جداسازی و شناسایی مورفولوژیک و مولکولی گونه‌های جدید سیانوباکتری از منطقه فیروزکوه (استان تهران) با استفاده از محیط‌های کشت مختلف

ندا سلطانی: پژوهشکدهٔ علوم پایهٔ کاربردی جهاد دانشگاهی
مهروز دزفولیان: دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
شادمان شکروی: دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
لادن بافته‌چی، شیما احسان: پژوهشکدهٔ علوم پایهٔ کاربردی جهاد دانشگاهی

چکیده

ریزجلبک‌ها از جمله سیانوباکتری‌ها، از موجودات زندهٔ همه جازی هستند و مواد معدنی عامل محدودکنندهٔ رشد این موجودات در نظر گرفته می‌شود. پژوهش حاضر، ضمن جداسازی و شناسایی گونه‌های سیانوباکتری در خاک به بررسی تأثیر محیط‌های کشت مختلف بر رشد گونه‌های سیانوباکتری پرداخته است. در نتیجه، دو گونهٔ جدید از سیانوباکتری‌های متعلق به خانواده اسیلاتوریاسه[1] از استان تهران برای اولین بار جداسازی و گزارش گردیده‌اند. در همین راستا نمونه‌برداری از خاک در سطح استان تهران در تابستان سال ۱۳۸۷ صورت گرفت. برای بررسی تأثیر مواد غذایی محیط‌های کشت بر رشد ریزجلبک‌ها، نمونه‌ها با استفاده از محیط‌های کشت بی بی ام و ان ۸ کشت شدند. جداسازی با استفاده از پاساژهای متعدد صورت گرفت. شناسایی مورفولوژیک با استفاده از کلیدهای شناسایی معتبر و شناسایی مولکولی با استفاده از تعیین توالی ژنوم 16S rRNA انجام شید. در نتیجهٔ این تحقیق دو گونه لپتولینگبیا اس پی۴۰[2] و لپتولینگبیا اس پی۲۵[3] برای اولین بار از استان تهران گزارش شده است. نمونه‌های خاک کشت شده از نظر فیزیکی و شیمیایی نیز بررسی شدند. نتایج حاصل نشان می‌دهد جداسازی با استفاده از محیط کشت BBM نتیجه بخش است و با توجه به فقر نسبی این دو نمونه خاک، دو گونهٔ شناسایی شده، گونه‌های مقاوم در برابر نامساعد بودن شرایط محیطی هستند.

مقدمه

تاکسونومی سیانوباکتری‌ها در سال‌های اخیر موضوع اختلاف نظر در میان جلبک‌شناسان بوده است [۱]. به همین دلیل تحقیقات زیادی نه تنها بر روی شاخص‌های مورفولوژیک، بلکه در ارتباط با خصوصیات فیزیولوژیک به منظور شناسایی بهتر و دقیق تر این جلبک‌ها انجام شده است [۲]. همچنین تکنیک‌های مولکولی

واژه‌های کلیدی: خاک، سیانوباکتری، شناسایی، عوامل فیزیکوشیمیایی، محیط کشت، 16S rRNA
دریافت ۸۸/۵/۶ پذیرش ۸۹/۲/۴

۱. Oscillatoriaceae ۲. *Leptolyngbya* sp. ISC 40 ۳. *Leptolyngbya* sp. ISC 25

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-23]

را می‌توان به این ابزارها برای شناسایی دقیق‌تر جلبک‌ها افزود، که در آن از مارکرهای مختلف برای بررسی توالی ژنوم‌ها استفاده می‌شود. رایج‌ترین مارکر تاکزونومیک 16S rRNAاست [۳]. خانواده اوسیلاتوریاسه دسته‌ای از سیانوباکتری‌ها هستند که تحقیقات مبسوطی بر روی آن‌ها صورت گرفته و کماکان مرکز بررسی‌های گسترده هستند [۴]. گونه‌های خانوادهٔ اسیلاتوریاسه در همه جای جهان پراکنده‌اند [۵]. یکی از زیستگاه‌های این سیانوباکتری‌ها، در سطح و یا زیر سطح خاک است. بسیاری از جمعیت‌های سیانوباکتری‌های متعلق به خانوادهٔ اوسیلاتوریاسه تغییرات مورفولوژیک چشمگیری را از خود نشان می‌دهند [۶]. با وجود نیاز به بررسی‌های تکمیلی، مانند روش‌های شیمیوتاکزونومی، مولکولی و دیگر روش‌ها برای شناسایی دقیق این دسته از سیانوباکتری‌ها، هنوز صفات مورفولوژیک اساس این شناسایی‌ها را تشکیل می‌دهد. شناسایی گونه‌های این خانواده به دلیل شباهتی که به‌ویژه بین جنس‌های اسیلاتوریا[۱]، لینگبیا[۲] و فورمیدیوم [۳] وجود دارد و نیز تنوع و تعداد زیاد آن‌ها دشوار است. این مشکل به دلیل تنوع مورفولوژیک و میزان پلی‌مورفیسم و تغییرات جغرافیایی در این جنس‌هاست. بر همین اساس، کلیدهای شناسایی و نیز گونه‌هایی که پیش از این، در این خانواده شناسایی شده‌اند، نیاز به بازنگری‌های اساسی دارد [۷]. جان و همکاران[۴]، ۲۰۰۳ ، لپتولینگبیا را مترادف فورمیدیوم قرار داده‌اند [۶].

تاکنون گزارش‌های مربوط به سیانوباکتری‌های ایران بیش‌تر مربوط به نمونه‌های آبزی بوده است. از طرف دیگر، نمونه‌های خاکـزی که شناسایی شده‌اند نیز متعلق به خاک شالیزارها هستند[۲۱]، [۲۲]. لذا اغلب جلبک‌های شناسایی شده مربوط به سایر دسته‌های سیانوباکتری مانند راسته نوستوکالز[۵] است. تجربیات شخصی مؤلفین حاکی از آن است که استفاده از کلیدهای متداول برای شناسایی جنس اسیلاتوریا در ایران دقیق نبوده و نیاز جدی به بازنویسی و بومی‌سازی آن وجود دارد.

از سوی دیگر بررسی‌های اکولوژیک در بارهٔ سیانوباکتری‌ها مانند سایر جانداران نشان‌دهندهٔ تأثیر عوامل فیزیکوشیمیایی بر روی این جمعیت‌هاست. از همین روی در این تحقیق از محیط‌های کشت مختلف برای جداسازی سیانوباکتری‌ها استفاده گردید تا تأثیر آن بر فلور محلی ارزیابی شود. زیرا پژوهش‌هایی از این دست کم‌تر مورد توجه قرار گرفته است [۸]. به همین منظور، خاک‌های کشت شده که منجر به جداسازی این دو گونه جدید از استان تهران شده‌اند، برای ارزیابی بیش‌تر آنالیز عناصر ماکرو میکرو شده‌اند.

مواد و رو ش‌ها

نمونه‌هایی که در این مقاله به جداسازی و شناسایی، و تأثیر محیط‌های کشت مختلف بر آن‌ها پرداخته شده‌اند، از خاک منطقه‌ای از جاده فیروزکوه- سمنان (شرق استان تهران) با موقعیت جغرافیایی "۱۰/۹۱ '۴۳ °۳۵ N

۱. *Oscillatoria* ۲. *Lyngbya* ۳. *Phormidium* ۴. John et al. ۵. Nostocales

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-23]

و "۰۰/۲۱ '۰۲ °۵۳ E برداشت شدند. موقعیت جغرافیایی محل در شکل۱ نشان داده شده است. ارتفاع محل ۲۴۵۶ متر و دمای هوا در تاریخ نمونه‌برداری ۲۷ درجهٔ سانتی‌گراد بود. در هنگام نمونه‌برداری هیچ آثاری از کلنی‌های جلبکی بر روی خاک مشاهده نمی‌شد. در این نمونه‌برداری دو نمونه خاک ۱ و ۲ که به ترتیب به رنگ‌های قرمز و آبی دیده می‌شدند، مطابق روش‌های معمول کشت شدند [۹]. به منظور بررسی تأثیر محیط کشت بر فلور این خاک‌ها محیط کشت N8 و محیط کشت BBM به صورت جداگانه مورد استفاده قرار گرفتند [۹]. کشت‌های جامد تحت روشنایی $\mu E\ m^{-2}s^{-1}$ ۳۰۰ قرار گرفتند. این روشنایی با ۴ لامپ فلورسانت با نور سفید (۴۰W) تأمین می‌شد. دما در هنگام گرمخانه‌گذاری ۱± ۳۰ درجه سانتیگراد بود. اندازه‌گیری نور با نورسنج (Licor LI-1000 Datalogger) که به یک سنسور کوانتوم مجهز است، صورت پذیرفت. پس از رویش کلنی‌ها و جداسازی آن‌ها، نمونه‌ها شناسایی شدند. شناسایی با استفاده از کلیدهای جان و همکاران، (۲۰۰۳)[۶]، آناگنوستیدیس[۱] و کومارک[۲]، (۱۹۹۰) [۵]، دسیکاچاری[۳]، (۱۹۵۹)[۱۰] و گیتلر[۴]،(۱۹۳۲)[۱۱] انجام پذیرفت. پس از جداسازی این دو گونه و نظر به تغییرات مورفولوژیک سوش‌ها در محیط‌های مایع و جامد می‌بایست کشت مایع صورت می‌گرفت. به همین منظور نمونه‌ها به کشت‌های مایع انتقال یافتند. کشت مایع به صورت بچ و در ارلن‌هایی با حجم ۳۰۰ میلی‌لیتر صورت پذیرفت. این ارلن‌ها با پنبه مسدود گشتند. کشت‌ها بدون هوادهی یا همزدن گرمخانه‌گذاری شدند. بررسی‌های مورفولوژیک در کشت‌های مایع و جامد -هر دو- انجام پذیرفت. رشد تال، ساختار ریسه و اطلاعات بیومتریک گزارش شد. تشکیل کلنی و شکل سلول‌ها با استریومیکروسکوپ و میکروسکوپ نوری در تناوب‌های زمانی بررسی شد.

برای شناسایی مولکولی ابتدا DNA نمونه‌ها به روش ساگی- ماروف[۵] و همکاران استخراج شدند [۱۲]. پس از افزودن ۳۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول به DNA استخراج شده، نمونه ۲۰ دقیقه در فریزر نگهداری شد و پس از خارج کردن محلول رویی با اتانول ۷۰% شستشو شد. پس از ۵ دقیقه محلول رویی مجدداً خارج و در ۷۰ درجه خشک شد. در مرحلهٔ بعد ۵۰ میکرولیتر آب بر روی رسوب ریخته شد و محلول DNA استخراج شده برای مراحل بعد نگهداری شد. دو پرایمر به کار گرفته شده دارای این توالی بودند:

106F 5'-CGGACGGGTGAGTAACGCGTGA
Rb 5'-GACTACAGGGGTATCTAATCCCTTT

برای انجام PCR از ۱ میکرولیتر از پرایمر رفت و برگشت به‌طور جداگانه، هر کدام با غلظت نهایی pM ۱۰ استفاده شد. سپس محلول پایه PCR به میزان ۵/۲۵ میکرولیتر شامل $MgCl_2$ ۵۰ میکرومولار، بافر PCR 1oX، نوکلئوتید ۱۰ میلی مولار و تک پلیمراز[۱] 5 U/µl به آن اضافه شد. حجم نهایی با کمک آب به ۱۹ میکرولیتر رسانده شد [۲]. به هر کدام از مخلوطهای واکنش۶ میکرولیتر از DNA استخراج شده افزوده گردید.

۱. Anagnostidis ۲. Komarek ۳. Desikachary. 4 Geitler ۵. Saghi-Maroof

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-23]

سپس مخلوط واکنش برای انجام PCR به داخل ترموسایکلر با این برنامه منتقل شد. سیکل اول شامل: ۵ دقیقه در ۹۴ درجه، ۱ دقیقه در ۸۰ درجه، سیکل دوم شامل: ۱ دقیقه در ۹۴ درجه، ۱ دقیقه در ۶۰ درجه و ۱ دقیقه در ۷۲ درجه (۳۴ سیکل) و سیکل سوم شامل: ۱۲ دقیقه در ۷۲ درجه و ۵ دقیقه در ۱۴ درجه . برای شناسایی محصول PCR ۸ میکرولیتر از این محصول در ژل آگارز ۱/۵% حاوی رنگ DNA الکتروفورز گردید [۱۳] و نتیجه الکتروفورز با استفاده از دستگاه ژل-داک[۲] عکس‌برداری شد. به منظور تمیز کردن محصول PCR از کیت پاکسازی[۳] استفاده شد و محصول باقیمانده در انتهای ستون برای تعیین توالی به شرکت ژن فن آوران ارسال شد. عناصر شیمیایی (میکرو و ماکرو) و فیزیکی در خاک‌های نمونه‌برداری شده، اندازه‌گیری شدند. شوری با روش عصاره اشباع، اسیدیته با روش گل اشباع، کربن آلی با روش والکی بلک، نیتروژن کل به روش کجلدال، فسفربه روش اولسون، پتاسیم با روش فلیم فتومتر، آهن، روی، مس و منگنز به روش اتمیک، بر به روش آزومتین H و بافت خاک به روش هیدرومتری سنجیده شدند.

شکل ۱. محل نمونه‌برداری با فلش مشخص شده است.

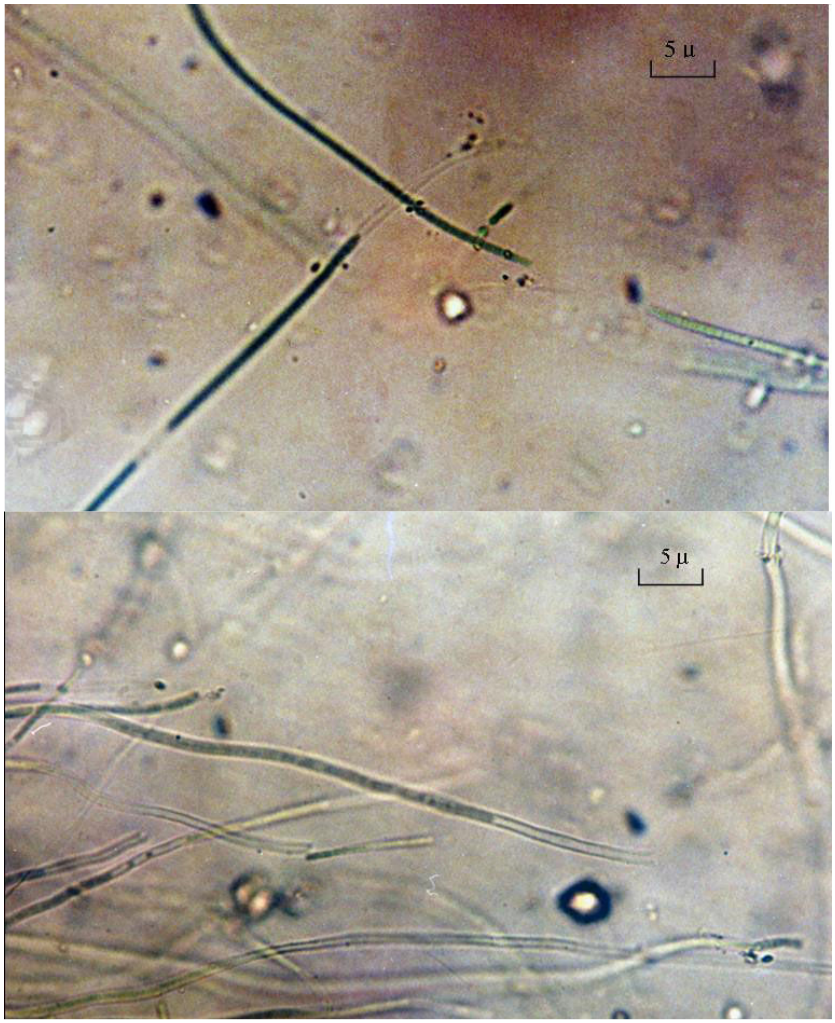
نتایج

در این پروژه ۲۰ گونه از جلبک‌های سبز آبی شناسایی شدند. فقط ۲ گونه آن در این مرحله برای اولین بار از استان تهران گزارش شدند. موقعیت این دو گونه بدین شرح است:

شاخه: سیانوفیتا[۴]، رده: سیانوفیسه[۵]، راسته: اسیلاتوریالز[۶]، خانواده: اسیلاتوریاسه[۷]، جنس: لپتولینگبیا[۸]، *مترادف: فورمیدیوم*[۹]

۱. Taq polymerase ۲. Gel Documentation ۳. Real clean Spin Kit ۴. Cyanophyta
۵. Cyanophyceae ۶. Oscillatoriales ۷. Oscillatoriaceae ۸. *Leptolyngbya*
۹. *Phormidium*

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-23]



شکل ۲. تصاویر میکروسکوپی مربوط به گونه لپتولینگبیا اس پی. 40 **(بالا) و** لپتولینگبیا اس پی. ISC 25 **(پایین)** X 480

توصیف گونه لپتولینگبیا اس پی ۴۰

مترادف: فورمیدیوم اس پی.

اجتماعات متقارن، سبز روشن، غلاف خیلی نازک، غیرقابل تشخیص، سلول‌ها کم و بیش چهارگوش، پهنا به اندازه طول، انتهای سلول بدون کلاه یا سرپوش،کم و بیش گرد، دیوارهٔ عرضی فشرده، پهنا ۳-۳/۹- ۴/۲- ۵ میکرون (شکل ۲).

توصیف گونه لپتولینگبیا اس پی ۲۵

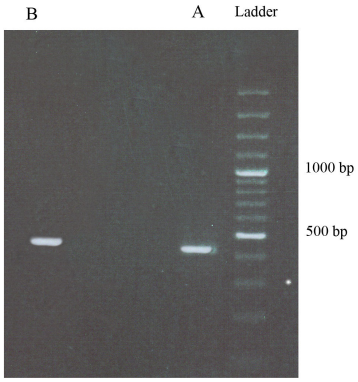
مترادف: فورمیدیوم اس پی.

اجتماعات پوسته‌ای، رنگ سبز روشن، توری شکل، ترایکوم‌ها کاملا" همسو، غلاف ترایکوم‌ها مشخص نیست،

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-23]

شفاف، بدون لایه‌بندی، پهنای سلول‌ها بیش‌تر از طول آن، یا گاهی چهارگوش، انتهای سلول گرد، بدون کلاه یا سرپوش، دیواره عرضی سلول‌ها فشرده نبوده یا کمی فشرده است، پهنا ۳ – ۳/۵ میکرون (شکل ۲).

تصاویر مربوط به ژل و همچنین توالی مربوط به DNA استخراج شده از نمونه‌های جدا شده در شکل ۳ آمده است.



gcctgtgggt tgtaaacctc ttttctcaag gaagaagaca gtgacggtac ttgaggaatc

(A) agcatcggct aactccgtgc cagcagccgc ggtaagacgg aggatgcaag cgttatccgg aattattggg cgtaaagcgt ccgcaggtgg gtttacaagt ctgctgtcaa agcgcagagc ttaactctgt acaggcggtg gaaactgtaa gtcttgagta tggtaggggt agagggaatt cccggtgtag cggtgaaatg cgtagatatc gggaagaaca ccatgtggcg aaagcgctct actgggccat

tctgtggatt gtaaacccct tttctcaggg aagaagctct gacggtacct gaggaatcag

(B) catcggctaa ctccgtgcca gcagccgcgg taatacggag gatgcaagcg ttatccggaa ttattgggcg taaagcgtcc gcaggcggct agataagtct gctttcaaag agtggggctc aaccccataa agggagtgga aactgtttag ctagagtatg gtaggggcag agggaattcc cagtgtagcg gtgaaatgcg tagatattgg gaagaacacc agtggcgaag gcgctctgct ggaccgag

شکل ۳. تصاویر ژل الکتروفورز و توالی مربوط به DNA استخراج شده از نمونه‌های لیپتولینگبیا اس پی ۴۰ (A) و لیپتولینگبیا اس پی ۲۵ (B)

بررسی‌های مولکولی بر روی ناحیه حفظ شده 16s rRNA با استفاده از پرایمرهای اختصاصی سیانوباکتری صورت پذیرفت. در این ناحیه منطقهٔ بسیار متغیّری وجود دارد که تشخیص مولکولی جنس را به دقت امکان‌پذیر می‌سازد. نتایج حاصل از سکانسینگ توالی‌های 16s rRNA مؤید صحت نتایج مورفولوژیک در شناسایی جنس‌های آزمایش شده بود. گونهٔ *L*.sp. ISC 40 دارای ۹۸% همولوژی با سوش لیپتولینگبیا اس پی. JO2-1B بوده و گونه لیپتولینگبیا اس پی ۲۵ دارای ۹۹% همولوژی با گونه فورمیدیوم تنواست.

خاک‌های نمونه برداری شده تجزیهٔ مواد شیمیایی و فیزیکی شدند. نتایج حاصل از این آنالیز در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. آنالیز فیزیکی و شیمیایی خاک‌های کشت داده شده

نوع خاک	بافت	Ec Ds/m	pH	O.C %	Total N %	P ppm	K ppm	Fe ppm	Zn ppm	Cu ppm	Mn ppm	B ppm
خاک ۱	لوم	۱/۶۶	۷/۴۱	۰/۳۳	۰/۰۳۳	۶/۲۴۱	۱۰۶	۲/۸۲	۰/۵۶	۰/۴۶	۳/۵۴	۱/۳۸
خاک ۲	ماسه‌ای	۲/۷۵	۷/۷	۰/۰۹	۰/۰۰۹	۲/۴۱	۲۷۲	۳/۱۶	۰/۵۶	۰/۱۸	۱/۳	۰/۴۴

نتایج آنالیز خاک‌ها حاکی از مقدار متوسط یا پایین شوری است. اسیدیتهٔ خاک (جدول ۱) در محدودهٔ قلیایی است و با طبیعت پراکنش سیانوباکتری‌ها در چنین محیطهایی هماهنگی دارد [۱۴]. از نظر آهک خاک ۱ میزان آهک زیاد است (۳۰/۳%). میزان فسفر در هر دو خاک نسبتاً کم بوده ولی خاک۱ از این نظر غنی‌تر است.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-23]

میزان پتاسیم در خاک آبی زیاد است و از نظر پتاسیم تنشی به جلبک وارد نیامده است. بررسی میزان آهن نشان می‌دهد، با وجود تغییر رنگ خاک‌ها به سمت قرمز و آبی، میزان آهن در هر دو خاک اندک است. سطح روی و منگنز در سطح مرز سطح بحرانی قرار دارد ولی مقدار مس اندک است.

بررسی کلنیزاسیون نشان می‌دهد که خاک ۲ به مراتب دیرتر از خاک ۱ آثار کلنی را بر روی خود نشان داد (حدود ۲ ماه پس از کشت اولیه). خاک ۱ زودتر سبز شد، ولی تعداد کلنی‌های رشد یافته بر روی خاک ۱ بسیار اندک بود (شکل۴). این در حالی است که خاک ۲ بعد از نشان دادن اولین کلنی‌های سبزرنگ بر روی خود بتدریج کاملاً آکنده از کلنی گشت به طوری که چنان‌که در شکل ۳ نشان داده شده است، پس از مدتی سطح آن کاملاً از کلنی پوشیده شده بود.

نکتهٔ جالب توجه دیگر آن‌که تمام کلنی‌های رشد یافته بر روی خاک ۲ از یک گونه تشکیل شده بودند (*L.*sp. ISC 40). بنا بر این می‌توان گفت که کلنی‌های تشکیل شده بر روی این خاک، خالص (تک‌جلبکی) بودند. این در حالی است که بر روی خاک ۱ دو نوع کلنی رشد کرده بود که به شکل تقریباً مخلوط وجود داشتند. گونه *L.* sp. ISC 25 و گونه دیگر یک جلبک سبز از ردهٔ کلروفیسه بود.

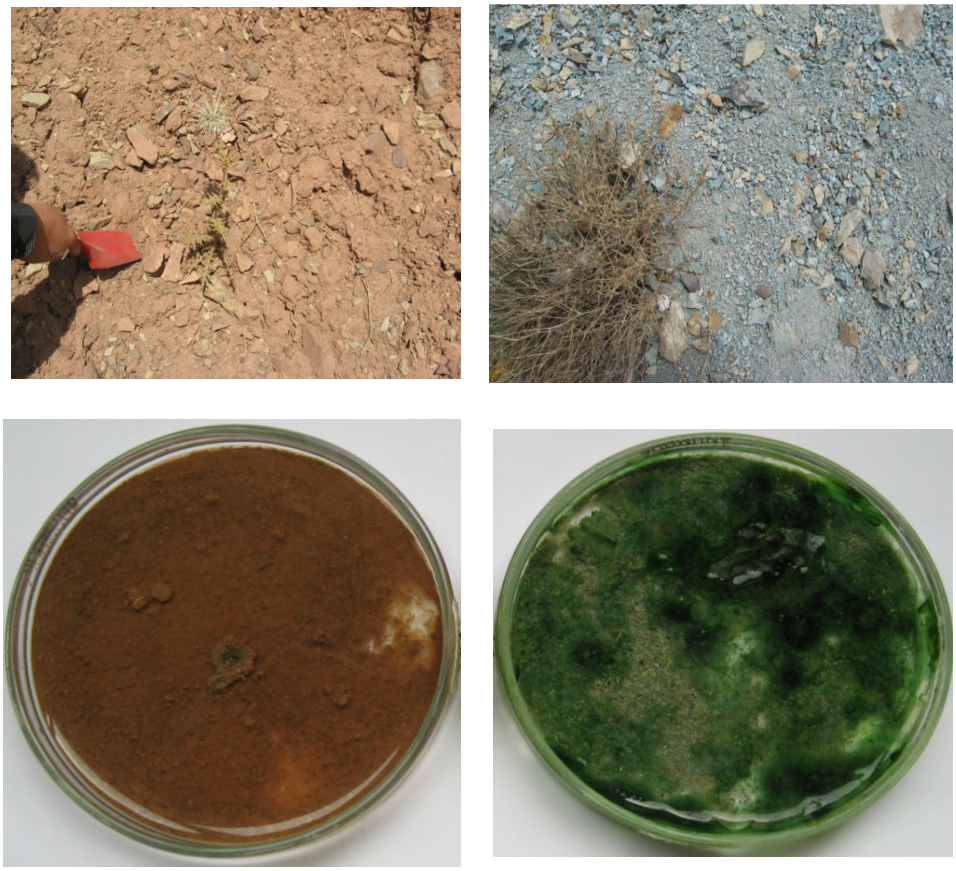
همچنین چنان‌که در بخش مواد و روش‌ها گفته شد، برای کشت این دو خاک، از دو نوع محیط کشت استفاده شد. نتایج حاصل از استفاده از محیط‌های کشت مختلف حاکی از آن بود که هنگام استفاده از محیط کشت N8 هیچ کلنی بر روی خاک‌ها رشد نکرد (حتی پس از ۲ ماه) و کلنی‌های رشد یافته فقط در هنگام کشت با محیط کشت BBM پدیدار شدند. در مراحل بعد این گونه‌ها جداسازی شده و به محیط کشت جامد BBM منتقل شدند و در حال حاضر به شکل خالص در پژوهشکدهٔ علوم پایهٔ کاربردی وجود دارند.

بحث و نتیجه‌گیری

تحقیقات بر روی سیانوباکتری‌ها در استان تهران به طور اخص و در ایران به طور اعم، بسیار اندک است. در همین راستا تنها تعداد کمی از سوش‌های اسیلاتوریاسه به‌منظور شناسایی، کشت شده‌اند. به همین جهت تنوع مورفولوژیکی زیادی که در محیط‌های مختلف کشت اتفاق می‌افتد، کم‌تر مورد توجه قرار گرفته است [۱۵] . البته باید اشاره کرد که تاکنون نشان ویژه‌سازی‌هایی در خصوص برخی از اعضای استیگونماتاسه صورت پذیرفته [۱۴]، [۱۶] ولی این تحقیقات در حوزه اعضای اوسیلاتوریاسه اندک است. مقالهٔ حاضر بخشی از نتایج پژوهشی را در بر می‌گیرد که در آن به جداسازی سیانوباکتری‌های استان تهران پرداخته شده است. نتایج این تحقیق توانست تصویری نسبتاً ابتدایی از موقعیت تاکزونومیک و نیز مورفولوژی دوگونه از اعضای اوسیلاتوریاسه به دست دهد. این نتایج با کم شناسایی مولکولی که انجام شد (16S rRNA) تأیید شد. به دلیل

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-23]

تأثیری که انواع محیط کشت می‌تواند بر روی شکل سلول و ریسه‌ها و میزان و نحوهٔ آرایش رنگیزه‌ها و حتی برخی صفات دیگر در جلبک‌ها بگذارد، از دو نوع محیط کشت استفاده شد. شکل ریسه‌ها در محیط کشت، حتی از محیط‌های کشت جامد به مایع نیز تغییر می‌کند. بنا بر این محیط‌های کشت BBM و N8 برای این پژوهش انتخاب شد. چنان‌که در بخش نتایج گفته شد، محیط کشت N8 نتوانست منجر به کلنیزاسیون شود، و همهٔ مشاهدات مربوط به رشد جلبک‌ها مربوط به محیط BBM بود. این امر را می‌توان به غنای بیش‌تر محیط کشت BBM نسبت به محیط کشت N8 نسبت داد. این مشاهدات با نتایج مشابه هماهنگی دارد [۱۷].



شکل ۴. خاک شماره ۱ (قرمز رنگ) سمت چپ و خاک شماره ۲ (آبی رنگ) سمت راست. در قسمت پایین وضعیت رشد کلنی‌ها بر روی پلیت‌ها پس از دو ماه نشان داده شده است.

اهمیت محیط کشت هنگامی بیش‌تر مشخص می‌شود که به بررسی آنالیز خاک‌های مورد کشت توجه می‌نماییم. تجزیه فیزیکی و شیمیایی این خاک‌ها نشان می‌دهد که روی هم رفته، این خاک‌ها غنای زیادی ندارند. بنا بر این نقش محیط کشت در برطرف کردن این فقر غذایی پررنگ‌تر می‌شود. همین فقر غذایی باعث فلور نسبتاً ضعیف این خاک‌ها شده است. ضمن آن که بررسی گونه‌های شناسایی شده نیز حکایت از این دارد که گونه‌های حساس قادر به رشد در این محیط نبوده‌اند. گونه‌های خانواده اوسیلاتوریاسه از جمله جنس فورمیدیوم (لپتولینگبیا) از

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-23]

گونه‌های مقاومی هستند که تاکنون در محیط‌های آلوده گزارش شده‌اند. این پتاسیل به جنس مذکور این توانایی را داده است که به عنوان زیست‌نشانگر در محیط‌های مختلف مورد استفاده قرار گیرد [۱۸]، [۱۹]، [۲۰]. در این زمینه مؤلفان در حال بررسی‌هایی در بارهٔ فلور مناطق آلوده دارای تنش هستند که نتایج کنونی آن، این مدعی را تأیید می‌کند (گزارش تاکنون منتشر نشده است). این دو گونه علاوه بر این که برای اولین بار از استان تهران گزارش شده‌اند، می‌توانند در ابعاد کاربردی مورد استفاده قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

مؤلفان از آقای دکتر کریم شهبازی برای تفسیر نتایج آنالیزهای خاک و نیز پژوهشکدهٔ علوم پایهٔ کاربردی جهاد دانشگاهی به‌واسطه پشتیبانی مالی از انجام پروژه تشکر و قدردانی می‌کنند.

منابع

1. N. Anand, *Culture studies and taxonomy of blue-green algae – certain identification problems*. Arch. Hydrobiol. Suppl., 80 (1-4) (1988) 141-147.
2. B.A. Whitton, *Fine structure and taxonomy of blue-green algae. In: Desikachary*, T.V. (ed.): Taxonomy and biology of blue-green algae, University of Madras. (1972) p.18-26.
3. U. Nübel, F. Garcia-Pichel, M. Kuhl, G. Müyzer, *PCR primers to amplify 16S rRNA genes from cyanobacteria,* Applied and Environmental Microbiology. 63 (8) (1972) 3327-3332.
4. F. Drouet, *Revision of the classification of the Oscillatoriaceae*. Acad. Nat. Sci. Philadelphia, Monograph 15 (1968) pp. 370.
5. K. Anagnostidis, J. Komarek, *Modern approaches to the classification of cyanobacteria*, Stigonematales. Arch. Hydrobiol. 14 (1990) 224-286.
6. D. M. John, B. A. Whitton, A.J. Brook, *The freshwater algal flora of the British Isles*, an identification guide to freshwater and terrestrial algae. (2003) Cambridge University Press.
7. R. Siahbalaie, H. Afsharzadeh, Sh. Shokravi, *Three new records of Oscillatorian cyanophyta for the paddy fields algal flora of Iran*. J. plant sci. res. 1(9) (2008) 1- 4.
8. B. Metting, *The systematic and ecology of soil algae*. Bot. rev. 47(2) (1981) 195-312.
9. B.D. Kaushik, *Laboratory methods for blue-green algae*. Associated Publishing Company. (1987).
10. T.V. Desikachary, *Cyanophyta. New Delhi,* Indian council of agricultural research. (1959).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-23]

11. L. Geitler, *Kryptogamen-Flora. Cyanophyceae*. Akademische Verlags Gesselschaft. Leipzig. (1932).

12. M. A. Saghai-Maroof, K. M. Soliman, R. A. Jorgensen, R.W. Allard, *Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barely*: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proc Natl Acad Sci USA. 81(24) (1984) 8014-8.

13.J. Sambrook, E. F. Fritch, T. Maniatis, *Molecular Cloning*: A Laboratory Manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1989).

14. N. Soltani, R. Khavari-Nejad, M. Tabatabaei Yazdi, Sh. Shokravi, E. Fernandez-Valiente, *Screening of Soil Cyanobacteria for Antifungal and Antibacterial Activity*, Pharmaceutical biology, 43(5) (2005) 455-459.

15. Sh. Shokravi, N. Soltani, L. Baftechi, *Cyanobacteria as biofertilizer in paddy fields*. National Research Council of Islamic Republic of Iran. (2002) Grant no. NRCI 489-66.

16.N. Soltani, R. Khavari-Nejad, M. Tabatabaei Yazdi, Sh. Shokravi, E. Fernandez-Valiente, *Variation of Nitrogenase Activity, Photosynthesis and Pigmentation of cyanobacterium Fischerella ambigua Strain FS18 under Different Irradiance and pH*, W. j. microb. Biotech. 22(6) (2006) 571-576.

17. S.M. Renaud, T. Luong-Van, G. Lambrinidis, D.L. Parry, *Effect of temperature on growth*, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. Aquaculture 211(1-4) (2002) 195-214.

18. E. Douterelo, P. Perona, P. Mateo, *Use of cyanobacteria to assess water quality in running waters,* Environ. poll. 127 (2004) 377-384.

19. P. Mateo, I. Douterelo, E. Berrendero, E. Perona, *Physiological differences between two species of cyanobacteria in relation to phosphorus,* J. Phycol. 42 (2006) 61-66.

20. E. Perona, I. Bonilla, P. Mateo, *Use of benthic cyanobacteria to monitor water quality in a Spanish river*. In: Use of algae for monitoring rivers III. (eds) J. Pygiel, B.A. Whitton, (1999) 216-223.

۲۱. ن. سلطانی، ش. شکروی، ل. بافته‌چی، *بررسی فلورستیك و فیزیولوژیك ریزجلبکهای خاکزی دارای خاصیت ضد باکتریایی*، جهاد دانشگاهی (۱۳۸٤).

۲۲. ش. شکروی، ن. سلطانی، ل. بافته‌چی، *تدوین دانش فنی استفاده از جلبک‌های سبز آبی به عنوان کود بیولوژیک در مزارع برنج*. سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (۱۳۸۰).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-23]