نشریه فن‌آوری‌های نوین در توسعه آبزی‌پروری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر/ ISSN: 2008-0026 سال چهاردهم، شماره سوم، پاییز ۹۹ / صفحات: ۱۱-۱

کارایی حذف سلول‌های جلبکی مضر با غلظت‌های مختلف دوغاب خاک رس

مریم معزی[1*]، عیسی عبدالعلیان[1]، کیومرث روحانی قادیکلائی[1]، غلامعلی اکبرزاده[1]، محمدصدیق مرتضوی[1]، محمدرضا زاهدی[1]، سجاد پور مظفر[1]

[1] پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات شیلات، سازمان تحقیقات و آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۱/۲۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۵/۲۰

چکیده

داینوفلاژلاها گروه مهمی از فیتوپلانکتون‌های دریایی می‌باشند که شکوفایی برخی از گونه‌های آن مشکلات زیادی را برای اکوسیستم‌های دریائی و فعالیت‌های آبزی‌پروری ایجاد می‌نماید. شکوفائی ناشی از *Cochlodinium polykricoides* طی سال‌های ۱۳۸۸-۱۳۸۷ خسارات شدیدی بر آبزیان خلیج فارس و دریای عمان وارد نمود. جهت کنترل کشند قرمز روش‌های مختلفی استفاده می‌شود. از اینرو این تحقیق به بررسی درصد کارایی حذف سلولی با غلظت‌های مختلف دوغاب خاک رس (۰/۵، ۱، ۲، ۴ و ۱۰ gr/l) پرداخت. بدین منظور پس از جداسازی دو گونه *C.polykricoides* و *Protoperidinium quinquecorne* از آب دریا (با تراکم cell/ml ۱۶۰۰۰-۱۴۰۰۰)، با افزودن ml ۵۰ از غلظت‌های مختلف دوغاب به ظروف حاوی جلبک، بعد از گذشت زمان‌های ۲، ۴، ۲۰ و ۲۴ ساعت تراکم سلول‌ها شمارش گردید. نتایج نشان داد در ریزجلبک *C.polykricoides* بهترین کارایی غلظت‌های gr/l ۴ و ۱۰ بعد از ۲۴ ساعت با میانگین ۹۹ درصد داشتند. پس از آن تیمار gr/l ۰/۵ در زمان ۲ ساعت ۵۳ درصد کاهش سلول‌های جلبکی را باعث شد. بهترین درصد کارایی حذف سلولی بررسی شده روی *P.quinquecorne* ، میانگین ۹۹ درصد را در تیمار gr/l ۴ در زمان ۲۴ ساعت داشت که اختلاف معنی داری با تیمارهای gr/l ۴ و ۱۰ در زمان‌های دیگر نشان نداد ($p\geq ۰/۰۵$). از اینرو با توجه به اینکه افزودن دوغاب بایستی کمترین تأثیر زیست محیطی و آسیب به اکوسیستم و موجودات را داشته باشد بسته به نوع گونه هدف تغییرپذیر می‌باشد. با توجه به نتایج بدست آمده، غلظت gr/l ۴ برای *P.quinquecorne* و gr/l ۰/۵ برای *C.polykricoides* پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: کشند قرمز، *Cochlodiniom polykricoides*، *Protoperidinium quinquecorne*، دوغاب خاک رس، جلبک تاژکدار

مقدمه

شکوفایی جلبک‌های مضر یک پدیده جهانی بوده و بروز این پدیده خطری جدی برای سلامت انسان، آبزی پروری، شیلات و اکوسیستم‌های آبی دارد. گونه‌های ریزجلبکی مضر شامل گروه‌های Dinoflagellates، Diatoms، Cyanobacteria، Raphidophytes، Prymnesiophytes، Pelagophytes و Silicoflagellates می‌باشند (Landsberg, 2002). داینوفلاژلاها گروه مهمی از فیتوپلانکتون‌های محیط دریا می‌باشند که مطالعات کمی در مورد متابولیسم آنها نسبت به سایر گروه‌های فیتوپلانکتونی همچون دیاتوم‌ها و جلبک‌های سبز صورت گرفته است. شکوفایی ناشی از برخی از گونه‌های فیتوپلانکتونی به ویژه داینوفلاژلاها مشکلات زیادی را برای اکوسیستم‌های آبی و آبزی‌پروری ایجاد نموده است

*نویسنده مسئول: maryammoezzi1360@gmail.com

(Verlecar و Desai، ۲۰۰۴). شکوفایی ناشی از آنها علاوه بر تولید سموم، از طریق کاهش میزان اکسیژن محیط به ویژه هنگام تجزیه، باعث افت شدید میزان اکسیژن محیط و مرگ‌ومیر آبزیان خواهد شد (Granelیو Turner، ۲۰۰۶). کاهش اثرات شکوفایی ناشی از پدیده کشند قرمز نیاز به بهبود آبهای ساحلی از طریق تصفیه فاضلاب‌های شهری، آبهای ورودی کشاورزی و همچنین کانال‌های خروجی مزارع پرورش آبزیان دارد. به دلیل اثرات شدیدی که کشند قرمز بر روی اقتصاد و سلامت همگانی دارد، بررسی‌هایی در زمینه کنترل این شکوفایی‌ها صورت گرفته است. راهکارهای زیادی جهت کنترل شکوفایی مضر و کاهش اثرات آن‌ها مورد آزمایش قرار گرفته است ولی کنترل فقط در یک منطقه محدود همچون هچری‌ها و استخرهای تکثیر وپرورش عملی می‌باشد و تحقیقات جهت دستیابی به روش‌های مختلف کنترل این پدیده در حال گسترش می‌باشد. برخی از محققین برای کنترل شکوفایی داینوفلاژلاها در دریاها، روش‌های فیزیکی را پیشنهاد و بکار برده‌اند. این روش یکی از روشهای کار آمد جهت برطرف ساختن شکوفایی پلانکتونی می باشد یکی از روش‌های کنترل فیزیکی استفاده از خاک رس می‌باشد. خاک رس بدلیل کارایی بالا در از بین بردن داینوفلاژلاها به عنوان مطمئن ترین و مؤثرترین روش کنترل شکوفایی جلبکی داینوفلاژلا معرفی شده است. خاک رس ارزان، فراوان و به آسانی در دسترس می‌باشد (Beaulieu و همکاران، ۲۰۰۵).

استفاده از خاک رس بدلیل چسبیدن به سلول‌ها باعث سنگین شدن آنها و پایین کشیدن سلول‌ها به کف بستر و رسوب آنها می‌گردد که جهت افزایش چسبندگی و کاهش بیشتر سلولها می‌توان از ماده PAC (پلی کلرید آلومینیوم) هم همزمان با خاک رس استفاده نمود (Secher، ۲۰۰۹؛ Anderson و همکاران، ۲۰۰۱). خاک رس همچنین باعث فلوکولاسیون و رسوب گونه جلبکی مضر می‌گردد (Gross و Enevoldsen، ۱۹۸۸). مطالعات زیادی در زمینه استفاده از خاک رس جهت از بین بردن شکوفایی مضر جلبکی انجام شده است. در مطالعه‌ای توسط Sengco و همکاران در سال ۲۰۰۰، از خاک رس جهت بررسی کارایی حذف سلول جلبکی استفاده شد. نتایج نشان داد ۹۹-۹۰٪ از شکوفایی جلبکی، با کم‌ترین تأثیر بر ساختار سایر موجودات آبزی، کاهش یافت. در کره جنوبی نیز شکوفایی جلبکی *Cochlodinium sp.* که بیش از ۲۶۰ کیلومتر را در بر گرفته بود از خاک رس زرد به میزان ۴۰۰ g/m^2 (جهت کاهش و از بین بردن شکوفایی) استفاده گردید و به میزان ۹۹-۹۰ درصد از شکوفایی جلبکی تا عمق ۲ متر کاهش و شفافیت آب افزایش یافت (Sengco و Anderson، ۲۰۰۴). این درحالی است که هیچ‌گونه مرگ و میری از آبزیان مشاهده نشد، همچنین شکوفایی مجدد صورت نگرفت. در کره جنوبی به منظور کنترل شکوفایی *C.polykrikoides*، استفاده از خاک رس در مزارع پرورش ماهی کاربرد وسیعی پیدا کرده است (Na و همکاران، ۱۹۹۶؛ Kim، ۱۹۹۸). تحقیقی دیگر در این زمینه در سال ۱۹۸۳ در فیلیپین بر روی گونه *Pyrodinium bahamense* انجام شد که نتایج آن نشان داد افزودن ۱ گرم در لیتر خاک رس درصد کارایی حذف سلول جلبکی بعد از ۲/۵ ساعت به ۹۹ درصد رسید و با قرار گرفتن طولانی تر تا ۵ و ۲۴ ساعت افزایش معنی‌داری در حذف سلول جلبکی نداشت (Padilla و همکاران، ۲۰۰۶). در تحقیقی دیگر در سال ۱۳۹۶ توسط Moezzi و همکاران انجام شد که به بررسی اثر غلظت‌های مختلف دوغاب خاک رس بر کارایی حذف سلولی جلبکی مضر پرداختند. نتایج آن تحقیق نشان داد که افزودن غلظت ۱۰ گرم در لیتر خاک رس بیشترین

درصد کارایی حذف سلول‌های *P.quinquecorne* را در زمان ۲ ساعت با میانگین۶۶ درصد و کمترین میزان را در همان زمان با میانگین ۲۶ درصد غلظت ۱ گرم در لیتر دارا بود. همچنین در سال ۱۳۹۲ در مطالعه‌ای دیگر به بررسی اثر غلظت‌های مختلف دوغاب خاک رس در حذف سلول‌های *C.polykrikoides* پرداخت و نتایج نشان‌دهنده بیشترین کاهش سلولی در غلظت ۰/۵ گرم در لیتر پس از ۲ ساعت بود بیشترین کارایی ۵۳ درصدی نسبت به تمامی غلظت‌ها داشت که درکوتاه مدت اثرات خوبی را ایجاد کرد اما در غلظت‌های ۴ و ۱۰ گرم پس از گذشت ۲۰ و ۲۴ ساعت کارایی حذف سلول جلبک مضر *C. polykrikoides* به ۹۹ درصد رسید که این نتیجه نسبت به دوز ۰/۵ گرم در لیتر پس از ۲۰ و ۲۴ ساعت کارایی بیشتری نشان داد (Moezzi و همکاران، ۲۰۱۳). لذا بدلیل کم هزینه بودن و اثرگذاری سریعتر در مدت زمان کوتاهتر و همچنین کمترین اثرات زیست محیطی بر اکوسیستم‌های محیط‌های آبی و پرورشی دوغاب خاک رس، غلظت‌های مختلف آن جهت حذف سلول‌های جلبکی مضر برای دستیابی به غلظت مناسب ، مورد بررسی قرار گرفت. بنابراین هدف کلی از این مطالعه تعیین غلظت مناسب دوغاب و کاهش اثرات شکوفایی مضر جلبکی بر سلامت عمومی، اقتصاد و اکوسیستم‌های ساحلی بود.

مواد و روش‌ها

- **تهیه جلبک تاژکدار جهت انجام آزمایش:** جهت انجام آزمایش، استوک جداسازی و خالص سازی جلبک *C. polykrikoides* از آبهای سواحل خلیج فارس (با استفاده از روش‌های استاندارد، Sournia، ۱۹۹۵) از آزمایشگاه فایکولب پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان بندرعباس تهیه شد. نمونه‌های ریزجلبک *P.quinquecorne* نیز از آب‌های سواحل خلیج فارس جداسازی شد. سپس ریزجلبک‌ها در حجم۶۰ لیتر در آکواریوم نگهداری شد.

- **آماده‌سازی دو غاب خاک رس:** جهت آماده سازی دو غاب در ابتدا خاک رس ۳۳ درصد (تهیه شده از اطراف استان هرمزگان و آنالیز شده در آزمایشگاه) از الک ۲۰۰ میکرون عبور داده شد. سپس یک تیمار شاهد بدون خاک رس و تیمارهایی با مقادیر مختلف ۰/۵، ۱، ۲، ۴ و ۱۰ گرم در لیتر (بنا بر پیشنهاد Choi و همکاران، ۱۹۹۸) توزین و هر کدام از این مقادیر در ۵۰ سی سی آب دریای فیلتر شده و استریل ریخته شد و سوسپانسیون خاک رس تهیه گردید (Beauhieu و همکاران، ۲۰۰۵).

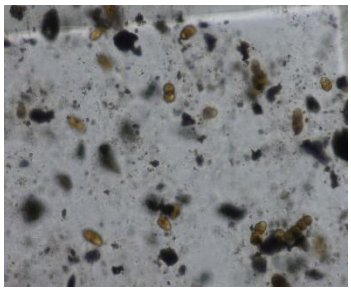
- **نحوه آزمایش با دو غاب خاک رس:** مقدار یک لیتراز هر کدام از ریزجلبک‌های *C.polykrikoides* و *P.quinquecorne* با تراکم cell/ml ۱۱۰۰۰ با شوری ۳۲PPT در بشرهای یک لیتری ذخیره گردید سپس با افزایش مقادیر مختلف دوغاب خاک رس جهت همگن شدن دوغاب در بشرها به آرامی تکان داده شد. پس از آن تراکم سلولی هر دو گونه در ستون آب بعد از گذشت ۲، ۴، ۲۰ و ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اتاق مورد بررسی قرار گرفت. بدین‌منظور از هر تیمار و تکرار مقدار یک میلی‌لیتر نمونه برداشته، با محلول لوگل یا فرمالین یک درصد تثبیت نمودیم و با استفاده از لام سدویک مدرج تراکم سلول شمارش و ثبت گردید. جهت محاسبه درصد کارایی حذف سلول جلبکی دوغاب خاک رس در مقادیر مختلف از فرمول ارائه شده توسط Sengco و همکاران در سال ۲۰۰۱ استفاده شد.

$$RE\% = 1-(Ft/Fc)*100$$

RE: درصد کارایی حذف سلول جلبکی

Ft= تراکم نهایی سلول‌های کشت داده شده در تیمار آزمایش

Fc= تراکم نهایی سلول‌های کشت داده شده در تیمار شاهد



ب

الف

شکل ۱- سلول‌های تازه *C.polkrikoides* در ستون آب قبل از اضافه نمودن خاک رس ۱۰x (الف).
سلول‌های چسبیده و بدام افتاده در دانه‌های خاک رس در کف بشر پس از افزودن خاک رس ۱۰ x (ب).

تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات داده‌های بدست آمده در نرم افزار اکسل وارد شده و نتایج توصیفی به صورت نمودار تهیه گردیده است . تحلیل آماری نتایج در برنامه Spss و با بکارگیری آزمون‌های پارامتری (آنالیزی و واریانس یک طرفه و آزمون‌های تفریقی Duncan , Tukey) جهت مقایسه داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

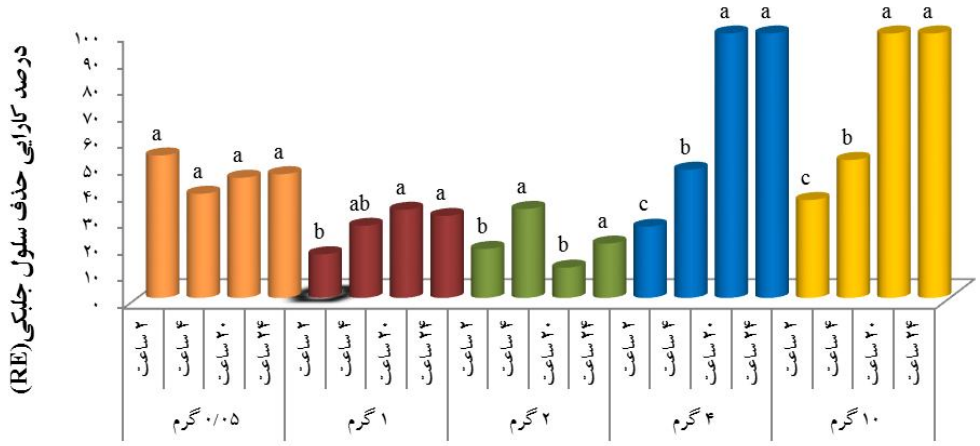
نتایج آنالیز واریانس چندراهه در دو گونه *C. polykrikoides* و *P.quinquecorne* بین تمامی تیمارها در زمان‌های مختلف نشان داد که اختلاف معنی داری بین تمامی تیمارها وجود دارد ($p\leq ۰/۰۵$) (جدول ۱).

جدول ۱- جدول آنالیز واریانس چندراهه

گونه		درجه آزادی	مجموع مربعات	F	Sig.
C. polykrikoides	اثرمتقابل	۱	۱۳۰۵۷۳/۳۵۰	۷۲۰۰/۷۳۶	۰/۰۰
	غلظت	۴	۶۴۴۳/۰۵۸	۳۵۵/۳۱۶	۰/۰۰
	زمان	۳	۲۹۳۲/۵۵۰	۱۶۱/۷۲۲	۰/۰۰
	زمان × غلظت	۱۲	۱۱۸۴/۲۰۳	۶۵/۳۰۵	۰/۰۰
P.quinquecorne	اثرمتقابل	۱	۲۴۹۲۶۴/۲۴۳	۷۵۴۴/۴۵۲	۰/۰۰
	غلظت	۴	۶۳۷۲/۴۷۰	۱۹۲/۸۷۵	۰/۰۰
	زمان	۳	۱۶۱۰/۳۴۰	۴۸/۷۴۰	۰/۰۰
	زمان × غلظت	۱۲	۲۷۷/۴۶۶	۸/۳۹۸	۰/۰۰

نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون درون گروهی توکی در تیمارهای مختلف خاک رس که در زمان‌های مختلف ۲۰، ۴، ۲ و ۲۴ ساعت مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۲) نشان داد تیمار ۰/۵ gr/l بیشترین درصد کارایی را در زمان ۲ ساعت با میانگین ۰/۵۷± ۵۳ و کمترین میزان در زمان ۴ ساعت با میانگین ۱/۰۰±۳۹ دارا بوده است که اختلاف معنی داری بین بقیه ساعات وجود نداشت ($P<۰/۰۵$). در

تیمارgr/l ۱ بیشترین درصد کارایی متعلق به زمان ۲۰ ساعت با میانگین ۵/۲۹± ۳۳ و کمترین آن با میانگین ۶/۶۵ ± ۱۶ درصد مربوط به زمان ۲ ساعت بود اختلاف بین آنها معنی‌داری بود (P<۰/۰۵). بیشترین درصد کارایی تیمار ۲gr/l خاک رس با میانگین ۲/۷۸ ± ۳۳ در زمان ۴ ساعت و کمترین آن ۵/۱۳ ± ۱۱ در زمان ۲۰ ساعت بودکه اختلاف معنی داری بین آنها مشاهده شد (P<۰/۰۵). تیمار gr/l ۴ دارای بیشترین درصد کارایی در زمان ۲۰ و ۲۴ ساعت با میانگین ۹۹ درصد و کمترین کارایی ۴/۰۴ ± ۲۷ درصد در زمان ۲ ساعت بود که اختلاف معنی داری نشان دادند (P<۰/۰۵). بیشترین درصد کارایی تیمار gr/l ۱۰ در زمان ۲۰ و ۲۴ ساعت با میانگین ۹۹ درصد و کمترین آن در زمان ۲ ساعت ۱/۵۲ ± ۳۷ درصد بود که اختلاف معنی داری نشان داد (P<۰/۰۵).



شکل ۲- نتایج آنالیز واریانس یک طرفه جهت مقایسه کارایی حذف سلول جلبکی در غلظت‌های مختلف دوغاب خاک رس روی جلبک *C. polykrikoides* (حروف نا متشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در هر غلظت می‌باشد (P<۰/۰۵))

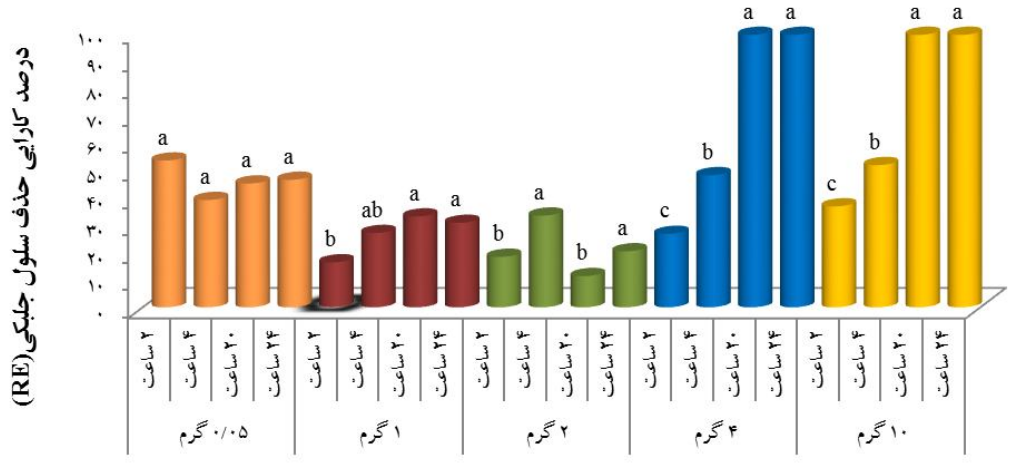
جهت مقایسه درصد کارایی حذف جلبکی دوغاب خاک رس در هر زمان (۲۰،۴،۲ و ۲۴ ساعت) تمامی دوزها مورد آنالیز واریانس یکطرفه قرار گرفت و نتایج آن نشان داد که در زمان ۲ ساعت بیشترین درصد کارایی تیمار gr/l ۰/۵ با میانگین ۰/۵۷±۵۳/۳۳ و کمترین تیمار gr/l ۱ با میانگین ۶/۶۵ ±۱۶/۳۳ داشت اختلاف بین آنها معنی دار بود (P<۰/۰۵). در زمان ۴ ساعت بیشترین درصد کارایی ۱۰gr/l با میانگین ۴/۵۰ ± ۵۱/۶۶ و کمترین را تیمار gr/l ۱ با میانگین ۱/۰۰±۲۷/۰۰ نشان داد که دارای اختلاف معنی داری بودند (P<۰/۰۵). در زمان ۲۰ ساعت پس از پاشیدن دوغاب خاک رس بیشترین درصد کارایی مربوط به تیمار gr/l ۴ و ۱۰ با میانگین ۹۹ درصد و کمترین آن مربوط به تیمار ۲ گرم با میانگین ۵/۱۳±۱۱/۳۳ بوده است که اختلاف معنی داری داشتند (P<۰/۰۵). آنالیز داده‌ها در زمان ۲۴ ساعت بیشترین درصد کارایی را در تیمار gr/l ۴ و ۱۰ (۹۹) و کمترین را درgr/l ۲ (۰/۵۷±۲۰/۳۳) نشان داد و اختلاف بین آنها معنی دار بود (P<۰/۰۵).

جدول ۲- نتایج آنالیز واریانس یک طرفه جهت مقایسه کارایی حذف سلول جلبکی در ساعت‌های مختلف پس از دوغاب پاشی روی جلبک *C. polykrikoides*

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

حروف نا متشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

نتایج آنالیز واریانس یکطرفه در هر غلظت دوغاب در زمانهای مختلف در شکل ۳ نشان داده شده است. در ۰/۵gr/l بیشترین کارایی حذف سلول جلبکی پس از ۴ ساعت ۵/۴۶ ± درصد و کمترین آن بعد از ۲۴ ساعت به میزان ۱۴±۱/۳۴ بود که اختلاف معنی داری نشان دادند (p≤ ۰/۰۵). در تیمار ۱ gr/l پس از گذشت ۲۴ ساعت بیشترین درصد کارایی ۵/۲۱ ± ۶۳ و کمترین درصد کارایی ۲۹±۴/۴۳ درصد پس از ۲ ساعت بود که دارای اختلاف معنی‌دار بودند (۰/۰۵> P). در تیمار ۲ gr/l بیشترین درصد کارایی در زمان ۲۰ ساعت با میانگین ۰/۴۶ ± ۷۷ و کمترین درصد کارایی در زمان ۲ ساعت با میانگین ۶۳±۱/۹۴ بود که اختلاف معنی‌داری بین آنها مشاهده شد (P<۰/۰۵). نتایج آنالیز تیمار ۴ gr/l نشان دهنده بیشترین درصد کارایی پس از ۲۴ ساعت ۹۹±۰/۲۱ درصد و کمترین آن ۶۱±۲/۱۶ درصد پس از گذشت ۲ ساعت بود (P<۰/۰۵). در تیمار ۱۰gr/l بیشترین درصد کارایی پس از ۲۴ ساعت از افزودن آن مشخص شد که میانگینی برابر با ۰/۳۷± ۹۸ درصد اما کمترین کارایی حذف سلول جلبکی در این تیمار پس از گذشت ۲ ساعت برابر ۲/۷۷ ± ۶۶ درصد بود (P<۰/۰۵).



شکل ۳- نتایج آنالیز واریانس یک طرفه جهت مقایسه کارایی حذف سلول جلبکی در غلظت‌های مختلف دوغاب خاک رس روی جلبک *P.quinquecorne* (حروف نا متشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در هر غلظت می باشد (P<۰/۰۵))

نتایج حاصل از انجام آزمایشات مربوط به بررسی تأثیر دوغاب خاک رس بر درصد حذف سلول جلبکی روی *P.quinquecorne* در غلظت‌های مختلف در جدول ۵ نشان داده شده است . نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون درون گروهی توکی در تیمارهای مختلف خاک رس که در زمان ۲ ساعت مورد بررسی قرار گرفت نشان داد، تیمار gr/l ۱۰ بیشترین درصد کارایی پس از ۲ ساعت (۲/۷۷ ± ۶۶) و کمترین کارایی را تیمار gr/l ۱ (۴/۴۳ ± ۲۹) داشت (P<۰/۰۵). همچنین پس از gr/l ۱۰ تیمار gr/l ۲ بیشترین درصد حذف سلول جلبکی را داشت که اختلاف معنی دار هم نشان ندادند (P>۰/۰۵). در تیمار ۴ ساعت بیشترین درصد کارایی حذف سلول جلبکی متعلق به غلظت gr/l ۴ (۷۹±۰/۷۶) و کمترین درصد کارایی حذف جلبکی (۳۴±۳/۰۳) مربوط به غلظت gr/l ۱ بود. بین تیمارهای gr/l ۲،۴ و ۱۰ اختلاف معنی داری مشاهده نشد (P<۰/۰۵).

نتایج آنالیز آماری در تیمار ۲۰ ساعت نشان دهنده بیشترین درصد کارایی در غلظت gr/l ۴ (۹۶±۰/۱۵) و کمترین درصد کارایی (۳۹±۵/۵۵) در تیمار gr/l ۰/۵ بود (P<۰/۰۵). در تیمار ۲۴ ساعت بیشترین کارایی حذف سلول جلبکی غلظت gr/l ۴ (۹۹±۰/۲۱) و کمترین کارایی حذف جلبکی gr/l ۰/۵ (۱/۳۴ ± ۱۴)ن شان داد (P<۰/۰۵).

جدول ۳- نتایج آنالیز واریانس یک طرفه جهت مقایسه کارایی حذف سلول جلبکی در ساعت‌های مختلف پس از دوغاب پاشی روی جلبک *P.quinquecorne*

زمان / غلظت خاک رس	۲ ساعت	۴ ساعت	۲۰ ساعت	۲۴ ساعت
۰/۵ گرم در لیتر	۳۲ ± ۲/۳۱[b]	۴۷ ± ۵/۴۶[b]	۳۹ ± ۵/۵۵[d]	۱۴ ± ۱/۳۴ [d]
۱ گرم در لیتر	۲۹ ± ۴/۴۳[b]	۳۴ ± ۳/۰۳[c]	۵۴ ±۳/۶۱[c]	۶۳ ± ۵/۲۱ [c]
۲ گرم در لیتر	۶۳ ± ۱/۹۴[a]	۷۴ ± ۱/۵۲[a]	۷۷ ± ۰/۴۶[b]	۷۵ ± ۲/۶۷ [b]
۴ گرم در لیتر	۶۱ ± ۲/۱۶[a]	۷۹ ± ۰/۷۶[a]	۹۶ ± ۰/۱۵[a]	۹۹ ± ۰/۲۱[a]
۱۰ گرم در لیتر	۶۶ ± ۲/۷۷[a]	۷۸ ± ۲/۵۷[a]	۹۶ ± ۰/۲۱[a]	۹۸ ± ۰/۳۷[a]

حروف نا متشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

شکوفایی جلبک‌های مضر یک پدیده جهانی است و شواهد نشان داده است که این پدیده خطرات جدی برای سلامت انسان، آبزی پروری، شیلات و اکوسیستم‌های آبی دارد بدلیل اثرات شدیدی که داینوفلاژلاها و پدیده کشند بر روی اقتصاد و سلامت همگانی دارد بررسی‌هایی در زمینه کنترل این شکوفایی صورت گرفته است (Verlecar و Desai، ۲۰۰۴). یکی از راهکارهایی که در این تحقیق جهت کنترل شکوفایی و کاهش اثرات آن مورد آزمایش قرار گرفت کنترل فیزیکی از طریق استفاده دوغاب خاک رس بود. نتایج آنالیز واریانس چندراهه(جدول ۱) جهت بررسی اثر متقابل دو تیمار(زمان و میزان خاک رس) نشان داد که طی انجام آزمایشات بهترین کارایی بدست آمده در جلبک *C. polykrikoides* مربوط به تیمار gr/l ۱۰ و ۴ دو غاب خاک رس با میانگین ۹۹ درصد در زمان ۲۴ و ۲۰ ساعت پس از افزودن دوغاب بود، که اختلاف معنی داری بین آنها نیز مشاهده نشد (P≥۰/۰۵). نتایج این تحقیق نشان داد که

پس از تیمارهای فوق بهترین درصد کارایی دوغاب خاک رس در کمترین زمان ممکن یعنی ۲ ساعت پس از ریختن دوغاب خاک رس در غلظت gr/l ۰/۵ بود که البته با میانگین ۵۳/۳۳ درصد با تیمارهای gr/l ۱۰ و ۴ اختلاف معنی‌داری را در سطح ۹۵ درصد نشان داد (شکل ۲). مطالعات دیگری در این زمینه انجام شده که نتایجی مشابه با تحقیق حاضر نشان داده است. در سال ۲۰۰۴ مطالعه ای توسط Sengco و همکارانش به منظور کاهش و از بین بردن شکوفایی پلانکتونی انجام شد. نتایج نشان دهنده آن بود که افزودن میزان ۰/۴ گرم در لیتر دوغاب خاک رس کم ترین تأثیر بر ساختار سایر موجودات آبزی و کاهش بین ۹۹-۹۰ درصد سلول‌های جلبکی را در کوتاهترین زمان داشت. نتایج بدست آمده توسط Sengco و همکارانش اثراتی مشابه با نتایج و تأثیر تحقیق کنونی بر کاهش سلول‌های جلبکی مضر داشت. در این پژوهش جهت مقایسه درصد کارایی حذف سلول‌های جلبکی دوغاب خاک رس در هر زمان(۲۰،۴،۲ و ۲۴ ساعت) تمامی دوزها مورد آنالیز واریانس یکطرفه قرار گرفت و نتایج آن نشان داد که در زمان ۲ ساعت بیشترین درصد کارایی را تیمار gr/l ۰/۵ (۵۳/۳۳)، در زمان ۴ ساعت بیشترین درصد کارایی gr/l ۱۰ (۵۱/۶۶) ،در تیمار زمانی ۲۰ ساعت پس از پاشیدن دوغاب خاک رس بیشترین درصد کارایی مربوط به تیمار gr/l ۴ و ۱۰ (۹۹) و در زمان ۲۴ ساعت تیمار gr/l ۴ و ۱۰ (۹۹) بیشترین درصد کارایی حذف سلول‌های جلبکی را نشان دادند. که با توجه به اینکه در آنالیز واریانس چند راهه بین تیمارهای ۴ و ۱۰ گرم در لیتر در زمان ۲۰ و ۲۴ ساعت با تیمار زمانی ۲ ساعت در ۰/۰۵ گرم در لیتردوغاب اختلاف معنی دار بود اما ترجیحاً می توان از غلظت کمتر استفاده نمود که مباحث آسیب به اکوسیستم‌های آبی و موجودات بستر در نظر گرفته شود. بنابراین برای گونه‌ای مانند *C. polykrikoides* می توان در شرایط طبیعت از غلظت gr/l ۰/۵ نیز استفاده کرد. در مطالعه‌ای دیگر توسط Sengco و همکاران در سال ۲۰۰۰، از خاک رس جهت بررسی کارایی حذف سلول جلبکی استفاده شد. که ۹۹-۹۰٪ از شکوفایی جلبکی، با کم‌ترین تأثیر بر ساختار سایر موجودات آبزی، کاهش یافت. همچنین در کره‌جنوبی نیز شکوفایی جلبکی *Cochlodinium sp.* که بیش از ۲۶۰ کیلومتر را در بر گرفته بود از خاک رس زرد به میزان g/m^2 ۴۰۰ (جهت کاهش و از بین بردن شکوفایی) استفاده گردید و به میزان ۹۹-۹۰٪ از شکوفایی جلبکی تا عمق ۲ متر کاهش و شفافیت آب افزایش یافت (Sengco و Anderson، ۲۰۰۴) که مطالعات دیگر محققین هم مؤید نتایج پژوهش کنونی بودند. در این پژوهش همچنین به بررسی اثر دوغاب خاک رس بر درصد حذف سلول جلبکی بر روی گونه‌ای دیگر از داینوفلاژلاها تحت عنوان *P.quinquecorne* پرداخت در این تحقیق نتایج آنالیز واریانس چندراهه نشان دهنده آن بود که بهترین درصد کارایی دوغاب خاک رس متعلق به تیمارهای gr/l ۱۰ و ۴ با میانگین ۹۸ و ۹۹ درصد در زمان ۲۴ ساعت بود که اختلاف معنی داری نداشتند (جدول ۱ و شکل ۳)، البته تیمارهای فوق در دیگر زمان‌های مورد بررسی، درصد کارایی بالایی با میانگین ۹۶-۷۷ درصد داشتند که اختلاف معنی داری با بهترین کارایی نداشتند ($P\geq ۰/۰۵$).

مطالعه‌ای توسط دیگر محققان در این زمینه در سال ۱۹۸۳ در فیلیپین بر روی گونه *Pyrodinium bahamense* انجام شد و نتایج آن نشان دادند که با افزودن ۱ گرم در لیتر خاک رس درصد کارایی حذف سلول جلبکی بعد از ۲/۵ ساعت ۹۹ درصد شد که قرار گرفتن طولانی‌تر تا ۵ و ۲۴ ساعت افزایش معنی‌داری در حذف سلول جلبکی نشان نداد (Padilla و همکاران، ۲۰۰۶). تحقیقات فوق و

همچنین نتایج تحقیق کنونی گویای این مطب می باشد که در گونه‌های مختلف غلظت‌های متفاوتی از خاک رس می‌تواند مؤثر واقع شود و مدت زمانی که تأثیر بیشتری در حذف سلول جلبکی دارد می‌تواند متغییر باشد. همچنان که در این تحقیق نیز غلظت ۴ گرم در لیتر و پس از آن ۱۰ گرم در لیتر در مدت زمان ۲۰ تا ۲۴ ساعت اثرات بیشتری را بر کاهش تراکم سلول جلبکی مضر داشتند بنابراین بسته به نوع گونه جلبکی مضر مدت زمان اثرگذاری و غلظت دوغاب می تواند متفاوت باشد. از این رو چون نیاز به تأثیر طولانی مدت جهت کاهش تراکم سلول جلبکی مضر *P.quinquecorne* بود (با توجه به اینکه اثرات زیست محیطی آنچنانی نداشته باشد) غلظت ۴ گرم در لیتر با توجه به اینکه اختلاف معنی‌داری با غلظت ۱۰ گرم در لیتر نداشت می‌تواند مناسب باشد. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق نتیجه می شود میزان حذف سلول‌های جلبکی پس از افزودن دوغاب خاک رس مدت زمان طولانی تری نیاز داشت تا بتواند اثرگذاری بهتری جهت حذف سلول‌های جلبکی *P.quinquecorne* داشته باشد. Beaulicu و همکاران نیز در سال ۲۰۰۵ و Anderson در سال ۱۹۹۷ بیان کردند خاک رس به خاطر کارایی بالا در از بین بردن داینوفلاژلاها، ارزان و در دسترس بودن و همچنین حداقل تأثیر زیان آور بر آبزیان و محیط زیست به‌عنوان مطمئن ترین و مؤثرترین روش کنترل شکوفایی جلبکی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد در نتیجه با توجه به نتایج به‌دست آمده و همچنین مطالعاتی که توسط محققین دیگر در این زمینه انجام شد بود میزان ۰/۵ gr خاک رس پس از تیمارهای ۱۰ gr/l و ۴ دوغاب در گونه *C.polykrikoides* دارای بهترین درصد کارایی با کمترین تأثیر روی موجودات آبزی و محیط زیست اکوسیستم‌های آبی می باشد که این غلظت در گونه *P.quinquecorne* در تیمارهای ۱۰ gr/l و ۴ در زمان‌های ۲۰ و ۲۴ ساعت بوده 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 می‌باشد که ممکن است استفاده از این روش اثرات زیست محیطی جبران ناپذیری را در بر داشته باشد مانند استفاده غلظت‌های بالا خاک‌رس، که احتمال دارد بر موجودات بنتیک اثرات سویی داشته باشد (Anderson و Sengco، ۲۰۰۴). اما در نهایت نتیجه‌ای که از این پژوهش و تحقیقات دیگر بدست آمده نشان‌دهنده همسو بودن نتایج این مطالعات است و باتوجه به اینکه افزودن هر ماده خارجی به اکوسیستم طبیعی آبی ممکن است اثرات سوئ بر موجودات و محیط زیست آن اکوسیستم داشته باشد بهتر است از غلظت‌های کمتر که اختلاف اثرگذاری کمتری دارند استفاده شود. نتایج تحقیق کنونی هم گرچه اندک اختلافاتی با نتایج تحقیقات دیگر دارد بدلیل متفاوت بودن شرایط اکولوژیکی و نیز نوع خاک‌های مورد استفاده و گونه‌های مختلف از داینوفلاژلاها می‌باشد.

References

1. Moezzi, M., Rouhani Qadiklaei, K., Abdul Alian, A., Foroughi Fard, H.A. and Gharibnia, M., 2013. Study of the effect of physical, biological and chemical parameters on the growth and flowering of the flagellate Cochlodinium polkrikoides. Final report of the research project. Iran Fisheries Research Institute - Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Institute. Frost 43436. 107 p.
2. Moezzi, M., Abdul Alian, A., Foroughi Fard, H.A., Rouhani Qadiklaei, K., Gharibnia, M., Dehghani, R. and Babamkhir, Z., 2017. Study of the effect of physical, biological and chemical parameters on the growth and flowering of harmful algae. Final report of the

research project. Iran Fisheries Research Institute - Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Institute. Frost 52302. 107 pages.
3. Sengco, M.R., Tugend, K., Kulis, D. and Anderson, D.M., 2000. In: (edit).
4. Mcennulty F.R., Bax, N.J., Schaffelke, B. and Campbell, M., 2001. A review of rapid response options for the control of abwmac listed introduced marine pest species and related taxa in Australian waters. CSIRO marine research. Australia.
5. Sengco M. and Anderson, D., 2004. Controlling harmful algal blooms through clay flocculation, Journal of Eukaryotic Microbiology 51, 169-172.
6. Na, G.H., Choi, W.J. and Chun, Y.Y., 1996. A study on red tide control with loess suspension.Korian Journal of Aquaculture 9, 239-245.
7. Kim, H.G. 1997. Recent harmful algal blooms and mitigation strategies in Korea. Ocean Research 19, P.185-192.
8. Verlecar, X.N. and Desai, S.R., 2004. Phytoplankton identification manual. URI: http://drs.nio.org/drs /handle/2264/97
9. Granéli, E. and Turner, J.T., 2006. An introduction to harmful algae. In *Ecology of harmful algae* (pp. 3-7). Springer, Berlin, Heidelberg.
10. Beaulieu, S.E., Sengco, M.R. and Anderson, D.M., 2005. Using clay to control harmful algal blooms: deposition and suspension of clay/algal flocs.elsevier.com/locate/hol,17.09. 2011.P. 123-138.
11. Secher, S., 2009. Measures to control harmful algal blooms. The Plymouth Student Scientist 2(1), 212-227.
12. Anderson, D.M., Andersen, P., Bricelj, V.M., Cullen, J.J. and Rensel, J.J., 2001. Monitoring and management strategies for harmful algal blooms in coastal waters, (pp. 201-203). Unesco.
13. Gross, E. and Enevoldsen, H., 1998. October. GEOHAB: Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms. A plan for Co-ordinated Scientific Research and Co-operation to Develop International Capabilities for Assessment, Prediction and Mitigation, Report from a joint IOC. In Report from a Joint IOC/SCOR Workshop, Havreholm, Denmark, 13–17 October 1998.
14. Landsberg, J.H., 2002. The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms. Reviews in Fisheries Science 10(2), 113-390.
15. Padilla. L.V., Lourdes San Diego-McGlone, M. and Azanza. Rh.V., 2006. Preliminary Results on the Use of Clay to Control Pyrodinium Bloom-A Mitigation Strategy**.** Marine Science Institute, University of the Philippines. Science Diliman 18(1), 35-42.
16. 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. Journal of Korean Fisheries Society 31, 109-113.
17. 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*. Marine Ecology Progress Series 210, 41-53.

New Technologies in Aquaculture Development, Islamic Azad University, Azadshahr Branch
Vol. 14, No. 3, Autumn 2020

The removal efficiency harmful algal cells of clay slurry with different concentrations

M. Moezzi[1*], E. Abdolalian[1], K. Rohani Ghadikolaei[1], G.A. Akbarzadeh[1], M.S. Mortazavi[1], M.R. Zahedi[1], S. Pourmozafar[1]

[1] Pesian Gulf & Oman Sea Ecological research institute /Iranian fisheries research institute /Agriculture Research, Education & Extension organization (AREO) / bandarabbas / Iran.

Abstract

Dinoflagellates are an important group of marine phytoplankton whose blooms of some species causes great problems for marine ecosystems and aquaculture activities. The bloom due by Cochlodinium polykricoides during 2008-2009 caused severe damage to aquatic animals in the Persian Gulf and the Oman Sea. Therefore, this study was investigating the removal efficiency of algal cell with different concentrations of clay slurry (0.5, 1, 2, 4 and 10 gr/l). therfore, after separating *C.polykricoides* and *Protoperidinium quinquecorne* from seawater (with cell density of 16000-14000), by adding 50 ml of different concentrations of clay slurry, cell density Was counted after 2, 4, 20 and 24 hours. The results showed that in *C.polykricoides* microalgae, the best performance of 4 and 10 gr / l concentrations after 24 hours were 99%. So after 4 and 10 gr/l algal cells density was reduced to 53% in 0.5 gr / l and in 2 hours. The best removal effeciency in this study on *P. quinquecorne* had 99% in 4 gr / l at 24 hours, which did not show a significant difference with 4 and 10 gr / l at other times ($p \geq 0.05$). Therefore, considering that the addition of clay slurry should have the least environmental impact and damage for ecosystem and organisms, the clay slurry concentration is variable depending on the type of target species. According to the results, clay slurry concentration 4 gr/l for P.quinquecorne and 0.5 gr/l for *C.polykricoides* are recommended.

Keywords: Red Tide, *Cochlodiniom polykricoides, Protoperidinium quinquecorne*, Slurry clay, Dinoflagellate algae

[*]Corresponding author; maryammoezzi1360@gmail.com