

## تعیین برخی از پارامترهای موثر بر رشد و شکوفایی

### داینوفلاژله *Cochlodinium polykrikoides*

عیسی عبدالعلیان\*: کیومرث روحانی قادیکلایی؛ مریم معزی؛ حجت اله فروغی فرد؛

غلامعلی اکبرزاده؛ محمد صدیق مرتضوی؛ رضا دهقانی؛ مسعود غریب‌نیا و

فاطمه بناروی

abdolalian\_1969@yahoo.com

پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، بندرعباس صندوق پستی: ۷۹۱۶۷-۹۳۱۶۵

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۰

### چکیده

شکوفایی مضر ناشی از فیتوپلانکتون *Cochlodinium polykrikoides* که باعث تغییر رنگ در منطقه وسیعی از آبهای ساحلی خلیج فارس، ایران گردیده برای اولین بار در مرداد ماه ۱۳۸۶ مشاهده شد. این شکوفایی باعث مرگ و میر گسترده‌ای از آبزیان در خلیج فارس گردید. به منظور تعیین پارامترهای بهینه رشد، نمونه‌برداری از آبهای ساحلی صورت گرفت و نمونه‌ها پس از سازگاری در آب دریا با استفاده از ویژگی نورگرایی مثبت و با روش تکرار شستشو این گونه، جدا و خالص‌سازی گردید و به کمک محیط کشت‌های تغییر یافته با تیمارهای مختلف شوری (۳۰، ۳۲ و ۳۵ppt)، دمای (۲۰، ۲۳، ۲۶ و ۲۸ درجه سانتیگراد) و نوری (۳۵، ۷۰ و ۹۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) کشت داده شدند. نتایج نشان داد که بیشینه تراکم سلولی و رشد ویژه داینوفلاژله *C. polykrikoides* در شوری ۳۲ppt، درجه حرارت ۲۶ درجه سانتیگراد و شدت نور ۹۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه با ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی تامین شده بوسیله لامپ فلورسنت بدست آمده است. بیشینه تراکم سلولی و رشد ویژه داینوفلاژله در تانک ۶۰ لیتری بترتیب به  $۱۰^6 \times ۳۲$  سلول در میلی لیتر و  $۰/۲۸$  سلول در روز رسید. تراکم سلولی داینوفلاژله *C. polykrikoides* در تیمارهای حرارتی ۲۰، ۲۳، ۲۶ و ۲۸ درجه سانتیگراد (در شوری ۳۲ppt و نور ۹۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) بترتیب برابر با ۲۷۳۰، ۹۳۶۰، ۲۸۲۴۰ و ۱۸۰۸۰ سلول در میلی لیتر بود. نتایج آنالیز و واریانس دو طرفه نشان داده است که درجه حرارت تاثیر معنی‌داری روی میزان رشد *C. polykrikoides* داشته و به دنبال آن شوری و سپس بر همکنش درجه حرارت و شوری موثر می‌باشد.

**لغات کلیدی:** فیتوپلانکتون، شرایط اکولوژی یک، جلبک‌های مضر، خلیج فارس

## مقدمه

حیاتی را در تشکیل یا از بین رفتن شکوفایی ایفا نمایند (Nagasoie et al., 2006; Matsubara et al., 2007). برای جلوگیری از خسارت احتمالی ناشی از کشند قرمز، باید اقدام به انجام یکسری مطالعات و آزمایشاتی در جهت کنترل فیزیکی و بیولوژیکی روی آن نمود که لازم آن داشتن فیتوپلانکتون خالص و با تراکم زیاد می‌باشد. لذا بایستی به مکانیسم‌های شکوفایی و عوامل موثر بر آن که همان شرایط بهینه فیزیکی و شیمیایی رشد می‌باشد دست یافت. بنابراین هدف از انجام این مطالعه دستیابی به: شرایط بهینه دمایی براساس شرایط آب و هوایی منطقه؛ شرایط بهینه شوری براساس نوع محیط کشت تهیه شده و شرایط بهینه نوری (روشنایی) براساس شرایط جغرافیایی منطقه بود.

## مواد و روش کار

به منظور بررسی اثر فاکتورهای درجه حرارت، شوری و نور روی رشد جلبک *C. polykrikoides*، نمونه‌برداری در آبان ۱۳۸۷ از آبهای ساحلی شهرستان بندرعباس صورت گرفت. گونه خالص این جلبک در آزمایشگاه پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان با استفاده از ویژگی نورگرایی مثبت این گونه، با روش تکرار شستشو و به کمک پپت‌های نازک (Kim et al., 2004) جداسازی شده و به لوله‌های آزمایش ۱۰ میلی‌لیتری حاوی ۸ میلی‌لیتر آب دریای استریل شده و محیط کشت F/2 تغییر یافته (Guillard, 1975) به همراه مخلوطی از آنتی بیوتیک‌های مختلف که شامل آمپی سیلین (۲۰۰ میکروگرم در لیتر)، کانامایسین (۷۸۰ میکروگرم در لیتر) و (نئومایسین ۷۸۰ میکروگرم در لیتر) می‌باشد (Droop, 1967)، منتقل گردید. کشت‌های جلبکی در شرایط یکسان آزمایشگاهی نگهداری و مورد بررسی قرار گرفتند.

آزمایشات رشد، در طرح فاکتوریل با ۳۶ ترکیب مختلف شامل ۴ تیمار دمایی (۲۰، ۲۳، ۲۶ و ۲۸ درجه سانتیگراد)، ۳ تیمار شوری (۳۰، ۳۲ و ۳۵ppt) و ۳ تیمار نوری (۳۵، ۷۰ و ۹۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) صورت پذیرفت. شوری‌های کمتر از ۳۵ با افزودن آب مقطر به آب دریای فیلتر شده با استفاده از فیلتر ۱ میکرون بدست آمد (Kim et al., 2004). برای کاهش شوک ناشی از تغییرات شوری و دما، ابتدا کشت‌های حاوی فیتوپلانکتونها (استوک‌ها)، با استفاده از روش جابجایی گام به گام مطابق روش Yamaguchi و Honjo (۱۹۸۹) طی یک دوره یک

در سالهای اخیر تغییرات قابل ملاحظه‌ای از نظر تنوع گونه‌ای پلانکتون‌های گیاهی و حتی شکوفایی آنها در آبهای خلیج فارس و دریای عمان بخصوص استان هرمزگان مشاهده گردید. در بررسی‌های بعمل آمده در ارتباط با پایش شکوفایی فیتوپلانکتونی که از سال ۱۳۷۳ تا ۱۳۸۶ در منطقه صورت پذیرفت، عمده شکوفایی‌ها ناشی از بلوم گونه‌هایی مانند *Trichodesmium* sp., *Nitzschia* sp., *Noctiluca* sp., *Oscillatoria* sp. بود (Rohani-Ghadikolaie, 2001).

پدیده شکوفایی جلبکی ناشی از تولید مثل سریع پلانکتون‌های گیاهی بود که گمان می‌رود عوامل مختلفی مانند درجه حرارت، شوری و نور بعنوان فاکتورهای اصلی برای بقاء و تولید موجودات بوجود آورنده کشند قرمز دخالت داشته باشند (Sunda et al., 2006). در خلیج فارس و دریای عمان طی سالهای ۸۱-۱۳۷۰ بیش از ۳۶ بار شکوفایی جلبکی دیده شده است. در پی وقوع شکوفایی فیتوپلانکتونی (کشند قرمز) در اوایل پاییز ۱۳۸۶ در خلیج فارس و بخشی از دریای عمان که توسط داینوفلاژله تاژکدار *C. polikrikoides* از رده Dinophyceae صورت پذیرفت، باعث مرگ و میر فراوان آبزیان منطقه شد (Richlen et al., 2010).

تاکنون شکوفایی *C. polikrikoides* عامل مرگ و میر زیادی از آبزیان پرورشی در مناطق مختلف دنیا از جمله سواحل ژاپن در سال ۱۹۷۷ (Kumada et al., 1980) و ۱۹۸۶ (Yuki & Yoshimatsu, 1989)، خلیج Phosphorescent در Puerto Rico (Margalef, 1961)، خلیج کالیفرنیا در مکزیک (Garate-Du et al., 2000)، خلیج Quanshou در چین (Lizarraya et al., 1993) و گوآتمالا (Rosales-Loessener et al., 1996) بود. در کشور کره جنوبی اولین کشند قرمز ثبت شده در سال ۱۹۸۲ بود و بطور مکرر تا سال ۱۹۸۹ اتفاق افتاده است (Kim, 1998) که *C. polykrikoides* رایج‌ترین داینوفلاژله مسئول مرگ و میر ماهیان بود (Chang & Kim, 1997) و در سال ۱۹۹۵ کشند قرمز وسیعی در کره ایجاد نمود که باعث مرگ و میر در سطح وسیعی از ماهیان پرورشی شد و خسارتی تقریباً معادل ۹۵/۵ میلیون دلار به صنعت شیلات کره جنوبی وارد نمود (Kim, 1997). مطالعات آزمایشگاهی متعددی ثابت کرده که فاکتورهای محیطی مانند درجه حرارت، شوری و نور می‌توانند بطور معنی‌داری روی میزان رشد گونه‌های مضر فیتوپلانکتونی تاثیر گذاشته و همچنین نقش

که در آن: N1 و N2 تعداد سلول فیتوپلانکتونی طی روزهای کشت (t) می‌باشد.

اطلاعات و داده‌های بدست آمده در نرم‌افزار Excel وارد شده و نتایج توصیفی بصورت جدول و نمودار تهیه گردید. تحلیل آماری نتایج در برنامه SPSS و با بکارگیری آزمونهای پارامتری (آنالیز و واریانس دوطرفه و آزمونهای تفریقی Tukey) برای مقایسه داده‌ها مورد بررسی بکار رفته و سطح معنی‌دار برای داده‌ها  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

## نتایج

نتایج حاصل از بررسی میزان رشد (تراکم) داینوفلاژله ککلودینیوم در هر یک از تیمارهای انتخابی درجه حرارت و نور با شوری‌های مختلف در شکل ۱ آمده است. همانگونه که در شکل ۱ دیده می‌شود، بیشینه تراکم سلول جلبک داینوفلاژلا در شوری ۳۲ppt و نور ۹۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه و در درجه حرارت ۲۶ درجه سانتیگراد (نمودار b) بدست آمده است.

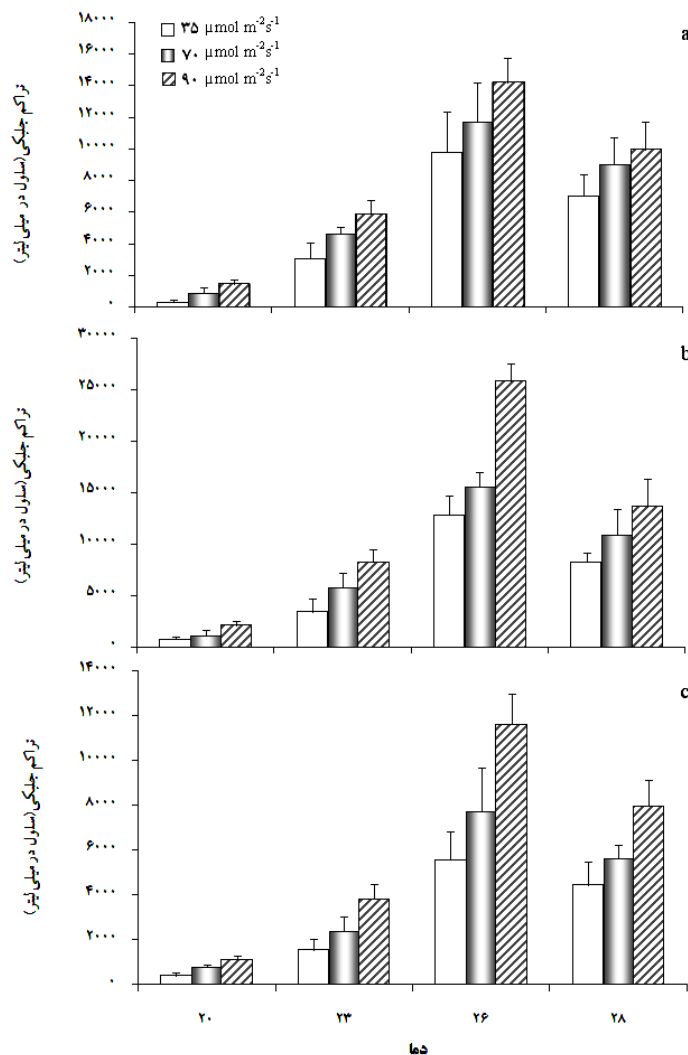
نتایج آنالیز واریانس دو طرفه جهت بررسی اثرات هر یک از تیمارها نشان داد که اثرات هر یک از تیمارهای انتخابی (دما، شوری و نور) در رشد داینوفلاژله ککلودینیوم معنی‌دار بوده است ( $P < 0.05$ ) (جدول ۱). بررسی نتایج حاصله نشان داد که بیشترین تراکم داینوفلاژله در هر یک از تیمارهای دمایی ۲۰، ۲۳، ۲۶ و ۲۸ درجه سانتیگراد بترتیب برابر با ۲۷۳۰، ۹۳۶۰، ۲۸۲۴۰ و ۱۸۰۸۰ سلول در میلی‌لیتر که در تیمار با شوری ۳۲ و نوری ۹۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه بدست آمده است. بطوریکه نتایج آنالیز واریانس نشان داد بین تیمارهایی که از نظر میزان تراکم جلبکی نسبت به سایر تیمارها از تراکم بیشتری برخوردار بوده‌اند اختلاف معنی‌داری وجود داشته است ( $P < 0.05$ ).

ماهه در شرایط آزمایشگاهی مورد نظر سازگار شدند. تیمارها در ۳ تکرار و در لوله‌های آزمایش شیشه‌ای در پوش‌دار هم اندازه (۱۰۰×۱۶ میلیمتر) حاوی ۸ میلی‌لیتر محیط کشت F/2 تغییر یافته بدون سیلیکات انجام شد (Guillard, 1975).

کلبه تیمارها با تراکم ۵۰ سلول در یک میلی‌لیتر ذخیره‌سازی شدند. برای این کار ابتدا پس از همگن‌سازی استوک و تعیین تراکم آن، با استفاده از میکرو سمپلر، حجمی از استوک را که در برگزیده تعداد مورد نظر باشد را برداشته و به آرامی به محیط جدید منتقل شدند. برای جلوگیری از تجمع در لایه بالایی ظروف کشت و لخته شدن سلول‌ها، لوله‌های آزمایش، ۲ بار در روز به آرامی تکان داده شدند (Kim et al., 2004). تیمارهای مختلف نوری توسط لامپ مهتابی فلورسنت سفید و در یک سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲- Band- Kim et al., 2004; Schmidt et al., 2004) تامین شده و میزان نور نیز بصورت روزانه با یک دستگاه نورسنج (fluorometer) مدل LX-1108 کنترل و تنظیم گردید.

پس از پایان دوره آزمایش، در شرایط کاملاً استریل و پس از همگن کردن محتویات لوله‌های آزمایش، با استفاده از میکروسمپلر، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه داخل لوله را برداشته و روی لام شمارش سدویک رافت ریخته و با استفاده از یک قطره محلول لوگل آن را تثبیت و سپس با کمک یک دستگاه میکروسکوپ اینورت TS100 و یک دستگاه شمارشگر دیجیتال LABTRON مدل LC-10 اقدام به شمارش و ثبت تعداد سلول‌های جلبکی و همچنین بررسی وضعیت جلبک از نظر تعداد سلول‌های تشکیل دهنده زنجیره گردید و در پایان با استفاده از فرمول ارائه شده توسط Guillard (۱۹۷۳) نرخ رشد روزانه تعیین گردید.

$$\mu (\text{day}^{-1}) = (\ln N_2 - \ln N_1) / (t)$$



نمودار ۱: تغییرات تراکم سلولهای *C. polykrikoides* در تیمارهای نوری و دمایی و در شوری‌های (a) ۳۰، (b) ۳۲ و (c) ۳۵ ppt  
 جدول ۱: نتایج آنالیز واریانس دو طرفه اثرات تیمارهای دما، شوری و نور در رشد داینوفلاژله *C. polykrikoides*

شوری ۳۵ppt			شوری ۳۲ppt			شوری ۳۰ppt			دما (درجه سانتیگراد)
۹۰	۷۰	۳۵	۹۰	۷۰	۳۵	۹۰	۷۰	۳۵	
(میکرومول بر مترمربع بر ثانیه	(میکرومول بر مترمربع بر ثانیه	(میکرومول بر مترمربع بر ثانیه	(میکرومول بر مترمربع بر ثانیه	(میکرومول بر مترمربع بر ثانیه	(میکرومول بر مترمربع بر ثانیه	(میکرومول بر مترمربع بر ثانیه	(میکرومول بر مترمربع بر ثانیه	(میکرومول بر مترمربع بر ثانیه	
۱۱۲۵±۱۶۶ <sup>a</sup>	۷۸۸±۱۱۵ <sup>a</sup>	۳۹۸±۱۴۴ <sup>a</sup>	۲۱۳۹±۳۵۷ <sup>a</sup>	۱۰۵۸±۵۵۴ <sup>a</sup>	۷۷۸±۲۵۳ <sup>a</sup>	۱۴۴۸±۲۷۴ <sup>a</sup>	۸۵۲±۳۴۶ <sup>a</sup>	۳۱۲±۱۰۲ <sup>a</sup>	۲۰
۳۸۵۸±۶۴۲ <sup>b</sup>	۲۳۶۷±۶۴۹ <sup>b</sup>	۱۵۴۰±۵۲۰ <sup>b</sup>	۸۲۳۸±۱۲۰۰ <sup>b</sup>	۵۸۱۷±۱۳۴۹ <sup>b</sup>	۳۴۳۸±۱۲۲۹ <sup>b</sup>	۵۸۶۲±۸۶۲ <sup>b</sup>	۴۶۳۲±۴۰۲ <sup>b</sup>	۳۰۶۰±۱۰۱۸ <sup>b</sup>	۲۳
۱۱۶۴۳±۱۳۱۳ <sup>d</sup>	۷۷۱۵±۱۹۴۷ <sup>d</sup>	۵۵۷۵±۱۲۴۹ <sup>d</sup>	۲۵۸۰۳±۱۷۴۷ <sup>d</sup>	۱۵۵۷۲±۱۳۷۲ <sup>d</sup>	۱۲۸۲۳±۱۸۲۷ <sup>d</sup>	۱۴۲۱۵±۱۵۵۷ <sup>d</sup>	۱۱۶۷۵±۲۵۰۰ <sup>d</sup>	۹۷۹۸±۲۹۵۶ <sup>d</sup>	۲۶
۷۹۶۸±۱۱۴۰ <sup>c</sup>	۵۶۵۲±۶۰۴ <sup>c</sup>	۴۴۵۲±۱۰۱۳ <sup>c</sup>	۱۳۶۳۵±۲۶۴۸ <sup>c</sup>	۱۰۹۰۵±۲۴۲۶ <sup>c</sup>	۸۲۲۸±۹۱۵ <sup>c</sup>	۹۹۴۳±۱۷۳۳ <sup>c</sup>	۹۰۱۵±۱۶۶۹ <sup>c</sup>	۷۰۰۷±۱۳۷۵ <sup>c</sup>	۲۸

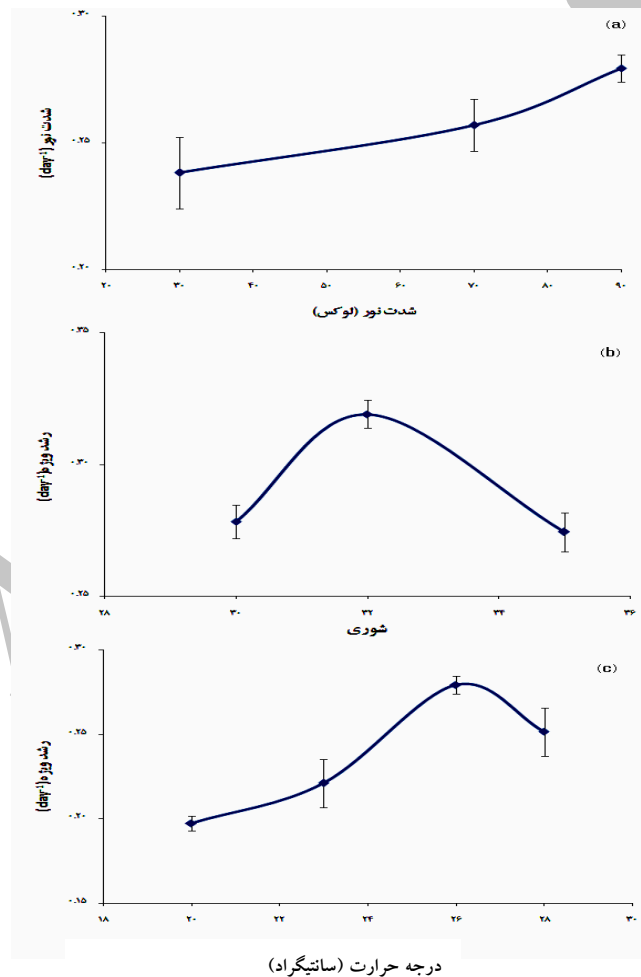
حروف غیرمشابه در هر ستون نمایانگر معنی دار بودن میانگین‌ها می‌باشد (P < 0.05).

معنی‌دار بوده است ( $P < 0.05$ ). نتایج آنالیز واریانس نشان داد که مشارکت درجه حرارت از نقطه نظر معنی‌دار بودن، بیشتر از شوری و شوری نیز بیشتر از نور بوده است (جدول ۲).

همچنین نتایج حاصل از آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد که اثرات درجه حرارت، شوری، نور و برهمکنش درجه حرارت، شوری، نور بر روی میزان رشد جلبک *C. polykrikoides*

جدول ۲: نتایج آنالیز واریانس دوطرفه تیمارهای مختلف و برهمکنش آنها

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
دما	۴۳۸۰۵۲۳۵۲/۸	۳	۱۴۶۰۱۷۴۱۱۷/۹	۸۰۳/۳	۰/۰۰۰
شوری	۸۲۷۵۳۰۷۴۲/۸	۲	۴۱۳۷۶۵۳۷۱/۴	۲۲۷/۶	۰/۰۰۰
نور	۵۹۱۶۱۳۰۷۵	۲	۲۹۵۸۰۶۵۳۷/۵	۱۶۲/۷	۰/۰۰۰
نور × شوری × دما	۸۶۹۶۹۰۴۴۴/۶	۲۸	۳۱۰۶۰۳۷۳	۱۷/۱	۰/۰۰۰
خطا	۳۲۷۲۰۷۲۴۰/۸	۱۸۰	۱۸۱۷۸۱۸	-----	-----
تغییرات کل	۱۶۷۰۳۶۷۴۳۰/۱	۲۱۶	-----	-----	-----



نمودار ۲: رشد ویژه *C. polykrikoides* در (a) شدت نورهای متفاوت (b) شوری‌های متفاوت و (c) دماهای متفاوت

نور ۹۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه بدست آمده است. بطوریکه نتایج آنالیز واریانس نشان داد بین تیمارهایی که از نظر میزان تراکم جلبکی نسبت به سایر تیمارها از تراکم بیشتری برخوردار بودند اختلاف معنی‌داری وجود داشت. نتایج مربوط آنالیز واریانس دو طرفه حاکی از معنی‌دار بودن اثرات متقابل و همزمان هر یک از تیمارهای مورد نظر بر تغییرات تراکم جلبکی بود (جدول ۲). بطوریکه نتایج حاصله نشان داد که بهترین تیمار از نظر میزان رشد جلبکی مربوط به دمای ۳۲ درجه سانتیگراد، شوری ۳۲ppt و نور ۹۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه بوده است. همچنین نتایج حاصل از آنالیز واریانس دو طرفه نشان داده است که اثرات درجه حرارت، شوری، نور و برهمکنش درجه حرارت، شوری، نور روی میزان رشد جلبک *C. polykrikoides* اختلاف معنی‌داری را نشان داده است. Zhou و Zhu (۲۰۰۶) بیان داشتند که درجه حرارت نقش اساسی و مهمی در توالی غالبیت گونه‌های فیتوپلانکتونی ایفاء می‌نمایند. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که مشارکت درجه حرارت از نقطه نظر معنی‌دار بودن، بیشتر از شوری و شوری نیز بیشتر از نور بوده است (جدول ۲). نتایج مشابهی بوسیله Kim و همکاران (۲۰۰۴) در مورد گونه مشابه بدست آمده است که درجه حرارت بیشترین تاثیر را روی میزان رشد جلبک فوق داشته است. همچنین Xu و همکاران (۲۰۱۰) نتیجه مشابهی را روی گونه *Prorocentrum donghaiense* بدست آورده‌اند.

نمودار رشد ویژه جلبک مورد نظر، نشان می‌دهد که رشد ویژه در شدت نورهای مختلف متفاوت بوده و حداکثر رشد ویژه در شدت نوری (۹۰) میکرومول بر مترمربع بر ثانیه بدست آمده است. نتایج حاصل از اثرات تیمارهای مختلف شوری بر رشد ویژه داینوفلاژله فوق به شکل منحنی زنگوله‌ای بوده و بیشینه رشد ویژه در تیمار شوری ۳۲ppt بدست آمده است. همچنین در شوری کمتر از ۳۲ppt و بیشتر از ۳۲ppt، رشد ویژه کاهش یافته است. Kim و همکاران (۲۰۰۴) بیشینه رشد ویژه جلبک *C. polykrikoides* (۰/۴۵ سلول در روز) را در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد و شوری ۳۴ppt بدست آورده است که اندکی بیشتر از نتایج بدست آمده در این تحقیق می‌باشد (۰/۲۸ سلول در روز).

نتایج حاصل از تاثیر دماهای مختلف بر رشد ویژه جلبک ککلودینیوم در نمودار ۴ نشان داده شده است. با توجه به این نمودار، بیشینه رشد ویژه در درجه حرارت ۲۶ سانتیگراد درجه بدست آمده است و در دماهای کمتر از ۲۶ و بیشتر از ۲۶ درجه سانتیگراد رشد ویژه کاهش را نشان داده است. Kim و همکاران

نمودار رشد ویژه جلبک مورد نظر، نشان داد که رشد ویژه در شدت نورهای مختلف متفاوت بوده و حداکثر رشد ویژه در شدت نوری ۹۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه بدست آمده است (شکل ۲a). نتایج حاصل از اثرات تیمارهای مختلف شوری روی رشد ویژه جلبک فوق به شکل منحنی زنگوله‌ای بوده و بیشینه رشد ویژه در تیمار شوری ۳۲ppt بدست آمد. همچنین در شوری کمتر از ۳۲ppt و بیشتر از ۳۲ppt، رشد ویژه کاهش می‌یابد (شکل ۲b). نتایج حاصل از تاثیر درجه حرارت‌های مختلف روی رشد ویژه جلبک ککلودینیوم در نشان داده شده است (شکل ۲c). با توجه به نمودار، بیشینه رشد ویژه در درجه حرارت ۲۶ درجه سانتیگراد بدست آمده است و در درجه حرارت‌های کمتر و بیشتر از ۲۶ درجه سانتیگراد رشد ویژه کاهش داشت.

## بحث

از نقطه نظر اکولوژیکی، سه ویژگی مشترک برای پدیده کشند قرمز وجود دارد. نخست افزایش اندازه جمعیت، دوم عوامل پشتیبانی کننده همچون عوامل محیطی مناسب از قبیل درجه حرارت، شوری، مواد مغذی و پارامترهای رشد و در نهایت حفظ شکوفایی و جابجایی آن بوسیله جریان‌ات باد و آب (Steidinger, 1975). نتایج حاصل از بررسی میزان رشد (تراکم) جلبک ککلودینیوم در هر یک از تیمارهای انتخابی درجه حرارت و نور با شوری‌های نشان داده است که، بیشترین تراکم سلولی در شوری ۳۲ppt و نور ۹۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه و در درجه حرارت ۲۶ درجه سانتیگراد (نمودار ۱b) بدست آمده است که نشان دهنده وابستگی شدید رشد این جلبک به مجموعه عوامل محیطی بخصوص دما و شوری آب می‌باشد بطوری که Kim و همکاران (۲۰۰۴) در آزمایشات خود به این موضوع اذعان داشته و با اندکی اختلاف به اپتیمم دمایی ۲۵ درجه سانتیگراد و شوری ۳۴ ppt رسیده‌اند که این اختلاف با توجه به شرایط خاص جغرافیایی این منطقه امری کاملاً عادی بنظر می‌رسد. نتایج آنالیز واریانس دو طرفه برای بررسی اثرات هر یک از تیمارها نشان داد که اثرات هر یک از تیمارهای انتخابی (دما، شوری و نور) در رشد جلبک ککلودینیوم معنی‌دار بوده است. بررسی نتایج حاصله نشان داد که بیشترین تراکم مشاهده شده در هر یک از تیمارهای دمایی ۲۰، ۲۳، ۲۶ و ۲۸ درجه سانتیگراد برترتیب برابر با ۲۷۳۰، ۹۳۶۰، ۲۸۲۴۰ و ۱۸۰۸۰ که سلول در یک میلی‌لیتر در تیمار با شوری ۳۲ppt و

- Chang M. and Kim W.S., 1997.** Prologue and epilogue to the first international symposium on plankton blooms. *Ocean Research*, 19:135-137.
- Droop M.R., 1967.** A procedure for routine purification of algal cultures with antibiotics. *Brit phycology Bulletin*, 3:1295-297.
- Du Q., Huang Y. and Wang X., 1993.** Toxic dinoflagellate red tide by a *Cochlodinium* sp. along the coast of Fujian, China. *In:* (T.J. Smayda & Y. Shimizu eds), *Toxic phytoplankton blooms in the sea*. Elsevier, New York, USA. pp.235-238.
- Guillard R.R.L., 1973.** Division rates. *In:* (J.R. Stein ed.), *Handbook of phycological methods: Culture methods and growth measurements*. Cambridge University Press, Cambridge, pp.289-311.
- Guillard R.R.L., 1975.** Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. *In:* (W.L. Smith and M.H. Chanley eds.), *Cultures of marine invertebrate animals*. Plenum Press, New York, USA. pp.29-60.
- Garate-Lizarraga L., Bustillos-Guzma'n J.J., Morquecho L. and Lechuga-De'Veze C., 2000.** First outbreak of *Cochlodinium polykrikoides* in the Gulf of California. *Harmful Algae News*, Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, 21:7P.
- Hallegraeff G.M. and Fraga S., 1998.** Bloom dynamics of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum*, with emphasis on Tasmanian and Spanish coastal waters. *In:* (D.M. Anderson, A.D. Cembella and G.M. Hallegraeff ed.), *Physiological ecology of harmful algal blooms*. 41:59-80.
- (۲۰۰۴) حداکثر رشد ویژه را ۰/۴۱ سلول در روز و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد بدست آوردند که اندکی کمتر از نتایج این تحقیق بود. Xu و همکاران (۲۰۱۰) بیشینه رشد ویژه را برای گونه *P. donghaiense* که از داینوفلاژله‌ها می‌باشد، در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد، ۰/۷۷ سلول در روز بدست آوردند که تفاوت زیادی را با نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان می‌دهد (۰/۲۸ سلول در روز). همچنین Yamaguchi و همکاران (۱۹۹۷) در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد مقدار رشد ویژه را برای داینوفلاژله *Heterocapsa circularisquama* ۱/۳ سلول در روز و Yamamoto و Kataoka (۲۰۰۲) برای گونه *G. catenatum* در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و شوری ۳۰، (۰/۴۱ سلول در روز) بدست آوردند. دمای آب می‌تواند تعیین کننده ویژگی اکوتیپ‌های مختلف باشد (Hallegraeff & Fraga, 1998) از اینرو بعنوان مثال، بیشینه درجه حرارت ثبت شده برای گونه *G. catenatum* در سواحل Colima ۲۳-۲۵ درجه سانتیگراد (Morales-Blake et al., 2000) و برای همین گونه در خلیج کالیفرنیا مکزیک ۲۹-۲۱ درجه سانتیگراد گزارش شده است (Band-Schmidt et al., 2004).

## تشکر و قدردانی

از ریاست محترم موسسه تحقیقات شیلات ایران جناب آقای دکتر عباسعلی مطلبی و معاونت محترم تحقیقاتی موسسه جناب آقای دکتر مصطفی شریف روحانی و همچنین دکتر نگارستان رئیس بخش اکولوژی و دکتر عباس متین‌فر رئیس بخش آبی‌پروری موسسه تحقیقات و کلیه همکاران پژوهشگر که در زمان بحران کشند قرمز خلیج فارس، در اجرای این طرح تحقیقاتی از هیچگونه حمایت مادی و معنوی دریغ نمودند، تشکر و قدردانی می‌نماییم.

## منابع

- Band-Schmidt C.J., Morquech L., Lechuga-Deveze C.H. and Anderson D.M., 2004.** Effect of growth medium, temperature, salinity and seawater source on the growth *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) from Bahia conception, Gulf of California, Mexico. *Journal of Plankton Research*, 26:1459-1470.

- Kim H.G., 1997.** Recent harmful algal blooms and mitigation strategies in Korea. *Ocean Research*, 19:185–192.
- Kim H.G., 1998.** Harmful algal blooms in Korean coastal waters focused on three fish-killing dinoflagellates. *In:* (H.G. Kim, S.G. Lee and C.K. Lee eds.), Harmful algal blooms in Korea and China. National Fisheries Research and Development Institute, Pusan, Republic of Korea, pp.1–20.
- Kim C.H., Cho H.J., Shin J.B., Moon C.H. and Matsuoka K., 2002.** Regeneration from hyaline cysts of *Cochlodinium polykrikoides* (Gymnodiniales, dinophyceae), a red tide organism along the Korean coast. *Phycologia*, 41:667–669.
- Kim D.I., Matsuyama Y., Nagasoe S., Yamaguchi M., Yoon Y.H., Oshima Y., Imada N. and Honjo T., 2004.** Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the harmful red tide dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* Margalef (Dinophyceae). *Journal of Plankton Research*, 26:61–66.
- Kumada K., Takeda K. and Aramaki T., 1980.** Yatsushiro Kaiiki, Yatsushiro Kai-2. *In:* Fisheries agency, Suisan Shikenjyou F., Suisan Shikenjyou S., Suisan Shikenjyou N., Suisan Shikenjyou K. and Suisan Shikenjyou K. eds.), Kyushu Seiganiki Akashiwo Yosatsu Chosa Houkokusho, pp.125–136.
- Margalef R., 1961.** Hidrografi'ay fitoplancton de un a'rea marina de lacosta meridional de Puerto Rico. *Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero*, XVIII:33–96 (in Spanish).
- Morales-Blake A., Hernández-Becerril D. and Cavazos-Guerra C., 2000.** Registros de mareas rojas en las bahías de Manzanillo, Colima, Me'xico. *In:* (E. Rí'os-Jara, E. Jua'rez-Carillo, M. Pe'rez-Pe'ña, E. Lo'pez-Urriarte, E.G. Robles-Jarero, D.U. Herná'ndez-Becerril and M. Silva-Briano eds.), Estudios sobre el plancton en Me'xico y el Caribe. Sociedad Mexicana de Planctologia y Universidad de Guadalajara, Guadalajara, pp.81–82.
- Matsubara T., Nagasoe S., Yamasaki Y., Shikata T., Shimasaki Y., Oshima Y., Honjo T., 2007.** Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the dinoflagellate *Akashiwo sanguinea*. *Journal of Experiment Marine Biology Ecology*, 342:226–230.
- Nagasoe S., Kim D., Shimasaki Y., Oshima Y., Yamaguchi M. and Honjo, T., 2006.** Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the red tidedinoflagellate *Gyrodinium instriatum* Freudenthal et Lee. *Harmful Algae*, 5:20–25.
- Rohani-Ghadikolaei K., 2001.** Study on quantitative (Chl.a) and qualitative (Species composition), seasonal fluctuations of phytoplankton in Lavan coastal waters. *Iranian Journal of Fisheries Science*, Vol. 3, No. 2.
- Rosales-Loessener F., Matsuoka K., Fukuyo Y. and Sanchez E.H., 1996.** Cysts of harmful dinoflagellates found from Pacific coastal waters of Guatemala. *In:* (T. Yasumoto, Y. Oshima and Y. Fukuyo eds.), Harmful and toxic algal blooms. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Sendai, pp. 193–195.
- Richlen M.L., Morton S.L., Jamali E.A., Rajan A., Anderson D.M., 2010.** The catastrophic 2008–2009 red tide in the (Persian Gulf) Persian Gulf region, with observations on the identification and phylogeny of the fish-killing



- dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides*. Journal Harmful Algae, 9:163-172.
- Steidinger K.A., 1975.** Basic factors influencing red tides. In: (V.R. LoCicero ed.), Proceedings of the First International Conference on Toxic Dinoflagellates. Massachusetts Science and Technology Foundation, Massachusetts, pp.153-162.
- Sunda W.G., Graneli E. and Gobler C.J., 2006.** Positive feedback and the development and persistence of ecosystem disruptive algal blooms. Journal of Phycology, 42:963-974.
- Xu N., Duan S., Li A., Zhang C., Cai Z., Cai Z. and Hu Z., 2010.** Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the harmful dinoflagellate *Prorocentrum donghaiense* Lu. Journal of Harmful Algae, 9:13-17.
- Yuki K. and Yoshimatsu S., 1989.** Two fish-killing species of *Cochlodinium* from Harima Nada, Seto Inland Sea, Japan. In: (T. Okaichi, D.M. Anderson and T. Nemoto eds.), Red Tides: Biology, Environmental Science, and Toxicology. Elsevier, Amsterdam, pp.451-454.
- Yamaguchi M. and Honjo T., 1989.** Effect of temperature, salinity and irradiance on the growth of the noxious red tide flagellate *Gymnodinium nagasakiense* (Dinophyceae). Nippon Suisan Gakkaishi, 55:2029-2036.
- Yamaguchi M., Itakura S., Nagasaki K., Matsuyama Y., Uchida T. and Imai I., 1997.** Effect of temperature and salinity on the growth of the red tide flagellates *Heterocapsa circularisquama* (Dinophyceae) and *Chattonella verruculosa* (Raphidophyceae). Journal of Plankton Research, 19:1167-1174.
- Yamamoto T., Oh S. and Kataoka Y., 2002.** Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) isolated from Hiroshima Bay, Japan. Fisheries Science, 68:356-363.
- Zhou M. and Zhu M., 2006.** Progress of the project "Ecology and oceanography of harmful algal blooms in China". Adv. Earth Science, 21(7):673-679 (in Chinese, with English abstract).

## Determination of effective parameters on growth and bloom forming of *Cochlodinium polykrikoides*

Abdolalian Eisa\*; Rohani-Ghadikolaei K.; Moezi M.; Foroghifard H.;  
Mortazavi M.-S; Akbarzadeh Gh.-A.; Dehghani R.; Gharibnia M. and  
Banaroei F.

abdolalian\_1969@yahoo.com

Persian Gulf and Oman Sea Ecological Research Center, P.O.Box: 79167-93165

Bandar Abbass, Iran

Received: February 2012

Accepted: August 2012

**Keywords:** Harmful algal, Phytoplankton, Ecological condition, Persian Gulf, Iran

### Abstract

Harmful algal blooms resulting in red discoloration of coastal waters in the Persian Gulf, Iran were first observed in January 2007. The species responsible for the bloom, which was identified as *Cochlodinium polykrikoides*, coincided with massive aquatic organisms' mortalities in the Persian Gulf. In order to provide optimum growth and bloom forming, *C. polykrikoides* cells were sampled during the bloom conditions in the coastal waters of Persian Gulf. After adaptation in filtered seawater, they isolated by positive phototropism characteristic of this species to light. They were grown in modified media culture at different salinity (30, 32 and 35ppt), temperature (20, 23, 26 and 28°C) and intensity (35, 70 and 90  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). The results of the present study clearly showed that the highest alga biomass and growth rate was obtained following culture under the 32ppt salinity, 26°C temperature, and under a 12h light:12h dark photoperiod regime at a light intensity of 90  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  provided by cool white fluorescent tubes. Maximum cell density and growth rate of *C. polykrikoides* in a 60 liter tank for 20 days reached to  $32 \times 10^6$  cell  $\text{L}^{-1}$  and  $0.28 \text{ day}^{-1}$ , respectively. However, the mean obtained cell density of *C. polykrikoides* in temperature regimes 20, 23, 26 and 28°C (under salinity of 32ppt, and 90  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  irradiance) were 2730, 9360, 28240 and 18080 cell  $\text{ml}^{-1}$ , respectively. A two-way ANOVA indicated significant effects of temperature on the growth rate of *C. polykrikoides* followed by salinity, and then the interaction between temperature and salinity.

\*Corresponding author