر جلبک تازه و عصاره جلبک ماکروسکوپی *Ulva lactuca* را بر روی رشد داینوفلاژله مورد نظر مورد بررسی قرار دادند و بیان نمودند که عصاره این جلبک اثر آللوپاتی منفی بر رشد این جلبک داشته است که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مشابه بوده است.

در این بخش از آزمایش نتایج آماری نشان دادند (شکل ۳۷ و ۳۸) که در وزن تال تازه جلبکی ۲/۵ گرم بیشترین نرخ رشد ویژه متعلق تیمار شاهد با میانگین ۰/۱۱۳ و پس از آن در گونه *E.intistialis* با میانگین ۰/۱۷۲-

و کمترین نرخ رشد متعلق به دو گروه *C.sinuosa* و *H.valentiea* با میانگین ۰/۴۹۳- بود که اختلاف معنی داری بین کمترینها با تیمار شاهد بود حتی بین شاهد و تیمار گونه *E.intistialis* نیز اختلاف معنی دار وجود داشت. در تیمار وزنی ۵ گرم در لیتر تمامی گونه ها دارای کمترین نرخ رشد ویژه با میانگین ۰/۴۹۳۴- بودند و تیمار شاهد دارای بیشترین نرخ رشد با میانگین ۰/۱۱۳ بود که اختلاف معنی داری بین کمترین و بیشترین مقدار وجود داشت($P<۰/۰۵$). این نتایج بیانگر کاهش و توقف رشد جلبک میکروسکوپی *C. polykrikoides* و در نهایت کاهش نرخ رشد ویژه بدنبال آن بودند که متأثر از وجود مواد مترشحه آللوپاتیکی جلبکهای ماکروسکوپی نیز می باشد. در پژوهشی توسط ناگایاما و همکارانش در سال ۲۰۰۳ گزارش شد که اثر ضد جلبکی فلوروتانین جلبک قهوه ای *Ecklonia kurome* بر روی شکوفایی حاصل از سه گونه جلبک داینوفلاژله *Chattonella antiqua* و *Cochlodinium polykrikoides* و *Karenia mikimotoi* باعث توقف رشد طی مدت ۲۴ ساعت بعد از اضافه نمودن این ماده به محیط کشت آنها بوده است و باعث بی حرکت کردن سلولهای آنها شد همچنین تمام سلولهای آنها بعد از اینکه بدور خود چرخیده سلولهای آنها منبسط شده و سپس از هم متلاشی شدند آنها بر این باورند که واکنش متقابل فلوروتانین با پروتئین غشایی سلولها نقش مهمی را در فعالیت ضد جلبکی فلوروتانین جلبک قهوه ای *Ecklonia kurome* بازی می کند که متأثر از تغییراتی است که در فشار اسمزی غشاء سلولی لیجاد کرد که نتیجاتاً باعث توقف رشد و نرخ رشد ویژه در این گونه های ریز جلبکی کشند گشت و نتایج تحقیق کنونی با نتایج حاصل از گزارش ناگایاما و همکارانش در سال ۲۰۰۳ همراستا می باشد.

۵-۲-۴- تأثیر محیط کشت آبی فیلتر شده جلبک های ماکروسکوپی

نتایج آنالیز واریانس یکطرفه در بررسی تأثیر بافت تازه سه گونه از جلبک های ماکروسکوپی از سه گروه جلبکهای سبز، قهوه ای و قرمز(*E.intistialis* ، *C.sinuosa* و *H.valentiea*) بر روی جلبک *C. polykrikoides* (شکل ۴۱) نشان داد که بیشترین درصد بازدارندگی دراین سه گونه در*C.sinuosa* با میانگین ۹ درصد و کمترین در گونه *E.intistialis* با میانگین ۱ درصد مشاهده شد که اختلاف معنی داری بین آنها وجود داشت ($P<۰/۰۵$).

در گزارشی از وانگ و همکارانش در سال ۲۰۰۷ بر روی گونه *Prorocentrum donghaiense* انجام شد که از محیط کشت فیلتر شده جلبکهای ماکروسکوپی *Ulva linza* ، *Corallina pilulifera* و *Sargassum thunbergii* استفاده شده بود که نشان داد که در صورت استفاده اولیه و یا نیمه مداوم محیط کشت فیلتر شده این سه جلبک بطور چشمگیری رشد سلولی *P.donghaiense* کاهش یافت که احتمالاً بدلیل آزاد کردن سریع مواد آللوپاتیکی بوده است (Nakai *et al*.,1999) که اثر منفی بر روی رشد سلولهای جلبکی *P.donghaiense* داشته است. نتایج بدست آمده در تحقیق کنونی نیز هم راستا با تحقیق وانگ و همکارانش در سال ۲۰۰۷ بود و این نشان می دهد که چنین نتیجه ای بدلیل ترشح مواد آللوپاتیکی بازدارنده رشد بوده است.

نتایج حاصل از بررسی آماری داده ها نشان داد (شکل ۴۳) که در آزمایش تأثیر محیط کشت آبی فیلتر شده جلبک های ماکروسکوپی بیشترین وزن خشک جلبکی مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۰/۱۲۳ و کمترین وزن خشک صفر و متعلق به دو گونه *C.sinuosa* و *E.intistialis* بود که اختلاف معنی داری بین کمترین و بیشترین وزن خشک وجود داشت ($P<۰/۰۵$). در تحقیقی دیگر که توسط جیونگ و همکارانش در سال ۲۰۰۰ انجام شد از محیط کشت فیلتر شده جلبکی *Corallina pilulifera* و ۲۸ گونه جلبکی دیگر جهت بررسی تأثیر آن بر روی رشد *C. polykrikoides* استفاده شد و نتایج نشان دادند که استفاده از محیط کشت فیلتر شده جلبکهای ماکروسکوپی تازه سبب کاهش میزان رشد سلولی در گونه های فوق الذکر شد و بیشتر سلولهای میکرو جلبکی در مدت یک روز از حرکت و جنبش با ایستادن و زنجیره های آنها منقطع شد و در اندازه گیری وزن خشک با کاهش آن نسبت به تیمار شاهد مواجه شدند. در برخی گونه ها نیز شرایط آب با وجود داشتن مواد ضد جلبکی، فعالیت ضد جلبکی را نشان نداد. تحقیق کنونی با نتایج حاصل از تحقیقات جیونگ و همکارانش در سال ۲۰۰۰ تقریباً مشابه بود و در هر دو تأثیر ترشح یکسری مواد آللوپاتیکی با اثر بازدارندگی رشد را به اثبات رساند.

در نتایج آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون درون گروهی توکی (شکل ۴۲) مشاهده شد که بیشترین نرخ رشد متعلق به تیمار شاهد با میانگین ۰/۱۱۳ و کمترین نرخ رشد ویژه متعلق به *E.intistialis* با میانگین ۰/۴۹۳- بود که

اختلاف معنی داری در سطح P<۰/۰۵ نشان دادند. این نتایج گویای آن است که زمانی جلبکهای ماکروسکوپی اثر ضد جلبکی خود را بر روی گونه میکرو جلبکی بروز دهند سبب کاهش رشد سلولی و نتیجاتاً کاهش نرخ رشد ویژه آن می گردند. در پژوهشی دیگر که توسط والترز و همکارانش در سال ۱۹۹۶ بر روی چند گونه داینوفلاژلا انجام پذیرفت از محیط کشت فیلتر شده جلبک *Corallina pilulifera* استفاده کرد که کاهش تراکم سلولی و رشد را در تیمارهای مورد آزمایش مشاهده نمود که باعث کاهش نرخ رشد در آنها گردید. نتایج مطالعه حاضر با نتایج بدست آمده درتحقیق والترز و همکارانش در سال ۱۹۹۶ همراستا بود و احتمالاً بدلیل وجود مواد ضد جلبکی رها شده توسط جلبکهای ماکروسکوپی در محیط کشت آبی خود بوده است که تأثیر خود را بر روی سلولها میکرو جلبکی گذاشته است.

۵-۲-۵- کنترل شیمیایی

در این آزمایش به بررسی استفاده دوزهای مختلف برخی از مواد شیمیایی همچون اسید استیک، پراکسید هیدروژن، پرمنگنات پتاسیم، سولفات مس و هیپوکلرید سدیم پرداخته شد که نتایج آنالیز آماری حاصل(برای اسید استیک در ۴۶،۴۵،۴۴ و ۴۷ و برای پراکسید هیدروژن در شکل ۵۰،۴۹،۴۸ و ۵۱) نشان داد که در اسید استیک بیشترین درصد کارایی در زمان ۲ ساعت ۶۰/۶۷ درصد و در دوز ۱/۵ گرم در لیتر و کمترین مقدار ۷/۶۷ در دوز ۱ گرم بود که اختلاف معنی داری را نشان داد (P<۰/۰۵) . در زمان ۴ ساعت بیشترین درصد کارایی ۸۸/۳۳ و نیز متعلق به دوز ۱/۵ گرم در لیتر و کمترین مقدار ۱۵/۳۳ و مربوط به دوز ۰/۵ گرم در لیتر بود. در زمان ۲۰ ساعت بیشترین درصد کارایی ۱۰۰/۰۰ درصد و در دوز ۱/۵ گرم در لیتر وکمترین مقدار ۵/۳۳ در دوز ۱ گرم وجود داشت که اختلاف معنی داری را نشان دادند (P<۰/۰۵). همچنین در زمان ۲۴ ساعت بیشترین درصد کارایی ۱۰۰/۰۰ درصد و همان دوز ۱/۵ گرم در لیتر بود و کمترین آن ۱/۳۳ درصد و در دوز ۰/۰۵ گرم در لیتر بود که اختلاف معنی داری بین آنها مشاهده شد (P<۰/۰۵). این نتایج نشان داد که هر چه بر مقدار ماده

افزوده می شود درصد کارایی حذف سلولهای جلبکی *C. polykrikoides* افزایش می یابد و اذعان کننده اثر مثبت بازدارندگی رشد است که بیشتر در طولانی مدت مورد نظر می باشد که احتمالاً دوزهای بالا می تواند بهتر باشد ولی از آنجایی که بین ۱ و ۱/۵ گرم اختلاف معنی دار نیست می توان دوز ۱ گرم را درنظر گرفت که متعاقباً اثرات زیست محیطی کمتری داشته باشد.

در ماده پراکسید هیدروژن نتایج آماری گویای آن بود که بیشترین درصد کارایی در دوز ۱ و ۱/۵ گرم در لیتر ۱۰۰/۰۰ درصد بوده است و کمترین آن ۸/۳۳ درصد در دوز ۰/۱ گرم در لیتر مشاهده شد که اختلاف معنی داری را نشان دادند در دوز ۱ و ۱/۵ گرم در لیتر ۱۰۰/۰۰ درصد بوده است در زمان ۴ ساعت مجدداً بیشترین درصد کارایی در دوز ۱ و ۱/۵ گرم در لیتر ۱۰۰/۰۰ درصد بود و کمترین آن در دوزهای ۰/۰۵ و ۰/۱گرم در لیتر به ترتیب با میانگین ۱۷/۰۰ و ۲۰/۶۷ درصد مشاهده شد. که ما بین کمترین و بیشترین مقدار اختلاف معنی دار وجود نداشت ($P<۰/۰۵$). در زمان ۲۰ ساعت نیز بیشترین درصد کارایی در دوز ۱ و ۱/۵گرم در لیتر ۱۰۰/۰۰ درصد بوده است وکمترین آن ۱۵/۳۳ در دوز ۰/۰۵ گرم در لیتر بود و اختلاف معنی داری بین آنها مشاهده شد. همچنین در زمان ۲۴ ساعت مجدداً دوز ۱ و ۱/۵ گرم در لیتر بیشترین درصد کارایی ۱۰۰/۰۰ درصد را داشتند و کمترین آن ۲۹/۶۷ درصد و در دوز ۰/۰۵ گرم در لیتر مشاهده شد که بین آنها اختلاف معنی داری دیده شد ($P<۰/۰۵$). نتایج این آزمایش نیز نشان داد که در دوزهای بالاتر درصد کارایی حذف سلولهای جلبکی بالاترین بوده است اما از آنجایی که ما بین دوز ۱ و ۱/۵ گرم در لیتر اختلاف معنی دار نیست بهتر است بدلیل اثرات کمتر اکولوژیکی و زیست محیطی از دوز ۱ گرم در لیتر استفاده شود.

اما در تحقیقات انجام شده در مواد شیمیایی دیگر فوق الذکر (پرمنگنات پتاسیم ، سولفات مس و هیپوکلرید سدیم) درصد کارایی حذف سلولهای جلبکی *C. polykrikoides* در تمامی دوزها و در تمامی ساعات بررسی شده ۱۰۰ درصد بود و هیچ اختلاف معنی داری ما بین آنها مشاهده نشد ($P<۰/۰۵$) که نشان دهنده آن است که حتی کمترین مقدار ممکن می تواند در حذف سلولهای جلبکی مؤثر واقع شود. در تحقیقات مختلفی از

سولفات مس ، اکسیدانهای شیمیایی نظیر کلرین ، پراکسید ، ازن و کلرآمین استفاده شده است که باعث حذف سلولهای جلبکی شد (Chorus and Bartram 1999) که بیشتر برای تمیز کردن آب شرب و سیستم تصفیه آب انجام پذیرفته بود. همچنین در تحقیقی دیگر در فلوریدا که در سال ۱۹۵۷ انجام شد استفاده از سولفات مس برای حذف سلولهای جلبکی *Gymnodinium breve* که اثرات سمی بر موجودات آبزی و ماهیان داشت و باعث مرگ و میر آنها شده بود پی آمد غیر عمدی را بدنبال داشت که بدلیل ندانستن اثرات زیست محیطی که این ماده می توانست داشته باشد بود. نتایج بدست آمده در حذف سلولهای جلبکی و تأثیر این گونه مواد بر روی سلولهای جلبکی با نتایج بدست آمده در پژوهش کنونی هم راستا بود.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پروژه نشان دهنده آن بود که بطور کلی چندین روش برای کنترل برخی پلانکتونهای مضر که باعث ایجاد پدیده کشند می گردند وجود دارد که البته بستگی به شرایط بیولوژیکی و فیزیولوزیکی آنها نیز دارد و اینکه این گونه های مضر از چه گروه پلانکتونی باشند احتمالاً متفاوت است:

۱- در کنترل فیزیکی بهترین روش می تواند استفاده از دوغاب خاک رس باشد که دوز ۰/۵ گرم در لیتر درکوتاه مدت تا ۴ ساعت کارایی بهتر داشته و در طولانی مدت مقدار ۴ و ۱۰ گرم در لیتر حدود ۹۹ درصد

کارایی داشته است که البته پس از آن همان مقدار ۰/۵ گرم در لیتر با حدود ۵۰ درصد کارایی مؤثر واقع شده بود.

۲- در کنترل بیولوژیکی موارد مختلفی نیز مورد استفاده قرار می گیرد که یکی از این موارد استفاده از جلبکهای ماکروسکوپی بدلیل خواص آللوپاتیکی ضد جلبکی آنها است که باز می تواند به صور مختلف از جمله پودر خشک ، عصاره حلال های آبی ، عصاره ترکیبی حلال های آلی ، عصاره ترکیبی حلال های آبی و آلی (که در مورد حلال های آلی مواد مختلفی به غیر از متانول همچون اتر و استن و فرم آلدئید و... استفاده می شود) ، بافت تازه جلبکی و محیط کشت فیلتر شده بافت تازه جلبکی مورد آزمایش قرار گیرد اما در تحقیق کنونی تقریباً از تمامی روشها در چند گونه جلبکی که بومی منطقه خلیج فارس بود استفاده شد که بیشترین تأثیر درعصاره حلال های آبی از دوز پایین گرفته تا دوزهای بالاتر متعلق به گونه *C.sinuosa* و در عصاره ترکیبی حلال های آبی و آلی (متانول) بیشترین تأثیر را سه گونه *U.lactuca* , *S.illicifolium* و *G.corticata* دارا بودند. اما در بافت تازه جلبکی هرسه گونه مورد بررسی تأثیر مثبت ضد جلبکی داشتند و در محیط کشت فیلتر شده نیز *E.intistialis* بهترین اثر را نشان داد.

۳- در روش استفاده مواد شیمایی مختلف به عنوان روش کنترل شیمیایی بیشترین تأثیر را سه ماده پرمنگنات پتاسیم ، سولفات مس و هیپوکلرید سدیم حتی در کمترین دوز دارا بودند که باعث حذف ۱۰۰ درصدی سلولهای جلبکی شدند.

پیشنهادات

با توجه به اینکه در طی دهه های گذشته شکوفایی پلانکتونی مضر بخصوص گونه های مختلف داینوفلاژله ها درسراسر جهان و همچنین در خلیج فارس بوجود آمده و باعث خسارات جبران ناپذیر اقتصادی –اجتماعی و زیست محیطی فراوانی نیز گردیده است لذا کنترل کشند قرمز اخیراً موضوع مهمی در زمینه مدیریت محیط زیست دریا شده است که جهت حذف و از بین بردن میکرو جلبکهای مضر ایجاد کننده پدیده HAB از روشهای گوناگونی استفاده می شود اما ممکن است استفاده از این روشها اثرات زیست محیطی جبران ناپذیری را در بر داشته باشد بنابراین نیاز است تحقیقات بیشتری و دقت بالاتری در این زمینه مد نظر قرار گیرد لذا پیشنهاد می گردد:

۱- اگر فواصل زمانی مختلف جهت بررسی دوغاب خاک رس مورد مطالعه قرار گیرد می تواند در بدست آوردن بهترین زمان تأثیر گذاری آن مفید واقع شود.

۲- با توجه به شکوفایی های متعددی در حوضه خلیج فارس بخصوص در سواحل آن توسط گونه های مختلف از جمله *Noctiluca* sp. ، *Gymnodinium* sp. و .... اگر روشهای مختلف کنترل برای گونه هایی که احتمال می رود سبب این پدیده شود مورد بررسی قرار گیرد تا بتوان در مواقع ضروری با توجه به نوع گونه شکوفا شده راهکارهای مناسب برای مقابله با پدیده شکوفایی جلبکی در پی گرفت می تواند مفید باشد.

۳- همچنین اگر روشهای دیگر کنترل بیولوژیکی مورد بررسی قرر گیرد که اگر برای گونه های دیگر مفید واقع شود حتی الامکان در محیط های محصور می تواند مورد استفاده قرار گیرد.

۴- همچنین اگر بتوان اثرات استفاده از خاک رس را بر روی موجودات کفزی مورد بررسی قرارداد می توان تا حدودی اطمینان بیشتری حاصل کرد که آیا این روش کنترل تا چه حدی بر روی موجودات می تواند تأثیر داشته باشد.

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. ازآقایان دکتر کیومرث روحانی قادیکلایی که در اجرای این پروژه از ابتدا تا انتها یار و یاور این جانب 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 تشکر و قدر دانی می نمایم. از همکاران محترم پروژه و بخش آبزی پروری، جناب آقای مهندس عیسی عبدالعلیان و همچنین سرکار خانم مهندس فاطمه بناورویی که در اجرای پروژه از ابتدا تا انتها نقش ویژه و مؤثری 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 همکار بخش اکولوژی آقای مهندس غلامعلی اکبر زاده به جهت همکاری و همفرکری در تجزیه و تحلیل آماری داده ها 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 تشکر و قدردانی می نمایم.

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 و همچنین 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 کمال تشکر و سپاس را دارم. در پایان از درگاه خداوند متعال برای همه این عزیزان آرزوی سلامتی و سربلندی و موفقیت در همه امورات زندگی می نمایم.

فهرست 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. ۷۸ صفحه

- عبدالعلیان،ع.،معزی،م.،فروغی فرد،ح.،اکبرزاده،غ.، غریب نیا،م.،خدادی جوکار،ک.،سراجی،ف. و دهقانی،ر.،۱۳۹۱.تعیین پارامتر های موثربر رشد و شکوفایی جلبک *Cochlodinium polykrikoides* . گزارش نهائی پروژه ، مؤسسه تحقیقات شیلات ایران ، ۸۶ صفحه .

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 55:133–138.261–274.

Anderson,D.M.,1997. Turning back the harmful red tide. *Nature,* **388**:513–514.

Bazes,A.;Silkina,A.;Defer,D.;Bernède-Bauduin,C.;Quéméner,E.;Braud,J-P. and Bourgougno,N.,2006. Active substances from *Ceramium botryocarpum* used as antifouling products in aquaculture. quaculture 258 (1-4): 664-674.

Beaulieu,S.E;Sengco,M.R and Anderson,D.M.,2005. Using clay to control harmful algal blooms:deposition and resuspension of clay/algal flocs.elsevier.com/locate/hol,17.09.2011.123-138.

Cho,J.Y.;Jin,H.J.;Whyte,J.N.C., and Hong,Y.K., 1999. Growth activation of the microalga Iso chrysis galbana by the aqueous extract of the seaweed Monostroma nitidum.Journal of Applied Phycology,10:561-567.

Choi,H.G.;Kim,P.J.;Lee,W.C.;Kim,H.G. and Lee,H.J.,1998. Removal fficiency of Cochlodinium polykrikoides by yellow loess. J.Kor. Fish. Soc. 31, 109–113.

Choi,H.G;Kim,P.J;Lee,W.C;Yun,S.J;Kim,H.G., and Lee,H.J.,1998. Removal efficiency of *Cochlodinium polykrikoides* by yellow loess.J.Korean Fish.Soc.31:109-113.

Chorus,I. and Bartram,J(eds.).,1999. Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management. London: E&FN Spon,communities: allelopathy versus other mechanisms. Aquat. Bot. 72,

Crouch,I.J. and Staden,J.V.1993. Evidence for the presence of plant growth regulators in commercial seaweed products. *Plant Growth Regulation*, ***13,*** 21–29.

Crouch,I.J. and Staden,J.V.,1992. Effect of seaweed concentrate on the establishment and yield of greenhouse tomato plants. *Journal of Applied Phycology*, ***4,*** 291–296.

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.

Garate-Liza´rraga,L.;Bustillos-Guzma´n,J.J.;Morquecho,L. andLechuga-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. andNuzzi,R.,2008.Characterization,dynamics, and ecological impacts of harmful *Cochlodinium polykrikoides* blooms on eastern Long Island, NY, USA. *Harmful Algae,* 7: 293–307.

Grant, J.D., and Anderson,M.,2003. Effects of suspended and sedimented clays on juvenile hard clams Mercenaria mercenaria within the context of harmful algal bloom mitigation.Marin Biology.DOI 10.1007/s00227-003-1222-5.p.144:553-565.

Hasler,A.D. and Jones,E.,1949. Demonstration of the antagonistic action of large aquatic plants on algae and rotifers. Ecology 30, 359–364.Sfriso, A., Pavoni, B., 1994. Macroalgae and phytoplankton competition in the central Venice lagoon.Environ. Technol. 15, 1–14.

Jeong, J-H.; Jin ,H-J.; Sohn ,C.H.; Suh ,K-H. and Hong Y-K.,2000. Algicidal activity of the seaweed Corallina pilulifera against red tide microalgae. Journal of applied phycology .Volume 12, Number 1, 2000 , pp. 37-43(7).

Jeong,H.J.;Yoo,Y.D.;Kim,J.S.;Kim,T.H.;Kim,J.H.;Kang,N.S.andYih,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.

Jeong,J-H.;Jin,H-J.;Sohn,C.H.;Suh,K-H. and Hong,Y-K.,2000. Algicidial activity of the seaweed coralline pilulifera against red tid microalgae.Journal of Applied phycology 12:37-43.

Jin,Q. and Dong,Sh.L.,2003. Comparative studies on the allelopathic effects of two different strains of Ulva pertusa on Heterosigma akashiwo and Alexanadrium tamarense. J. Exp. Mar. Biol. Ecol.293, 41–45.

Jin,Q.;Dong,Sh.L. and Wang,Ch.Y.,2005. Allelopathic growth inhibition of *Prorocentrum micans* (Dinophyta) by *Ulva pertusa* and *Ulva linza* (Chlorophyta) in laboratory cultures. Eur. J. Phycol. 40, 31–37.

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,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

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,H.G.,1997. Recent harmful algal blooms and mitigation strategies in Korea. *Ocean Res.,* 19, 185–192.

Koji,k.;Yuki,M. and Naganuma,T.,1998. Removal of biofouling and red tide algae by Triosyn agent.Abstract of 2nd Meeting for Japan Marine Biotechnology.p.89.

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.

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 (in Japanese).

Margalef,R.,1961. Hidrografı´a y fitoplancton de un a´rea marina de lacosta meridional de Puerto Rico. Invest. *Pesq. Tomo*, 18: 33–96 (in Spanish).

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.

Mold and Mclntyre A.D.,1984. Method for the study of marine Benthos,second Edition.ISBN-0-632-00894-6.P:16-399.

Na,G.H;Choi,W.J and Chun,Y.Y.,1996. A study on red tide control with loess suspension.Kor.J.Aquacult.9:239-245.

Na,G.H;Yuki,M. and Naganuma,T.,1998.removal of biofouling and red eide algae by Triosyn agent.Abstract of 2nd meeting for japan Marine Biotechnology.p.89.

Nagayama,K.;Shibata,T.;Fujimoto,K.;Honjo,T. and Nakamura,T.,2003. Algicidal effect of phlorotannins from the brown alga Eckloniakurome on red tide microalgae. Aquaculture 218, 601–611.

Nakai,S.;Inoue,Y.;Hosomi,M. and Murakami,A.,1999. Growth inhibition of blue-green algae by allelopathic effects of macrophytes.

Nakai,S.;Inoue,Y.;Hosomi,M. and Murakami,A.,2000. Myriophyllum spicatum-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of bluegreen algae Microcystis aeruginosa. Water Res. 34, 3026–3032.

Nan,C.;Zhang,H.;Lin,S.;Zhao,G. and Xueying,L.,2008. Allelopathic effects of *Ulva lactuca* on species of harmful bloom-forming microalgae in laboratory cultures.Aquatic Botany 89:9-15.

National Sea Grant College Program Office of Oceanic and Atmospheric Research National Oceanic and Atmospheric Administration Department of Commerce.2001.Prevention, Control and Mitigation of Harmful Algal Blooms.United States.United States Congress.

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.

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.

Ryu,H.Y;Shim,J.M;Bang,J.D and Lee,C.,1998. Experimental chemical treatment for the control of dinoflagellate,*Cochlodinium polykrikoides* in the land-based culture of olive flounder *Paralichthys olivaceus.*Kor. J.Aquacult.11:285-294.

Sengco,M.R.;Li,A.;Tugend,K.;Kulis,D.and Anderson,D.M.,2001. Removal of red- and brown-tide cells using clay flocculation. I. Laboratory culture experiments with *Gymnodinium breve* and *Aureococcus anophagefferens*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.,* 210:41–53.

Sfriso, A. and Pavoni, B., 1994. Macroalgae and phytoplankton competition in the central Venice lagoon. Environ. Technol. 15, 1–14.

Skovgaard,A.,2000. A phagotrophically derivable growth factor in the plastidic dinoflagellate *Gyrodinium resplendens* (Dinophyceae). *J. Phycol.,* 36:1069–1078.

Smith,D.W. and Horne,A.J.,1988. Experimental measurement of resource competition between planktonic microalgae and macroalgae (seaweeds) in mesocosms simulating the San Francisco Bay-Estuary, California.Hydrobiologia 159, 259–268.
Steidinger KA.1983.A re-evalution of toxic dinoflagellate biology and ecology.Phycol.Res.2:147-188.

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.

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.

Suzuki,Y.;Takabayashi,T.;Kawaguchi,T. and Matsunaga,K.,1998. Isolation of an allelopathic substance from the crustose coralline alga,Lithophyllum spp., and its effect on the brown alga, Laminaria religiosa Miyabe(Phaeophyta). J.Exp. Mar. Biol. Ecol. 225, 69–77.

Tamadoni,jahromi,S.;Othman,A.S.;Saraji,F.;Abdolalian,E.;Moezzi,M.;Roohani,K.;Hamzehee,S.;Sadeghi ,M.R.,2011. Identification and Molecular phylogeny of dinoflagellate(*Cochlodinium polykricoides*)from Persian Gulf.itn.j.Rev.Sci.,1(4),193-200.

Van Donk,E. and Van de Bund,W.J., 2002. Impact of submerged

Walters,L.J;Hadfield,M.G and Smith,C.M.,1996. Waterborne chemical compounds in tropical macroalgae:positive and negative cues for larval settlement.Mar.Biol.126:383-393.
Wang,R.;Xiao,H.;Wang,Y.;Zhou,W., and Tang,X.,2007. Effects of three macroalgae, *Ulva linza* (Chlorophyta), *Corallina pilulifera* (Rhodophyta) and *Sargassum thunbergii* (Phaeophyta) on the growth of the red tide microalga *Prorocentrum donghaiense* under laboratory conditions. Journal of Sea Research 58 (2007) ,189–197.
Water Sci. Technol. 39, 47–53.

Yim,J.H. and Lee,H.K.,2004. Axenic culture of *Gyrodinium impudicum* strain KG03 a marin Red-tide Microalgae that Produces Exopolysaccharide.The Microbiological Society of Korea.Vol.,No.4,pp305-314.

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. Elsevier, Amsterdam, pp. 451–454.

Zheng,T.L;Su,J.Q;Maskaoui,K.;Yu,Z.M;Hu,Z.;Xu,J.S.&Hong,H.S.,2005. Microbial modulation in the biomass and toxin production of a red-tide causing alga. Mar Pollut Bull 51:1018–1025.

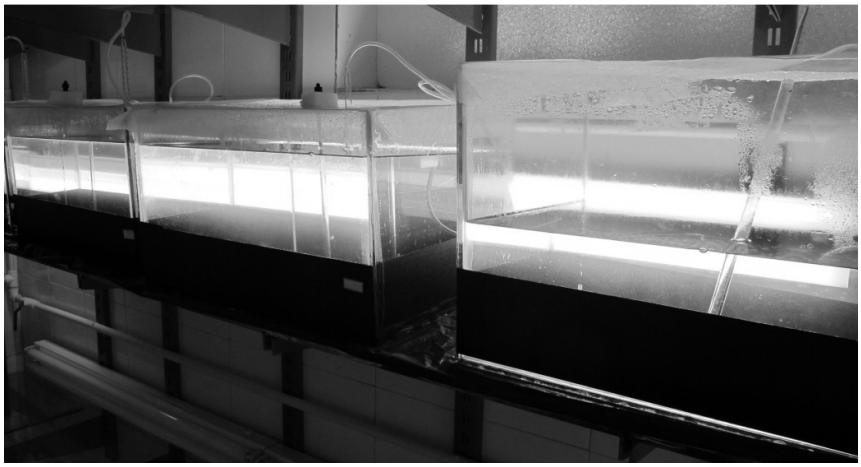
ضمائم

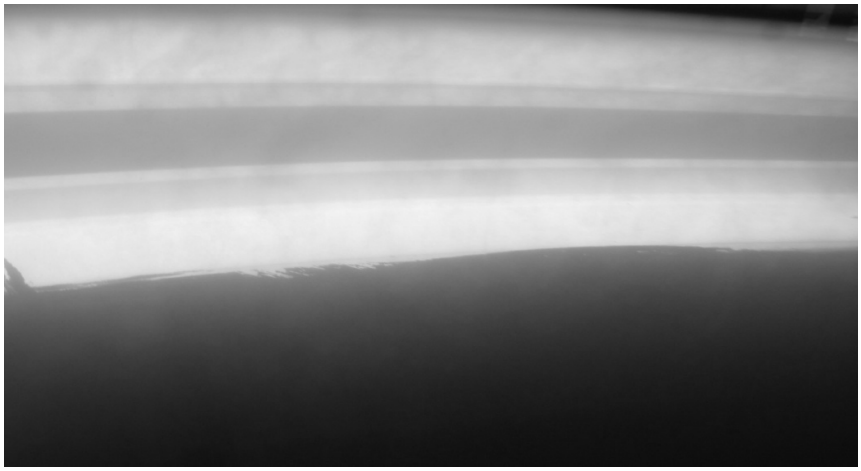
ضمیمه ۱ : ترکیب و مواد تشکیل دهنده محیط کشت F2 تغییر یافته ۲

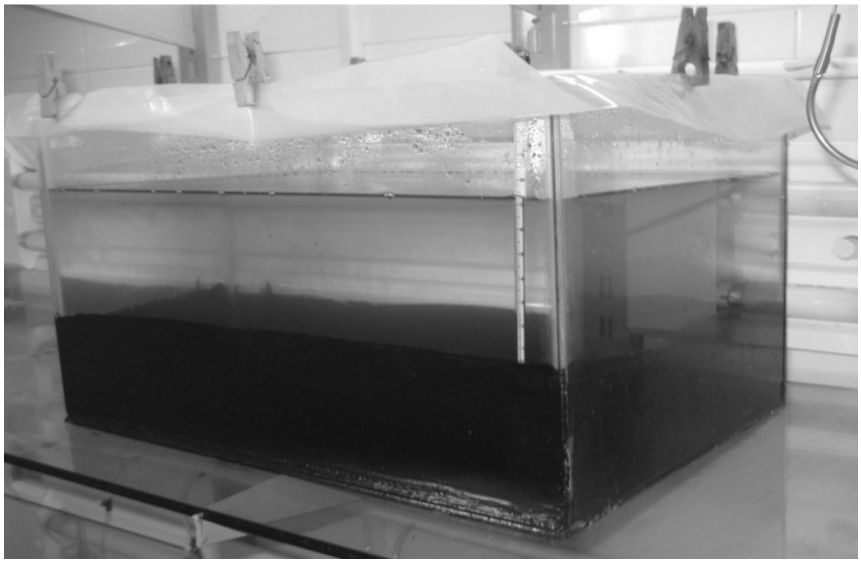
محیط کشت2 – محلول p_1	
آب مقطر	۱۰۰۰ ml
EDTA	/8 gr
$Mncl_2.4H_2O$	/7 gr
$CoCL_2.6H_2O$	/005 gr
$ZnCL_2$	/06 gr
H_2Seo_3	200 µg
محلول p_2	
آب مقطر	۱۰۰۰ ml
H_3BO_3	6/5 gr
محلول ویتامین	
آب مقطر	۱۰۰۰ ml
B_1	2 gr
B_{12}	/2 mg
Biotin	/2 mg
محلولP_3	
Sea water	2000 ml
$NaNO_3$	/4 gr
$NaH_2po_4.2H_2O$	/04 gr
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

ضمیمه ۲ : آکواریوم های محتوی جلبک *Choclodinium polykrikoides* بلوم کرده







Abstract:

Study on effects of physical , biological and chemical parameters on growth and bloom-forming of dinoflagellates *Cochlodinium polykrikoides*

The red tide, as a natural phenomenon, has been frequently occurred in the Persian Gulf and Oman Sea coastal waters. Harmful algal blooms of *Cochlodinium polykricoiedes* were first observed in August 2007 and coincided with massive aquatic organisms' mortalities and have caused substantial economic losses and negative effects on the aquatic environment in the Persian Gulf. The objective of this study was to evaluate direct control or mitigation of *C. polykricoiedes* blooms through physical (flocculation with clay; 0.5, 1.0, 1.5, 2, 4 and 10 g L^{-1}), biological [6 seaweeds; fresh and extract (aqueous and methanol)] and chemical (hydrogen peroxide, potassium permanganate, copper sulfate, acetic acid and sodium hypochlorite; 0.05, 0.1, 0.5,1 and 1.5 g L^{-1}) treatments. The results of the physical assay showed that the growth of *C. polykricoiedes* was strongly inhibited by using clay slurry in 4 or 10 g L^{-1}. The removal efficiency of *C. polykricoiedes* by clay was 99% after 24 hour. The seaweeds showed the most mitigation effect on *C. polykricoiedes* using aqueous extract was *C. sinnosa*, using mixed aqueous and methanol were *S. illicifolium , U. lactuca* and *G. corticata*, fresh tissue were *E.intistialis* ، *C.sinuosa* , *H.valentiea* , and culture filtrate of *E. intistialis*. The results clearly showed that the flocculants; potassium permanganate, copper sulfate, acetic acid and sodium hypochlorite had the highest removal efficiency (100%) of *C. polykricoiedes* cells in the lowest concentration (0.05 g L^{-1}). Overall, our experiments suggest that using clay and seaweeds as a control strategies could be considered for HABs in the Persian Gulf coastal waters.

Key words: Harmful algal bloom, *Cochlodinium polykrikoides*, Isolation, Optimum growth parameters, Persian Gulf