

## بررسی فلور جلبکی جامعه پریفایتون در اکوسیستم‌های آبی استان گیلان

حسینعلی علیخانی<sup>1</sup>، هادی احمدی، حسن اعتصامی، مصطفی نوروزی،

هادی‌اسدی رحمانی و سمیه امامی

استاد دانشگاه تهران؛ halikhan@ut.ac.ir

دانشجوی دکتری دانشگاه تهران؛ hadi.ahmadi73@ut.ac.ir

استادیار دانشگاه تهران؛ hassanetesami@ut.ac.ir

استادیار دانشگاه الزهرا(س)؛ noroozi.mostafa@alzahra.ac.ir

دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور؛ asadi\_1999@yahoo.com

دانش‌آموخته دکتری دانشگاه تهران؛ emamisomaye@ut.ac.ir

دریافت: 98/10/23 و پذیرش: 99/7/23

### چکیده

پریفایتون و یا بیوفیلم‌های پریفایتنیک یکی از مهمترین جوامع زیستی به شمار می‌آیند که در زیستگاه‌های غرقاب می‌توان آن‌ها را یافت و نقش بسیار مهمی در بقای اکوسیستم دارند. پریفایتون ترکیبی از موجودات میکروسکوپی فتواتوتروف چند لایه (به طور مثال، سیانوباکترهای تک سلولی و رشته‌ای، دیاتومه‌ها و نیز جلبک‌های سبز میکروسکوپی) و انواع هتروتروف (باکتری و قارچ) هستند. با توجه به نقش پریفایتون در فرآیندهای تثبیت نیتروژن و حل کردن فسفر و پتاسیم نامحلول، هدف این تحقیق شناسایی و شمارش جلبک‌های سه برکه فشتام، تازه سل و قلعه ورسل واقع در استان گیلان است. در این پژوهش نمونه رسوبات بستر، آب و زیست توده پریفایتون در سه برکه فشتام، تازه سل و قلعه ورسل واقع در استان گیلان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در برکه قلعه ورسل شاخه‌های کلروفیتا، باسیلاریوفیتا و سیانوباکتريا به ترتیب با 26/24، 56/06 و 17/69 درصد فراوانی اجزای پریفایتون را تشکیل می‌دهند. در برکه فشتام شاخه‌های کلروفیتا، کاروفیتا، اگلنوزوآ، اوکروفیتا، باسیلاریوفیتا و سیانوباکتريا به ترتیب با حدود 38/48، 20/58، 1/72، 1/74، 19/68 و 19/52 درصد فراوانی اجزای پریفایتون را تشکیل می‌دهند. همچنین در برکه تازه سل شاخه‌های کلروفیتا، اگلنوزوآ، باسلاریوفیسه و سیانوباکتريا به ترتیب حدود 13/93، 0/56، 51/9 و 33/6 درصد فراوانی اجزای پریفایتون را تشکیل می‌دهند.

واژه‌های کلیدی: باسیلاریوفیتا، پریفایتون، کلروفیتا، شالیزار

<sup>1</sup> نویسنده مسئول، آدرس: کرج، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، گروه علوم و مهندسی خاک.

## مقدمه

در مقابل انواع هاپتوبنتوز در سطح و یا درون اجسام سخت رشد کرده و شامل فرم‌های: اپی لیتون<sup>13</sup>، اپی زایلون<sup>14</sup>، اپیزامون<sup>15</sup>، اپی زون<sup>16</sup> و اپی فایتون<sup>17</sup> می‌باشند (شکل 1). یکی از مزایای مهم پریفایتون، توانایی آن در جذب مواد حل شده و معلق، شامل مواد آلی از پیکره آب، کاهش میزان انباشت رسوبات و به حداکثر رساندن درصد ماده آلی باقی مانده در معرض شرایط هوادهی در آب است. علاوه بر ذخیره ماده آلی، پریفایتون مواد مغذی را از پیکره آب حذف و به کنترل غلظت اکسیژن محلول و pH آب اطراف کمک می‌کند (نلسون و همکاران، 2013). پریفایتون قادر است نقش قابل توجهی به عنوان منبع غذا و انرژی برای سطوح کلان غذایی داشته باشد (سیکیا و همکاران، 2013)، همچنین در گردش و تغییر و تبدیل عناصر غذایی و نیز انتقال عناصر غذایی بین آب و سطح خاک در اکوسیستم‌های آبی تأثیرگذار باشد (باتین و همکاران، 2003).

در نتیجه، بیوفیلم‌های پریفایتیک به طور قابل ملاحظه‌ای جابجایی مواد غذایی (به ویژه فسفر) بین آب و کف بستر پدی سویل و از جمله شالیزارها را تحت تأثیر قرار می‌دهند. از طرفی پریفایتون در حکم یک زیست توده میکروبی خاک گسترده عمل نموده و بدلیل عمر کوتاه آن با جذب و واجذب عناصر غذایی در جلوگیری از هدر رفت عناصر غذایی و آزاد شدن کند آن‌ها در تغذیه گیاهان نقش مهمی دارند. بنابراین، بیوفیلم‌های پریفایتیک می‌توانند جذب مواد غذایی معدنی را افزایش داده، و به عنوان یک مخزن موقت عمل کنند و آزادسازی پایدار نیتروژن، فسفر و پتاسیم را فراهم کنند و بر چرخه غذایی مؤثر باشند. عموماً، بیشتر تحقیقات در زمین‌های غرقاب مصنوعی مانند شالیزارها تنها بر دو فاز آبی و خاکی متمرکز شده است و اهمیت جامعه میکروبی (پریفایتون) بین آن‌ها به عنوان سومین فاز (لایه پریفایتیک) در این اراضی نادیده گرفته شده است. لایه پریفایتیک به عنوان لایه سوم بین آب پوشاننده و لایه خاک لوسوب در شالیزارها، نقش مهمی را در فرآیندهای تبدیل مواد مغذی از جمله جذب نیتروژن و فسفر قابل دسترس، تثبیت نیتروژن و حل کردن فسفر و پتاسیم

پریفایتون<sup>1</sup> یک جامعه با منشاء گیاهی در مقیاس میکرو می‌باشد که با چسبیدن و اتصال به بسترهای نسبتاً سخت در اکوسیستم‌های آبی به ویژه غرقاب ولی کم عمق زندگی می‌کند. بطور دقیق تر پریفایتون اجتماعی بسیار ناهمگن از مجموعه میکروفلور اتوتروف شامل جلبک‌ها، سیانوباکترها، دیاتومه‌ها و انواعی از هتروتروف شامل باکتری و قارچ‌ها است که در اکوسیستم‌های یوتروفیک قابل مشاهده هستند (گیلت و همکاران، 2016). پریفایتون یا بیوفیلم‌های پریفایتیک همچون پوشش لجن ماندی بر سطح گیاهان، سنگ‌ها، خاک بستر و چوب در آب برکه مستقر می‌شوند. لذا بر اساس نوع بستری که بر روی آن رشد می‌کنند تقسیم بندی می‌شوند. بسته به نوع بستر، بیوفیلم پریفایتیک را می‌توان به پریفایتون بستر طبیعی (مانند گیاهان، سنگ‌ها، رسوبات و غیره) و پریفایتون بستر مصنوعی (مانند شیشه حامل‌های نرم صنعتی، ورق‌های پلی اتیلن و غیره) تقسیم بندی کرد (وو و همکاران، 2016). برخی مطالعات نشان داده‌اند که پریفایتون بر روی بسترهای طبیعی دارای مزیتی در تولید اولیه نسبت به پریفایتون بر روی بسترهای مصنوعی می‌باشد (وو و همکاران، 2016).

آلان و کاستیلو (2007) پریفایتون‌ها را بر اساس بستر آن‌ها در آب برکه‌ها به پنج دسته طبقه‌بندی کردند که این پنج دسته شامل اپی‌فیتون<sup>2</sup> (به گیاهان، قطعات گیاهی، ماکروفیت و یا میکروالگ‌های بزرگ متصل می‌شود)، اپی‌لیتون<sup>3</sup> (به مواد سختی مانند سنگ متصل می‌شوند)، اپی‌پلون<sup>4</sup> (در سطح رسوبات آلی گل آلود زندگی می‌کنند)، اپیزامون<sup>5</sup> (بر روی دانه‌های شن و ماسه رشد می‌کند) و یا اپی زایلون<sup>6</sup> (به سطح چوب درختان متصل می‌شوند) می‌باشد. همچنین پولیکو و همکاران (2008) در طبقه بندی دیگر انواع پریفایتون را بر اساس بستر رشد آن به دو دسته کلی هرپوبنتوز<sup>7</sup> و هاپتوبنتوز<sup>8</sup> تقسیم بندی نموده است. انواع هرپوبنتوز بر و یا درون رسوبات کف برکه زندگی می‌کنند و شامل انواع: اپی‌پلون<sup>9</sup>، اندوپلون<sup>10</sup>، اندوپزامون<sup>11</sup> و متافیتون<sup>12</sup> می‌باشند.

1. Periphyton

2. Epiphyton

3. Epilithon

4. Epipelton

5. Eppesammon

6. Epixylon

7. Herpobenthos

8. Haptobenthos

9. Epipelton

10. ndopelon

11. ndopsammon

12. Metaphyton

13. Epilithon

14. Epixylon

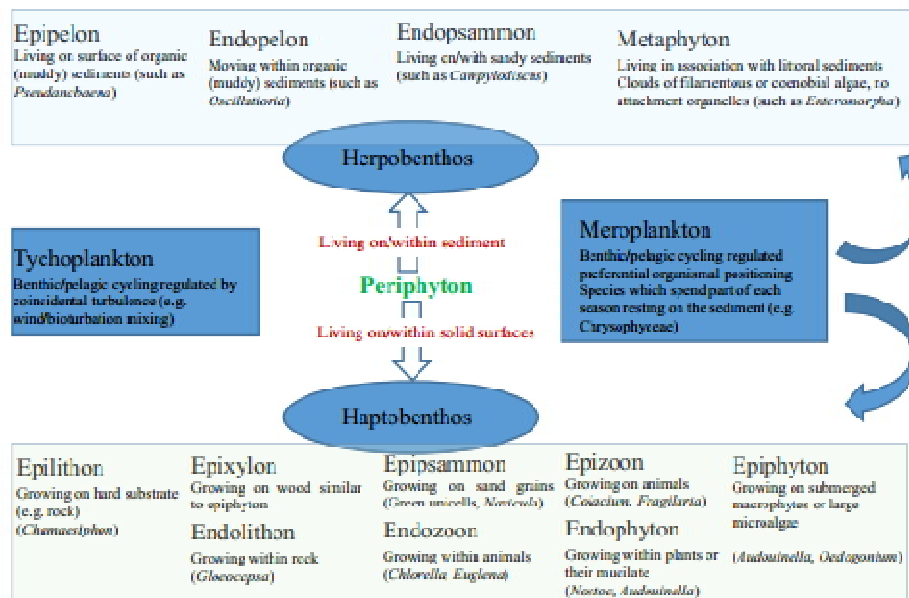
15. Eppesammon

16. Epizoon

17. Epiphyton

سیانوباکتری‌ها در ساختار بیوفیلم‌های پریفایتیک، هدف از این پژوهش بررسی حضور یا عدم حضور و فراوانی آنها در برکه‌های استان گیلان است.

نامحلول ایفا می‌کند. بر این اساس، بیوفیلم‌های پریفایتیک می‌توانند کارایی استفاده از کودهای شیمیایی را بهبود بخشیده و فرآیند یوتریفیکیشن را تا حد قابل توجهی کاهش دهند. با توجه به اهمیت فراوان جلبک‌ها و



شکل 1- طبقه بندی پریفایتون براساس رشد آن در بسترهای مختلف

## مواد و روش‌ها

### نمونه برداری

تعیین خصوصیات شیمیایی و زیستی رسوبات برکه‌های مورد مطالعه

در آزمایشگاه خصوصیات شیمیایی و زیستی نمونه رسوبات بستر مانند:

تنفس، قابلیت هدایت الکتریکی، pH، فسفر قابل جذب، فسفر کل، نیتروژن کل، شمارش میکروارگانیسم‌ها با روش حداکثر تعداد محتمل و خصوصیات آب و پریفایتون برکه مانند: pH و قابلیت هدایت الکتریکی، فسفر کل، فسفر محلول، شمارش میکروارگانیسم‌ها با روش حداکثر تعداد محتمل و دما (با ترمومتر جیوه‌ای) با روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شدند (اسپارکس، 1996).

جهت بررسی جلبک‌ها و سیانوباکتری‌های موجود در ساختار پریفایتون، نمونه برداری در آبان ماه سال 1397 از سه برکه و در هر برکه از سه نقطه در استان گیلان با مشخصات جغرافیایی مشخص شده در جدول (1) انجام گرفت. نمونه رسوبات بستر برکه با استفاده از رینگ فلزی، و نمونه پریفایتون و آب برکه (عمق 20 تا 50 سانتی‌متری برکه) با استفاده از بطری‌های نیم لیتری تمیز برداشته شد؛ قسمتی از هر نمونه جهت شناسایی و شمارش نمونه‌های اولیه در فرمالین چهار درصد تثبیت (پندیت و همکاران، 2014)، و بقیه نمونه‌ها داخل جعبه‌های حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شدند و در یخچال در دمای 4 درجه سلسیوس نگهداری شدند.

جدول 1- مختصات جغرافیایی نقاط نمونه برداری

ایستگاه	اسم برکه	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی
1-1	فشتام	37° 9' 5/46" N	49° 39' 4/35" E
2-1	فشتام	37° 9' 18/55" N	49° 38' 55/18" E
3-1	فشتام	37° 9' 27/02" N	49° 38' 47/73" E
1-2	تازه سل	37° 25' 7/28" N	49° 47' 59/08" E
2-2	تازه سل	37° 24' 58/92" N	49° 48' 5/31" E
3-2	تازه سل	37° 25' 1/39" N	49° 48' 6/25" E
1-3	قلعه ور سل	37° 24' 56/08" N	49° 48' 2/88" E
2-3	قلعه ور سل	37° 24' 55/16" N	49° 48' 0/69" E
3-3	قلعه ور سل	37° 24' 59/57" N	49° 47' 56/77" E

## مشاهدات میکروسکوپی نمونه‌های طبیعی پریفایتون

برای مشاهدات میکروسکوپی نمونه‌های طبیعی پریفایتون از نمونه‌های حاوی فرمالین چهار درصد استفاده شد، به این صورت که پس از ته نشین شدن نمونه‌های پریفایتون در ته فالكون جهت تغلیظ نمونه‌ها نصف آب رویی را خالی کرده و پنج دقیقه شیک گردید، سپس یک الی دو قطره از نمونه با قطره چکان برداشته و بروی لام قرار داده شد و زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی 400x عکسبرداری صورت گرفت. برای نمونه‌های آب هم همین مراحل انجام شد با این تفاوت که به دلیل جمعیت پایین نمونه‌های آب، سه چهارم آب بالایی را خالی نموده و بقیه مراحل بر روی یک چهارم باقی مانده صورت گرفت.

## کشت نمونه‌ها در محیط‌های کشت مایع برای غنی‌سازی آن‌ها

برای غنی‌سازی نمونه‌ها ابتدا محیط کشت‌های مورد نیاز (BBM، BG11 و f/2) آماده شد. برای کشت نمونه‌های رسوب بستر 10 گرم از نمونه بستر را به داخل ارلن-های حاوی 90 میلی‌لیتر محیط کشت اضافه نموده و پس از هم زدن نمونه سری‌های رقت دهدهی<sup>1</sup> تا رقت 10<sup>-6</sup> تهیه شد. برای کشت نمونه‌های پریفایتون و آب 10 میلی-لیتر از آن‌ها را برداشته و به ارلن حاوی 90 میلی‌لیتر محیط کشت (BBM، BG11 و f/2) اضافه نموده و سپس با دست کمی هم زده و بعد یک میلی‌لیتر از آن را برداشته و به لوله آزمایش منتقل شد و این روند تا رقت مورد نظر (10<sup>-6</sup>) تکرار شد. به هر یک از لوله‌های آزمایش کشت شده حدود چند عدد کاه و کلش برنج خرد و ریز شده استریل به عنوان مواد بستر رشد پریفایتون اضافه گردید. در نهایت نمونه‌های کشت شده به اتاق فیتوترون با شرایط دمایی 25 تا 30 درجه سلسیوس با شدت نور 2500

تا 3000 لوکس و دوره نوری 16-8 ساعت (روشنایی/ تاریکی) به مدت 15-30 روز منتقل شدند. به منظور هوادهی نمونه‌ها لوله‌ها بصورت روزانه با دست شیک می‌شدند. بعد از رشد، نمونه‌ها به محیط کشت جامد مناسب برای جداسازی و خالص‌سازی انتقال داده شدند (بولد، 1949؛ بیسکوفت و بولد، 1963؛ ساتیر و همکاران، 1971؛ گیلارد، 1975).

## جداسازی و خالص‌سازی اجزای قابل کشت پریفایتون

برای جداسازی و خالص‌سازی اجزای قابل کشت پریفایتون؛ از محیط کشت BBM برای جداسازی جلبک‌ها، از محیط کشت BG11 برای جداسازی سیانوباکتری‌ها و از محیط کشت f/2 برای جداسازی دیاتومه‌ها استفاده شد. از هر کدام از نمونه‌های رسوبات بستر، آب و زیست لایه پریفایتون سری‌های رقت تا 10<sup>-6</sup> را با استفاده از آب مقطر درست کرده و از هر کدام از لوله‌ها 100 میکرولیتر با سمپلیر برداشته و وسط هر ظرف پتری ریخته و با استفاده از میله شیشه‌ای استریل پخش گردید و دور پلیت‌ها با پارافیلیم درزگیری شدند، در ضمن تمام مراحل بالا درون لامینار ضد عفونی شده با الکل 96 درصد و در کنار شعله انجام شد. سپس ظروف پتری کشت شده به اتاق فیتوترون انتقال داده شدند. بعد از رشد این اجزا بر روی هر ظرف پتری، تک کلنی‌ها را برداشته (هر تک کلنی که با بقیه از نظر رنگ، اندازه، شکل و ... فرق داشته باشد) و به ظرف پتری دیگر منتقل کرده و به این ترتیب جداسازی و خالص‌سازی صورت گرفت. تک کلنی‌های جلبک به محیط کشت جامد BBM، سیانوباکتری‌ها به محیط کشت جامد BG11 و دیاتومه‌ها به محیط کشت F/2 منتقل شدند تا در محیط جدید بصورت انبوه رشد کنند (بولد، 1949؛ بیسکوفت و بولد، 1963؛ ساتیر و همکاران، 1971؛ گیلارد، 1975). شناسایی

<sup>1</sup> Ten-fold

نمونه‌های خالص شده پریفایتون تا سطح جنس با استفاده از میکروسکوپ نوری و کارهای استاندارد انجام شد.

### نتایج

#### خصوصیات زیستی و شیمیایی برکه‌های مورد مطالعه

نتایج بررسی‌های انجام شده بر خصوصیات رسوبات کف برکه‌های مورد مطالعه در جدول 2 گزارش شده است. بر این اساس، pH در نمونه‌های مورد مطالعه تفاوت چندانی نداشته و اکثر نمونه‌ها pH نسبتاً قلیایی دارند. قابلیت هدایت الکتریکی نمونه‌ها غیر شور، با دامنه بین 1/27 تا 1/69 دسی زیمنس بر متر است. میزان فسفر قابل دسترس رسوبات برکه‌ها بین دامنه 32/99 تا 42/64

میلی‌گرم بر کیلوگرم است که بیشترین مقدار آن مربوط به رسوبات برکه تازه سل و کمترین میزان مربوط به برکه قلعه ورسل است. دامنه میزان فسفر کل رسوبات برکه‌ها بین 406/63 تا 844/26 میلی‌گرم بر کیلوگرم متغیر است. که بیشترین مقدار مربوط به رسوبات برکه تازه سل است. دامنه مقدار نیتروژن کل رسوبات برکه‌ها نیز بین 0/221 تا 0/379 درصد است که بیشترین مقدار مربوط به رسوبات برکه فشتام است. میزان تنفس در نمونه‌ها در دامنه بین 0/189 تا 0/317 قرار دارد که کمترین میزان مربوط به نمونه رسوبات برکه فشتام است که با نتایج آزمون حداکثر تعداد محتمل همخوانی دارد.

جدول 2- خصوصیات شیمیایی و زیستی رسوبات کف برکه‌ها

منطقه	pH	EC (dSm <sup>-1</sup> )	تنفس (mgCO <sub>2</sub> g <sup>-1</sup> 24h <sup>-1</sup> )	فسفر قابل دسترس (mgkg <sup>-1</sup> )	فسفر کل (mgkg <sup>-1</sup> )	نیتروژن کل (درصد)	جمعیت (MPNg <sup>-1</sup> )
قلعه ورسل	8/4	1/28	0/317	32/99	619/7	0/221	1 × 10 <sup>7</sup>
فشتام	8/42	1/69	0/189	33/17	406/63	0/379	7/3 × 10 <sup>6</sup>
تازه سل	8/4	1/27	0/274	42/64	844/26	0/312	1/1 × 10 <sup>7</sup>

خصوصیات زیست توده پریفایتون و آب برکه در جدول 3 ذکر شده است. بر اساس این جدول، pH اکثر نمونه‌های آب و پریفایتون در حد خنثی است به جز چند نمونه که کمی اسیدی هستند و دامنه آن بین 6/2 تا 7/7 است. قابلیت هدایت الکتریکی از 0/261 تا 1/9 دسی زیمنس بر متر متغیر است که پریفایتون برکه تازه سل دارای بیشترین مقدار و آب برکه فشتام دارای کمترین میزان است. مطابق جدول 3 میزان اکسیژن محلول بین 9/72 تا 26/11 میلی‌گرم اکسیژن در لیتر قرار دارد. همان طور که مشاهده می‌گردد در تمام برکه‌ها میزان اکسیژن محلول در نمونه پریفایتون بیشتر از آب برکه است که

دلیل آن هم به خاطر جمعیت زیاد جلبک‌ها و سیانوباکتری‌های فتوسنتز کننده (تولید کننده اکسیژن) در نمونه‌های پریفایتون نسبت به آب است. بیشترین میزان فسفر کل مربوط به پریفایتون تازه سل (49/39 میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کمترین میزان مربوط به آب برکه فشتام (15/82 میلی‌گرم بر کیلوگرم) است. همان گونه که در جدول 3 نشان داده شده است میزان فسفر (کل و قابل دسترس) در نمونه‌های پریفایتون بیشتر از نمونه‌های آب همان منطقه است که نشانگر آن است که پریفایتون به عنوان یک مخزن برای فسفر عمل می‌کند و تمایل زیادی برای جذب و نگهداری فسفر دارد.

جدول 3- خصوصیات شیمیایی و زیستی زیست لایه پریفایتون و آب رویی مناطق نمونه برداری

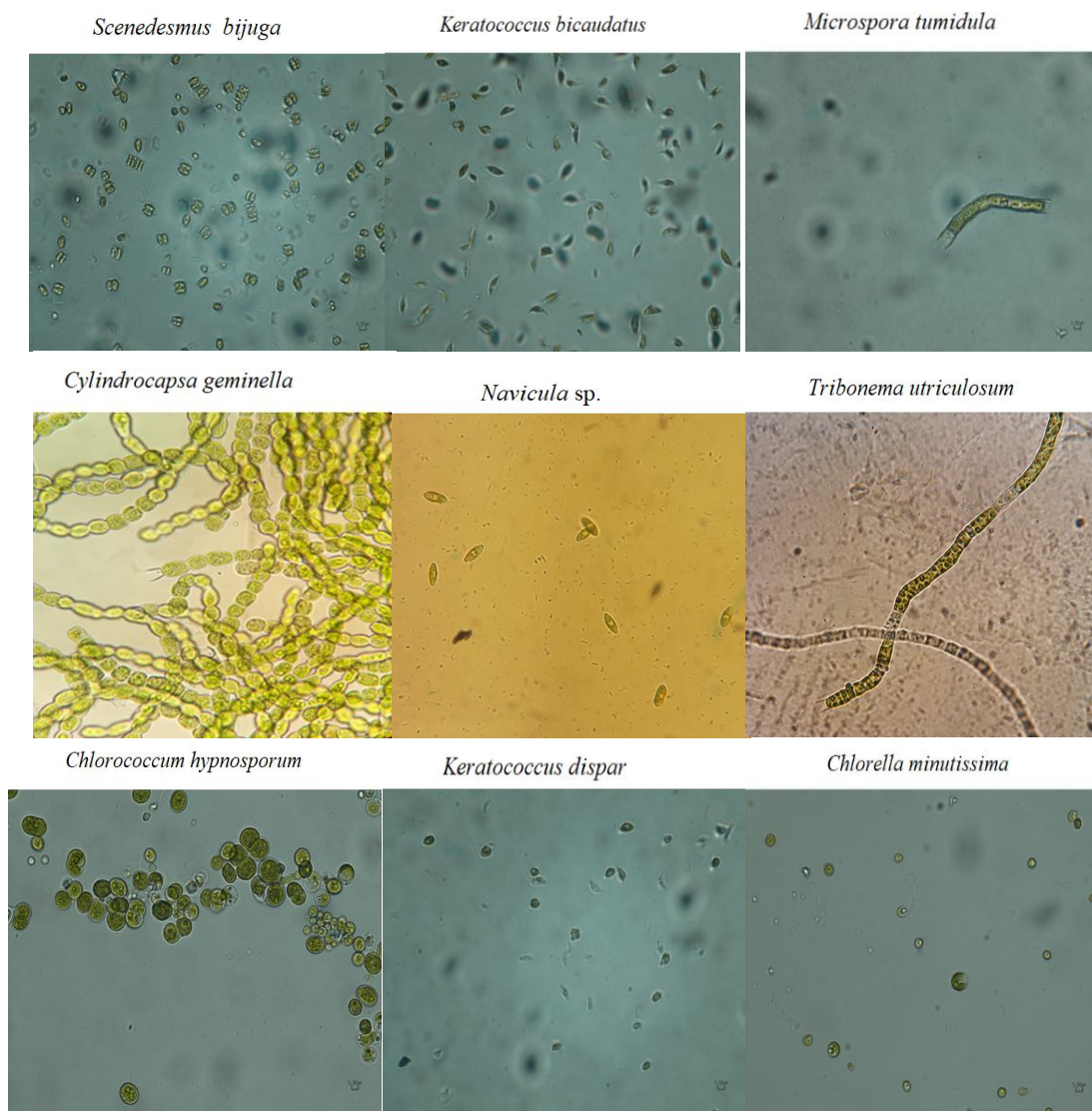
منطقه	pH	EC (dSm <sup>-1</sup> )	دما (°C)	اکسیژن محلول (mg.l <sup>-1</sup> )	فسفر کل (mg.l <sup>-1</sup> )	فسفر محلول (mg.l <sup>-1</sup> )	جمعیت کل (MPN ml <sup>-1</sup> )
آب فشتام	6/36	0/261	25/67	14/75	15/82	0/019	2/7 × 10 <sup>4</sup>
پریفایتون فشتام	6/2	0/306	25/67	26/11	37/64	0/15	2 × 10 <sup>6</sup>
آب تازه سل	7/7	1/41	23/2	9/72	30/6	0/77	2/6 × 10 <sup>6</sup>
پریفایتون تازه سل	6/8	1/9	23/2	19/7	49/39	1/57	2/5 × 10 <sup>4</sup>
آب قلعه ورسل	6/9	1/256	23	10/28	18/04	0/079	3/5 × 10 <sup>4</sup>
پریفایتون قلعه ورسل	6/7	1/424	22/8	15/22	48/65	0/82	2/3 × 10 <sup>4</sup>

## جداسازی و شناسایی فلور جلبکی قابل کشت پریفایتون

## از برکه فشتام

در نمونه پریفایتون برکه فشتام بیشترین درصد فراوانی مربوط به شاخه کلروفیتا (66%) بوده و باسیلاریوفیتا (23%) و سیانوباکترها (4%) به ترتیب در رده دوم و سوم قرار دارند (جدول 4). در نمونه آب برکه فشتام نیز کلروفیتا با 50% بیشترین فراوانی را دارا هستند و شاخه غالب به شمار می‌روند، به دنبال آن باسیلاریوفیتا (32%)، کاروفیتا (10%) و سیانوباکترها (7%) در رتبه‌های بعدی قرار دارند. در نمونه‌های برکه فشتام 21 جنس جلبک مربوط به چهار شاخه مشاهده شد که تنوع جنس‌ها در این برکه از دو منطقه دیگر بیشتر است.

در این برکه 10 جنس جلبک *cosmarium*، *closterium*، *zygnema*، *epiplxis*، *oedogonium*، *spondylosium*، *eudorina*، *lepocinclis*، *staurastrum* و *pleurotaenium* و دو جنس سیانوباکتری *Anabaena* و *Merismopedia* مشاهده شد که فقط مختص به این برکه بودند (شکل 2 و 3). از روی جدول 4 می‌توان به این نتیجه رسید که در برکه فشتام بیشترین درصد فراوانی مربوط به کلروفیتا است که علت غالبیت کلروفیتا در این برکه نسبت به دو برکه دیگر می‌تواند به دلیل دمای بالاتر در این برکه باشد.

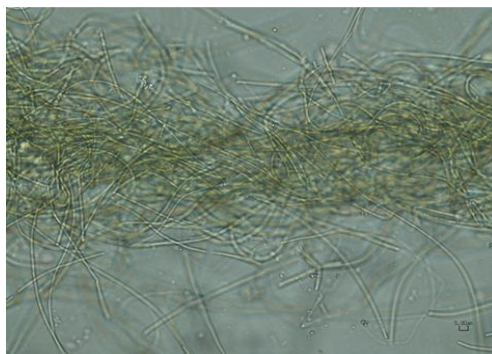


شکل 2- تصویر میکروسکوپی جلبک‌های جدا شده با بزرگ‌نمایی 400x

جدول 4- درصد فراوانی جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها در نمونه پریفایتون و آب

قلعه ورسل		تازه سل		فشتام		
(%) gw	(%) gp	(%) tw	(%) tp	fw (%)	fp (%)	
						<b>Chlorophyta</b>
1	0/67	1/66	-	14/33	4/34	<i>Scenedesmus</i>
4/33	11/66	-	-	4	0/66	<i>Ulothrix</i>
-	-	-	-	1	2/67	<i>Oedogonium</i>
-	-	-	-	0/34	-	<i>Eudorina</i>
6/34	2/34	1/34	3/67	5/66	8	<i>Chlorococcum</i>
6/66	5/33	8/33	10/66	12/67	45/66	<i>Chlorella</i>
4	1	4/34	3/67	12	4/34	<i>Monoraphidium</i>
-	-	0/66	0/33	-	-	<i>Chlamydomonas</i>
-	3	-	-	-	-	<i>Microspora</i>
-	-	0/66	-	-	-	<i>Crucigenia</i>
-	-	0/33	-	-	-	<i>Ankistrodesmus</i>
						<b>Charophyta</b>
-	-	-	-	1	0/33	<i>Cosmarium</i>
-	-	-	-	1/66	0/34	<i>Closterium</i>
-	-	-	-	5	-	<i>Spondylosium</i>
-	-	-	-	2	-	<i>Staurastrum</i>
-	-	-	-	0/34	-	<i>Pleurotaenium</i>
-	-	-	-	-	5	<i>Zygnema</i>
						<b>Ochrophyta</b>
-	-	-	-	-	1	<i>Epipyxis</i>
						<b>Euglenozoa</b>
-	-	-	0/34	-	-	<i>Phacus</i>
-	-	-	-	1	-	<i>Lepocinclis</i>
						<b>Bacillariophyta</b>
5	20/67	5/67	3/33	-	-	<i>Tabellaria</i>
-	1	0/33	0/34	-	-	<i>Amphora</i>
13/34	10	2	8	2	9	<i>Navicula</i>
24/67	28/66	14	18/33	10	6/33	<i>Nitzschia</i>
14/34	1	-	-	15/33	7/67	<i>Pinnularia</i>
-	-	-	3	-	-	<i>Fragilaria</i>
-	-	1	0/34	-	-	<i>Cymatopleura</i>
-	-	3/34	1/66	-	-	<i>Synedra</i>
-	-	0/33	-	-	-	<i>Asterionella</i>
-	-	16	-	-	-	<i>Bacillaria</i>
1/34	3	2/34	3/34	1/34	0/33	<i>Cyclotella</i>
-	-	-	0/33	-	-	<i>Gomphonema</i>
-	-	-	0/67	-	-	<i>Cymbella</i>
10	4/67	12/33	17/66	3	-	<i>Melosira</i>
1	-	-	0/67	0/33	-	<i>Gyrosigma</i>
						<b>Cyanobacteria</b>
-	1/33	2/34	2/33	-	-	<i>Lyngbya</i>
6/34	2	10	8	-	1/67	<i>Leptolyngbya</i>
-	3/67	10	-	2	-	<i>Cyanobium</i>
1/34	-	3	13/33	4	-	<i>Oscillatoria</i>
-	-	-	-	-	2/66	<i>Anabaena</i>
-	-	-	-	1	-	<i>Merismopedia</i>

gp: پریفایتون قلعه ورسل؛ gw: آب قلعه ورسل؛ fp: پریفایتون فشتام؛ fw: آب فشتام؛ tp: پریفایتون تازه سل؛ tw: آب تازه سل

*Leptolyngbya* sp.*Lyngbya* sp.

شکل 3- تصویر میکروسکوپی سیانوباکتری‌های جدا شده با بزرگ‌نمایی 400x

## جداسازی و شناسایی فلور جلبکی قابل کشت پرفایتون

## از برکه تازه‌سل

در نمونه پرفایتون برکه تازه‌سل بیشترین درصد فراوانی مربوط به باسیلاریوفیتا (58%) بوده و سیانوباکتری‌ها (24%) و کلروفیتا (18%) به ترتیب در رده دوم و سوم قرار دارند (جدول 4). در این نمونه هیچ جنسی از اکروفیتا مشاهده نشد. در نمونه آب برکه تازه‌سل باسیلاریوفیتا با 57 درصد بیشترین فراوانی را دارا بوده و رده غالب به شمار می‌روند، به دنبال آن سیانوباکتری‌ها با 25 درصد و کلروفیتا با 17 درصد در رده‌های بعدی قرار دارند. در برکه تازه‌سل هفت جنس جلبک کلروفیتا و یک جنس از شاخه اگلنوزوا مشاهده گردید که دو جنس *Chlamydomonas* و *Phacus* مختص به این برکه هستند. همچنین در این برکه 14 جنس باسیلاریوفیتا مشاهده شد که جنس‌های *Fragilaria*، *Cymatopleura*، *Synedra*، *Gomphonema*، *Cymbella* و *Bacillaria* تنها در این برکه مشاهده شدند.

در نمونه پرفایتون برکه تازه‌سل بیشترین درصد فراوانی مربوط به باسیلاریوفیتا (58%) بوده و سیانوباکتری‌ها (24%) و کلروفیتا (18%) به ترتیب در رده دوم و سوم قرار دارند (جدول 4). در این نمونه هیچ جنسی از اکروفیتا مشاهده نشد. در نمونه آب برکه تازه‌سل باسیلاریوفیتا با 57 درصد بیشترین فراوانی را دارا بوده و رده غالب به شمار می‌روند، به دنبال آن سیانوباکتری‌ها با 25 درصد و کلروفیتا با 17 درصد در رده‌های بعدی قرار دارند. در برکه تازه‌سل هفت جنس جلبک کلروفیتا و یک جنس از شاخه اگلنوزوا مشاهده گردید که دو جنس *Chlamydomonas* و *Phacus* مختص به این برکه هستند. همچنین در این برکه 14 جنس باسیلاریوفیتا مشاهده شد که جنس‌های *Fragilaria*، *Cymatopleura*، *Synedra*، *Gomphonema*، *Cymbella* و *Bacillaria* تنها در این برکه مشاهده شدند.

## جداسازی و شناسایی فلور جلبکی قابل کشت پرفایتون

## از برکه قلعه ورسل

مطالعات فلوریستیک روی فلور میکروبی برکه‌ها، ترکیب گونه‌ای و تنوع تاکسونومیک جوامع زیستی اکوسیستم را آشکار و تغییرات فصلی، فرایندهای تکاملی، عملکردهای اکولوژیکی و پایداری اکوسیستم‌های آبی را منعکس می‌کنند. پرفایتون یک میکرواکوسیستم تشکیل شده از یک ماتریکس پیچیده موکوپلی‌ساکارید با میکروارگانیسم‌های اتوتروف و هتروتروف تعبیه شده است و دارای توانایی پاسخ به شرایط محیطی است (هونگ و همکاران، 2018). تنوع تاکسونومیک و فراوانی پرفایتون بستگی به طیف وسیعی از عوامل مانند؛ زیستگاه و نوع بستر، خصوصیات فیزیکی بستر مانند میکرو-توپوگرافی و جهت، شدت نور، فشار چرا، تغییرات فصلی، فراهمی مواد مغذی و دما دارد (گلزار و همکاران، 2017).

در نمونه پرفایتون برکه قلعه ورسل بیشترین درصد فراوانی مربوط به شاخه باسیلاریوفیتا (69%) است و کلروفیتا (24%) در رتبه دوم قرار دارد (جدول 4). کمترین درصد مربوط به شاخه سیانوباکتری‌ها (7%) است. در نمونه آب برکه نیز همانند زیست توده پرفایتون بیشترین درصد فراوانی مربوط به باسیلاریوفیتا (70%) بوده و کلروفیتا (22%) در رتبه دوم قرار دارند. کمترین درصد فراوانی مربوط به سیانوباکتری‌ها (8%) می‌باشد. از بین شش جلبک شاخه کلروفیتا مشاهده شده، چهار جنس آن *Chlorella* sp.، *Chlorococcum* sp.، *Scenedesmus* sp.)



های غرقاب جزو توانمندترین گروه به زمینه پریفایتون اتصال یافته و سریعتر از مابقی اجزاء زیستی در پریفایتون مستقر می‌شوند (فانستا و همکاران، 2008؛ روند، 2010). اگرچه باسیلاریوفیتا بعنوان جامعه غالب پریفایتون در برخی برکه‌ها هستند، ولی ترکیب پریفایتون بویژه باسیلاریوفیتا متأثر از تغییرات مکانی و دمایی می‌باشد. در طول یکسال، بیشترین فراوانی جنس‌ها در تابستان که وضعیت دمایی و غذایی مناسب می‌باشد مشاهده می‌شود و این فراوانی در زمستان و بهار کاهش و در پاییز به حداقل خود می‌رسد. عموماً باسیلاریوفیتا توانایی تطبیق دادن خود با درجه حرارت‌های پایین زودرس در بهار، پاییز و زمستان را دارند. در صورتی که سیانوباکتری‌ها و جلبک‌های کلوروفیتا درجه حرارت‌های بالاتر در تابستان و پاییز را ترجیح می‌دهند (عظیم و وهاب، 2005). نیف و همکاران (2013) ساختار جامعه جلبک‌های اپیفیتیک را بر روی دو بستر *Egeria Najas* و *Eichhornia Azurea* مورد مطالعه قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که بر روی بستر *E. azurea* زیگنمافیاسه در ماه مارس و دسامبر، کلروفیتا در ماه ژوئن و باسیلاریوفیتا در سپتامبر به نوبه خود بیشترین تعداد را به خود اختصاص دادند.

در بستر *E. najas*، زیگنمافیاسه در ماه مارس و ژوئن و باسیلاریوفیتا در سپتامبر و دسامبر بیشترین کلاس را به خود اختصاص داد. با بررسی کلی ترکیب گونه‌ها و تراکم جامعه جلبک‌های پریفایتیک دریاچه دال واقع در دره کشمیر کشور هند، مجموع 31 تاکسون متعلق به 3 کلاس اصلی به نام‌های باسیلاریوفیتا، کلروفیتا و سیانوباکتری‌ها ثبت شد. شایع‌ترین گونه‌های پریفایتیک دیده شده در تمام مکان‌ها شامل: *Diatoma* sp.، *Fragillaria* sp.، *Synedra* sp.، *Cymbella* sp.، *Cosmarium* sp.، *Tabellaria* sp.، *Oedogonium* sp.، *Scenedesmus* sp. و *Oscillatoria* sp. بودند.

باسیلاریوفیتا از نظر تعداد غالب بودند و به دنبال آن کلروفیتا و سیانوباکتری‌ها از لحاظ غنای گونه‌ای غالب بود. سهم کلی از نظر تراکم جمعیت از سه کلاس جلبک‌های پریفایتیک در چهار محل مورد مطالعه عبارت بودند از: باسیلاریوفیتا 45٪، کلروفیتا 36٪ و سیانوباکتری‌ها 19٪ (پندیت و همکاران، 2014). دیوتا و همکاران (2018) ترکیب جامعه پریفایتون رودخانه نامسونگ را مورد بررسی قرار دادند و بیان کردند که در طول مطالعه، 47 جنس مختلف پریفایتون متعلق به 8 کلاس: باسیلاریوفیتا، کلروفیتا، میکسوفیاسه، رایزوپودا، نماتد، زوفلاگلا، ترتیگدرا و کوپیدا ثبت شد. آن‌ها نشان دادند که باسیلاریوفیتا (45٪) جامعه غالب و پس از آن

بر اساس نتایج حاصله در برکه فشتام، از رسوبات بستر جلبک‌های *Chlorella* sp.، *Ulothrix* sp.، *Scenedesmus* sp. و *Chlorococcum* sp. و سیانوباکتری جنس *Lyngbya* sp.؛ از پریفایتون برکه جلبک‌های *Ulothrix* sp.، *Chlorococcum* sp.، *Chlorella* sp.، *Scenedesmus bijug*، *Nitzschia* sp.، *Chlorella* sp.، *Microspora tumidula* و *Tribonema utriculosum* سیانوباکتری‌های جنس *Lyngbya* و *Leptolyngbya* sp. و از آب برکه جلبک‌های *Chlorococcum* sp.، *Chlorella* sp.، *Ulothrix* sp. و *Nitzschia* sp. و سیانوباکتری‌های جنس *Lyngbya* و *Leptolyngbya* sp. sp. خالص‌سازی و شناسایی شدند. در برکه تازه سل نیز از رسوبات بستر برکه جلبک‌های جنس *Chlorococcum* sp.، *Chlorella* sp.، *Nitzschia* sp. و *Navicula* sp. و سیانوباکتری جنس *Lyngbya* sp.؛ از پریفایتون برکه نمونه‌های جلبک *Chlorococcum* sp.، *Chlorella* sp. و *Navicula* sp. و سیانوباکتری‌های جنس *Leptolyngbya* sp. و از آب برکه جلبک‌های جنس *Chlorella* sp.، *Navicula* sp.، *Chlorococcum* sp. و *Ulothrix* sp. و سیانوباکتری جنس *Lyngbya* sp. خالص‌سازی و شناسایی شد. در ارتباط با برکه قلعه و رسل، از رسوبات بستر برکه جلبک *Chlorococcum* sp.، *Chlorella* sp. و *Keratococcus bicaudatus* و سیانوباکتری جنس *Leptolyngbya* sp. و *Lyngbya* sp.، از پریفایتون برکه نمونه‌های جلبک *Ulothrix* sp.، *Keratococcus bicaudatus*، *Keratococcus dispar*، *Chlorella* sp.، *Desmodesmus* sp.، *Navicula* sp.، *Chlorococcum* sp.، *Cylindrocapsa* sp.، *Microspora* sp. و *Nitzschia* sp. و سیانوباکتری‌های جنس *Lyngbya* sp. و از آب برکه جلبک‌های جنس *Chlorolobion* sp.، *Chlorella* sp. و *Nitzschia* sp. و سیانوباکتری‌های جنس *Lyngbya* و *Leptolyngbya* sp. sp. خالص‌سازی و شناسایی شد.

دو عامل مهم در نحوه ترکیب اجزای جلبکی پریفایتون وجود دارد: اول اینکه باسیلاریوفیتا گروهی از جلبک‌های تک سلولی هستند که در ساختمان پریفایتون با تراکم و فراوانی گونه‌ای بسیار بالایی حضور دارند و توان و قدرت رقابت زیادی در استفاده از منابع غذایی دارند و دوم اینکه بسیاری از جنس‌های باسیلاریوفیتا دارای ساختمان سلولی منحصر بفردی هستند که ساختارهای موسیلاژی، و نیز توان بالا در تولید این گونه ترکیبات موسیلاژی موجب می‌شود تا مجموعه‌ای از آن‌ها را به فرم کلنی در آورد و لذا آن‌ها را قادر می‌سازد تا در اکوسیستم

بیشترین درصد فراوانی مربوط به باسیلاریوفیتا (58%) بوده و سیانوباکترها (24%) و کلروفیتا (18%) به ترتیب در رده دوم و سوم قرار دارند. در نمونه پرفیایتون برکه قلعه ورسل نیز بیشترین درصد فراوانی مربوط به شاخه باسیلاریوفیتا (69%) است و کلروفیتا (24%) در رتبه دوم قرار دارد. به نظر می‌رسد باسیلاریوفیتا جمعیت غالب پرفیایتون‌های جلبکی در اکثر برکه‌های استان گیلان است که می‌تواند نقش قابل توجهی در گردش و تغییر و تبدیل عناصر غذایی (به ویژه فسفر و نیتروژن) بین آب و سطح خاک داشته باشد. با توجه به اینکه باسیلاریوفیتا در ساختمان پرفیایتون با تراکم و فراوانی گونه‌ای بالایی حضور دارند، توان و قدرت رقابت زیادی در استفاده از منابع غذایی دارند و آن‌ها در مقایسه با سیانوباکترها و کلروفیتا محکم‌تر به سطح بستر می‌چسبند و به وسیله حرکت آب به آسانی کنده نمی‌شوند. همچنین باسیلاریوفیتا توانایی تطبیق دادن خود با درجه حرارت‌های پایین را دارند، در صورتی که سیانوباکتری‌ها درجه حرارت‌های بالاتر در تابستان و پاییز را ترجیح می‌دهند.

کلروفیتا (30%)، میکسوفیاسه (13%) و جانوران (12%) در رتبه‌های بعدی بودند. لیانگ و لی (2008) نیز گزارش کردند که باسیلاریوفیتا در بیوماس پرفیایتون پیکره غالب است. رسونو و خورمو (2016) در مطالعه‌ای در رودخانه مسکو نشان دادند جلبک‌های دیاتوم در ترکیب پرفیایتون غالب هستند که شامل 87 تا 99 درصد (با میانگین 94 درصد) از کل زیست توده جلبک هستند. جلبک‌های سبز به طور متوسط 5% و سیانوباکتری‌ها، تا 1% از کل زیست توده پرفیایتون را تشکیل می‌دهند. استونسون (2010) نیز عنوان کرد که غالبیت باسیلاریوفیسه‌ها ممکن است به این دلیل باشد که آن‌ها در مقایسه با سیانوفیسه‌ها و کلروفیسه‌ها سخت‌تر به سطح بستر می‌چسبند و به وسیله حرکت آب به آسانی کنده نمی‌شوند. پندیت و همکاران (2014) نیز عنوان کردند که جمعیت کم سیانوفیسه‌ها ممکن است به این دلیل باشد که سیانوفیسه‌ها اغلب در سطوح تابش و درجه حرارت بالا غالب هستند.

#### نتیجه‌گیری

در برکه فشتام بیشترین درصد فراوانی مربوط به شاخه کلروفیتا بوده و باسیلاریوفیتا و سیانوباکترها به ترتیب در رده دوم و سوم قرار دارند. اما در برکه تازه سل

#### فهرست منابع:

- Allan, J.D. and Castillo, M.M. 2007. Stream Ecology: Structure and Function of Running Waters. Springer.
- Azim, M.E. and Wahab, M.A. 2005. Periphyton-Based Pond Polyculture. In: Periphyton: Ecology, Exploitation and Management, Azim, M.E., Verdegem, M.C.J., van-Dam, A.A. and Beveridge, M.C.M. (eds.) CABI Publishing, UK, 207-222.
- Battin, T.J., Kaplan, L.A., Newbold, J.D. and Hansen, C.M. 2003. Contributions of microbial biofilms to ecosystem processes in stream mesocosms. Nature 1: 426-439.
- Bischoff, H.W. and Bold, H.C. 1963. Phycological Studies IV. Some Soil Algae From Enchanted Rock and Related Algal Specie. University of Texas, Austin, 6318: 1 - 95.
- Bold, H.C. 1949. The morphology of *Chlamydomonas chlamydogama* sp. nov. Bulletin of the Torrey Botanical Club 76: 101 - 108.
- Dutta, R., Dutta, A., Bhagobaty, N. and Bhagabati, S.K. 2018. Periphyton community structure of Namsang stream, Arunachal Pradesh. Journal of Coldwater Fisheries 1(1): 113-120.
- Fonseca, I.A., Siqueira, N.S. and Rodrigues, L. 2008. Algas períficas a montante e a jusante do local de instalação de tanques-rede em tributários do reservatório de Rosana, Estado do Paraná, Brasil. Acta Scientiarum Biological Sciences 31 (2): 135-141.
- Gillett, N.D., Pan, Y., Asarian, J.E. and Kann, J. 2016. Spatial and temporal variability of river periphyton below a hypereutrophic lake and a series of dams. Science of the Total Environment 541: 1382-1392.
- Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In Smith, W.L. and Chantey, M.H. (eds) Culture of Marine Invertebrate Animals. Plenum Publishers, New York: 29-60.

10. Gulzar, A., Mehmood, M.A. and Chaudhary, R. 2017. Stream periphyton community: a brief review on ecological importance and regulation.
11. Huang, W., Liu, X., Peng, W., Wu, L., Yano, S., Zhang, J. and Zhao, F. 2018. Periphyton and ecosystem metabolism as indicators of river ecosystem response to environmental flow restoration in a flow-reduced river. *Ecological indicators* 92: 394-401.
12. Liang, X. and Li, X. 2008. Responses of phytoplankton and periphyton to environmental variations in urbanizing tidal rivers. In: Paper Presented at the the 2nd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering.
13. Neif, É.M., Behrend, R.D.L. and Rodriguez, L. 2013. Seasonal Dynamics of the structure of epiphytic algal community on different substrates from a Neotropical floodplain. *Brazilian Journal of Botany* 36: 169-175.
14. Nelson, C.E., Danuta, M.B. and Bradley, J.C. 2013. Consistency and sensitivity of stream periphyton community structural and functional responses to nutrient enrichment. *Ecological Applications* 23: 159-173.
15. Pandit, A.K., Farooq, S. and Shah, J.A. 2014. Periphytic Algal Community of Dal Lake in Kashmir Valley, India. *Research Journal of Environmental Sciences* 8: 391-398.
16. Poulickova, A., Hasler, P., Lysa'kova', M. and Spears, B. 2008. The ecology of freshwater epipelagic algae: an update. *Phycologia* 47 (5): 437-450.
17. Round, F.E. 2010. Diatoms in river water-monitoring studies. *Journal of Applied Phycology* 3 (2): 129-145.
18. Rusanov, A.G. and Khromov, V.M. 2016. Longitudinal distribution of periphyton algae in the Moskva river under eutrophication. *Water Resources* 43: 513- 521.
19. Saikia, S., Nandi, S. and Majumder, S. 2013. A review on the role of nutrients in development and organization of periphyton. *Journal of Research in Biology* 3: 780-788.
20. Sparks, D.L. 1996. *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*, Soil Science Society of American, Inc. American Society of Agronomy, Inc, Madison Wisconsin, USA.
21. Stanier, R.Y., Kunisawa, R., Mandel, M. and Cohen-Bazire, G. 1971. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales). *Bacteriological Reviews* 35: 171-205.
22. Stevenson, R.J., Pan, Y. and van-Dam, H.E.R.M.A.N. 2010. Assessing environmental conditions in rivers and streams with diatoms. In *The diatoms: applications for the environmental and earth sciences*. Cambridge University Press Cambridge, 57-85.
23. Wu, Y. 2016. *Periphyton: functions and application in environmental remediation*. Elsevier.

## Study of algal flora periphyton community in aquatic ecosystems of Gillan province

**H. A. Alikhani<sup>1</sup>, H. Ahmadi, H. Etesami, M. Noroozi,  
H. A. Rahmani, and S. Emami**

Full professor, University of Tehran; E-mail: halikhan@ut.ac.ir

Ph. D. Student, University of Tehran; E-mail: hadi.ahmadi73@ut.ac.ir

Associate Professor, University of Tehran; E-mail: hassanetesami@ut.ac.ir

Associate Professor, Alzahra University; E-mail: noroozi.mostafa@alzahra.ac.ir

Assistant professor, Soil and Water Research Institute of Iran; E-mail: asadi\_1999@yahoo.com

PhD, University of Tehran; E-mail: emamisomaye@ut.ac.ir

Received: January, 2020 & Accepted: October, 2020

### Abstract

Periphytons are the most important microorganism communities which can be found almost in all aquatic systems. Periphytons play important roles in ecological functions of an ecosystem. They are composed of multilayered consortia of photoautotrophs (e.g. unicellular and filamentous cyanobacteria, benthic diatoms and green microalgae) and heterotrophs (bacteria, fungi and protozoa). Due to the role of periphytons in the processes of nitrogen fixation and dissolution of insoluble phosphorus and potassium, Samples of sediment, water and periphytons collected and investigated from three lagoons in Fashtam, Tazesel and Qalewysel in Gillan province. Results showed that Chlorophyta, Bacillariophyta and Cyanobacteria constituted 26.24%, 56.06% and 17.69% of the periphyton components in Qalewysel lagoon, respectively. In the Fashtam lagoon, the Chlorophyta, Charophyta, Euglenozoa, Ochrophyta, Bacillariophyta, and cyanobacteria species formed 38.48%, 20.58%, 1.72%, 1.74%, 19.68% and 19.52% of the periphyton components, respectively. Also, in the Tazesel lagoon, Chlorophyta, Euglenozoa, Bacillariophyta and Cyanobacteria constituted about 13.93%, 0.56%, 51.9% and 33.6% of components of periphyton, respectively.

**Keywords:** Bacillariophyta, Chlorophyta, Paddy soil, Periphyton

---

<sup>1</sup> Corresponding author: Karaj, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Soil Science Department.