



تأثیر زیستگاه‌های متفاوت آبی بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و
غیرفتوسنتزی، پروتئین و فعالیت آنزیم پراکسیداز در سرخس آبی
Azolla filiculoides (Lam.)

مهسا جانباز فوتمی^۱، طاهره سادات آقاخانزاده^{۲*}، ناصر جعفری^۳

تاریخ دریافت: دی ۹۶

تاریخ پذیرش: خرداد ۹۷

چکیده

رشد و نمو گیاهان آبی به عواملی مانند نور، دما، اکسیژن محلول، pH و همچنین مواد آلی و معدنی بستگی دارد. هدف از پژوهش حاضر، مطالعه برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی سرخس آبی *Azolla filiculoides* Lam. به شاخص‌های pH، هدایت الکتریکی، شوری و اکسیژن محلول در زیستگاه‌های متفاوت آبی حومه شهرستان بابلسر بود. *Azolla* از کانال آبی اطراف شالیزار و شالیزار در منطقه اجاکسر و تالاب عزیزک در ۴ تکرار و در دو رنگ سبز و قرمز جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. مطالعه شاخص‌های آب نشان داد، میزان pH در بین زیستگاه‌ها تفاوت اندک معنی‌داری داشت و شالیزار از نظر آماری دارای بالاترین میزان هدایت الکتریکی، شوری و پایین‌ترین مقدار اکسیژن محلول بود. بر اساس نتایج این مطالعه، میزان رنگدانه‌ها، پروتئین و فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر دو نوع *Azolla* در شالیزار به طور معنی‌داری نسبت به دو منطقه دیگر بیشتر بود. گرچه درصد ماده خشک، میزان پروتئین، آنتوسیانین، نیترژن و فسفر کل *Azolla* قرمز در تمام مناطق بررسی شده، به صورت معنی‌داری بیشتر از *Azolla* سبز بود که به نظر می‌رسد *Azolla* قرمز احتمالاً توانایی بالاتری به جذب عناصر ضروری و تولید ترکیبات آلی نسبت به *Azolla* سبز دارد.

واژگان کلیدی: *Azolla*، پروتئین، پراکسیداز، رنگدانه، زیستگاه آبی.

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.
 - ۲- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.
 - ۳- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.
- * نویسنده مسئول: t.aghajanzadeh@umz.ac.ir

مقدمه

کاشت، امکان کشت همزمان و مخلوط با سایر گیاهان مانند برنج، همزیستی با جلبک *Anabaena*، غنی بودن از پروتئین و افزایش تقاضا برای مواد غذایی ارگانیک باعث شده است تا سرخس *Azolla* به صورت تازه، خشک و یا سیلو شده به عنوان خوراک دام، کود سبز و کود زیستی برای افزایش باروری خاک مورد استفاده قرار گیرد (Van Hove and Lejeune, 2002; Bocchi and Malgioglio, 2010; Sadeghi et al., 2013). تا کنون *Azolla* به عنوان کود سبز برای افزایش باروری خاک در کشت بامبو، گندم و برنج استفاده شده است (Teckle-Haimanot, 1995). پژوهشگران دریافتند *Azolla* باعث افزایش ظرفیت نگهداری آب، کرین آلی، نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم خاک می شود (Singh and Singh, 1990; Ram et al., 1994; Teckle-Haimanot, 1995; Kannaiyan et al., 1999; Sharma et al., 1997). همچنین مشاهده شد که *Azolla* رشد علفهای هرز را در مزارع برنج کنترل می کند (Krock et al., 1991; Biswas et al., 2005). در سالهای اخیر *Azolla* به دلیل ارزش غذایی بالا مانند بتاکاروتن و پروتئین بالایی که دارد،

عوامل محیطی از مهم ترین مسائل تاثیرگذار در شکل گیری ساختار جوامع گیاهی و پراکنش آنها در هر ناحیه است و شناخت ارتباط بین گیاهان و عوامل محیطی در مدیریت بهتر اکوسیستمها تاثیرگذار خواهد بود (Burke, 2001). اکوسیستمهای آبی یکی از بارزترین و حیاتی ترین عناصر در چرخه های حیات است. *Azolla* نوعی سرخس آبی با برگهای کوچک و شناور و بومی مناطق معتدل، نیمه گرمسیری و گرمسیری است (Sweet and Hills, 1971) و بر روی سطح آب شالیزارهای برنج، استخرهای کوچک، کانالها، رودخانهها و لجنهای مرطوب رشد می کند (مصلی و قره یاضی، ۱۳۷۲). بر اساس گزارشهای متعدد میزان زیست توده گونه های *Azolla* در طی ۲ تا ۵ روز به دو برابر مقدار اولیه می رسد و به عنوان علفهای بسیار مهاجم شناخته شده اند (Lumpkin and Plucknett, 1982; Sculthorpe, 1985; Zimmerman, 1985; Taghi-Ganji et al., 2005). گرچه موارد مصرف متعددی برای *Azolla* وجود دارد که هر کدام به صورت مستقیم و غیرمستقیم برای انسان مفید است. به دلیل سرعت رشد بالا، تولید انبوه در واحد سطح، عدم نیاز به عملیات

حذف عناصر سنگین مانند آهن، مس، کروم، کادمیم، نیکل، سرب و روی از آب‌های آلوده و فاضلاب‌ها و همچنین برای اصلاح خاک‌های شور استفاده شده است (Jain et al., 1989; Cohen-Shoel et al., 2002; Taghi-Ganji et al., 2005; Arora et al., 2006; Raja et al., 2012).

مطالعه اثر عوامل محیطی بر رشد *Azolla* نشان داد که دمای هوا از عوامل مهم در رشد و پویایی *Azolla* در اکوسیستم‌های آبی است (Kannaiyan and Somporn, 1989). به طوری که دمای بالاتر از ۳۰ و کمتر از ۴ درجه سانتی‌گراد منجر به کاهش زیست‌توده *Azolla* می‌شود (Serag et al., 2000; Liu et al., 2008; Fernandez-Zamudio et al., 2010). همچنین در مطالعه‌ای بر روی گونه‌های مختلف *Azolla* مشخص شد افزایش دما با افزایش تولید آنتوسیانین و کاهش تولید و تجمع کلروفیل همراه بود (Zimmerman, 1985). رطوبت نسبی هوا از دیگر عوامل موثر بر رشد و تکثیر *Azolla* است. به طوری که رطوبت هوای پایین‌تر از ۶۰ درصد منجر به خشک و شکننده شدن *Azolla* می‌شود (Bocchi and Malgioglio, 2010). *Azolla* می‌تواند در pH بین ۳/۵ تا ۱۰ رشد کند (مصلی و قره‌یاضی، ۱۳۷۲). رشد مطلوب و

توجه بسیاری را به خود جلب کرده است (Cagauan and Pullin, 1994). همچنین استفاده از زیست‌توده *Azolla* به عنوان کود زیستی یا به عنوان غذای مکمل برای حیوانات آبی و خاکری به دلیل وجود پروتئین، فیبر خام و محتوای مواد معدنی، توصیه شده است (Costa et al., 1999). رجبی اسلامی و همکاران (۱۳۹۴) بر روی ترکیبات و ارزش غذایی *Azolla* وحشی و پرورشی در تالاب انزلی مطالعه کردند و به بررسی میزان رطوبت، پروتئین، چربی، خاکستر و همچنین ترکیب اسیدهای چرب *Azolla* وحشی و پرورشی به منظور کاربرد تغذیه‌ای آن برای انسان و دام پرداختند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که میزان خاکستر که به توانایی *Azolla* در ذخیره‌سازی فسفر، پتاسیم، آهن، مس و منگنز مرتبط است و پروتئین تفاوت معنی‌داری در دو شکل *Azolla* وحشی و پرورشی نداشت. اگر چه *Azolla* وحشی از سطح مناسب‌تری از چربی نسبت به آزولا پرورشی برخوردار بود (رجبی اسلامی و همکاران، ۱۳۹۴). همچنین مطالعات باباخانی و سرزراع (۱۳۹۵) نشان داد *Azolla* می‌تواند برای استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مناسب باشد. علاوه بر این، از گیاه *Azolla* به عنوان تصفیه‌کننده زیستی در

فیزیولوژی *Azolla* در دو رنگ سبز و قرمز در زیستگاه‌های متفاوت آبی شامل کانال آبی اطراف شالیزار، شالیزار در منطقه اجاکسر و تالاب عزیزک که هر سه منطقه در حومه شهرستان بابلسر قرار دارند، انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور مطالعه و بررسی تغییرات فیزیولوژیکی سرخس آبی *Azolla filiculoides* (Lam.) نمونه‌برداری از سه منطقه شامل کانال آبی راکد اطراف شالیزار و شالیزار در مناطق اجاکسر و تالاب عزیزک که هر سه منطقه در حومه شهرستان بابلسر قرار دارند به همراه نمونه آب هر منطقه در ۴ تکرار و در دو رنگ سبز و قرمز به طور همزمان در مرداد ۱۳۹۵ در ساعات بین ۱۰ تا ۱۲ ظهر انجام شد و سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه مازندران منتقل شد. پس از شستشو با آب مقطر و گرفتن آب سطحی، وزن تر هر نمونه که از پلات ۱متر در ۱ متر جمع‌آوری شد، مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. سپس تعدادی از نمونه‌ها برای تعیین شاخص‌هایی مانند پروتئین، رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a و b و کاروتنوئید)، آنتوسیانین و پراکسیداز در

تولید زیست‌توده *Azolla* می‌تواند رابطه نزدیک با عمق آب نیز داشته باشد و عمق کم آب باعث کاهش رشد *Azolla* شده، در نتیجه تولید زیست‌توده آن را کاهش می‌دهد (Biswas et al., 2005).

در میان گونه‌های *Azolla* گونه *Azolla filiculoides* Lam. یکی از شایع‌ترین مهاجمان جهانی از جمله ایران است (Barreto et al., 2000; Delnavaz and Ataei, 2009) و در چند سال گذشته بسیاری از اکوسیستم‌های آبی در ایران به ویژه در بخش شمالی توسط این سرخس آبی مورد تهاجم بوده است. Sadeghi و همکارانش (۲۰۱۳) به بررسی جامعی از اثرات برخی عوامل زیست‌محیطی بر رشد گونه *A. filiculoides* Lam. در بندر انزلی پرداختند. در این مطالعه درجه حرارت مطلوب حدود ۱۶ درجه سانتی‌گراد و متوسط رطوبت ۸۰ درصد برای رشد بهینه *Azolla* گزارش شد. همچنین آن‌ها به نقش مثبت تغذیه‌ای دو نوع ماده مهم نیترات و ارتوفسفات بر رشد *Azolla* اشاره داشتند (Sadeghi et al., 2013).

در مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر شاخص‌های شیمیایی آب مانند pH، هدایت الکتریکی، شوری و اکسیژن محلول بر

سنجش کلروفیل‌های **a** و **b** و کاروتنوئید
 برای استخراج رنگدانه‌ها به ازای هر گرم از
 نمونه برگ‌گی از ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد
 استفاده شد. سپس نمونه با همزن برقی به
 مدت ۵۰ ثانیه همگن و با استفاده از کاغذ
 واتمن شماره ۱ برای حذف نمونه‌های بزرگ
 برگ‌گی صاف و در لوله‌های آزمایش قرار داده
 شد. برای جلوگیری از تاثیر نور بر محلول
 همگن شده، لوله‌های آزمایش با فویل
 آلومینیومی پوشانده شدند. نمونه‌ها برای حذف
 قطعات ریز برگ‌گی به مدت ۲۰ دقیقه با دور
 ۳۰۰۰g سانتیفریوژ (Z206A, Hermle,
 آلمان) شدند و جذب آن‌ها با دستگاه
 اسپکتروفوتومتر (SP-2100, Spectrum, چین)
 در طول موج‌های ۴۷۰، ۴۴۶ و ۶۴۳ نانومتر
 خوانده شد. سپس میزان کلروفیل (**Chl a**) و
b و کاروتنوئید (**Crt**) بر حسب میلی‌گرم در
 گرم وزن تر گیاه با استفاده از رابطه‌های ۱ تا ۳
 محاسبه شد (Lichtenthaler, 1987).

رابطه ۱:

$$\text{Chla} = [12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645})] \times [V / (1000 \times W)]$$

A: جذب؛ V: حجم حلال (میلی‌لیتر)؛ W: وزن تر نمونه
 گیاهی (میلی‌گرم).

رابطه ۲:

$$\text{Chlb} = [12.7(A_{663}) - 4.78(A_{645})] \times [V / (1000 \times W)]$$

دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.
 همچنین تعدادی از نمونه‌ها برای سنجش ماده
 خشک گیاهی، نیتروژن و فسفر کل در آون
 (Memert, آلمان) با دمای ۸۰ درجه
 سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت.
 برای اندازه‌گیری شاخص‌های pH، هدایت
 الکتریکی، شوری و اکسیژن محلول از دستگاه
 مولتی‌متر پرتابل (AZ, 8603، تایوان) استفاده
 شد. به منظور سنجش این شاخص‌ها،
 نمونه‌های آب از هر منطقه در ۴ تکرار از داخل
 پلات‌ها و دقیقاً از محل رشد *Azolla* از عمق
 ۲۰ سانتی‌متری جمع‌آوری و به آزمایشگاه
 منتقل شد. سپس با قرار دادن الکتروود دستگاه
 مولتی‌متر در داخل نمونه آب و تنظیم دستگاه
 برای هر شاخص، میزان pH، هدایت الکتریکی
 و شوری پس از گذشت ۲ دقیقه و اکسیژن
 محلول پس از گذشت ۱۰ دقیقه از طریق
 نمایشگر دستگاه خوانده شد.

سنجش ماده خشک

برای اندازه‌گیری میزان ماده خشک سرخس
Azolla، ابتدا وزن تر و خشک نمونه با ترازو به
 دست آمد. سپس از تقسیم وزن خشک بر وزن
 تر، ضرب در ۱۰۰ میزان ماده خشک محاسبه
 شد (Mertens et al., 2004).

شدند. سپس نمونه‌ها با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شدند. عصاره به دست آمده با کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شد. پس از افزودن ۱ میلی‌لیتر معرف بارتن (آمونیم وانادات، آمونیم مولیبدات، اسید نیتریک غلیظ و آب مقطر) به ۱ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی و ظهور رنگ زرد، نمونه‌ها با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شدند. سپس جذب محلول با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. در نهایت غلظت فسفر بر اساس منحنی استاندارد KH_2PO_4 بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Chapman and Pratt, 1961).

سنجش آنتوسیانین

سنجش میزان آنتوسیانین با استفاده از روش Masukasu و همکارانش (۲۰۰۳) صورت گرفت. برای استخراج آنتوسیانین به ازای هر ۰/۲ گرم از نمونه، ۳ میلی‌لیتر متانول حاوی ۱٪ HCl استفاده شد و پس از همگن شدن کامل با همزن برقی، عصاره حاصل با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شد. سپس با دور ۶۰۰۰g به مدت ۲۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس محلول‌های رویی صاف شدند و در لوله شیشه‌ای به مدت یک شب در تاریکی و در

A: جذب؛ V: حجم حلال (میلی‌لیتر)؛ W: وزن تر نمونه گیاهی (میلی‌گرم).

رابطه ۳:

$$\text{Crt}=[7.60(A_{663})-1.49(A_{510})]\times[V/(1000\times W)]$$

A: جذب؛ V: حجم حلال (میلی‌لیتر)؛ W: وزن تر نمونه گیاهی (میلی‌گرم).

سنجش نیتروژن کل

سنجش نیتروژن گیاه به روش کج‌لدال انجام شد. پس از اضافه کردن ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ و ۶ گرم اسید سالیسیلیک به ۰/۳ گرم نمونه خشک و پودر شده گیاهی، نمونه‌ها از ۷۰-۸۰ تا ۲۸۰-۳۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند و به محض مشاهده بخارات سفید با افزودن ۵ قطره آب اکسیژنه عمل هضم انجام شد. در نهایت با استفاده از محلول استاندارد میزان نیتروژن در نمونه گیاهی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Page, 1986).

سنجش فسفر کل

پس از سوزاندن یک گرم از نمونه‌های خشک برگ پودر شده *Azolla* به مدت ۵-۶ ساعت در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد و اضافه کردن چند قطره آب مقطر و ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال، نمونه‌ها تا دمای ۷۰-۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده

تعیین شد (تمامی مراحل آزمایش در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد انجام شد). میزان غلظت پروتئین در بافت‌های گیاهی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر گیاه با استفاده از منحنی استاندارد سرم آلبومین گاوی (BSA) محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز

برای تعیین فعالیت آنزیم پراکسیداز، عصاره گیاهی جداسازی شده ابتدا با دور ۱۲۰۰g در مدت زمان ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. ۶۰۰ میکرولیتر از محلول پروتئینی به همراه ۸۰ میکرولیتر معرف گایاکل (۲۲۰ میکرولیتر گایاکل به ۲ میلی‌لیتر اتانول ۱ درصد اضافه شده و سپس با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد)، ۲،۱۲۰ میلی‌لیتر بافر استخراج پتاسیم فسفات ۰/۱ مولار و ۲۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ترکیب شد و پس از گذشت ۱ دقیقه میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد (Nakano and Asada, 1981).

تحلیل آماری

برای مقایسه میانگین تیمارها، از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (One-way)

دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس جذب آن‌ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. غلظت آنتوسیانین (Ant) بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر با استفاده از رابطه ۴ محاسبه شد (Masukasu et al., 2003).

رابطه ۴:

$$\text{Ant} = [(A_{550} / 3300) \times 1000] / 0.6$$

سنجش پروتئین

سنجش میزان پروتئین با استفاده از روش Bradford (۱۹۷۶) صورت گرفت. برای سنجش پروتئین ابتدا مطابق با وزن نمونه به ازای هر گرم نمونه تازه گیاهی، ۱۰ میلی‌لیتر بافر استخراج فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار استفاده شد. عصاره به دست آمده پس از صاف شدن با کاغذ واتمن شماره ۱ به مدت ۲۵ دقیقه با دور ۱۶۰۰۰g سانتریفیوژ شد. قسمتی از عصاره به دست آمده برای سنجش فعالیت آنزیمی جدا و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و قسمتی دیگر برای سنجش پروتئین مورد استفاده قرار گرفت که به آن ۰/۴ میلی‌لیتر معرف بردفورد افزوده شد و پس از گذشت زمان ۱۰ دقیقه، جذب پروتئین با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر

(ANOVA) و پس‌آزمون توکی در سطح اطمینان ۹۹٪ (P<۰/۰۱) استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Office Excel 2007 استفاده شد.

نتایج

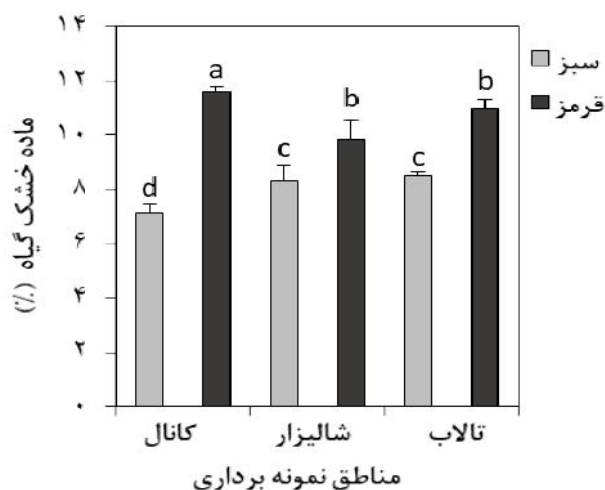
مطالعه شاخص‌های فیزیوشیمیایی آب در هر سه محیط رشد آبی *Azolla* سبز و قرمز نشان داد که محدوده pH در همه مناطق حدود ۷-۸ بود. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان pH در شالیزار بین مناطق رشد *Azolla* سبز و قرمز مشاهده نشد. در حالی که میزان pH در منطقه رشد آبی *Azolla* قرمز از نظر آماری اندکی بیشتر از منطقه رشد آبی *Azolla* سبز در هر دو منطقه کانال و تالاب بود (جدول ۱). هدایت الکتریکی در شالیزار بیشتر از مناطق دیگر بود، به طوری که میزان هدایت الکتریکی آن تقریباً دو برابر منطقه تالاب و ۱/۳ برابر منطقه کانال بود. همچنین تفاوت معنی‌داری در میزان هدایت الکتریکی بین مناطق رشد *Azolla* سبز و قرمز

در منطقه شالیزار و تالاب مشاهده نشد (جدول ۱). بیشترین میزان شوری به طور معنی‌دار مربوط به شالیزار بود. نتایج نشان داد که میزان شوری در منطقه رشد *Azolla* سبز و قرمز در منطقه شالیزار تفاوت معنی‌داری نداشت. در حالی که تفاوت میزان شوری بین منطقه رشد *Azolla* سبز و قرمز در منطقه کانال معنی‌دار بود (جدول ۱). از بررسی میزان اکسیژن محلول می‌توان دریافت که کمترین میزان اکسیژن محلول مربوط به منطقه شالیزار و حدود ۵۰ درصد کمتر از سایر مناطق بود. همچنین میزان اکسیژن محلول بین مناطق رشد *Azolla* سبز و قرمز در مناطق مختلف تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول ۱). درصد ماده خشک گیاه در هر سه منطقه مورد مطالعه نشان داد که *Azolla* قرمز دارای ماده خشک بیشتری از نظر آماری نسبت به *Azolla* سبز بود، همچنین نتایج نشان داد که تفاوت بین ماده خشک *Azolla* سبز و قرمز در منطقه کانال بیشتر از تفاوت ماده خشک *Azolla* سبز و قرمز در مناطق شالیزار و تالاب بود (شکل ۱).

جدول ۱: میزان شاخص‌های فیزیکوشیمیایی در محیط‌های رشد آبی *Azolla* سبز و قرمز در مناطق مختلف نمونه برداری (میانگین \pm انحراف معیار)

تالاب	شالیزار	کانال	رنگ <i>Azolla</i>	
$7/48 \pm 0/04^b$	$7/77 \pm 0/12^a$	$7/24 \pm 0/03^d$	سبز	pH
$7/75 \pm 0/04^a$	$7/74 \pm 0/04^a$	$7/34 \pm 0/02^c$	قرمز	
$1/19 \pm 0/01^d$	$2/02 \pm 0/01^a$	$1/46 \pm 0/01^c$	سبز	هدایت الکتریکی (ds/m)
$1/11 \pm 0/02^d$	$2/04 \pm 0/01^a$	$1/72 \pm 0/00^b$	قرمز	
$0/66 \pm 0/01^c$	$1/01 \pm 0/01^a$	$0/82 \pm 0/01^b$	سبز	شوری (ppt)
$0/65 \pm 0/01^c$	$1/10 \pm 0/01^a$	$0/50 \pm 0/01^d$	قرمز	
$4/4 \pm 0/2^a$	$2/6 \pm 0/1^c$	$3/6 \pm 0/2^b$	سبز	اکسیژن محلول (mg/L)
$4/2 \pm 0/2^a$	$2/1 \pm 0/6^c$	$4/1 \pm 0/2^a$	قرمز	

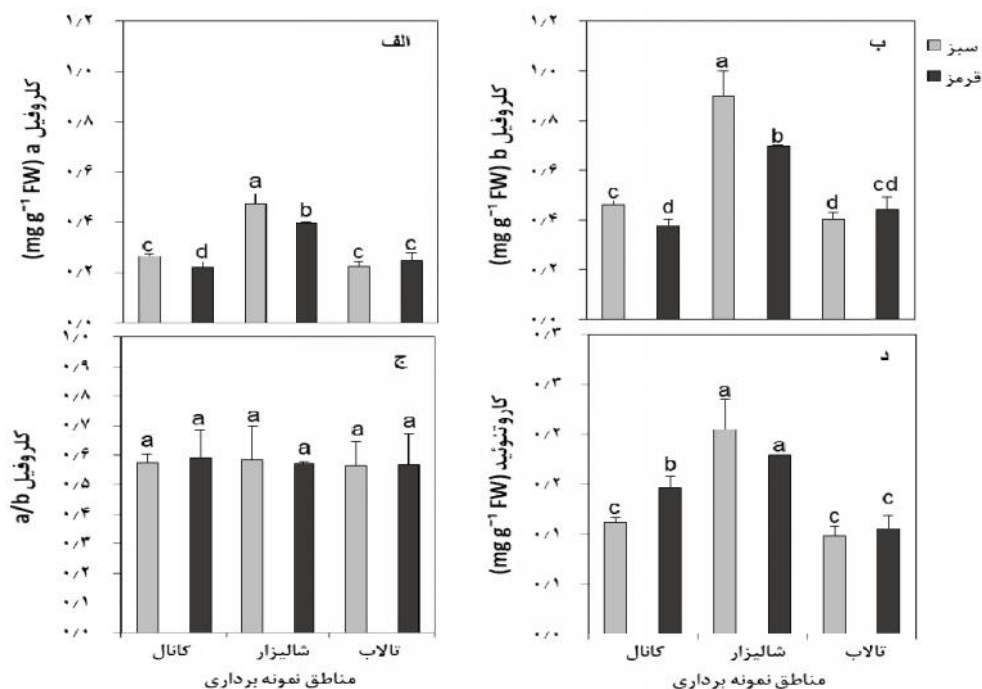
حروف غیرمشترک برای هر شاخص فیزیکوشیمیایی در هر دو نوع *Azolla* سبز و قرمز نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار است ($P < 0/01$).



شکل ۱: درصد ماده خشک *Azolla* سبز و قرمز در مناطق مختلف نمونه برداری (میانگین \pm انحراف معیار). حروف غیرمشترک بر روی ستون‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار است ($P < 0/01$).

شالیزار میزان کلروفیل a و b در *Azolla* سبز به ترتیب ۱۵ و ۲۰ درصد بیشتر از *Azolla* قرمز و از نظر آماری معنی‌دار بود. در حالی که میزان کاروتنوئید بین *Azolla* سبز و قرمز در منطقه شالیزار تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. نسبت کلروفیل a به b در هر سه منطقه و همچنین بین *Azolla* سبز و قرمز در هر منطقه یکسان بود و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد (شکل ۲).

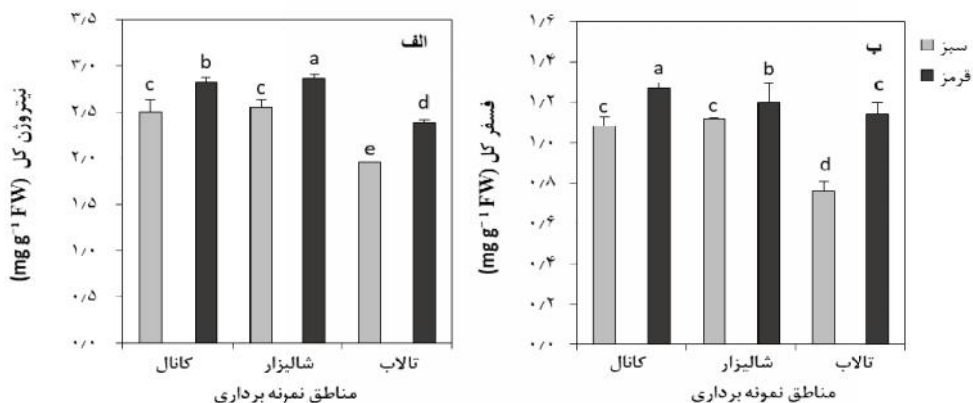
نتایج به دست آمده از سنجش میزان کلروفیل نشان داد که میزان کلروفیل a و b در منطقه شالیزار به طور کلی از مناطق کانال و تالاب بیشتر بود که با افزایش میزان شوری در منطقه شالیزار مطابقت داشت. همانند کلروفیل a و b، میزان کاروتنوئیدها نیز در منطقه شالیزار از مناطق کانال و تالاب به طور معنی‌داری بیشتر بود که با افزایش میزان شوری در منطقه شالیزار مطابقت داشت. همچنین در منطقه



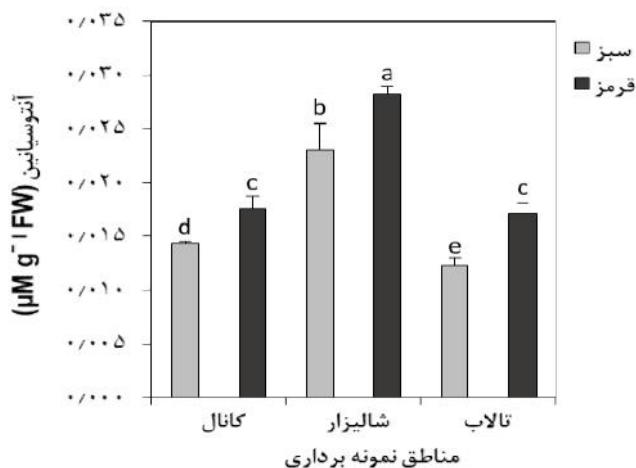
شکل ۲: میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی *Azolla* سبز و قرمز در مناطق مختلف نمونه‌برداری (میانگین \pm انحراف معیار). الف) میزان کلروفیل a، ب) میزان کلروفیل b، ج) نسبت کلروفیل a به b، د) میزان کاروتنوئید. حروف غیرمشترک بر روی ستون‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.01$).

نتایج نشان داد که میزان نیتروژن کل در *Azolla* قرمز در تمام مناطق از نظر آماری بالاتر از *Azolla* سبز بود. میزان نیتروژن کل در *Azolla* قرمز مناطق کانال، شالیزار و تالاب به ترتیب ۱۱، ۱۱ و ۱۰ درصد از *Azolla* های سبز این مناطق بیشتر بود (شکل ۳). همچنین با توجه به نمودار فسفر می‌توان دریافت که میزان فسفر در *Azolla* های قرمز هر منطقه نسبت به *Azolla* سبز همان منطقه از نظر آماری بیشتر است. میزان فسفر کل در *Azolla* قرمز مناطق کانال، شالیزار و تالاب به ترتیب

۱۴، ۶ و ۳۳ درصد از *Azolla* های سبز این مناطق بیشتر بود. میزان فسفر کل در *Azolla* سبز مناطق کانال و تالاب، ۳۰ درصد بیشتر از میزان فسفر کل در *Azolla* سبز منطقه تالاب بود (شکل ۳).
میزان آنتوسیانین در *Azolla* قرمز در تمام مناطق از نظر آماری بالاتر از *Azolla* سبز بود. همانند کلروفیل a، b و کاروتنوئید، به طور کلی میزان آنتوسیانین در *Azolla* قرمز و سبز در منطقه شالیزار از نظر آماری بالاتر از دو منطقه دیگر بود (شکل ۴).



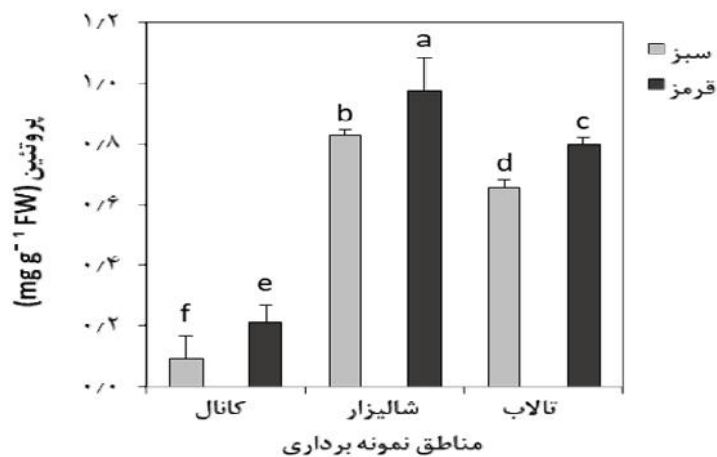
شکل ۳: میزان مواد معدنی در *Azolla* سبز و قرمز در مناطق مختلف نمونه برداری. (میانگین \pm انحراف معیار). الف) میزان نیتروژن کل. ب) میزان فسفر کل. حروف غیرمشترک بر روی ستون‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).



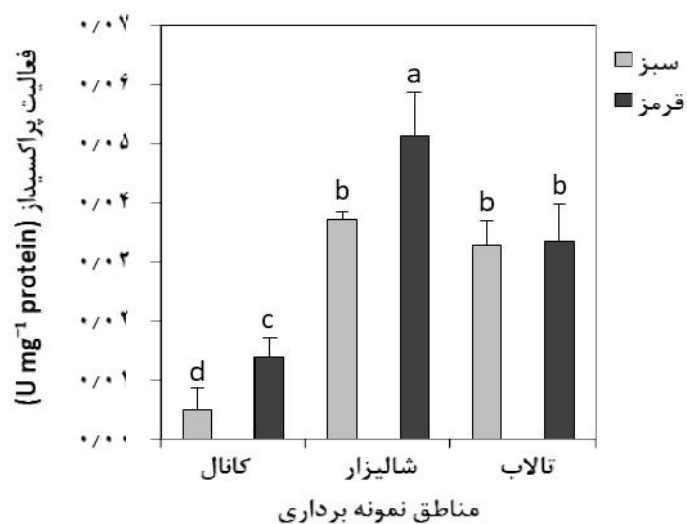
شکل ۴: میزان آنزوسیانین *Azolla* سبز و قرمز در مناطق مختلف نمونه برداری (میانگین ± انحراف معیار). حروف غیرمشترک بر روی ستون‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار است ($P < 0.01$).

بالاتر از *Azolla* سبز بود. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در *Azolla* قرمز در منطقه شالیزار، ۵ و ۱/۵ برابر بیشتر از فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب در *Azolla* قرمز منطقه کانال و تالاب بود. بیشترین تفاوت در میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز بین *Azolla* سبز و قرمز مربوط به منطقه کانال و شالیزار بود و در منطقه تالاب بین *Azolla* سبز و قرمز از نظر آماری تفاوت معنی داری وجود نداشت (شکل ۶).

طبق آزمایش انجام شده در مطالعه حاضر، بیشترین میزان پروتئین مربوط به منطقه شالیزار و کمترین آن نیز مربوط به منطقه کانال بود. در هر سه منطقه بین *Azolla* های سبز و قرمز از نظر آماری تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت و در هر سه منطقه میزان پروتئین در *Azolla* قرمز از نظر آماری بیشتر از *Azolla* سبز بود (شکل ۵). نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم پراکسیداز در *Azolla* قرمز در تمام مناطق مساوی یا



شکل ۵: میزان پروتئین *Azolla* سبز و قرمز در مناطق مختلف نمونه برداری (میانگین \pm انحراف معیار). حروف غیرمشترک بر روی ستون‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار است ($P < 0.01$).



شکل ۶: میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز *Azolla* سبز و قرمز در مناطق مختلف نمونه برداری (میانگین \pm انحراف معیار). حروف غیرمشترک بر روی ستون‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار است ($P < 0.01$).

بحث

شالیزار بود که می‌تواند ناشی از افزایش یون‌های مختلف مانند کلرید، سولفید و کربنات به واسطه اضافه کردن مستقیم کودهای مختلف کشاورزی باشد، البته به واسطه کم بودن جریان آب، تبخیر نسبی آب و یا راه‌یابی نمک‌های محلول از رودخانه‌های مجاور نیز میزان هدایت الکتریکی شالیزار افزایش می‌یابد (عباسپور و همکاران، ۱۳۹۶). به همین ترتیب در مطالعه حاضر هدایت الکتریکی در منطقه شالیزار از نظر آماری بیشتر از مناطق دیگر بود. شاخص اکسیژن محلول در آب به عنوان یک شاخص مهم در رابطه با شرایط زندگی گیاهان آبری اهمیت پیدا می‌کند. اکسیژن محلول در آب با افزایش دما، کاهش میزان بارندگی و به تبع آن افزایش میزان املاح در آب، کاهش می‌یابد (عباسپور و همکاران، ۱۳۹۶). در مطالعه حاضر نیز کاهش معنی‌دار میزان اکسیژن محلول در منطقه شالیزار با افزایش معنی‌دار میزان هدایت الکتریکی و شوری در منطقه شالیزار نسبت به مناطق دیگر، همراه بود. مطالعه حاضر نشان داد که درصد ماده خشک *Azolla* قرمز در تمام مناطق مورد مطالعه بدون در نظر گرفتن شرایط متفاوت آبی محیط رشد گیاه، به طور معنی‌داری بیشتر از *Azolla* سبز بود. در واقع افزایش ماده

گیاهان به طور مداوم در معرض تنش‌های محیطی غیرزنده مانند عناصر سنگین، شوری، اشعه ماورا بنفش و درجه حرارت‌های بالا و پایین و همچنین تنش‌های زنده مانند پاتوژن‌ها و گیاهخواران قرار می‌گیرند (Amini and Ehsanpour, 2004). پاسخ به تنش‌های محیطی بستگی به نوع گیاه، مرحله رشد و توسعه گیاهی و همچنین نوع تنش و شدت آن دارد (Oliveiral et al., 2013). مکانیسم تحمل تنش‌های محیطی در گیاهان، به فرآیندهای بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و ریخت‌شناختی مختلف مرتبط است. *Azolla* توانایی رشد در pH بین ۳/۵ تا ۱۰ را دارد، اما بهترین pH برای رشد مطلوب آن‌ها ۴/۵ تا ۷ است که تقریباً همه عناصر مهم در این محدوده در دسترس گیاه هستند (Serag et al., 2000). مطالعه حاضر نشان داد که *Azolla* در تمام مناطق مورد بررسی در محدوده pH ۷ رشد یافت و تفاوت اندک معنی‌دار از نظر pH در بین زیستگاه‌های متفاوت آبی و همچنین بین مناطق رشد *Azolla*‌های سبز و قرمز در هر منطقه نشان دهنده تاثیر اندک pH بر شاخص‌های فیزیولوژیکی *Azolla* بود. بیشترین مقدار هدایت الکتریکی مربوط به منطقه

رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a و b) افزایش یافت (شکل ۲). اگر چه در بسیاری از شرایط تنشی مانند افزایش میزان شوری رنگدانه‌های فتوسنتزی کاهش می‌یابد، ولی بسته به گونه گیاهی آثار افزایشی نیز مشاهده شد (Wang et al., 2001). نتایج بررسی‌های Gratani و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان داد که در مناطق تحت تنش شوری ضخامت برگ افزایش یافت و از طرف دیگر برگ‌های ضخیم، پتانسیل فتوسنتزی بیشتری داشتند که این مسئله به نوبه خود مستلزم افزایش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی از قبیل کلروفیل a و b است. از طرفی دیگر، در سطوح بالاتر شوری، سطح برگ شدیداً کاهش می‌یابد و با وجود تخریب مولکول‌های کلروفیل توسط یون‌های سدیم، احتمالاً افزایش میزان کلروفیل به علت افزایش غلظت مولکول‌های باقی‌مانده در واحد سطح برگ است (Asch et al., 2000). همانند کلروفیل a و b، میزان کاروتنوئیدها نیز در منطقه شالیزار به طور کلی در هر دو *Azolla* بیشتر از دو منطقه دیگر بود که با افزایش میزان هدایت الکتریکی، افزایش نسبی املاح و شوری در منطقه شالیزار مطابقت داشت (شکل ۲). کاروتنوئیدها گروه بزرگی از مولکول‌های ایزوپروپنوئید هستند که توسط

خشک گیاه با فعالیت بهینه فتوسنتزی و تثبیت مناسب نیتروژن در گیاه همراه است (Pabby et al., 2003). علاوه بر این، افزایش جذب و انباشتگی فسفر می‌تواند باعث افزایش تجمع کربن و نیتروژن توسط گیاه و تحریک رشد گیاه شود (Chen et al., 2010). فسفر برای انجام بسیاری از فرآیندهای متابولیکی از جمله تثبیت نیتروژن که نیازمندی بالایی به انرژی به صورت ATP دارد، ضروری است. بنابراین در نتیجه افزایش جذب و تجمع فسفر، تثبیت نیتروژن در گیاه تحریک می‌شود (Ahern et al., 2008). همان طوری که در مطالعه حاضر انباشتگی معنی‌دار بالای فسفر و نیتروژن در *Azolla* قرمز نسبت به *Azolla* سبز دیده شد (شکل ۳). پژوهشگران دریافتند که کودهای فسفوری فعالیت آنزیم نیتروژناز و فعالیت آنزیم‌های تقویت کننده نیتروژناز (آنزیم‌های تولید کننده گلوتامات) را در گیاه ماشک (*Vicia*) به طور معنی داری افزایش داد و بدین ترتیب باعث افزایش تثبیت نیتروژن و در نتیجه رشد ماشک شد (Andrew and Johnson, 1976).

در منطقه شالیزار که میزان هدایت الکتریکی و شوری نسبی از نظر آماری بالاتر از سایر مناطق مورد مطالعه بود، میزان

سبز و قرمز افزایش یافت. در بررسی تنش شوری بر روی برگ گیاه توت فرنگی وحشی (Garriga et al., 2014)، سیبزمینی (Watkinson et al., 2006) و گیاه *Cistus clusii* (Hernandez et al., 2004) افزایش آنتوسیانین در شوری بالا گزارش شده است که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. آنتوسیانین یکی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است که نه تنها رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برد، بلکه از تولید بیشتر آن‌ها در گیاه جلوگیری می‌کند. گیاهان با تولید و تجمع آنتوسیانین در لایه‌های اپیدرمی می‌توانند باعث کاهش اثر تنش اکسیداتیو شوند (Hare and Cress, 2007).

تنش‌ها ممکن است باعث تولید پروتئین‌های متعددی در گیاهان مختلف شوند. پروتئین‌های تجمع یافته در گیاه در شرایط تنشی شدید ممکن است در تنظیم فشار اسمزی ایفای نقش کنند و یا این که به عنوان منبعی از نیتروژن عمل کنند (Ashraf and Harris, 2004). افزایش تولید پروتئین هم در جو مقاوم به شوری، آفتابگردان، برنج و ارزن که در معرض تنش شوری قرار گرفته بودند، گزارش شده است (Uma et al., 1995). در مطالعه حاضر نیز میزان پروتئین در هر دو *Azolla* رشد یافته در منطقه شالیزار که میزان هدایت

تمامی اندام‌های فتوسنتزی و بسیاری از اندام‌های غیرفتوسنتزی ساخته می‌شوند (Andrew et al., 2008) با توجه به اهمیت نقش حفاظتی رنگدانه کاروتنوئید، احتمالاً گیاه با افزایش میزان کاروتنوئید در برابر شرایط تنش اکسیداتیو ایجاد شده از خود مقاومت نشان داد (Prochazkova et al., 2001). علاوه بر این که کاروتنوئیدها به عنوان رنگدانه کمکی عمل می‌کنند، به عنوان آنتی‌اکسیدان در حفاظت از بازدارندگی نوری نیز موثر هستند و با تاثیر مثبت بر روی سیالیت غشاهای تیلاکوئیدی، باعث کاهش نفوذپذیری غشا در برابر گونه‌های فعال اکسیژن در تیلاکوئیدها می‌شوند (Misra et al., 2006).

آنتوسیانین‌ها گروهی از ترکیبات فلاونوئیدی هستند که مسئول ایجاد رنگ‌های قرمز، صورتی، بنفش و آبی در بخش‌های مختلف گیاهان هستند (Fisel, 1965). آنتوسیانین به عنوان یکی از عوامل ایجاد رنگ قرمز در *Azolla* قرمز است. مطالعه حاضر نشان داد که رنگدانه آنتوسیانین در *Azolla* های قرمز رشد یافته در هر سه منطقه مورد مطالعه بیشتر از میزان آنتوسیانین در *Azolla* های سبز بود. اگرچه در منطقه شالیزار که میزان شوری بالاتر بود، میزان آنتوسیانین در هر دو نوع *Azolla*

رادیکال‌های پراکسید هستند (Shinde and Thakur, 2015). در مطالعه حاضر نیز فعالیت آنزیم پراکسیداز احتمالاً برای کاهش تنش اکسیداتیو در هر دو *Azolla* برداشت شده از منطقه زمین کشاورزی، افزایش معنی‌دار داشت.

در مجموع می‌توان گفت میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئید، پروتئین، آنتوسیانین و فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر دو *Azolla* سبز و قرمز در منطقه زمین کشاورزی با شرایط نسبتاً تنشی (افزایش معنی‌دار هدایت الکتریکی و شوری و کاهش معنی‌دار میزان اکسیژن محلول) به طور معنی‌داری بالاتر از *Azolla*‌های برداشت شده از منطقه کانال و تالاب بود. گرچه میزان درصد ماده خشک، نیتروژن، فسفر کل، پروتئین، آنتوسیانین و فعالیت آنزیم پراکسیداز در *Azolla* قرمز در هر سه منطقه مورد مطالعه به طور معنی‌داری بالاتر از *Azolla* سبز بود و احتمالاً این مسئله حکایت از توانایی بالاتر *Azolla* قرمز به جذب عناصر ضروری و تولید ترکیبات آلی نسبت به *Azolla* سبز دارد.

الکتریکی و شوری به طور معنی‌داری بالاتر از دو منطقه کانال و تالاب بود، مشاهده شد (شکل ۵). Imsande در سال ۱۹۹۷ نشان داد که تولید پروتئین در گیاه سویا تحت تاثیر عناصری مانند پتاسیم، فسفر و نیتروژن قرار دارد و استفاده بهینه از این عناصر مقدار پروتئین ذخیره‌ای را افزایش می‌دهد. افزایش معنی‌دار تولید پروتئین در *Azolla* قرمز در هر سه منطقه مورد مطالعه نسبت به *Azolla* سبز نیز احتمالاً به دلیل تجمع بالاتر نیتروژن و فسفر در *Azolla* قرمز نسبت به *Azolla* سبز بود (شکل ۳).

بزی و همکاران (۱۳۸۶) گزارش کردند که شوری می‌تواند سبب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند سوپراکسید، هیدروژن پراکسیداز و رادیکال‌های هیدروکسیل درون سلول شود. این ترکیبات خسارت زیادی را از طریق اکسیداسیون چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک به سلول وارد می‌کنند. پراکسیدازها نقش مهمی را در شرایط تنش اکسیداتیو دارا هستند و مسئول کاهش آسیب‌های اکسیداتیو بر غشای پلاسمایی از طریق خنثی کردن

منابع

- وحشی و پرورش. نشریه توسعه آبزی پروری، ۹(۲): ۴۵-۵۶.
- عباسپور م.، جاوید ا. ح.، ماشینچیان ع. و حبیبی ا. ۱۳۹۶. مطالعه برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب رودخانه خرسان و بررسی روابط آماری بین خصوصیات یاد شده. فصلنامه علوم و تکنولوژی محیط زیست، ۱۹(۳): ۱-۱۵.
- مصلی ص. و قره‌یاضی ب. ۱۳۷۲. تاثیر کشت آزولا بر روی ثبات خاکدانه‌ها. گزارش طرح پژوهشی مصوب در شورای پژوهشی دانشگاه گیلان، ۹: ۱-۱۵.
- Ahern K.S., Ahern C.R. and Udy J.W. 2008.** In situ field experiment shows *Lyngbya majuscula* (cyanobacterium) growth stimulated by added iron, phosphorus and nitrogen. *Harmful Algae*, 7(4): 389-404.
- Amini F. and Ehsanpour A.A. 2004.** Selection of salt tolerant cell lines from cell suspension cultures of alfalfa (*Medicago sativa*). *Iranian International Journal of Science*, 5(2): 145-150.
- Andrew C.S. and Johnson A.D. 1976.** Effect of calcium, pH and nitrogen on the growth and chemical composition of some tropical and temperate pasture legumes. II. Chemical composition (calcium, nitrogen, potassium, magnesium, sodium and phosphorus). *Australian Journal of Agricultural Research*, 27(5): 625-636.
- Andrew J.S., Moreau H., Kuntz M., Pagny G., Lin C., Tanksley S. and McCarthy J. 2008.** An investigation of carotenoid biosynthesis in *Coffea canephora* and *Coffea arabica*. *Journal of Plant Physiology*, 165: 1087-1106.
- Arora A., Sexana S. and Sharma D.K. 2006.** Tolerance of phytoaccumulation of chromium by three *Azolla* species. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22: 97-100.
- Asch F., Dingkuhn M. and Droffling K. 2000.** Salinity
- باباخانی آ. و سرزارع، ا. ۱۳۹۵. بهینه‌سازی استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گیاه آزولا *Azolla filiculoides* فصلنامه علوم و فنون شیلات، ۱۵(۱): ۱۱۷-۱۳۰.
- بزی ص.، حیدری م.، مهدی‌نژاد ن. و عباسی ف. ۱۳۸۶. بررسی سطوح مختلف شوری بر تنظیم‌کننده‌های اسمزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دو رقم سورگوم. علوم و فنون شالیزاری و منابع طبیعی، ۱۲(۴۶): ۹-۱۷.
- رجبی اسلامی ه.، وارسته موخر گ.، عصاره ر.، خوانساری م. ۱۳۹۴. مقایسه ترکیبات و ارزش غذایی آزولا (*Azolla filiculoides*)

- increases CO₂ assimilation but reduces growth in field growth irrigated rice. *Plant and Soil*, 218: 1–10.
- Ashraf M. and Harris P.J.C. 2004.** Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, 166(1): 3–16.
- Barreto R., Charudattan A., Pomella A. and Hanada R. 2000.** Biological control of neotropical aquatic weeds with fungi. *Crop Protection*, 19: 697–703.
- Biswas M., Parveen S., Shimozawa H. and Nakagoshi N. 2005.** Effects of *Azolla* species on weed emergence in a rice paddy ecosystem. *Weed Biology and Management*, 5: 176–183.
- Bocchi S. and Malgioglio A. 2010.** *Azolla-Anabaena* as a biofertilizer for rice paddy fields in the Po Valley, a temperate rice area in northern Italy. *International Journal of Agronomy*, 2010: 1–5 (152158).
- Bradford M.M. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2): 248–254.
- Burke A. 2001.** Classification and ordination of plant communities of the Naukluft Mountains, Namibia. *Journal of Vegetation Science*, 12(1): 53–60.
- Cagauan A.G. and Pullin R.S.V. 1994.** *Azolla* in aquaculture: Past, present and future. P: 104–130. In: Muir J.F. and Roberts R.J. (Eds.). *Recent Advances in Aquaculture*, Blackwell Science Ltd, Oxford.
- Chapman H.D. and Pratt F.P. 1961.** Ammonium vandate-molybdate method for determination of phosphorus. P: 184–203. Chapman H.D. and Pratt F.P. (Eds.). *Methods of analysis for soils, plants and water*. California University, USA.
- Chen W., Hou Z., Wu L., Liang Y. and Wei C. 2010.** Effects of salinity and nitrogen on cotton growth in arid environment. *Plant and Soil*, 326(1-2): 61–73.
- Cohen-Shoel N., Barkay Z., Ilzyer D., Gilath I. and Tel O.R. 2002.** Bio-filtration of toxic elements by *Azolla* biomass. *Water, Air and Soil Pollution*, 135: 93–104.
- Costa M.L., Santos M.C.R. and Carrapico F. 1999.** Biomass characterization of *A. filiculoides* grown in natural ecosystems and wastewater. *Hydrobiologia*, 415: 323–327.
- Delnavaz B. and Ataei A. 2009.** Alien and exotic *Azolla* in northern Iran. *African Journal of Biotechnology*, 8: 187–190.
- Fernandez-Zamudio R., Garcia-Murillo P. and Cirujano S. 2010.** Germination characteristics and sporeling success of *A. filiculoides*

- Lam. an aquatic invasive fern, in a Mediterranean temporary wetland. *Aquatic Botany*, 93: 89–92.
- Fisel J. 1965.** Kampferol, quercetin und isorhamnetin aus grünen blättern von *Ginkgo biloba* L. *Naturwissenschaften*, 52(21): 592–592.
- Garriga M., Jorge B., Retamales S., Bravo P., Caligari D. and Gustavo A. 2014.** Chlorophyll, anthocyanin, and gas exchange changes assessed by spectroradiometry in *Fragaria chiloensis* under salt stress. *Journal of Integrative Plant Biology*, 56: 505–512.
- Gratani L., Crescente M.A. and Petrucci M. 2000.** Relationship between leaf life-span and photosynthetic activity of *Quercus ilex* in polluted urban areas (Rome). *Environmental Pollution*, 110(1): 19–28.
- Hare P.D. and Cress W.A. 2007.** Metabolic implications of stress-induced accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*, 21: 79–103.
- Hernandez I., Alegre L. and Munne-Bosch S. 2004.** Drought-induced changes in flavonoids and other low molecular weight antioxidants in *Cistus clusii* grown under Mediterranean field conditions. *Tree Physiology*, 24(11): 1303–1311.
- Imsande J. 1997.** Nitrogen deficiency during soybean pod fill and increase plant biomass by rapid N₂ fixation. *European Journal of Agronomy*, 8: 1–11.
- Jain S.K., Vasudevan P. and Jha N.K. 1989.** Removal of some heavy metals from polluted water by aquatic plants: Studies on duckweed and water valvet. *Biological Wastes*, 28: 115–126.
- Kannaiyan S. and Somporn C. 1989.** Effect of high temperature on growth, nitrogen fixation, and chlorophyll content of five species of *Azolla-Anabaena* symbiosis. *Biology and Fertility Soils*, 7: 168–172.
- Kannaiyan S., Arun S.J., Kumari S.M.P. and Hall D.O. 1997.** Immobilized cyanobacteria *A. azollae*- A symbiont of *Azolla* as a biofertilizer for rice crops. *Journal of Applied Phycology*, 7: 1–9.
- Krock T., Alkamper J. and Watanabe I. 1991.** *Azolla* contribution to weed control in rice cultivation. *Pl. Journal of Research and Development*, 34: 117–129.
- Lichtenthaler H.K. 1987.** Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148: 350–382.
- Liu X., Min C., Xia-Shi L. and Chungchu L. 2008.** Research on some functions of *Azolla* in

- CELSS system. *Acta Astronautica*, 63: 1061–1066.
- Lumpkin T.A. and Plucknett D.L. 1982.** *Azolla* as a Green Manure: Use and Management in Crop Production. Westview Press, USA. 230P.
- Masukasu H., Karin O. and Kyoto H. 2003.** Enhancement of anthocyanin biosynthesis by sugar in radish (*Raphanus sativus*) Hypocotyls, 548–560.
- Mertens D.R., Bolton K. and Jorgensen M. 2004.** Measure dry matter routinely using a food dehydrator. P: 49–52. In: Madison W.I. (Ed.). US Dairy Forage Research Summary. IACUC, USA.
- Misra A.N., Latowski D. and Strzalka K. 2006.** The xanthophyll cycle activity in kidney bean and cabbage leaves under salinity stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 53(1): 102–109.
- Nakano Y. and Asada K. 1981.** Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5): 867–880.
- Oliveiral V.P., Marques E.C., Lacerda C.F., Prisco J.T. and Gomes Filho E. 2013.** Physiological and biochemical characteristics of *Sorghum bicolor* and *Sorghum sudanense* subjected to salt stress in two stages of development. *African Journal of Agricultural Research*, 8 (8): 660–670.
- Pabby A., Prasanna R. and Singh P.K. 2003.** *Azolla-Anabaena* symbiosis from traditional agriculture to biotechnology. *Indian Journal of Biotechnology*, 2: 26–37.
- Page A. 1986.** Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. Soil Science Society of America, USA. 1188 P.
- Prochazkova D., Sairam R.K., Srivastava G.C. and Singh D.V. 2001.** Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in maize leaves. *Plant Science*, 161: 765–771.
- Raja W., Rathaur P., John S.A. and Ramteke P.W. 2012.** *Azolla*: An aquatic pteridophyte with great potential. *International Journal of Biological Sciences*, 2(2): 68–72.
- Ram H., Krishna R. and Naidu M.V.S. 1994.** Effect of *Azolla* on soil properties and yield of mungbean (*Vigna radiata*). *Journal of the Indian Society of Soil Science*, 42: 385–387.
- Sadeghi R., Zarkami R., Sabetraftar K. and Van Damme P. 2013.** Application of genetic algorithm and greedy stepwise to select input variables in classification tree models for the prediction of habitat requirements of *Azolla filiculoides* (Lam.) in

- Anzali wetland, Iran. Ecological Modelling, 251: 44–53.
- Sculthorpe C.D. 1985.** The Biology of Aquatic Vascular Plants. Edward Arnold, London. 610P.
- Serag M.S., El-Hakeem A., Badway M. and Mousa M.A. 2000.** On the ecology of *A. filiculoides* Lam. in Damietta District, Egypt. Limnologica, 30: 73–81.
- Sharma M.P., Singh R. and Singh R. 1999.** Effect of *Azolla* on wheat (*Triticum aestivum*) yield and soil properties. Indian Journal of Agricultural Science, 69: 55–57.
- Shinde B.P. and Thakur J. 2015.** Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on chlorophyll, proteins, proline and total carbohydrates content of the pea plant under water stress condition. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 4(1): 809–821.
- Singh A.L. and Singh P.K. 1990.** Intercropping of *Azolla* bio fertilizer with rice at different crop geometry. Tropical Agriculture, 67: 350–354.
- Sweet A. and Hills L.V. 1971.** A study of *Azolla pinnata* R. Brown. American Fern Journal, 61(1): 1–13.
- Taghi-Ganji M., Khosravi M. and Rakhshae R. 2005.** Biosorption of Pb (2I), Cd (2I), Cu (2I) and Zn (II) from the wastewater by treated *A. filiculoides* with H₂O₂/MgCl₂. International Journal of Environmental Science and Technology, 14: 265–271.
- Teckle-Haimanot E.V.D. 1995.** Comparison of *Azolla mexicana* and N and P fertilization on paddy taro (*Colocasia esculenta*) yield. Tropical Agriculture, 72: 70–72.
- Uma S., Prasad T.G. and Kumar M.U. 1995.** Genetic variability in recovery growth and synthesis of stress proteins in response to polyethylene glycol and salt stress in finger millet. Annals of Botany, 76(1): 43–49.
- Van Hove C. and Lejeune A. 2002.** The *Azolla-Anabaena* symbiosis. Biology and Environment, 102: 23–26.
- Wang D., Shannon M.C. and Grieve C.M. 2001.** Salinity reduces radiation absorption and use efficiency in soybean. Field Crops Research, 69: 267–277.
- Watkinson J.I., Hendricks L., Sioson A.A., Vasquez-Robinet C., Stromberg V., Heath L.S. and Grene R. 2006.** Accessions of *Solanum tuberosum* ssp. andigena show differences in photosynthetic recovery after drought stress as reflected in gene expression profiles. Plant Science, 171(6): 745–758.
- Zimmerman W.J. 1985.** Biomass and pigment production in three isolates of *Azolla*. II. Response to light and temperature stress. Annals of Botany, 56: 701–709.



The effect of different aquatic habitats on photosynthetic and non-photosynthetic pigments, protein and peroxidase enzyme activity in *Azolla filiculoides* Lam.

Mahsa Janbaz Footmi¹, Tahereh Sadat Aghajanzadeh^{2*}, Naser Jafari³

Received: January 2018

Accepted: June 2018

Abstract

The growth and development of aquatic plants depends to environmental factors such as light, temperature, dissolved oxygen, pH, organic and mineral materials. The purpose of this study was to investigate some physiological responses of *Azolla filiculoides* Lam. to the pH, electrical conductivity, salinity and dissolved oxygen in different aquatic habitats of Babolsar city. *Azolla* in green and red colors was collected from the canal around the rice field and rice field in Ojaksar area and Azizak wetland in four replicates and transferred to the laboratory. The study of water parameters showed the pH level among the habitats was slightly but significantly different and the rice field had significantly higher electrical conductivity, salinity and lower soluble oxygen content than the other habitats. The results showed the content of pigments, protein and peroxidase activity in both *Azolla* collected from rice field were significantly higher than those of other two habitats. Although the percentage of dry matter, protein, anthocyanin, total nitrogen and phosphorus content of red *Azolla* in all tree habitats were significantly higher than the green *Azolla* and it seems the red *Azolla* has probably a higher ability to absorb the essential elements and synthesize organic compounds than the green *Azolla*.

Key words: *Azolla*, Protein, Peroxidase, Pigment, Aquatic Habitat.

1- M.Sc. Student in Plant Science, Department of Biology, Faculty of Basic Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.

2- Assistant Professor in Department of Biology, Faculty of Basic Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.

3- Associate Professor in Department of Biology, Faculty of Basic Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.

*Corresponding Author: t.aghajanzadeh@umz.ac.ir