



مجله زیست‌شناسی کاربردی

پاییز ۱۳۹۹

صاحب امتیاز: معاونت پژوهشی دانشگاه الزهرا (س)

مدیر مسئول: دکتر مهوش سیفعلی، استادیار دانشگاه الزهرا (س)

سرمدبیر: دکتر احیا عبدی عالی، دانشیار دانشگاه الزهرا (س)

دبیر تخصصی: دکتر پریناز قدم، دانشیار دانشگاه الزهرا (س)

اعضای هیأت تحریریه

دکتر فرشته افتخار، دانشیار دانشگاه شهید بهشتی

دکتر مهناز اقدسی، دانشیار دانشگاه گلستان

دکتر منیژه پاکروان، دانشیار دانشگاه الزهرا (س)

دکتر نرگس حسینمردی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی

دکتر فرشاد درویشی، استاد دانشگاه الزهرا (س)

دکتر مرجان سیدی، دانشیار دانشگاه تهران

دکتر محمدرضا صعودی، استاد دانشگاه الزهرا (س)

دکتر عذرا صبورا، دانشیار دانشگاه الزهرا (س)

دکتر پریناز قدم، دانشیار دانشگاه الزهرا (س)

دکتر زرین مینوچهر، دانشیار دانشگاه تهران

دکتر تورج ولی نسب پوری، استاد پژوهشی موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

اعضای هیأت تحریریه بین المللی

دکتر حسین رجایی، استاد موزه تحقیقات جانورشناسی الکساندر کوپنیک آلمان

مدیر اجرایی: شهربانو برجیان

ناشر: معاونت پژوهشی دانشگاه الزهرا (س)

ویراستار فارسی و انگلیسی: بنفشه محمدی

چاپ و صحافی: انتشارات دانش‌نگاران اوج

ترتیب و انتشار: فصلنامه

شمارگان: ۱۰ نسخه

بها: ۱۰۰۰۰ ریال

این فصلنامه علمی - پژوهشی با مجوز شماره ۵۲۴۷۴ / ۸۹/۳/۱۱ - در تاریخ ۸/۹/۸۹ منتشر می‌گردد.

فصلنامه علمی - پژوهشی زیست‌شناسی کاربردی با همکاری انجمن زیست‌شناسی ایران منتشر می‌شود.

این مجله در پایگاه استنادی علوم جهان اسلام نمایه می‌شود: www.Isc.gov.ir

نشانی: تهران، ونک، ده ونک، دانشگاه الزهرا (س) معاونت پژوهشی، کدپستی ۱۹۹۳۸۹۱۱۷۶. تلفن و نمابر: ۸۵۶۹۲۲۰۵

شاپا: ۹۸۸۴-۱۶۰۷

Website: <http://journals.alzahra.ac.ir/jab>

Email: Oolomepaieh@gmail.com

راهنمای تدوین و شرایط پذیرش مقاله‌ها

هدف

مجله تخصصی زیست‌شناسی کاربردی با نام انگلیسی Applied Biology، نشریه علمی-پژوهشی وابسته به دانشگاه الزهراء، به منظور انتشار نتایج پژوهش‌ها، افزایش آگاهی و ترویج دانش تخصصی در زمینه علوم کاربردی سالی ۴ بار منتشر می‌شود.

موضوعات مرتبط با مجله

مجله مقالاتی را که نتیجه‌ی تحقیقات در زمینه‌ی زیست‌شناسی کاربردی است پس از داوری دقیق به صورت "مقاله کامل" به چاپ می‌رساند.

قوانین نشر

- مقالات ارسال شده به مجله، نباید قبلاً در سایر مجلات چاپ و یا همزمان به مجلات دیگر ارسال شده باشد. مقالاتی که فقط چکیده‌ی آنها در مجامع علمی داخلی و خارجی ارائه و چاپ شده‌اند، مستثنی هستند.
- مقالات باید دارای متن کامل فارسی و خلاصه انگلیسی باشند.
- اعضای هیئت تحریریه در پذیرش، عدم پذیرش یا هر گونه ویرایش مقاله، اختیار کامل دارند
- مسئولیت علمی مطالب ارائه شده، به عهده نگارنده (گان) مقاله می‌باشد.
- اسامی نگارندگان می‌تواند تحت نظر نویسنده مسئول تغییر کند.
- مقالاتی که مطابق راهنمای نگارش مقاله تهیه نشوند، به نگارندگان عودت داده می‌شوند.
- مقالات دریافت شده پس از داوری توسط داوران تخصصی و پذیرش علمی از سوی اعضای هیئت تحریریه، با رعایت نوبت به چاپ می‌رسند.

پیش از ارسال مقاله حتماً به نکات زیر توجه فرمایید:

- مقاله به زبان فارسی پذیرفته خواهد شد.
- مقاله فقط از طریق پایگاه اینترنتی مجله (<http://jab.alzahra.ac.ir>) به دبیرخانه ارسال شود. مقالاتی که از طریق به جز سایت ارسال شوند، در جلسه هیئت تحریریه بررسی نخواهند شد. تمامی مراحل داوری نیز از طریق سایت مجله قابل پیگیری است.
- نگارندگان همزمان با ارسال مقاله، فرم تعهدنامه را در سایت مجله، تکمیل و پس از امضای تمام نگارندگان و اسکن فرم، آن را به همراه مقاله از طریق سایت مجله ارسال نمایند.
- در مقاله‌های ارسالی باید تمامی نکات مربوط به شیوه صحیح نگارش از جمله اصول نقطه‌گذاری، رسم جدول، شکل، نوشتن منابع و ... به دقت رعایت شود.
- چنانچه مقاله بخشی از پایان نامه دانشجویی باشد، این موضوع در پاورقی صفحه اول با ذکر نام استاد (استادان) راهنما و دانشگاه مربوطه قید شود.
- به دانشجویان محترم توصیه می‌شود پیش از ارسال مقاله، از استاد راهنمای خود تقاضا نمایند که آن را مطالعه و کاستی‌های آن را رفع نمایند.
- در متن مقاله، اعداد صفر تا نه به حروف و اعداد ۱۰ به بالا به عدد نوشته شوند (به استثنای اعداد جداول، شکل‌ها، شماره منابع و شماره‌گذاری فرمول‌ها).
- در متن مقاله، علامت % با کلمه درصد نوشته شود (به استثنای جدول‌ها و شکل‌ها که علامت % در سمت چپ اعداد قرار گیرد).
- در متن مقاله (به جز جداول، شکل‌ها و چکیده‌ی انگلیسی که بر اساس سال میلادی بیان می‌شوند)، اسال شمسی برای مقالات فارسی و سال میلادی برای مقالات انگلیسی بیان شوند.
- اسامی علمی (از جمله نام گیاهان، جانوران، میکروب‌ها) باید بر اساس سیستم دوفامی طبق جدیدترین طبقه‌بندی‌های

سیستماتیکی و با حروف ایتالیک نوشته شوند. این اسامی در عنوان و چکیده بدون ذکر نام گذار (author) درج شوند، اما در متن، آنجا که برای اولین بار ذکر می‌شود، همراه ذکر مخفف نام گذار (به عنوان مثال. L به معنی Linnaeus) و به صورت غیر ایتالیک نوشته شوند و در صورت تکرار در متن، دیگر به نام گذار اشاره نشود. اسم نام گذار باید طبق استانداردهای مربوطه نوشته شود.

- میان کلمه و نقطه (.)، کاما (،)، علامت سوال (؟) و پرانتز () فاصله نباشد و بعد از این علامت‌ها یک فاصله (Space) منظور شود.

- در نگارش مقاله تا حد امکان، از واژه‌های فارسی استفاده شود.

در موارد ضروری، اصطلاح خارجی در متن مقاله به زبان فارسی نگاشته و خواننده به زیرنویس (Footnote) صفحه که واژه مورد نظر به زبان اصلی نوشته شده، هدایت شود. عدد هر زیرنویس در قسمت بالا و سمت چپ زیرنویس مربوطه و با قلم Times New Roman نازک درج شود. اعداد زیرنویس در هر صفحه از عدد ۱ آغاز شوند.

- منابع درون متن شامل نام خانوادگی (بدون ذکر نام کوچک) نگارنده و سال انتشار باشد مانند (Goodman, 2003). در صورتی که منبع مورد استفاده دو نگارنده داشته باشد، نام خانوادگی آنها با علامت & از هم جدا و سپس سال انتشار ذکر شود (Kells & Tharp, 2001). در منابع با بیش از دو نگارنده، تنها نام خانوادگی نگارنده اول به همراه واژه et al. و سپس سال انتشار ذکر شود (Fernandes et al., 2001). در متن مقاله می‌توان به نام فارسی نگارنده اشاره کرد، اما بلافاصله در پرانتز باید نام خانوادگی آن به انگلیسی به همراه سال انتشار را نوشت. به عنوان مثال، پتراک (Petraak, 1953)، معتقد است..... و یا به اعتقاد شیمی و همکاران (Shimi et al., 2005).

- *et al.* واژه‌ای لاتینی است و حتما باید ایتالیک و به نقطه ختم شود.

- متن مقاله با نرم افزار Microsoft Word 2007 و با پسوند *.doc تهیه شود.

- مقاله به صورت الکترونیک روی کاغذ سفید به ابعاد ۲۱ × ۲۹/۷ سانتی‌متر (A⁴) با حاشیه ۲/۵ سانتی‌متری از چهار طرف و فاصله خطوط متن ۱/۵ (به جز جداول، شکل‌ها و زیرنویس آنها) تهیه و تمام صفحات آن پشت سر هم شماره گذاری شود و در هر صفحه شماره خط نوشته شود.

- تعداد صفحات قابل قبول مقاله، حداکثر ۱۵ صفحه می‌باشد. شماره هر صفحه در وسط و پایین صفحه و با قلم نازنین معمولی و فونت ۱۲ باشد.

- قلم فارسی مورد استفاده، نازنین و قلم انگلیسی Times New Roman باشد. منظور از قلم توپر، Bold و قلم نازک، غیر Bold است.

- اندازه قلم انگلیسی در تمام موارد، دو سایز از قلم فارسی کوچکتر است.

- ابتدای هر پاراگراف به صورت تورفته (Indent) به اندازه ۱/۲۷ سانتی‌متر باشد.

تدوین مقاله با شرح جزییات

- عناوین (اختیاری)، منابع و Abstract انگلیسی.

- عناوین اصلی فارسی: راست چین، ۱۴ توپر، انگلیسی: چپ چین، ۱۲ توپر

- پس از عناوین اصلی، نیازی به استفاده از دو نقطه (:) نیست. مانند مقدمه (نه مقدمه:).

- سایر عناوین، عناوین درجه دوم و سوم محسوب می‌شوند.

- پس از عناوین اصلی و درجه دوم، ادامه متن از سطر جدید آغاز شود. اما عناوین درجه سوم، با دو نقطه (:) از مطلب جدا شوند.

اصلی به ترتیب: چکیده، مقدمه، مواد و روش‌ها، نتایج و بحث (با هم)، نتیجه‌گیری کلی، سپاسگزاری

- تمام عناوین اعم از اصلی، درجه دوم و سوم، توپر باشند.

۱- عنوان مقاله: فارسی: وسط چین، ۱۴ نازنین توپر، انگلیسی: وسط چین، Times new Roman ۱۲ توپر

۲- نام نگارندگان: فارسی: وسط چین، ۱۱ توپر، با ویرگول از هم جدا شوند. شماره هر نگارنده، ۱۱ توپر در سمت چپ و بالای

نام خانوادگی (به صورت superscript)، درج علامت ستاره (*) در سمت راست و بالای (superscript) نام نگارنده مسئول

مکاتبه، انگلیسی: ۹ توپر با ویرگول از هم جدا شوند. قبل از آخرین نگارنده از حرف ربط and استفاده شود. شماره هر نگارنده در سمت چپ و بالای نام خانوادگی (به صورت superscript)،

۳- آدرس نویسندگان: فارسی: وسط چین، ۱۱ نازک، انگلیسی: وسط چین، ۹ نازک در پاورقی

۴- چکیده: فارسی: ۱۲ نازک و ایتالیک تنها در یک پاراگراف، حداکثر ۲۰۰ تا ۳۰۰ کلمه، فاقد علائم اختصاری مبهم. پس از ذکر اهمیت موضوع در یک سطر، اشاره‌ای به اهمیت پژوهش، روش و نتایج شود. انگلیسی (Abstract): ۱۲ نازک و تنها در یک پاراگراف، ترجمه دقیق و علمی چکیده فارسی، فاقد علائم اختصاری مبهم.

۵- واژه‌های کلیدی: فارسی: (۱۲ توپر و ایتالیک)، انگلیسی (Key words): (۱۰ توپر).

- واژه‌های کلیدی فارسی و انگلیسی، به ترتیب حروف الفبا مرتب شوند.

۶- مقدمه: ۱۲ معمولی، محتوی بررسی منابع کامل با تاکید به آن موضوع خاص و با استناد به جدیدترین منابع، اشاره دقیق به اهمیت تحقیق و هدف بررسی.

۷- مواد و روش‌ها: ۱۲ معمولی، توضیح دقیق مواد و روش‌ها از جمله محل و سال اجرای تحقیق، محل جمع آوری نمونه، شرح دقیق روش کار. در صورت استفاده از روش‌های متداول، نیازی به ذکر کامل روش نیست و تنها به منبع مورد استفاده اشاره شود.

۸- نتایج و بحث: ۱۲ معمولی، به جدیدترین منابع مرتبط با آن موضوع اشاره شود. تحلیل کاملی از نتایج، انجام و نتایج حاصل از آزمایش با نتایج سایر پژوهش‌ها مقایسه شود.

- برای بیان اوزان و مقادیر از سیستم متریک استفاده شود.

- نکات ضروری برای تهیه جداول و شکل‌ها

- استفاده از جدول و شکل تنها هنگامی مجاز است که نتوان اطلاعات به دست آمده (نتیجه) را به راحتی بیان کرد.

عنوان جدول و شکل باید گویا باشد به نحوی که نیاز به مراجعه به متن مقاله نباشد. علائم اختصاری یا زیرنویس‌ها در پایین جدول یا شکل معرفی شوند.

- داده‌ها یا بصورت جدول و یا شکل نمایش داده شوند، یعنی داده‌هایی نباشند که به هر دو صورت شکل و جدول ارائه شوند.

- شکل‌هایی که از جنس نمودار هستند، بصورت سیاه و سفید، با بافت ساده طراحی و شکل‌هایی که از جنس تصویر هستند، بدون سایه و با کیفیت بالا، ارسال شوند.

- در هر قسمت که به یک جدول یا شکل اشاره می‌شود، حتی المقدور بلافاصله ارائه شوند و ارائه آنها به صفحات بعد موکول نشود.

- ابعاد جدول یا شکل طوری تنظیم شود که حداکثر در یک صفحه مجله جا بگیرد.

- جدول با ۳ خط افقی رسم شود. (دو خط نشان دهنده سرتیتر جدول و خط آخر پایان دهنده جدول) و بقیه‌ی خطوط عمودی و افقی غیر فعال شوند.

- تمامی اعداد و متن درون جداول و شکل‌ها، انگلیسی (وسط چین، ۱۰ نازک) باشد. اعداد در صورت اعشاری بودن، تنها تا دو رقم اعشار ادامه داشته باشد.

- عنوان جدول (در بالای جدول) و شکل (در پایین شکل) به زبان فارسی باشد. عنوان وسط چین ۱۱ توپر (Bold)

- زیرنویس و علائم اختصاری زیر جداول و شکل‌ها، فارسی نازنین ۸ نازک باشد.

- شکل‌ها در جای مناسب در متن ارائه شود.

- کادر اطراف شکل‌ها حذف شود.

۹- سپاسگزاری: اختیاری است، نازنین ۱۲ معمولی.

۱۰- منابع: ۱۲ معمولی.

- تمام منابع پایان مقاله، بدون شماره باشند، بر حسب حروف الفبا تنظیم شوند و به اندازه ۰/۵ سانتی‌متر به صورت Hanging تورفتگی داشته باشند.

- عنوان مجله‌ها کامل نوشته شوند.

(برای استفاده از نام‌های اختصاری استاندارد یا کامل مجلات علمی، به سامانه مجلات مربوطه مراجعه شود .

- بین حروف اختصاری نام‌های اول یک نگارنده، فاصله نباشد (مثال: A.D.C).

- برای استناد به مقاله‌هایی که هنوز چاپ نشده‌اند، به جای ذکر سال، از عبارت *under publishing* استفاده شود.

- بر حسب نوع منبع، فقط مطابق الگوی زیر عمل و حتماً به علائم جداکننده و ویرایشی توجه شود.

نشریات

(الف) با یک نویسنده: نام خانوادگی، نام (ها). (سال انتشار) عنوان مقاله. عنوان نشریه، جلد (شماره): شماره صفحات.

Wilson, R.G.J. (1981) Weed control in established dryland Alfalfa (*Medicago sativa*). Weed science 29: 615-618.

(ب) با دو نویسنده:

Pline, W.A. and Wilcut, J.W. (2007) Tolerance and accumulation of shikimic acid in response to glyphosate applications in glyphosate-resistant and nonglyphosate-resistant cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Journal of Agriculture Food and Chemistry 50: 506-512.

(ج) با بیش از دو نویسنده: مشابه بالاست، جز این که بعد از نام کوچک نویسنده اول، ویرگول بیاید.

Arregi, M.C., Sanchez, D. and Scotta, R. (1998) Weed control in established Alfalfa (*Medicago sativa*) with posremergnce herbicides. Weed Technology 3: 424-428.

کتاب

(الف) کتاب فارسی: نام خانوادگی، نام (سال انتشار) نام کتاب. ناشر، تعداد صفحات.

(ب) کتاب انگلیسی: نام خانوادگی، نام (سال انتشار)، نام کتاب، ذکر تعداد چاپ‌ها، ناشر، تعداد صفحات و سپس Pp که اولی با حرف بزرگ و دومی با حرف کوچک استو سپس شهر محل انتشار.

Ahrens, W.H. (1994) Herbicide Handbook. 7th edn. Champaign, IL: Weed Science Society of America Pp 224 . los Angeles.

(ج) در صورتی که کتاب دو یا بیش از دو نویسنده داشته باشد، طریقه‌ی نوشتن نویسندگان آن، مشابه نشریات خواهد بود.

-مقاله‌ای در یک کتاب: نام خانوادگی، نام (ها) (سال انتشار) نام مقاله مورد نظر. تعداد صفات مقاله، عنوان کتاب. ناشر

(کلمات ناشر با حروف انگلیسی بزرگ).

Baver, L.D. and Gardner, W.H. (1972) Flow in stratified soil systems. Pages 343-345 in Baver LD, ed. Soil Physics New York: Academic Press.

- خلاصه مقالات یا مقالات کامل ارائه شده در همایش‌های علمی: نام خانوادگی، نام (سال انتشار)، عنوان مقاله، نام همایش و تاریخ برگزاری همایش (روز ماه)، شهر، کشور.

Ghorbanli, M. and Najafpour, M. (2005) Effect of extracts of Persian and Berseem clover on – peroxidase activity of field bindweed (*Convolvulus arvensis* L.) hypocotyl. Proceedings of the 4th World Congress on Allelopathy, 21-26 August, Wagga Wagga, Australia.

-گزارش علمی مستخرج از طرح تحقیقاتی: نام خانوادگی، نام، سال انتشار، عنوان پروژه تحقیقاتی. ذکر سالیانه یا نهایی بودن گزارش، نام موسسه تحقیقاتی، تعداد صفحات.

Shimi, P. (2003) Management of *Cynanchum acutum* in apple orchard. Final Report. Iranian Research Institute of Plant Protection 25 Pp.

-منابع بی‌نام: بهتر است این منابع استفاده نشود اما اگر اجتناب ناپذیر بود به صورت زیر عمل شود:

بی‌نام، (سال انتشار)، عنوان مقاله، آدرس دقیق سایت که به واژه html ختم شود. تاریخ دستیابی (ماه، روز، سال).

Anonymous, (2001) Project Summary Comparative Genomics of Domestication Traits in Lettuce and Sunflower. <http://veghome.ucdavis.edu/faculty/michelmore/projectssummary.htm>. Accessed August 23, 2001.

-استفاده از سایت اینترنتی: نام سایت. سال انتشار. عنوان مطلب مورد استفاده. آدرس دقیق سایت که به واژه htm ختم شود.

تاریخ دستیابی (ماه، روز، سال).

Agriculture and Agri-Food Canada.(1999) Market and Industry Services Branch, Horticulture and Special Crops Division. http://www.Agr.ca/misb/spcrops/bean_e.html. Accessed: January 29, 2001.

- وقتی مقاله‌ای به الفبای غیر لاتین چاپ شده است، لازم است عنوان مقاله به زبان انگلیسی ترجمه شود و با قید شماره صفحات ، زبان اصلی آن مانند روسی در پرانتز قید شود.
- در پایان نگارندگان محترم از یک مقاله استاندارد که براساس راهنمای حاضر تهیه شده و در سایت مجله موجود است به عنوان الگو استفاده نمایند.

- بررسی تأثیر عوامل اکولوژیکی و اداپتیکی بر مواد مؤثر گیاه فرفیون (*Euphorbia helioscopia* L.)
 ناصر جعفری، سیده مبارکه حسینی، محمدعلی ابراهیم زاده..... ۹
- اثر سطوح مختلف سین بیوتیک بایومین ایمبو بر شاخص‌های رشد و بازماندگی بچه ماهی سیکلید زندانی
 (*Amatitlania nigrofasciata*)
 رضا چنگیزی، حامد منوچهری، سیدمهدی حسینی فرد، شایان قبادی..... ۲۵
- ارزیابی سلامت تالاب بزنگان با استفاده از شاخص‌های کیفی، زیستی و جمعیتی
 علی حیدری، امید صفری، حمیدرضا احمدنیا، مطلق..... ۳۷
- غربالگری و جداسازی برخی از باکتری‌های تجزیه‌کننده فنول در خاک‌های حاوی آلاینده‌های نفتی
 فائزه ربانی، وهب جعفریان، احمد آسوده ۵۲
- اثر تغییرات دما، شدت نور و دوره نوری بر توده زنده و میزان آلژینات جلبک قهوه‌ای *Sargassum boveanum*
 فرناز رفیعی، پریسا نجات خواه معنوی، حدیثه کرمانشاهی..... ۷۰
- اثر اسانس‌های رازیانه و زنیان بر متابولیت‌های خون و آسیب شناسی بافت کبد و کلیه در موش صحرایی و بستار تحت
 شرایط تنش القایی دگزامتازون
 احمد ریاسی، ربابه عباسی، امیرحسین مهدوی، اردشیر طالبی، سعیده عبدالله زاده..... ۸۴
- کیفیت آب رودخانه قره آغاچ استان فارس بر اساس شاخص‌های بزرگ بی مهرگان کفزی
 حمیدرضا شهادنیا، عاطفه چمنی، مهرداد زمانپور..... ۹۹
- ویژگی‌های ریختی فلس در ده گونه از کفال ماهیان ایران
 نسیمه فیروزی، جواد قاسم زاده، محمد صادق علوی یگانه..... ۱۱۱

گیاهان دارویی منطقه بازرجان (تفرش، استان مرکزی، ایران)

محمد محمدی، سحر جلالی، زهرا توکلی، فرخ قهرمانی نژاد..... ۱۲۲

اثرات محافظتی عصاره‌ی الکلی گل ختمی (*Althaea officinalis* L.) بر آسیب کبدی القاشده توسط دیازینون

در همستر نر بالغ

مجید مروتی شریف آباد، زهرا لطفی، الهام صالحی..... ۱۳۵

بررسی تأثیر عوامل اکولوژیکی و اداپتیکی بر مواد مؤثر گیاه فرفیون

(*Euphorbia helioscopia* L.)

ناصر جعفری*^۱، سیده مبارکه حسینی^۲، محمدعلی ابراهیم زاده^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۱۳

چکیده

گیاه فرفیون (*Euphorbia helioscopia* L.) یکی از گیاهان دارویی مهم است که در سراسر دنیا در طب سنتی به کار می رود. این تحقیق به منظور بررسی تأثیر عوامل اکولوژیکی و اداپتیکی بر مواد مؤثره ی این گیاه صورت گرفت. برای این منظور گیاه فرفیون از ۳ منطقه با ارتفاع متفاوت (۱۸۶۱، ۹۴۹ و ۲۳۶ متر) و با ۳ تکرار جمع آوری گردید. سپس عصاره با استفاده از متانول اسیدی تهیه شد و میزان فنول آن بر اساس منحنی استاندارد گالیک اسید و فلاونوئید بر اساس منحنی کوئرستین به دست آمد. هم چنین فعالیت آنتی اکسیدانی به ۳ روش به دام اندازی DPPH، نیتریک اکساید و قدرت احیاکنندگی بررسی شد. این مطالعه به وضوح نشان داده است که فعالیت زیستی عصاره به میزان فنول و فلاونوئید آن بستگی دارد. نتایج حاصله از این مطالعه نشان می دهد که گیاه فرفیون منطقه ی چالو، بهترین فعالیت آنتی اکسیدانی را در آزمون نیتریک اکساید و در بالاترین غلظت (۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به دو منطقه ی دیگر دارا می باشد. هم چنین نتایج نشان داد که توانایی عصاره های گیاه فرفیون در سه منطقه ی مورد بررسی در مهار رادیکال های آزاد نیتریک اکساید وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت فعالیت ضد رادیکالی آن ها افزایش می یابد. نتایج این مطالعه نشان داد که گونه ی فرفیون، دارای محتوای فنول و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی نسبتاً بالایی است که می توان از آن به عنوان یک گونه ی گیاهی دارویی بهره برد.

واژه های کلیدی: ترکیبات ثانوی، عوامل اکولوژیکی، فرفیون، فعالیت آنتی اکسیدانی، قدرت احیاکنندگی.

مقدمه

امروزه استقبال گسترده عامه ی مردم از داروهای گیاهی به دلیل عوارض خطرناک داروهای سنتتیک، پژوهشگران را به تلاش در راستای احیای طب سنتی و شناسایی ترکیبات مؤثره ی گیاهان دارویی و خواص احتمالی آن ها وا داشته است (Shaghghi et al., 2019). اخیراً تحقیق و پژوهش بر روی گیاهان دارویی از نظر خواص آنتی اکسیدانی آن ها که می تواند به

۱- دانشجویار گروه زیست شناسی دانشگاه مازندران، ایران

* نویسنده مسئول: (N.Jafari@umz.ac.ir)

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد سیتوماتیک بوم شناسی دانشگاه مازندران، ایران

۳- استاد گروه شیمی دارویی دانشگاه علوم پزشکی ساری، ایران

عنوان عوامل مؤثر در بهبود سلامتی انسان مطرح باشد، مورد توجه محققان قرار گرفته است (رهباریان و همکاران، ۱۳۹۸). گیاهان دارویی منابع ارزشمندی از آنتی اکسیدان های طبیعی از قبیل برخی ترپنوئیدها و ترکیبات فنلی هستند، به طوری که امروزه مورد توجه بسیاری از کشورهای پیشرفته ی جهان قرار گرفته است و به عنوان مواد اولیه برای تبدیل به داروهای بی خطر برای انسان تلقی می شوند (Khoshshokhan *et al.*, 2015). در حالت کلی آنتی اکسیدانت به ماده ای اطلاق می شود که بتواند در غلظت های کم با سوبستراهای اکسید شونده رقابت کند و به طور معنی داری اکسیداسیون آن سوبسترا را به تأخیر بیندازد یا مهار کند. آنتی اکسیدان ها موجب افزایش سیستم ایمنی بدن می شوند و در نتیجه میزان عفونت را در بدن کم می کنند. بسیاری از بیماری ها مانند سرطان، آلزایمر، پارکینسون، دیابت و بیماری های قلبی که با تخریب اکسایشی سلول ها در ارتباط می باشند، اهمیت استفاده از آنتی اکسیدان ها را به شدت افزایش داده اند (Jayaprakasha & Tanil selvi, 2003).

گیاهان گروه بزرگ و متنوعی از ترکیبات آلی به نام ترکیبات ثانوی را تولید می کنند که توسط انسان به عنوان ترکیب دارویی مصرف می شوند. ترکیبات ثانوی گیاهان ترکیباتی هستند که توسط سلول های گیاهی تولید می شوند، اما غالباً به مصرف خود گیاه نمی رسند و مستقیماً در مراحل رشد و نمو یا تولید مثل موجود زنده شرکت نمی کنند و شامل اسانس ها، مواد معطر، مواد مؤثره دارویی، حشره کش ها، علف کش ها، قارچ ها، هورمون های گیاهی و مواد آللوپاتیک می باشند. متابولیت های ثانویه جزء گرانبهارترین ترکیبات شیمیایی گیاهی هستند. گیاهان دارویی از لحاظ میزان متابولیت های ثانویه بسیار غنی می باشند. کشور ایران نیز جزء کشورهای غنی از منابع گیاهان دارویی در جهان به شمار می رود که دارای تنوع بالای شرایط زیستگاهی برای انواع این گیاهان می باشد.

رشد گیاهان دارویی و هم چنین کیفیت و کمیت مواد مؤثره ی آن ها مستقیماً تحت تأثیر دو عامل اساسی محیط و ژنتیک می باشد. تغییرات اقلیمی و محیطی دارای اثراتی روی تمامی موجودات زنده شامل گیاهان و برهم کنش های میان آب و هوا و گیاهان دارویی می باشد. از جمله مهم ترین فاکتورهای تغییر دهنده ی شرایط حاکم بر بوم نظام ها، می توان به ارتفاع از سطح دریا اشاره کرد. تغییرات گرادیان دما در اثر تغییر ارتفاع از مهم ترین عوامل مؤثر در زندگی گیاهان می باشد. به طوری که با افزایش و یا کاهش ارتفاع و به دلیل وجود شرایط اقلیمی در ارتفاعات، عواملی چون دما، رطوبت نسبی، سرعت باد، میزان آب در دسترس و حتی تابش دریافتی نیز تغییر می کند. در ارتفاعات به دلیل تشعشعات بالا، دمای پایین، تغییرات سریع دما و کاهش فشار جزئی کربن دی اکسید، شرایط نامساعدی برای انجام عمل فتوسنتز ایجاد می گردد که می تواند برای رشد گیاهان محدود کننده باشد و یا حتی موجب افزایش روند مقابله ی ترکیبات ثانوی با تنش ایجاد شده گردد (Oncel *et al.*, 2004).

خصوصیات مختلف خاک بر چگونگی رشد و نمو و نیز بر میزان مواد مؤثره ی گیاهان تأثیر دارد ولی نمی توان مثلاً فقط به خصوصیات فیزیکی یا شیمیایی یک خاک از این نظر اکتفا نمود. کاشت و تکثیر یک گونه ی گیاه در خاک های کاملاً مشابه ممکن است منجر به حصول نتایج متفاوتی از نقطه نظر مواد دارویی یا حتی چگونگی رشد و نمو گردد. عناصر غذایی

خاک با تأثیری که بر رشد رویشی و زایشی گیاهان دارویی دارند باعث تغییراتی در عملکرد محصول می‌شوند و کیفیت و کمیت مواد مؤثره ی آن‌ها را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهند (Grudwald & Buttei, 1996).

فرفیون خانواده بزرگی از گیاهان می‌باشد که از ۳۰۰ جنس و بیش از ۸۰۰ گونه تشکیل شده است (Al-Younis *et al.*, 2009). فرفیون گیاهی یک ساله و دو لپه از تیره ی Euphorbiaceae می‌باشد. و به عنوان یک علف هرز مهم در پهنه ی وسیعی از مناطق به خصوص مناطق گرمسیری جهان شامل اکثر مناطق اروپا، شمال آفریقا و کشورهای شرق آسیا به ویژه در هند و مالزی پراکنده هستند. تعداد زیادی از ترکیبات ثانوی در گیاه فرفیون وجود دارد که شامل تری ترپنوئیدها، دی ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، تانن‌ها، استروئیدها و چربی می‌باشد (Pieroni *et al.*, 2004). در این مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره های متانولی حاصل از گیاه فرفیون از ۳ منطقه با ارتفاع متفاوت جمع‌آوری تا به بهترین شرایط برای بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه بررسی شود.

مواد و روش‌ها

گیاه فرفیون در استان مازندران، از سه منطقه با ارتفاع‌های متفاوت به ترتیب از روستای عالی کلا با ارتفاع ۱۸۶۱ متر و روستای چالو با ارتفاع ۹۴۹ متر از شهرستان کیاسر و روستای گلورد با ارتفاع ۲۳۶ متر از شهرستان ساری در بهار ۱۳۹۶ جمع‌آوری و بعد از شستشو توسط آب در محیط سایه در هوای آزاد خشک شدند. نمونه‌های خشک شده پس از پودر شدن در یخچال نگهداری و برای آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت (Stark *et al.*, 2008). به منظور عصاره‌گیری از روش خیساندن استفاده شد که در این روش ۱۵ گرم از اندام خشک (ریشه، ساقه و برگ) گیاه با ۵۰ میلی‌لیتر متانول مخلوط شد. محلول فوق به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد و هر ۴ الی ۵ ساعت یک بار هم زده شد سپس عمل صاف کردن با استفاده از کاغذ صافی انجام شد و با استفاده از روتاری (Rotavapor® R-100) تغلیظ و کلروفیل زدایی گردید سپس ۵۰ میلی‌لیتر به آن آب مقطر اضافه شد.

مجدداً محلول فوق صاف و عصاره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد (Rabie, *et al.*, 2012).

اندازه‌گیری محتوای فنول کل عصاره‌ها

محتوای تام فنولی با استفاده از واکنش گر فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره (۱۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) با ۰/۵ میلی‌لیتر محلول واکنش گر فولین سیوکالتیو و ۰/۰۵ میلی‌لیتر از محلول ۱۰٪ کربنات سدیم مخلوط گردید و سپس جذب آن در ۷۶۰ نانومتر پس از هم زدن به مدت ۱ ساعت در مقابل بلانک قرائت شد. اسید گالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد و محتوای تام فنولی بر اساس اکی‌والان میلی‌گرم گالیک اسید در گرم

عصاره تست و گزارش شد (Singleton & Rossi, 1965). آزمایشات ۳ بار تکرار شد و میانگین جذب حاصله در معادله ی خط به دست آمد و گزارش شد.

اندازه گیری محتوای تام فلاونوئید عصاره ها

میزان محتوای فلاونوئید هر عصاره از طریق روش های رنگ سنجی ارزیابی شد (Chang *et al.*, 2002). غلظت ۱ میلی گرم / میلی لیتر از هر عصاره تهیه شد. ۰/۵ میلی لیتر از نمونه در ۱/۵ میلی لیتر متانول حل شد. سپس ۰/۱ میلی لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰٪ به آن اضافه و سپس ۰/۱ میلی لیتر از محلول پتاسیم استات ۱ مولار و در نهایت ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر هم به آن اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس جذب مخلوط حاصل در طول موج ۴۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکترو فوتومتر مرئی ماوراء بنفش اندازه گیری شد. کوئرستین به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. میزان فلاونوئید بر اساس میزان معادل میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش گردید. آزمایشات ۳ بار تکرار شد و میانگین آن ها گزارش شد (Singleton & Rossi, 1965).

ارزیابی میزان توانایی به دام اندازی رادیکال DPPH

۴ میلی لیتر از هر عصاره (۱-۲۰ میلی گرم/میلی لیتر) با ۱ میلی لیتر محلول رادیکال DPPH ۱۰ میکرومولار (غلظت پایانی ۰/۲ میلی مولار DPPH) مخلوط و پس از هم زدن به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی، جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد و توانایی جاروب کنندگی عصاره محاسبه شد. آزمایشات ۳ بار تکرار گردید و میانگین آن ها گزارش شد. ویتامین ث به عنوان شاهد مثبت برای مقایسه به کار گرفته شد (Singleton & Rossi, 1965).

ارزیابی میزان به دام اندازی نیتریک اکساید

این روش بر این مبنا استوار است که سدیم نیترو پروساید در محلول های آبی در pH فیزیولوژیک به آهستگی نیتریک اکساید تولید می کند که با اکسیژن محیط وارد عمل می شود و یون نیتريت تولید می نماید. یون نیتريت تولید شده در حضور واکنش گر گریس مورد سنجش قرار می گیرد. به دام اندازی نیتریک اکساید در رقابت با اکسیژن موجب کاهش تولید یون نیتريت خواهد شد. به این منظور سدیم نیترو پروساید (۱۰ میلی مولار) در بافر سالین فسفات با غلظت های مختلفی از عصاره که جداگانه در آب حل شده بودند، مجاور شد. مجموعه به مدت ۱۵۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. همان مخلوط واکنش بدون عصاره (اما مقادیر هم حجم آب مقطر) به عنوان بلانک به کار گرفته شد. بعد از سپری شدن زمان انکوباسیون، ۰/۵ میلی لیتر واکنشگر گریس (شامل: سولفانیل آمید ۰/۱٪، نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلرید ۰/۱٪ در اسید فسفریک ۰/۲٪) اضافه شد.

جذب مخلوط در ۵۴۶ نانومتر قرائت شد. آزمایشات ۳ بار تکرار و میانگین آن ها گزارش شد. کوئرتستین به عنوان استاندارد برای مقایسه به کار گرفته شد (Singleton & Rossi, 1965).

تعیین قدرت احیا کنندگی

میزان قدرت احیا کنندگی عصاره‌ها با استفاده از روش Vinatoru و همکاران (۱۹۹۷) ارزیابی شد. غلظت های مختلف از هر عصاره تهیه شد و با ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH= ۶/۵ و ۲/۵ میلی لیتر محلول ۱ درصد پتاسیم فری سیانید $[K_3Fe(CN)_6]$ مخلوط شد. سپس در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شد، سپس ۲/۵ میلی لیتر از محلول تری کلرواستیک اسید به نمونه ها اضافه شد تا واکنش متوقف شود. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. پس از اتمام این مرحله ۲/۵ میلی لیتر از قسمت بالای محلول با ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و ۰/۵ میلی لیتر محلول ۰/۱ درصد فریک کلراید $(FeCl_3)$ به آن اضافه شد. سپس جذب محلول در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. در این آزمایش آسکوربیک اسید با غلظت های ۰/۲۵، ۰/۵، ۱/۰، ۲/۰، ۴/۰، ۸/۰ میکرو گرم در میلی لیتر به عنوان استاندارد استفاده شد. آزمایش برای هر نمونه و استاندارد سه بار تکرار شد.

آنالیز خاک

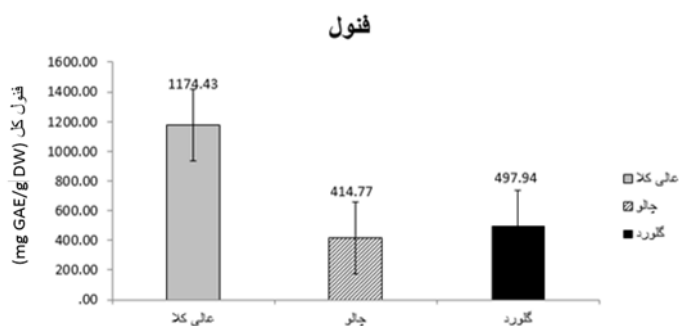
نمونه برداری خاک در استان مازندران و از سه منطقه با ارتفاع متفاوت به ترتیب از روستای عالی کلا با ارتفاع ۱۸۶۱ متر و روستای چالو با ارتفاع ۹۴۹ متر از شهرستان کیاسر و روستای گلورد با ارتفاع ۲۳۶ متر از شهرستان ساری در بهار ۹۶ جمع آوری گردید. از هر یک از این مناطق، سه نقطه به صورت تصادفی انتخاب و با بیلچه در عمق ۳۰-۲۰ سانتی متر تقریباً ۱ کیلوگرم خاک برداشته شد و سپس این نمونه ها کاملاً با هم مخلوط شد، و یک نمونه ی ۱ کیلوگرمی از آن را به عنوان نمونه ی خاک آن منطقه به آزمایشگاه ارسال شد. خصوصیات فیزیکی شیمیایی خاک شامل بافت خاک (Bouyoucos, 1962)، کربن آلی و مواد آلی خاک (Walkey & Black, 1934)، پتاسیم قابل جذب (دستگاه Flame photometer)، فسفر قابل جذب (Olson *et al.*, 1954) نیتروژن خاک (روش کج‌دال)، آهک خاک (خنثی نمودن با اسید کلریدریک)، عناصر کم مصرف (Lindsay & Norvell, 1978) و هدایت الکتریکی (گل اشباع) در این مطالعه اندازه گیری شد (Black, 1979).

تجزیه و تحلیل داده ها

برای تجزیه ی آماری داده های به دست آمده از نرم افزار Minitab نسخه ۱۶ استفاده شد. مقایسه ی میانگین تیمارها، با آزمون حداقل تفاوت معنی داری (LSD) انجام و $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی دار بودن اختلاف ها در نظر گرفته شد. نمودارها با استفاده از برنامه Excel 2016 ترسیم شد.

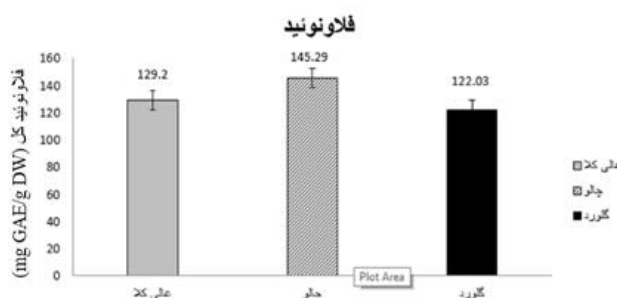
نتایج

محتوای فنول کل با روش فولین سیو کالتیو به صورت اکی والان گالیک اسید در گرم عصاره بر اساس معادله ی خط منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه شد. میزان فنول کل عصاره های گیاه فرفیون بر حسب میلی گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک ۳ منطقه ی مورد مطالعه در شکل ۱ نشان داده شد. بیشترین مقدار ترکیبات فنول کل مربوط به عصاره ی فرفیون در منطقه ی عالی کلا است. از تحلیل واریانس داده ها، رابطه ی معنی داری میان میزان فنول در هر سه منطقه عالی کلا، چالو و گلورد در سطح ۰/۰۰۱ مشاهده شده است.

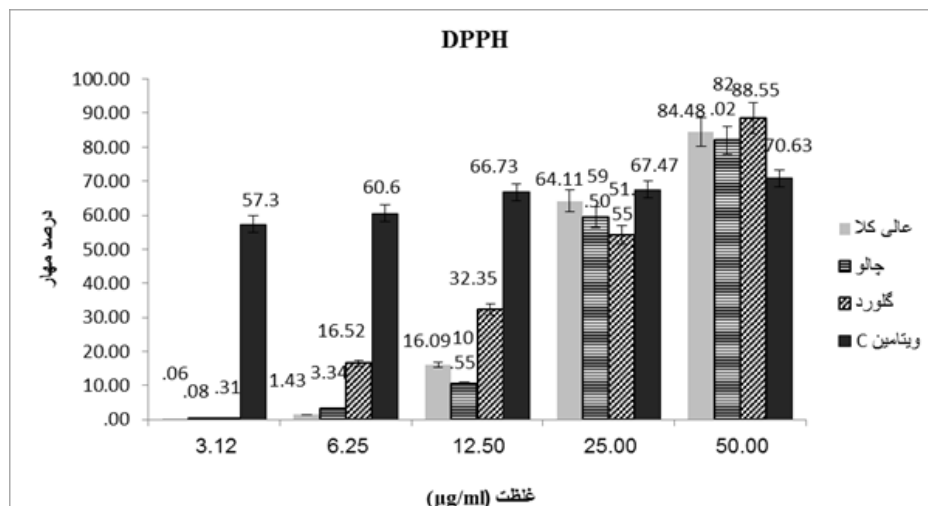


شکل ۱: نمودار مقایسه ای مقدار ترکیبات فنولی تام عصاره های گیاه فرفیون بر حسب میلی گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک (میانگین ۳ تکرار \pm انحراف معیار)

محتوای فلاونوئید کل بر مبنای معادله ی خط منحنی استاندارد به صورت اکی والان میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره محاسبه شد و میزان نوسانات فلاونوئید عصاره های گیاه فرفیون در ۳ منطقه مورد مطالعه در شکل ۲ نشان داده شد. بیشترین مقدار ترکیبات فلاونوئید مربوط به گیاه فرفیون در منطقه ی چالو است. تحلیل واریانس داده ها، رابطه ی معنی داری میان میزان فلاونوئید در هر سه منطقه ی عالی کلا، چالو و گلورد در سطح ۰/۰۰۱ نشان می دهد.

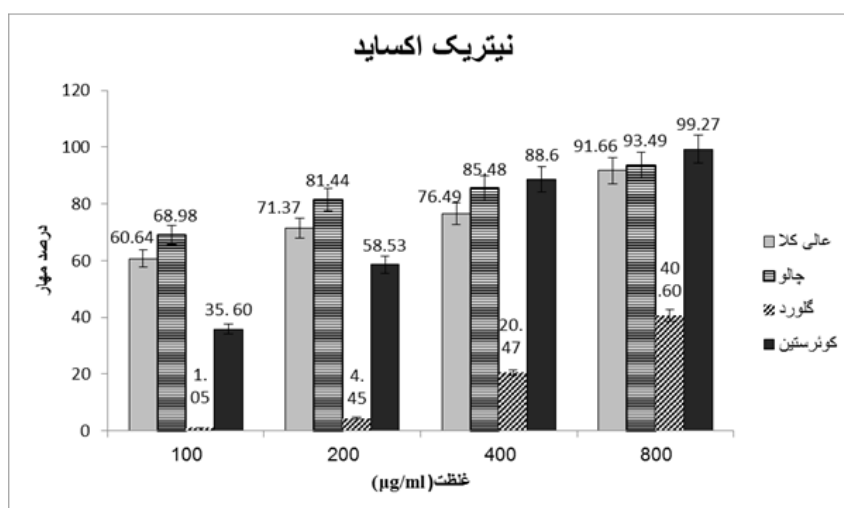


شکل ۲: نمودار مقایسه ای مقدار ترکیبات فلاونوئیدی تام عصاره های گیاه فرفیون بر حسب میلی گرم کوئرستین در گرم وزن خشک (میانگین ۳ تکرار \pm انحراف معیار)



شکل ۳: ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های گیاه فرفیون مناطق مختلف و استاندارد با روش DPPH

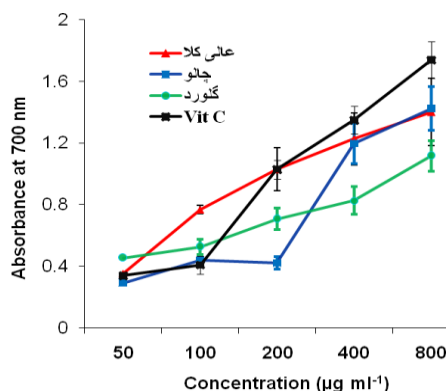
طبق آنالیز آماری، شکل (۳) نشان می دهد که رابطه ی معناداری بین منطقه ی عالی کلا با چالو در سطح ۰/۰۱، عالی کلا با گلورد و چالو با گلورد هر دو در سطح ۰/۰۰۱ وجود دارد. از طرفی طبق آنالیز آماری با مقایسه ی این سه منطقه با استاندارد ویتامین ث، اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۰۱ میان آن ها مشاهده شده است.



شکل ۴: ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های گیاه فرفیون مناطق مختلف و استاندارد با روش بدام اندازی رادیکال نیتریک اکساید

طبق آنالیز آماری، شکل (۴) نشان می دهد که رابطه ی معناداری بین منطقه ی عالی کلا با گلورد و چالو با گلورد در سطح ۰/۰۰۱ وجود دارد. اما بین منطقه ی عالی کلا با چالو این اختلاف معنادار نبود. از طرفی طبق آنالیز آماری با مقایسه ی

این سه منطقه با استاندارد کوئرستین، نشان می دهد که اختلاف معنادار بین منطقه ی عالی کلا با کوئرستین در سطح ۰/۰۱ و با گلورد در سطح ۰/۰۱ وجود دارد. اما میان چالو با کوئرستین هیچ گونه رابطه ی معناداری مشاهده نشده است.



شکل ۵: نمودار مقایسه ای میزان خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ی گیاه فرفیون و استاندارد ویتامین C در احیا آهن III

بر اساس شکل (۵)، نتایج نشان داد که قدرت احیاکنندگی عصاره ها با افزایش غلظت زیاد می شود. هم چنین اگرچه نمودار ظاهراً نشان می دهد که عصاره ی متانولی فرفیون منطقه ی چالو و عالی کلا نسبت به منطقه ی گلورد، قدرت احیاکنندگی بهتری را دارا است، اما طبق آنالیز آماری با مقایسه ی این سه منطقه با یکدیگر، هیچ گونه اختلاف معناداری بین آن ها مشاهده نشده است. از طرفی طبق آنالیز آماری با مقایسه ی این سه منطقه با استاندارد ویتامین C، نتایج نشان می دهد که اختلاف معنادار بین منطقه ی گلورد با ویتامین C در سطح ۰/۰۰۱ وجود دارد. اما با مناطق عالی کلا و چالو این اختلاف معنادار نبود.

جدول ۱: همبستگی بین ترکیبات فنولی و فلاونوئید و فعالیت آنی اکسیدانی با فاکتورهای محیطی و خاک در عصاره گیاه فرغیون

	Flavonoid	Phenol	DPPH	Reducing	Nitric	EC	PH	CCE	N	OM	O.C
Flavonoid	1										
Phenol	-.312	1									
DPPH	.339	-.786*	1								
Reducing	.644	.242	.677*	1							
Nitric oxide	.756*	.383	.868**	.810**	1						
EC	.385	.754*	.995**	.685*	.893**	1					
PH	.178	-.990**	-.863**	-.346	-.838**	-.838**	1				
CCE	-.257	-.837**	-.993**	-.620	-.826**	-.989**	.905**	1			
N	-.123	.981**	.890**	.388	.554	.867**	-.998**	-.927**	1		
OM	-.122	.981**	.890**	.389	.556	.868**	-.998**	-.928**	1.000**	1	
O.C	-.121	.981**	.890**	.389	.556	.868**	-.998**	-.928**	1.000**	1.000**	1
SAND	.588	.566	.943**	.790*	.961**	.861**	-.672*	-.912**	.712*	.713*	.713*
SILT	.205	-.913**	-.762*	-.207	-.429	-.730*	.917**	.816**	-.910**	-.911**	-.911**
CLAY	-.715*	-.402	-.856**	-.732*	-.974**	-.875**	.521	.825**	-.564	-.567	-.567
Fe	.549	.621	.969**	.752*	.962**	.982**	-.724*	-.949**	.761*	.762*	.762*
Mn	.626	.543	.942**	.777*	.983**	.959**	-.654	-.914**	.695*	.697*	.697*
Zn	.993**	-.408	.239	.598	.686*	.289	.278	-.158	-.224	-.223	-.223
Cu	.842**	-.418	.138	.543	.525	.185	.312	-.050	-.262	-.264	-.264
av.D	-.902**	.688*	.096	-.379	-.406	.046	-.580	-.178	.535	.533	.533
av.k	-.374	.998**	.744*	.193	.322	.710*	-.979**	-.799**	.966**	.966**	.966**
Altitude	.235	.849**	-.55**	.610	.813**	.986**	-.914**	-.1.000**	.935**	.936**	.936**
precipitation	-.652	.157	-.248	-.306	-.496	-.247	-.072	.202	.040	.041	.041
Temp	-.635	-.496	.60**	-.636	-.84**	-.94**	.606	.871**	-.647	-.649	-.649
MinTemp	-.672*	-.462	-.888**	-.666	-.970**	-.915**	.576	.859**	-.619	-.621	-.621
MaxTemp	-.584	-.540	-.907**	-.605	-.935**	-.930**	.644	.886**	-.682*	-.684*	-.684*

	SAND	SILT	CLAY	Fe	Mn	Zn	Cu	av.p	av.k	Altitude	precipitation	Temp	MinTemp	MaxTemp
Flavonoid	.588	.205	-.715*	.549	.626	.993**	.842**	-.902**	-.374	.235	-.652	-.635	-.672*	-.584
Phenol	.566	-.913**	-.402	.621	.543	-.408	-.418	.688*	.998**	.849**	.157	-.496	-.462	-.540
DPPH	.943**	-.762*	-.856**	.969**	.942**	.239	.138	.096	.744*	-.55**	-.248	-.897**	-.888**	-.907**
Reducing	.790*	-.207	-.732*	.752*	.777*	.598	.543	-.379	.193	.610	-.306	-.636	-.666	-.605
Nitric oxide	.961**	-.429	-.974**	.962**	.983**	.686*	.525	-.406	.322	.813**	-.496	-.955**	-.970**	-.935**
EC	.961**	-.730*	-.875**	.982**	.959**	.289	.185	.046	.710*	.986**	-.247	-.923**	-.915**	-.930**
PH	-.672*	.917**	.521	-.724*	-.654	.278	.312	-.580	-.979**	-.914**	-.072	.606	.576	.644
C.C.F	-.912**	.816*	.825**	-.949**	-.914**	-.158	-.050	-.178	-.799**	-.1000**	.202	.871**	.859**	.886**
N	.712*	-.910**	-.564	.761*	.695*	-.224	-.262	.535	.966**	.935**	.040	-.647	-.619	-.682*
OM	.713*	-.911**	-.567	.762*	.697*	-.223	-.264	.533	.966**	.936**	.041	-.649	-.621	-.684*
O.C	.713*	-.911**	-.567	.762*	.697*	-.223	-.264	.533	.966**	.936**	.041	-.649	-.621	-.684*
SAND	1	-.517	-.904**	.983**	.987**	.503	.449	-.189	.512	.906**	-.352	-.941**	-.944**	-.932**
SILT	-.517	1	.533	-.634	-.561	.292	.513	-.552	-.905**	-.821**	.021	.547	.520	.586
CLAY	-.904**	.533	1	-.945**	-.959**	-.648	-.383	.375	-.342	-.810**	.541	.951**	.964**	.934**
Fe	.983**	-.634	-.945**	1	.995**	.461	.323	-.141	.569	.941**	-.374	-.960**	-.962**	-.956**
Mn	.987**	-.561	-.959**	.995**	1	.544	.408	-.234	.487	.904**	-.428	-.966**	-.972**	-.956**
Zn	.503	.292	-.648	.461	.544	1	.847**	-.943**	-.468	.135	-.623	-.557	-.598	-.503
Cu	Z.449	.513	-.383	.323	.408	.847**	1	-.810**	-.465	.038	-.502	-.370	-.406	-.315
av.p	-.189	-.552	.375	-.141	-.234	-.943**	-.810**	1	.734*	.201	.560	.265	.310	.207
av.k	.512	-.905**	-.342	.569	.487	-.468	-.465	.734*	1	.813**	.199	-.440	-.404	-.486
Altitude	.906**	-.821**	-.810**	.941**	.904**	.135	.038	.201	.813**	1	-.187	-.860**	-.847**	-.876**
precipitation	-.352	.021	.541	-.374	-.428	-.623	-.502	.560	.199	-.187	1	.379	.411	.340
Temp	-.941**	.547	.85**	-.960**	-.92**	-.557	-.370	.265	-.440	-.860**	.379	1	.998**	.997**
MinTemp	-.944**	.520	.964**	-.962**	-.972**	-.598	-.406	.310	-.404	-.847**	.411	.998**	1	.990**
MaxTemp	-.932**	.586	.934**	-.956**	-.956**	-.503	-.315	.207	-.486	-.876**	.340	.997**	.990**	1

بدون ستاره عدم وجود اختلاف معنی دار

* معنی دار در سطح ۱٪

** معنی دار در سطح ۵٪

جدول (۱) نشان می دهد بین میانگین دمای سالیانه با فاکتورهای خاک از جمله هدایت الکتریکی (Ec)، آهن (Fe)، منگنز (Mn) و شن (Sand)، همبستگی منفی و معنی داری در سطح ۰/۰۱ وجود دارد. و با کلسیم کربنات (C.C.E) و رس (Clay) این همبستگی مثبت و معنی دار در سطح ۰/۰۱ می باشد. اما بین میانگین دمای سالیانه با فاکتورهایی از جمله PH، نیتروژن (N)، ماده ی آلی خاک (OM)، کربن آلی (OC)، روی (Zn)، مس (Cu)، پتاسیم قابل جذب (av.K)، فسفر قابل جذب (av.P) و لای (Silt) همبستگی معناداری وجود ندارد.

بین میانگین حداقل دمای سالیانه با محتوای فلاونوئیدی و با آزمون نیتریک اکساید و DPPH همبستگی منفی و معنی داری به ترتیب در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱ وجود دارد ولی با محتوای فنولی کل و قدرت احیاکنندگی همبستگی معنی داری مشاهده نشده است. همچنین بین میانگین حداقل دمای سالیانه با فاکتورهای خاک از جمله هدایت الکتریکی (Ec)، آهن (Fe)، منگنز (Mn) و شن (Sand) همبستگی منفی و معنی داری در سطح ۰/۰۱ و با کلسیم کربنات (C.C.E) و رس (Clay) همبستگی مثبت و معنی داری در سطح ۰/۰۱ وجود دارد.

بین میانگین حداکثر دمای سالیانه با آزمون نیتریک اکساید و DPPH همبستگی منفی و معنی داری در سطح ۰/۰۱ وجود دارد ولی با محتوای فنولی و فلاونوئیدی و قدرت احیاکنندگی همبستگی معنی داری مشاهده نشده است. همچنین بین میانگین حداقل دمای سالیانه با فاکتورهای خاک از جمله هدایت الکتریکی (Ec)، آهن (Fe)، منگنز (Mn) و شن (Sand) همبستگی منفی و معنی داری در سطح ۰/۰۱ و با نیتروژن (N)، ماده ی آلی خاک (OM) و کربن آلی (OC) همبستگی منفی و معنی داری در سطح ۰/۰۵ وجود دارد. در کلسیم کربنات (C.C.E) و رس (Clay) همبستگی مثبت و معنی داری در سطح ۰/۰۱ وجود دارد اما در پارامترهایی از قبیل PH، روی (Zn)، مس (Cu)، پتاسیم قابل جذب (av.K)، فسفر قابل جذب (av.P) و لای (Silt) همبستگی معناداری وجود ندارد.

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که گیاه فرفیون منطقه ی عالی کلا بیشترین میزان فنول را نسبت به دو منطقه ی دیگر دارا است. همسو با نتایج این مطالعه گزارش شده است که بین فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنولی رابطه ی خاص و معنی داری وجود ندارد (Hinneburg *et al.*, 2006). هم چنین بر خلاف همبستگی مثبتی که قبلاً بین ترکیبات فنولی با فعالیت آنتی اکسیدانی گزارش شده بود (Jahanban *et al.*, 2008) و (Josuttis *et al.*, 2012) ارتباطی بین ترکیبات فنولی با فعالیت آنتی اکسیدانی در این تحقیق یافت نشد. شواهد زیادی نیز نشان می دهد که تحت شرایط محیطی مختلف، تولید برخی از این ترکیبات ثانوی افزایش می یابد، اما دلایل زیادی نیز وجود دارد که این تأثیر همیشگی نیست. در موارد زیادی

نیز کاهش میزان متابولیت های ثانوی در شرایط تنش دیده می شود، از طرفی تأثیر تنش بر همه ی این ترکیب ها یکسان نیست.

در مورد ترکیبات فلاونوئیدی نیز فرفیون منطقه ی چالو بیشترین مقدار فلاونوئید را نسبت به دو منطقه ی دیگر نشان داد. افزایش سطح فلاونوئیدها در رژیم غذایی، به کاهش برخی بیماری ها در انسان منجر می شود Hertog و همکاران (۱۹۹۳) و Jaakola و Hohtola (۲۰۱۰) در مورد عوامل مؤثر بر تولید فلاونوئیدها این گونه بیان کردند که هر عاملی که در رشد و نمو گیاه مؤثر است، می تواند در تولید متابولیت ها نیز مؤثر باشد. Hemmati و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی گیاه سرخ ولیک نشان دادند که مکان بر میزان فلاونوئید گیاه اثر معنی داری دارد. Oomaha و Mazza (۱۹۹۶) نشان دادند که با افزایش ارتفاع، میزان ترکیبات فلاونوئیدی در اندام های گیاهی افزوده می شود که با نتایج ما همخوانی ندارد. طبق نتایج به دست آمده از این مطالعه، بهترین فعالیت آنتی اکسیدانی در آزمون DPPH و در بالاترین غلظت (۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) مربوط به منطقه ی گلورد می باشد. نتایج آزمون DPPH نشان داد که توانایی عصاره های گیاه فرفیون در سه منطقه ی مورد بررسی در مهار رادیکال های آزاد وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت فعالیت ضد رادیکالی آن ها افزایش می یابد. Rakic و همکاران (۲۰۰۷) دو گونه ی *Quercus cerris* L. و *Quercus rubra* L. را از نظر میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در غلظت های مختلف مورد ارزیابی قرار دادند و دریافتند که با افزایش غلظت عصاره ی متانولی، درصد مهار رادیکال آزاد به طور قابل ملاحظه ای افزایش یافت. نتایج تحقیقات Young Kil و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد DPPH عصاره های گیاهی به غلظت بستگی دارد و با افزایش غلظت اثر مهارکنندگی شدت می یابد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که گیاه فرفیون منطقه ی چالو، بهترین فعالیت آنتی اکسیدانی را در آزمون نیتریک اکساید و در بالاترین غلظت (۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به دو منطقه ی دیگر دارا می باشد هم چنین نتایج ما نشان داد که توانایی عصاره های گیاه فرفیون در سه منطقه ی مورد بررسی در مهار رادیکال های آزاد نیتریک اکساید وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت فعالیت ضد رادیکالی آن ها افزایش می یابد.

Fazli و همکاران (۲۰۱۳) با ارزیابی میزان فنول و فلاونوئید تام و فعالیت آنتی اکسیدانی پوست درختان راش و بلوط دریافتند که با افزایش غلظت، درصد مهار رادیکال آزاد نیتریک اکساید افزایش می یابد که با نتایج ما همخوانی دارد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که بهترین فعالیت آنتی اکسیدانی در آزمون احیاکنندگی آهن III در بالاترین غلظت (۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر)، مربوط به گیاه فرفیون منطقه ی چالو می باشد. مطابق با نتایج مطالعه ی حاضر در روش قدرت احیاکنندگی، جذب نوری نمونه ها رابطه ی مستقیمی با قدرت احیاکنندگی دارند. یعنی جذب نوری بیشتر بیانگر خاصیت احیاکنندگی بیشتر است. نظری و همکاران (۱۳۹۲) با بررسی خواص آنتی اکسیدانی و میزان فنول و فلاونوئید کل پوست

درختان اکالیپتوس کاملدولنسیس و کاج جنگلی دریافتند که با افزایش غلظت جذب نوری عصاره ها افزایش یافته است که این تحقیق با نتایج این مطالعه همخوانی دارد.

بررسی نتایج به دست آمده نشان می دهد که بین فاکتورهای خاک و میزان ترکیبات آنتی اکسیدان فنولی در عصاره ی گیاه فرفیون در هر سه منطقه ی عالی کلا، چالو و گلورد همبستگی معناداری وجود دارد. این همبستگی به این مفهوم می باشد که سنتز ترکیبات فنولی می تواند تحت تأثیر عوامل مشترکی قرار داشته باشد. درصد مواد آلی، کربن آلی، درصد ازت خاک، هدایت الکتریکی، فسفر و پتاسیم قابل جذب موجود در خاک با ترکیبات فنولی در عصاره ی گیاه فرفیون همبستگی مثبتی را نشان دادند. در صورتی که pH خاک، کلسیم کربنات و شن موجود در خاک همبستگی معنادار معکوس را با ترکیبات فنولی نشان دادند. عواملی مانند شوری می تواند بر متابولیت های ثانوی تأثیر گذار باشد. EC بالا سبب محدود کردن رشد گیاه می شود و در نهایت می تواند بر خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه تأثیر گذارد و میزان آن را پایین آورد. تحقیق Croteau و Keltawi (۱۹۸۷) نیز نشان داد که محیط های شور علاوه بر تأثیر منفی بر رشد گیاهان موجب کاهش تولید متابولیت های آن می شود. Dow و همکاران (۱۹۸۱) بیان کردند که شوری عملکرد اسانس را در گیاهان خانواده ی نعناع کاهش می دهد. Ozturk و همکاران (۲۰۰۴) نیز به نتایج مشابهی در مورد بادرنجبویه رسیدند. این گزارش ها با نتایج به دست آمده در این پژوهش همخوانی ندارد.

نتایج این مطالعه نشان داد که گونه ی فرفیون، دارای محتوای فنول و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی نسبتاً بالایی است که می توان از آن به عنوان یک گونه ی گیاهی دارویی بهره برد. عملکرد آنتی اکسیدانی گونه ی فرفیون تحت تأثیر شرایط آب و هوایی و همچنین خصوصیات رویشگاه و عوامل اداپتیکی تغییر می کند که این مطالعه این موضوع را ثابت کرد. شناسایی پتانسیل عصاره ی فرفیون و انتخاب رویشگاه و مرحله ی فنولوژی بهینه بسیار ضروری است تا امکان فراهم کردن استخراج مواد مؤثر در استفاده های کاربردی از فرآورده ها و توان افزایش عملکرد دارویی گیاهان را سبب شود.

منابع

- رهباریان، ر.، عزیزی، ا.، بهداد، آ.، میربلوک، آ. (۱۳۹۸) بررسی میزان تحمل گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.) به تنش کروم بر اساس رشد، شاخص های فتوسنتز و میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان. مجله زیست شناسی کاربردی (۱): ۳۳-۵۶.
- نظری، ص.، نظرزاد، ن.، ابراهیم زاده، م.ع. (۱۳۹۲) بررسی خواص آنتی اکسیدانی و میزان فنول و فلاونوئید کل پوست درختان اکالیپتوس کاملدولنسیس و کاج جنگلی. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات علوم چوب و کاغذ ایران (۳): ۲۸-۵۲۲-۵۳۳.
- Al-Younis, N.K. and Abdullah, A.F. (2009) Isolation and antibacterial evaluation of plant extracts from some medicinal plants in kurdistan region. Journal Duhok University. 12(1): 250-255.
- Black, C.A. (1979) Methodes of soil analysis. American Society of Agronomy. 2: 1572-1771.

- Bouyoucos, G.J. (1962) Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. *Agronomy Journal*. 54: 464-465.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric method. *Journal Food Drug Analysis*. 10: 178-182.
- Dow, A.I., Cline, T.A. and Hoving, E.V. (1981) Salt tolerance studies on irrigated mint. *Bulletin of Agricultural Research Center, Washington State University, Pullman*. 906 pp.
- Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Nabavi, S.M. and Eslami, B. (2010) Antihemolytic and antioxidant activities of *Allium paradoxum*. *Central European Journal of Biology*. 5(3): 338-345.
- Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Nabavi, S.M. and Pourmorad, F. (2010) Nitric oxide radical scavenging potential of some Elburz medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 9(32): 5212-5217.
- Fazli, R., Nazarnezhad, N., Ebrahimzadeh, M.A. and Zabihzadeh, M. (2013) Evaluation of the antioxidant capacities and total phenolic contents of beech and oak Barks. *Armaghane Danesh*: 18(2): 137-145.
- Ghasemi, K., Ghasemi, Y. and Ebrahimzadeh, M.A. (2009) Antioxidant activity, phenol and flavonoids contents of 13 Citrus species peels and tissues. *Pakistan Journal Pharmaceutical Sciences*. 22(3): 277-281.
- Grudwald, J. and Buttel, K. (1996) European phytotherapeutics market drugs made in germany. *Journal of Drugs Made in Germany*. 39: 6-11.
- Hemmati, K.H., Sharifani, M., Kalati, H. and Badiee, P. (2008) Flavonoid content of Hawthorn (*Crataegus monogyna*) in Iran. *International Horticultural Congress*. 765: 287-290.
- Hertog, M.G., Feskens, E.J., Hollman, P.C., Katan, M.B. and Kromhout, D. (1993) Dietary antioxidants flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly study. *Lancet*. 342: 1007-1011.
- Hinneburg, I., Damien Dorma, H.J. and Hiltunen, R. (2006) Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chemistry*. 97(1): 9-122.
- Jaakola, L. and Hohtola, A. (2010) Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. *Plant Cell and Environmental*. 1239-1241.
- Jahanban, A.S., Mahmoodzadeh, A., Hasanzadeh, A., Heidavi, R. and Jamei, R. (2008) Antioxidants and antiradicals in almond hull and shell (*Amygdalus communis* L.) as a function of genotype. *Food Chemistry*. 115: 529-533.
- Jayaprakasha, G.K. and Tamil selvi, K.K. (2003) Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis Vinifera*) seed extracts. *Food Research International*. 36: 117-122.
- Josuttis, M., Carlen, C., Crespo, P., Nestby, R., Toldam-Andersen, T.B., Dietrich, H. and Kruger, E. (2012) A comparison of bioactive compound of strawberry fruit from Europe affected by genotype and latitude. *Berry Research*. 2(2): 73-93.
- Keltawi, N.E. and Croteau, R. (1987) Salinity depression of growth and essential oil formation in spearmint and marjoram and its reversal by foliar applied cytokinin. *Phytochemistry*. 26: 1333-134.
- Khoshsokhan, F., Babalar, M., Poormeidani, A. and Fatahi, M.R. (2015) Antioxidant Activity, Total Phenolics and oil content of some *Thymus kotschyanus* and *Thymus daenensis* populations. *Plant Production and Technology*. 7:153-162.
- Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S. and Dean, L.A. (1954) Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. *USDA, Cire. 939, U. S. Gover. Prin. Office, Washington DC*.

- Oncel, I., Yurdakulol, E., Keles, Y., Kurt, L. and Yildiz, A. (2004) Role of antioxidant defense system and biochemical adaptation on stress tolerance of high mountain and steppe plants. *Acta Oecologica*. 26: 211-218.
- Oomaha, B.D. and Mazza, G. (1996) Flavonoids and antioxidative activities in buckwheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44(7): 1746-1750.
- Ozturk, A., Hpek, A., Unlukara, A. and Gurbuz, B. (2004) Effects of salt stress and water deficit on plant growth and essential oil content of lemon balm depression of growth and essential oil formation in (*Melissa officinalis* L.). *Pakistan Journal of Botany*. 36: 782-792.
- Pieroni, A., Quave, C.L. and Santorio, R.F. (2004) Folk pharmaceutical knowledge in the territory of the Dolomiti Lucane, inland southern Italy. *Journal of Ethnopharmacology*. 95: 373-384.
- Rabiei, K.H., Bekhradnia, S., Nabavi, S.M., Nabavi, S.F. and Ebrahimzadeh, M.A. (2012) Antioxidant activity of polyphenol and ultrasonic extracts from fruits of *Crataegus pentagyna* subsp. *elburensis*. *Natural Product Research*. 26(24): 2353-2357.
- Racic, S., Petrovic, S., Kukic, J., Jadranin, M., Tesevic, V. and Povrenovic, D. (2007) Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. *Food Chemistry*. 104: 830-834.
- Shaghghi, A. Nejad Ebrahimi, S. and Sonboli, A. (2019) Study of total phenolic, total flavonoid content and antioxidant potential in various organs of genus *Papaver* and *Glaucium* collected from Iran. *Journal of Plant Production Research*. 26(2): 195-214.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16: 144-158.
- Stark, S., Julkunen tiitto, R., Holappa, E., Mikkola, K. and Nikula, A. (2008) Concentration of foliar quercetin in natural populations of white birch (*Betula pubescens*) increase with latitude. *Chemical Ecology*. 34: 1382-1391.
- Vinatoru, M., Toma, M., Radu, O., Filip, P.I., Lazurca, D. and Nason, T.T. (1997) The use of ultrasound for the extraction of bioactive principle from plant materials. *Ultrasonics Sonochemistry*. 4(2): 135-139.
- Walkley, A. and Black, I.A. (1934) An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*. 37:29-38.
- Young Kil, H., Seong, E.S., Ghimire, B.K., Chung Hllm Kwon, S.S. and Goh, E.J. (2009) Antioxidant and antimicrobial activities of *Crude sorghum* extract. *Food Chemistry*. 115: 1234-1239.

The effect of ecological and edaphic factors on the active ingredients of *Euphorbia* (*Euphorbia helioscopia* L.)

N. Jafari^{1*}, S.M. Hosseini², M.A. Ebrahimzadeh³

Received: 2018.12.4

Accepted: 2020.6.2

Abstract

Euphorbia helioscopia L. is one of the important medicinal plants used in traditional medicine all over the world. This study was conducted to investigate the effect of ecological and edaphic factors on the active ingredients of this plant. For this purpose, the *Euphorbia* plant was collected from 3land whit different altitudes (1861, 949 and 236 m) and replicated 3 times. The plant extract was then prepared using acidic methanol and the phenol content of *Euphorbia* was calculated according to the standard curve of gallic acid and flavonoid based on the quercetin curve. Its antioxidant activity was also investigated in 3 methods of DPPH, nitric oxide and reducing power. This study has clearly shown that the biological activity of the plant extract depends on the amount of phenol and its flavonoids. The results of this study show that *Euphorbia* plant in Challufe region has the best antioxidant activity in the nitric oxide test and at the highest concentration (800 µg/ml) compared to the other two regions. Our results also showed that the ability of the extracts of *Euphorbia* in the three studied areas to inhibits nitric oxide free radicals and anti-radical activity of extracts increase with increasing of extract concentration. The results of this study showed that the species of *Euphorbia* had a high total phenol and flavonoid content and antioxidant activity which can be used as a medicinal plant species.

Keywords: Antioxidant activity, Ecological factors, *Euphorbia helioscopia*, Reducing power, Secondary compounds.

1- Associate Professor of Biology of Mazandaran University, Iran.

*(Corresponding Author: N.Jafari@umz.ac.ir)

2- MSc in Ecology and Systematics of Mazandaran University, Iran.

3- Professor of Pharmaceutical Chemistry, Sari University of Medical Sciences, Iran.

اثر سطوح مختلف سین بیوتیک با یومین ایمبو بر شاخص های رشد و بقاء بچه ماهی سیکلید (*Amatitlania nigrofasciata*) زندانی

رضا چنگیزی^{۱*}، حامد منوچهری^۲، سیدمهدی حسینی فرد^۳، شایان قبادی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۵/۵

چکیده

این پژوهش به منظور ارزیابی تأثیر سطوح متفاوت سین بیوتیک با یومین ایمبو بر شاخص های رشد، تغذیه و بازماندگی در بچه ماهیان سیکلید زندانی (*Amatitlania nigrofasciata*) به مدت ۶۰ روز انجام گرفت. آزمایش با استفاده از طرح کاملاً تصادفی شامل سطوح صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱، ۱/۵ گرم سین بیوتیک به ازای هر کیلوگرم جیره در قالب چهار تیمار با سه تکرار طراحی شد. آزمایش درون آکواریوم های ۲۰۰ لیتری با ۱۷۰ لیتر آب انجام گرفت. تعداد ۱۰ عدد بچه ماهی سیکلید زندانی با میانگین وزنی $20/39 \pm 3/62$ گرم درون مخازن، ذخیره سازی و تا حد سیری تغذیه شدند. بر اساس نتایج میزان ضریب تبدیل غذایی و نسبت کارایی پروتئین در ماهیان تغذیه شده با سطح ۰/۵ گرم در کیلوگرم سین بیوتیک از پیشرفت معنی داری نسبت به تیمار شاهد برخوردار بود ($P < 0/05$). همچنین میزان افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و میزان بیومس، افزایش معنی داری را در تیمار ۱ گرم در کیلوگرم سین بیوتیک از خود نشان دادند ($P < 0/05$). از نظر بازماندگی تفاوت معنی داری در بین تیمارها مشاهده نگردید ($P > 0/05$). اما حداکثر بازماندگی در تیمارهای ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم در کیلوگرم سین بیوتیک مشاهده شد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر می توان چنین استنباط نمود که افزودن سین بیوتیک با غلظت ۱ گرم در هر کیلوگرم جیره غذایی می تواند در برخی از فاکتورهای رشد و تغذیه بچه ماهیان سیکلید زندانی موثر واقع شود و به عنوان یک مکمل مناسب برای جیره غذایی این گونه مد نظر قرار گیرد.

واژه های کلیدی: بازماندگی، رشد، سین بیوتیک با یومین ایمبو، ماهی سیکلید زندانی

۱- استادیار، گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، مازندران، ایران

* (نویسنده مسئول: changizi@baboliau.ac.ir)

۲- استادیار، گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، مازندران، ایران

۳- استادیار، گروه دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، مازندران، ایران

۴- استادیار، گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، مازندران، ایران

مقدمه

در سال های اخیر، در کنار افزایش فعالیت های آبی پروری در مقیاس تجاری در دنیا، مسئله توسعه و پیشرفت فعالیت های مربوط به پرورش ماهیان زینتی نیز از اهمیت بسزایی برخوردار گردید (Biondo, 2017). ماهیان زینتی جزء بارزترین آبزیان از نظر قیمت به ازاء واحد وزن بدن هستند به طوری که ملاک ارزش گذاری آنها بیشتر به پارامترهایی مانند زیبایی، فراوانی و اندازه شان مربوط می شود (Cervino et al., 2003). از نظر پراکندگی جغرافیایی این ماهیان عمدتاً در مناطق استوایی یافت می شوند. در گذشته ماهیان زینتی آب شیرین بیشتر از طبیعت صید می شدند اما با کاهش ذخایر طبیعی و افزایش تقاضا، امروزه بسیاری از آنها در سراسر جهان تکثیر و پرورش می یابند، به طوریکه از حدود بیست هزار گونه ماهی آکواریومی شناسایی شده در دنیا، فقط بر روی تعداد ۱۰۰۰ گونه از آنها فعالیت های تکثیر و پرورشی انجام می گیرد (Whittington and Chong, 2007). برای بهینه سازی امر تکثیر و پرورش هر گونه از آبزیان، شناخت دقیق از روند بوم شناسی، تغذیه، رفتار و تولید مثل از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشد (Santos et al., 2017). لذا با توجه به امکانپذیر بودن تکثیر و پرورش برخی از گونه های ماهیان زینتی در کشور می توان با ایجاد مراکز پیشرفته ی تکثیر و پرورش در مکان های مستعد زمینه ی ایجاد اشتغال و جلوگیری از خروج ارز را فراهم نمود. در این راستا ماهی سیکلید زندانی *Amatitlania nigrofasciata* از خانواده سیکلیدها، جزو گونه های آکواریومی ماهیان زینتی پر طرفدار است و از پتانسیل بالایی برای پرورش به عنوان یک گونه ی مطلوب تجاری برخوردار می باشد و همچنین می توان آن را به عنوان یک مدل آزمایشگاهی برای ماهیان ماکول با شرایط زیستی مشابه در نظر گرفت.

در حال حاضر چالش عمده در آبی پروری تجاری، بهبود جیره های غذایی فرموله شده برای بهینه سازی رشد و ارتقاء سلامت ماهیان می باشد. در سالهای اخیر تحقیقات فراوانی بر روی ترکیبات و مکمل های غذایی برای بالا بردن سلامت موجود و کارایی تغذیه صورت گرفته است. عوامل مختلفی می توانند بر روی کارایی تولید ماهیان تأثیرگذار باشند اما کاهش مرگ و میر و یا کاهش عوامل بیماریزا از نکات مهمی هستند که بایستی همواره مد نظر قرار گیرند (Souza et al., 2018). محققین علوم تغذیه بر این باورند که افزایش کارایی تولید آبزیان، به فرمولاسیون جیره غذایی و روش تولید آن وابسته خواهد بود و آن نیز به عواملی همچون انرژی، ترکیبات غذایی موجود، پروتئین، چربی، ویتامین، مواد معدنی، قابلیت هضم، ماهیت ترکیبات، قیمت و دسترسی مداوم به آنها بستگی دارد (Souza et al., 2018).

استفاده از مواد غذایی با کیفیت و مکمل های غذایی محرک سیستم ایمنی مناسب که منجر به افزایش هر چه بیشتر رشد ماهیان گردد، همواره مورد توجه متخصصین تغذیه بوده است. تاکنون روش های زیادی برای به کارگیری تحریک کننده های

رشد و ایمنی گزارش شده است، این مواد ممکن است تزریقی باشد و یا با غذا مخلوط شوند. نتایج این امر ممکن است به وسیله آزمایشها، تعیین پارامترهای ایمنی و یا مقابله ماهی با عوامل بیماری‌زا مورد ارزیابی قرار گیرد (Hamid et al., 2016).

ایده‌ی نسبتاً جدیدی که در این رابطه مطرح شده است مکمل غذایی سین بیوتیک می‌باشد. سین بیوتیک ترکیبی از پروبیوتیک و پری بیوتیک است که اثرات سودمندی برای میزبان از طریق القاء مکمل‌های غذایی میکروبی زنده در دستگاه گوارش دارد. این روند بواسطه‌ی تحریک انتخابی رشد و یا از طریق فعال کردن متابولیسم یک یا تعداد محدود از باکتریهای تقویت کننده سلامتی صورت می‌گیرد و در آخر منجر به بهبود بقاء و رشد میزبان می‌گردد (Kumar et al., 2018). پس از شناسایی پروبیوتیک‌ها و پریبیوتیک‌ها و مشخص شدن اثرات مثبت آنها در روند پرورش ماهیان، توجه به فلور باکتریایی آب و دستگاه گوارش این ماهیان بیشتر شده است و در نتیجه استفاده از سین بیوتیک‌ها مطرح شد. سین بیوتیک‌ها مزایای پروبیوتیک‌ها و پریبیوتیک‌ها را بصورت توأم دارند (Azimirad et al., 2016). وقتی که دو مکمل غذایی با هم استفاده شوند ممکن است به صورت افزایشی (Additivity)، سینرژیسم (همافزایی Synergism) یا به صورت پتانسیلی (Potentiation) عمل کنند. اثر افزایشی زمانی اتفاق می‌افتد که اثر دو ماده مورد استفاده با هم با مجموع اثرات فردی سنجیده شود. اثر هم افزایی، زمانی رخ می‌دهد که اثر ترکیبی حاصل از دو محصول به طور معنی داری بیشتر از مجموع اثر هر عامل به تنهایی باشد. استفاده از واژه پتانسیلی متفاوت است، برخی از فارماکولوژیست‌ها برای توصیف بیشتر اثر سینرژیسم نسبت به اثر تجمعی و برخی از این واژه برای توصیف اثری که دو ترکیب به صورت همزمان حضور دارند استفاده می‌کنند. این مواد علاوه بر تغییر توازن باکتریایی روده به سمت باکتری‌های مفید، اثرات بسیار مطلوبی بر بافت روده و کبد ماهیان دارند (Huynh et al., 2018). سین بیوتیک‌ها از طریق تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه و ویتامین‌های محلول در آب، هضم مواد غذایی پیچیده‌ی جیره با افزایش کارایی رشد و بازماندگی در طی دوره پرورش می‌شوند (Kumar et al., 2018). بنابراین با توجه به اهمیت موارد ذکر شده این تحقیق با هدف مطالعه اثر سین بیوتیک (بایومین ایمبو) برای اولین بار بر روی رشد، تغذیه و بازماندگی بچه ماهی سیکلید زندانی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به مدت ۷۰ روز در ۱۲ عدد تانک پرورش ماهیان زینتی ۲۰۰ لیتری صورت پذیرفت. در ابتدا و قبل از انجام آزمایش، بچه ماهیان سیکلید زندانی از تکثیر کننده مربوطه تهیه و با استفاده از غذای تجاری Biomar فاقد سین بیوتیک مورد تغذیه قرار گرفتند. در پایان دوره سازگاری در روز دهم تعداد ۱۰ عدد بچه ماهی با میانگین وزن ابتدایی $3/62 \pm 20/39$ گرم پس از زیست‌سنجی و اندازه‌گیری طول و وزن آنها به طور کاملاً تصادفی در هر یک از ۱۲ آکواریوم توزیع شدند.

سین بیوتیک مورد استفاده در این پروژه با نام تجاری بایومین ایمبو (Biomin imbo) از ترکیب *Enterococcus* probiotic = *Fucreto oligosaccharide faecium* lmb52 که از نوعی جلبک دریایی استخراج می شود و از دیواره های سلولی که تحریک کننده سیستم ایمنی هستند تشکیل شده است. ساخت شرکت Biomin کشور اتریش می باشد و از نماینده انحصاری آن در ایران (شرکت ایتوک فردا) تهیه شد. پس از مشخص شدن جیره غذایی بیومار به منظور تغذیه ی ماهیان سیکلید زندانی، سین بیوتیک بایومین ایمبو در مقادیر ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم به صورت اسپری به پلت های جیره ی پایه افزوده شد و روزانه سه بار تغذیه صورت پذیرفت (Huynh et al., 2017, Mehrabi et al., 2012). برای حفظ کیفیت آب به صورت روزانه در حدود ۱۰ درصد از آب هر تانک بوسیله قیف و شلنگ مکنده تخلیه و با آب تازه کلرزدایی شده جایگزین می گردید. در جدول شماره ۱ تجزیه ی شیمیایی جیره ی غذایی پایه بیومار که از طریق روش استاندارد AOAC (2013) در آزمایشگاه دامپزشکی پاستور تهران اندازه گیری گردید بیان شده است (Brunt and Sanders, 2013).

جدول ۱: تجزیه ی جیره ی تجاری بیومار مورد استفاده

برای تغذیه ی بچه ماهیان سیکلید زندانی

درصد	نوع ترکیب
۴۱	پروتئین خام
۶	چربی خام
۱۲	رطوبت
۸	خاکستر
۵	فیبر
۲۸	عصاره عاری از ازت ^۱
۸/۰۹	انرژی ناخالص (مگاژول بر کیلوگرم) ^۲

برای آگاهی از عملکرد جیره های غذایی و چگونگی رشد بچه ماهیان، در طول دوره تحقیق هر ۱۴ روز یکبار تمام ماهیان با ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شدند و طول استاندارد آنها با خط کش با دقت یک میلی متر، اندازه گیری می شد. لازم به ذکر است برای زیست سنجی و برای جلوگیری از استرس و تلفات، ماهیان هر مخزن بوسیله ی عصاره ی گل میخک (اژنول) با غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر آب بیهوش گردیدند و پس از خشک شدن با پارچه ی تمیز طول و وزن آنها اندازه گیری شد (Wang et al., 2017). سپس داده های حاصل از زیست سنجی و آزمایشات تغذیه ای طبق شاخص های رشد و تغذیه مورد محاسبه نهایی قرار گرفت (جدول ۲).

۱- عصاره عاری از ازت = (درصد فیبر + درصد رطوبت + درصد خاکستر + درصد چربی + درصد پروتئین) = ۱۰۰
 ۲- انرژی ناخالص (Mg/kg) = (درصد عصاره عاری از ازت × ۱۷) + (درصد چربی × ۳۹/۵) + (درصد پروتئین × ۲۳/۶)

جدول ۲: فاکتورهای رشد و تغذیه‌ی مورد بررسی

منبع	فرمول	فاکتور مورد نظر
(Xue et al., 2006)	$BWI = W_{t_2} - W_{t_1}$	افزایش وزن بدن
(Xue et al., 2006)	$PBWI (\%) = [(W_{t_2} - W_{t_1}) / W_{t_1}] \times 100$	درصد افزایش وزن بدن
(Luo et al., 2015)	$SGR(\% / \text{day}) = [(\ln W_{t_2} - \ln W_{t_1}) / t_2 - t_1] \times 100$	نرخ رشد ویژه (درصد در روز)
(Hu et al., 2013)	$CF = [W_{t_2} / L^3] \times 100$	فاکتور وضعیت Condition factor
(Xue et al., 2006)	$FCR = \text{feed eaten} / \text{g live weight gain}$	ضریب تبدیل غذایی
(Hu et al., 2013)	$PER (\text{g/g}) = \text{g live weight gain} / \text{g protein intake in fish}$	نسبت کارایی پروتئین
(Xue et al., 2006)	$\text{Survival rate} = (N_t - N_0) \times 100$	درصد نرخ بقاء
(Xue et al., 2006)	$(W_{t_2} \times N_t) - (W_{t_1} \times N_0)$	افزایش بیومس
گرم وزن اولیه ماهی	گرم وزن نهایی ماهی	طول کل نهایی ماهی (سانتیمتر)
W_{t_1}	W_{t_2}	L
غذای خورده شده (گرم)	وزن بدست آمده ماهی (گرم)	طول دوره آزمایش
feed eaten	liveweight gain	$t_2 - t_1$
پروتئین خورده شده (گرم)	تعداد ماهیان در انتهای دوره	تعداد ماهیان در ابتدای دوره
Protein intake in fish	N_t	N_0

تعداد ۱۲۰ عدد بچه ماهی جامعه آماری تحقیق مورد نظر را تشکیل دادند. در ابتدا آزمون نرمالیتی (normality) بوسیله آزمون Shapiro-Wilk انجام شد. تجزیه و تحلیل بر روی داده های مربوط به تغییرات معیارهای رشد، بازماندگی و کیفیت آب محیط پرورش از طریق آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (one-way analysis of variance ANOVA) و مقایسه‌ی میانگین بین تیمارها بر اساس آزمون چند دامنه ای (تست جدا ساز) دانکن (Duncans multiple-range test) صورت گرفت. در ابتدا اطلاعات خام در محیط Excel مورد پردازش قرار گرفت و در نهایت وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ با استفاده از نرم افزار SPSS (ویرایش هجدهم) انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از تأثیر سطوح مختلف سین بیوتیک با یومین ایمبو بر معیارهای رشد، تغذیه و بازماندگی در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۳: مقایسه ی برخی از معیارهای رشد و تغذیه (میانگین و انحراف معیار) بدست آمده در ماهیان سیکلید زندانی تغذیه شده با سطوح مختلف سین بیوتیک طی مدت ۶۰ روز

شاخص	تیمار	شاهد	سین بیوتیک ۰/۵g/kg	سین بیوتیک ۱g/kg	سین بیوتیک ۱/۵g/kg
وزن اولیه (گرم)	۱۹/۶۳±۰/۳۷ ^a	۱۹/۶۳±۰/۳۷ ^a	۲۰/۳۶±۰/۴۱ ^a	۱۹/۱۹±۰/۱۸ ^a	۱۹/۸۶±۰/۳۲ ^a
وزن نهایی (گرم)	۷۹/۷۳±۱/۹۳ ^d	۷۹/۷۳±۱/۹۳ ^d	۱۱۶/۸۳±۲/۰۸ ^b	۱۲۰/۹۴±۰/۹۰ ^a	۹۵/۳۶±۱/۵۴ ^c
افزایش وزن بدن (گرم)	۶۰/۰۹±۱/۵۵ ^c	۶۰/۰۹±۱/۵۵ ^c	۹۶/۴۶±۱/۶۶ ^a	۱۰۱/۷۴±۰/۷۱ ^a	۷۵/۴۹±۱/۲۲ ^b
درصد افزایش وزن بدن	۳۱۶/۳۱±۱۱/۵۲ ^d	۳۱۶/۳۱±۱۱/۵۲ ^d	۴۷۳/۸۲±۱۲/۶۴ ^b	۵۳۰/۲۲±۱۵/۸۵ ^a	۳۸۰/۱۶±۱۲/۶۴ ^c
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۲/۶۱±۰/۰۱ ^c	۲/۶۱±۰/۰۱ ^c	۲/۶۷±۰/۰۱ ^b	۲/۷۱±۰/۰۰۵ ^a	۲/۶۱±۰/۰۱ ^c
فاکتور وضعیت	۶/۱۷±۰/۴۸ ^a	۶/۱۷±۰/۴۸ ^a	۵/۷۳±۰/۹۶ ^a	۶/۲۲±۰/۶۲ ^a	۵/۴۶±۱/۰۰ ^a
افزایش بیومس (گرم)	۵۷۵/۹۱±۵۱/۲۱ ^c	۵۷۵/۹۱±۵۱/۲۱ ^c	۹۳۴/۶۶±۱۶/۶۵ ^a	۹۵۷/۴۷±۷/۱۷ ^a	۷۵۴/۹۳±۱۲/۲۱ ^b
ضریب تبدیل غذایی	۱/۶۲±۰/۰۱ ^a	۱/۶۲±۰/۰۱ ^a	۱/۵۶±۰/۰۰۵ ^b	۱/۰±۶۰/۰۰۵ ^{ab}	۱/۶۴±۰/۰۲ ^a
نسبت کارایی پروتئین	۱/۳۶±۰/۰۱ ^b	۱/۳۶±۰/۰۱ ^b	۱/۴۵±۰/۰۰۵ ^a	۱/۴۴±۰/۰۰۵ ^a	۱/۴۵±۰/۰۲ ^a
نرخ بازماندگی (درصد)	۹۰/۰۰±۱۰/۰۰ ^a	۹۰/۰۰±۱۰/۰۰ ^a	۱۰۰/۰۰±۰/۰۰ ^a	۱۰۰/۰۰±۰/۰۰ ^a	۱۰۰/۰۰±۰/۰۰ ^a

وجود حروف مشابه در هر ردیف بیانگر معنی دار نبودن اختلافات در بین تیمارها می باشد ($P > 0.05$).

بر اساس نتایج بیشترین میزان وزن نهایی در تیمار ۱ گرم سین بیوتیک مشاهده گردید که از تفاوت معنی داری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بود ($P < 0.05$). در انتهای دوره ی آزمایش افزایش معنی داری در تیمار ۱ گرم سین بیوتیک نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد. میزان نرخ رشد ویژه نیز در تیمار ۱ گرم تفاوت معنی داری نسبت به سایر تیمارها داشت ($P < 0.05$).

بر اساس نتایج هیچ گونه تفاوت معنی داری در میزان فاکتور وضعیت یا ضریب چاقی در بین ماهیان تغذیه شده با سین بیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نشد ($P > 0.05$). تولید خالص ماهی (بیومس) در بچه ماهیان تغذیه شده با سطح ۱ گرم در کیلوگرم سین بیوتیک جیره از افزایش معنی داری در مقایسه با تیمار شاهد و ۱/۵ گرم سین بیوتیک برخوردار بود ($P < 0.05$). در بین تیمارهای آزمایشی، بیشترین مقدار این شاخص در سطح ۱ گرم در کیلوگرم سین بیوتیک جیره معادل ۹۵۷/۴۷ گرم و کمترین مقدار تولید خالص در تیمار شاهد معادل ۵۷۵/۹۱ گرم مشاهده گردید. افزودن این مکمل در جیره با کاهش معنی داری را در میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۰/۵ گرم در کیلوگرم سین بیوتیک مقایسه با شاهد نشان داد ($P < 0.05$). نسبت کارایی پروتئین (PER) در ماهیان تغذیه شده با سطوح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم در کیلوگرم سین بیوتیک جیره افزایش معنی داری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند ($P < 0.05$). در مورد نرخ بازماندگی هیچ تفاوت معنی داری در بین تیمارها در مقایسه با تیمار شاهد صورت نگرفت ($P > 0.05$). در بین تیمارهای آزمایشی، بیشترین مقدار این شاخص در سطح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم در کیلوگرم سین بیوتیک جیره معادل ۱۰۰ درصد و کمترین میزان آن در تیمار شاهد معادل ۹۰ درصد مشاهده گردید.

بحث

چالش عمده در آبی پروری، بهبود جیره های فرموله شده به منظور بهینه کردن رشد ماهی و بالا بردن توان ایمنی ماهی از طریق توسعه ی جیره های غذایی ارتقاء سلامتی و مدیریت میکروفلور روده می باشد (Chen et al., 2018). استفاده از

آنتی بیوتیک ها و داروهای شیمیایی در آبی پروری در چند سال گذشته تبعاتی چون خطر مقاوم شدن عوامل بیماریزا به این داروها، باقی ماندن داروها در گوشت ماهیان مورد تغذیه ی انسان و نیز آلودگی های زیست محیطی را به دنبال داشته است. از اینرو امروزه قوانین بسیار سخت در زمینه ی استفاده از آنتی بیوتیک ها وجود دارد و راهکارهای مختلفی برای کاهش نیاز به استفاده از آنتی بیوتیک ها مورد بررسی قرار گرفته است (Liu et al., 2018).

یکی از راهکارهای پیشنهادی، استفاده از مکمل های غذایی مانند پروبیوتیک ها، پربیوتیک ها و سین بیوتیک ها است که علاوه بر افزایش رشد، اثرات سودمندی بر ایمنی میزبان دارند (Geraylou et al., 2012). پس از شناسایی پروبیوتیک ها و پربیوتیکها و مشخص شدن اثرات مثبت آنها در روند پرورش آبزیان توجهات به فلور باکتریایی آب و دستگاه گوارش بیشتر و در نتیجه استفاده از سین بیوتیک ها مطرح شد (Azimirad et al., 2016).

بر اساس نتایج تحقیق حاضر میزان افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و نسبت کارائی پروتئین در ماهیان تغذیه شده با سطح ۱ گرم در کیلوگرم سینبیوتیک از پیشرفت معنی داری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بود ($P < 0.05$). میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۰/۵ گرم در کیلوگرم سین بیوتیک از کاهش معنی داری نسبت به تیمار شاهد برخوردار بودند ($P < 0.05$).

باکتری مورد استفاده در آزمایش حاضر *Enterococcus faecium* با کمک پری بیوتیک فرکتو الیگوساکارید باعث بهینه سازی جمعیت میکروبی روده ماهیسیچلاید زندانی شدند. به این ترتیب که از طریق اضافه کردن آن ها به جیره غذایی دست ساز در دستگاه گوارش ماهی از طریق رقابت با میکروفلورهای روده کلنیزه موجب تشکیل و تثبیت کلنی مؤثری می شوند (Talebi et al., 2012).

به نظر می رسد سین بیوتیک بایومین ایمبو از طریق اتصال به گیرنده های شبه لکتین روی لکوسیت ها و افزایش تکثیر ماکروفاژها سبب تحریک سیستم ایمنی و در نتیجه افزایش رشد و بازماندگی بچه ماهی سیکلید زندانی شده است (Cerezuela et al., 2012). سین بیوتیک ها با تأثیر بر باکتری های مفید روده باعث افزایش حجم باکتری های مفید روده می شوند و در نهایت با افزایش قابلیت هضم پذیری روی برخی از مواد مفید بر ترکیبات بدن نیز تأثیرگذار خواهند بود. همچنین گزارش شده است که بکارگیری سین بیوتیک (پربیوتیک اینولین و پروبیوتیک *Weissella cibaria*) منجر به افزایش رشد باکتریهای اسید لاکتیک در گونه ی هیبرید سوربیوم شده است (Mouriño et al., 2016).

در تحقیق حاضر وجود اختلاف وزنی در بین تیمارها به ویژه افزایش در تیمار ۱ گرم در کیلوگرم سینبیوتیک آزمایش قابل مشاهده است، به طوری که احتمالاً با توجه به تحقیقات مشابه صورت پذیرفته می توان بیان داشت که با سپری شدن از زمان شروع آزمایش و تغذیه ی بچه ماهیان از مکمل بایومین ایمبو هم زمان با تکامل دستگاه گوارش و آداپته شدن میکروفلورهای

دستگاه گوارش با جیره غذایی ارائه شده، باکتری های موجود در سین بیوتیک ها موفق به رقابت با میکروفلورهای موجود در روده می شوند کندی مؤثری تشکیل می دهند. در نتیجه تأثیر مکمل غذایی سین بیوتیک بر کارایی دستگاه گوارش و در هضم و جذب جیره های غذایی حاوی آن بیشتر شده است که این امر در نهایت منجر به بهبود برخی شاخص های رشد و تغذیه در بچه ماهیانی می شوند که از جیره حاوی مکمل تغذیه شدند، البته در این رابطه تأثیر سن بچه ماهیان و به موازات آن تکامل دستگاه گوارش آن ها را در افزایش میزان تغذیه و قابلیت هضم مواد غذایی استفاده شده نباید نادیده گرفت (Hoseinifar et al., 2017, HOSEINIFAR et al., 2011, Hoseinifar et al., 2016).

در راستای نتایج مطالعه ی حاضر Talebi و همکاران (2012) سطوح مختلف سین بیوتیک بایومین ایمبو را در جیره ی غذایی بچه ماهیان سفید (*Rutilus frisii kutum*) دریای خزر بررسی و گزارش کردند سین بیوتیک موجود در جیره ها منجر به کاهش معنی دار هزینه ی تمام شده ی غذا و افزایش معنی دار شاخص سود گردید. در تحقیقی دیگر Nosratpour (2013) با افزودن سطوح متفاوت سین بیوتیک بایومین ایمبو به جیره غذایی میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) افزایش معنی داری را در میزان رشد، بازماندگی و تولید نهایی در بچه میگوهای پا سفید غربی تغذیه شده با سطح ۲ گرم سینبیوتیک به ازای هر کیلوگرم جیره گزارش نمود. همچنین Hosseinifar و همکاران در سال ۲۰۱۱، با ارزیابی سطوح متفاوت ۱، ۲ و ۴ گرم در کیلوگرم سین بیوتیک به جیره غذایی فیل ماهی (*Huso huso*) پرورشی افزایش معنی داری را در عملکرد رشد، بازماندگی و تولید نهایی در بچه ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۲ گرم سین بیوتیک به ازای هر کیلوگرم جیره مشاهده نمود. در یک بررسی Rodrigues-Estrada و همکاران (۲۰۱۳) با ارزیابی اثر ترکیبی پروبیوتیک *Enterococcus faecalis* و پریبیوتیک MOS (*MOS + Enterococcus faecalis*) بر روی ماهی قزل آلا ی رنگین کمان اثر سینرژیک این دو مکمل را در جیره ماهی قزل آلا تأیید نمود. در مطالعه ای Ai و همکاران در سال ۲۰۰۶ در ماهی *large yellow croaker (Larimichthys crocea)* را در سطوح ۰، ۲ و ۴ گرم در کیلوگرم به تنهایی و در ترکیب با سه سطح پروبیوتیک باسیلوس سابتیلیس بررسی کردند و نتیجه گیری کردند که الیگوفروکتوز به تنهایی تأثیر معنی داری روی رشد، ایمنی و مقاومت در برابر بیماری نداشت ولی بهترین نتیجه در تیمار ترکیبی الیگوفروکتوز و پروبیوتیک بدست آمد. Mehrabi و همکاران در سال ۲۰۱۲ با جایگزینی سطوح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم سینبیوتیک به جیره غذایی بچه ماهی قزل آلا ی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) افزایش معنی داری را در میزان پارامترهای رشد و تغذیه و بازماندگی در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۱ گرم بر کیلوگرم سینبیوتیک مشاهده نمودند. همچنین بیشترین میزان بازماندگی در مقابله با قارچ ساپروولگنیا پارازیتیکا (*Saprolegnia parasitica*) هم در بچه ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی سینبیوتیک مشاهده گردید که از تفاوت معنی داری نسبت به تیمار شاهد برخوردار بود. Ye و همکاران در سال ۲۰۱۴ اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک های فروکتو الیگوساکارید، مانان الیگوساکارید و *Bacillus clausii* را بر روی کفشک

ماهی ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) مورد بررسی قرار دادند. سرعت وزن نهایی (WGR) در ماهیان تغذیه شده با جیره های حاوی باسیلوس (B)، مانان الیگوساکارید و باسیلوس (MB) و فروکتوالیگوساکارید، مانان الیگوساکارید و باسیلوس (FMB) از افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد برخوردار بود تا آنجایی که ماهیان تغذیه شده با جیره های حاوی سطوح مختلف فروکتوالیگوساکارید، مانان الیگوساکارید و باسیلوس (FMB) دارای بیشترین میزان وزن نهایی (WGR) بودند. Mahghani و همکاران در سال ۲۰۱۶ تأثیر سطوح متفاوت سین بیوتیک بایومین ایمبو (۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم در کیلوگرم جیره) را بر شاخص رشد، بازماندگی و پارامترهای ایمنی بچه ماهی کاراس (*Carassius auratus gibelio*) مورد ارزیابی قرار دادند و افزایش معنی داری را در فاکتورهای رشد و تغذیه در ماهیان تغذیه شده با سطح ۲ گرم بر کیلوگرم سینبیوتیک مشاهده نمودند ولی میزان بازماندگی تفاوت معنی داری را در بین تیمارها از خود نشان نداد. در مطالعه ای Montajami و همکاران در سال ۲۰۱۲ با افزودن سطوح متفاوت ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در کیلوگرم سینبیوتیک بایومین ایمبو به جیره غذایی لارو سیچلاید تکزاس (*Herichthys cyanoguttatus*) افزایش معنی داری را در پارامترهای رشد و تغذیه در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی سین بیوتیک مشاهده نمودند.

با توجه به نتایج مطالعه حاضر می توان چنین استنباط نمود که مکمل سین بیوتیک ایمبودر جیره غذایی ماهی سیکلید زندانی می تواند در برخی از فاکتورهای رشد و تغذیه تاثیرگذار باشد و این مکمل می تواند به عنوان یک محرک مناسب رشد در این گونه قلمداد گردد.

منابع

- Ai, Q., Mai, K., Tan, B., Xu, W., Duan, Q., Ma, H. and Zhang, L. 2006. Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. *Aquaculture*, 260, 255-263.
- Azimirad, M., Meshkini, S., Ahmadifard, N. and Hoseinifar, S. H. 2016. The effects of feeding with synbiotic (*Pediococcus acidilactici* and fructooligosaccharide) enriched adult *Artemia* on skin mucus immune responses, stress resistance, intestinal microbiota and performance of angelfish (*Pterophyllum scalare*). *Fish & Shellfish Immunology*, 54, 516-522.
- Biondo, M. V. 2017. Quantifying the trade in marine ornamental fishes into Switzerland and an estimation of imports from the European Union. *Global Ecology and Conservation*, 11, 95-105.
- Brunt, K. and Sanders, P. ۲۰۱۳. Improvement of the AOAC 2009.01 total dietary fibre method for bread and other high starch containing matrices. *Food Chemistry*, 140, 574-580.
- Cerezuela, R., Guardiola, F. A., Meseguer, J. and Esteban, M. Á. 2012. Increases in immune parameters by inulin and *Bacillus subtilis* dietary administration to gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) did not correlate with disease resistance to *Photobacterium damsela*. *Fish & Shellfish Immunology*, 32, 1032-1040.
- Cervino, J. M., Hayes, R. L., Honovich, M., Goreau, T. J., Jones, S. and Rubec, P. J. 2003. Changes in zooxanthellae density, morphology, and mitotic index in hermatypic corals and anemones exposed to cyanide. *Marine Pollution Bulletin*, 46, 573-586.

- Chen, H., Liu, S., Xu, X.-R., Diao, Z.-H., Sun, K.-F., Hao, Q.-W., Liu, S.-S. and Ying, G.-G. 2018. Tissue distribution, bioaccumulation characteristics and health risk of antibiotics in cultured fish from a typical aquaculture area. *Journal of Hazardous Materials*, 343, 140-148.
- Geraylou, Z., Souffreau, C., Rurangwa, E., D'Hondt, S., Callewaert, L., Courtin, C. M., Delcour, J. A., Buyse, J. and Ollevier, F. 2012. Effects of arabinoxylan-oligosaccharides (AXOS) on juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) performance, immune responses and gastrointestinal microbial community. *Fish & Shellfish Immunology*, 33, 718-724.
- Hamid, S. N. I. N., Abdullah, M. F., Zakaria, Z., Yusof, S. J. H. M. and Abdullah, R. 2016. Formulation of Fish Feed with Optimum Protein-bound Lysine for African Catfish (*Clarias Gariepinus*) Fingerlings. *Procedia Engineering*, 148, 361-369.
- Hoseinifar, S. H., Dadar, M. and Ringø, E. 2017. Modulation of nutrient digestibility and digestive enzyme activities in aquatic animals: The functional feed additives scenario. *Aquaculture Research*, 48, 3.۴۰۰۰-۹۸۷
- HOSEINIFAR, S. H., MIRVAGHEFI, A., MOJAZI AMIRI, B., ROSTAMI, H. K. and MERRIFIELD, D. L. 2011. The effects of oligofructose on growth performance, survival and autochthonous intestinal microbiota of beluga (*Huso huso*) juveniles. *Aquaculture Nutrition*, 17, 498-504.
- Hoseinifar, S. H., Ringø, E., Shenavar Masouleh, A. and Esteban, M. Á. 2016. Probiotic, prebiotic and synbiotic supplements in sturgeon aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture*, 8, 89-102.
- Hu, L., Yun, B., Xue, M., Wang, J., Wu, X., Zheng, Y. and Han, F. 2013. Effects of fish meal quality and fish meal substitution by animal protein blend on growth performance, flesh quality and liver histology of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*). *Aquaculture*, 372-375, 52-61.
- Huynh, T.-G., Cheng, A.-C., Chi, C.-C., Chiu, K.-H. and Liu, C.-H. 2018. A synbiotic improves the immunity of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Metabolomic analysis reveal compelling evidence. *Fish & Shellfish Immunology*, 79, 284-293.
- Huynh, T.-G., Shiu, Y.-L., Nguyen, T.-P., Truong, Q.-P., Chen, J.-C. and Liu, C.-H. 2017. Current applications, selection, and possible mechanisms of actions of synbiotics in improving the growth and health status in aquaculture: A review. *Fish & Shellfish Immunology*, 64, 367-382.
- Kumar, P., Jain, K. K. and Sardar, P. 2018. Effects of dietary synbiotic on innate immunity, antioxidant activity and disease resistance of *Cirrhinus mrigala* juveniles. *Fish & Shellfish Immunology*, 80, 124-132.
- Liu, S., Bekele, T.-G., Zhao, H., Cai, X. and Chen, J. 2018. Bioaccumulation and tissue distribution of antibiotics in wild marine fish from Laizhou Bay, North China. *Science of The Total Environment*, 631-632, 1398-1405.
- Luo, L., Li, T., Xing, W., Xue, M., Ma, Z., Jiang, N. and Li, W. 2015. Effects of feeding rates and feeding frequency on the growth performances of juvenile hybrid sturgeon, *Acipenser schrenckii* Brandt ♀ × *A. baeri* Brandt ♂. *Aquaculture*, 448, 229-233.
- Mahghani, F., Gharaei, A., Ghaffari, M. and Akrami, R. 2016. Dietary synbiotic improves the growth performance, survival and innate immune response of Gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) juveniles. *International Journal of Aquatic Biology*, 2, 99-104.
- Mehrabi, Z., Firouzbakhsh, F. and Jafarpour, A. 2012. Effects of dietary supplementation of synbiotic on growth performance, serum biochemical parameters and carcass composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96, 474-481.

- Montajami, S., Hajiahmadyan, M., Forouhar Vajargah, M., Sadat, A., Zarandeh, H., Shirood Mirzaie, F. and Abbas Hosseini, S. 2012. Effect of Synbiotic (Biomin imbo) on Growth Performance and Survival Rate of Texas Cichlid (*Herichthys cyanoguttatus*) Larvae.
- Mouriño, J. L. P., Pereira, G. d. V., Vieira, F. d. N., Jatobá, A. B., Ushizima, T. T., Silva, B. C. d., Seiffert, W. Q., Jesus, G. F. A. and Martins, M. L. 2016. Isolation of probiotic bacteria from the hybrid South American catfish *Pseudoplatystoma reticulatum* × *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes :Pimelodidae): A haematological approach. *Aquaculture Reports*, 3, 166-171.
- Nosratpur, A., Kamali, A. and Akrami, R. 2013. Effects of Immunogen Supplementation on Growth Index, Survival and Body Composition of the Pacific white Shrimp (*Litopenaeus Vannamei*) *Journal of Renewable Natural Resources Research*, 2, 1-8.
- Rodriguez, U., Satoh, S., Haga, Y., Fushimi, H. and Sweetman, J. 2013. Effects of Inactivated *Enterococcus faecalis* and Mannan Oligosaccharide and Their Combination on Growth, Immunity, and Disease Protection in Rainbow Trout.
- Santos, M. A., Jerônimo, G. T., Cardoso, L., Tancredo, K. R., Medeiros, P. B., Ferrarezi, J. V., Gonçalves, E. L. T., da Costa Assis, G. and Martins, M. L. 2017. Parasitic fauna and histopathology of farmed freshwater ornamental fish in Brazil. *Aquaculture*, 470, 103-109.
- Souza, S. O., Pereira, T. R. S., Ávila, D. V. L., Paixão, L. B., Soares, S. A. R., Queiroz, A. F. S., Pessoa, A. G. G., Korn, M. d. G. A., Maranhão, T. A. and Araujo, R. G. O. 2018. Optimization of sample preparation procedures for evaluation of the mineral composition of fish feeds using ICP-based methods. *Food Chemistry*, 273, 106-114.
- Talebi Haghighi, D., Fallahi, M. and Abdollahtabar, Y. 2012. The effect of different levels of Biomin Imbo synbiotic on growth and, survival of *Rutilus frisii kutum* fry. *Journal of Fisheries of Islamic Azad University, Azadshahr Branch*, 4, 1-15.
- Wang, X., Sun, Y., Wang, L., Li, X., Qu, K. and Xu, Y. 2017. Synbiotic dietary supplement affects growth, immune responses and intestinal microbiota of *Apostichopus japonicus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 68, 232-242.
- Whittington, R. J. and Chong, R. 2007. Global trade in ornamental fish from an Australian perspective: The case for revised import risk analysis and management strategies. *Preventive Veterinary Medicine*, 81, 92-116.
- Xue, M., Luo, L., Wu, X., Ren, Z., Gao, P., Yu, Y. and Pearl, G. 2006. Effects of six alternative lipid sources on growth and tissue fatty acid composition in Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*). *Aquaculture*, 260, 2-۶
۲۱۴
- YE, J.-D., WANG, K., LI, F.-D. and SUN, Y.-Z. 2014. Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements and *Bacillus clausii* on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate immune response and lipid metabolism of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture Nutrition*, 17, e902-e911.

Effect of Different Levels of Biomin Imbo Synbiotic on Growth Indices, Feeding Factors and Survival Rate of Convict cichlid Fish (*Amatitlania nigrofasciata*)

R. Changizi^{1*}, H. Manouchehri², S.M. Hosseinifard³, Sh. Ghobadi⁴

Received:2018.08.20

Accepted:2020.07.26

Abstract

This research was carried out to evaluate the effects of different levels of Siberian Bimini Immo on growth, nutrition and survival indices in Convict cichlid fish (*Amatitlania nigrofasciata*) during 60 days. The experiment was designed by using randomized method including control, 0.5, 1 and 1.5 g of Biomin Imbo synbiotic per kg of diet in four treatments with three replications. The experiment was performed inside 200-liter aquariums filled with 170 liters of water. A total of 10 Convict cichlid fish with an average weight of 20.39 ± 3.62 g were stored in tanks, fed to satiety.

Based on the results, BWI, PBWI, SGR, PER and FCR in 1g / kg of synbiotic treatment had a significant improvement compared to other treatments ($P < 0.05$). Also, the amount of CF significantly increased in treatment of 0.5 g / kg synbiotic ($P < 0.05$). In terms of survival, no significant change was observed among treatments. According to the results of this study, it can be concluded that the addition of synbiotic to the fish diet, especially at 1 g / kg, can be effective in improving some of the growth and feeding factors of Convict cishlid, and as a suitable supplement for the diet of this species.

Keywords: Convict cichlid, Growth, Synbiotic (Biomin Imbo), Survival rate.

1- Assistant Professor, Department of Aquaculture, Islamic Azad University, Babol branch, Mazandaran, Iran.

*(Corresponding Author: changizi@baboliau.ac.ir)

2- Assistant Professor, Department of Aquaculture, Islamic Azad University, Babol branch, Mazandaran, Iran.

3- Assistant Professor, Department of Veterinary, Islamic Azad University, Babol branch, Mazandaran, Iran.

4- Assistant Professor, Department of Aquaculture, Islamic Azad University, Babol branch, Mazandaran, Iran.

ارزیابی سلامت تالاب بزنگان با استفاده از شاخص‌های کیفی، زیستی و جمعیتی

علی حیدری^۱، امید صفری^{۲*}، حمیدرضا احمدنیای مطلق^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۵/۵

چکیده

پژوهش حاضر با هدف استفاده از ارزیابی هم‌زمان شاخص‌های کیفی حاصل از اندازه‌گیری پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب، شاخص‌های زیستی و جمعیتی به بررسی وضعیت سلامت تالاب بزنگان پرداخته است. با توجه به آلودگی آلی زیاد ناشی از حجم رسوبات و شرایط پرتنش محیط در این منطقه، خانواده‌های *Chironomidae* و *Ephydriidae* (خانواده‌های مقاوم به آلودگی) بیشترین فراوانی نسبی بزرگ بی‌مهرگان کفزی را به خود اختصاص داده‌اند و خانواده‌های حساس به آلودگی در محیط دیده نشده‌اند. بافت دانه‌بندی رسوبات درون تالاب در فصول گرم و سرد نمونه برداری به صورت لومی سیلتی، لوم رسی - شنی و لومی - رسی تعیین شد. بیشترین میانگین مقدار ماده آلی (۱۸/۵۴ درصد) در فصل زمستان و کمترین میزان ماده آلی (۴/۶۵ درصد) در فصل بهار درون ایستگاه‌ها ثبت شد. بر اساس داده‌های بدست آمده شاخص‌های زیستی و جمعیتی و شاخص کیفی به دلیل همبستگی بیشتر با سایر شاخص و پارامترها، شاخص‌های مناسب‌تری برای ارزیابی سلامت تالاب بزنگان بودند.

واژه‌های کلیدی: بزرگ بی‌مهرگان کفزی، تالاب بزنگان، سلامت بوم‌سازگان، شاخص‌های ارزیابی

مقدمه

نیاز انسان به آب همواره در طول تاریخ بسیار مورد اهمیت بوده است. عمده منابع آبی (بیش از ۹۸ درصد) در اقیانوس‌ها و یخ‌های موجود در قطب شمال و جنوب کره زمین قرار دارد که از نظر استفاده برای انسان غیرقابل بهره‌برداری می‌باشند. همچنین استفاده از حدود ۱ درصد الباقی منابع آبی زیرزمینی موجود، نظیر دریاچه‌ها و چاه‌ها همیشه با محدودیت‌های متعددی همراه است. رشد جمعیت و آلودگی‌های ناشی از تخلیه‌ی انواع فاضلاب‌های شهری، صنعتی و کشاورزی، در روان آب‌های سطحی باعث گسترش آلودگی انسانی در منابع آبی شده، همچنین مشکل گرمایش جهانی و تغییر اقلیم که با کاهش بارندگی، افزایش تبخیر از سطح آب و طولانی شدن دوره‌های خشک‌سالی همراه است، مسئولین و مدیران تصمیم‌گیرنده‌ی

۱- کارشناسی ارشد محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشیار، گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد

* نویسنده مسئول: omidsafari@um.ac.ir

۳- استادیار، گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد

کشورها را، با چالش بزرگی روبه‌رو کرده است. کاهش کیفیت آب‌های سطحی مانند رودخانه‌ها و تالاب‌ها که به شدت تحت تأثیر انسان قرار دارند، یکی از نگرانی‌های حال حاضر جوامع انسانی می‌باشد (احتسامی و همکاران، ۲۰۱۴). از این جهت یکی از مهم‌ترین مسائل محیط زیستی حال حاضر، ارزیابی همه‌جانبه و کنترل شده‌ی منابع آبی می‌باشد که هم بتواند نیاز انسان‌ها به آب را تأمین کند و هم از هدر رفتن یا از بین رفتن این منابع با ارزش جلوگیری کند. برای پیاده‌سازی این راهبرد در مدیریت منابع آبی، امروزه علمی به نام بررسی سلامت بوم‌سازگان‌ها مطرح است که مورد قبول بیشتر پژوهشگران نیز قرار گرفته است. در این راهبرد، سلامت هر بوم‌سازگان را با استفاده از هریک از ۳ مشخصه‌ی چرخه‌ی انرژی در بوم‌سازگان، ساختمان و تشکیلات بوم‌سازگان و انعطاف‌پذیری بوم‌سازگان یا قابلیت هم‌نو سازی می‌توان سنجید (Costanza et al., 1992). امروزه در مورد ارزیابی سلامت بوم‌سازگان‌های آبی سنجش هم‌زمان پارامترهای فیزیکوشیمیایی همراه با شاخص‌های زیستی مطرح است؛ زیرا بی‌مهرگان کفزی بزرگ ساکن رسوبات به‌عنوان نشانگرهای زیستی آب، اثرات ناشی از آلودگی‌های محیطی را به‌صورت تغییر در تنوع یا تراکم خود بهتر منعکس می‌کنند (Wlodarska et al., 2001).

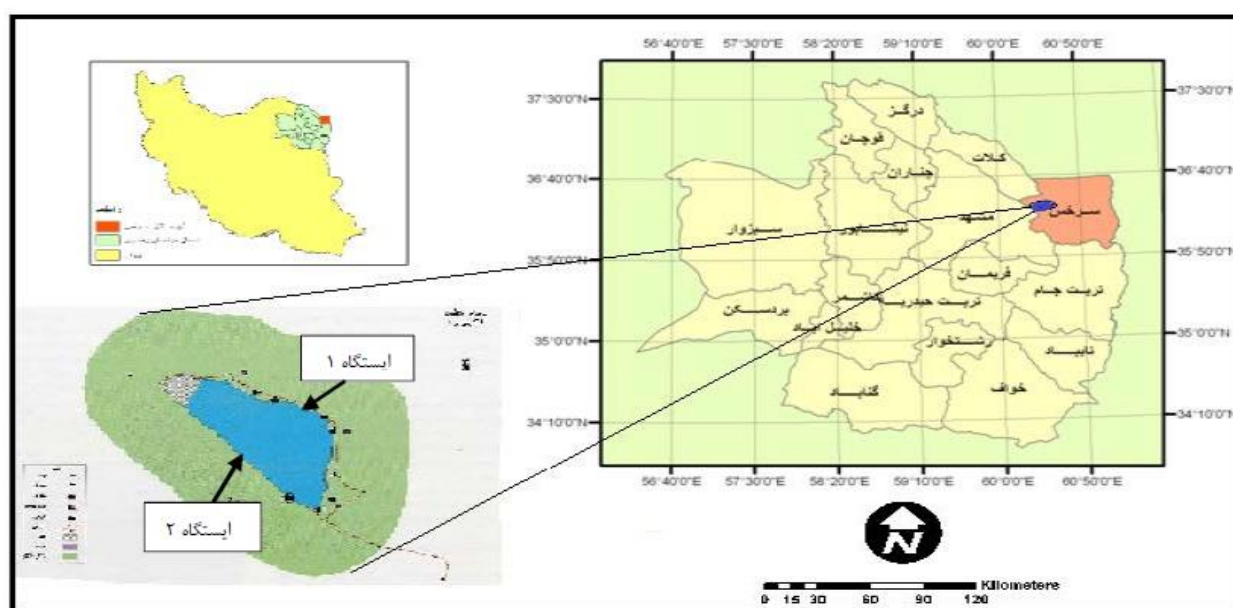
به همین دلیل در مطالعات پایش زیستی بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. سنجش هم‌زمان شاخص‌های کیفی همراه با شاخص‌های زیستی می‌تواند کمک بسیار زیادی در اتخاذ تصمیم‌گیری‌های مدیریتی در طول مدت‌زمان بررسی سلامت یک بوم‌سازگان آبی داشته باشد. لذا در این مطالعه، سنجش پارامترهای فیزیکوشیمیایی جهت آنالیز شاخص‌های کیفی (IRWQI) و OWQI) و نمونه‌گیری بزرگ بی‌مهرگان کفزی از رسوبات درون تالاب منطقه مورد مطالعه برای آنالیز شاخص‌های زیستی و جمعیتی (BMWP, ASPT, HFBI, SHANON-W, MARGALEF) و همچنین آنالیز دانه‌بندی و میزان کل مواد آلی درون رسوبات به‌عنوان شاخص محیطی مهم روی پراکنش بزرگ بی‌مهرگان کفزی برای ارزیابی سلامت تالاب بزنگان انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

تالاب بزنگان در فاصله ۱۲۰ کیلومتری شرق شهرستان مشهد و ۹۴ کیلومتری جنوب غربی شهرستان سرخس در مختصات جغرافیایی ۳۶ درجه و ۱۷ دقیقه عرض شمالی و ۶۰ درجه و ۳۹ دقیقه طول شرقی قرار دارد. وسعت این اثر طبیعی ملی که تنها دریاچه‌ی طبیعی شرق کشور به شمار می‌رود، بیش از ۴۰ هکتار است. منابع اصلی تغذیه‌کننده آب تالاب در گذشته چشمه‌های (کارستی، جوششی و کنتاکتی) بودند، اما با توجه به خشک‌سالی‌های اخیر، امروزه منابع تغذیه‌کننده‌ی این تالاب تنها سیلاب رودهای اطراف (سیلاب بهاره) و ریزش‌های جوی می‌باشد. نمونه‌برداری از تالاب بزنگان طی یک دوره‌ی مطالعاتی یک‌ساله به‌صورت فصلی از پاییز ۱۳۹۶ لغایت تابستان ۱۳۹۷ انجام شد. در ابتدا از منطقه‌ی مورد مطالعه بازدید میدانی صورت گرفت، سپس، تعداد ۲ ایستگاه انتخاب شد زیرا (۱) شرایط بوم‌شناسی از قبیل حجم زیاد رسوبات درون تالاب، کدر بودن آب، عمق دید کم و هم‌چنین پوشش انبوه نیزارهای حاشیه‌ی غرب و شمال دریاچه و عدم امکان استفاده از قایق برای

نمونه‌برداری، امکان دسترسی و نمونه‌برداری از هر ایستگاه در تمام فصول، مطالعه را به دو ایستگاه شمال شرقی و جنوب غربی در سطح تالاب محدود کرد.

(۲) اختلاف بین دو ایستگاه انتخابی از نظر شرایط زیستی و فیزیکیوشیمیایی به نحوی وجود داشت که بتوان بین آن‌ها مقایسه و آنالیز آماری انجام داد. ایستگاه شماره‌ی یک با موقعیت جغرافیایی N: ۳۶۱۸۵۸۰۱ و E: ۰۶۰۲۸۵۸۰۸ و با ارتفاع ۸۲۰ متر فاصله از سطح دریا در قسمت شمال شرقی دریاچه و ایستگاه شماره‌ی دو با موقعیت جغرافیایی N: ۳۶۱۸۵۱۰۹ و E: ۰۶۰۲۸۴۳۰۲ و با ارتفاع ۸۲۶ متر فاصله از سطح دریا در قسمت جنوب غربی دریاچه قرار دارد.



شکل ۱: موقعیت منطقه مورد مطالعه (دریاچه بزنگان) روی نقشه ایران

سپس با استفاده از دستگاه مالتهی متر (Hanna Enstrument, Model: HI98193) ساخت کشور رومانی، برخی پارامترهای فیزیکیوشیمیایی آب از قبیل اکسیژن محلول (DO)، هدایت الکتریکی (EC)، pH و دما در محل سنجش شد؛ برای اندازه‌گیری دیگر پارامترها، نمونه‌برداری از سطح آب، توسط بطری استریل شده و رنگ مات صورت پذیرفت و نمونه‌های آب، طبق اصول شرایط استاندارد در اسرع وقت به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه با استناد به دستورالعمل‌های ارائه‌شده‌ی استاندارد (APHA, 2005) نسبت به تعیین مقادیر شاخص‌های تعیین کیفیت آب اقدام شد. همچنین نمونه‌برداری از بزرگ بی‌مهرگان کف‌زی به کمک دستگاه نمونه‌بردار مخصوص کف بستر، ون وین گرب (Van Veen Grab) با ابعاد ۲۰ در ۲۰ سانتیمتر و با دو تکرار در هر ایستگاه و پنج زیر تکرار در هر تکرار به روش نمونه‌برداری خوشه‌ای انجام گرفت. بدین صورت که هر دو ایستگاه به طول ۴۰ متر و عرض ۴/۵ متر در هر فصل برای افزایش دقت به دو بخش بزرگ (به طول ۲۰ متر و عرض ۴/۵ متر) تقسیم گردید و در هر بخش حداقل پنج زیر تکرار نمونه‌برداری از آب، رسوبات و موجودات درشت بی‌مهره کف‌زی انجام شد. در زیر تکرار هر ایستگاه، پنج نمونه رسوب از کف تالاب برای جداسازی و شناسایی درشت بی‌مهرگان کف‌زی و یک نمونه هم

برای آنالیز دانه‌بندی رسوبات و سنجش مواد آلی درون رسوبات برداشت گردید. نمونه‌های حاوی بزرگ بی‌مهرگان کفزی با استفاده از فرمالین ۵ درصد تثبیت و برای شناسایی و آنالیز به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌های برداشت شده در محیط آزمایشگاه به وسیله الک ۵۰۰ میکرون جداسازی و با آب مقطر شستشو داده شدند؛ و در زیر استریومیکروسکوپ و با کمک کلید (احمدی و نفیسی، ۱۳۸۰) که مرجع شناسایی موجودات کفزی می‌باشد، شناسایی و شمارش شدند.

شاخص‌های مورد ارزیابی

از شاخص‌های (۱) کیفی IRWQI_{sc} (میرحسینی و همکاران، ۱۳۹۳) و OWQI (Curtis, 2001)، (۲) جمعیتی شانون‌وینر (Washingt, 1984) و مارگالف (Margalef, 1958) و (۳) زیستی BMWP (Hawkes, 1998)، ASPT (Czerniawska, 2005) و هیلسینهوف (HFBI; Hilsenhoff, 1988) برای مقایسه‌ی ایستگاه‌های شماره ۱ و ۲ دریاچه بزنگان استفاده شد. سپس داده‌های بدست آمده در دو ایستگاه در فصل‌های گرم و سرد با استفاده از نرم افزار SPSS 24 مورد مقایسه‌ی آماری قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل دانه‌بندی و میزان ماده آلی رسوبات

برای تجزیه و تحلیل دانه‌بندی رسوبات و تعیین بافت و اندازه‌گیری قطر آن‌ها از روش هیدرومتری در محیط آزمایشگاه استفاده شد (Loren *et al.*, 2011). سپس با استفاده از نرم‌افزار TAL 1.01 تعیین بافت خاک هر ایستگاه در هر فصل انجام پذیرفت. همچنین به منظور سنجش میزان کل مواد آلی (TOM) درون رسوبات در محیط آزمایشگاه از روش احتراق سرد یکی از متداول‌ترین روش‌های تخمین میزان کل مواد آلی درون رسوبات، استفاده شد (Sarda *et al.*, 1995).

تجزیه و تحلیل آماری

ابتدا با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف آزمون نرمال بودن داده‌ها انجام شد و داده‌های غیر نرمال، نرمال گردید. سپس سعی بر آن شد، برای اندازه‌گیری میانگین هریک از داده‌ها در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان و ایستگاه‌های مختلف از آزمون (دانکن) در سطح ضریب اطمینان ۹۵ درصد استفاده شود. سپس از آنالیز آزمون ضریب همبستگی پیرسون نیز برای بررسی ارتباط بین پارامترهای مختلف (شاخص‌های کیفی و زیستی، دانه‌بندی و میزان ماده آلی رسوبات) در نرم‌افزار SPSS ۲۴ استفاده گردید.

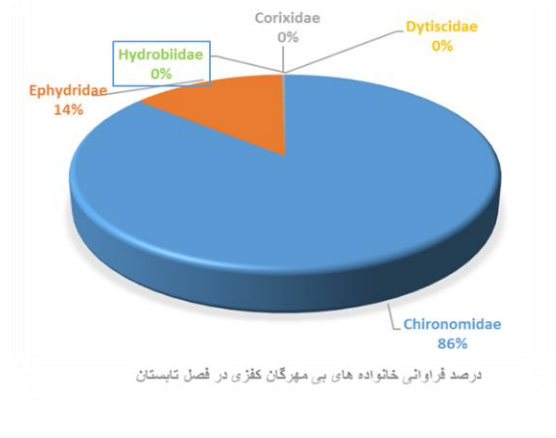
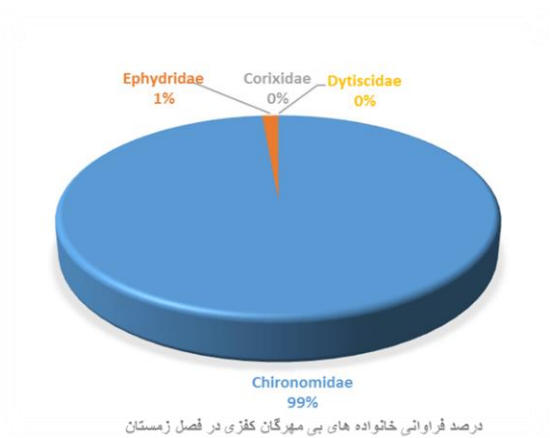
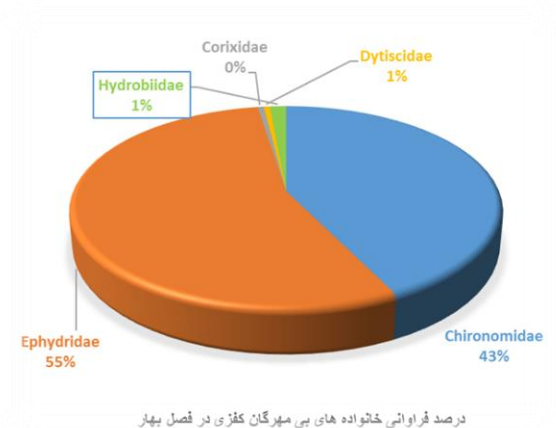
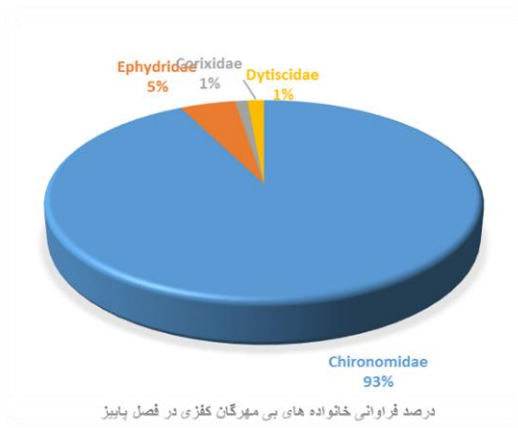
نتایج و بحث

ترکیب جمعیتی بزرگ بی‌مهرگان کفزی جمع آوری شده در ایستگاه‌ها و فصول مطالعاتی

بر اساس فرآیند نمونه‌گیری و آنالیز بزرگ بی‌مهرگان کفزی جمع آوری شده طی فصول مختلف در دو ایستگاه مطالعاتی شمال شرقی و جنوب غربی تالاب بزنگان، تعداد ۲۳۳۹ عدد بزرگ بی‌مهرگان کفزی در ۴ راسته و ۵ خانواده به شرح جدول (۱) شناسایی شدند؛ که در این بین بیشترین فراوانی، با تعداد ۱۱۸۴ فرد، متعلق به راسته‌ی دوبالان و خانواده‌ی *Chironomidae* و پس از آن از همین راسته خانواده‌ی *Ephydriidae* با فراوانی ۴۲۸ فرد می‌باشد. بعد از راسته‌ی دوبالان خانواده‌ی *Corixidae* از راسته‌ی سن‌ها با تعداد ۱۰ فرد، خانواده‌ی *Dytiscidae* از راسته‌ی سوسک‌ها با تعداد ۹ فرد و خانواده‌ی *Heydrobiidae* از راسته‌ی شکم‌پایان با تعداد ۸ فرد قرار داشتند. همچنین بر اساس شکل (۲) درصد فراوانی گونه‌های جمع آوری شده به تفکیک فصول نمونه‌برداری مشخص شده است.

جدول ۱: فراوانی درشت بی‌مهرگان کفزی شناسایی شده در تالاب بزنگان به تفکیک ایستگاه‌های مورد مطالعه

ایستگاه دو	ایستگاه یک	خانواده	رده / راسته
۶۱۰	۱۲۶۵	<i>Chironomidae</i>	Diptera
۱۷۳	۲۵۵	<i>Ephydriidae</i>	(دوبالان)
۲	۸	<i>Corixidae</i>	Hemiptera (سن‌ها)
۳	۶	<i>Dytiscidae</i>	Cloptera (سوسک‌ها)
۳	۵	<i>Hydrobiidae</i>	Gastropoda (شکم‌پایان)
۷۹۱	۱۵۳۹	۵	جمع کل



شکل ۲: درصد فراوانی گونه‌های جمع آوری شده بزرگ بی‌مهرگان کفزی به تفکیک فصل‌های نمونه‌برداری

جدول ۲: میانگین (\pm انحراف معیار) شاخص‌های مورد آزمایش به تفکیک ایستگاه‌ها و فصل‌های نمونه‌برداری

پارامتر	پاییز	زمستان	بهار	تابستان	ایستگاه ۱	ایستگاه ۲
IRWQI	$22/80 \pm 0/19^c$	$22/65 \pm 0/08^b$	$22/84 \pm 0/15^d$	$22/60 \pm 0/08^a$	$22/86 \pm 0/13^B$	$22/59 \pm 0/09^A$
رده کیفی	بد	بد	بد	بد	بد	بد
OWQI	$16/02 \pm 0/04^c$	$15/97 \pm 0/06^b$	$16/03 \pm 0/03^d$	$15/8 \pm 0/04^a$	$16/02 \pm 0/05^B$	$15/94 \pm 0/06^A$
رده کیفی	خیلی بد	خیلی بد	خیلی بد	خیلی بد	خیلی بد	خیلی بد
Shanon-W	$0/40 \pm 0/28^b$	$0/06 \pm 0/02^a$	$0/76 \pm 0/4^c$	$0/45 \pm 0/14^b$	$0/36 \pm 0/26^A$	$0/48 \pm 0/32^A$
رده کیفی	آلودگی شدید	آلودگی شدید	آلودگی شدید	آلودگی شدید	آلودگی شدید	آلودگی شدید
Margalef	$0/53 \pm 0/06^b$	$0/19 \pm 0/00^a$	$0/51 \pm 0/19^b$	$0/25 \pm 0/07^a$	$0/35 \pm 0/15^A$	$0/38 \pm 0/19^A$
BMWP	$14/50 \pm 2/87^d$	$7 \pm 0/00^a$	$13 \pm 2/49^a$	$9 \pm 2/44^b$	$11/50 \pm 3/89^A$	$10/25 \pm 3/65^A$
رده کیفی	آلوده یا تحت تأثیر	آلودگی شدید	آلوده یا تحت تأثیر	آلودگی شدید	آلوده یا تحت تأثیر	آلوده یا تحت تأثیر
ASPT	$4/12 \pm 0/14^b$	$3/50 \pm 0/00^a$	$3/70 \pm 0/29^{ab}$	$4 \pm 0/70^{ab}$	$3/97 \pm 0/54^A$	$3/68 \pm 0/22^A$
رده کیفی	احتمال آلودگی متوسط	آلودگی شدید	آلودگی شدید	احتمال آلودگی متوسط	آلودگی شدید	آلودگی شدید
HFBI	$7/69 \pm 0/34^{bc}$	$7/97 \pm 0/00^c$	$6/87 \pm 0/14^a$	$7/64 \pm 0/17^b$	$7/58 \pm 0/52^A$	$7/50 \pm 0/41^A$
رده کیفی	آلودگی آلی خیلی شدید	آلودگی آلی خیلی شدید	آلودگی آلی اساسی	آلودگی آلی خیلی شدید	آلودگی آلی خیلی شدید	آلودگی آلی خیلی شدید

* ردیف‌های (A-B و a-d) با حداقل یک حرف مشترک در سطح ۵ درصد تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

جدول ۳: مقادیر پارامترهای فیزیکوشیمیایی در تالاب بزنگان در طی چهار فصل نمونه‌برداری

فصل	پاییز		زمستان		بهار		تابستان	
	ایستگاه ۱	ایستگاه ۲	ایستگاه ۱	ایستگاه ۲	ایستگاه ۱	ایستگاه ۲	ایستگاه ۱	ایستگاه ۲
DO (درصد اشباع)	۷۵	۵۵	۶۵	۵۰	۶۸	۵۴	۶۰	۵۰
pH (واحد استاندارد)	۸	۸/۱	۸	۸/۵	۸	۸/۱	۸/۱	۸/۳
BOD ₅ (میلی گرم بر لیتر)	۱۵۹۵	۱۷۷۰	۱۶۲۵	۱۸۰۰	۱۵۵۰	۱۷۳۰	۱۷۵۴	۱۹۶۰
COD (میلی گرم بر لیتر)	۱۹۸۰	۲۰۳۹	۲۰۵۰	۲۱۳۰	۱۸۷۰	۱۹۹۰	۲۱۵۰	۲۲۴۵
TS (میلی گرم بر لیتر)	۹۱۶۲۰	۹۲۱۲۵	۹۱۹۰۰	۹۳۷۵۰	۹۱۷۱۰	۹۲۳۵۰	۹۳۵۵۰	۹۴۷۷۰
EC میکروموس بر سانتی‌متر	۱۲۲۱۱۰	۱۲۴۷۲۰	۱۲۷۷۰۰	۱۲۹۰۰۰	۱۲۳۰۲۰	۱۲۴۷۵۰	۱۲۸۱۵۰	۱۳۰۷۸۹
کلی فرم MPN/۱۰۰ میلی‌لیتر	۷۰	۷۹	۷۵	۸۰	۶۹	۷۵	۸۲	۸۵
فسفات (میلی گرم بر لیتر)	۱/۲۰	۲/۱	۱/۵	۱/۶۰	۰/۷۵	۱/۱	۱/۷	۲/۲
نیترات (میلی گرم بر لیتر)	۴۱	۴۲	۴۴	۴۶	۴۲	۴۵	۴۵	۴۷
کدورت NTU	۲۲	۳۷	۲۵	۳۷	۲۲	۳۵	۳۰	۳۷
سختی کل (میلی گرم بر لیتر)	۱۸۷۴۰	۱۹۳۴۵	۱۹۱۵۰	۱۹۷۱۰	۱۸۸۰۰	۱۹۳۶۵	۱۹۵۳۸	۲۰۱۱۰
دما سانتی‌گراد	۱۷	۱۸	۸	۹	۱۳	۱۴	۲۰	۲۱

آنالیز دانه‌بندی و سنجش میزان مواد آلی رسوبات

نتایج آنالیز دانه‌بندی و تعیین میزان کل مواد آلی موجود درون رسوبات به تفکیک ایستگاه‌های مورد مطالعه و فصل‌های مختلف بر اساس جدول (۴) ارائه شده است. بر اساس نتایج این جدول رسوبات ایستگاه شماره‌ی یک (شمال شرقی) تالاب بزنگان در تمامی فصول نمونه‌گیری (گرم و سرد) با غالبیت دانه‌بندی ذرات بین ۰/۰۰۲ تا ۰/۰۰۵ میلی‌متر دارای بافت (لومی سیلتی) بود. در ایستگاه شماره‌ی دو (جنوب غربی) تالاب بزنگان در فصول سرد نمونه‌گیری (پاییز و زمستان) با غالبیت دانه‌بندی ذرات کوچک‌تر از ۰/۰۰۲ میلی‌متر و ذرات بین ۰/۰۰۵ تا ۰/۰۲ میلی‌متر دارای بافت ترکیبی لوم رسی شنی و در فصول گرم نمونه‌گیری (بهار و تابستان) همانند فصول سرد اما با درصد سیلت بالاتر دارای بافت لومی رسی بود. در جدول (۴) بیشترین میزان مجموع ماده‌ی آلی موجود درون رسوبات (TOM) در ایستگاه شماره‌ی یک (شمال شرقی) تالاب بزنگان در فصل زمستان

با میزان ۶/۵۰ درصد و کمترین میزان آن در این ایستگاه در فصل بهار با میزان ۳/۵۰ درصد ثبت شد. همچنین بیشترین میزان مجموع ماده‌ی آلی درون رسوبات (TOM) در ایستگاه شماره‌ی دو (جنوب غربی) تالاب بزنگان در فصل تابستان با میزان ۲۵/۶۸ درصد و کمترین میزان آن در این ایستگاه در فصل بهار با میزان ۱۳/۷۵ درصد ثبت شد.

جدول ۴: اندازه‌ی ذرات، بافت خاک و مقدار کل مواد آلی (TOM) موجود در رسوبات بستر به تفکیک فصل و ایستگاه‌ها

فصول سال	شماره ایستگاه	درصد شن	درصد سیلت	درصد رس	بافت خاک	درصد مواد آلی
پاییز	۱	۲۰/۰۷	۶۰/۷۸	۱۹/۱۵	لومی سیلتی	۳/۷۵
پاییز	۲	۴۸/۳۷	۲۱/۳۸	۳۰/۲۵	لوم رسی شنی	۱۵/۲۵
زمستان	۱	۱۸/۸۰	۶۵/۷۰	۱۵/۵	لومی سیلتی	۶/۵۰
زمستان	۲	۵۰/۱۲	۲۱/۲۸	۲۸/۰۰	لوم رسی شنی	۲۵/۶۸
بهار	۱	۲۰/۲۵	۵۹/۶۰	۲۰/۱۵	لومی سیلتی	۳/۵۰
بهار	۲	۴۰/۵۵	۲۵/۲۴	۳۴/۲۱	لومی رسی	۱۳/۷۵
تابستان	۱	۲۱/۱۳	۵۷/۴۸	۲۱/۳۹	لومی سیلتی	۴/۸۵
تابستان	۲	۳۹/۷۴	۲۴/۵۶	۳۵/۷۰	لومی رسی	۱۹/۵۰

جدول ۵: همبستگی پیرسون بین شاخص‌های زیستی، تنوع زیستی، کیفی و درصد کل میزان ماده آلی درون رسوبات در تالاب بزنگان

	BMWP	ASPT	HFBI	Shanon-W	Margalef	TOM	IRWQI	OWQI
BMWP	۱							
ASPT	۰/۵۹۰	۱						
HFBI	-۰/۵۵۷	۰/۰۱۴	۱					
Shanon-W	۰/۶۶۶	۰/۳۰۵	۰/۹۴۲*	۱				
Margalef	۰/۹۸۶**	۰/۴۵۰	-۰/۶۴۸	۰/۷۰۱	۱			
TOM	-۰/۶۳۵	-۰/۱۶۸	۰/۹۸۲*	-۰/۹۸۶**	-۰/۶۹۳	۱		
IRWQI	۰/۹۹**	۰/۵۴۶	۰/۵۵۱	۰/۶۴۲	۰/۹۹۲**	-۰/۶۱۹	۱	
OWQI	۰/۹۲۶*	۰/۷۲۳	-۰/۵۱۴	۰/۸۲۱	۰/۸۸۹*	-۰/۷۵۷	۰/۹۵۰*	۱

* همبستگی در سطح ۰/۰۵

** همبستگی در سطح ۰/۰۱

در این پژوهش میزان پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب در دو ایستگاه نمونه‌برداری طی فصول مختلف تفاوت آشکاری از هم نشان داد. میزان اکسیژن محلول (DO) که عامل مهمی در پاکیزگی آب به شمار می‌رود و ارزش وزنی بالایی در محاسبه‌ی شاخص‌های کیفی دارد، در ایستگاه شماره‌ی دو (جنوب غربی) تالاب طی تمام فصول کمتر از ایستگاه شماره‌ی یک (شمال شرقی) تالاب بود. میزان پایین اکسیژن محلول و میزان بالای اکسیژن خواهی شیمیایی و بیوشیمیایی (BOD و COD) در ایستگاه شماره‌ی دو نسبت به ایستگاه شماره‌ی یک به علت شوری بالا، آلودگی آلی و مهیا نبودن شرایط برای مصرف‌کنندگان اولیه بود. همچنین میزان پارامترهایی از قبیل مقدار کل جامدات (TSS و TDS) و هدایت الکتریکی (EC) در ایستگاه شماره‌ی دو بسیار بیشتر از ایستگاه شماره‌ی یک بود که علت آن را می‌توان فرسایش بیشتر ذرات بستر ساحل در این ایستگاه و در پی

آن افزایش حجم رسوب و افزایش میزان مواد جامد معلق و محلول در این قسمت تالاب، دانست. پارامترهای فیزیکوشیمیایی دیگری از جمله نیترات و فسفات در تمام فصول در ایستگاه شماره‌ی دو بیشتر از ایستگاه شماره‌ی یک بود که علت آن را می‌توان نزدیکی این ایستگاه به مسیر سیلاب‌های ناشی از ریزش جوی و مسیر هدایت شده‌ی روان آب‌های کشاورزی زمین‌های مجاور دانست که حاوی آلودگی‌های آلی و کودهای نیترا ته و فسفات می‌باشد و بدون هیچ تله یا پیش تصفیه‌ای به درون تالاب می‌ریزد. این نتایج با پژوهش زاهدی در سال ۱۳۸۳ مطابقت داشت.

شاخص کیفی IRWQI که شاخصی برای ارزیابی کیفیت آب‌های سطحی ایران می‌باشد، تالاب بزنگان را تنها در طبقه‌ی کیفی بد ارزیابی نمود. علت این امر را می‌توان زیاد بودن بیش از حد میزان پارامترهای مهم فیزیکوشیمیایی سنجش شده در مطالعه حاضر از جمله BOD و COD، هدایت الکتریکی و سختی آب در منطقه مورد مطالعه دانست که حساسیت زیادی در محاسبه‌ی شاخص IRWQI دارند. بین ایستگاه‌های مورد مطالعه، ایستگاه شماره‌ی یک با میزان شاخص ۲۲/۸۴ وضعیت بهتری نسبت به ایستگاه شماره‌ی دو با میزان شاخص ۲۲/۶۰ داشت. همچنین در بین فصول مختلف نمونه‌برداری، بیشترین میزان ثبت شده‌ی شاخص IRWQI در فصل بهار و پاییز و کمترین میزان آن در فصل تابستان و زمستان بود که علت این امر می‌تواند به دلیل بالاتر بودن میزان بارندگی و بالا رفتن دبی آب در فصل بهار و پاییز نسبت به سایر فصول باشد و نتیجه آن تغییر در میزان پارامترهای فیزیکوشیمیایی مؤثر در محاسبه‌ی شاخص کیفی می‌شود، هر چند جهت استنباط دقیق‌تر به داده‌های پایش زمانی شرایط دبی و هیدرولوژیک منابع آبی ورودی نیاز می‌باشد.

همچنین شاخص کیفی OWQI که شاخص ارزیابی آب‌های سطحی برای کاربری‌های مختلف می‌باشد و توسط دانشگاه اورگان آمریکا طراحی شده است، تالاب بزنگان را در طبقه‌ی کیفی خیلی بد ارزیابی نمود که علت آن می‌تواند ناشی از سخت‌گیرانه بودن این شاخص بر میزان پارامترهای کل جامدات محلول و همچنین میزان فسفات درون آب باشد. در این پژوهش اکثر راسته‌های بزرگ بی‌مهرگان کفزی جمع‌آوری شده (*Cloptera*, *Hemiptera*, *Diptera*) متعلق به رده‌ی حشرات آبی و یک راسته هم متعلق به رده‌ی شکم‌پایان (*Gastropoda*) بودند که شکوری و همکاران در سال ۱۳۹۶ در تالاب لیپار نیز به این نتیجه دست یافتند. بسیاری از دانشمندان معتقدند در بین بزرگ بی‌مهرگان کفزی، رده‌ی حشرات دارای بیشترین تعداد و تنوع در میان درشت بی‌مهرگان کفزی می‌باشند (Lenat, 1998; Bass, 1995). پژوهش حاضر نشان داد بیشترین سهم بزرگ بی‌مهرگان کفزی، متعلق به راسته *Diptera* می‌باشد.

بر اساس نتایج این پژوهش، شاخص BMWP تالاب بزنگان در دو طبقه‌ی کیفی خیلی بد (آلودگی شدید) و بد (آلوده یا تحت تأثیر آلودگی) ارزیابی شد. بیشترین میزان ثبت شده‌ی شاخص BMWP (۱۷/۰۰) در ایستگاه شماره‌ی یک و در فصل پاییز و کمترین میزان ثبت شده این شاخص (۷/۰۰) در ایستگاه شماره‌ی یک در فصل زمستان و در ایستگاه شماره‌ی دو در فصل تابستان و زمستان بود. از آنجایی که اساس محاسبه‌ی این شاخص بر اساس حضور و یا عدم حضور هر خانواده در هر

ایستگاه می‌باشد در فصل پاییز و بهار به دلیل شرایط زیستی مناسب و آلودگی کمتر فراوانی و تنوع زیستی گونه‌ها نسبت به ایستگاه دیگر و سایر فصول زیادتر است و شاخص تالاب را در شرایط بهتری ارزیابی می‌کند؛ اما در فصل زمستان و تابستان به علت تنش محیطی بالا و افزایش آلودگی، شاخص BMWP تالاب بزنگان را در طبقه‌ی کیفی آلودگی شدید ارزیابی می‌کند. این نتایج با نتایج Ayyakkannu و Jegadeesan در سال ۱۹۹۲ مطابقت داشت که دریافتند تنوع جانوران کفزی در تابستان، نسبت به بهار و پاییز، کاهش نشان می‌دهد.

شاخص زیستی ASPT یا سیستم مفهوم میانگین امتیاز به ازای هر خانواده که به عقیده‌ی (Armitage, 1983) سیستم قابل اعتمادتر و تکامل یافته‌تری نسبت به شاخص BMWP می‌باشد، تالاب بزنگان را در دو رده‌ی کیفی آب‌هایی با آلودگی شدید و متوسط ارزیابی نمود.

شاخص زیستی HFBI تالاب بزنگان را در دو رده‌ی کیفی خیلی بد (آلودگی آلی خیلی شدید) و بد (آلودگی آلی اساسی) ارزیابی نمود. بیشترین میزان این شاخص نشان‌دهنده‌ی رده‌ی کیفی خیلی بد است، در ایستگاه شماره‌های یک و دو در فصل زمستان و کمترین میزان این شاخص که شرایط مناسب‌تری را نسبت به شرایط آلودگی آلی خیلی شدید دارد، در ایستگاه شماره‌ی یک و در فصل بهار ثبت شد؛ علت این امر را می‌توان شرایط زیستی بهتر تالاب از جمله افزایش جریان دبی ناشی از بارندگی و کمتر انباشته شدن مقدار ماده‌ی آلی دانست؛ این امر سبب تنوع و فراوانی دیگر بی‌مهرگان آبری شده است. این نتیجه با نتایج Parulekar و Harkantra در سال ۱۹۹۴ مطابقت داشت.

شاخص تنوع شانون وینر تالاب بزنگان را در محدوده‌ی ۰/۰۶ تا ۰/۷۶ و در طبقه‌ی کیفی آلودگی زیاد ارزیابی نمود که با توجه به جدول توصیفی شاخص، منطقه‌ی مورد مطالعه در وضعیت نامطلوبی قرار دارد. این شاخص با افزایش تعداد و توزیع یکنواخت گونه‌ها در جامعه، افزایش می‌یابد. با توجه به این موضوع بیشترین مقدار شاخص شانون در این پژوهش به علت تنوع بالا و توزیع مناسب گونه‌ها ناشی از بهتر شدن شرایط زیستی آب، مربوط به ایستگاه شماره‌ی یک و فصل بهار و کمترین میزان این شاخص در فصل زمستان و در ایستگاه شماره‌ی دو ثبت شد. همچنین این شاخص با شاخص‌های زیستی (HFBI) و مقدار کل میزان مواد آلی همبستگی معنی‌دار داشت. شاخص تنوع زیستی مارگالف تالاب بزنگان را در محدوده‌ی ۰/۱۹ تا ۰/۵۳ و با غنای گونه‌ای کم تا متوسط ارزیابی نمود. این شاخص مبتنی بر غنای گونه‌ای است. در این شاخص عدد بزرگ‌تر نشان‌دهنده غنای گونه‌ای بیشتر است این شاخص با شاخص‌های زیستی (BMWP) همبستگی معنی‌داری ایجاد کرد.

خاک‌های اطراف دریاچه با توجه به سازندهای زمین ساختی، تفاوت‌های محسوسی با هم داشتند. نتایج آنالیز دانه‌بندی و رسوبات درون تالاب ایستگاه شماره‌ی یک را در فصول گرم و سرد نمونه‌گیری دارای بافت لومی سیلتی و ایستگاه شماره‌ی دو (جنوب غربی) را در فصول سرد نمونه‌گیری دارای بافت لوم رسی شنی و در فصل گرم دارای بافت لومی رسی تعیین نمود؛ علت

این امر این است که در فصل سرد به علت تلاطم آب، ته‌نشینی رسوبات ریزدانه کاهش می‌یابد و بر تراکم رسوبات معلق دانه درشت در بسترهای نزدیک به ساحل افزوده می‌گردد؛ این امر با نتایج غلامی در سال ۱۳۹۴ مطابقت داشت. در بین ایستگاه‌های مورد مطالعه ایستگاه شماره‌ی دو (جنوب غربی) به دلیل نزدیکی به سازند کلات و تناوب سنگ آهک و خاک نرم از فرسایش سطحی زیادتری نسبت به ایستگاه شماره‌ی یک برخوردار است که دارای بافت نسبتاً یکدست‌تری می‌باشد؛ این نتیجه با پژوهش میری در سال ۱۳۸۷ مطابقت داشت. نتایج میزان کل مواد آلی درون رسوبات (TOM) در بین ایستگاه‌های مورد مطالعه تفاوت زیادی با هم داشتند، به طوری که بیشترین میانگین مقدار ماده‌ی آلی در تمام فصول متعلق به ایستگاه شماره‌ی دو با میزان کل ماده آلی (۱۸/۵۴) درصد و کمترین میزان ماده‌ی آلی متعلق به ایستگاه شماره‌ی یک با میزان کل (۴/۶۵) درصد بود. علت این امر تفاوت در نوع بافت و قطر ذرات تشکیل دهنده‌ی سواحل نزدیک به دو ایستگاه نمونه‌برداری از تالاب می‌باشد. بسترهای گلی با غالبیت دانه‌بندی ذرات کوچک‌تر و خلل و فرج کمتر از بسترهای ماسه‌ای با غالبیت دانه‌بندی ذرات بزرگ و خلل و فرج بیشتر، میزان مواد آلی بیشتری در خود حفظ می‌کنند؛ این امر با نتایج Webber و همکاران در سال ۱۹۹۲ مطابقت داشت. همچنین بیشترین میزان ماده آلی موجود در رسوبات بین فصول نمونه‌برداری مربوط به فصل زمستان با مقدار کل ماده‌ی آلی ۲۵/۶۸ درصد، در ایستگاه شماره‌ی دو و کمترین میزان مقدار کل ماده‌ی آلی در بین فصول مربوط به فصل بهار در ایستگاه شماره‌ی یک بود. این امر را می‌توان به علت افزایش میزان بارندگی و بالا رفتن سرعت جریان آب دانست که مانع از ته‌نشین شدن مواد می‌شود و شرایط مناسبی را برای تولیدکنندگان اولیه و مصرف مواد غذایی فراهم نمی‌کند. به همین علت، میزان مواد آلی رسوبات در فصل بهار نسبت به فصل زمستان کاهش یافته است. این نتیجه با پژوهش غلامی و همکاران در سال ۱۳۹۴ مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش کاربرد شاخص‌های کیفی زیستی و جمعیتی برای پایش و ارزیابی تالاب بزنگان نشان داد، شاخص‌های زیستی و جمعیتی (Shanon، Hilsinhof، BMWP) و شاخص کیفی (Owqi) به دلیل همبستگی بیشتر با سایر شاخص و پارامترها، شاخص‌های مناسب‌تری برای ارزیابی سلامت تالاب بزنگان هستند. با توجه به شرایط اکولوژیکی این تالاب و محیط پرتنش آن ارزیابی همه‌ی شاخص‌ها (کیفی زیستی و جمعیتی) به یک اندازه می‌تواند دقیق و با اهمیت باشد. همچنین نتایج آنالیز دانه‌بندی و تعیین میزان ماده‌ی آلی درون رسوبات مشخص کرد، تنوع و تراکم بزرگ بی‌مهرگان کفزی در ایستگاه شماره‌ی یک با بافت دانه درشت و متوسط (سیلتی) با ماده‌ی آلی کم، بیشتر از تراکم بزرگ بی‌مهرگان کفزی در ایستگاه شماره‌ی دو در رسوباتی با بافت اغلب رسی با قابلیت حفظ ماده‌ی آلی بیشتر است و بزرگ بی‌مهرگان کفزی ترجیح می‌دهند در رسوباتی با خلل و فرج بیشتر و ماده‌ی آلی کمتر زندگی کنند. حجم بالای رسوب در تالاب بزنگان به دلیل فرسایش و

خشک‌سالی‌های اخیر و آلودگی‌های ناشی از آن، تنوع کف‌زیان و فراوانی ماهی‌ها را کاهش داده و نفوذ نور به درون آب را به شدت محدود ساخته است. کاهش نفوذ نور خورشید به داخل آب موجب کاهش فرآیند فتوسنتز توسط گیاهان و افزایش آلودگی آلی در این تالاب شده است. امروزه نابودی تدریجی دریاچه‌ها و تالاب‌ها به دلیل پر شدن آن‌ها از رسوبات و آلاینده‌ها یکی از معضلات اصلی محیط زیستی در جهان است؛ بنابراین بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی و زیستی بوم‌سازگان‌های آبی و همچنین شناخت ماهیت مطالعات دانه سنجی و تحلیل نمونه‌های رسوبی می‌تواند اطلاعات دقیقی از تغییرات و رخداد‌های اقلیمی و محیطی در اختیار ما قرار بدهد. بر این اساس نتایج این پژوهش به استفاده‌ی همزمان از شاخص‌های کیفی، زیستی و جمعیتی و همچنین شناسایی عوامل محیطی، برای جمع‌آوری اطلاعات و ارزیابی آن‌ها به‌عنوان ابزاری مؤثر و با صرفه‌ی اقتصادی برای انجام پروژه‌های حفاظت و احیا تاکید دارد در زمانی که آشفتگی‌های محیطی به حداکثر خود رسیده است یا دخالت در تصمیم‌گیری‌های مدیریتی قبل از پدید آمدن تنش و مشکلات محیط زیستی اهمیت دارد.

منابع

- غلامی، ز و نبوی، م. ب. (۱۳۹۴). تأثیر میزان کل مواد آلی و دانه‌بندی رسوبات در پراکنش اجتماعات کف زیان رودخانه حفار غربی در خرمشهر. فصلنامه علوم و تکنولوژی محیط‌زیست، ۱۷ (۳): ۹۷-۱۰۳.
- میرحسینی، ا.، رجبزاده فطرمی، ا.، خاشعی، م و مخواستی، م. (۱۳۹۳). مطالعه تغییرات سالانه کیفیت آب رودخانه کارون بر اساس شاخص IRWQI. دومین همایش ملی و تخصصی پژوهش‌های محیط‌زیست ایران. ۱۶ مرداد ۱۳۹۳. همدان. ایران.
- APHA, A and WEF. (2005). Standard Methods for the examination of Water and Wastewater. Washington, DC 202 Pp.
- Armitage P. D., Moss, D., Wright, J. F and Furse, M. (1983). The performance of a new Biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. Water Research. 17(3): 333-347.
- Bass, D. (1995). Species composition of aquatic macroinvertebrates and environmental conditions in cucumber creek, Proceeding 465 Pp. Oklahoma.
- Costanza, R., Norton, B.G and Haskell, B.D. (1992). Ecosystem health: new goals for environmental management. Island Press 987 Pp. Washington DC.
- Curtis, D. R and Small, K. J. (2005). Macroinvertebrate community responses to long-term environmental change in an east Australian sub-tropical estuary. Estuarine. Coastal and Shelf Science, 63(1-2):315-331.
- Czerniawska-Kusza, I (2005). Comparing modified biological monitoring working party score system and several biological indices based on macroinvertebrates for water-quality assessment. Limnologica-Ecology and Management of Inland Waters, 35 (3):169-176.
- Ehteshami, M., Biglarijoo, N and Salari, M. (2014). Assessment and Quality Classification of Water in Karun, Dez and Karkheh Rivers. Journal of River Engineering, 2(8):23-30.

- Harkantra, S. N and Parulekar, A. H. (1994). Soft Sediment dwelling Marine vertebrates of Rajapur bay. Central west coast of India. *Indian Journal Marine Science*, 1:31-39.
- Hawkes, H.A. (1998). Origin and development of the biological monitoring working party score system. *Water Research*, 32(3): 964-968.
- Hilsenhoff, W. L. (1988). Rapid field assessment of organic pollution with a family-level biotic index. *Journal of the North American Benthological Society*, 7 (1):65-68.
- Huang, Y. Y., Teng, D. X and Zhao, Z. X. (1982). Monitoring Jiyunhe estuary pollution by use of macroinvertebrate community and diversity index. *Sinozoologia*, 2:133-146.
- Jegadeesan, P and Ayyakkannu, K. (1992). Seasonal variation of benthic fauna in marine zone of Coleroon estuary and inshore waters, south east coast of India. *Indian Journal Marine Science*, 21: 67-69.
- Lenat, D. R. (1988). Water quality assessment of streams using a qualitative collection method for benthic macroinvertebrates. *Journal of the North American Benthological Society*, 7 (3):222-233.
- Loren, G. D., Shane, J. M and Celeste, N. H. (2011). A PXRf-based chemostratigraphy and provenience system for the Cooper's Ferry site, Idaho, *Journal of Archaeological Science*, 39: 663-671.
- Margalef, R. (1958). Information theory in biology. *General Systems Yearbook*, 3: 36-71.
- Sarda, R., Valiela, I and Foreman, K. (1995). Life cycle, demography, and production of *Marenzelleria viridis* in a salt marsh of southern New England. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 75 (3):725-738.
- Weber Jr, W. J., McGinley, P. M and Katz, L. E. (1992). A distributed reactivity model for sorption by soils and sediments. 1. Conceptual basis and equilibrium assessments. *Environmental Science and Technology*, 26 (10):1955-1962.
- Wlodarska-Kowalczyk, M and Weslawski, J.M. (2001). Impact of climate warming on Arctic benthic biodiversity: a case study of two Arctic glacial bays. *Climate Research*, 18 (1-2): 127-132.

Evaluation of ecosystem health of Bazangan wetland (Mashhad-Iran) via qualitative, biological and biodiversity indices

A. Heydari¹, O. Safari^{2*}, H. Ahmadniaye Motlagh³

Received: 2019.6.8

Accepted: 2020.7.26

Abstract

The study was aimed to evaluate simultaneously the qualitative indices derived from the measurement of physicochemical parameters of water, as well as biological and demographic indices of the Bazangan wetland. Regarding to the high organic contamination from sediment amount and the stressful conditions of environment in this area, the highest relative frequency of macrobenthos was belonged to Chironomidae and Ephydriidae families (resistant families to pollution) and the sensitive families to contamination (EPTs) were absent. The results of studying grading analysis and the total organic matter content in the sediments of samples stations during warm and cold seasons showed the texture of loam-silty, clay-sandy-loam and loam-clay. The maximum amount of organic matter (18.54%) in winter and the lowest amount of organic matter (4.65%) in spring was recorded in the stations. Finally, regarding the high correlation between biological and demographic indices and qualitative index with other indices, the parameters are more suitable indices to evaluate the ecosystem health of Bazangan wetland.

Keywords: Bazangan wetland, Ecosystem Health, Evaluation Indices, Macroinvertebrates

1- MSc in Environment Science, Ferdowsi University of Mashhad

2- Associate Professor, Department of Environment Science and Fisheries, Ferdowsi University of Mashhad

*(Corresponding Author: omidsafari@um.ac.ir)

3-Assistant Professor, Department of Environment Science and Fisheries, Ferdowsi University of Mashhad

غربالگری و جداسازی برخی از باکتری‌های تجزیه‌کننده فنول در خاک‌های حاوی آلاینده‌های

نفتهی

فائزه ربانی^۱، وهب جعفریان^{۲*}، احمد آسوده^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۱۵

چکیده

پژوهش حاضر با هدف شناسایی ژنتیکی ژن *16S rDNA* جدایه‌های برتر باکتری در حذف فنول به منظور زیست‌پالایی فنول انجام شد. دو جدایه‌ی برتر از نظر فعالیت بالای فنول‌لازی گزینش و در محیط کشت با pH و دما، منابع کربنی و نیتروژنی مختلف بررسی شدند. جدایه‌ی اول در محیط کشت حاوی ۰/۳ گرم در لیتر فنول به عنوان منبع کربن، ۰/۲ درصد پیتون و آمونیوم کلرید به عنوان منابع نیتروژن، ۱۰۰ درصد فنول را پس از ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس و $pH = 7$ حذف کرد و جدایه‌ی دوم در محیط کشت حاوی یک درصد ساکارز، ۰/۳ گرم بر لیتر فنول به عنوان منبع کربن و ۰/۲ درصد عصاره مخمر آمونیوم کلرید به عنوان منبع نیتروژن، ۱۰۰ درصد فنول را پس از ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس و $pH = 7$ حذف کرد. نتایج تعیین توالی و هم‌ردیفی توالی *16S rDNA* نشان داد که جدایه‌ی اول باکتری *Aneurinibacillus migulanus* و جدایه‌ی دوم باکتری *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* است. دو جدایه‌ی گزینش‌شده در این پژوهش می‌توانند به عنوان گزینه‌های مناسبی در اهداف زیست‌پالایی فنول مورد توجه قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* *Aneurinibacillus migulanus* تجزیه

فنول، زیست‌پالایی.

مقدمه

امروزه پیشرفت فزاینده‌ی صنعت در حوزه‌های گوناگون باعث پدید آمدن مشکلات گوناگون زیست‌محیطی شده است (Lješević et al., 2019). آلودگی آب و خاک توسط ترکیبات آلی و معدنی ناشی از فرآورده‌های نفتی از آلودگی‌های مهمی هستند که در دهه‌های اخیر نگرانی‌های زیادی را در بیشتر نقاط جهان به همراه داشته است (Besharati, 2015). آلودگی‌های

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان

۲- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان

* نویسنده مسئول: (v.jafarian@znu.ac.ir)

۳- استاد گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

نفی از قبیل هیدروکربن‌های آروماتیک مانند فنول و مشتقات آن که پایدارترین و سمی‌ترین قسمت نفت را تشکیل می‌دهند، به‌ویژه در کشورهای نفت خیزی چون ایران به‌عنوان یک مشکل اجتناب‌ناپذیر به‌شمار می‌آیند (Logeshwaran *et al.*, 2018). فنول در بسیاری از صنایع به‌عنوان ماده‌ی خام اولیه کاربرد دارد، با این حال، به‌عنوان آلاینده‌ای مهم، توسط فاضلاب بسیاری از صنایع وارد محیط زیست می‌شود و به‌دلیل ویژگی‌های جهش‌زایی و سرطان‌زایی، سلامتی انسان‌ها و سایر موجودات را در معرض خطر جدی قرار می‌دهد (Silva *et al.*, 2013). از این رو، مورد توجه بسیاری برای دستیابی به فناوری‌های پاکسازی و بازیابی جزئی یا کامل فنول از مناطق آلوده قرار گرفته است. در میان روش‌های گوناگونی که برای حذف فنول پیشنهاد شده است، تیمار زیستی به دلیل بازدهی بالا و تولید محصولات نهایی بی‌ضرر و سازگار با محیط در اولویت قرار گرفته است. میکروارگانیسم‌های موجود در منابع آلوده، کاتالیزورهای توانمندی برای تجزیه‌ی زیستی ترکیبات سمی به‌صورت هوازی و بی‌هوازی هستند که برخلاف سایر میکروارگانیسم‌ها، نه تنها در حضور مقادیر بالایی از این ترکیبات مهار نمی‌شوند بلکه به‌صورت انتخابی از آن‌ها به‌عنوان منبع کربن و انرژی استفاده می‌کنند. این میکروارگانیسم‌ها از جمله منابع با ارزش برای تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده‌ی ترکیبات آروماتیک مانند فنول و مشتقات آن به‌شمار می‌آیند (Mishra & Kumar, Nadaf & Ghosh, 2011; 2017).

پژوهش‌های گوناگونی بر روی شناسایی و ارزیابی عملکرد باکتری‌های مختلف با قابلیت تجزیه‌ی فنول انجام گرفته است. در پژوهشی فعالیت تجزیه‌ی فنول توسط باکتری *Pseudomonas aeruginosa* با استفاده از بنزوئیک اسید به‌عنوان منبع کربن و انرژی ارزیابی شد (Wang *et al.*, 2006). همچنین، مشخص شد که باکتری *Rhodococcus sp.* تجزیه‌کننده‌ی فنول است و دارای آنزیم کتکول ۱ و ۲ دی اکسیژناز است که نقش اساسی در مسیر تجزیه‌ی فنول ایفا می‌کند. این باکتری در محیط کشت حاوی مقادیر نسبتاً بالای فنول عملکرد خوبی از خود نشان داد (Nadaf & Ghosh, 2011). میلان (Milase, 2015) گزارش کرد که باکتری *Acinetobacter sp.* قادر به تجزیه‌ی فنول است ولی این باکتری توانایی تجزیه‌ی میزان اندکی فنول دارد. چاکرابورتی و همکاران (Chakraborty *et al.*, 2010) به بررسی تجزیه‌ی زیستی فنول توسط یک سویه‌ی جداسازی‌شده از فاضلاب صنایع تبدیلی زغال سنگ در شرایط فیزیولوژیکی مختلف از جمله دما، pH و درصد گلوکز موجود در محیط کشت پرداختند و بیشترین میزان تجزیه‌ی فنول را در دمای ۳۰ درجه سلسیوس $pH = 7$ و گلوکز ۰/۲۵ درصد مشاهده کردند. ابوحماد و همکاران (Abuhamed *et al.*, 2004) به بررسی تجزیه‌ی زیستی فنول، بنزن و تولوئن توسط باکتری *Pseudomonas putida* پرداختند و مدلی مناسب برای پیش‌بینی رشد و مهار باکتری در حضور این سه سوبسترا ارائه کردند. با این حال جستجو برای یافتن جدایه‌هایی با توانایی بالا در تجزیه‌ی فنول و توانمندی فعالیت در دامنه‌های مختلف دمایی، pH و مواد غذایی امری ضروری است.

بنابراین با توجه به ضرورت حذف آلاینده‌های نفتی از محیط و نیز بازیابی آن‌ها از طریق روش‌های زیستی، پژوهش حاضر در راستای شناسایی باکتری‌های تجزیه‌کننده فنول و بررسی تجزیه‌ی فنول در شرایط مختلف است که گامی در جهت استفاده از این جدایه‌ها در صنعت زیست‌پالایی (Bioremediation) فنول است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری خاک

نمونه‌برداری باکتری از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک با استفاده از قاشق استریل انجام گرفت و در ظروف شیشه‌ای در پوش‌دار استریل گذاشته شدند. به‌منظور هوادهی، درپوش‌ها به‌صورت نیمه‌باز گذاشته و سپس در دمای ۴ درجه سلسیوس تا زمان انجام آزمایش نگهداری شدند (Reda, 2009). نمونه‌برداری در خاک شیل‌های نفتی مربوط در ارتفاعات منطقه دودان ($E: 46^{\circ} 01' 32''$ و $N: 34^{\circ} 51' 52/6''$) و کزی ($E: 46^{\circ} 11' 8/6''$ و $N: 34^{\circ} 51' 52/6''$) واقع در غرب استان کرمانشاه صورت پذیرفت.

محیط کشت و جداسازی باکتری

جداسازی باکتری‌ها با استفاده از محیط‌های کشت نوترینت‌براث (NB) و نوترینت‌آگار (NA) در مرحله اولیه کشت باکتری‌ها، و محیط کشت پایه معدنی حاوی نمک‌های Na_2HPO_4 (۵/۳۵ گرم در لیتر)، NH_4Cl (۲/۶۷ گرم در لیتر)، $CaCl_2.H_2O$ (۰/۰۰۶ گرم در لیتر)، $MgSO_4$ (۰/۰۰۶ گرم در لیتر)، $FeSO_4.H_2O$ (۱۰۰۲۴ گرم در لیتر)، $MnSO_4.H_2O$ (۰/۰۰۰۶ گرم در لیتر) و مقدار فنول (۰/۱ گرم در لیتر) در مرحله جداسازی و تشخیص باکتری‌های تجزیه‌کننده فنول انجام گرفت و pH محیط‌ها در محدوده ۷ تنظیم شد (Kiyangpour et al., 2016).

محیط‌های کشت برای سترون‌شدن در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند. غلظت‌های مناسب از خاک هموزن‌شده در سرم فیزیولوژی استریل (۹ گرم در لیتر NaCl) تهیه شد و سپس رقت‌های مناسب به‌طور جداگانه در محیط کشت NB حاوی ۰/۱ گرم در لیتر فنول اضافه شد. پس از دو روز گرماگذاری در دمای ۳۵ درجه سلسیوس و شرایط دورانی ۱۵۰ دور در دقیقه، از کشت مخلوط حاصل سری رقت تهیه و بر روی محیط کشت NA فنول‌دار تلقیح گردید. محیط‌های کشت حداقل به‌مدت ۱۵ روز در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از گذشت مدت زمان لازم برای رشد باکتری‌ها، کلونی‌هایی با رنگ و شکل ظاهری متفاوت پدیدار شد. با توجه به تفاوت ریخت‌شناسی کلونی‌های رشد کرده (Busse & Wieser, 2018) و با انجام کشت‌های متوالی، کشت خالص از جدایه‌های متفاوت حاصل از خاک‌های آلوده به نفت به‌دست آمد.

بررسی توانایی باکتری‌ها در تجزیه فنول و تعیین جدایه‌های برتر

شناسایی باکتری‌های تجزیه‌کننده فنول با تلقیح جدایه‌های به‌دست آمده در محیط کشت پایه معدنی حاوی ۰/۱ گرم در لیتر فنول به‌عنوان تنها منبع کربن و انرژی انجام شد. چون فنول تنها منبع کربن و انرژی موجود در محیط کشت است، باکتری‌هایی در این محیط رشد خواهند کرد که قابلیت تجزیه و استفاده از فنول را داشته باشند. برای انتخاب جدایه‌های برتر در حذف فنول، محیط‌های کشت پایه معدنی حاوی ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ گرم در لیتر فنول تهیه شد. سوبه‌ها یک‌باره به تمام غلظت‌ها منتقل شدند. سپس از سوسپانسیون باکتری‌ها به میزان ۲ درصد به محیط کشت تلقیح شد و به انکوباتور شیکردار با دمای ۳۷ درجه سلسیوس و قدرت دورانی ۱۵۰ دور در دقیقه، منتقل شد. نمونه‌هایی که قادر به رشد در کمترین زمان و در بالاترین غلظت فنول بودند به‌عنوان جدایه‌های برتر انتخاب شدند (Ajaz et al., 2004). برای بررسی میزان حذف فنول، نمونه‌های باکتری در غلظت ۰/۳ گرم در لیتر فنول به میزان ۲ درصد تلقیح گردیدند و به انکوباتور شیکردار منتقل شدند. میزان رشد نمونه‌ها و بررسی تجزیه‌ی فنول هر ۲۴ ساعت یک‌بار به مدت ۷ روز بررسی گردید. میزان حذف فنول با استفاده از روش گیبس و بر اساس جذب خوانده شده در طول موج ۶۳۰ نانومتر محاسبه شد. در این روش از ۲ و ۶ دی‌کلروکونینون کلروایمید (معرف گیبس) استفاده شده است که در حضور فنول از موقعیت پارا به آن متصل می‌شود و ایجاد ترکیب آبی رنگی می‌کند، (Smith, 1976). منحنی رشد جدایه‌های برتر در محیط کشت، حاوی ۰/۳ گرم در لیتر فنول در دوره‌های زمانی ۶ ساعته، به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (Hach، آمریکا) در طول موج ۶۰۰ نانومتر رسم شد.

بررسی عوامل مختلف بر رشد باکتری و تجزیه‌ی فنول

به منظور بهینه‌سازی تولید آنزیم، دو جدایه‌ی گزینش شده در ۱۰ میلی‌لیتر از محیط کشت در pHهای برابر با ۶، ۶/۵، ۷، ۷/۵ و ۸، و دماهای ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درجه‌ی سلسیوس، و منابع کربنی مختلف از قندهای گلوکز، نشاسته، ساکارز و مالتوز با غلظت ۱ درصد (وزنی به حجمی)، و منابع نیتروژنی مختلف شامل آمونیوم کلراید، آمونیوم سولفات، عصاره مخمر، پپتون و اوره با غلظت ۰/۲ درصد (وزنی به حجمی)، کشت شدند (Abd-El-Haleem et al., 2003). برای اندازه‌گیری دمای بهینه و pH بهینه و نیز آزمایش‌های مربوط به منابع کربنی و نیتروژنی، آزمایش کشت باکتری‌ها در غلظت فنول ۰/۳ گرم در لیتر (یعنی غلظت بهینه‌ی فنول) انجام شد. پس از یافتن دمای بهینه‌ی مربوط به هر جدایه، دیگر آزمایشات در دمای بهینه‌ی مخصوص به هر یک و در محیط بهینه‌ی مرحله قبل در ۱۵۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار انجام گرفت و رشد جدایه‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر و غلظت فنول در طول موج ۶۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مورد بررسی قرار گرفت (Smith, 1976).

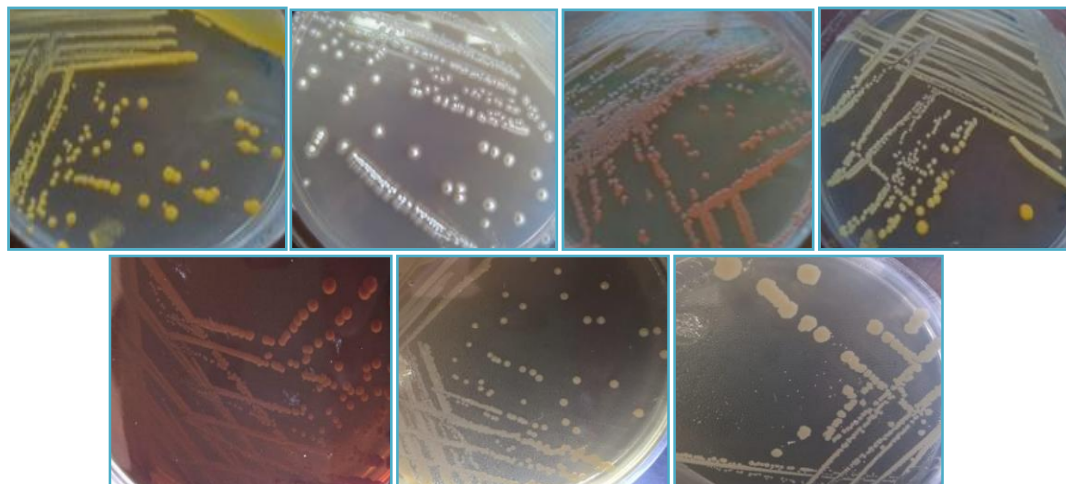
شناسایی ژنتیکی ژن *16S rDNA* باکتری

استخراج DNA ژنومی به روش سمبروک و راسل (Sambrook & Russell, 2001) انجام شد. برای شناسایی جدایه‌ها از آغازگرهای عمومی 27F (5'AGAGTTTGATCCTGGCTCAG3') و 1492R (3'GGTTACCTTGTACGACTT3') در تکثیر توالی ژنومی 16S rRNA استفاده شد. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر DNA الگو، ۱ میکرولیتر آغازگر پیشرو (۲۰ پیکومولار)، ۱ میکرولیتر آغازگر پیرو (۲۰ پیکومولار)، ۱۲/۵ میکرولیتر Mastermix، و ۹/۵ میکرولیتر آب صورت گرفت و با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Biorad, USA) با شرایط دمایی ۳ دقیقه واسرشت ابتدایی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس و در ادامه ۳۵ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، اتصال در دمای ۵۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، گسترش در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۹۰ ثانیه و در نهایت گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد (Aliakbari *et al.*, 2018). تعیین توالی قطعات حاصل از واکنش PCR با آغازگرهای 27F و 1492R در شرکت ماکروژن کره، به سفارش شرکت دنا زیست آسیا انجام شد. به منظور بررسی میزان همسانی توالی‌های 16S rRNA جدایه‌های مورد نظر از پایگاه ملی اطلاعات زیست‌فناوری (NCBI) استفاده شد و با استفاده از تطبیق توالی با ساختار نوشتاری FASTA جستجوهای همسانی به عمل آمد. سپس، درخت تبارشناسی به روش Maximum Likelihood و تعداد Bootstrap ۱۰۰۰ با استفاده از نرم‌افزار MEGA-X رسم شد (Kumar *et al.*, 2018).

نتایج و بحث

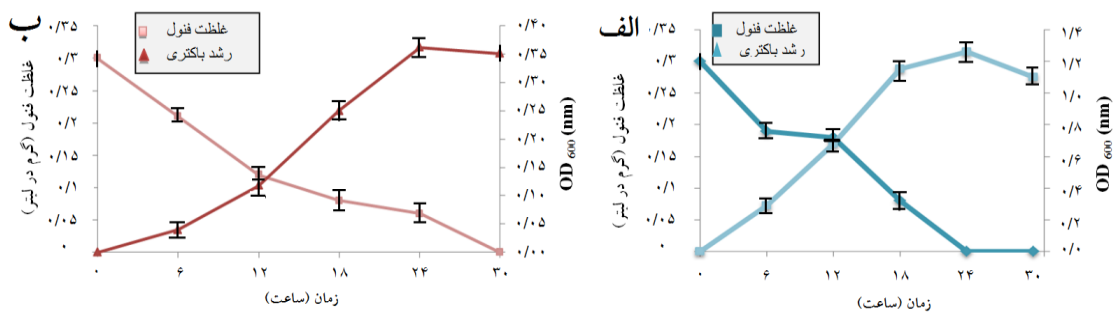
گزینش باکتری‌های تجزیه‌کننده‌ی فنول و انتخاب جدایه‌های برتر

به منظور شناسایی باکتری‌های تجزیه‌کننده‌ی فنول، پس از کشت جدایه‌ها در محلول حاوی فنول مشخص شد که از مجموع ۵۰ جدایه‌ی خالص‌سازی‌شده، ۷ جدایه توانایی تجزیه فنول را داشتند. میزان رشد و تجزیه‌ی فنول توسط این جدایه‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفت که نشان دهنده‌ی مثبت بودن فعالیت فنولازی جدایه‌ها بود (نگاره ۱).



نگاره ۱: رشد ۷ جدایه جداسازی شده در پلیت حاوی ۰/۱ گرم در لیتر فنول در محیط کشت نوترینت آگار (NA) در دمای ۳۷ درجه سلسیوس.

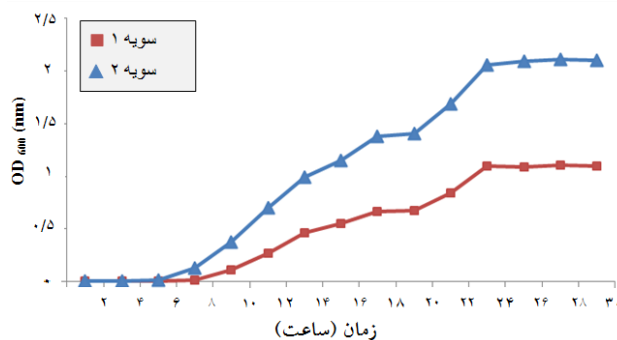
سپس، سنجش غلظت فنول به عنوان سوبسترا در طی رشد جدایه‌ها در زمان‌های مختلف، از طریق رسم منحنی استاندارد فنول بر اساس میزان جذب برای غلظت‌های مختلف (۰/۱ تا ۰/۹ گرم در لیتر) به دست آمد. فرایند مواجه شدن سویه‌ها با غلظت‌های مختلف فنول به صورت تدریجی نبود و سویه‌ها در هر غلظت به طور مستقل قرار گرفتند. با توجه به سرعت رشد در بیشترین غلظت فنول و همچنین میزان حذف فنول توسط جدایه‌ها از میان ۷ جدایه‌ی جداسازی شده، تعداد دو جدایه به عنوان جدایه‌های برتر جهت انجام مراحل بعدی برگزیده شدند. طی ۳۰ ساعت اول و بر اساس نتایج جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر منحنی رشد و بر اساس جذب در طول موج ۶۳۰ نانومتر منحنی حذف فنول جدایه‌های برتر رسم گردید. بر اساس نتایج به دست آمده، جدایه‌ی شماره‌ی یک پس از ۲۴ ساعت و جدایه‌ی دوم پس از ۳۰ ساعت میزان ۰/۳ گرم در لیتر فنول موجود در محیط کشت را به طور کامل تجزیه کردند (نگاره ۲). در بررسی توانایی تجزیه فنول توسط میکروارگانیسم‌ها معمولاً از دو روش استفاده می‌شود. در روش نخست، افزایش تدریجی غلظت فنول به منظور خوگیری (سازگاری) میکروارگانیسم انجام می‌شود که در این حالت میکروارگانیسم فرصت خوگیری به غلظت‌های بالاتر سوبسترا (فنول) را از طریق افزایش بیان ژن آنزیم‌های درگیر در فرایند تجزیه فنول کسب می‌کنند. در این روش باکتری‌های مورد آزمون ممکن است به مرور توانمندی حذف فنول را با استفاده از فرصت ایجاد شده از طریق فرایند خوگیری پیدا کنند (Joseph & Chandrika, 1999). در حالی که در روش دوم که مبنای آن قرارگیری میکروارگانیسم‌ها به صورت یک‌باره در غلظت‌های بالای فنول است، تنها میکروارگانیسم‌هایی که ذاتاً نسبت به غلظت‌های بالای فنول مقاوم هستند توانایی زیست و استفاده از فنول را خواهند داشت. در کاربردهای زیست‌پالایی میکروارگانیسم‌های برگزیده طبق روش دوم به عنوان یک مزیت محسوب می‌شوند (Bathe et al., 2005).



نگاره ۲: میزان رشد و غلظت فنول جدایه اول (الف) و جدایه دوم (ب) در مدت زمان ۳۰ ساعت در محیط کشت پایه معدنی و دمای ۳۷ درجه سلسیوس

نرخ رشد جدایه‌های برگزیده

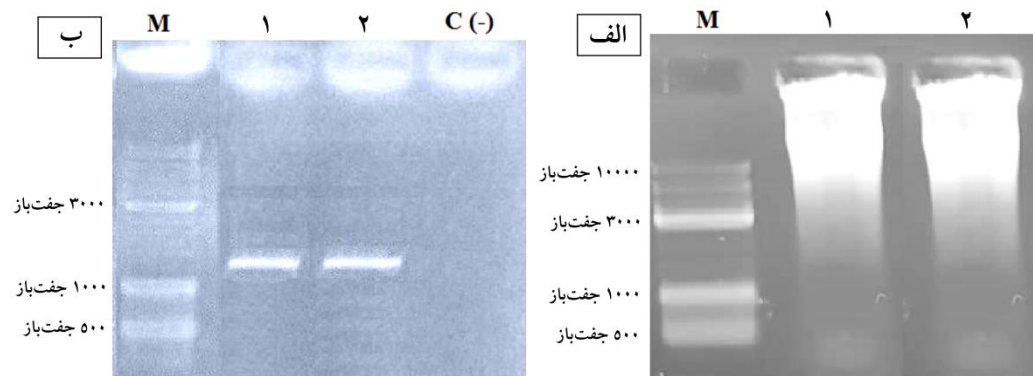
طی ۳۰ ساعت اول پس از کشت جدایه‌ها در محیط کشت پایه معدنی، هر ۲ ساعت یک بار جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد و منحنی نرخ رشد جدایه‌ها رسم گردید (نگاره ۳). نتایج نشان داد که برای جدایه‌ی اول مدت فاز تأخیری ۸ ساعت تعیین است. این جدایه‌ی از ساعت ۹ تا ۲۴ رشد خود در فاز لگاریتمی قرار داشت و پس از آن وارد فاز سکون شد. بر این اساس ساعت ۱۶ رشد باکتری، به‌عنوان میانه فاز لگاریتمی جدایه‌ی اول مشخص گردید. برای جدایه‌ی دوم نیز مدت فاز تأخیری ۶ ساعت تعیین گردید. از ساعت ۶ تا ۲۴ جدایه‌ی در فاز لگاریتمی رشد خود قرار داشت و پس از آن وارد فاز سکون شد بر این اساس ساعت ۱۶ رشد باکتری، به عنوان میانه فاز لگاریتمی جدایه‌ی دوم مشخص شد.



نگاره ۳: نرخ رشد جدایه‌های برگزیده در زمان‌های مختلف در محیط کشت پایه معدنی در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و غلظت فنول ۰/۱ گرم در لیتر.

شناسایی مولکولی جدایه‌های برگزیده

محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز بر روی ژل آگارز پس از استخراج DNA ژنومی و انجام واکنش‌های پلیمرز برای توالی 16S rDNA، بیانگر یک باند در ناحیه ۱۵۰۰ جفت باز برای هر دو جدایه بود (نگاره ۴).

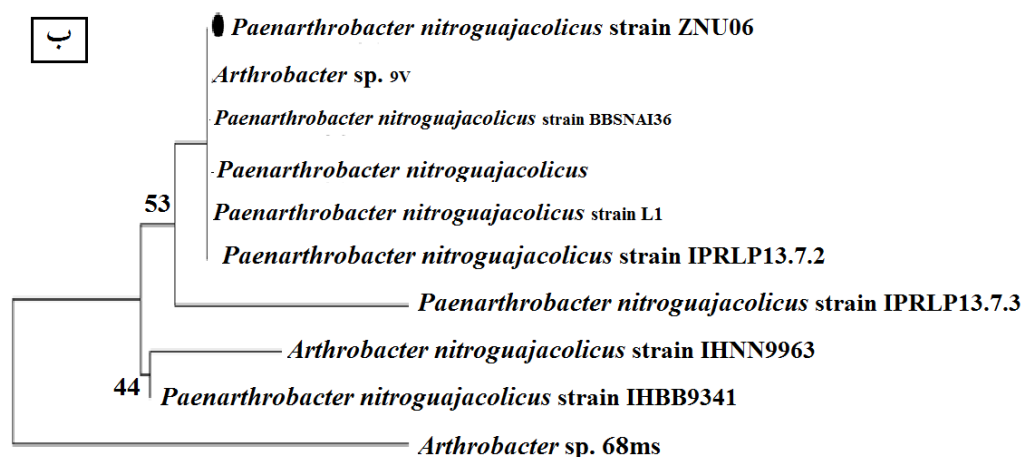
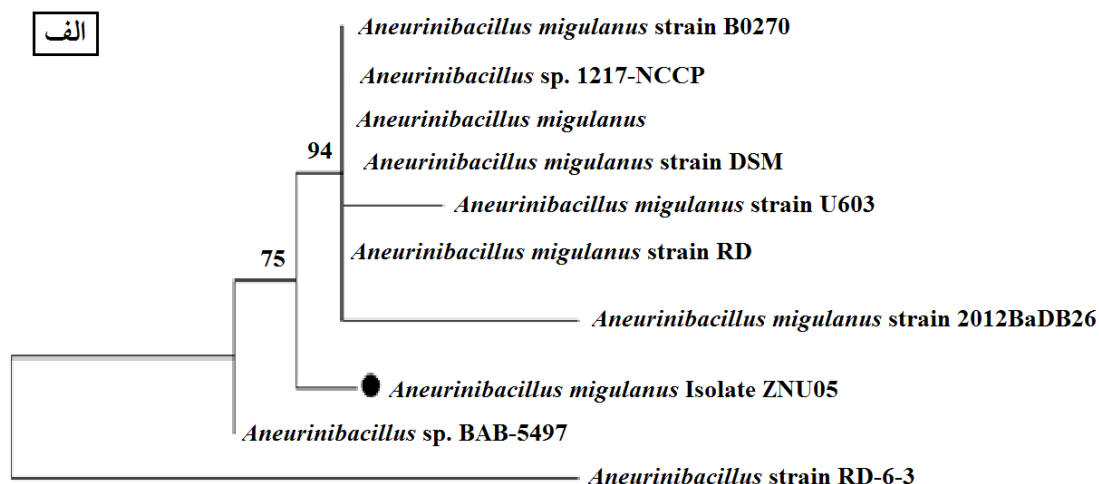


نگاره ۴: ژل الکتروفورز آگاروز: (الف) استخراج DNA ژنومی، (ب) محصول PCR توالی 16S rDNA (۱) جدایه یک نخست، (۲) جدایه‌ی دوم، (M) مارکر وزن مولکولی SM0334، (-) C: کنترل منفی

تعیین توالی محصول PCR با استفاده از آغازگرهای 27F و 1492R انجام شد. بررسی نتایج تعیین توالی بیانگر یک توالی ۱۳۸۲ نوکلئوتیدی برای جدایه‌ی اول و یک توالی ۱۳۲۵ نوکلئوتیدی برای جدایه‌ی دوم بود. مقایسه توالی ژن 16S rDNA به دست آمده از جدایه‌های برگزیده با توالی‌های موجود در NCBI مشخص کرد که نزدیکترین جدایه‌های شناخته شده به جدایه‌های برگزیده اول و دوم، به ترتیب با درجه همسانی ۹۹ و ۱۰۰ درصد مربوط به *Aneurinibacillus migulanus* و *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* می‌باشند. تاکنون گزارشی در مورد تولید آنزیم کتکول و ۲ دی اکسیژناز و فعالیت فنولازی *Aneurinibacillus migulanus* منتشر نشده است، ولی باکتری *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* در پژوهش‌های پیشین به عنوان باکتری واجد فعالیت فنولازی معرفی شده است (Kumar et al., 2005).

نتایج رسم درخت تبارشناسی (نگاره ۵) به روش Maximum Likelihood و تعداد بوت‌استرپ (Bootstrap) ۱۰۰۰ نشان می‌دهد که سویه‌های مختلف باکتری *Aneurinibacillus migulanus* همراه با *Aneurinibacillus migulanus* Isolate ZNU05 تشکیل یک خوشه کلی می‌دهد که شامل حداقل یک زیر خوشه هستند. خوشه اول شامل سویه‌های متنوعی هستند که به جز *Aneurinibacillus migulanus* strain U603 بقیه در این زیر خوشه تفاوت ژنتیکی چندانی با هم ندارند اما *Aneurinibacillus migulanus* strain U603 از نظر ژنتیکی متفاوت است. جدایه‌ی *Aneurinibacillus migulanus* Isolate ZNU05 نیز به صورت تک نیایی با این شاخه اما در یک زیر خوشه‌ی دیگر قرار می‌گیرد. باکتری *Aneurinibacillus* sp. strain RD--6-3 به عنوان عضو برون گروه است. همچنین، درخت تبارشناسی نشان می‌دهد که *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* با سایر جدایه‌های *Paenarthrobacter* تشکیل یک خوشه مستقل را می‌دهند که با بوت‌استرپ ۵۳ این خوشه تشکیل شده است. همه سویه‌های این شاخه متعلق به گونه *P. nitroguajacolicus* هستند که با توجه به طول شاخه‌ها در بین این جدایه‌ها تنوع ژنتیکی وجود ندارد. در شاخه‌ی مذکور یک جنس *Arthobacter* sp. 9.V وجود دارد که احتمالاً متعلق به گونه *P. nitroguajacolicus* است و باید بررسی شود، این گونه‌ها به صورت تک نیایی هستند. سایر سویه‌های *P.*

nitroguajacolicus نیز در خوشه‌های دیگر قرار دارند که ناشی از تنوع ژنتیکی و تنوع در بین این سویه‌ها هستند. گونه *Arthrobacter* sp. 68 به‌عنوان عضو برون‌گروه در این درخت قرار دارد و با توجه به محل قرار گرفتن از یک جد نیای دیگر منشا گرفته است.



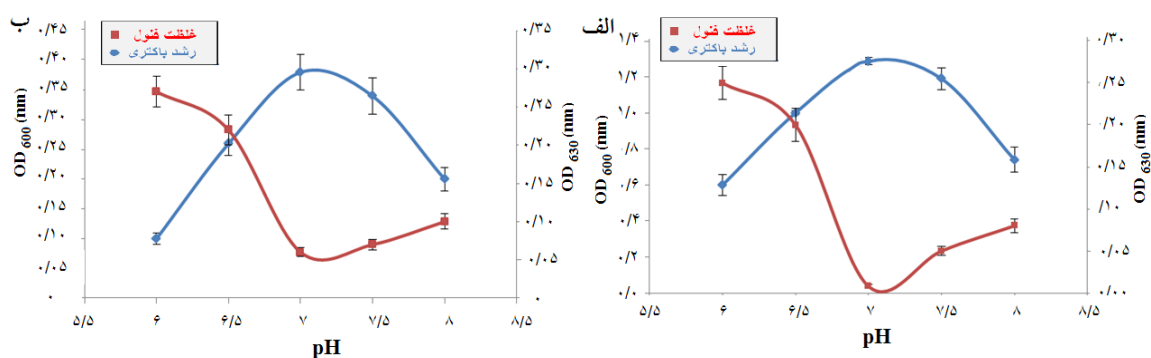
0.005

نگاره ۵: درخت تبارشناسی (فیلوژنی) جدایه‌های برگزیده در این پژوهش بر اساس توالی ژن *16S rDNA* با استفاده از نرم-افزار MEGA-X به روش Maximum Likelihood. نمودار الف مربوطه به جدایه *Aneurinibacillus migulanus* Isolate ZNU05 و نمودار ب مربوط به جدایه *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* Isolate ZNU06 است.

تعیین pH و دمای بهینه‌ی رشد جدایه‌ها

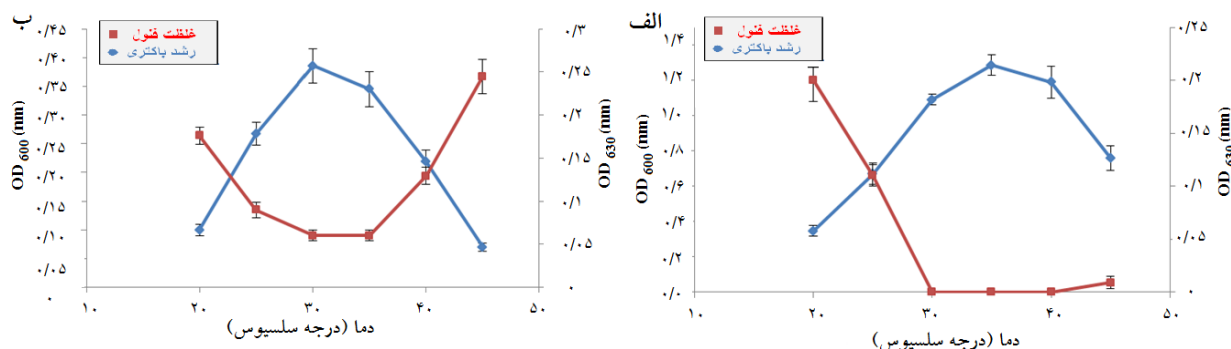
نتایج کشت جدایه‌های برگزیده در pH های مختلف نشان داد که هر دو جدایه در گستره‌ی pH برابر با ۶/۵ تا ۷/۵ رشد بالایی دارند، ولی بیشترین رشد در pH = ۷ مشاهده شد (نگاره ۶). برای اندازه‌گیری pH بهینه نیز از محیط کشت پایه

معدنی و غلظت فنول ۰/۳ گرم در لیتر (یعنی غلظت بهینه فنول) استفاده شد. رشد جدایه‌ها در دامنه pH برابر با ۶ تا ۸ نشان‌دهنده‌ی توانایی بالای این جدایه‌ها برای رشد در محیط‌های مختلف می‌باشد. برای هر دو جدایه، حداکثر رشد و فعالیت فنولازی در حدود pH = ۷ مشاهده شد. همچنین هر دو جدایه، در شرایط قلیایی نسبت به شرایط اسیدی فعالیت فنولازی بهتری را از خود نشان دادند. مطالعات انجام‌شده توسط نداف و گوش (Nadaf & Ghosh, 2011)، تسای و لی (Tsai & Li, 2007) و سیلوا و همکاران (Silva et al., 2013) نشان می‌دهد که باکتری‌های تجزیه‌کننده فنول میانه‌دوست هستند و در شرایط قلیایی نسبت به شرایط اسیدی عملکرد بهتری را از خود نشان می‌دهند. نتایج اثر دماهای گوناگون بر رشد دو جدایه برگزیده نشان می‌دهد که برای جدایه‌ی اول و دوم دمای بهینه برای رشد و فعالیت فنولازی باکتری به ترتیب ۳۵ و ۳۰ درجه سلسیوس است (نگاره ۷) و این بیانگر میانه‌دوست بودن جدایه‌های مورد نظر نسبت به دما می‌باشد. در سایر مطالعات انجام شده بر روی باکتری‌های تجزیه‌کننده فنول از جمله *Acinetobacter sp* و *Rhodococcus sp*، توانایی تجزیه‌ی فنول در دمای ۳۰ درجه سلسیوس و pH = ۷ گزارش شده است (Nadaf & Ghosh, 2011). این نتایج همسو با مطالعه حاضر و نشان‌دهنده‌ی میانه‌دوست بودن این باکتری‌ها است.



نگاره ۶: اثر pHهای مختلف بر قابلیت تجزیه‌ی فنول و رشد جدایه‌ی *Aneurinibacillus migulanus* Isolate ZNU05

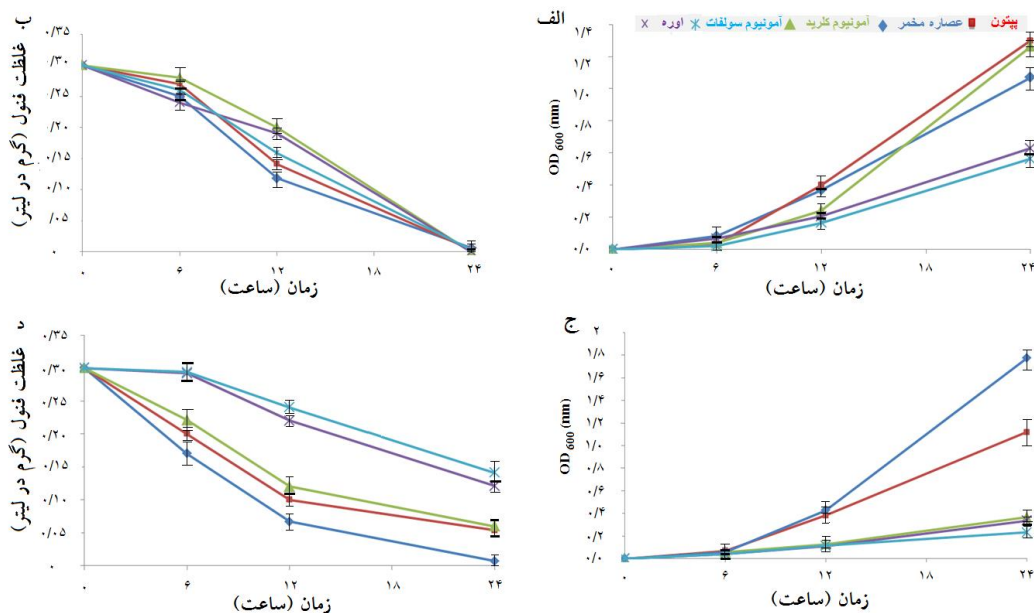
(الف) و جدایه‌ی *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* Isolate ZNU06 (ب) در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در محیط کشت پایه معدنی. نمودار آبی رنگ میزان رشد باکتری و نمودار قرمز رنگ میزان غلظت فنول باقی‌مانده در محیط را نشان می‌دهند.



نگاره ۷: اثر دماهای مختلف بر قابلیت تجزیه فنول و رشد جدایه‌ی *Aneurinibacillus migulanus* Isolate ZNU05 (ب) و جدایه‌ی *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* Isolate ZNU06 (الف) در محیط کشت پایه معدنی در pH برابر با ۷. نمودار آبی رنگ میزان رشد باکتری و نمودار قرمز رنگ میزان غلظت فنول باقی مانده در محیط را نشان می‌دهند.

اثر منبع نیتروژن بر رشد جدایه‌ها و تجزیه فنول

بنابر نتایج به دست آمده، بیشترین میزان رشد در باکتری *Aneurinibacillus migulanus* Isolate ZNU05 در حضور منبع نیتروژن پپتون و آمونیوم کلرید مشاهده شد (نگاره ۸). این نتایج نشان‌دهنده توانایی این جدایه برای رشد در محیط‌های حاوی منابع آلی مانند پپتون می‌باشد و بنابراین دلالت بر خاصیت ارگانوتروف بودن این جدایه دارد (Nelson et al., 2008). رشد مناسب جدایه‌ی مورد نظر در حضور یک منبع نیتروژن ساده مانند آمونیوم کلرید نیز نشان‌دهنده توانایی این جدایه، برای عملکرد مناسب در محیط‌های دارای حداقل شرایط رشد می‌باشد. نتایج حاصل از فعالیت فنول‌لازی نشان داد که این جدایه در تمامی منابع نیتروژن به کار گرفته عملکرد بالایی دارد (نگاره ۸). در باکتری *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* بیشترین میزان رشد و تجزیه‌ی فنول در حضور منبع نیتروژن عصاره مخمر مشاهده شد که این نتایج نشان‌دهنده ارگانوتروف بودن این جدایه می‌باشد. در مطالعه‌ی باشا و همکاران (Basha et al., 2010) مشاهده شده است که حضور عصاره مخمر باعث افزایش جذب فنول توسط *Pseudomonas putida* می‌شود و همچنین مطالعه روی *Pseudomonas aeruginosa* با پپتون به عنوان ماده مغذی اضافی بیشترین میزان تجزیه فنول را نشان داده است (He et al., 2013).

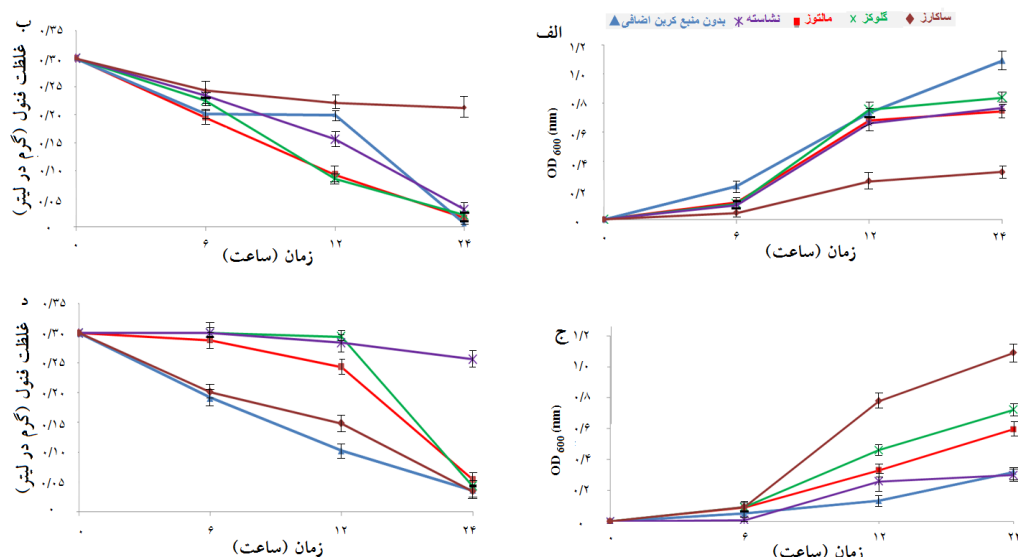


نگاره ۸: اثر منابع مختلف نیتروژن بر میزان رشد باکتری و تجزیه‌ی فنول در *Aneurinibacillus migulanus* Isolate ZNU05 (به ترتیب الف، ب) و در *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* Isolate ZNU06 (به ترتیب ج، د) در محیط کشت پایه معدنی در دمای بهینه و pH برابر با ۷ و غلظت فنول ۰/۳ گرم در لیتر.

اثر منابع مختلف کربن بر رشد جدایه‌ها و تجزیه‌ی فنول

براسای نتایج بیشترین میزان رشد و تجزیه‌ی فنول برای جدایه‌ی *Aneurinibacillus migulanus* Isolate ZNU05 در شرایط کشت بدون حضور منبع کربن اضافی مشاهده گردید (نگاره ۹). عملکرد بالای این جدایه در محیط‌هایی با حداقل شرایط رشد می‌تواند به عنوان مزیتی برای استفاده‌ی این جدایه در محیط‌های متفاوت باشد. در حالی‌که، بیشترین میزان رشد مربوط به جدایه‌ی *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* Isolate ZNU06 در حضور منبع کربن ساکارز است بیشترین میزان تجزیه‌ی فنول (نگاره ۹) توسط این جدایه در شرایط کشت بدون حضور منبع کربن اضافی مشاهده شد. از آنجا که گلوکز قندی احیاکننده و ساکارز یک دی‌ساکارید غیر احیاکننده است و با توجه به حداکثر رشد باکتری در حضور ساکارز، به‌نظر می‌رسد این جدایه تمایل بیشتری به رشد در حضور قندهای غیر احیاکننده نسبت به قندهای احیاکننده دارد. همچنین با توجه به تجزیه ساکارز به گلوکز و فروکتوز، به‌نظر می‌رسد این جدایه تمایل بیشتری به قندهای کتونی نسبت به آلدیدی از خود نشان می‌دهد. در نهایت می‌توان گفت که بررسی حداکثر میزان رشد و تجزیه‌ی فنول توسط *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* Isolate ZNU06 در منابع متفاوت کربن نشان‌دهنده وابستگی شدید فعالیت فنولازی و رشد این جدایه به منابع کربن آلی می‌باشد به‌طوری‌که بیشترین میزان رشد و تجزیه فنول در حضور ساکارز انجام شده است. البته نتایج حاصل از مطالعه هی و همکاران (He et al., 2013) بر روی تجزیه‌ی فنول توسط باکتری *Bacillus* sp. نشان داد که میزان حذف فنول در حضور گلوکز به‌عنوان منبع کربن افزایش می‌یابد. با این‌حال، مکانیسم اثر نوع قند بر تجزیه فنول به‌ویژه در جدایه‌ی *Paenarthrobacter*

nitroguajacolicus Isolate ZNU06 قابل بررسی بیشتر است و به نظر می‌رسد که احتمالاً قندها مشابه عملکردشان در اپرون لاکتوز (*lac*)، به‌عنوان یک القاکننده عمل کرده و باعث افزایش بیان ژن‌های فنولازی در جدایه‌ها شده است (Loh & Tan, 2000).



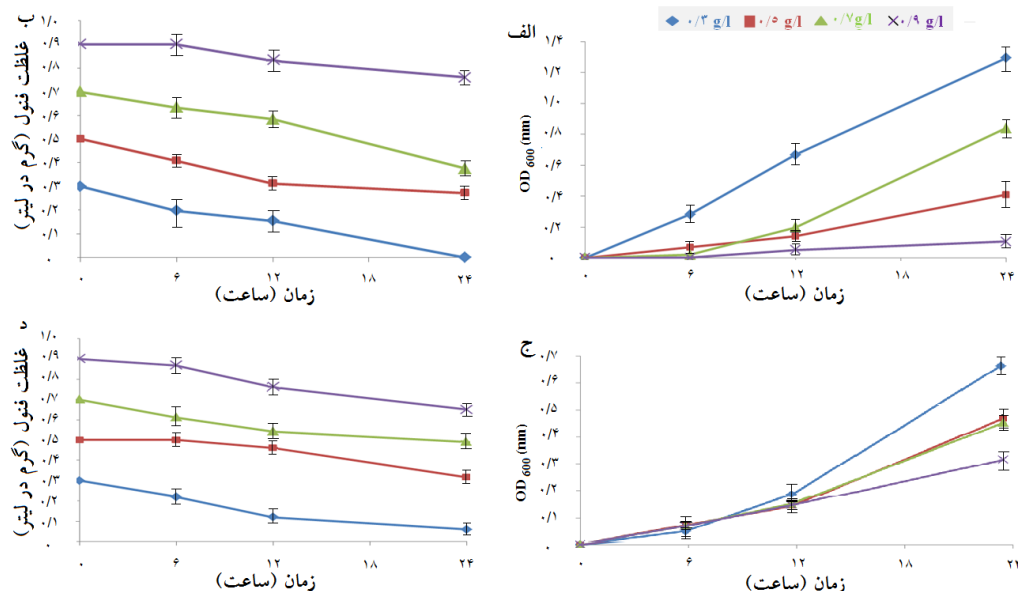
نگاره ۹: اثر منابع مختلف کربن بر میزان رشد باکتری و تجزیه‌ی فنول در *Aneurinibacillus migulanus* Isolate ZNU05 (به ترتیب الف، ب) و در *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* Isolate ZNU06 (به ترتیب ج، د) در محیط کشت پایه معدنی در دمای بهینه، pH برابر با ۷ و غلظت فنول ۰/۳ گرم در لیتر.

اثر غلظت‌های مختلف سوبسترای فنول بر رشد جدایه و تجزیه فنول

میزان رشد و تجزیه‌ی فنول جدایه‌ها در محیط‌های حاوی ۰/۳ تا ۰/۹ گرم در لیتر فنول به‌عنوان سوبسترا پس از گذشت زمان ۲۴ ساعت از گرماگذاری در محیط‌های بهینه‌شده بررسی گردید. حداکثر میزان رشد و تجزیه فنول برای هر دو جدایه ۰/۳ گرم در لیتر فنول مشاهده گردید (نگاره ۱۰). در غلظت ۰/۳ گرم در لیتر فنول هر دو سویه حداکثر رشد را داشتند ولی در غلظت ۰/۹ باکتری‌ها اگرچه توانایی رشد داشتند ولی طبق نگاره ۱۰، میزان رشد جدایه‌ی اول (*Aneurinibacillus migulanus* Isolate ZNU05) بعد از ۲۴ ساعت در غلظت ۰/۹ گرم در لیتر فنول در OD₆₀₀ به ۰/۱ رسید و مصرف فنول بعد از ۲۴ ساعت تنها ۰/۱ گرم در لیتر بود در حالی‌که، در غلظت ۰/۳ گرم در لیتر در فنول در OD₆₀₀ طی ۲۴ ساعت میزان رشد باکتری‌ها به ۱/۲ افزایش یافت و میزان فنول در محیط کشت به صفر رسید. در جدایه‌ی دوم (*Paenarthrobacter nitroguajacolicus* Isolate ZNU06) در غلظت ۰/۳ گرم در لیتر فنول حداکثر رشد یعنی حدود ۰/۶ را داشت ولی در غلظت ۰/۹ بعد از ۲۴ ساعت در OD₆₀₀ این رشد به حدود ۰/۳ رسید که این نشانگر مقاوم‌بودن این جدایه نسبت به سمیت فنول است. همچنین، بررسی‌ها نشان می‌دهد که مصرف فنول جدایه‌ی دوم بعد از ۲۴ ساعت ۰/۲ گرم در لیتر است. مقایسه میزان رشد این دو جدایه نشان می‌دهد که *Aneurinibacillus migulanus* Isolate ZNU05 نسبت به *Paenarthrobacter*

nitroguajacolicus Isolate ZNU06 توانایی رشد دو برابری در غلظت ۰/۳ گرم در لیتر فنول را دارد ولی نسبت به سمیت فنول حساس تر از جدایه‌ی دوم است.

به‌طور کلی، بررسی حذف فنول توسط این جدایه نشان داد که علی‌رغم رشدشان در غلظت‌های بالای فنول (۰/۵، ۰/۷ و ۰/۹ گرم در لیتر)، حداکثر توانایی حذف فنول را در محیط کشت حاوی ۰/۳ گرم در لیتر فنول دارند. از این‌رو می‌توان گفت که این جدایه‌ها می‌توانند در فرایند زیست‌پالایی در مناطقی با غلظت متنوع فنول (۰/۱ الی ۰/۹) نیز مورد استفاده قرار گیرند. مقایسه نتایج قابلیت حذف فنول این پژوهش با سایر پژوهش‌ها مانند سیواسوبرامانیان و ناماسیویام (Sivasubramanian & Namasivayam, 2015)، نشان داد که قابلیت تصفیه زیستی فنول و مشتقات فنولی با استفاده از مخمرها و باکتری‌های جداسازی شده از پساب صنایع سنگین تا غلظت ۰/۵ گرم در لیتر می‌باشد که قابلیت بیشتر جدایه‌های مورد مطالعه را به اکثر جدایه‌های موجود نشان می‌دهد.



نگاره ۱۰: اثر غلظت‌های مختلف فنول (به عنوان سوبسترا) بر میزان رشد باکتری و تجزیه‌ی فنول در

Paenarthrobacter nitroguajacolicus Isolate ZNU06 (به ترتیب الف، ب) و در *Aneurinibacillus migulanus* Isolate ZNU05

(به ترتیب ج، د) در محیط کشت پایه معدنی در دمای بهینه، pH برابر با ۷ و غلظت فنول ۰/۳ گرم در لیتر.

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش، تعداد ۵۰ جدایه برای شناسایی باکتری‌های تجزیه‌کننده فنول از شیل‌های نفتی ارتفاعات غرب استان کرمانشاه جداسازی شدند و مورد بررسی قرار گرفتند. با انجام آزمون، میزان رشد و حذف فنول توسط جدایه‌ها، ۲ جدایه به‌عنوان جدایه‌ی برتر برگزیده شدند که حداکثر رشد و حذف فنول را در غلظت ۰/۳ گرم در لیتر فنول داشتند، هر چند در غلظت‌های بالای فنول (۰/۵، ۰/۷ و ۰/۹ گرم در لیتر) نیز رشد کردند. جدایه‌ی *Aneurinibacillus migulanus* Isolate

ZNU05 قابلیت حذف فنول بالایی دارد در حالی‌که جدایه‌ی *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* Isolate ZNU06 مقاومت بالاتری به سمیت فنول در مقایسه با جدایه‌ی اول دارد. رشد باکتری‌های مورد نظر دارای دمای بهینه ۳۵ و ۳۰ درجه سلسیوس و pH بهینه برابر با ۷ می‌باشند. بنابر مطالعات مولکولی و تعیین توالی 16S rDNA، جدایه‌ی اول از باکتری‌های *Aneurinibacillus migulanus* و جدایه‌ی دوم از باکتری‌های *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* بود. همچنین نتایج این پژوهش بیانگر این است که باکتری *Aneurinibacillus migulanus* Isolate ZNU05 بدون نیاز به منابع کربن اضافی، قادر به رشد و تولید آنزیم می‌باشد، در حالیکه باکتری *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* Isolate ZNU06 در حضور منابع کربن اضافی به‌کار رفته در کنار فنول (به‌غیر از نشاسته) توانایی تجزیه فنول را دارد و رشد بهتری را از خود نشان می‌دهد. بهترین منبع نیتروژن برای رشد باکتری *Aneurinibacillus migulanus* Isolate ZNU05، آمونیوم کلرید و پیتون بود و برای باکتری *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* Isolate ZNU06 عصاره مخمر بهترین اثر را در رشد و تجزیه فنول داشت.

منابع

- Abuhamed, T., Bayraktar, E., Mehmetolu, T. and Mehmetolu, U. (2004). Kinetics model for the growth of *Pseudomonas putida* F1 during benzene, toluene and phenol biodegradation. *Process of Biochemistry*, 39(8): 983-988.
- Abd-El-Haleem, D., Beshay, U., Abdelhamid, A.O., Moawad, H. and Zaki, S. (2003). Effects of mixed nitrogen sources on biodegradation of phenol by immobilized *Acinetobacter* sp. Strain W-17. *African Journal of Biotechnology*, 2(1): 8-12.
- Ajaz, M., Noor, N., Rasool, S.A. and Khan, S.A. (2004). Phenol resistant bacteria from soil: identification-characterization and genetical studies. *Pakistan Journal of Botany*, 36(2): 415-424.
- Aliakbari, N., Mirzaee, Z., Jafarian, V., Khalifeh, K. and Salehi, M. (2019). Genetic and biochemical characterization of a novel thermostable cyclomaltodextrinase from *Anoxybacillus flavithermus*. *Starch-Stärke*, 71(1-2), p.1800133.
- Alenezi, F.N., Rekik, I., Chenari Bouket, A., Luptakova, L., Weitz, H.J., Rateb, M.E., Jaspars, M., Woodward, S. and Belbahri, L. (2017). Increased biological activity of *Aneurinibacillus migulanus* strains correlates with the production of new gramicidin secondary metabolites. *Frontiers in microbiology*, 8: p 517.
- Basha, K.M., Rajendran, A. and Thangavelu, V. (2010). Recent advances in the biodegradation of phenol: A review. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, 1(2): 219-234.
- Bathe, S., de Kreuk, M.K., McSwain, B.S. and Schwarzenbeck, N. (2005). *Aerobic granular sludge*. IWA Publishing.
- Besharati, H. (2015). Microbial Remediation of Petroleum Contaminated Soils and the Role of Rhizosphere in Microorganisms Efficiency. *Iranian journal of soil research*, 28(3): 573-584.
- Busse, H.J. and Wieser, M. (2018). Genus *Paenarthrobacter*: *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, John Wiley, pp.1-9.

- Chakraborty, S., Bhattacharya, T., Patel, T.N. and Tiwari, K.K. (2010). Biodegradation of phenol by native microorganisms isolated from coke processing wastewater. *Journal of Environmental Biology*, 31: 293-296.
- He, X.P., Liu, J., Liu, H.J., Lang, S.S., Xu, W.H. and Huang, Z.C. (2013). Effect of conventional carbon sources on phenol degradation by *Bacillus* sp. CDQ. *Advanced Materials Research*, 726(731): 301-304.
- Joseph, I. and Chandrika, V. (1999). Biodegradation of phenol using bacteria from different brackishwater habitats. *Indian Journal of Marine Science*. 28: 438-442.
- Kiyanpour, B R., Motamedi, H, and Bamzadeh, Z. (2016) Isolation and identification of petroleum hydrocarbon degrading bacteria from oil reservoirs located at Asmari, Ahwaz. 9: 145-155.
- Kumar, A., Kumar, S. and Kuma, S. (2005). Biodegradation kinetics of phenol and catechol using *Pseudomonas putida* MTCC 1194. *Biochemical Engineering Journal*, 22: 151-159.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. and Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35:1547-1549.
- Lješević, M., Gojgić-Cvijović, G., Jeda, T., Hashimoto, S., Nakano, T., Bulatović, S., Ilić, M. and Beškoski, V. (2019). Biodegradation of the aromatic fraction from petroleum diesel fuel by *Oerskovia* sp. followed by comprehensive GC× GC-TOF MS. *Journal of hazardous materials*, 363: 227-232.
- Logeshwaran, P., Megharaj, M., Chadalavada, S., Bowman, M. and Naidu, R. (2018). Petroleum hydrocarbons (PH) in groundwater aquifers: An overview of environmental fate, toxicity, microbial degradation and risk-based remediation approaches. *Environmental technology and innovation*, 10: 175-193.
- Loh, K.C. and Tan, C.P. (2000). Effect of additional carbon sources on biodegradation of phenol. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 64(6): 756-763.
- Milase, R.N. (2015). Purification and characterization of catechol 1, 2- dioxygenase from *Acinetobacter* sp. Strain Y64 and *Escherichia coli* transformants. Submitted to the College of Agriculture, Science and Engineering, School of Life sciences, Discipline of Microbiology, University of KwaZulu-Natal (Westville Campus), in fulfilment of the degree of Master of Science in Microbiology, 94 p
- Mishra, V.K. and Kumar, N. (2017). Microbial Degradation of Phenol: A Review. *Journal of Water Pollution & Purification Research*, 4(1):17-22.
- Nadaf, N.H. and Ghosh J.S. (2011). Purification and characterization of catechol 1, 2-dioxygenase from *Rhodococcus* sp. NCIM 289. *Research Journal of Environment and Earth Science*, 3(5): 608-613.
- Nelson, D.L., Lehninger, A.L. and Cox, M.M. (2008). *Lehninger principles of biochemistry*. Macmillan
- Reda, A.B. (2009). Bacterial bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons in heavy oil contaminated soil. *Journal of Applied Sciences Research*, 2: 197-201.
- Sambrook, J. and Russell, D. W. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Silva, A.S., Jacques, R.J.S., Andrezza, R., Bento, F.M., Roesch, L.F.W. and Camargo, F.A.O. (2013). Properties of catechol 1,2-dioxygenase in the cell free extract and immobilized extract of *Mycobacterium fortuitum*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(1): 291-297.
- Sivasubramanian, S. and Namasivayam, S.K.R. (2015). Phenol degradation studies using microbial consortium isolated from environmental sources. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 3(1): 243-252.

- Smith, L.S. (1976). Evaluation of Instrument for the Determination of Phenol in Water (Vol. 1). US Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Environmental Monitoring and Support Laboratory.
- Tsai, S.C. and Li, Y.K. (2007). Purification and characterization of a catechol 1,2-dioxygenase from a phenol degrading *Candida albicans* TL3". *Archive of Microbiology*, 187: 199-206.
- Wang, C.L., You, S.L. and Wang, S.L. (2006). Purification and characterization of a novel catechol 1, 2-dioxygenase from *Pseudomonas aeruginosa* with benzoic acid as a carbon source. *Process of Biochemistry*, 41: 1594-1601.

Screening and isolation of some phenol-degrading bacteria from petroleum-contaminated soils

F. Rabbani¹, V. Jafarian^{2*}, A. Asoodeh³

Received:2019.05.11

Accepted:2020.05.05

Abstract

This study was conducted to identify 16S rDNA in the superior phenol-degrading bacteria for phenol bioremediation purposes. Two strains were selected as superior ones with higher phenolase activity and investigated in culture media with different pHs, temperatures, and carbon and nitrogen sources. The first strain removed 100% phenol in the medium contained 0.3 g/L phenol as carbon source, 0.2 % peptone and ammonium chloride as nitrogen source after 24 h, at 35 °C in pH 7. While the second strain removed 100% phenol in the medium contained 1 % sucrose, 0.3 g/L phenol as carbon source, 0.2 % yeast extract and ammonium chloride as nitrogen source after 24 h, at 30 °C in pH 7. The results of sequencing and alignment of 16S rDNA sequence revealed that the first strain belongs to *Aneurinibacillus migulanus* and the second one to *Paenarthrobacter nitroguajacolicus*. Overall, the two selected strains from the research could be considered as an appropriate candidate in phenol bioremediation purposes.

Keywords: *Aneurinibacillus migulanus*, Bioremediation, *Paenarthrobacter nitroguajacolicus*, Phenol degradation.

1-Former Master Student, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zanjan.

2-Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zanjan.

*(Corresponding author: V.jafarian@znu.ac.ir)

3-Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad.

اثر تغییرات دما، شدت نور و دوره نوری بر توده زنده و میزان آلژینات جلبک قهوه‌ای

Sargassum boveanum

فرناز رفیعی^{۱*}، پریسا نجاتخواه معنوی^۲، حدیثه کرمانشاهی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۴/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۲۰

چکیده

به منظور بررسی اثر عوامل محیطی، جلبک سارگاسوم از ساحل بندر لنگه در خرداد ۱۳۹۰ نمونه برداری و در آکواریوم‌های ۶۰×۳۰×۴۰ (۲۰ لیتر) با روش معلق در سه تکرار پرورش داده شد. شرایط استاندارد شامل نور ۴۷۰۰ لوکس و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی ۱۲ ساعت روشنایی بود. تیمارهای مورد بررسی دما (۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتیگراد)، شدت نور (۴۷۰۰، ۵۷۰۰ و ۶۷۰۰ لوکس) و دوره نوری (۱۲:۱۲، ۱۰:۱۴ و ۸:۱۶، تاریکی: روشنایی) بودند. تیمار استاندارد دما ۲۵ درجه، شدت نور ۴۷۰۰ لوکس و دوره نوری ۱۲:۱۲ بود و در تیمارهای آزمایشی این شرایط در نظر گرفته شد. جلبک‌ها در روزهای ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ پس از کشت برداشته و وزن آنها اندازه‌گیری شد و دوباره در آکواریومها قرار داده شدند. در پایان جلبک‌ها وزن و خشک گردیدند و پس از استخراج آلژینات، درصد آلژینات در وزن خشک محاسبه شد. بیشترین توده زنده در تیمار ۲۵ درجه سانتیگراد با ۴۸/۱۲ گرم، ۴۷۰۰ لوکس با ۴۲/۴۸ گرم و ۱۲:۱۲ (تاریکی: روشنایی) با ۳۴ گرم بود. بیشترین میزان آلژینات (۲۹/۶۷) در تیمار ۲۵ درجه سانتیگراد، نور ۴۷۰۰ لوکس و دوره نوری ۱۲:۱۲ (تاریکی: روشنایی) بدست آمد. نتایج نشان دادند که در کشت دریایی، فصل بهار با دما، شدت نور و دوره نوری مناسب بهترین زمان پرورش است و میزان آلژینات بدست آمده نسبت به تحقیقات دیگر از مقدار بالایی برخوردار است.

واژه های کلیدی: آلژینات، توده زنده، عوامل محیطی، *Sargassum*.

مقدمه

جلبک قهوه‌ای *Sargassum* در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری تمام دنیا پراکنده بوده و به صورت تک گونه یا همراه با گونه‌های دیگر در منطقه زیر جزر و مدی یافت می‌شود. بسیاری از گونه‌های آن ایجاد جنگل‌های زیرآبی می‌کنند و به عنوان زیستگاه، در مراحل لاروی و نوزادی بی‌مهرگان و ماهیان دریایی مطرح می‌باشند و نقش مهمی در تولید اولیه ایفا می‌کنند

۱- استادیار، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران
*(نویسنده مسئول: famaz.rafiee47@gmail.com)

۲- دانشیار، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

(Choi et al, 2008). از سارگاسوم به عنوان مکمل غذایی جانوران، کود، منبعی از مواد ضدباکتریایی و ضد قارچ و اسید آلژینیک استفاده می‌شود (Rodriguez- Motesions, et al., 2008, Hwang et al., 2006).

اسید آلژینیک پلی ساکارید بدست آمده از جلبک‌های قهوه‌ای است که به عنوان یک تشکیل دهنده دیواره سلولی می‌باشد و باعث قدرت مکانیکی و قابلیت انعطاف پیکره این جلبکها می‌باشد. برحسب روش استخراج، اسید آلژینیک، آلژینات سدیم و کلسیم بدست می‌آید. آلژینات‌ها در صنایع چوب، رنگرزی منسوجات، بعنوان غلیظ کننده، رنگ، پوشش کاغذ، براق کننده اشیاء، در دندانپزشکی روکش دندان، ساخت فیلم، چسب و ژل استفاده می‌شوند. در صنایع غذایی مانع از تشکیل کریستال‌های یخ در محصولات لبنی نظیر انواع بستنی‌ها می‌شوند و بعنوان ماده تثبیت کننده در خامه‌ها، پنیرهای خامه‌ای، سس‌ها، نوشیدنی‌ها، تولیدات نانوبی، فرنی‌ها و آدامس بکار می‌روند (Anderson, 2005). عوامل محیطی مانند حرارت (Choi et al., 2003)، دوره نوری (Zhao et al., 2008, Choi et al., 2003)، شدت نور (Hurd et al., 2014) روی رشد و میزان آلژینات در گونه های متعدد سارگاسوم تاثیر می‌گذارند، که از نقطه نظر اکولوژیک و صنعتی بسیار مهم می‌باشد (Hwang et al., 2006). در جدول ۱ میزان آلژینات بدست آمده از سایر تحقیقات آمده است.

جدول ۱: مقایسه میزان آلژینات بدست آمده از تحقیقات دیگر با این پروژه

منبع	درصد	گونه
Saraswathi et al., 2003	۲۵/۶	<i>S.vulgaris</i>
Saraswathi et al., 2003	۱۸/۳۲	<i>S.tenerimum</i>
Kelly and Brown., 2000	۱۷/۱۲	<i>S.polycystum</i>
Gillespie and Critchley., 1999	۱۶	<i>S.oligocystum</i>
Zubia et al., 2008	۱۲	<i>S.asperifolium</i>
Zubia et al., 2008	۲۵/۲	<i>S.binderi</i>
Zubia et al., 2008	۲۲/۷	<i>S.hemiphyllum</i>
Zubia et al., 2008	۲۲/۳	<i>S.ilicifolium</i>
Zubia et al., 2008	۱۶/۳	<i>S.oligocystum</i>
Mafra and Cunha, 2004	۲۸	<i>S.cymosum</i>
Mushollaeni, 2011	۳۰/۳	<i>S.crassifolium</i>

تاکنون وجود چندین گونه از جنس سارگاسوم در سواحل ایران گزارش شده است (شوقی ۱۳۷۲، علوی ۱۳۷۶، علویان،

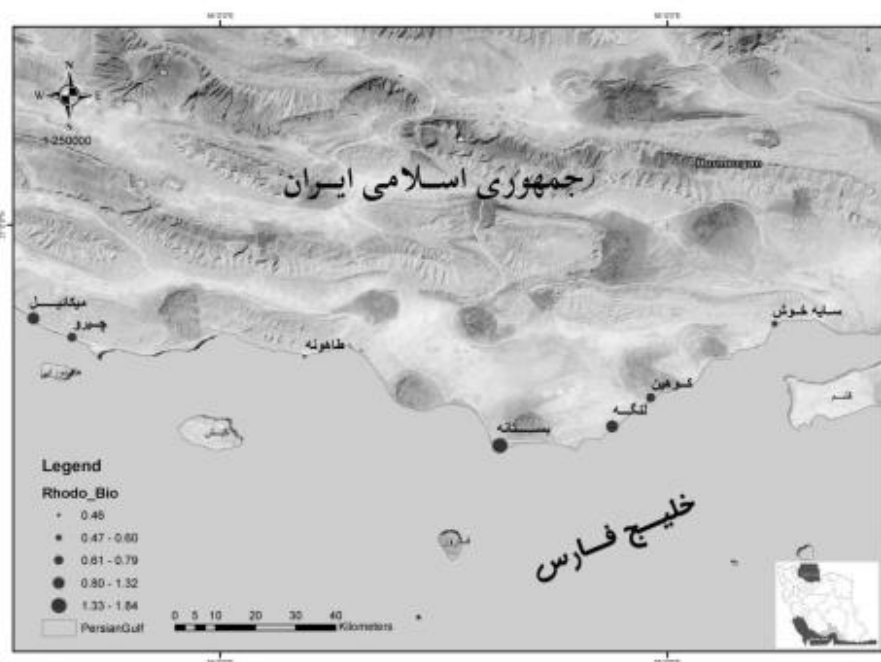
۱۳۷۷). *Sargassum boveanum* یک جلبک دریایی است که در ساحل بندر لنگه به صورت کمربندی از پایین منطقه بین جزر

و مد تا زیر جزر و مدی رویش دارد. این جلبک تا ۱۵۰ سانتی متر طول داشته، توسط یک بخش پایه صفحه‌ای شکل به بستر اتصال می‌یابد. انشعابات محور اصلی استوانه‌ای است که دارای ساختارهای برگ مانند است. (Abdel-Kareem, 2009)

با توجه به وجود ۱۸۰۰ کیلومتر مرز آبی در جنوب کشور و افزایش روز افزون تقاضا برای استفاده از ذخایر آبی مانند جلبک‌ها، بعنوان منابع ارزشمند در جهت تامین نیازهای صنعتی، دارویی و غذایی، و نیز با عنایت به مبالغ هنگفت صرف شده جهت واردات مواد و ترکیبات خام جلبکی، و لزوم انجام تحقیقات اولیه و پی بردن به پتانسیل کشت و پرورش جلبک‌ها و استخراج مواد مختلف از آنها احساس می‌شود. بررسی اثر دما، دوره نوری و شدت نور بر رشد و میزان آلژینات جلبک *Sargassum boveanum* میتواند مشخص کننده میزان بهینه این عوامل برای رشد مطلوب و محتوای محصول باشد. در این تحقیق میزان توده زنده و آلژینات سدیم این جلبک در یک دوره ۶ هفته ای در تیمارهای مورد بررسی اندازه‌گیری شد.

مواد و روش‌ها

به منظور انجام پروژه و بر اساس اطلاعات قبلی سواحل منطقه مورد بررسی قرار گرفتند و ساحل بندر لنگه برای مطالعه بر روی جلبک سارگاسوم انتخاب شد. این بندر در مختصات جغرافیایی ۲۶ درجه و ۳۳ دقیقه عرض شمالی و ۵۴ درجه و ۵۳ دقیقه طول شرقی واقع شده است (شکل ۱). این بندر از جنوب و مغرب به خلیج فارس و از شمال به ارتفاعات تنگ کوه منتهی می‌شود. دارای آب و هوای گرم و مرطوب است. میزان رطوبت بالایی دارد، بطوریکه در تابستان ۱۰۰ درصد و در زمستان بین ۵۰ تا ۶۰ درصد متغیر است (بختیاری، ۱۳۶۹).



شکل ۱: موقعیت جغرافیایی بندر لنگه در خلیج فارس

نمونه برداری در خرداد ماه ۱۳۹۰ صورت گرفت. به این صورت که طبق جدول جزر و مد تهیه شده از سازمان کشتیرانی بندرعباس، هنگام جزر در مکان مورد بررسی، نمونه برداری انجام شد. جلبک‌ها از ناحیه اتصال به رسوبات با دست از بستر جدا شدند. سپس در داخل کیسه‌های نایلونی حاوی آب دریا به آزمایشگاه منتقل شدند. به منظور انجام آزمایش، اثر دماهای ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد، دوره نوری ۱۲:۱۲، ۱۴:۱۰ و ۱۶:۸ (تاریکی: روشنایی) و شدت نور ۴۷۰۰، ۵۷۰۰ و ۶۷۰۰ لوکس در آکواریوم‌های ۲۰ لیتری مطالعه شد. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. ابتدا جلبک‌های برداشته شده (نمونه‌ها) توسط آب شور شسته شدند و مواد زاید از روی آن‌ها برداشته شد. هوای مورد نیاز برای پرورش جلبک‌ها توسط یک پمپ مرکزی و انشعابات آن در آکواریوم‌ها، تامین شد. آب آکواریوم‌ها بوسیله نمک سنتزی در شوری مورد نیاز تهیه شده هر نمونه توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شده، در ۲۷ آکواریوم با ابعاد ۳۰×۴۰×۶۰ (۲۰ لیتر) که در نظر گرفته شده بود، به صورت معلق در آب آکواریوم روی دو طناب با فاصله ۵ سانتی‌متری از یکدیگر نصب شدند (Westermeier et al., 1993). در هر آکواریوم ۸ ریشه متصل شد. به منظور ایجاد نور کافی لامپ‌های مهتابی بالای هر کدام از آکواریوم‌ها نصب گردید. با استفاده از لوکس متر (مدل TES-1339) نور مورد نیاز اندازه‌گیری شد. سپس آکواریوم‌ها توسط ورقه‌های ضخیم آلومینیوم فویل پوشیده شدند تا نور فقط از طریق لامپ تامین شود. تیمارها تک عاملی بوده در هر کدام از تیمارها شرایط دیگر محیطی طبق استاندارد در نظر گرفته شدند. شرایط استاندارد پرورش نور ۴۷۰۰ لوکس، دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، شوری PPT۳۵ و دوره نوری ۱۲:۱۲ (تاریکی: روشنایی) بود. آب آکواریوم‌ها هر هفته تعویض شد (رفیعی و همکاران، ۱۳۹۴، Westermeier et al., 1993). آزمایش به مدت ۶ هفته انجام شد. در روزهای ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸ و ۳۵ ریشه‌ها از آب خارج و وزن شدند. در روز ۴۲ برای آخرین بار توزین شده، با آب شیرین شسته شدند و سپس در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت در آون خشک شدند.

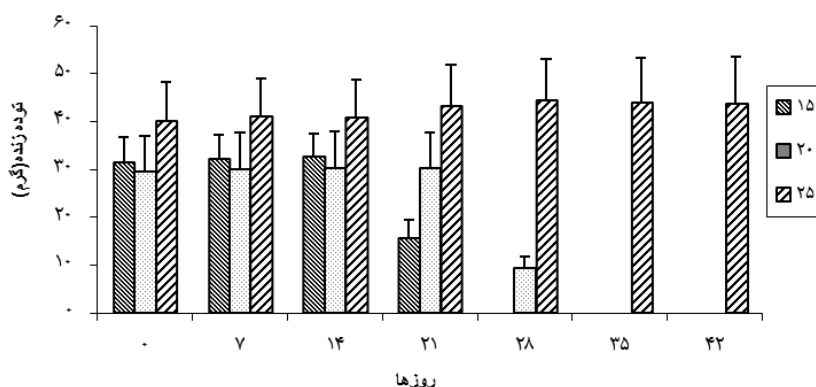
در صورت مشاهده علائم از بین رفتن ریشه‌ها در هر تیمار، پیش از اتمام روزهای آزمایش آنها را جمع‌آوری کرده و طبق دستور آلژینات آن‌ها استخراج گردید. آلژینات سدیم بر اساس روش پیشنهادی Istini و همکاران (۱۹۹۴) استخراج شده و سپس توزین گردید. درصد آلژینات در یک گرم جلبک خشک محاسبه گردید. نتایج حاصل، توسط آنالیزهای آماری ANOVA یک طرفه و تست توکی با استفاده از نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند. این آنالیزها با دامنه اطمینان ۹۵ درصد انجام گردید (Marinho- Soriano et al., 2001).

نتایج

نتایج حاصل از تیمارهای مختلف دمایی ۱۵، ۲۰، ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر تغییرات توده زنده جلبک سارگاسوم به مدت ۴۲ روز بررسی گردید. میانگین توده زنده در دمای ۱۵ درجه از ۳۱/۴۸ به ۱۵/۵۴ گرم در روز ۲۱ و در دمای ۲۰ درجه از ۲۹/۵۶

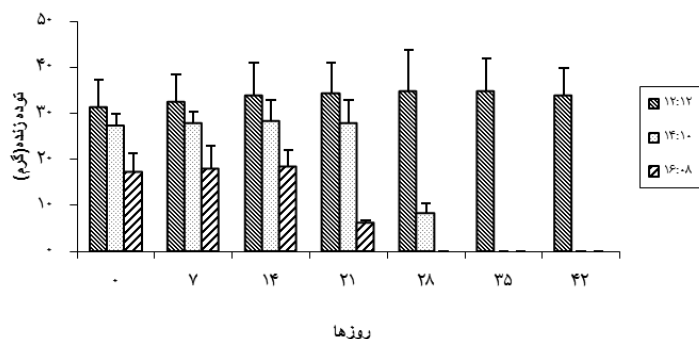
گرم به ۹/۳۷ گرم در روز ۲۸ رسید و سپس جلبک‌ها از بین رفتند. در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد از ۴۰/۱۳ به ۴۸/۱۲ گرم در روز ۴۲ رسید.

نتایج حاصل از این آنالیزها نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p < 0.05$). این اختلاف در روزهای ۱۴ و ۲۸، ۷، ۲۸، ۴۲ و ۳۵ معنی‌دار بود ($p < 0.05$) (شکل ۲).



شکل ۲: تغییرات توده زنده جلبک سارگاسوم در تیمارهای مختلف دما (۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد)، انحراف معیار هر تیمار نشان داده شده است.

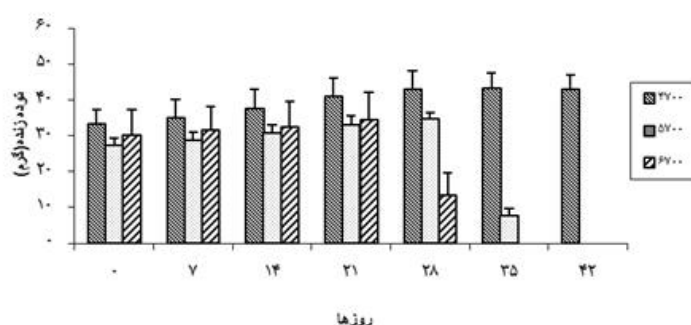
نتایج حاصل از تیمارهای مختلف دوره نوری (۱۲:۱۲، ۱۴:۱۰ و ۱۶:۸ (تاریکی: روشنایی)) ساعت بر توده زنده جلبک سارگاسوم به مدت ۴۲ روز بررسی گردید. میزان توده زنده در تیمار ۱۲:۱۲ از ۳۱/۳۶ در روز صفر به ۳۴ گرم در روز ۴۲ افزایش یافت. در تیمار ۱۴:۱۰، از ۲۷/۵۴ گرم به ۸/۳۷ گرم در روز ۲۸ و در تیمار ۱۶:۸ از ۱۷/۳۶ به ۶/۱۵ گرم در روز ۲۱ رسید و سپس نمونه‌ها از بین رفتند. این نتایج نشان دادند که بین تیمارها و روزهای آزمایش اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p < 0.05$) و تنها بین روزهای ۰ و ۴۲، ۷ و ۴۲، ۲۵ و ۲۸ اختلاف معنی‌دار نبود ($p > 0.05$) (شکل ۳).



شکل ۳: تغییرات توده زنده جلبک سارگاسوم در تیمارهای مختلف دوره نوری (۱۲:۱۲، ۱۴:۱۰ و ۱۶:۸ (تاریکی: روشنایی)) انحراف معیار هر تیمار نشان داده شده است.

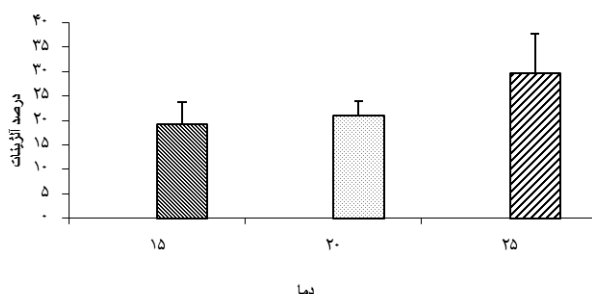
نتایج حاصل از تیمارهای شدت نور ۴۷۰۰، ۵۷۰۰ و ۶۷۰۰ لوکس بر تغییرات توده زنده جلبک سارگاسوم در ۴۲ روز بررسی شد. میانگین توده زنده در تیمار ۴۷۰۰ لوکس از ۳۳/۳۶ گرم از روز صفر به ۴۲/۴۸ گرم در روز ۴۲ رسید. در تیمار شدت نور ۵۷۰۰ لوکس از ۲۷/۱۹ گرم به ۷/۷۳ گرم در روز ۳۵ و در شدت نور ۶۷۰۰ لوکس از ۳۰/۲۲ به ۱۳/۲۴ گرم در روز ۲۸ رسید و سپس جلبک‌ها از بین رفتند.

آنالیزهای آماری نشان دادند که در میزان توده زنده بین تیمارهای ۴۷۰۰ لوکس و دیگر تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشت (p=۰) اما این اختلاف بین ۵۷۰۰ و ۶۷۰۰ لوکس معنی‌دار نبود (p=۰/۰۶) بین روزهای آزمایش فقط بین ۷، ۱۴ و ۳۵ اختلاف معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵).



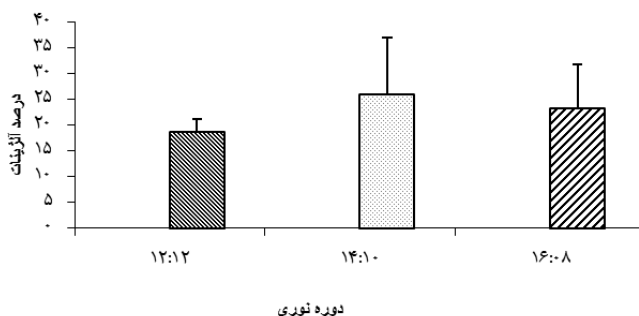
شکل ۴: تغییرات توده زنده جلبک سارگاسوم در تیمارهای مختلف (۴۷۰۰، ۵۷۰۰ و ۶۷۰۰ لوکس) شدت نور، انحراف معیار هر تیمار نشان داده شده است.

نتایج حاصل از تیمارهای دمایی ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر میزان آلژینات پس از ۴۲ روز بررسی شد. این نتایج نشان داد که میانگین درصد آلژینات در دمای ۱۵، ۲۹/۳۳ درصد، در دمای ۲۰، ۲۱ درصد و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ۲۹/۶۷ درصد بود. آنالیزهای آماری نشان داد که میان درصد آلژینات در تیمارهای مختلف دما اختلاف معنی‌دار وجود داشت (p<۰/۰۵) (شکل ۵).



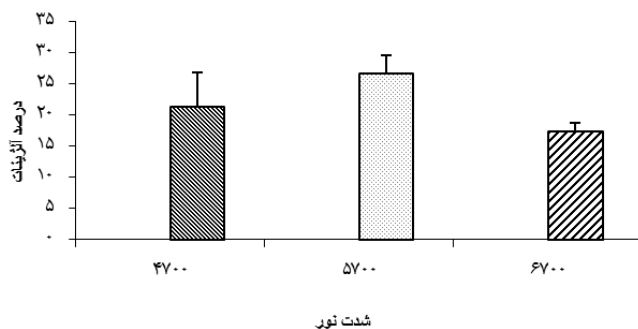
شکل ۵: تغییرات میزان آلژینات جلبک سارگاسوم در تیمارهای مختلف دما (۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد) انحراف معیار هر تیمار نشان داده شده است.

نتایج حاصل از تیمارهای مختلف دوره نوری ۱۲:۱۲، ۱۴:۱۰ و ۱۶:۸ ساعت (تاریکی: روشنایی) بر میزان آلزینات در مدت ۴۲ روز بررسی گردید. این نتایج نشان داد که میانگین درصد آلزینات در تیمار ۱۲:۱۲، ۱۸/۶۶ درصد، در ۱۴:۱۰، ۲۶ درصد و در ۱۶:۸ ساعت ۲۳/۳ درصد بود. بین تمام تیمارها اختلاف معنی دار وجود داشت ($p < 0.05$) (شکل ۶).



شکل ۶: تغییرات میزان آلزینات جلبک سارگاسوم در تیمارهای مختلف دوره نوری (۱۲:۱۲، ۱۴:۱۰ و ۱۶:۸ تاریکی: روشنایی) انحراف معیار هر تیمار نشان داده شده است.

نتایج حاصل از تیمارهای مختلف شدت نور ۴۷۰۰، ۵۷۰۰ و ۶۷۰۰ لوکس بر میزان آلزینات به مدت ۴۲ روز بررسی گردید. این نتایج نشان داد که میانگین درصد آلزینات در تیمار ۴۷۰۰، ۲۱/۳۳ درصد، تیمار ۵۷۰۰، ۲۶/۶۶ درصد و در تیمار ۶۷۰۰ لوکس، ۱۷/۳۳ درصد بود. بین تمام تیمارها اختلاف معنی دار وجود داشت ($p < 0.05$) (شکل ۷).



شکل ۷: تغییرات میزان آلزینات جلبک سارگاسوم در تیمارهای مختلف شدت نور (۴۷۰۰، ۵۷۰۰ و ۶۷۰۰ لوکس)، انحراف معیار هر تیمار نشان داده شده است.

بحث

جلبکهای دریایی منابع با ارزشی از متابولیت‌های ثانویه میباشند که در صنایع مختلف مانند دارویی، بهداشتی، غذایی و آرایشی کاربرد دارند. از جمله این متابولیتها اسید آلزینیک پلی ساکارید بدست آمده از جلبکهای قهوه‌ای است که به عنوان یک تشکیل دهنده دیواره سلولی می‌باشد و باعث قدرت مکانیکی و قابلیت انعطاف پیکره این جلبکها می‌شود. عوامل محیطی روی

رشد و متابولیت‌های ثانویه جلبک‌ها تاثیر می‌گذارند (Yu and Yang, 2008). در این راستا تعیین بهترین شرایط رشد می‌تواند به یک برنامه موفق، کاشت و پرورش جلبک‌ها بیانجامد. از میان عوامل مختلف، دما و نور در رشد گونه‌های سارگاسوم بسیار مهم می‌باشند (Choi et al., 2008). دما بر روی pH سلولی و بنابراین فعالیت آنزیمی، سیستم کربنات و دانستیه آب سلول تاثیر می‌گذارد و نمو گیاهان را کنترل می‌کند. دما بر روی فتوسنتز، فعالیت کربنیک آنهیدراز، انتقال فعال CO_2 و HCO_3^- اثر گذاشته و میزان ماده در مسیر تثبیت کربن را تعیین می‌کند، بنابراین روی رشد اثر می‌گذارد (Hurd et al., 2014).

اپتیموم دما در بین گونه‌های مختلف فرق می‌کند. دمای متوسط برای رشد ماکرو جلبک‌های مناطق حاره و معتدله گرم بین ۱۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد است (Dawes, 1997). تحقیقات انجام شده روی جلبک *Sargassum thunbergii* از خلیج Huiguan در چین در تیمارهای دمایی ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد نشان داد که حداکثر رشد در دمای ۲۵ درجه پس از ۸ هفته صورت می‌گیرد، و در دمای ۱۰ و ۱۵ درجه به ترتیب در روزهای ۲۱ و ۲۸ جلبک‌ها از بین رفته‌اند (Zhao et al., 2008). در گونه *Chondrus crispus* دمای ۲۱-۲۴ درجه سانتی‌گراد دمای مناسب برای رشد گیاهچه آن است اما رشد در ۲۶ درجه متوقف می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهند که نسبت به علف‌های دریایی، دمای تحمل برای ماکرو جلبک‌ها در دامنه باریکتری قرار می‌گیرد (Dawes, 1997).

در گونه‌های دیگر سارگاسوم حداکثر رشد گونه‌های مناطق حاره مانند *S. polycystum* و *S. sandei* در دمای ۲۵ درجه و *S. berberifolium* در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد بوده است (Hwang et al., 2004). همچنین در آفریقای جنوبی در منطقه بین جزر و مدی عرض ۲۹ درجه جنوبی، بیشترین دما ۲۵ درجه در دسامبر و کمترین آن در ۱۹ درجه در جولای اندازه‌گیری شده است که بیشترین توده زنده *S. elegans* و *Sargassum.sp.* و *Sargassum spp.* در دسامبر اتفاق افتاده و در جولای توده زنده کاهش پیدا می‌کند (Gillespie and Critchley, 1999). گونه *Sargassum muticum* نیز که در مناطق معتدله زندگی می‌کند بیشترین رشد خود را در ۲۵/۵ درجه در تابستان و کمترین رشد را در ۶ درجه در زمستان داشته است (Plouguerne et al., 1989). گونه *Sargassum siliquosum* بیشترین توده زنده را در جنوب تایوان در عرض جغرافیایی ۲۱ درجه، در ۲۵ درجه سانتی‌گراد در آوریل داشته است (Hwang et al., 2004).

گونه *S. horneri* در عرض جغرافیایی ۳۰ درجه شمالی، که در عمق ۳ تا ۵ متری رشد می‌کند، در دمای ۲۵ درجه رشد کمتر و در دمای ۱۵ درجه بیشترین رشد را داشته است (Choi et al., 2008).

نتایج این پژوهش نشان داد که در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بیشترین توده زنده جلبک با ۴۸/۱۲ گرم بدست می‌آید. و در دمای ۱۵ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد جلبک‌ها پس از ۲۱ و ۲۸ روز به ترتیب، از بین رفتند. به نظر می‌رسد دماهای ۱۵ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد برای این جلبک، دمای کم محسوب می‌شود. بر طبق نظر Hurd و همکاران در سال ۲۰۱۴، در حالت کلی، دما، فرایندهای متابولیک بسیاری از آنزیم‌ها و فرایندهای انتقالی را در بر می‌گیرد، پس دمای کم نرخ کلی را محدود می‌کند و جلبک‌ها

از طریق تغییر در میزان یا ویژگی‌های ترکیبات بیوشیمیایی محدود به دمای کم پاسخ می‌دهند و این پاسخ در رشد آن‌ها نیز نمایان می‌شود.

علاوه بر دما، شدت نور نیز روی فتوسنتز و رشد ماکرو جلبک‌ها اثر می‌گذارد (Hurd et al., 2014) در این تحقیق جلبک *S. boveanum* بیشترین توده زنده را در ۴۷۰۰ لوکس نشان داد و در شدت‌های نور بالاتر جلبک‌ها تا روز ۴۲ زنده نماندند. تحقیقات نشان می‌دهند که گونه‌های بین جزر و مدی بیشتر در شدت نوری (7500-12500) 20000-30000 و گونه‌های زیر جزر و مدی در کمتر از 5000 لوکس در روز به اشباع می‌رسند. (Lobban, and Wynne, 1981, Landau 1992). از آثار کمیت نور به فتوسنتز این است که شدت نورهای زیاد، مهار نوری ایجاد کرد و ترکیبات فتوسیستم‌ها را تخریب می‌کنند و بیشتر، فتوسیستم II را تحت تاثیر قرار می‌دهند، بنابراین فتوسنتز را به شدت کم می‌نمایند. از طرفی تحت تاثیر افزایش اکسیژن، نور و دما، تنفس نوری بیشتر صورت می‌گیرد که باعث از دست رفتن کربن تثبیت شده می‌شود و رشد کاهش پیدا می‌کند (Dawes, 1997). به همین علت جلبک سارگاسوم مورد بررسی که در پایین منطقه بین جزرومدی و ابتدای زیر جزرومدی زندگی می‌کند و فقط هنگام جزر حداکثر بخشی از آن در معرض نور مستقیم خورشید قرار می‌گیرد، برای رشد به نور کمتری در مقایسه با جلبک‌های ناحیه بین جزر و مدی و نور بیشتری نسبت به جلبک‌های منطقه زیر جزرومدی نیاز دارد.

در تحقیقات انجام شده در جلبک *S. horneri* از سواحل کره، در شدت‌های نوری ۱۰۰۰ و ۴۰۰۰ نشان داد که میزان حداکثر توده زنده در ۱۰۰۰ و در ۴۰۰۰ لوکس حداقل آن مشاهده شده است (Choi et al., 2008). نتایج تحقیقات انجام شده روی جلبک *S. thunbergii* در شدت‌های نوری (۹۵۰، ۹۰۰، ۲۲۰۰ و ۴۴۰۰ لوکس) حداکثر توده زنده را شدت نور ۲۲۰۰ نشان داد (Zhao et al., 2008).

اشباع نوری برای رشد برخی گونه‌های زیر جزرومدی مانند *Laminaria ochroleucan* در نور ۶۰۰۰ برای گامتوفیت و ۷۰۰۰ لوکس برای اسپوروفیت مشاهده شده است (Izquierdo and Perez-Ruzafa, 2012). جلبک قرمز *Chondrus* نیز که یک جلبک زیر جزرومدی است در ۱۵۰۰ تا ۵۰۰۰ لوکس به اشباع می‌رسد (کریمی، ۱۳۷۵) گونه *S. fulvellum* از عرض ۳۴ درجه در ۲۴۴۰۰ لوکس بیشترین رشد را دارد (Hwang et al., 2007). علاوه بر منبع انرژی، نور می‌تواند برای رشد گیاهان و تولید مثل آن‌ها به صورت طول روز یا فتوپریود تحریک کننده باشد (Dawes, 1997, Hurd et al., 2014). دوره نوری روی تشکیل رسپتاکل‌ها (receptacles) (Yoshikawa et al., 2014) تشکیل اسپوروفیل (Pang and Luning, 2004) و خروج تخم‌ها از رسپتاکل‌ها (Liang et al., 2014) همچنین رشد تاثیر می‌گذارد. رنگدانه فیتوکروم در بعضی از جلبک‌های قهوه‌ای و قرمز مانند *Gelidium* شناخته شده است که مسئول پاسخ به دوره نوری است. علاوه بر آن فتورسپتورهای دیگر مانند کریپتوکروم، اوروکروم و رودوپسین نیز در جلبک‌ها یافت شده‌اند که نورهای آبی و قرمز را جذب کرده و باعث تنظیم ریتم‌های شبانه‌روزی و رشد می‌شوند (Hurd et al., 2014)

Dring در 2005 پیشنهاد کرد که پاسخ‌های فتوپریودیک در جلبک‌ها ممکن است با رنگدانه‌های درگیر در فتوستنز جلبک‌ها ربط داشته باشند.

در این تحقیق تحت تیمارهای نوری ۱۲:۱۲، ۱۴:۱۰ و ۱۸:۶ (تاریکی: روشنایی) بیشترین میزان توده زنده در ۱۲ ساعت روشنایی به دست آمد. تحقیقی که توسط Choi و همکاران در ۲۰۰۸ انجام شد نشان داد که *S. horneri* در ۱۲ ساعت روشنایی نسبت به ۸، ۱۶ و ۲۴ ساعت روشنایی بیشترین رشد را داشته است. آنها این پاسخ رشد به طول روز برای الگوی رشد در جمعیت این گونه را بسیار مهم دانسته‌اند. در گونه *S. thunbergii* نیز رشد ریشه‌ها در ۱۲ ساعت روشنایی بیشترین بوده است (Zhao et al., 2008). در حالی که، *S. muticum* در دوره نوری ۱۶:۸ (روشنایی: تاریکی) (کوتاه روزه) رشد بیشتری از (۸:۱۶) داشته است (Hwang and Dring, 2005). اسپوروفیت *Laminaria* در طول روز بلند (۱۶:۸) (تاریکی: روشنایی) تحت کنترل ریتمای شبانه روزی فتوپریود رشد می‌کند. اما تولید یک پهنک جدید توسط روز کوتاه تحریک می‌شود. و رشد اسپوروفیت *Undaria* در فتوپریود با طول روز بلند انجام می‌شود (Hurd et al., 2014).

در بررسی اثر عوامل دما، شدت نور و دوره نوری روی میزان آلژینات، بیشترین میزان آلژینات در دمای ۲۵ درجه با ۲۹/۶۷ درصد، شدت نور ۵۷۰۰ با ۲۶/۶۶ درصد و دوره نوری ۱۴:۱۰ با ۲۶ درصد بدست آمد. طبق مطالعات پیشین مقدار آلژینات معمولاً با میزان توده زنده همبستگی مثبت نشان می‌دهد (Gillespie and Critchley, 1999) که میزان آلژینات در دمای ۲۵ درجه در این تحقیق موید این مسئله است.

در تحقیقی که روی *S. sinicola* در خلیج مکزیک انجام شد، نشان داد فصل بهار که میانگین دمای آن بین ۲۱-۲۴ درجه است بیشترین میزان آلژینات با ۱۳/۷ درصد مشاهده شده است. در پورتوریکو *S. vulgare* با ۱۷/۵ درصد و *S. polycystum* با ۲۰ درصد در دمای مشابه در فصل بهار بیشترین میزان آلژینات را نشان داده‌اند. *S. sinicola* در فصل بهار همراه با بیشترین میزان توده زنده بالاترین آلژینات را نیز داشته است (Rodriguez- Montesions et al., 2008)، در حالیکه در مطالعه‌ای بر روی *S. cymosum* در برزیل، هیچ گونه همبستگی معناداری بین توده زنده و میزان آلژینات بدست نیامده است. بنابراین عوامل دیگری روی آن تاثیر می‌گذارند (Mafra and Cunha, 2004). در این تحقیق نیز میزان آلژینات بدست آمده در دوره نوری و شدت نور با میزان توده زنده همخوانی نداشته و طول روز و شدت نور بیشتر باعث تولید آلژینات بیشتر شده است. به نظر می‌رسد افزایش آلژینات در اثر ایجاد استرس نور، مقاومت جلبک را در برابر آن افزایش می‌دهد.

درصد آلژینات بدست آمده از گونه‌های مختلف در مطالعات دیگر در جدول ۱ آمده است که در مقایسه *S. boveanum* با ۲۹/۶۷ درصد از میزان آلژینات مناسبی برخوردار است. نتیجه‌گیری از این تحقیق نشان می‌دهد که در یک دوره ۶ هفته آزمایش، در تیمارهای دما، شدت نور و دوره نوری، توده زنده و میزان آلژینات جلبک سارگاسوم، اختلاف معنی‌داری وجود داشت

($p < 0.05$). نتایج حاکی از آن است که به نظر می‌رسد فصل بهار با شدت نور، دوره نوری و دمای مناسب بهترین زمان پرورش دریایی این گونه است. با نتایج حاصله استراتژی کاشت و مدیریت زمانی و مکانی آن را میتوان انجام داد.

منابع

- بختیاری، م. (۱۳۶۹). راههای مفصل ایران، جلد ۲۲، استان هرمزگان، گیتاشناسی ۱۱۶. صفحه
- رفیعی، ف.، نجات خواه معنوی، پ. و سلمان زاده، ن. (۱۳۹۴). بررسی تغییرات شوری، آمونیم و سیتوکنین بر توده زنده و میزان آگار جلبک *Gracilaria corticata* نشریه اقیانوس شناسی، سال هشتم، شماره ۲۱، صفحات ۱۱۵-۱۰۷.
- شوقی، ح. (۱۳۷۲). گشت مقدماتی و بررسی فصلی جلبک‌های آب‌های جنوبی ایران. مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور، صفحه ۳۴.
- علوی، ا. (۱۳۷۶). استخراج اسید آلژیتیک از جلبک‌های قهوه‌ای دریای جنوب و تفکیک آلژینات عام پایه وزن مولکولی، دانشگاه تهران، صفحه ۵۴
- علویان، ز. (۱۳۷۷). بررسی اکولوژیک جلبک‌های دریایی در منطقه ساحلی کیش دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، صفحه ۸۷
- کریمی، ف. (۱۳۷۵). بررسی کمی و کیفی آلژینات‌ها در سرده‌های جلبک‌های قهوه‌ای دانشگاه تهران. ۲۵۰ ص.
- Abdel – karem, M.S.M;(2009) Phenetic studies and new records of Sargassum species (fucales, phaeophyceae from the Arabian Gulf coast of Saudi Arabia. Academic journal of plant sciences 2(3): 173-181
- Anderson, R.A. ,(2005) Algal culturing techniques. Academic press. 596 p. New York.
- Choi, G.G., Kim, H.G. and Sohn, CH;(2003) Transplantation of young fronds of Sargassum for construction of seaweed beds. Journal of Korean fish society. 36:469-473
- Choi, H.G., Lee, K.H., Yoo, H.H., Kang, R.J., Kim. Y. S. and Nam, K.W;(2008) physiological differences in the growth of Sargassum horneri between the germling and adult stages. Journal of Applied phycology. 20: 729-735
- Dawes, C. J. (1997) Marine Botany. John Wiley and Sons. 480p. New York.
- Dring, M.J ;(2005) Stress resistance and disease resistance in seaweeds the role of reactive oxygen metabolism. Advanced Botanical research, 43: 175-207
- Gillespie, R. D. and Critchley, A.T;(1999) phenology of Sargassum spp (Sargaceae, phaeophyta) from reunion rocks kwazul, Natal , South Africa, Hydrobiologia 201-210
- Izquierdo, J.L and Perez- Ruzafa, I.M;(2012) Effect of temperature and photon fluence rate on gametophytes and young sporophytes of Laminaria ochroleuca. Helgolander Marine Research 55: 285-292.
- Hales, J.M. and Fletcher, R;(1989) Studies on the recently introduced brown Sargassum muticum (yendo) fensholt. Botonica Marina, 32:167-176.
- Hurd, C.L., Harrison, P.J. I., Bischof , K. and Lobban, Ch. S,(2014) Seaweed Ecology and physiology Cambridge University Press, 551p. London.

- Hwang, R.L., Tsai, Ch. Ch and lee, T. (2004) Assessment of temperature and nutrient limitation seasonal dynamics among specie of *Sargassum* from a coral reef in southern Taiwan. *Journal of phycology*, 40: 463-473.
- Hwang, E.K. and Dring, M.J.; (2005) Quantitative photoperiodic control of erect thallus production in *Sargassum muticum*. *Botanica Marina*, 45(5):471-475.
- Hwang, E.K., Park, Ch. S. and Baek, J.; (2006) Artificial seed production and cultivation of the edible seaweed brown alga, *Sargassum fulvellum* (Turner) C. Agardh. Developing a new species for seaweed cultivation in Korea. *Journal of applied phycology*. 18: 251-257.
- Hwang, E.K.; Baek, J.M; Park, C.S; (2007) Assessment of optimal depth and photon irradiance for cultivation of the brown alga, *Sargassum fulvellum* (Turner) C. Agardh. *Journal of applied phycology*, 19: 787-793.
- Kelly, B.J. and Brown, M.T; (2000) variations in the alginate content and composition of *Durrillaea antarctica* D. Willana from southern New Zealand. *Journal of applied phycology*, 129: 317-324.
- Istini, S., Ohno, N., and Mikusunose, H; (1994) Methods of analysis for agar carrageenan and alginate in sea weed. *Bulletin of Marine science and fisheries Kochi university* 14, 49-55.
- New York. Landou, M. (1992) Introduction to aquaculture. John Wiley and Sons. 440p.
- Liang, Z., Wang, F., Sun, X., Wong, W. and Liu, F; (2014) Reproductive biology of *Sargassum thunbergii* (Fucals, phaeophyta): *African journal of plant sciences*. 5: 2574-2581.
- Lobban, Ch. S. and Wynne, M. (1981) *The biology of seaweeds*, University of California Press, 786p.
- Mafra, L. and Cunha, S.R.; (2004) *Sargassum cymosum* (Phaeophyta) in southern Brazil: seasonality of biomass recovery after harvest and alginate yield. *Journal of coastal research* (39): 1847-1852.
- Marinho – Sorinao, E., Silva, T.S.F. and Moreira, W.S.C; (2001) Seasonal variation in the biomass and agar yield from *Gracilaria cervicornis* and *Hydropuntia cornea* from Brazil. *Bioresource technology*, 77: 115-120.
- Mushollaeni, W; (2011) The physicochemical characteristics of sodium alginate from Indonesian brown seaweeds. *African journal of food science*, 5 (6): 349-352.
- Pang, S. and Luning, K; (2004) Tank cultivation of the red alga *Palmacia plamata*; effects of intermittent light on growth rate yield and growth kinetics. *Journal of applied phycology*, 16(2): 93-99.
- Plouguerne, E., Lelann, K., Connan, S., Jechoux, G., Deslanders, E. and Stiger-pouveau, V; (2006) Spatial and seasonal variation in density, reproductive status, length and phenolic content of the invasive brown macroalga *Sargassum muticum* (yendo) fensholt along the coast of western Brittany (France), *Aquatic Botany* 85: 337-344.
- Rodrigues- Montesions, E.R., Arvizu- Higuera, D. and Hernandez carmona, G; (2008) Seasonal variation on size and chemical constituents of *Sargassum sinicola* setchell et gardner from Bahia de la Paz, Baja California Sur, Mexico. *Phycological Research*, 56: 33-38.
- Saraswathi, S.J. Babu, B, Rengasamy, R; (2003) Seasonal studies on the aglinate and its biochemical composition of *Sargassum polycystum*. *Phycological research*, 51: 240-243.
- Westermeier, R., Gomez, I. and Rivera, P; (1993) Suspended farming of *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta, Gigartinales) at Cariquilda river, Maullin, Chile. *Aquaculture*, 113: 215-22a.
- Yoshikawa, Sh., Kamiya, M. and Ohki, K; (2014) Photoperiodic regulation of receptacle induction in *S. hernerii* (Phacophyceae) using clonal thalli, *Phycological research* 62 (3) : 206-213.

Yu, J, Yang , Y;(2008) Physiological and biochemical response of seaweed *Gracilaria lemaneiformis* to concentration changes of N and p. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 367: 142-148.

Zhao, z, Zaho, F., Yao, J., Lu, J.F. and Ang, J.R.D ;(2008) Early development of germlings of *Sargassum thunbergii* (Fuciales phaeophyta) under laboratory conditions in China ,*Journal of applied phycology*, 20: 925-931.

Zubia, M., Pageri, C. and Deslandes, E;(2008) Alginate, mannitol, phenolic compound and biological activities of two range- extending brown algae, *Sargassum mangarevense* and *Turbinaria ornata* (phaeophyta, Fuciales) from Tahiti (French Polynesia) .*Journal of Applied phycology* 20: 1033-1043.

Impact of Temperature, Irradiance and photoperiod on Biomass and Alginate Content of Brown Alga *Sargassum boveanum*

F. Rafiei^{1*}, P. Nejatkhah manavi², H. Kermanshahi³

Received: 2019.7.1

Accepted: 2020.10.11

Abstract

Effect of temperature, irradiance and photoperiod on biomass and the alginate content of *Sargassum boveanum* was evaluated for 42 days under laboratory conditions. The seaweed samples were collected from coast lines of Bander-e-Lengeh in Hormozgan province (South of Iran) in June 2009. The algae were suspended in aquariums, 40.30.60 cm (20 liter) in 3 replicates. The algae were cultured under temperature gradients (15, 20 and 25 °C), irradiance levels (4700, 5700 and 6700 Lux) and three photoperiods (12:12, 14:10 and 16:8 hours, Light:Dark). The algae were weighted once a week. After 6 weeks of Light:Dark. The algae were weighted once a week. After 6 weeks of experiments, the algae were collected, dried and weighed. The highest biomass of *S. boveanum* was obtained at 25 °C (48.12 gr.), 4700 Lux (42.48 gr) 12:12, light: dark (34 gr). Maximum content of alginate (29.67%) was extracted in temperature of 25 °C. As the results showed, mariculture of this algae should be done in spring with optimum of temperature and photoperiod. The alginate content of *S. boveanum* is high in compare with the other brown seaweeds.

Key words: Alginate, Biomass, Environmental factors, *Sargassum*.

1-Assistant Professor, Department of marine Science and Technology, Faculty of marine Science and Technology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

*(Corresponding Author: farnaz.rafiee47@gmail.com)

2-Associate Professor, Department of marine Science and Technology, Faculty of marine Science and Technology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

3-Graduate Master, Department of marine Science and Technology, Faculty of marine Science and Technology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

اثر اسانس‌های رازیانه و زنیان بر متابولیت‌های خون و آسیب‌شناسی بافت کبد و کلیه در موش

صحرائی ویستار تحت شرایط تنش القایی دگزامتازون

احمد ریاسی^{۱*}، ربابه عباسی^۲، امیرحسین مهدوی^۳، اردشیر طالبی^۴، سعیده عبدالله زاده^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۱۳

چکیده

در شرایط تنش، غلظت کورتیکوئیدهای خون افزایش می‌یابد که می‌تواند بر سلامت عمومی بدن و عملکرد اندام‌های حیاتی از جمله کبد و کلیه‌ها تاثیر گذارد. مصرف برخی آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی احتمالاً می‌تواند بر آسیب‌های متابولیکی ناشی از تنش تاثیر داشته باشد. هدف این پژوهش بررسی اثر اسانس‌های رازیانه و زنیان بر متابولیت‌های خون و آسیب‌های بافتی ناشی از تنش القایی در موش صحرائی بود. از ۴۰ سر موش صحرائی نر بالغ ویستار در پنج تیمار استفاده شد: ۱- بدون تنش، بدون مصرف مکمل، ۲- تنش بدون مصرف مکمل، ۳- تنش با مصرف اسانس رازیانه، ۴- تنش با مصرف اسانس زنیان، ۵- تنش با مصرف مخلوط اسانس‌های رازیانه و زنیان. برای القای تنش، دگزامتازون تزریق شد (داخل ماهیچه‌ی ران، ۱ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و اسانس‌های رازیانه، زنیان و مخلوط آن‌ها گاوژ شدند. در پایان، نمونه خون موش‌های صحرائی گرفته شد و سپس از کبد و کلیه‌ها نمونه‌برداری انجام شد. القای تنش، فعالیت ALT و AST خون را افزایش داد، اما مصرف هر یک از اسانس‌ها و مخلوط آنها فعالیت این آنزیم‌ها را کاهش داد. با مصرف اسانس رازیانه، واکنش‌های بافت کبد بشدت کاهش یافت و ادم و تجمع چربی کمتر شد. در گروه تنش آثار دژنره شدن هیدروپیک در سیتوپلاسم سلول‌های جدار توپول‌ها مشاهده شد. اما، در گروه مصرف‌کننده‌ی اسانس رازیانه گلمرول‌ها ظاهر طبیعی داشتند و ادم سلولی کاهش یافت. مصرف اسانس‌های گیاهی (بوژه رازیانه) بر بهبود سلامت کبد و کلیه‌ها و رفع آسیب‌های بافتی ناشی از تنش در موش صحرائی اثر مثبت داشت.

واژه‌های کلیدی: ادم بافتی، دژنره شدن هیدروپیک، رازیانه، زنیان، موش صحرائی

۱-استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

* (نویسنده مسئول: ariasi@iut.ac.ir)

۲-دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۳-دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۴-دانشیار، گروه آسیب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۵- دانشجوی دکتری فیزیولوژی دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

تنش به شرایطی گفته می‌شود که موجب ایجاد ناراحتی و عدم آسایش فرد یا حیوان شود. بروز تنش به‌طور معمول موجب آغاز فعالیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال می‌شود که نتیجه آن افزایش ترشح گلیکوکورتیکوئیدها از غدد آدرنال است. به‌خوبی مشخص شده است که گلیکوکورتیکوئیدها (کورتیزول در انسان و کورتیکوسترون در جوندگان) یکی از تنظیم‌کننده‌های اصلی انرژی در سلول‌های چربی بدن هستند. گزارش شده است که گلیکوکورتیکوئیدها موجب تغییر در الگوی مصرف خوراک، مصرف انرژی، تجمع چربی و مقاومت انسولینی می‌شوند (Peckett *et al.*, 2011). ساتو و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که افزایش سطح کورتیکوسترون در سرم خون موش‌های صحرایی موجب افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب‌های اکسیداتیو در مغز آنها شد (Sato *et al.*, 2010).

کبد یک عضو حیاتی است که در متابولیسم و حفظ هموستازی بدن، حذف بیلی‌روبین و تنظیم سطح گلوکز خون نقش دارد. گزارش شده است که تنش اکسیداتیو موجب شروع و پیشرفت آسیب‌های کبدی می‌شود، تغییراتی در بافت و عملکرد کلیه‌ها ایجاد می‌کند و سبب بروز فیبروز کلیوی می‌شود (Li *et al.*, 2015; Robbins *et al.* 2002). مصرف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتتیک همواره به‌عنوان یک استراتژی پیشگیری یا درمانی در بروز آسیب‌های ناشی از تنش مطرح است. در این ارتباط استفاده از گیاهان دارویی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است و معتقدند که وجود ترکیبات پلی‌فنولیک در گیاهان دارویی به‌دلیل خاصیت احیاکنندگی می‌تواند نقش مهمی در غیر فعال کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن داشته باشد (Chatterjee *et al.* 2012; Yoshikawa *et al.* 2003).

رازبانه با نام علمی *Foeniculum vulgare* گیاهی دو یا چند ساله از خانواده‌ی چتریان است که در آسیا و اروپا کشت می‌شود و دانه‌ی این گیاه به‌عنوان یک ترکیب معطر و دارویی از گذشته مورد استفاده بوده است. گزارش شده است که رازبانه دارای خواص فارماکولوژیکی متعدد از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی است (Al-Amoudi, 2017; Kooti *et al.*, 2015). همچنین گزارش شده است مصرف عصاره‌ی دانه‌ی رازبانه موجب کاهش قند خون، کاهش چربی و کاهش فعالیت‌های اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین^۱ شد و مشکلات کبدی ناشی از دیابت نیز برطرف شد (Parsaeyan, 2016). نتایج یک تحقیق دیگر نشان داد که مصرف روغن رازبانه موجب بهبود عملکرد کبد و کلیه‌ها در موش‌های آلبینو مسموم شده با سدیم‌والپوریک^۲ شد (Al-Amoudi, 2017). زنیان با نام علمی *Trachyspermum ammi* در طب سنتی ایرانیان یک گیاه شناخته شده با خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. نتایج یک آزمایش نشان داد که مصرف عصاره دانه زنیان در موش‌های صحرایی مبتلا به

¹ Streptozotocin

² Sodium-Valporic

مسمومیت کبدی موجب از بین رفتن رادیکال‌های آزاد شد و از پراکسیداسیون لیپیدهای غشای هپاتوسیت‌ها جلوگیری کرد (Anilakumar *et al.*, 2009).

با توجه به اینکه در شرایط تنش آسیب‌های بافتی اتفاق می‌افتد، هدف از اجرای این آزمایش بررسی اثر مصرف اسانس رازیانه و (یا) زنیان بر فراسنجه‌های متابولیکی و آنتی‌اکسیدانی خون و همچنین آسیب شناسی بافت کبد و کلیه‌ها در موش‌های صحرایی نر ویستار به‌عنوان یک مدل پستاندار در شرایط تنش القایی ناشی از تزریق دگزامتازون بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات و شرایط نگهداری آنها

این مطالعه‌ی تجربی در ساختمان پژوهشی گروه علوم دامی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. برای این منظور ۵۰ سر موش صحرایی نر ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۳۰ گرم و سن دو تا سه ماه از موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی ایران (حصارک، کرج) تهیه شد. موش‌های صحرایی در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی که دارای تجهیزات لازم و استاندارد بود، در قفس‌های انفرادی ساخته شده از پلی‌کربنات شفاف نگهداری شدند. در تمام مدت چرخه‌ی نور-تاریکی ۱۲ ساعته، محدوده دمایی 23 ± 2 درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۴۵ تا ۵۵ درصد حفظ شد. حیوانات محدودیتی در استفاده از آب و خوراک نداشتند و اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی به‌طور کامل رعایت شد. از آب‌خوری‌های نیپلی برای تامین آب تمیز و تازه استفاده شد و خوراک روزانه به‌صورت پلت و بدون محدودیت در اختیار موش‌های صحرایی قرار گرفت. پس از دو هفته دوره عادت‌پذیری به محیط نگهداری و همچنین عملیات گاوآژ، موش‌های صحرایی که شرایط مناسب‌تری از نظر سلامتی داشتند به طرح وارد شدند.

تیمارهای آزمایشی

موش‌های صحرایی به‌طور تصادفی به ۵ تیمار آزمایشی تقسیم شدند و در هر تیمار ۸ حیوان قرار گرفتند، به‌طوری‌که میانگین وزن هر تیمار مشابه (294 ± 31) بود. گروه‌های آزمایشی عبارت بودند از: ۱- بدون تنش و بدون مصرف مکمل (CON)، ۲- تنش بدون مصرف مکمل (ST)، ۳- تنش با مصرف اسانس رازیانه (ST+FE)، ۴- تنش با مصرف اسانس زنیان (ST+AJ) و ۵- تنش با مصرف مخلوط اسانس‌های رازیانه و زنیان (ST+FE+AJ).

ایجاد تنش القایی

برای ایجاد شرایط تنش القایی، تزریق دگزامتازون داخل ماهیچه‌ی ران (۱ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) صورت گرفت (Gholap & Kar, 2003). در گروه کنترل نیز به‌منظور شبیه‌سازی شرایط تزریق، روزانه ۰/۲ میلی‌لیتر آب مقطر داخل ماهیچه هر حیوان تزریق شد. پس از دو هفته القای تنش، تمام موش‌های صحرایی در ساعت ۱۱ تا ۱۲ هر روز صبح گاوآژ

شدند و اینکار تا سه هفته ادامه یافت. گاوژ در گروه‌های ۳ و ۴ و ۵ به ترتیب با اسانس رازیانه، اسانس زنیان و مخلوط اسانس‌های رازیانه و زنیان (۵۰:۵۰) به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن انجام شد (Manna et al., 2015). به منظور یکنواختی شرایط آزمایش، در گروه‌های ۱ و ۲ نیز عملیات گاوژ با خوردن آب مقطر شبیه‌سازی شد. تزریق روزانه دگزامتازون در تمام مدت گاوژ ادامه یافت (Jatwa et al., 2007).

تعیین خاصیت آنتی‌اکسیدانی

برای تعیین خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها، از روش مهار رادیکال آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده شد و پس از اندازه‌گیری میزان جذب نوری درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$100 \text{ (جذب شاهد/جذب نمونه - جذب شاهد)} = \text{درصد مهار رادیکال‌های آزاد}$$

در این فرمول جذب شاهد، جذب نوری کنترل که فاقد اسانس می‌باشد را نشان می‌دهد و در حقیقت همان DPPH محلول در متانول است. جذب نمونه، میزان جذب نوری غلظت‌های مختلف اسانس (۵، ۱۰، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) را در طول موج ۵۲۰ نانومتر بیان می‌کند. در آزمایش ما از اسید آسکوربیک (به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی استاندارد) استفاده شد.

نمونه‌گیری‌ها

مصرف روزانه خوراک موش‌های صحرایی در هر گروه آزمایشی به‌طور دقیق ثبت شد. همچنین وزن بدن هر حیوان قبل از شروع آزمایش و پس از آن به‌طور هفتگی تعیین و ثبت شد. در انتهای آزمایش نیز طول بدن موش‌های صحرایی (از نوک بینی تا مقعد) با خط کش اندازه‌گیری شد و شاخص توده‌ی بدنی طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{طول بدن (سانتی متر مربع)} / \text{وزن بدن (گرم)} = \text{شاخص توده‌ی بدنی}$$

در روز انتهایی آزمایش (روز ۳۵) پس از ۱۲ ساعت گرسنگی شبانه، موش‌های صحرایی با استنشاق کلروفرم بیهوش و سپس کشته شدند. بلافاصله نمونه خون از قلب آنها گرفته شد و سرم جدا شده از خون تا قبل از انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی در دمای ۲۰- درجه نگهداری شد (Jatwa et al., 2007). فراسنجه‌های سرم شامل آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP)، کلسترول، تری‌گلیسرید، اوره، کراتینین، آلومین، پروتئین (کیت های تجاری پارس آزمون)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (کیت تجاری راندوکس، انگلستان) و مالون‌دی‌آلدئید (Wullepit et al., 2012) اندازه‌گیری شد.

پس از خونگیری، لاشه‌ی حیوانات از ناحیه شکم باز شد و کبد و کلیه‌ها بطور کامل از لاشه جدا و وزن آنها تعیین شد. سپس هر اندام (کبد، کلیه‌ها) بطور تصادفی به ۱۰ قطعه تقسیم شد و قطعات بافتی پس از شستشو با سرم نمکی داخل محلول فرمالین ۱۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت گذاشته شدند. آماده‌سازی نمونه‌های بافت با دستگاه تمام اتوماتیک Tissue processor انجام شد. بلوک‌های پارافینه با استفاده از میکروتوم با ضخامت ۵ میکرومتر برش داده شدند و پس از رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین-ئوزین (H&E)، لام دائمی نمونه‌ها برای مطالعات بافت شناسی آماده شد. پارامترهای مورفولوژیکی (شامل یکنواختی بافت، تجمع آب و چربی، دژنره شدن سلولها و ...) بافت‌های مورد نظر در نمونه‌های بافتی که بطور مناسب برش خورده و رنگ آمیزی شده بودند در زیر میکروسکوپ نوری قرار داده شد.

آنالیز آماری داده‌ها

داده‌های به دست آمده از این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه‌ی آماری قرار گرفت و از آزمون توکی، رویه‌ی میکس برای مقایسه‌ی میانگین‌ها استفاده شد و سطح معنی‌داری ۵ درصد برای مقایسه‌ی میانگین‌ها در نظر گرفته شد. به منظور کاهش اثر خطاهای ناشی از ویژگی‌های فردی برای هر صفت، از متغیرهای کمکی در مدل استفاده شد.

نتایج و بحث

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها

در این آزمایش ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی اسانس رازیانه و زنیان و مخلوط آنها با روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH تعیین شد و داده‌های حاصل با اسید آسکوربیک به عنوان استاندارد مقایسه شد (جدول ۱). نتایج نشان داد که اسانس رازیانه، زنیان و مخلوط آنها با غلظت ۳۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تا حدود ۶۹ درصد قابلیت مهار رادیکال‌های آزاد را داشتند که کمتر از اسید آسکوربیک بود. اما، بین دو اسانس و مخلوط آنها از این نظر تفاوتی مشاهده نشد. به‌خوبی مشخص شده است که آنتی-اکسیدان‌ها با دخالت در مراحل اکسیداتیو موجب مهار رادیکال‌های آزاد می‌شوند (Li *et al.*, 2015). در توافقی با یافته‌های قبلی، اسانس‌های رازیانه و زنیان دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بودند (Gandomi *et al.*, 2014). چاترجی و همکاران (۲۰۱۲) با روش مهار DPPH قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی و متانولی رازیانه را به‌ترتیب ۷۲/۲۷ و ۷۸/۴۵ درصد و زنیان را ۸۲/۸۷ و ۸۳/۴۲ درصد، تعیین کردند که اندکی بیشتر از اعداد به دست آمده در این آزمایش بود (Chatterjee *et al.*, 2012). به‌طور کلی معتقدند که وجود ترکیبات پلی‌فنولیک از جمله تیمول، عامل اصلی ایجاد کننده‌ی خاصیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌ی گیاهان دارویی است (Gandomi *et al.*, 2014).

جدول ۱: مقایسه مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط غلظت‌های مختلف اسانس‌های رازیانه، زنیان و مخلوط آن‌ها با اسید آسکوربیک

ماده مورد بررسی	غلظت (میلی گرم در میلی لیتر)					
	۳۰	۲۵	۲۰	۱۵	۱۰	۵
اسانس رازیانه	۶۹/۱ ^b	۶۰/۵ ^b	۵۳/۳ ^b	۵۰/۷ ^b	۳۹/۱ ^b	۲۵/۵ ^b
اسانس زنیان	۶۸/۳ ^b	۶۱/۳ ^b	۵۱/۷ ^b	۴۳/۱ ^c	۳۵/۹ ^c	۲۲/۴ ^b
مخلوط اسانس رازیانه و زنیان	۶۸/۱ ^b	۶۰/۱ ^b	۵۲/۱ ^b	۴۵/۳ ^c	۳۶/۷ ^{bc}	۲۳/۲ ^b
اسید آسکوربیک	۸۸/۹ ^a	۸۴/۵ ^a	۸۲/۶ ^a	۷۸/۵ ^a	۷۰/۴ ^a	۵۲/۶ ^a
میانگین خطای آزمایشی	۲/۹	۲/۴	۲/۱	۲/۰	۱/۵	۰/۷

حروف a, b, c در بالای هر عدد نشان‌دهنده تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح $P < 0.05$ است و حرف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار می‌باشد.

شاخص توده بدنی، تغییر وزن بدن، مصرف خوراک و وزن نسبی کبد و کلیه‌ها

شاخص توده بدنی در گروه کنترل بیشترین ($P < 0.05$) بود و گروه‌های تحت تنش، موش‌های صحرائی که مخلوط اسانس رازیانه و زنیان دریافت کرده بودند شاخص توده‌ی بدنی بهتری در مقایسه با گروه تنش بدون مصرف مکمل داشتند ($P < 0.05$) (جدول ۲).

وزن نسبی کبد در گروه تنش به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) بیشتر از دیگر گروه‌های آزمایشی بود و گروه‌های دریافت‌کننده‌ی اسانس از این نظر با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشتند. با اعمال تنش القایی، وزن نسبی کلیه‌ها در تمام گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل افزایش ($P < 0.05$) یافت. اما، مصرف مخلوط اسانس رازیانه و زنیان تاثیری بر وزن نسبی کلیه‌ها در مقایسه با گروه کنترل نداشت. نتایج نشان داد که ایجاد تنش القایی، شاخص توده بدنی موش‌های صحرائی را به مقدار زیادی کاهش داد که می‌تواند ناشی از کاهش وزن بدن و آتروفی ماهیچه‌های اسکلتی در گروه تحت تنش باشد (نمودار ۱). بررسی‌ها نشان می‌دهد گلوکوکورتیکوئیدها سبب کاهش رشد و القای آتروفی در سلول‌های ماهیچه‌ای می‌شود (Mitch & Goldberg, 1996). گزارش شده است که تزریق دگزامتازون بیان ژن مایواستاتین به‌عنوان یک تنظیم‌کننده منفی رشد را در شرایط آزمایشگاهی افزایش داد و موجب آتروفی ماهیچه‌ای و در نهایت موجب کاهش وزن بدن در موش‌های صحرائی شد (Ma et al., 2003). مصرف اسانس‌ها بویژه مخلوط رازیانه و زنیان، اثر منفی دگزامتازون بر شاخص توده بدنی موش‌های صحرائی تحت تنش را تا حدودی خنثی کرد.

نتایج تاثیر تنش و مصرف اسانس‌ها بر تغییر وزن بدن و میانگین مصرف خوراک موش‌های صحرائی در نمودار ۱ نشان داده شده است. مشخص شد که ایجاد تنش القایی موجب کاهش شدید ($P < 0.05$) وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل شد و مصرف اسانس‌ها این کاهش وزن را به مقدار زیادی جبران کرد. به‌طوری‌که تغییر وزن اتفاق افتاده در گروه ST+FE+AJ در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار نبود ($P > 0.05$) و مصرف اسانس‌ها تفاوتی از این نظر نداشت. از سوی دیگر تنش به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) موجب کاهش میانگین مصرف روزانه خوراک شد، اما اسانس‌ها بویژه مخلوط رازیانه و زنیان این کاهش را تا حدود

زیادی جبران کرد. در یک آزمایش اثر مصرف پودر رازیانه در جیره گوساله‌ها بررسی شد و نتایج به دست آمده نشان داد با مصرف ۰/۴ درصد پودر رازیانه، وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت و این را ناشی از اثر رازیانه بر بهبود اشتها و افزایش مصرف خوراک گوساله‌ها دانستند. مانا و همکاران (۲۰۱۵) نیز نشان دادند که در موش‌های صحرایی تحت تنش اکسیداتیو، بطور معنی داری وزن بدن کاهش و وزن نسبی کبد افزایش یافت، اما با مصرف عصاره‌ی دانه‌ی رازیانه و عصاره‌ی گل بابونه این وضعیت بهبود یافت (Manna *et al.*, 2015). در آزمایش حاضر نیز وزن نسبی کبد و کلیه‌ها تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و تنش موجب افزایش وزن نسبی این اندام‌ها شد. مصرف اسانس‌ها بر بهبود وزن نسبی کبد تاثیر داشت اما بر وزن نسبی کلیه‌ها چندان تاثیری نداشت. به‌طور کلی، می‌توان احتمال داد که افزایش وزن نسبی کبد در نتیجه افزایش فعالیت‌های التهابی و ادم رخ داده است. منصور و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی اثر دیابت نفروپاتی و تنش اکسیداتیو ناشی از آن، نشان دادند وزن نسبی کلیه‌ها بطور معنی‌داری افزایش یافت که نتایج آزمایش حاضر را تایید می‌کند (Mansouri *et al.*, 2011).

جدول ۲- اثر اسانس رازیانه، زنیان و مخلوط آن‌ها بر شاخص توده بدنی و وزن نسبی کبد و کلیه‌ها در موش‌های صحرایی نر ویستار

SEM ^۲	گروه آزمایشی ^۱					
	ST+FE+AJ	ST+AJ	ST+FE	ST	CON	
۰/۰۱	۰/۵۳ ^b	۰/۵۰ ^{bc}	۰/۴۹ ^c	۰/۴۳ ^d	۰/۵۶ ^a	شاخص توده بدنی ^۳
۰/۰۱	۳/۷ ^b	۳/۶۶ ^b	۳/۴۷ ^b	۴/۳۱ ^a	۳/۴۶ ^b	وزن نسبی کبد ^۴
۰/۰۸	۰/۸۷ ^{ab}	۰/۹۵ ^a	۰/۹۵ ^a	۰/۹۶ ^a	۰/۸۰ ^b	وزن نسبی کلیه‌ها ^۴

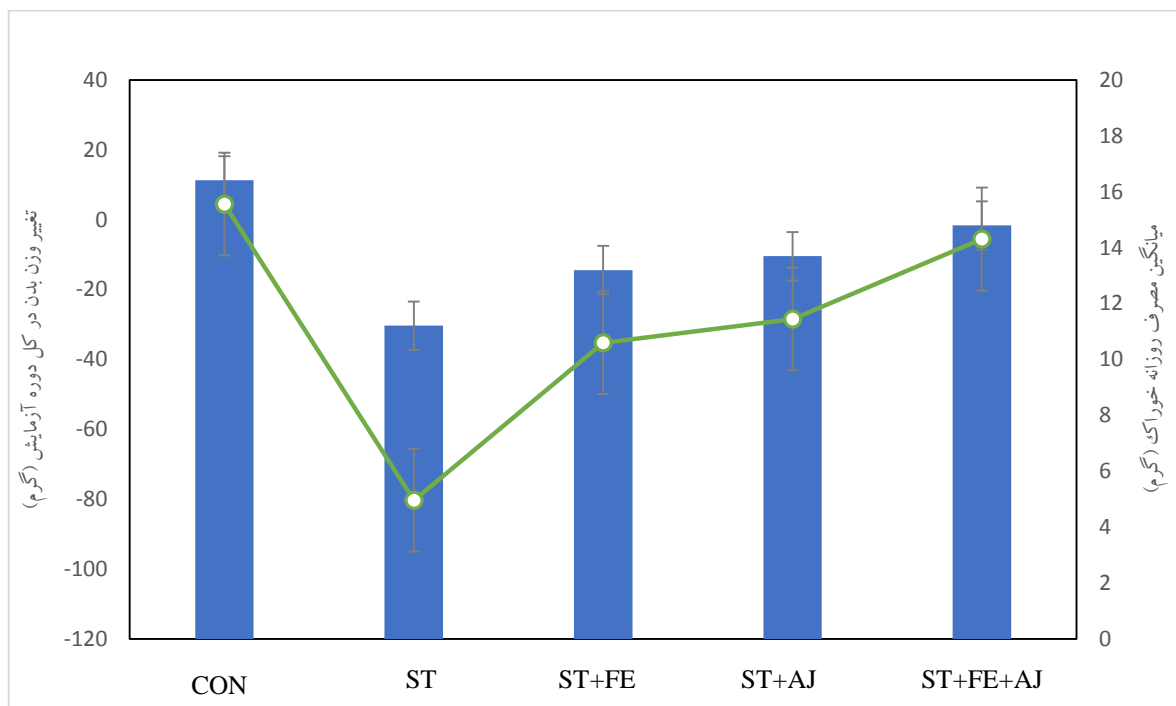
CON^۱: کنترل بدون تنش و مصرف مکمل، ST: تنش بدون مصرف مکمل، ST+FE: تنش با مصرف اسانس رازیانه، ST+AJ: تنش با مصرف اسانس زنیان و ST+FE+AJ: تنش با مصرف مخلوط اسانس‌های رازیانه و زنیان. اسانس‌ها به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز به صورت گاوآژ مصرف شدند.

^۲ میانگین خطای استاندارد

^۳ وزن بدن (گرم) تقسیم بر طول بدن (سانتی‌متر مربع)

^۴ وزن تازه هر اندام تقسیم بر وزن بدن قبل از کشتار

حروف a, b, c و d در بالای هر عدد نشان‌دهنده تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح $P < 0.05$ است و حرف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار می‌باشد.



نمودار ۱: اثر اسانس رازیانه، زنیان و مخلوط آن‌ها بر تغییر وزن بدن در کل دوره آزمایش (نمودار خطی) و میانگین مصرف روزانه خوراک (نمودار میله‌ای) در موش‌های صحرائی نر ویستار.

CON: کنترل بدون تنش و مصرف مکمل، ST: تنش بدون مصرف مکمل، ST+FE: تنش با مصرف اسانس رازیانه، ST+AJ: تنش با مصرف اسانس زنیان و ST+FE+AJ: تنش با مصرف مخلوط اسانس‌های رازیانه و زنیان. اسانس‌ها به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز به صورت گاواژ مصرف شدند. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از رویه میکس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی انجام شد.

فعالیت آنزیم‌های کبدی و متابولیت‌های خون

ایجاد تنش القایی در موش‌های صحرائی موجب افزایش ($P < 0.05$) فعالیت آنزیم‌های ALT و AST خون شد (جدول ۳). اما، در گروه‌های تحت تنش با مصرف اسانس رازیانه و (یا) زنیان، فعالیت این آنزیم‌ها کاهش یافت و از این نظر تفاوتی بین اسانس‌ها مشاهده نشد. ایجاد تنش و مصرف همزمان اسانس‌ها تاثیری بر فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز نداشت. آنزیم‌های ALT، AST و ALP به‌طور طبیعی در هیپاتوسیت‌ها فعال هستند و انتشار آن به خون می‌تواند نشانه نکروز یا آسیب غشای سلولی به دلیل تنش اکسیداتیو و ترشح سایتوکین‌های التهابی باشد (Li et al., 2015). کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در سرم خون موش‌های صحرائی تحت تنش می‌تواند نشان دهنده نقش آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی این اسانس‌ها باشد (Al-Amoudi, 2017; Manna et al., 2015). متابولیت‌های سرم خون شامل کلسترول، تری‌گلیسرید، اوره، کراتینین، پروتئین کل و گلوبولین تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. آلبومین خون در گروه تحت تنش بدون مصرف اسانس (ST) در مقایسه با گروه کنترل، بطور معنی‌داری ($P < 0.05$) افزایش یافت. ولی با مصرف اسانس‌ها، غلظت آلبومین سرم خون کاهش یافت به‌طوری‌که تفاوت مشاهده شده با گروه کنترل معنی دار نشد. غلظت آنزیم مالون‌دی‌آلدئید سرم خون تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل مربوط به گروه کنترل بود که با اعمال تنش القایی به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کاهش یافت. نتایج نشان داد که مصرف اسانس‌ها تا حدودی ظرفیت

آنتی‌اکسیدانی خون را بهبود بخشید. به‌خوبی مشخص شده است که آلبومین به‌عنوان یک پروتئین ساخته شده در کبد به‌دلیل داشتن گروه‌های تیول نقش مهمی در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی خارج سلولی دارد و در موارد بروز تنش، غلظت آن ممکن است در سرم خون افزایش یابد (Celi & Gabai, 2015). اما، این موضوع نتوانست اثر مثبتی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل داشته باشد.

هیستوپاتولوژی کبد و کلیه‌ها

بررسی‌های هیستوپاتولوژی مشخص کرد که ایجاد شرایط تنش موجب بروز اثرات منفی بر بافت کبد (شکل ۱) شد. بطوریکه در بافت کبد موش‌های صحرایی گروه کنترل، سیاهرگ مرکزی و فضای پورتال^۱ ظاهری کاملاً طبیعی داشتند و ترشح سلول‌های التهابی در فضاهای پورت مشاهده نشد. همچنین عناصر پورت (سیاهرگ، مجرای صراوی و بافت همبند) هر کدام در جایگاه مناسب خود دیده شدند و هیپاتوسیت‌ها دارای ظاهر طبیعی (اندازه بزرگ، هسته مرکزی و سیتوپلاسم فاقد واکوئل و بافت چربی یا تجمع صفرا در سیتوپلاسم) بودند. اما، در گروه تحت تنش، هیپاتوسیت‌ها به شدت متورم شدند و در سیتوپلاسم آن‌ها به وضوح واکوئل‌ها و فضای شفاف فراوان دیده شد که می‌تواند ناشی از ادم یا تجمع چربی باشد. همچنین در بافت کبد گروه ST، نکروز سلولی به صورت موضعی و پراکنده مشاهده شد.

جدول ۳: اثر اسانس رازیانه، زنیان و مخلوط آن‌ها بر آنزیم‌های کبدی، متابولیت‌ها و فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی سرم خون در موش‌های صحرایی نر ویستار

SEM ^r	گروه آزمایشی ^۱					فراسنجه
	ST+FE+AJ	ST+AJ	ST+FE	ST	CON	
۱۵/۹	۱۲۶/۲ ^b	۱۶۳/۷ ^b	۱۳۲/۱ ^b	۲۲۸/۹ ^a	۱۴۶/۳ ^b	آل‌انین آمینوترانسفراز (U/L)
۱۵/۴	۵۸/۵ ^b	۶۷/۲ ^b	۶۵/۲ ^b	۱۳۷/۴ ^a	۶۷/۶ ^b	آسپارات آمینوترانسفراز (U/L)
۶۲/۳	۵۲۹/۱	۶۴۳/۷	۵۳۰/۲	۶۲۱/۴	۵۹۸/۶	آل‌کالین فسفاتاز (U/L)
۲/۸	۵۱/۴۸	۵۲/۵۸	۴۶/۲۶	۵۲/۸۰	۴۸/۸۴	اوره (mg/dl)
۰/۰۴	۰/۲۵	۰/۱۵	۰/۲۵	۰/۲۰	۰/۲۳	کراتینین (mg/dl)
۹/۶	۸۷/۸۲	۷۹/۰۳	۷۱/۷۱	۸۸/۵۳	۵۸/۳۰	کلسترول (mg/dl)
۱۰/۱۶	۷۴/۷۱	۷۱/۹۷	۶۳/۴۵	۶۹/۴۱	۴۷/۳۴	تری‌گلیسرید (mg/dl)
۱/۱	۶/۶۸	۶/۵۶	۶/۰۳	۷/۹۰	۶/۷۸	پروتئین کل (g/dl)
۰/۷۲	۳/۲۸	۳/۲۳	۲/۹۵	۴/۲۰	۳/۷۵	گلوبولین (g/dl)
۰/۲۲	۳/۰۵ ^{ab}	۳/۰۱ ^b	۲/۸۹ ^b	۳/۶۸ ^a	۲/۹۴ ^b	آلبومین (g/dl)
۰/۲۷	۱/۹۰	۱/۴۸	۱/۹۱	۲/۰۵	۱/۹۱	مالون‌دی‌آلدئید (nmol/ml)
۰/۱۶	۱/۱۵ ^{ab}	۱/۱۰ ^{ab}	۰/۹۳ ^{ab}	۰/۸۶ ^b	۱/۲۵ ^a	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (mg/dl)

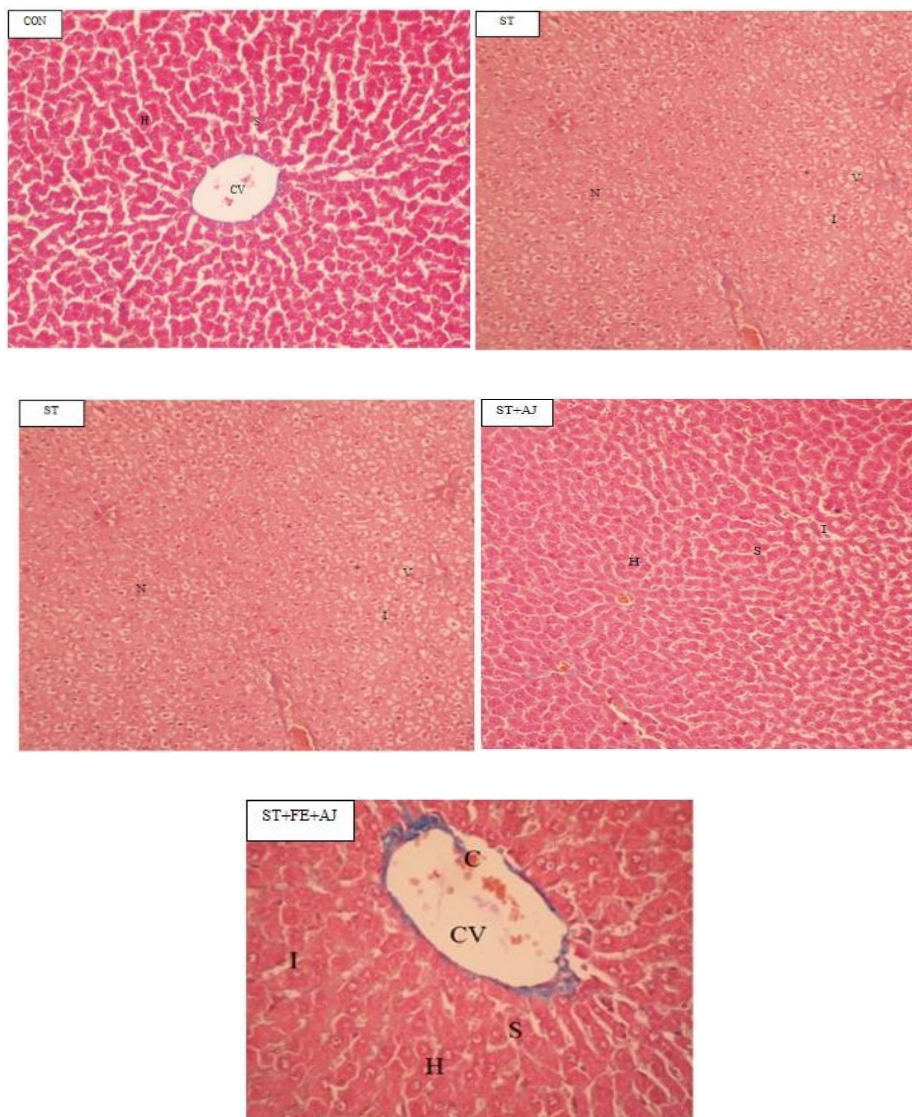
CON^۱: کنترل بدون تنش و مصرف مکمل، ST: تنش بدون مصرف مکمل، ST+FE: تنش با مصرف اسانس رازیانه، ST+AJ: تنش با مصرف اسانس زنیان و ST+FE+AJ: تنش با مصرف مخلوط اسانس‌های رازیانه و زنیان. اسانس‌ها به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز به صورت گاواژ مصرف شدند.
^۲ میانگین خطای استاندارد

حروف a و b در بالای هر عدد نشان‌دهنده تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح $P < 0.05$ است و حرف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار می‌باشد.

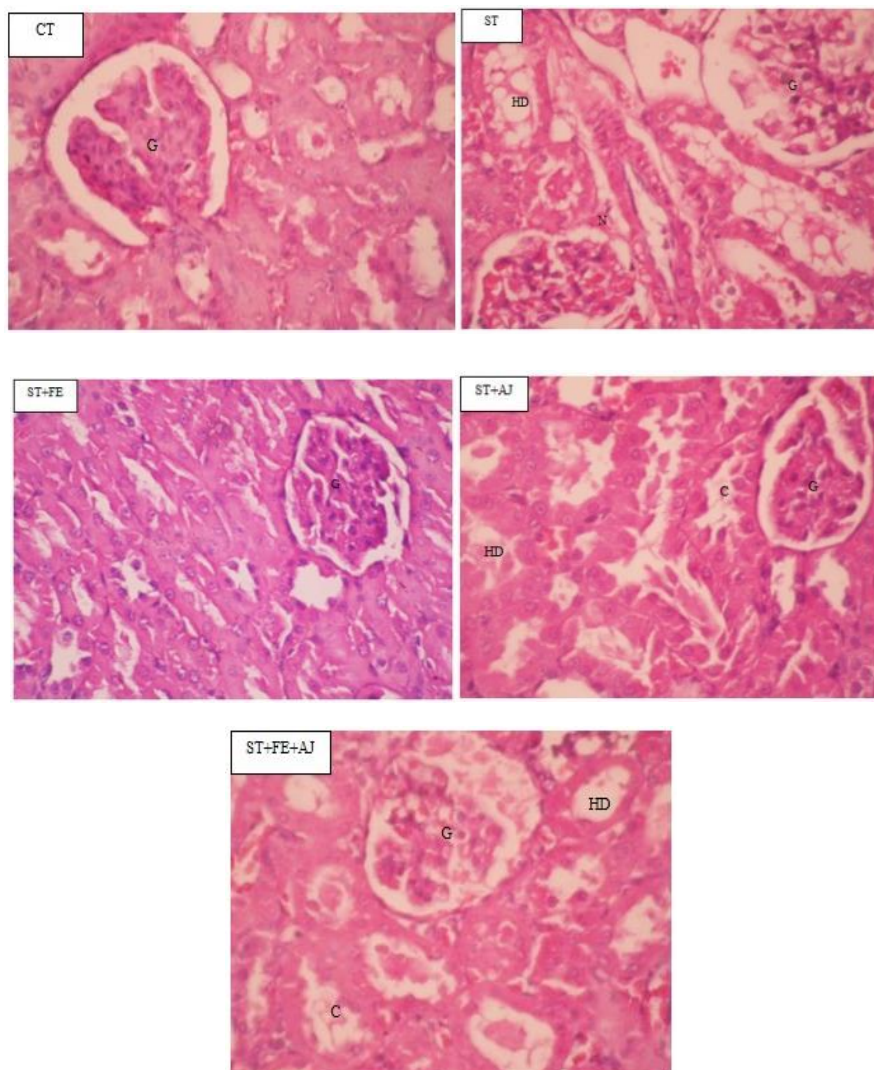
در گروه مصرف کننده اسانس رازیانه، واکنش‌های بافت کبد به شدت کاهش یافت و ادم و تجمع چربی نیز کمتر شد، بطوریکه هیپاتوسیت‌ها و سینوزئیدها در جایگاه طبیعی خود قابل مشاهده بودند و تنها بقایایی از واکنش‌های نسبتاً روشن در سیتوپلاسم هیپاتوسیت‌ها دیده شد. در گروه مصرف کننده‌ی اسانس زنیان، گرچه هیپاتوسیت‌ها و سینوزئیدها در جایگاه طبیعی خود قرار داشتند، اما واکنش‌های حاوی چربی نسبت به گروه رازیانه بیشتر بود و تعداد اندکی سلول‌های التهابی در سینوزئیدها نیز مشاهده شد. در گروه مخلوط اسانس‌های رازیانه و زنیان، هیپاتوسیت‌ها و سینوزئیدها در جایگاه طبیعی خود قرار داشتند ولی بقایایی از واکنش‌ها در داخل سیتوپلاسم هیپاتوسیت‌ها قابل مشاهده بود.

نتایج مربوط به هیستوپاتولوژی بافت کلیه‌ها (شکل ۲) نشان داد که در گروه کنترل گلوبومرول‌ها نمای طبیعی داشتند، فضای کپسول بومن باز بود، در بین سلول‌های گلوبومرولی افزایش مزانشیم وجود نداشت و آثار نکروز و آتروفی در جدار سلول‌ها مشاهده نشد. اما، در گروه تنش علی‌رغم ظاهر طبیعی گلوبومرول‌ها، آثار دژنره شدن هیدروپیک و تجمع آب در داخل سیتوپلاسم سلول‌های جدار توبول‌ها مشاهده شد. ادم و ترشح سلول‌های التهابی و افزایش بافت همبند در بافت بینابینی در کلیه‌ها مشاهده نشد. در گروه رازیانه، گلوبومرول‌ها ظاهر طبیعی داشتند و ادم داخل سلولی و دژنره شدن هیدروپیک به شدت کاهش یافت. در گروه زنیان، تعداد واکنش‌ها در جدار سلول‌های اپیتلیال در مقایسه با گروه تنش کاهش یافت، اما نسبت به گروه مصرف کننده اسانس رازیانه بیشتر بود. در گروه مخلوط اسانس‌های رازیانه و زنیان، به دلیل وجود واکنش‌ها در جدار سلول‌های توبولی، بهبود چندانی نسبت به گروه رازیانه مشاهده نشد.

کبد و کلیه ارگان‌هایی مهم در ذخیره سازی، سم‌زدایی، متابولیسم و دفع بسیاری از متابولیت‌های بدن هستند که به‌طور ویژه در معرض خطر آسیب‌های اکسیداتیو می‌باشند (Aboonabi et al., 2014). نتایج آزمایش حاضر نیز بخوبی این موضوع را نشان داد و مشخص شد که تنش القایی با دگزامتازون می‌تواند آسیب‌های زیادی بر بافت کبد و کلیه‌ها وارد کند و در نتیجه بر عملکرد این دو اندام بسیار مهم متابولیکی بدن تاثیر می‌گذارد. گزارش شده است که ترکیبات پلی فنولیک به ویژه فلاونوئیدها دارای اثر حفاظتی برای کبد در برابر آسیب‌های ناشی از سموم و رادیکال‌های آزاد هستند (Mannaa et al., 2015). در این آزمایش نیز مشخص شد که مصرف اسانس‌ها بویژه اسانس رازیانه که دارای مقدار زیادی فلاونوئید است نقش محافظتی بسیار خوبی برای کبد و کلیه‌ها در موش‌های صحرایی تحت تنش القایی داشت که با نتایج مانا و همکاران (۲۰۱۵) نیز همخوانی دارد (Mannaa et al., 2015) و نتایج ما در مورد فعالیت آنزیم‌های کبدی (جدول ۳) را نیز تایید می‌کند.



شکل ۱: بافت کبد در گروه کنترل (CON)، گروه تنشی بدون مصرف مکمل (ST)، گروه تنشی با مصرف اسانس رازیانه (ST+FE)، گروه تنشی با مصرف اسانس زنیان (ST+AJ)، گروه تنشی با مصرف مخلوط اسانس‌های رازیانه و زنیان (ST+FE+AJ). سیاهرگ مرکزی (CV)، هیپاتوسیت (H)، واکوئل حاوی آب یا چربی (V)، سینوزئید (S)، نکروز (N)، ترشح سلول‌های التهابی (I)، احتقان مویرگی (C).



شکل ۲: بافت کلیه‌ها در گروه کنترل (CON)، گروه تنشی بدون مصرف مکمل (ST)، گروه تنشی با مصرف اسانس رازیانه (ST+FE)، گروه تنشی با مصرف اسانس زنیان (ST+AJ)، گروه تنشی با مصرف مخلوط اسانس‌های رازیانه و زنیان (ST+FE+AJ). گلوبول (G)، نکروز (N)، احتقان (C) و دژنره شدن هیدروپیک (HD).

نتیجه‌گیری

تنش القایی با دگزامتازون اثرات منفی زیادی در موش‌های صحرایی نر ویستار ایجاد کرد، اما مصرف اسانس‌های رازیانه و زنیان با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی موجب بهبود مصرف خوراک، شاخص توده بدنی و وزن نسبی کبد شد. اغلب متابولیت‌های خون (بجز آلومین) تحت تاثیر شرایط تنش و مصرف اسانس‌ها قرار نگرفتند. مصرف اسانس‌ها (بویژه اسانس رازیانه) بر سلامت کبد و کلیه‌ها اثرات مثبتی داشت.

سپاسگزاری

از آقای دکتر فلاحی (مسئول بخش پرورش حیوانات آزمایشگاهی موسسه رازی کرج) بخاطر در اختیار گذاشتن موش‌های صحرایی مورد نیاز این آزمایش صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

منابع

- Aboonabi, A., Rahmat, A. and Othman, F. (2014) Effect of pomegranate on histopathology of liver and kidney on generated oxidative stress diabetic induced rats. *Journal of Cytology and Histology*, 6: 294-297.
- Al-Amoudi, W.M. (2017) Protective effects of fennel oil extract against sodium valproate-induced hepatorenal damage in albino rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24: 915-924.
- Anilakumar, K., Saritha, V., Khanum, F. and Bawa, A. (2009) Ameliorative effect of ajwain extract on hexachlorocyclohexane-induced lipid peroxidation in rat liver. *Food Chemistry and Toxicology*, 47: 279-282.
- Celi, P. and Gabai, G. (2015) Oxidant/antioxidant balance in animal nutrition and health: The role of protein oxidation. *Frontiers in Veterinary Science*, 2: 1-13.
- Chatterjee, S., Goswami, N. and Bhatnagar, P. (2012) Estimation of phenolic components and in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) and ajwain (*Trachyspermum ammi*) seeds. *Advances in Bioresearch*, 3: 109-118.
- Gandomi, H., Abbaszadeh, S., Jebellijavan, A. and Sharifzadeh, A. (2014) Chemical constituents, antimicrobial and antioxidative effects of trachyspermum ammi essential oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38: 1690-1695.
- Gholap, S. and Kar, A. (2003) Effects of inula racemosa root and gymnema sylvestre leaf extracts in the regulation of corticosteroid induced diabetes mellitus; involvement of thyroid hormones. *Pharmazie*, 58: 413-415.
- Jatwa, R., Parmar, H.S., Panda, S. and Kar, A. (2007) Amelioration of corticosteroid-induced type 2 diabetes mellitus by rosiglitazone is possibly mediated through stimulation of thyroid function and inhibition of tissue lipid peroxidation in mice. *Basic and Clinical Pharmacol and Toxicology*, 101: 177-180.
- Kooti, W., Moradi, M., Ali-Akbari, S., Sharafi-Ahvazi, N., Asadi-Samani, M. and Ashtary-Larky, D. (2015) Therapeutic and pharmacological potential of *Foeniculum vulgare* Mill: a review. *Journal of Herbal Medicine Pharmacology*, 4: 1-9.
- Li, S., Tan, H.Y., Wang, N., Zhang, Z.J., Lao, L., Wong, C.W. and Feng, Y. (2015) The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 6: 26087-26124.

- Ma, K., Mallidis, C., Bhasin, S., Mahabadi, V., Artaza, J., Gonzalez-Cadavid, N., Arias, J. and Salehian, B. (2003) Glucocorticoid-induced skeletal muscle atrophy is associated with upregulation of myostatin gene expression. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 285: 363-371.
- Mannaa, F.A., Ibrahim, N.A., Ibrahim, S.S., Abdel-Wahhab, K.G., Hassan, N.S. and Mohammed, S.G. (2015) Preventive role of chamomile flowers and fennel seeds extracts against liver injury and oxidative stress induced by an immunosuppressant drug in rats. *Hepatoma Research*, 1: 125-135.
- Mansouri, E., Panahi, M., Ghaffari, M.A. and Ghorbani, A. (2011) Effects of grape seed proanthocyanidin extract on oxidative stress induced by diabetes in rat kidney. *Iranian Biomedical Journal*, 15: 100-106.
- Mitch, W.E. and Goldberg, A.L. (1996) Mechanisms of muscle wasting—the role of the ubiquitin–proteasome pathway. *The New England Journal of Medicine*, 335:1897-1905.
- Parsaeyan, N. (2016) The effect of foeniculum vulgare (Fennel) extract on lipid profile, lipid peroxidation and liver enzymes of diabetic rat. *Iranian Journal of Diabetes and Obesity*, 8: 24-29.
- Peckett, A.J., Wright, D.C. and Riddell, M.C. (2011) The effects of glucocorticoids on adipose tissue lipid metabolism. *Metabolism*, 60: 1500-1510.
- Robbins, M.E., Zhao, W., Davis, C.S., Toyokuni, S. and Bonsib, S.M. (2002) Radiation-induced kidney injury: a role for chronic oxidative stress? *Micron*, 33: 133-141.
- Sato, H., Takahashi, T., Sumitani, K., Takatsu, H. and Urano, S. (2010) Glucocorticoid generates ROS to induce oxidative injury in the hippocampus, leading to impairment of cognitive function of rats. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 47: 224–232.
- Wullepit, N., Hostens, M., Ginneberge, C., Fievez, V., Opsomer, G., Fremaut, D. and De Smet, S. (2012) Influence of a marine algae supplementation on the oxidative status of plasma in dairy cows during the periparturient period. *Preventive Veterinary Medicine*, 103: 298–303.
- Yoshikawa, M., Xu, F., Morikawa, T., Ninomiya, K. and Matsuda, H. (2003) Anastatins A and B, new skeletal flavonoids with hepatoprotective activities from the desert plant *Anastatica hierochuntica*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 13: 1045-1049.

Effect of essential oil of *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi* on blood metabolites and histopathology of liver and kidney in male Wistar rat under dexamethasone-induced stress

A. Riasi^{1*}, R. Abasi², A.H. Mahdavi³, A. Talebi⁴, S. Abdollahzadeh⁵

Received: 2020.4.6

Accepted: 2020.6.2

Abstract

In stress condition, the blood corticoides increases which can affect general health of body as well as the function of some vital organs such as liver and kidneys. Consumption of herbal antioxidants may improve metabolic defects caused by stress. The aim of this study was to evaluate the effect of *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi* essenses on blood metabolites and histopathological damages which is created by dexamethasone due to stress induction. Total of 40 mature Wistar male rats were randomly assigned to 5 treatments: 1- No stress, without supplementation, 2- Stress, whitout supplementation, 3- Stress, with receiving *Foeniculum vulgare* essence, 4- Stress, with receiving *Trachyspermum ammi* essence, 5- Stress, with receiving both of *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi* essence. Dexamethasone injection was done for stress induction and essential oils of *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi* and the mixture of them were gavaged. At the end, the blood samples were collected and then the samples of liver and kidneys were prepared. Stress induction, increased ALT and AST activities, but, feeding each essential oil and the mixture decreased activities of these enzymes. By treatment of *Foeniculum vulgare*, liver tissue vacuoles decreased significantly as well as edema and fat accumulation. In the stress group, hydropic degeneration and water accumulation were observed in cytoplasm of the tubular cells, but in *Foeniculum vulgare* treatment group kidney glomerului had normal appearance and cells edema significantly decreased. Treatment of herbal essential oils (especially *foeniculum vulgare*) had positive effect on liver and kidney health recovery and prevented from tissue damages due to stress induction in rat.

Keywords: Ajwain, Fennel, Histopathology, Hydropic degeneration, Rat, Tissue edema.

1- Professor of Animal Science Department, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

* (Corresponding Author: ariasi@iut.ac.ir)

2- MSc. Master graduate of Animal Science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

3- Associated professor of Animal Science Department, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

4- Associated Professor of Pathology Department, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

5- PhD Student of Animal Physiology, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

ارزیابی کیفیت آب رودخانه قره آغاج استان فارس بر اساس شاخص‌های بزرگ بی‌مهرگان کفزی

حمیدرضا شهادنیا^۱، عاطفه چمنی^{۲*}، مهرداد زمان‌پور^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۵/۵

چکیده

بی‌مهرگان کفزی می‌توانند به‌عنوان شاخص زیستی، تغییرات طبیعی و انسان ساخت محیط را نشان دهند. رودخانه‌ی قره آغاج یکی از مهم‌ترین رودخانه‌های استان فارس است که در طی مسیر خود مصارف بسیار کشاورزی و شرب دارد. هدف از این مطالعه، بررسی تغییرات بی‌مهرگان کفزی طی یک سال از مهر ۹۷ تا شهریور ۹۸ به‌منظور تعیین شرایط کیفی آب رودخانه‌ی قره آغاج است. بدین منظور ۱۰ ایستگاه نمونه‌برداری در مسیر رودخانه، در مسیری به طول تقریبی ۱۹۰ کیلومتر انتخاب و نمونه‌برداری از رسوب در ۸ مرحله به‌صورت هر ۴۵ روز انجام شد. شناسایی‌ها با استفاده از استریومیکروسکوپ دوچشمی و کلیدهای شناسایی فون بنتیک انجام گرفت. به‌منظور ارزیابی زیستی کیفیت آب از شاخص‌های *ASPT*، *BMWP* و شانون وینر استفاده گردید. بر اساس نتایج، میانه‌های رودخانه به سمت خلیج فارس (ایستگاه‌های ۷ تا ۱۰) در شرایط آلودگی شدید قرار دارند. این ایستگاه‌ها به‌وسیله زمین‌های کشاورزی احاطه شده‌اند که از آفت‌کش‌ها و علف‌کش‌ها در مقیاس گسترده در آن‌ها استفاده می‌شود و در نتیجه‌ی آن زهاب کشاورزی حاوی آلاینده‌ها را به رودخانه سرازیر می‌کند. علاوه بر این در محدوده کوار (ایستگاه ۷)، پساب معادن شن و ماسه به داخل رودخانه سرازیر می‌شود که اکوسیستم دریاچه را به شدت دگرگون کرده است. کیفیت آب رودخانه‌ی قره آغاج به‌طور کلی پایین است و در طبقه آلودگی متوسط تا شدید قرار می‌گیرد.

واژه‌های کلیدی: بزرگ بی‌مهرگان کفزی، رودخانه‌ی قره آغاج، کیفیت آب

مقدمه

رودخانه‌ها برای بقای بشریت حیاتی هستند. در طی تاریخ، شهرها، مراکز صنعتی و مراکز کشاورزی به‌منظور استفاده از آب شیرین رودخانه‌ها در مجاورت آن‌ها مستقر شده‌اند (Fathi *et al.*, 2018). رشد سریع جمعیت و شهرنشینی به‌همراه گسترش فعالیت‌های صنعتی در دهه‌های اخیر، باعث افزایش برداشت از رودخانه‌ها به‌عنوان منابع آب سطحی و اعمال فشار بر این

۱- دانشجوی دکتری تنوع زیستی، گروه محیط زیست، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه محیط زیست، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

*نویسنده مسئول: atefehchamani@yahoo.com

۳- استادیار، بخش آبیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، شیراز

اکوسیستم‌های ارزشمند شده است (Sánchez *et al.*, 2007). از طرفی رودخانه‌ها در طی دهه‌های گذشته محلی برای تخلیه فاضلاب شهری، پساب صنعتی و زهاب کشاورزی شده‌اند (Darvishi *et al.*, 2016). در این بین بزرگ بی‌مهرگان کفزی (ماکروبن‌توزها)، به‌خصوص در رودخانه‌هایی که از بین شهرها و یا از نزدیک مراکز صنعتی عبور می‌کنند به‌شدت تحت تاثیر فعالیت‌های انسانی قرار گرفته‌اند.

موجودات زنده‌ی آب‌های شیرین برای تخمین شرایط زیستی رودخانه‌ها، دریاچه‌ها و تالاب‌ها به‌عنوان مکمل روش‌های فیزیکی شیمیایی معمول به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند که بهترین آن‌ها در ارزیابی، بی‌مهرگان کفزی هستند. بی‌مهرگان کفزی یکی از مهم‌ترین بخش‌های اکوسیستم آبی هستند (Breine *et al.*, 2018) و نحوه‌ی توزیع و پراکنش آن‌ها در رابطه با تغییر پارامترهای محیطی یا فشار ناشی از فعالیت‌های انسانی، بارها در سراسر جهان مورد مطالعه قرار گرفته است. به‌طوری که بیش از ۶۰ درصد شاخص‌های اکولوژیک آب شیرین بر مبنای مقاومت یا حساسیت بی‌مهرگان کفزی پایه‌ریزی شده است (Varnosfaderany *et al.*, 2010). بی‌مهرگان کفزی می‌توانند به‌عنوان شاخص زیستی، تغییرات طبیعی و انسان ساخت محیط را نشان دهند (Noyel *et al.*, 2020). بی‌مهرگان کفزی در همه جا فراوان و مقیم منطقه هستند، به آسانی جمع‌آوری، شناسایی و شمارش می‌شوند و دارای یک دوره زندگی کافی برای نشان دادن تغییرات محیط زندگی خود هستند (پیرعلی و ابراهیمی، ۱۳۹۵).

شاخص‌های بی‌مهرگان کفزی به‌منظور آگاهی از شرایط کیفی و یا میزان آلودگی اکوسیستم‌های آبی و بر اساس حساسیت اکولوژیکی هر تاکسون در برابر آلاینده‌های مختلف پایه ریزی شده‌اند. در این شاخص‌ها، برای کلاس بندی درجه‌ی آلودگی با توجه به سطح تحمل گونه‌های شاخص به مواد آلاینده، یک نمره (امتیاز) به آن‌ها تعلق می‌گیرد (پیرعلی و ابراهیمی، ۱۳۹۲).

مطالعات مختلفی به‌منظور طبقه‌بندی کیفی آب رودخانه‌ها بر اساس شاخص بی‌مهرگان کفزی انجام شده است. علی زاده و همکاران (۱۳۹۷)، جوامع درشت بی‌مهرگان کفزی را در رودخانه‌ی ساری سو (قرناوه) مورد بررسی قرار دادند. این مطالعه بین سال‌های ۱۳۹۵ تا ۱۳۹۶ در ۴ ایستگاه و به صورت فصلی انجام شد و در نهایت آب رودخانه‌ی ساری سو را در بالادست بدون آلودگی و در پایین دست دارای آلودگی زیاد ارزیابی کردند. نیکنام و دیگران (۱۳۹۸) در فاصله‌ی پائیز ۱۳۹۶ تا بهار ۱۳۹۷، در ۶ ایستگاه از بالادست تا پایین دست، کیفیت آب رودخانه‌ی زاینده رود را بر اساس شاخص‌های بی‌مهرگان کفزی مطالعه کردند و همه ایستگاه‌ها را در طبقه‌ی آلوده ارزیابی کردند. منصوری و همکاران (۱۳۹۹)، ۱۰ کیلومتر از مسیر رودخانه‌ی صمصامی (استان چهارمحال و بختیاری) را در ۷ ایستگاه طی یک سال با استفاده از ساختار جمعیت بی‌مهرگان کفزی مورد بررسی قرار دادند و مشخص شد در برخی از ایستگاه‌ها به‌علت ورود پساب‌های روستایی و پرورش ماهی، کیفیت آب رودخانه کاهش یافته است. عالیوند و چمنی (۱۳۹۹) کیفیت آب رودخانه‌ی زاینده رود از گردنه شهرکرد (۴۵ کیلومتر زاینده رود) به سمت

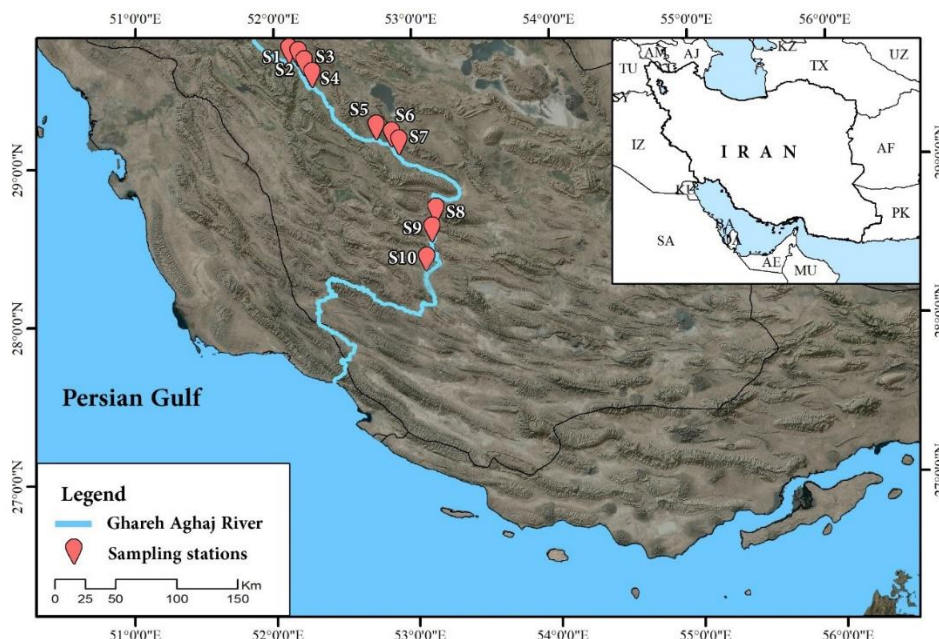
نکوباد را در ۶ ایستگاه نمونه برداری و در ۴ فصل سال ۱۳۹۶ بر مبنای بی‌مهرگان کفزی مورد مطالعه قرار دادند و همگی ایستگاه‌ها را در طبقه آلودگی زیاد تا شدید ارزیابی کردند.

در تحقیقی که در مورد منابع آلاینده رودخانهی قره آغاج به‌وسیله کریمی و همکاران (۱۳۸۶) انجام گرفته است، فعالیت‌های کشاورزی را با ۷۰ درصد، عمده‌ترین منبع آلاینده رودخانه اعلام کردند. فاضلاب‌های انسانی با ۱۹/۵ درصد، رواناب‌های سطحی با ۹/۶ درصد و فعالیت‌های صنعتی با ۰/۲۵ درصد در رده‌های بعدی قرار گرفتند. میرزایی محمودآبادی (۱۳۹۸)، پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب و آلودگی رسوب به فلزات سنگین را در رودخانهی قره آغاج در حوزه آبریز دشت خفر مورد بررسی قرار دارند و در مجموع، غلظت عناصر سنگین را در حد آلودگی ارزیابی نکردند. به جز این دو مطالعه، مطالعه‌ی چاپ شده‌ی دیگری در مورد این رودخانه انجام نشده است. با توجه به اهمیت این رودخانه به‌عنوان یکی از مهم‌ترین رودخانه‌های مرکزی ایران و تامین کننده‌ی آب آشامیدنی، کشاورزی و صنعتی این استان، هدف از این مطالعه، بررسی تغییرات بی‌مهرگان کفزی در ماه‌ها و ایستگاه‌های مختلف طی یک سال به‌منظور تعیین شرایط کیفی آب این اکوسیستم ارزشمند می‌باشد.

مواد و روش‌ها

انتخاب ایستگاه‌های نمونه‌برداری

رودخانهی قره آغاج یکی از مهم‌ترین رودخانه‌های استان فارس است که با طول ۷۷۰ کیلومتر از دشت ارژن شیراز سرچشمه می‌گیرد و نقش مهمی را در استان فارس ایفا می‌کند و طی مسیر خود مصارف کشاورزی و شرب متعدد دارد (رستگاری، ۱۳۹۲). امروزه عوامل تاثیرگذار متعددی این رودخانه را تحت تاثیر قرار داده است. در این تحقیق ۱۰ ایستگاه نمونه‌برداری در مسیر رودخانهی قره آغاج، در مسیری به طول تقریبی حداقل ۱۹۰ کیلومتر انتخاب (شکل ۱) و نمونه‌برداری از رسوب در ۸ مرحله به‌صورت هر ۴۵ روز یک بار از مهر ۹۷ تا شهریور ۹۸ انجام شد. البته در فروردین ماه ۱۳۹۸ به‌علت وقوع سیل در شیراز نمونه‌برداری امکان پذیر نشد. انتخاب ایستگاه‌های نمونه‌برداری بر اساس نزدیکی به محل تخلیه‌ی پساب مراکز صنعتی از جمله معادن شن و ماسه، مراکز پرورش ماهی و همین‌طور فاضلاب مراکز جمعیتی در مجاورت رودخانه صورت گرفت. البته در دسترس بودن و جاری بودن آب در رودخانه هم در انتخاب ایستگاه‌ها مدنظر قرار گرفت. در مجموع، ۸۰ نمونه رسوب جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید. موقعیت ایستگاه‌های نمونه‌برداری در جدول ۱ ارائه گردیده است.



شکل ۱: موقعیت رودخانه‌ی قره آغاج استان فارس در کشور و موقعیت ایستگاه‌های نمونه‌برداری

جدول ۱: نام و مختصات ایستگاه‌های نمونه‌برداری در رودخانه قره آغاج استان فارس

نام ایستگاه	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
۱ ورودی پرورش ماهی چهل چشمه	۵۲/۰۲۶۲۸۱	۲۹/۰۷۰۵۶۳۸
۲ خروجی پرورش ماهی چهل چشمه	۵۲/۰۲۶۵۹۱	۲۹/۰۷۰۴۵۶۲
۳ روبروی معدن شن	۵۲/۰۴۴۱۶۵	۲۹/۰۶۹۶۶۸۱
۴ جاده چهل چشمه مخابرات	۵۲/۰۵۲۰۱۷	۲۹/۰۶۹۴۳۹۹
۵ بین مخابرات و چهل چشمه	۵۲/۰۵۶۵۲۱	۲۹/۰۶۸۹۲۲۰
۶ خان زنیان	۵۲/۰۹۹۳۹۸	۲۹/۰۶۸۵۰۳۵
۷ کوار	۵۲/۰۶۹۷۵۳۶	۲۹/۰۱۸۱۵۱۸
۸ جاده روستای قلعه نو	۵۲/۰۶۹۷۳۹۵	۲۹/۰۱۸۷۲۶۸
۹ ریکان	۵۲/۰۹۶۸۶۱۴	۲۸/۰۵۷۶۹۹۲
۱۰ خروجی سد سلمان فارسی	۵۳/۰۱۲۶۲۶۹	۲۸/۰۴۶۴۰۰۵

به‌میزان حجم رسوب، به هر نمونه، محلول ۱ گرم در لیتر رزبنگال اضافه و ۴۵ دقیقه به این حالت باقی ماند. رزبنگال یک ماده حیاتی است و پروتوپلاسم سلول‌های موجودات با آن رنگ می‌گیرند. این کار برای سهولت در تشخیص و جداسازی نمونه‌ها از درون رسوب انجام می‌شود. سپس نمونه رسوب به یک پتری دیش منتقل شد و تمامی گروه‌های بی‌مهرگان کفزی موجود در هر نمونه توسط پنس و با استفاده از استریومیکروسکوپ یا لوپ، جداسازی، شناسایی و شمارش شدند. شناسایی‌ها با استفاده از استریومیکروسکوپ دوچشمی و کلیدهای شناسایی فون بنتیک (Kriska 2013) انجام گرفت.

بهمنظور ارزیابی زیستی کیفیت آب از شاخص‌های (BMWP (Paisley et al., 2007) و شاخص ASPT (Washington, 1984) و شانون وینر (Mason, 2002) استفاده گردید که از جمله پرکاربردترین شاخص‌هایی هستند که تاکنون معرفی شده‌اند.

مبنای امتیازدهی شاخص BMWP، بر مقاومت هر خانواده از بی‌مهرگان کفزی به آلودگی پایه‌ریزی شده است. به طوری که هر خانواده‌ای که کمترین مقاومت را در برابر آلودگی دارد، بیشترین امتیاز را به خود اختصاص می‌دهد. برای محاسبه شاخص BMWP، ابتدا خانواده‌های بی‌مهرگان کفزی موجود در هر ایستگاه یا ماه مشخص شد. سپس با استفاده از امتیازهای سیستم BMWP (Paisley et al., 2007)، به هر خانواده یک امتیاز تعلق گرفت. در نهایت امتیاز همه خانواده‌ها در هر ایستگاه یا ماه بسته به مبنای مطالعه، باهم جمع می‌شود تا امتیاز کل BMWP برای ایستگاه یا ماه مورد مطالعه به دست آید و با طبقه‌بندی BMWP در جدول ۲ مقایسه می‌گردد تا طبقه‌ی کیفی آب در هر ایستگاه و ماه مشخص گردد.

جدول ۲: طبقه‌بندی کیفیت آب بر اساس شاخص BMWP (Paisley et al., 2007) ASPT. (Washington, 1984) و شانون-وینر (Cai et al., 2002).

BMWP		ASPT		شانون-وینر	
نمره	کیفیت آب	نمره	کیفیت آب	نمره	کیفیت آب
<۲۵	کم	>۶	عدم وجود آلودگی آب	۵-۳	تمیز
۲۶-۵۰	متوسط	۵-۶	احتمال وجود آلودگی آلی جزئی	۳-۱	آلودگی متوسط
۵۱-۱۰۰	خوب	۴-۵	آلودگی آلی متوسط	۱>	آلودگی زیاد
۱۰۱-۱۵۰	خیلی خوب	<۴	آلودگی آلی شدید		
>۱۵۰	استثنایی				

از تقسیم مجموع امتیاز BMWP برای هر ایستگاه یا ماه بر فراوانی افراد شناسایی شده در آن‌ها، شاخص ASPT، محاسبه می‌شود. در واقع تفاوت شاخص ASPT با شاخص BMWP در لحاظ کردن فراوانی افراد در محاسبه‌ی امتیاز است. نتایج این شاخص در نهایت با طبقه‌بندی ASPT در جدول ۲ مقایسه می‌شود تا طبقه‌ی کیفی آب مشخص گردد.

شاخص شانون-وینر (Cai et al., 2002)، پرکاربردترین شاخص برای ارزیابی سلامت اکوسیستم‌های ساحلی و دریایی است (Luo et al., 2016). تنوع شانون-وینر به گونه‌ها وزن و فراوانی آن‌ها را هم مدنظر قرار می‌دهد. تنوع شانون بیشتر به غنای گونه‌ای وابسته است و کمتر تحت تاثیر گونه‌های غالب قرار می‌گیرد. این شاخص بر مبنای رابطه (۱) محاسبه می‌گردد.

$$H = - \sum_{i=1}^S (p_i)(\ln p_i) \quad \text{رابطه (۱)}$$

S = تعداد کل تاکسون در جامعه و P_i = فراوانی نسبی i امین تاکسون در جامعه

نتایج محاسبه‌ی شاخص شانون-وینر برای هر ایستگاه یا ماه با جدول ۲ مقایسه و طبقه‌ی کیفی آب مشخص می‌گردد.

نتایج و بحث

در این مطالعه، تنوع و تراکم بی‌مهرگان کفزی در ۱۰ ایستگاه رودخانه‌ی قره آغاج طی یک سال مورد مطالعه قرار گرفت که نتایج آن در این قسمت مورد بررسی قرار می‌گیرد. در مجموع ۲۰ خانواده از بی‌مهرگان ثبت گردید که از بین آن‌ها ایستگاه ۲ با ۱۲ خانواده و سپس ایستگاه ۱ با ۷ خانواده بیشترین فراوانی را به خود اختصاص دادند (جدول ۳).

جدول ۳: خانواده‌های شناسایی شده در منطقه مورد مطالعه به تفکیک ایستگاه

ایستگاه	شاخه	رده	راسته	خانواده
۱	Annelida	Clitellata	Rhynchobdellida	Glossiphoniidae
	Arthropoda	Malacostraca	Isopoda	Asellidae
	Arthropoda	Malacostraca	Amphipoda	Gammaridae
	Euarthropoda	Insecta	Diptera	Chironomidae
	Euarthropoda	Insecta	Ephemeroptera	Baetidae
	Mollusca	Gastropoda	Heterostropha	Valvatidae
۲	Mollusca	Gastropoda	Hygrophila	Planorbidae
	Annelida	Clitellata	Haplotaxida	Lumbricidae
	Annelida	Clitellata	Rhynchobdellida	Glossiphoniidae
	Arthropoda	Malacostraca	Isopoda	Asellidae
	Arthropoda	Malacostraca	Amphipoda	Gammaridae
	Euarthropoda	Insecta	diptera	Ceratopogonidae(pupa)
	Euarthropoda	Insecta	Diptera	Chironomidae
	Euarthropoda	Insecta	Ephemeroptera	Baetidae
	Euarthropoda	Insecta	Ephemeroptera	Caenidae
	Euarthropoda	Insecta	Hemiptera	Nepidae
	Mollusca	Gastropoda	Basommatophora	Physidae
	Mollusca	Gastropoda	Hygrophila	Planorbidae
Platyhelminthes	Rhabditophora	Tricladida	Planariidae	
Platyhelminthes	Turbellaria			
۳	Annelida	Clitellata	Rhynchobdellida	Glossiphoniidae
	Arthropoda	Insecta	Diptera	Stratiomyidae
	Arthropoda	Malacostraca	Amphipoda	Gammaridae
	Euarthropoda	Insecta	Ephemeroptera	Baetidae
	Euarthropoda	Insecta	Hemiptera	Nepidae
۴	Mollusca	Gastropoda	Hygrophila	Planorbidae
	Annelida	Clitellata	Rhynchobdellida	Glossiphoniidae
	Arthropoda	Insecta	Ephemeroptera	Siphonuridae
	Euarthropoda	Insecta	diptera	Ceratopogonidae(pupa)
	Euarthropoda	Insecta	Odonata	Gomphidae
۵	Mollusca	Gastropoda	Basommatophora	Physidae
	Annelida	Clitellata	(subclass)Hirudinea	
	Arthropoda	Insecta	Trichoptera	Limnephilidae
	Euarthropoda	Insecta	Ephemeroptera	caenidae
	Platyhelminthes	Turbellaria		
۶	Arthropoda	Malacostraca	Amphipoda	Gammaridae
	Euarthropoda	Insecta	diptera	Ceratopogonidae(pupa)
	Euarthropoda	Insecta	diptera	Culicidae
۷	Annelida	Clitellata	Rhynchobdellida	Glossiphoniidae
	Euarthropoda	Insecta	Ephemeroptera	
	Mollusca	Gastropoda	Basommatophora	Lymnaeidae
	Mollusca	Gastropoda	Basommatophora	Physidae
۸	Annelida	Clitellata		Oligochaeta
	Euarthropoda	Insecta	Ephemeroptera	Baetidae
	Mollusca	Gastropoda		
	Mollusca	Gastropoda	Basommatophora	Physidae
	Mollusca	Gastropoda	Gastropoda	Lymnaeidae
	Nematomorpha			
۹	Mollusca	Gastropoda	Gastropoda	Lymnaeidae
۱۰	Mollusca	Gastropoda	Hygrophila	Planorbidae
	Platyhelminthes	Turbellaria		

جدول ۴: نتایج شاخص BMWP در ایستگاهها و ماههای مختلف

ایستگاه	آذر	دی	اسفند	خرداد	تیر	شهریور	مهر
۱	۳	۱۵	۱۸	۱۲		۱۶	۵
۲	۱۶	۱۴	۱۶	۱۳	۶۳	۶	۶
۳			۱۸	۱۸		۱۲	۹
۴	۸		۳	۳		۶	۱۰
۵	۷					۷	
۶							۶
۷					۳	۳	۶
۸		۷	۷	۳		۳	۴
۹							۳
۱۰							۳

بر اساس نتایج شاخص BMWP و جدول راهنمای این شاخص (جداول شماره ۲ و ۴)، همه‌ی ماهها و ایستگاهها دارای کیفیت

پایین است و تنها ایستگاه ۲ در تیرماه دارای کیفیت خوب است.

جدول ۵: نتایج شاخص ASPT در ایستگاهها و ماههای مختلف

ایستگاه	آذر	دی	اسفند	خرداد	تیر	شهریور	مهر
۱	۰/۰۹	۱/۳۶	۰/۴۴	۰/۲۴		۰/۳۱	۰/۴۵
۲	۱/۶۰	۱/۷۵	۱/۲۳	۰/۶۵	۰/۶۳	۱/۰۰	۰/۴۳
۳			۱/۶۴	۲/۵۷		۰/۷۵	۰/۵۰
۴	۸/۰۰		۱/۰۰	۰/۶۰		۰/۳۸	۱۰/۰۰
۵	۷/۰۰					۰/۴۴	
۶							۱/۲۰
۷					۰/۲۷	۰/۲۱	۰/۲۱
۸		۱/۴۰	۱/۴۰	۱/۰۰		۰/۱۵	۰/۰۸
۹							۱/۰۰
۱۰							۱/۵۰

بر اساس نتایج شاخص ASPT و جدول راهنمای این شاخص (جداول شماره ۲ و ۵)، تمامی ایستگاهها در تمامی ماهها دارای

آلودگی شدید هستند و تنها در ایستگاه ۴ و ۵ در آذرماه و ایستگاه ۴ در مهرماه آلودگی گزارش نگردید.

جدول ۶: نتایج شاخص شانون وینر در ایستگاه‌ها و ماه‌های مختلف

ایستگاه	آذر	دی	اسفند	خرداد	تیر	شهریور	مهر
۱		۱/۲۴	۰/۷۳	۰/۴۶		۱/۲۲	۰/۳۰
۲	۱/۴۷	۰/۷۴	۱/۲۷	۰/۳۹	۲/۴۸		۰/۹۹
۳			۱/۱۶	۱/۱۵		۰/۹۰	۰/۷۸
۴			۰/۶۴	۰/۶۷		۰/۶۶	
۵							۱/۱۰
۶			۰/۴۵	۰/۳۸			
۷						۰/۴۱	۰/۴۶
۸		۰/۵۰	۰/۶۷				۱/۱۳
۹							
۱۰							۰/۶۹

بر اساس نتایج شاخص شانون وینر و جدول راهنمای این شاخص (جدول شماره ۲ و ۶)، تمامی ایستگاه‌ها در تمامی ماه‌ها دارای آلودگی آلی متوسط تا زیاد هستند. تفاوت و برتری شاخص ASPT نسبت به BMWP، در اعمال کردن تاثیر اندازه‌ی نمونه و به عبارتی فراوانی افراد هر تاکسون است که در مجموع باعث می‌شود در ارزیابی کیفیت آب رودخانه شاخص قابل اعتمادتری نسبت به شاخص BMWP باشد (پیرعلی و ابراهیمی، ۱۳۹۵). شاخص شانون- وینر نیز از رایج‌ترین شاخص‌های تنوع زیستی است و بر مبنای آن تمامی ایستگاه‌ها در تمامی ماه‌ها، دارای آلودگی آلی متوسط تا زیاد هستند.

بدین ترتیب، کیفیت آب رودخانه‌ی قره آغاج به‌طور کلی پایین است و در طبقه‌ی آلودگی متوسط تا شدید قرار می‌گیرد. علت این مسئله را می‌توان تخلیه‌ی فاضلاب روستاهای مجاور مانند فاضلاب کوار و خان زنیان و چهل چشمه هم‌چنین پساب معدن شن و ماسه و به‌خصوص زهاب زمین‌های کشاورزی گسترده در اطراف رودخانه دانست. از طرفی احداث سد سلمان فارسی در شهرستان قیر و کارزین، همچنین احداث سد کوار و برداشت‌های غیرمجاز از طریق حفر چاه‌های غیرمجاز، اکوسیستم این رودخانه را به‌شدت تهدید می‌کند.

در ایستگاه ۱۰ که در خروجی سد سلمان فارسی قرار دارد، تنوع و تراکم بی‌مهرگان کفزی کاهش محسوسی را نشان می‌دهد و به تنها یک خانواده می‌رسد که به تبع آن شاخص‌های زیستی نیز کاهش می‌یابد. اما بر اساس نظر (Lessard & Hayes, 2003)، دستکاری زیستگاه و تغییرات ایجاد شده به دنبال احداث سد در این مسئله موثر هستند و دلیل آن را نمی‌توان به پاسخ فون کفزیان منطقه به آلودگی نسبت داد.

به‌علت وقوع سیل در فروردین ۱۳۹۸ در استان فارس شرایط اکوسیستم تغییر کرد. این اتفاق نمونه‌برداری در فروردین ماه را غیرممکن ساخت و علاوه بر این، عدم شناسایی بی‌مهرگان کفزی و یا کاهش قابل ملاحظه تعداد آن‌ها در نمونه‌برداری‌های سال ۱۳۹۸ در کلیه‌ی ایستگاه‌ها را می‌توان به سیلابی بودن رودخانه نسبت داد.

جواهری و همکاران (۱۳۹۵) به شناسایی ساختار جمعیت کفزیان رودخانه صالح آباد استان ایلام پرداختند. در این تحقیق گروه‌های متنوعی از کفزیان شامل انواع حشرات آبی، زالوها، کم‌تاران و سخت‌پوستان شناسایی شدند که این تنوع می‌تواند دلیلی بر کیفیت مناسب رودخانه و سلامت بیولوژیک و اکولوژیک آن باشد. داعی نژاد و همکاران (۱۳۹۶) در بررسی تنوع زیستی کفزیان تالاب شادگان تغییر در تراکم و فراوانی بی‌مهرگان کفزی در طی زمان را حاکی از ایجاد تغییر در شرایط تالاب به علت دخل و تصرفات و همچنین تغییرات آب و هوایی دانستند. جعفرزاده و همکاران (۱۳۹۸) به بررسی رودخانه بالخلو به عنوان یکی از سرشاخه‌های اصلی رود قره سو اردبیل پرداختند و در نهایت بر اساس پارامترهای فیزیکی و شیمیایی و شاخص‌های زیستی کیفیت آب رودخانه‌ی بالخلو به سه ناحیه آلودگی کم، متوسط و بالا تقسیم‌بندی گردید. ویسی و همکاران (۱۳۹۸) به بررسی تاثیر مزارع پرورش ماهی پالنگان بر جوامع بزرگ بی‌مهرگان کفزی پرداختند. نتایج نشان داد بیش‌ترین فراوانی ماکروبنتوزها متعلق به ایستگاه‌های بالا دست مزارع پرورش ماهی و کم‌ترین فراوانی متعلق به ایستگاه‌های بعد از مزارع می‌باشد. شریفی نیا و همکاران (۱۳۹۱) نیز پساب مراکز پرورش ماهی و کارخانه چوب و کاغذ را عامل کاهش کیفیت آب رودخانه‌ی تجن اعلام کردند که در نتیجه آن، تنوع و درصد فراوانی خانواده‌های حساس به آلودگی کاهش و گروه‌های مقاوم افزایش یافته است.

نتیجه گیری کلی

در مجموع ۲۰ خانواده از بی‌مهرگان در کلیه‌ی ایستگاه‌ها ثبت گردید که از بین آن‌ها ایستگاه ۲ با ۱۲ خانواده و ایستگاه ۱ با ۷ خانواده بیش‌ترین فراوانی را به خود اختصاص دادند. از بین خانواده‌های شناسایی شده، Gammaridae با ۱۷ مورد ثبت دارای بیش‌ترین ثبت در بین سایر خانواده‌ها می‌باشد. بر اساس نتایج، کیفیت آب رودخانه‌ی قره آغاج در طبقه‌ی آلودگی متوسط تا شدید قرار می‌گیرد. ایستگاه‌های مورد مطالعه از میانه‌های رودخانه به سمت خلیج فارس (ایستگاه‌های ۷ تا ۱۰) در شرایط آلودگی شدید قرار دارند. این ایستگاه‌ها به وسیله زمین‌های کشاورزی احاطه شده‌اند که آفت‌کش‌ها و علف‌کش‌ها را در مقیاس گسترده استفاده می‌کنند و در نتیجه‌ی آن زهاب کشاورزی حاوی انواع آلاینده‌ها به رودخانه سرازیر می‌شود. علاوه بر این در محدوده کوار (ایستگاه ۷)، پساب معادن شن و ماسه به داخل رودخانه سرازیر می‌شود که باعث می‌شود اکوسیستم دریاچه به شدت دگرگون گردد. شرایط حاکم بر رودخانه‌ی قره آغاج استان فارس به دلیل تخلیه انواع پساب و زهاب کشاورزی و فاضلاب خانگی و به خصوص پساب معادن شن و ماسه، در وضعیت نامناسبی قرار گرفته است و این در حالی است که این رودخانه به عنوان یکی از مهم‌ترین رودخانه‌های مرکزی ایران، تامین کننده‌ی آب آشامیدنی، کشاورزی و آب مورد نیاز صنایع استان است. علاوه بر این، خشکسالی‌های پی در پی فصلی و همچنین سیلاب بهار ۱۳۹۸، فون کفزیان منطقه را به شدت دستخوش تغییر کرده و این اکوسیستم را با خطر جدی مواجه ساخته است. با توجه به اینکه این تحقیق، اولین مطالعه‌ی جامع صورت گرفته در این رودخانه

است، مطالعات تکمیلی، بهبود مدیریت و پایش مداوم رودخانه‌ی قره آجاج به طور جدی به تصمیم‌گیران و مدیران منطقه پیشنهاد می‌گردد.

منابع

- پیرعلی زفره ایی، ار. و ابراهیمی، ع. (۱۳۹۲). معرفی شاخصهای کیفی در ارزیابی اکوسیستمهای آبی. اولین همایش ملی برنامه ریزی، حفاظت از محیط زیست و توسعه پایدار. دانشکده مفتح همدان.
- پیرعلی زفره ایی، ار. و ابراهیمی، ع. (۱۳۹۵). معرفی چند شاخص زیستی مناسب برای ارزیابی کیفیت آب رودخانه، دو فصلنامه آب و توسعه پایدار. ۳۲-۲۵: ۳(۲).
- رستگاری، ه. (۱۳۹۲). شبیه سازی نمک های محلول رودخانه‌ی قره آجاج با استفاده از مدل MIKE11. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه شهید چمران اهواز.
- عالیوند دارانی، ز. و چمنی، ع. (۱۳۹۹). بررسی کیفیت آب رودخانه‌ی زاینده رود بر اساس تغییرات تنوع و تراکم ماکروبنوتوزها در سال ۱۳۹۶. زیست شناسی جانوری تجربی. ۹۷-۱۰۷: ۸(۴).
- علی زاده، م.، حسینی، ع.، جعفریان، ح.، قربانی، ر.، قلی زاده، م. (۱۳۹۷). ارزیابی شاخص های بوم شناختی و زیستی جوامع درشت بی مهرگان کفزی در رودخانه‌ی ساری سو (قرناوه). دو فصلنامه علوم آبی پروری. ۸۸-۷۵: ۶(۲).
- شریفی نیا، م.، ایمانپور نمین، ج.، بزرگی ماکرانی، ا. (۱۳۹۱). ارزیابی بوم شناختی رودخانه تجن با استفاده از گروه‌های تغذیه ای بزرگ بی مهرگان کفزی و شاخص های زیستی. بوم شناسی کاربردی. ۹۵-۸۰: ۱(۱).
- کریمی جشنی، ا.، پورکریمی، ع.، طالب بیدختی، ن. (۱۳۸۶). شناسایی منابع آلاینده رودخانه‌ی قره آجاج، سومین کنگره ملی مهندسی عمران، تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده فنی مهندسی عمران.
- منصوری، پ. فتح الهی، م و قانع، ا. (۱۳۹۹). ارزیابی زیستی رودخانه‌ی صمصامی (استان چهارمحال و بختیاری) با استفاده از ساختار جمعیت ماکروبنوتوزها. فصلنامه علوم و تکنولوژی محیط زیست. انتشار آنلاین از فروردین ۱۳۹۹.
- میرزایی محمودآبادی، ر. (۱۳۹۸). ارزیابی کیفیت آب، آلودگی رسوبات رودخانه‌ی قره آجاج به فلزات سنگین در حوزه آبریز دشت خفر، استان فارس. مطالعات علوم محیط زیست. ۱۷۰۶-۱۶۹۶: ۴(۳).
- نیکنام، ا.، چمنی، ع.، نوروزی مبارکه، م. ۱۳۹۸. بررسی کیفیت آب رودخانه‌ی زاینده رود با استفاده از شاخصهای بی مهرگان کفزی در فاصله پائیز ۹۶ تا بهار ۹۷. زیست شناسی کاربردی. ۱۷۵-۱۶۴: ۳۲(۴).

Breine NT, De Backer A, Van Colen C, Moens T, Hostens K, Van Hoey G (2018) Structural and functional diversity of soft-bottom macrobenthic communities in the Southern North Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 214:173-184

Cai L, Ma L, Gao Y, Zheng T, Lin P (2002) Analysis on assessing criterion for polluted situation using species diversity index of marine macrofauna. *Journal of Xiamen University Natural science*, 41:641-646

Darvishi G, Kootenaei FG, Ramezani M, Lotfi E, Asgharnia H (2016) Comparative investigation of river water quality by OWQI, NSFQI and Wilcox indexes (Case study: The Talar River-Iran). *Archives of Environmental Protection*, 42:41-48

- Esmaili F, Khalfeh Nilsaz M, Sabzalizade S, Jahani N (2009) Study on the Ecological Status of the Shadegan by Bentic Fone. *Marine Biology*, 1:67-81
- Fathi E, Zamani-Ahmadm Mahmoodi R, Zare-Bidaki R (2018) Water quality evaluation using water quality index and multivariate methods, Beheshtabad River, Iran. *Applied Water Science*, 8:210
- Kriska G (2013) *Freshwater invertebrates in Central Europe: a Field guide*. Springer Science & Business Media.
- Lessard JL, Hayes DB (2003) Effects of elevated water temperature on fish and macroinvertebrate communities below small dams. *River research and applications*, 19:721-732
- Luo X, Sun K, Yang J, Song W, Cui W (2016) A comparison of the applicability of the Shannon-Wiener index, AMBI and M-AMBI indices for assessing benthic habitat health in the Huanghe (Yellow River) Estuary and adjacent areas. *Acta Oceanologica Sinica*, 35:50-58
- Mason CF (2002) *Biology of freshwater pollution*. Pearson Education ,
- Noyel V, Desai D, Anil A (2020) Macrobenthic diversity and community structure at Cochin Port, an estuarine habitat along the southwest coast of India. *Regional Studies in Marine Science*, 10:1075
- Paisley M, Trigg D, Walley W Revision and testing of BMWP scores. In: Final report SNIFFER project WFD72a . Scotland and Northern Ireland Forum for Environmental Research , Edinburgh, 2007 .
- Sánchez E, Colmenarejo MF, Vicente J, Rubio A, García MG, Travieso L, Borja R (2007) Use of the water quality index and dissolved oxygen deficit as simple indicators of watersheds pollution. *Ecological Indicators*, 7:315-328
- Varnosfaderany MN, Ebrahimi E, Mirghaffary N, Safyanian A (2010) Biological assessment of the Zayandeh Rud River, Iran, using benthic macroinvertebrates. *Limnologica-Ecology and Management of Inland Waters*, 40:226-232
- Washington H (1984) Diversity, biotic and similarity indices: a review with special relevance to aquatic ecosystems. *Water Research*, 18:653-694

Evaluatation of water quality of Ghareh-Aghaj River(Fars province ,Iran) based on macrobenthos indices

H. Shahradiania¹, A. Chamani^{2*}, M. Zamanpoore³

Received: 2020.3.1

Accepted: 2020.7.26

Abstract

Macrobenthos can serve as a bioindicator for natural or anthropogenic environmental changes. Ghareh-Aghaj River is one of the most important rivers in Fars province that supply potable, agricultural and industrial water. This study aimed to investigate the changes of macrobenthos in different months and stations for one year from September 2018 to August 2019 to determine the water quality of Ghareh-Aghaj River in Fars province. For this purpose, 10 stations were selected from 190 kilometers of river length and sediment samples collected once every 45 days. Identifications were done using binocular stereomicroscope and benthic identification keys. BMWP, ASPT and Shannon Wiener indices were used to evaluate water quality. From the midstream zone to the Persian Gulf (stations 7 to 10) has severe pollution. These stations are surrounded by extensive farmlands that use pesticides and herbicides in a large scale, resulting agricultural runoff containing a variety of contaminants flows into the river. In addition, in the downstream stations, especially in Kavar (Station 7), the effluent of sand mines flows into the river, which has caused a severe change in the ecosystem of the lake. According to the results, the water quality of Ghareh-Aghaj River is relatively bad and placed in the category of moderate to severe polluted.

Keywords: Ghareh-Aghaj River, Macrobenthos, Water quality

1-Ph.D Student in Biodiversity, Environmental science Department, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

2-Assistant Professor, Environmental science Department, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

*(Corresponding Author: atefehchamani@yahoo.com)

3-Assistant Professor, Department of Hydrobiology, Agricultural Research Education and extension organization, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education center, Shiraz.

ویژگی‌های ریختی فلس در ده گونه از کفال ماهیان ایران

نسیبه فیروزی^۱، جواد قاسم زاده^۲، محمد صادق علوی یگانه^{۳*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱/۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۵/۵

چکیده

کفال ماهیان از گونه‌های ارزشمند تجاری هستند که در آب‌های شمال و جنوب کشور زیست می‌کنند و از بازارپسندی خوبی برخوردارند. شناخت گونه‌های مختلف کفال ماهیان دارای اهمیتی حیاتی در حفاظت از آنهاست. در این تحقیق صفات ریختی مرتبط با فلس به طور مقایسه‌ای در ۱۰ گونه از کفال ماهیان ایران مورد بررسی قرار گرفته است. نمونه‌برداری طی دو سال از صیدگاه‌های چهار استان ساحلی جنوبی و دو استان ساحلی شمالی کشور جمع‌آوری شدند. شناسایی گونه‌ها با استفاده از کلیدهای شناسایی معتبر موجود انجام شد. فلس‌ها از قسمت پهلوی سمت چپ حداقل ۵ نمونه از هر گونه جدا و پس از شستشو با استفاده از استریومیکروسکوپ مجهز به دوربین عکسبرداری شدند. نتایج نشان داد فلس‌ها در گونه‌های شناسایی شده با استفاده از ویژگی‌های توصیفی و اندازه‌شی شامل شکل ظاهری، تعداد شعاع‌های فلس، موقعیت کانون، ساختارهای دندان‌های و زبانه‌های شعاعی، مساحت فلس، طول فلس، عرض فلس، فاصله بین کانون تا حاشیه بالایی و پایینی فلس قابل تمایز از یکدیگر می‌باشند. کوچکتر بودن معنی دار ($p \leq 0.05$) مساحت و طول فلس در دو گونه کفال ماهی دریای خزر یعنی کفال طلایی *Chelon aurata* و کفال پوزه باریک *Chelon saliens*، و همچنین طول بزرگتر معنی دار ($p \leq 0.05$) فلس در گونه‌های *Ellochelon vaigiensis*، *Planiliza macrolepis* و *Planiliza subviridis* از جمله اختلافات بارز در مقایسه صورت گرفته بود.

واژه‌های کلیدی: خلیج فارس، ریخت شناسی فلس، کفال ماهیان.

مقدمه

کفال ماهیان از جمله ذخایر مهم شیلاتی هستند که در ایران در هر سه حوزه‌ی شمال، جنوب و آب‌های داخلی کشور صید می‌شوند. این خانواده از جنبه‌های بوم‌شناختی و فیزیولوژیک مورد توجه محققین هستند، زیرا واجد قدرت سازگاری به محدوده‌ی وسیعی از تغییرات دما، شوری و شرایط تغذیه‌ای می‌باشند. از گذشته تاکنون مطالعات ریخت‌شناختی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

۲- استادیار، گروه شیلات، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

۳- استادیار، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، ایران

* (نویسنده مسئول: malavi@modares.ac.ir)

در زیست‌شناسی و شناسایی ماهیان از اهمیت به‌سزایی برخوردار بوده و کاربرد وسیعی در بررسی جمعیت‌ها و مطالعات آرایه‌شناختی داشته است (Coad, 2017). انعطاف ریختی در ماهیان این اجازه را به آن‌ها می‌دهد تا نسبت به تغییرات محیطی پاسخ‌های متناسب فیزیولوژیکی و رفتاری بروز دهند. این پاسخ‌ها منجر به تغییرات ریختی، تولید مثلی و بقا در آن‌ها می‌شوند و به این وسیله آثار تغییرات محیطی را به حداقل می‌رسانند (Kelly *et al.*, 2017).

ویژگی‌های فلس می‌تواند به‌عنوان ابزاری ساده اما مؤثر برای مطالعه‌ی شرایط زیستی ماهی به‌کار رود. فلس‌ها بیانگر تغییرات فیزیولوژیک و منعکس‌کننده‌ی ویژگی‌های بوم‌شناختی و زیستگاهی ماهیان نیز هستند. برای تفکیک گونه‌ها و جمعیت‌های ماهیان از روش‌های گوناگونی مبتنی بر تحلیل شکل فلس، استفاده شده است (Bräger *et al.*, 2017). علاوه بر این در بررسی الگوی رشد، مطالعه تاریخچه زندگی، آلودگی آب و سلامت ماهی و همچنین الگوی مهاجرت ماهی با توجه به ویژگی‌های فلس اطلاعات مفیدی قابل دستیابی می‌باشد (Ibáñez *et al.*, 2017).

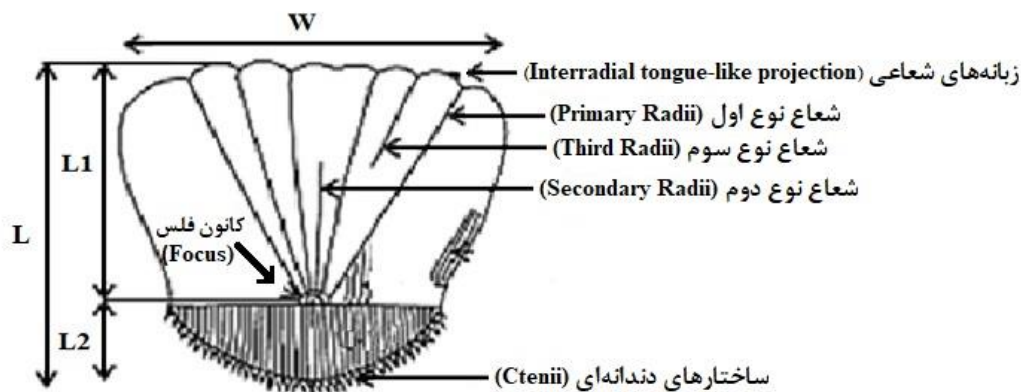
بیشتر گونه‌های خانواده کفال ماهیان از شباهت بالایی به یکدیگر برخوردار هستند که یک عامل محدود‌کننده در شناسایی کفال ماهیان است (González-Castro & Ghasemzadeh, 2016; Kouhee *et al.*, 2018 Durand *et al.*, 2012). صفاتی همچون فرم پوزه و استخوان‌های فکی، تعداد فلس بر روی خط جانبی، تعداد و اندازه‌ی زوائد باب‌المعده‌ای از مهمترین صفات مورد استفاده در شناسایی گونه‌های کفال ماهیان محسوب می‌شوند. در این تحقیق کارایی ویژگی‌های ریختی فلس به عنوان صفات آرایه‌شناسی، برای شناسایی گونه‌های تجاری کفال ماهیان در دریای خزر، خلیج فارس و دریای عمان مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های کفال ماهیان با جمع‌آوری نمونه‌ها از بازارهای محلی و صیدگاه‌های واقع در استان‌های بوشهر (بوشهر؛ *Mugil cephalus*)، خوزستان (خرمشهر و آبادان؛ *Planiliza abu*)، هرمزگان (بندرعباس؛ *Planiliza klunzingeri*) و سیستان و بلوچستان (سواحل چابهار و کنارک؛ *Crenimugil seheli*؛ *Ellochelon vaigiensis*؛ *Osteomugil cunesius*؛ *Planiliza*؛ *Planiliza subviridis* و *macrolepis*) در جنوب کشور و مازندران (سواحل شهر نور؛ *Chelon aurata*) و گیلان (سواحل شهر انزلی؛ *Chelon aurata* و *Chelon saliens*) در شمال طی سال‌های ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۶ انجام گرفت. شناسایی ریختی نمونه‌ها با استفاده از کلیدهای شناسایی و منابع معتبر موجود انجام شد (Fischer & Bianchi, 1984; Harrison, 2002; González-Castro & Ghasemzadeh, 2016; Coad, 2017). در نتیجه دو گونه شامل *Chelon aurata* و *Chelon saliens* از دریای خزر و هشت گونه شامل *Planiliza klunzingeri*، *Planiliza macrolepis*، *Planiliza subviridis*، *Planiliza abu*، *Mugil cephalus*، *Osteomugil cunesius*، *Ellochelon vaigiensis*، *Crenimugil seheli*، *Planiliza* از آب‌های ساحلی خلیج فارس و عمان

شناسایی و جمع آوری گردید. ۵ نمونه ماهی از هر گونه برای مطالعه‌ی ویژگی‌های ریختی فلس انتخاب گردید. طول استاندارد نمونه‌ها با استفاده از ریزسنج عقربه‌ای با دقت یک دهم میلی‌متر اندازه‌گیری شد. حدود ۱۰ الی ۱۵ عدد فلس از سمت چپ و پهلوی نمونه‌ها (بین منشا باله پشتی و خط جانبی) جدا و در محلول KOH با غلظت ۵٪ به مدت سه الی پنج دقیقه شست و شو و تمیز شدند. فلس‌های شستشو شده برای عکسبرداری بین لام و لامل قرار داده شدند (Poulet et al., 2005).

فلس‌ها با توجه به اندازه، با استفاده از استریومیکروسکوپ مجهز به دوربین عکسبرداری شدند. صفات توصیفی مانند شکل ظاهری، تعداد شعاع‌های فلس، موقعیت کانون (Focus) و ساختارهای دندانهای (Ctenii) و زبانه‌های شعاعی (Interradial tongue-like projection) مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین با استفاده از نرم افزار Image Tools Ver. 3.6 اندازه‌گیری‌های روی هر فلس شامل مساحت فلس، طول فلس، عرض فلس، فاصله بین نقطه مرکزی (Focus) تا حاشیه بالایی فلس (L1)، فاصله بین نقطه مرکزی تا حاشیه پایینی فلس (L2) انجام شد (تصویر ۱). برای حذف اثر اندازه ماهی، هر یک از ابعاد اندازه‌گیری شده به نسبت طول استاندارد ماهی مورد مقایسه قرار گرفت. از آنالیز واریانس یک طرفه و نرم افزار SPSS Ver. 16 برای مقایسه‌ی میانگین معیارهای محاسبه شده در هر گونه، و بررسی معنی‌دار بودن اختلافها استفاده گردید. در ساختار فلس کفال ماهیان ۳ نوع شعاع (Radii) با توجه به محل قرارگیری و امتداد مورد بررسی قرار گرفت. شعاع نوع اول (Primary Radii)؛ از Focus تا حاشیه فلس امتداد می‌یابد، شعاع نوع دوم (Secondary Radii)؛ از Focus شروع اما به حاشیه فلس منتهی نمی‌شود و شعاع نوع سوم (Third Radii) از نیمه فلس شروع و تا قبل از حاشیه گسترش دارد (تصویر ۱).



شکل ۱: نمای عمومی از ابعاد و صفات مورد بررسی در فلس ۱۰ گونه از کفال ماهیان ایران

نتایج

فلس‌های ۱۰ گونه شناسایی شده از کفال‌ماهیان در تصویر ۲ و همچنین نتایج اندازه‌گیری صفت اندازه‌گیری نسبی روی فلس‌ها به صورت مقایسه‌ای در جدول ۱ و صفت‌های تشریحی و شمارشی در جدول ۲ ارائه شده است. از نظر ویژگی‌های توصیفی، در گونه‌ی کفال طلایی *Chelon aurata* (دریای خزر)، عموماً شش شعاع نوع اول و دو شعاع نوع سوم مشاهده شد و شعاع نوع دوم مشاهده نشد. زبانه‌های شعاعی در بالای فلس با شکاف‌های بسیار کم عمق از هم جدا می‌شدند به طوری که لبه‌ی بالایی فلس تقریباً به صورت صاف دیده شد. کانون فلس در قسمت میانی قرار داشت. زوائد دندان‌های در حاشیه‌ی پایینی در یک ردیف و به صورت ظریف بود. در کفال پوزه باریک، *Chelon saliens* (دریای خزر)، تعداد شعاع نوع اول به طور میانگین شش، شعاع نوع دوم یک عدد و شعاع نوع سوم دو عدد مشاهده شد. زبانه‌های شعاعی به شکل صاف و شکاف‌های ظریفی در حدفاصل آنها دیده شدند. کانون فلس در قسمت میانی قرار داشت. برای گونه *Crenimugil seheli* تنها ۷ عدد شعاع نوع اول مشاهده شد. زوائد دندان‌های حاشیه‌ی پایینی دولایه و زبانه‌های شعاعی به شکل محدب بود. بخش بالایی فلس به شکل محدب و واجد یک شیار میانی بود. کانون فلس در موقعیتی پایین‌تر از بخش میانی فلس قرار داشت. فلس گونه *Ellochelon vaigiensis* تنها واجد ۵ شعاع نوع اول بود. موقعیت کانون فلس پایین‌تر از بخش میانی فلس بود. زبانه‌های شعاعی کاملاً محدب بودند و شکاف‌های عمیق در فواصل بینابینی آنها وجود داشت. زوائد دندان‌های در حاشیه پایینی فلس بسیار ظریف بود. در گونه کفال خاکستری *Mugil cephalus*، به‌طور میانگین ۹ شعاع نوع اول و یک شعاع نوع سوم مشاهده شد. شیارهای بسیار ظریفی حدفاصل زبانه‌های شعاعی مشاهده شد و عملاً حاشیه بالایی شکلی صاف داشت. کانون فلس پایین‌تر از بخش میانی فلس قرار گرفته است. زوائد دندان‌های حاشیه پایینی بسیار ظریف بودند. فلس در گونه *Osteomugil cunesius* دارای شش شعاع نوع اول و فاقد شعاع نوع دوم و سوم بود. زوائد دندان‌های حاشیه پایینی دو لایه داشتند. زبانه‌های شعاعی با شکاف‌های عمیق از یکدیگر جدا و حاشیه بالایی فلس دارای برجستگی و فرورفتگی‌های واضحی بودند. کانون فلس در موقعیت میانی فلس قرار داشت. فلس گونه *Planiliza abu* عموماً دارای پنج شعاع نوع اول و فاقد شعاع‌های نوع دوم و سوم بود. زوائد دندان‌های در حاشیه پایینی فلس به صورت چند ردیفه دیده شدند و زبانه‌های شعاعی حاشیه بالایی با شکاف‌های کم عمق از یکدیگر جدا بودند و حاشیه بالایی به صورت صاف دیده شد. کانون فلس در موقعیتی پایین‌تر از بخش میانی فلس قرار داشت. متوسط تعداد شعاع نوع اول در گونه *Planiliza* در بخش میانی فلس قرار داشت. فلس‌ها در گونه *Planiliza subviridis* به طور میانگین دارای ۵ شعاع نوع اول، یک شعاع نوع سوم و فاقد شعاع نوع دوم بودند. زوائد دندان‌های در حاشیه پایینی فلس واضح و دو ردیفه بود. زبانه‌های شعاعی با شکاف‌های کم عمق از یکدیگر جدا بودند و حاشیه بالایی فلس به شکل محدب دیده شد. کانون فلس پایین‌تر از بخش میانی فلس قرار داشت.

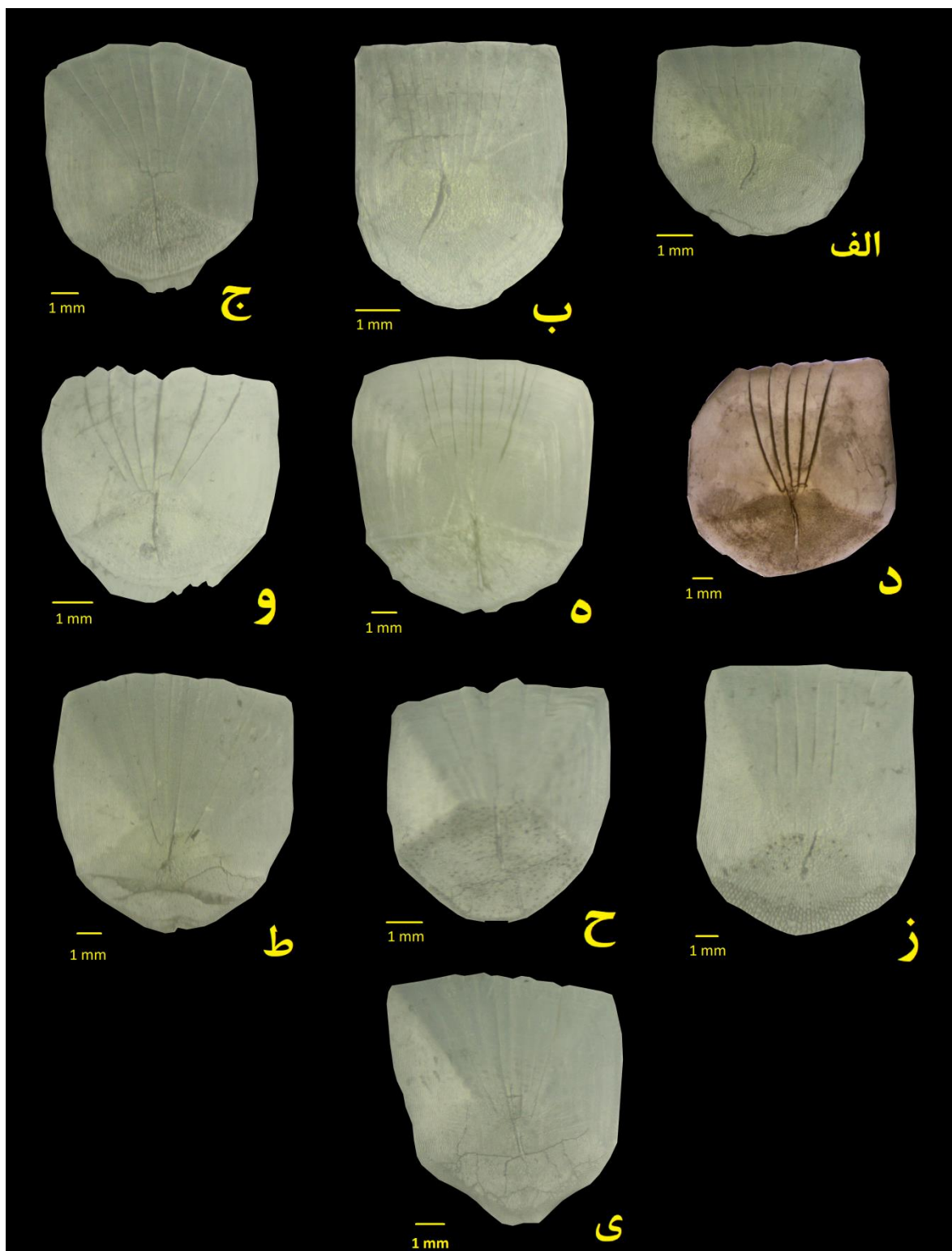
با توجه به نتایج صفت مساحت فلس نسبت به طول استاندارد (AREA/SL)، بزرگترین فلس‌ها در مقایسه بین ۱۰ گونه، با اختلافی معنی‌دار در دو گونه *E. vaigensis* و *P. macrolepis* مشاهده شد ($p \leq 0.05$) و کوچکترین فلس‌ها با اختلافی معنی‌دار در گونه‌های دریای خزر یعنی *C. saliens* و *C. aurata* ارزیابی شد ($p \leq 0.05$). با اختلاف معنی‌داری بیشترین میزان عرض فلس (W) در گونه *P. macrolepis* و کم‌عرض‌ترین فلس‌ها در گونه کفال پوزه باریک *C. saliens* مشاهده شد. طول‌ترین فلس‌ها نیز با بیشترین مقادیر در سه گونه *E. vaigensis*، *P. macrolepis* و *P. subviridis* مشاهده شد در حالی که دو گونه ساکن دریای خزر *C. saliens* و *C. aurata* از کمترین طول برخوردار بودند. نتایج در ارتباط با طول L1 نسبت به طول فلس L، بیانگر وجود بیشترین مقادیر با اختلافی معنی‌دار در گونه‌های *E. vaigensis*، *M. cephalus* و *P. abu* نسبت به سایر گونه‌ها بود. لذا نتایج نشان می‌دهد در گونه‌های فوق ارتفاع فلس در قسمت بالایی کانون فلس بیشتر از سایر گونه‌ها می‌باشد. در ارتباط با طول L2 نسبت به طول فلس L، به طور مشابه کمترین مقادیر در سه گونه *E. vaigensis*، *M. cephalus* و *P. abu* مشاهده شد که بیانگر ارتفاع کمتر فلس در قسمت پایین نقطه کانونی بود. در ارتباط با نسبت عرض به ارتفاع فلس کمترین مقادیر به طور معنی‌دار در دو گونه *C. seheli* و *E. vaigensis* مشاهده شد، در حالی که بیشترین مقدار با اختلافی معنی‌دار به گونه *C. aurata* تعلق داشت. در بین گونه‌های جنس *Planiliza* کانون فلس تنها در گونه *P. klunzingeri* در بخش میانی قرار داشت همچنین شعاع نوع دوم نیز تنها در فلس‌های این گونه مشاهده شد.

جدول ۱: صفات مورد بررسی ریختی فلس ۱۰ گونه از خانواده کفال ماهیان متعلق به آب‌های ساحلی ایران

صفات						گونه
W/L	L ₂ /L	L ₁ /L	L/SL	W/SL	AREA/SL	
۱/۰۷ ^e	۰/۴۸ ^{de}	۰/۵۱ ^{bc}	۳/۱۸ ^a	۳/۴b ^c	۰/۱۶ ^a	<i>Chelon aurata</i>
۰/۸۶ ^{abc}	۰/۵۳ ^f	۰/۴۶ ^a	۳/۰۳ ^a	۲/۶۴ ^a	۰/۱۳ ^a	<i>Chelon saliens</i>
۰/۷۸ ^a	۰/۴۰ ^b	۰/۵۹ ^d	۳/۹۷ ^b	۳/۰۹ ^{ab}	۰/۲۳ ^b	<i>Crenimugil seheli</i>
۰/۷۷ ^a	۰/۳۶ ^a	۰/۶۳ ^e	۶/۱ ^e	۴/۷۱ ^d	۰/۴۴ ^e	<i>Ellochelon vaigiensis</i>
۰/۸۹ ^{bc}	۰/۳۶ ^a	۰/۶۳ ^e	۳/۷۶ ^b	۴/۳۴ ^{bc}	۰/۳۱ ^c	<i>Mugil cephalus</i>
۰/۹۹ ^{de}	۰/۴۵ ^{cd}	۰/۵۵ ^c	۴/۸۷ ^d	۴/۸۴ ^d	۰/۲۲ ^b	<i>Osteomugil cunesius</i>
۰/۷۹ ^{ab}	۰/۳۷ ^a	۰/۶۳ ^e	۴/۵ ^c	۳/۵۵ ^{bc}	۰/۲۲ ^b	<i>Planiliza abu</i>
۰/۸۳ ^{ab}	۰/۵۰ ^{ef}	۰/۴۹ ^{ab}	۴/۶۳ ^{cd}	۳/۸۹ ^c	۰/۲۴ ^b	<i>Planiliza klunzingeri</i>
۰/۹۳ ^{cd}	۰/۴۶ ^{cde}	۰/۵۲ ^{bc}	۶/۰۹ ^e	۵/۷۲ ^e	۰/۴۵ ^e	<i>Planiliza macrolepis</i>
۰/۸۵ ^{abc}	۰/۴۴ ^{bc}	۰/۵۵ ^c	۵/۸۴ ^e	۵/۱۰۰ ^d	۰/۳۵ ^d	<i>Planiliza subviridis</i>

جدول ۲: صفت‌های تشریحی و شمارشی فلس ۱۰ گونه از خانواده کفال ماهیان متعلق به آب‌های ساحلی ایران

موقعیت کانون فلس	زوائد دندان‌های	صفات	شمارشی فلس			گونه
			شعاع نوع سوم	شعاع نوع دوم	شعاع اول	
در قسمت میانی	یک‌ردیفه - ظریف	صاف با شکاف کم عمق	۲	۰	۶	<i>Chelon aurata</i>
در قسمت میانی	بسیار ظریف	صاف با شکاف کم عمق	۲	۱	۶	<i>Chelon saliens</i>
پایین تر از قسمت میانی	دو ردیفه	محدب با شکاف کم عمق	۰	۰	۷	<i>Crenimugil seheli</i>
پایین تر از قسمت میانی	بسیار ظریف	محدب با شکاف عمیق	۰	۰	۵	<i>Ellochelon vaigiensis</i>
پایین تر از قسمت میانی	بسیار ظریف	صاف با شکاف کم عمق	۱	۰	۹	<i>Mugil cephalus</i>
در قسمت میانی	دو ردیفه	محدب با شکاف عمیق	۰	۰	۶	<i>Osteomugil cunesius</i>
پایین تر از قسمت میانی	چند ردیفه	صاف با شکاف کم عمق	۰	۰	۵	<i>Planiliza abu</i>
در قسمت میانی	چند ردیفه	محدب با شکاف کم عمق	۰	۱	۶	<i>Planiliza klunzingeri</i>
پایین تر از قسمت میانی	بسیار ظریف	صاف و یا تحدب اندک با شکاف کم عمق	۱	۰	۶	<i>Planiliza macrolepis</i>
پایین تر از قسمت میانی	دو ردیفه	محدب و شکاف کم عمق	۱	۰	۵	<i>Planiliza subviridis</i>



شکل ۲: نمای عمومی فلس در ۱۰ گونه از کفال ماهیان ایران شامل: *Chelon aurata* (الف)؛ *Chelon saliens* (ب)؛ *Crenimugil seheli* (ج)؛ *Ellochelon vaigiensis* (د)؛ *Mugil cephalus* (ه)؛ *Osteomugil cunesius* (و)؛ *Planiliza abu* (ز)؛ *Planiliza klunzingeri* (ح)؛ *Planiliza macrolepis* (ط)؛ *Planiliza subviridis* (ی). مقیاس در تصویر بیانگر اندازه یک میلیمتر می باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

ماهیان متنوع‌ترین گروه از مهره‌داران به شمار می‌آیند. این تنوع در شکل، اندازه، آناتومی، فیزیولوژی، بوم‌شناسی، رفتار و سایر ویژگی‌های آن‌ها دیده می‌شود و به نحوه‌ی زندگی و شرایط محیط زیست آن‌ها مربوط است (Nelson, 2006). علی‌رغم اهمیت کفال ماهیان از نظر تجاری، با توجه به شناسایی دشوار ظاهری در مطالعات حفاظتی گونه‌های این خانواده مشکلاتی وجود دارد (Durand et al., 2012; Kouhee et al., 2018).

نمونه‌ی فلس ماهیان به سادگی و از جاندار زنده قابل برداشت می‌باشد و فرایند عکس‌برداری و تحلیل ویژگی‌های ریختی آن نیز به راحتی قابل اجرا است. از سوی دیگر تناسب کاربرد این صفات در مطالعات تبارشناسی و آرایه‌شناسی ماهیان در مطالعات متعددی اثبات شده است (Ferrito et al., 2009; González-Castro & Ghasemzadeh, 2016). ویژگی‌های شکل و اندازه فلس می‌توانند در شناسایی ماهیان و گونه‌های این خانواده مورد استفاده قرار گیرند (Johal & Dua, 1994; Johal & Sawhney, 1997). همچنین جایگاه کانون فلس (Focus) در طول زندگی ماهی بدون تغییر باقی می‌ماند (Liu & Shen, 1991); (Miranda et al., 1996). به گزارش‌های مشابه زیادی از کاربرد این صفات در آرایه‌شناسی ماهیان همچون مقایسه سه گونه از کپورماهیان در آب‌های یمن و سودان (Jawad, 2005) و مقایسه شش گونه از جنس Channa (Dey et al., 2014) می‌توان اشاره کرد.

در مقایسه فلس‌های ۱۰ گونه از کفال ماهیان مورد بررسی در این تحقیق، فلس‌های دو گونه *C. aurata* و *C. saliens* با توجه به اختلاف معنی دار در مساحت و ابعاد مختلف همچون طول و عرض نسبت به طول بدن، کوچکتر بودند. در نقطه مقابل دو گونه *E. vaigensis* و *P. macrolepis* از فلس‌های درشت‌تری در مقایسه با سایر گونه‌ها برخوردار بودند. همچنین از دیگر صفات بارز می‌توان به حاشیه بالایی کاملاً صاف در فلس‌های دو گونه *C. saliens* و *P. abu*، زبانه‌های شعاعی کاملاً محذب در فلس‌های دو گونه *Osteomugil cunesius* و *Ellochelon vaigiensis* اشاره کرد.

در یکی از معدود مطالعات مشابه انجام شده در ارتباط با فلس کفال ماهیان، اسماعیلی و همکاران در سال ۲۰۱۴ به مقایسه ویژگی‌های ریختی فلس در سه گونه *P. abu*، *P. klunzingeri* و *C. saliens* پرداختند. در نتایج ایشان وجود زوائد دندان‌های چند ردیفه در گونه *P. klunzingeri*، عدم وجود زوائد دندان‌های در فلس گونه *C. saliens* با نتایج تحقیق حاضر مطابق بود. اما زوائد دندان‌های برای گونه *Planiliza abu* به صورت یک ردیفه گزارش شده است که با مشاهدات این تحقیق مبنی بر وجود زوائد دندان‌های چند ردیفه تطابق نداشت. کشیده‌تر بودن فلس در گونه *P. abu* نیز در مطالعه‌ی فوق مشابه نتایج این تحقیق مورد توجه قرار گرفته است. در ارتباط با تعداد شعاع‌های اول، دوم و سوم نیز نتایج مشابهی در مقایسه این تحقیق و تحقیق فوق مشاهده شد. در مطالعه Zahid و همکاران در سال ۲۰۱۵ و Zubia و همکاران در سال ۲۰۱۵ نیز ویژگی‌های فلس در گونه *M.*

cephalus در سواحل کشور پاکستان مورد توجه قرار گرفت. بر مبنای یافته‌های ایشان تعداد شعاع‌های زیادی بر روی فلس این گونه مشاهده شد که مشابه نتایج تحقیق حاضر بود.

در مجموع در دو گونه کفال ماهی دریای خزر یعنی کفال طلایی *Chelon aurata* و کفال پوزه باریک *Chelon saliens*، فلس‌ها به شکل معنی‌داری از مساحت و طول نسبی کمتری در مقایسه با ۸ گونه بررسی شده از آب‌های جنوبی ایران برخوردار بودند. در مقابل با توجه به طول بزرگتر فلس در گونه‌های *E. vaigensis*، *P. macrolepis* و *P. subviridis* و همچنین تعداد شعاع‌های نوع اول، دوم و سوم، شکل زبانه‌های شعاعی، وضعیت زوائد دندانه‌ای و موقعیت کانون فلس می‌توان با کارایی مناسبی از این صفات در جهت شناسایی گونه‌های مختلف کفال ماهیان در آب‌های ایران استفاده نمود.

منابع

- Bräger, Z., Staszny, Á., Mertzen, M., Moritz, T. and Horváth, G. (2017). Fish scale identification: From individual to species-specific shape variability. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 47(4), 331-338.
- Coad, B.W. (2017). Review of the freshwater mullets of Iran (Family Mugilidae). *Iranian Journal of Ichthyology*, 4(2): 75-130.
- Dey, S., Biswas, S. P., Dey, S., & Bhattacharyya, S. P. (2014). Scanning electron microscopy of scales and its taxonomic application in the fish genus *Channa*. *Microscopy and Microanalysis*, 20(4), 1188-1197.
- Durand, J.D., Shen, K.N., Chen, W.J., Jamandre, B.W., Blel, H., Diop, K., Nirchio, M., Garcia de Leon, F.J., Whitfield, A.K., Chang, C.W. and Borsa, P. (2012). Systematics of the grey mullets (Teleostei: Mugiliformes: Mugilidae): molecular phylogenetic evidence challenges two centuries of morphology-based taxonomy. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 64: 73-92.
- Esmaili, H.R., Khaefi, R., Sayyadzadeh, G., Tahami, M., Parsi, B. and Gholamifard, A. (2014). Scale surface microstructure and scale size in three mugilid fishes (Teleostei, Mugilidae) of Iran from three different habitats. *European Journal of Biology*, 73(1): 31-42.
- Fischer, W. and Bianchi, G. (1984). FAO species identification sheets for fishery purposes: Western Indian Ocean.
- Ferrito, V., Pappalardo, A.M., Fruciano, C. and Tigano, C. (2009). Morphology of scale lepidonts in the genus *Aphanius* (Teleostei, Cyprinodontidae). *Italian Journal of Zoology*, 76(2): 173-178.
- González-Castro, M. and Ghasemzadeh, J. (2016). Morphology and morphometry based taxonomy of Mugilidae. *Biology, ecology and culture of grey mullet (Mugilidae)*. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, 1-21.
- Harrison, I.J. (2002). Order Mugiliformes, Mugilidae. *The living marine resources of the western central Atlantic*, 2: 1071-1085.
- Ibáñez, A.L., Hernández-Fraga, K. and Alvarez-Hernández, S. (2017). Discrimination analysis of phenotypic stocks comparing fish otolith and scale shapes. *Fisheries research*, 185: 6-13.
- Jawad, L. A. (2005). Comparative morphology of scales of four teleost fishes from Sudan and Yemen. *Journal of Natural History*, 39(28), 2643-2660.

- Johal, M.S. and Dua, A. (1994). SEM study of the scales of Fresh water Snake head, *Channa punctatus* (Bloch) upon exposure to endosulfan. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 52: 718-721.
- Johal, M.S. and Sawhney, A.K. (1997). Lepidontal alterations of the circuli on the scales of freshwater snakehead, *Channa punctatus* (Bloch) upon exposure to malathion. *Current Science*, 72: 367-369.
- Kelley, J.L., Davies, P.M., Collin, S.P. and Grierson, P.F. (2017). Morphological plasticity in a native freshwater fish from semiarid Australia in response to variable water flows. *Ecology and evolution*, 7(16): 6595-6605.
- Kouhee, S., Alavi-Yeganeh, M.S. and Ghasemzadeh, J. (2018). Molecular and Morphological Comparison of Two Species of Mugilidae in Southern Coast of The Caspian Sea; Golden grey mullet (*Liza aurata*; Risso, 1810) and leaping mullet (*Liza saliens*; Risso, 1810). *Journal of Fisheries Science and Technology*, 7(3): 1-7. (In Farsi)
- Liu, C.H. and Shen, S.C. (1991). Lepidology of the mugilid fishes. *Journal of Taiwan Museum*, 44: 321-357.
- Miranda, R.C., Escala, M.C. and Campos, F. (1996). Clave de identificacion de las especies de cirprinidos presentes en Navarra a partir de las escamas. In Tomo extraordinario Publicado con motivo del 125 Aniversario de Su Fundacion, Madrid: Real Sociedad Española de Historia Natural, pp. 220-222 (in Spanish).
- Nelson, J.S. (2006). *Fishes of the world*. John Wiley & Sons, Inc., 601 Pp. London.
- Poulet, N., Reyjol, Y., Collier, H. and Lek, S. (2005). Does fish scale morphology allow the identification of populations at a local scale? A case study for rostrum dace *Leuciscus leuciscus* burdigalensis in River Viaur (SW France). *Aquatic Sciences*, 67: 122-127.
- Zahid, H., Bano, N., Masood, Z., Ul-Ain, M., Farooq, R.Y. and Razaq, W. (2015). Scale surface structure of *Mugil cephalus* (Teleostei; Mugilidae) using Scanning Electron Microscopy (SEM). *Biological Forum – An International Journal*, 7(1): 1845-1848.
- Zubia, M., Rehana, Y., Muhammad Samee, H., Lakht, Z., Omer Mukhtar, T., Mussarat, U.A., Hameed, U.R., Asim, U., Ihsan, U.H., Muhammad, B. and Yeamin, H. (2015). Comparative studies of the scale characters in four Mugilid species (Family Mugilidae: Order Mugili formes) from Karachi Coast, Pakistan. *Biological Forum-An International Journal*, 7(1): 410-418.

Morphological characters of Scales in ten Mullet species from Iran

N. Firouzi¹, J. Ghasemzadeh², M.S. Alavi-Yeganeh^{3*}

Received: 2020.3.22

Accepted: 2020.7.26

Abstract

Mullets are commercial species with good marketing condition which inhabit southern and northern coastal waters of Iran. Understanding of the diversity of mullets is a vital for their conservation. In this study, morphological characters of scale in ten mullet species from Iran are investigated. Specimens were collected from southern and two northern provinces of Iran during two years. The species identification verified by available reliable identification keys. Minimum 5 scales were collected from left side of each specimen then photographed by stereomicroscope after rinsing. Results revealed that scales in different ten mullet species are distinguishable by morphometric and meristic characters including general shapes, the number of Radii on scale, position of Focus, Ctenii and Interradial tongue-like projection shape, scale area, scale length, scale width and distance between focus and up or low margin of scale. Among diagnostic characters, two species of the Caspian Sea; *Chelon aurata* and *Chelon saliens* revealed significantly smaller scale area and length ($p \leq 0.05$) while bigger scale length ($p \leq 0.05$) appeared significantly in *Ellochelon vaigiensis*, *Planiliza macrolepis* and *Planiliza subviridis*.

Keywords: Persian Gulf, Scale morphology, Mugilidae.

1-MSc, Fisheries Department, Chabahar Maritime and Marine Science University, Chabahar, Iran.

2-Assistant Professor, Fisheries Department, Chabahar Maritime and Marine Science University, Chabahar, Iran.

3-Assistant Professor, Marine Biology Department, Tarbiat Modare University, Iran.

*(Corresponding Author: malavi@modares.ac.ir)

گیاهان دارویی منطقه بازرگان (تفرش، استان مرکزی، ایران)

محمد محمدی^۱، سحر جلالی^۲، زهرا توکلی^۳، فرخ قهرمانی نژاد^{۴*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۲/۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۱۳

چکیده

شناخت گیاهان دارویی برای انسان همواره مفید و کاربردی بوده است. در مناطق متعددی از ایران مطالعات گیاهان دارویی صورت گرفته است. در این پژوهش برای نخستین بار گیاهان دارویی مورد استفاده در منطقه بازرگان مطالعه شدند. ابتدا بررسی فلوربستیکی منطقه بازرگان صورت پذیرفت. سپس مهمترین گونه‌های شناسایی شده جهت کسب اطلاعات دارویی از طریق مطالعات میدانی و بهره‌گیری از منابع معتبر علمی مشخص شدند. سعی بر آن بود که اطلاعات دارویی از افراد بومی و از بخش‌های مختلف منطقه جهت همسان‌سازی داده‌ها انجام پذیرد. نمونه‌های هر باریومی گیاهان مورد مطالعه در هر باریوم دانشگاه خوارزمی نگهداری می‌شوند. در این پژوهش ۳۳ گونه گیاه دارویی از ۱۸ تیره شناسایی شدند. بیشترین تعداد نمونه‌ها به ترتیب مربوط به تیره‌های کاسنیان، کلمیان و نعنائیان هستند. گیاهان دارویی ۱۰/۵۴ درصد از کل فلور منطقه را شامل می‌گردند. از جمله موارد عمده مصرف گیاهان دارویی در منطقه بازرگان می‌توان به کاربرد آن‌ها به عنوان تب‌بر، مدر، خلط‌آور، اشتها‌آور و مقوی بودن اشاره کرد. وجود این تعداد گونه گیاه دارویی در منطقه بازرگان نشان دهنده غنای متوسط گیاهان دارویی آن است. پیشینه مردم منطقه نشان می‌دهد که زمینه مناسبی برای استفاده بیشتر از گیاهان دارویی از جنبه‌های مختلف وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: اتنوبوتانی، استان مرکزی، دارویی

مقدمه

گیاهان دارویی به خاطر اهمیت اقتصادی و درمانی همواره برای انسان دارای ارزش بوده اند. از ابتدای تاریخ گیاهی دانش بشر، همواره به گیاهان دارویی توجه خاصی شده است. به طوری که بسیاری از داروهای شیمیایی فعلی بر مبنای شناخت مواد موثره گیاهان دارویی ساخته شده‌اند (Duke, 2001; Ahmad *et al.* 2006; Ghahremaninejad & Hoseini, 2015). اولین قدم در استفاده از گیاهان دارویی شناسایی دقیق آن‌ها است. برای شناخت گیاهان و ارائه ارزش دارویی‌شان در سطح عمومی

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

۳- استادیار، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

۴- استاد، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: (ghahremaninejad@khu.ac.ir)

باید ابتدا اسامی علمی گونه‌ها را مشخص نمود. با تعیین اسامی علمی گونه‌های دارویی، مطالعات تکمیلی و مرتبط دیگر امکان پذیر خواهند شد. الزام به تعیین اسامی علمی لاتین به این خاطر است که در موارد متعدد یک گونه گیاهی در مکان‌های مختلف اسامی متفاوتی دارد. از طرفی موارد زیادی هم یافت شده است که در مناطق مختلف یک نام محلی به گونه‌های گیاهی متفاوتی اطلاق می‌شود. لذا تعیین نام علمی لاتین از موارد الزامی در مطالعات پایه‌ای گیاهان دارویی است.

در ایران گوناگونی بالایی از گونه‌های گیاهی، بیش از ۸۰۰۰ گونه گیاه آوندی، به چشم می‌خورد (Ghahremaninejad *et al.*, 2017). تنوع زیستگاهی وسیع به لحاظ توپوگرافی، اقلیمی و خاکی، محیط طبیعی مناسبی برای رشد گونه‌های متعدد دارویی و معطر را در ایران ایجاد کرده است. فلات ایران حدود ۱۱ هزار سال است که میزبان جوامع مبتنی بر کشاورزی بوده است و ساکنان آن با انواع گیاهان دارویی و ادویه‌های موجود در این سرزمین آشنا بوده‌اند (Riehl *et al.*, 2013). هزاران سال همزیستی مردم با گیاهان بومی ایران و نسل‌ها آزمون و خطای کارکردهای این گیاهان منجر به فراهم آمدن دانش عظیمی شده است که سینه به سینه یا مکتوب به ما رسیده است (Ghahremaninejad & Hoseini, 2015).

در این راستا با توجه به اهمیت شناسایی گونه‌های دارویی، این مقاله به شناخت گیاهان دارویی منطقه بازرگان می‌پردازد. به خاطر اینکه تاکنون در دهستان بازرگان هیچ‌گونه مطالعه جامع فلوربستیکی و نیز شناسایی گیاهان دارویی صورت نگرفته است، انجام آن برای روشن شدن انواع رستنی‌های دارویی در منطقه ضروری به نظر می‌رسید. گیاهان دارویی ذکر شده در اینجا رایج‌ترین گیاهان دارویی منطقه هستند.

مواد و روش‌ها

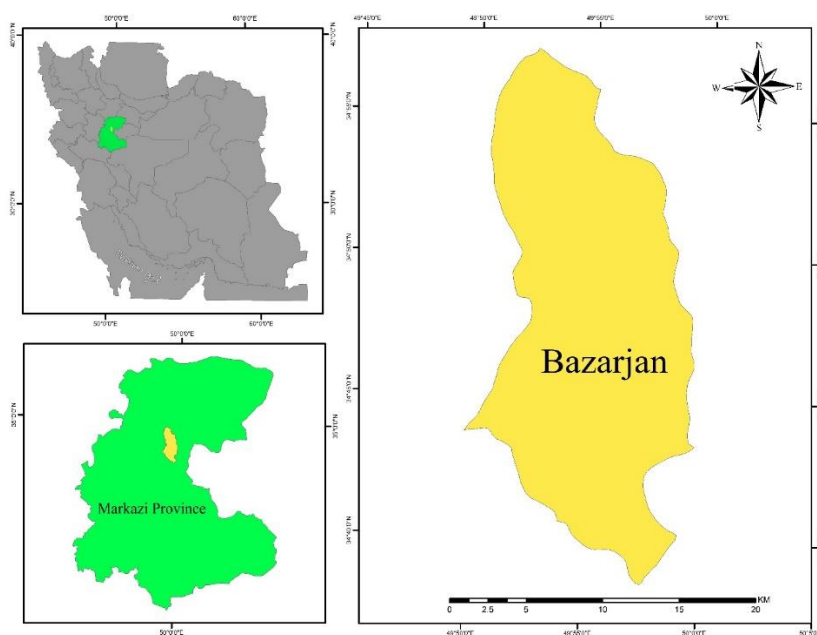
معرفی منطقه

دهستان بازرگان در شمال شهرستان تفرش و در حد فاصل $49^{\circ} 59' 41''$ تا $49^{\circ} 50' 13''$ طول شرقی و $56' 45''$ تا $34^{\circ} 31' 38''$ عرض شمالی در استان مرکزی واقع شده است (شکل ۱) (Department of Natural Resources & Watershed Markazi Province, 2016). این دهستان با وسعت ۳۱۱۹۷ هکتار بزرگ‌ترین دهستان در شهرستان تفرش است که ساختاری کوهستانی-تپه‌ماهوری با کمربندهای ارتفاعی متفاوت دارد (Ansari, 2010). بلندترین بخش این منطقه کوه گوجه با ارتفاع ۳۱۴۰ متر و کم ارتفاع‌ترین نقطه آن ۱۳۰۰ متر از سطح دریا و واقع در رودخانه قره‌چای است. از نظر زمین‌شناسی بخش عمده‌ای از بیرون‌زدگی سنگی در منطقه وابسته به دوران آئوسن و بخش کوچکی نیز در منطقه متعلق به دوران کرتاسه، میوسن، کواترنری، الیگوسن و الیگومیوسن است. بافت خاک این منطقه از جنس شنی-لومی است. بخش عمده اقلیم منطقه خشک و سرد است. در این منطقه بیشترین میزان بارندگی در فروردین‌ماه و کمترین میزان بارندگی در شهریورماه است. فصل

تابستان خشک بوده و فقط یک درصد از باران سالانه به این فصل اختصاص دارد (Mirzaei & Ansari, 2010). متوسط دما و بارندگی سالانه به میزان ۱۳/۳۸ درجه سانتی‌گراد و ۲۹۶/۹۷ میلی‌متر است.

حداقل دمای ماهیانه در ماه دی حدود ۱/۵۹ درجه سانتی‌گراد و حداکثر دمای ماهیانه در ماه تیر حدود ۲۶/۳۸ درجه

سانتی‌گراد برآورد شده است (Markazi Province Meteorological Organization, 2016).



شکل ۱: موقعیت منطقه بازرجان در استان مرکزی

روش بررسی

برای آشنایی اولیه از وضعیت منطقه منابعی نظیر نقشه‌های توپوگرافی، زمین‌شناسی، راه‌ها و هیدرولوژی و اطلس مناطق حفاظت‌شده بررسی گردید. بررسی فلوربستیکی منطقه از بهار ۱۳۹۵ آغاز و تا پاییز سال ۱۳۹۶ در فصل‌های بهار، تابستان و پاییز صورت پذیرفت. نمونه‌های گیاهی توسط نگارنده اول (م.م.) جمع‌آوری شد و برای تمام آن‌ها طول و عرض جغرافیایی، ارتفاع از سطح دریا، نوع زیستگاه، تاریخ جمع‌آوری، شماره هرباریومی، فراوانی در طبیعت و نیز عکس ثبت شده است. از آنجایی که این مطالعه در منطقه‌ای انجام شد که به روستاها و مناطق مسکونی دسترسی وجود داشت پس از جمع‌آوری، دارویی بودن یا نبودن، طریقه، موارد مصرف و بخش مورد استفاده از عرضه به افراد باتجربه محلی و نیز ساکنینی که از گیاهان دارویی استفاده می‌کنند به‌دست آمد. سعی شد نواحی مختلف جهت همسان‌سازی داده‌ها انتخاب شوند. این نمونه‌ها در هرباریوم دانشگاه خوارزمی نگهداری می‌شود (Mohammadi, 2018). این هرباریوم در ایندکس هرباریومی با کد هرباریومی T فهرست شده است (Thiers, 2019). گیاهان با استفاده از منابع موجود از جمله فلورا ایرانیکا (Rechinger, 1963-2015)، فلور ایران (Assadi, 1989-2017)

و سایر منابع معتبر انجام گرفت. جهت تعیین شکل رویشی گیاهان منطقه از طبقه‌بندی Raunkiaer بر اساس جوانه‌های رویشی در فصل نامساعد رشد استفاده شد (Raunkiaer, 1934).

برای تعیین ارزش دارویی گونه‌های مورد بحث علاوه بر مطالعه میدانی از منابع زیر نیز استفاده شده است: Nadaf et

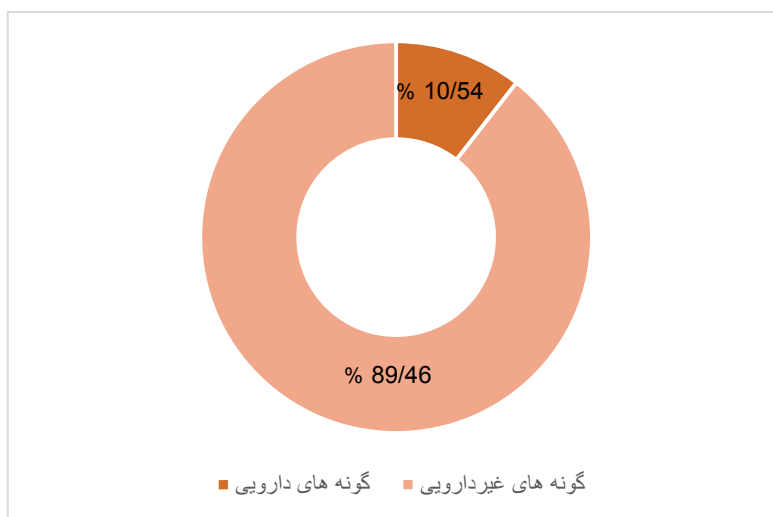
Amiri & Joharchi, Forouzeh et al., 2014; Heidari et al., 2015; Ghorbani et al., 2017; Amin et al., 2017 et al., 2018

2013; Mozaffarian, 2013; Nemati Paykani & Jalilian 2012; Duke, 2001.

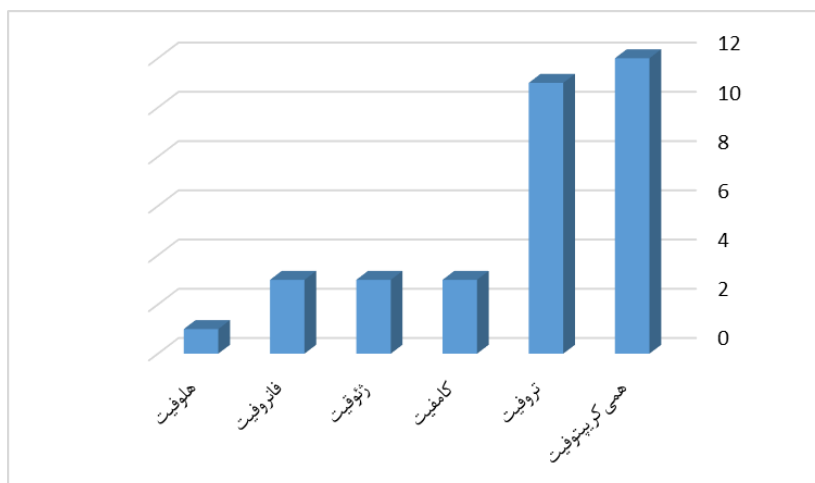
نتایج و بحث

طی مطالعه منطقه بازرجان در شهرستان تفرش ۳۱۳ گونه شناسایی شدند. از این تعداد، ۳۳ گونه دارویی در ۳۳ سرده و ۱۸ تیره شناسایی شدند. اسامی آتورهای آرایه‌ها بر اساس وبگاه IPNI نگاشته شده‌اند (IPNI, 2019). در جدول ۱ این گونه‌های دارویی ذکر شده‌اند و همچنین تصاویری برای نمونه در شکل ۵ آرایه شده‌اند. این تعداد در مجموع ۱۰/۵۴ درصد از فلور منطقه را به خود اختصاص می‌دهند (شکل ۲).

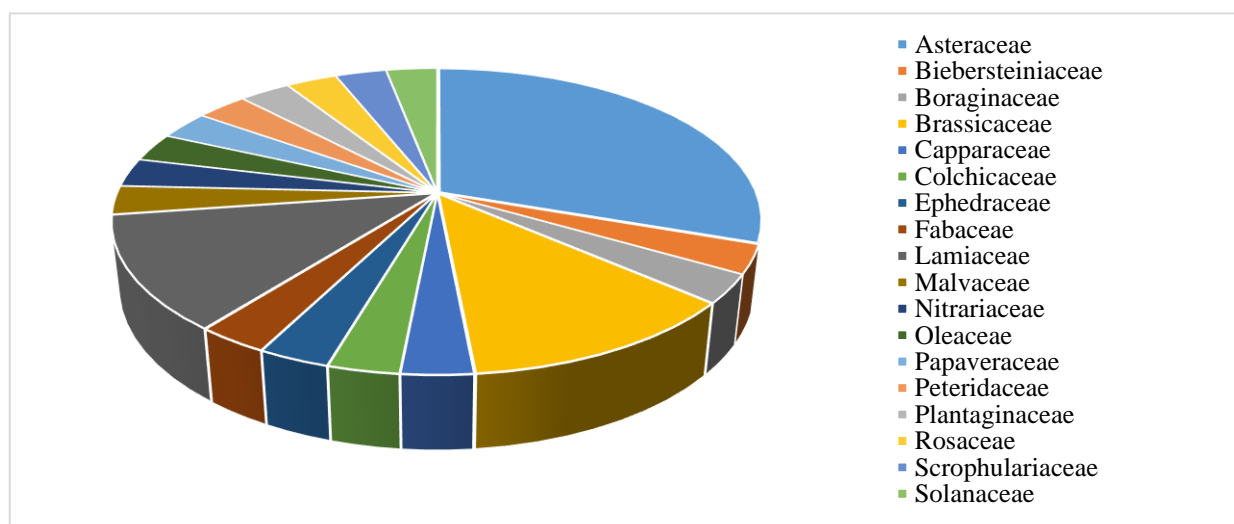
شکل زیستی گونه‌های دارویی منطقه عبارتند از: همی کریپتوفیت ۳۶/۳۶ درصد، تروفیت ۳۳/۳۳ درصد، کامفیت، ژئوفیت و فانروفیت هر کدام ۹/۰۹ درصد و در نهایت هلوفیت با ۳/۰۳ درصد (شکل ۳). بزرگترین تیره‌های دارویی منطقه تیره کاسنیان (Asteraceae) با ۱۰ گونه و پس از آن تیره‌های کلمیان (Brassicaceae) و نعنائیان (Lamiaceae) هر کدام با ۴ گونه هستند (شکل ۴).



شکل ۲: درصد گونه‌های دارویی نسبت به سایر گونه‌ها



شکل ۳: شکل زیستی گونه‌های دارویی



شکل ۴: نمودار فراوانی گونه‌های دارویی در تیره‌های منطقه

جدول ۱: گونه‌های دارویی منطقه بازرجان

ردیف	تیره	نام علمی آرایه	بخش مورد استفاده	موارد مصرف	طریقه مصرف	نام فارسی
۱	Asteraceae (کاسنیان)	<i>Achillea santolinoides</i> Lag. subsp. <i>wilhelmsii</i> (K.Koch) Greuter	بخش‌های هوایی	ضد هموروئید، ضد اسهال، کاهش قندخون، ضد کرم، ضد اسید، سوء هاضمه، مقوی اعصاب، درمان آرتروز	دم کرده سرشاخه گلدار	بومادران
۲	Asteraceae (کاسنیان)	<i>Centaurea benedicta</i> (L.) L.	سرشاخه گل‌دار	مقوی، اشتهاآور، معرق، تصفیه کننده خون، تب‌بر، دافع اسید اوریک، مسکن دردهای روماتیسمی و عصبی، ضد استفراغ	دم کرده	خار مقدس

۳	Asteraceae (کاسنیان)	<i>Chondrilla juncea</i> L.	کل گیاه	مقوی معده	دم کرده	کاسنی بری، قندرون
۴	Asteraceae (کاسنیان)	<i>Cichorium intybus</i> L.	بخش‌های هوایی	درمان تپش قلب، اشتهاآور، درمان کورک، تب‌بر، درمان یرقان، ضد آلرژی	عرق، جوشانده سرد شده	کاسنی
۵	Asteraceae (کاسنیان)	<i>Echinops cephalotes</i> DC.	گل، ساقه	ضد سرفه، ضد آسم، تب‌بر	مخلوط پودر در آب گرم	شکر تیغال
۶	Asteraceae (کاسنیان)	<i>Gundelia tournefortii</i> L.	بخش‌های هوایی	تقویت کبد، درمان هپاتیت	جوشانده بذر	کنگر
۷	Asteraceae (کاسنیان)	<i>Microcephala lamellata</i> (Bunge) Pobed.*	بخش‌های هوایی	درمان گوش درد، ضد اسپاسم، محرک قاعدگی، اشتهاآور، التیام دهنده زخم‌ها، مسهل	دم کرده	بابونه بلوچی، بابونه‌ای
۸	Asteraceae (کاسنیان)	<i>Taraxacum</i> sp.	گل	معرق، مدر، اشتهاآور، حل کننده سنگ مثانه، تقویت کبد، تصفیه خون، تسکین درد مفاصل، ضد میکروب، ضد تومور، مقوی معده	دم کرده	طرشقوق، گل قاصدک
۹	Asteraceae (کاسنیان)	<i>Tragopogon</i> sp.	ریشه، برگ	قابض، سبزی معطر	دم کرده	شنگ
۱۰	Asteraceae (کاسنیان)	<i>Xanthium strumarium</i> L.	کل گیاه	تسکین سرفه، مدر، قابض، مفید برای بیماری‌های پوستی	جوشانده	مستونک، زردینه، طوق
۱۱	Biebersteiniaceae (آدمکیان)	<i>Biebersteinia multifida</i> DC.	ریشه، برگ، ساقه	مسکن درد دندان	جوشانده و دم کرده	چله داغی، آدمک
۱۲	Boraginaceae (گاوبانیا)	<i>Anchusa azurea</i> Mill.	گل	ضد باکتری و ویروس، تب- بر، تسکین درد، ضد اضطراب و افسردگی، آنتی اکسیدان، تقویت کننده سیستم ایمنی	دم کرده	گل گاوزبان
۱۳	Brassicaceae (کلمیان)	<i>Alyssum stapfii</i> Vierh.	دانه	ضد سرفه، خلط‌آور	خیساندن در آب	قدمه شیرازی
۱۴	Brassicaceae (کلمیان)	<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik.	دانه، میوه	تنظیم کننده قاعدگی، ضد خونریزی، ضد اسهال	دانه: خیساندن در آب میوه: جوشانده	کیسه کشیش
۱۵	Brassicaceae (کلمیان)	<i>Descurainia sophia</i> (L.) Webb ex Prantl	دانه	پاک کننده کبد و خون، درمان یرقان، تب‌بر، درمان جوش، رفع تشنگی، ملین	خیساندن در آب (آب سرد، آب گرم)	خاکشی
۱۶	Brassicaceae (کلمیان)	<i>Nasturtium officinale</i> R.Br.	بخش‌های هوایی	درمان دیابت و سوء هاضمه	دم کرده	بولاغ اوتی
۱۷	Capparaceae (کبریان)	<i>Capparis spinosa</i> L.	میوه، ریشه	مقوی کبد، هپاتیت، اشتهاآور، ضد کرم، مقوی معده، قاعده‌آور، ضد نفرض	جوشانده	کور
۱۸	Colchicaceae (گل حسرتیان)	<i>Colchicum kotschyi</i> Boiss.	ریشه	ضد نفرض، آرام‌بخش	جوشانده	سورنجان

۱۹	Ephedraceae (ارمکیان)	<i>Ephedra intermedia</i> Schrenk & C.A.Mey.	بخش‌های هوایی	تسکین درد معده	دود کردن	هوم
۲۰	Fabaceae (باقلائیان)	<i>Medicago sativa</i> L.	بخش‌های هوایی	اشتهاآور، مقوی، ضد خونریزی	دم کرده جوانه بذر، خام‌خواری	یونجه
۲۱	Lamiaceae (نعنائیان)	<i>Acinos graveolens</i> (M.Bieb.) Link	دانه، سر شاخه گل‌دار	قابض، مدر، مسکن دندان‌درد، آرام‌بخش، ضد نفخ	خیساندن در آب، دم کرده	فرنجمشک، آویشنک
۲۲	Lamiaceae (نعنائیان)	<i>Lallemantia royleana</i> (Benth.) Benth.	میوه، دانه	ضد سرفه، خلط‌آور، نرم‌کننده سینه	خیساندن در آب	بالنگو
۲۳	Lamiaceae (نعنائیان)	<i>Mentha longifolia</i> (L.) L.	بخش‌های هوایی	ضد نفخ، ضد اسید، ضد کرم، ضد اسهال	دم کرده	پونه
۲۴	Lamiaceae (نعنائیان)	<i>Ziziphora tenuior</i> L.	بخش‌های هوایی	درمان دل‌پیچه و مشکلات گوارشی، ضد اسید، ضد عفونی کننده	دم کرده	کاکوتی
۲۵	Malvaceae (بنبرکیان)	<i>Malva sylvestris</i> L.	گل، میوه	برطرف کننده آفت دهان، التهاب گلو، جوش و دمل، تب‌بر، ضد یرقان، ترمیم کننده زخم‌های گوارشی، ملین	دم کرده	ختمی خبازی، پنیرک قرمز
۲۶	Nitrariaceae (قره‌داغیان)	<i>Peganum harmala</i> L.	دانه	ضد دیابت، ضد عفونی کننده، معالجه رماتیسم و اختلال سیاتیک	دود کردن، خوردن حداکثر ۷ دانه	اسپند
۲۷	Oleaceae (زیتونیان)	<i>Fraxinus angustifolia</i> subsp. <i>syriaca</i> (Boiss.) Yalt. var. (Boiss.) Yalt. <i>syriaca</i>	برگ، دانه، پوست درخت	مدر، تصفیه خون، مسهل، مقوی، تب‌بر، خلط‌آور، معالجه نقرس، روماتیسم، سنگ‌های مجاری ادراری، کم‌خونی، تصلب شرایین	جوشانده	زبان گنجشک، ون
۲۸	Papaveraceae (شقایقیان)	<i>Fumaria vaillantii</i> Loisel.	بخش‌های هوایی	ضد اسید، تب‌بر، پاک کننده خون، اشتهاآور	عرق، دم کرده	شاهتره
۲۹	Peteridaceae (پرسرخسیان)	<i>Adiantum capillus-veneris</i> L.	بخش‌های هوایی	ضد سرفه، تب‌بر	دم کرده	پرسیاوش
۳۰	Plantaginaceae (بارهنگیان)	<i>Plantago major</i> L.	دانه، برگ	ضد آلزایمر، ضد اسهال، بهبود سرماخوردگی	خیساندن در آب	بارهنگ
۳۱	Rosaceae (گل‌سرخیان)	<i>Rosa persica</i> Michx. ex Juss.	گل	ملین، ضد کرم آسکاریس، مقوی معده، خلط‌آور، اشتهاآور، مقوی قلب	جوشاندن ریشه	ورک، رز ایرانی
۳۲	Scrophulariaceae (گل‌میمونیان)	<i>Scrophularia striata</i> Boiss.	بخش‌های هوایی	مفید برای نارسایی کلیوی، ضد اسهال، ضد نفخ، درمان درد مفاصل	دم کرده و جوشانده	مخلصه
۳۳	Solanaceae (بادنجانیان)	<i>Datura stramonium</i> L.	دانه	آرام‌بخش، درمان اعتیاد، درمان دل‌پیچه	ضماد	تاتورره

*به جای بابونه (*Anthemis tinctoria* L.) و با همان خواص به کار می‌رود.

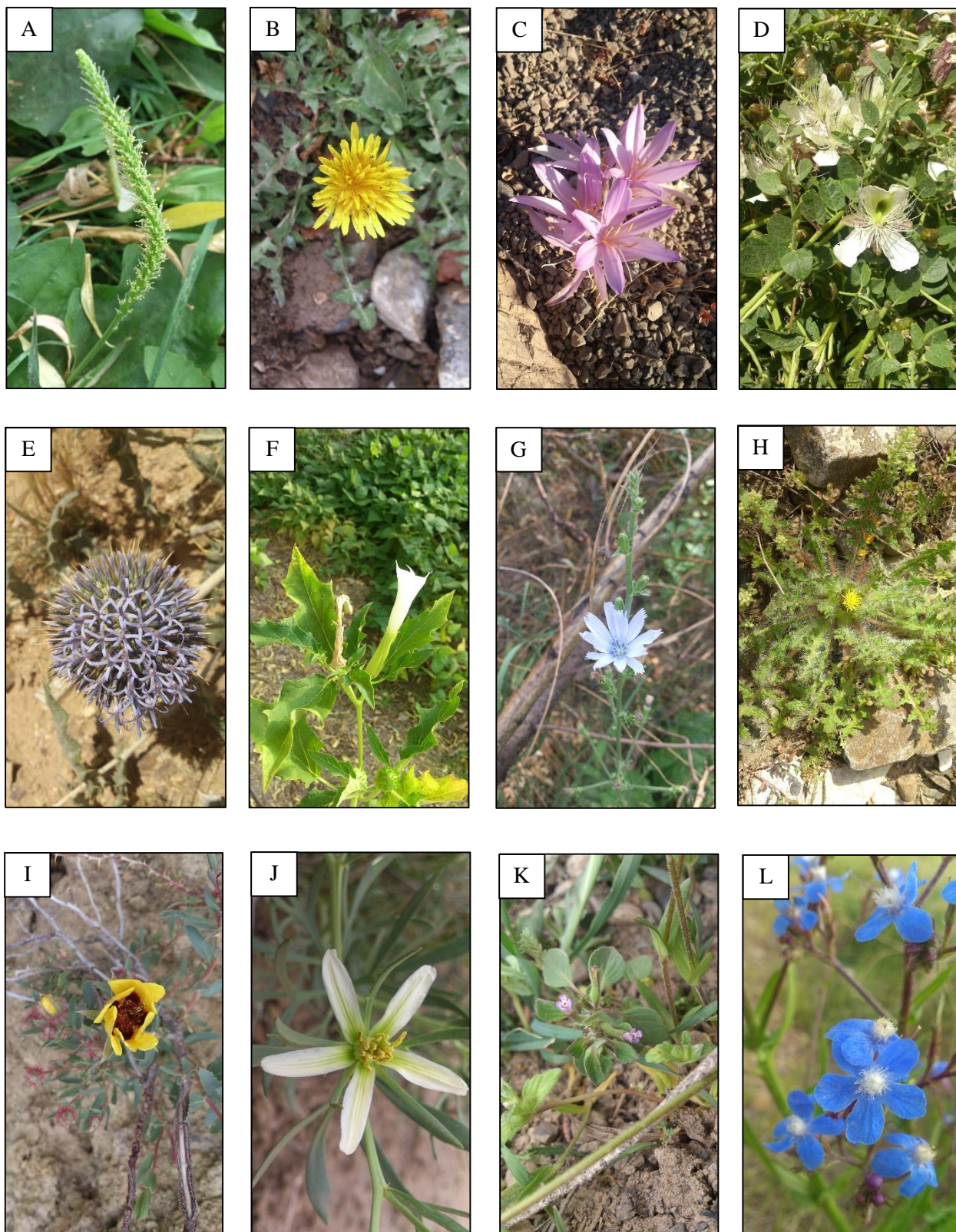
در این پژوهش ۳۳ گونه مرسوم دارویی منطقه شناسایی گردید. مردم منطقه همان‌طور که در جدول ۱ ذکر شده است از بخش‌های مختلف این گیاهان از قبیل ریشه، ساقه، برگ، گل، میوه و در موارد درختی، گاهی پوست تنه برای بیماری‌های مختلف استفاده می‌کنند. روش‌های مورد استفاده غالباً به صورت دم‌کرده، جوشانده، عرق، خام و خیساندن در آب است. از موارد مختلف مصرف این گیاهان دارویی می‌توان در بیماری‌های دستگاه گوارش (اسهال، سوء هاضمه و دردهای معده)، مسکن (بیماری‌های روماتیسمی، دردهای مفاصل و دردهای عضلانی)، ضد سرفه، ضد آسم، بیماری‌های پوستی مانند جوش، دیابت و غیره اشاره کرد. در بررسی مطالعات مشابه نیز تیره‌های نعنائیان (Lamiaceae) و کاسنیان (Asteraceae) دارای بیشترین سهم از گیاه دارویی بودند. در شناسایی گیاهان دارویی استان مرکزی توسط میردادودی و باباخانلو مشخص شد کاسنیان و نعنائیان بیشترین گونه‌های دارویی را در این استان دارا هستند (Mirdavoodi & Babakhanlo, 2008). ابطحی در مطالعه اتنوبوتانی برخی گیاهان دارویی شهرستان شازند گزارش کرد که بیشترین تیره‌ها به ترتیب مربوط به نعنائیان و کاسنیان است و بیشترین کاربرد دارویی مربوط به مشکلات گوارشی، مشکلات قلبی و عفونی است (Abtahi, 2019). در مطالعه حسینی و همکاران که به شناسایی و بررسی اتنوبوتانی منتخبی از گیاهان دارویی شهرستان نیشابور پرداختند بیشترین تیره‌ها مربوط به نعنائیان، چتریان (Apiaceae) و کاسنیان بوده و بیشترین کاربرد مربوط به بیماری‌های گوارشی، درمان سرماخوردگی و درمان بیماری‌های عصبی، مسکن و آرام بخش بوده است (Hosseini *et al.*, 2019). رزمجویی و همکاران در مطالعه اتنوبوتانی (شناسایی، خواص درمانی و نحوه استفاده) برخی گیاهان دارویی شهرستان بهبهان، استان خوزستان دریافتند بیشترین گونه‌ها مربوط به تیره‌های نعنائیان، چتریان و کاسنیان و بیشترین کاربرد دارویی مربوط به بیماری‌های تنفس، عصبی و دستگاه گوارش است (Razmjoue *et al.*, 2018). در مطالعه اتنوبوتانی گیاهان دارویی شهرستان کازرون توسط دولتخواهی و همکاران نیز تیره‌های نعنائیان و کاسنیان بیشترین تعداد گیاه دارویی را داشته و بیشترین کاربرد در رابطه با ناراحتی‌های دستگاه گوارش، گردش خون و ادرار است (Dolatkhahi *et al.*, 2012). در مطالعه اتنوبوتانی دیگری بر روی گیاهان دارویی منطقه زریوار شهرستان مریوان مولفان به این نتیجه رسیدند که بیشترین تعداد تیره مربوط به تیره‌های نعنائیان و کاسنیان و بیشترین کاربرد مربوط به بیماری‌های گوارشی است (Tabad & Jalilian, 2015). قلی‌پور و همکاران در مطالعه اتنوبوتانی گیاهان دارویی دهستان زارمروود نکا (استان مازندران) گزارش کردند که بیشترین تیره‌ها مربوط به گل‌سرخیان (Rosaceae) و نعنائیان و بیشترین کاربرد مربوط به ناراحتی‌های دستگاه گوارش، گردش خون و دفع ادرار است (Gholipour *et al.*, 2014). علاوه بر موارد ذکر شده اسامی فارسی محلی نیز با اسامی علمی لاتین تطبیق داده شده‌اند به طوری که نتایج این پژوهش قابل مقایسه با دیگر پژوهش‌های مشابه باشد.

نتیجه گیری کلی

یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد منطقه بازرجان غنای تقریباً خوبی از لحاظ تنوع گونه‌های گیاهی و به‌خصوص گونه‌های دارویی دارد. از همین رو و با توجه به پیشینه مردم این ناحیه در استفاده از گیاهان دارویی می‌توان ظرفیت سنجی‌های کارشناسی و علمی در بهبود استفاده از گیاهان دارویی در منطقه انجام داد. لازم به ذکر است بیش از ۳۰۰ گونه گیاهی جمع‌آوری و شناسایی شد که از نظر استفاده دارویی تمرکز مردم محلی بر روی همین گونه‌های معرفی شده است. علی‌رغم تحت حفاظت بودن منطقه بازرجان دامداران به‌طور وسیع از مراتع استفاده می‌کنند که این امر سبب شده تا گونه‌های دارویی متعددی به همراه دیگر گونه‌های خوش خوراک با خطر انقراض احتمالی در منطقه مواجه شوند.

سپاسگزاری

از نظرات علمی جناب آقای مهندس محمدرضا جوهرچی (دانشگاه فردوسی مشهد) سپاسگزاری می‌گردد.



شکل ۵: تصاویر برخی از گونه‌های دارویی جمع آوری شده در منطقه مورد مطالعه

A: *Plantago major* L., B: *Taraxacum* sp., C: *Colchicum kotschyi* Boiss., D: *Capparis spinosa* L., E: *Echinops cephalotes* DC., F: *Datura stramonium* L., G: *Cichorium intybus* L., H: *Centaurea benedicta* (L.) L., I: *Rosa persica* Michx. ex Juss., J: *Peganum harmala* L., K: *Acinos graveolens* (M.Bieb.) Link, L: *Anchusa azurea* Mill.

- Abtahi, F.S. (2019). Ethnobotanical study of some medicinal plants of Shazand City in Markazi Province, Iran. *Journal of Medicinal Plants*, 2 (70): 197-211.
- Ahmad, I., Aqil, F. and Owais, M. (2006). *Modern phytomedicine, turning medicinal plants into drugs*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Amin, G.R., Rahimi, A., Raeis Dana, M.R., Shams Ardakani, M., Shirzaad, A.M., Taleb, A.M. and Mohagheghzadeh, A. (2017). Gavzaban, Lesan-al-thor. *Journal of Islamic and Iranian Traditional Medicine*, 8 (1): 139-145.
- Amiri, M. and Joharchi, M.R. (2013). Ethnobotanical investigation of traditional medicinal plants commercialized in the markets of Mashhad, Iran. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 3 (3): 254-271.
- Ansari, A. (2010). *Markazi Province Atlas of Natural Features*. Naqsh-e Mana. 184 Pp. Arak.
- Assadi, M. (ed.). (1989-2018). *Flora of Iran*, Vols. 1-149. RIFR, Tehran.
- Department of Natural Resources and Watershed. (2016). *Division Geographic Information System (GIS) Markazi province*.
- Dolatkhahi, M., Ghorbani Nohooji, M., Mehrafarin, A., Amini Nejad, G.R. and Dolatkhahi, A. (2012). Ethnobotanical study of medicinal plants in Kazeroon, Iran: Identification, distribution and traditional usage. *Journal of Medicinal Plants*, 2 (42) 163-178.
- Duke, J.A. (2001). *Handbook of medicinal herbs*. 2nd ed. CRC Press LLC. USA, Pp: 256.
- Forouzeh, M.R., Heshmati, G.A. and Barani, H. (2014). Collection and investigation on ethnobotany of some plants in Kohgiloye and Boirahmad province. *Journal of Islamic and Iranian Traditional Medicine*, 5 (2): 131-139.
- Gahremaninejad, F., Ataei, N. and Nejad Falatoury, A. (2017). Comparison of angiosperm flora of Afghanistan and Iran in accordance with APG IV system. *Nova Biologica Reperta*, 4: 73-97. (In Persian).
- Gahremaninejad, F. and Hoseini, E. (2015). Book Review: Identification of medicinal and aromatic plants of Iran, V. Mozaffarian. *Journal of Ethnopharmacology*, 164: 35-36.
- Gholipour, A., Ghorbani Nohooji, M., Rasuli, N. and Habibi, M. (2014). An ethnobotanical study on the medicinal plants of Zarm-Rood rural district of Neka (Mazandaran Province). *Journal of Medicinal Plants*, 4 (52) 101-121.
- Ghorbani, A., Ghafari, S., Sattarian, A., Akbarloo, M. and Bidar lord, M. (2017). Medicinal plants of Sabalan rangeland ecosystem in Ardabil province. *Journal of Plant Ecosystem Conservation*, 4 (9): 77-96.
- Heidari, A., Zali, S.H. and Heidari, G. (2015). Ethnobotanical survey of Namarestagh summer rangelands, Amol (Mazandaran). *Journal of Islamic and Iranian Traditional Medicine*, 5 (4): 330-339.
- Hosseini, M., Forouzeh, M.R. and Barani, H. (2019). Identification and investigation of ethnobotany of some medicinal plants in Razavi Khorasan Province. *Journal of Medicinal Plants*, 18 (2): 212-231.
- IPNI. (2019). *The International Plant Names Index*. Royal Botanic Gardens, Kew. Available from: <http://www.ipni.org>, (accessed September 3, 2019).
- Markazi province Meteorological Organization. (2016). *Data for Meteorological stations during 2006-2016 years*.

- Mirdavoodi, H. and Babakhanlo, P. (2008). Identification of medicinal plants of Markazi Province. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23 (4): 544-559.
- Mirzaei, R. and Ansari, A. (2010). Tafresh Bazarjan area. Department of Environment Markazi Province. 41 Pp. Arak.
- Mohammadi, M. (2018). Floristic study of Bazarjan region, Markazi Province, Iran. M.Sc. Thesis (Plant Systematics & Ecology), Kharazmi University, Tehran. (in Persian).
- Mozaffarian, V. (2013). Identification of medicinal and aromatic plants of Iran. Farhang-e Moaser. 1444 Pp. Tehran.
- Nadaf, M., Joharchi, M.R. and Amiri, M. (2018). Ethnomedicinal uses of plants for the treatment of nervous disorders at the herbal markets of Bojnord, North Khorasan Province, Iran. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 9 (2): 153-163.
- Nemati Paykani, M. and Jalilian, N. (2012). Medicinal plants of Kermanshah Province. *Journal of Taxonomy and Biosystematics*, 4 (11) 69-78.
- Raunkiaer, C. (1934). The life forms of plants and statistical plant geography. Oxford University Press, 631 Pp. London.
- Razmjoue, D., Zarei, Z. and Armand, R. (2018). Ethnobotanical study (identification, medical properties and how to use) of some medicinal plants of Behbahan city of Khuzestan Province, Iran. *Journal of Medicinal Plants*, 4 (64) 33-49.
- Rechinger, K.H. (ed.). (1963-2015). *Flora Iranica*. 1-174: Akademische Druck- u. Verlagsanstalt, Graz; 175: Akademische Verlagsgesellschaft, Salzburg; 176-181: Naturhistorisches Museum, Wien.
- Riehl, S., Zeidi, M. and Conrad N.J. (2013). Emergence of agriculture in the foothills of the Zagros Mountains of Iran. *Science*, 341: 65-67.
- Tabad, M.A. and Jalilian, N. (2015). Ethnobotanical study of medicinal plants in Zarivar region (Marivan), Iran. *Journal of Medicinal Plants*, 2 (54): 55-75.
- Thiers, B. (2019). [Continuously updated] Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Available from: <http://sweetgum.nybg.org/ih/>, (accessed September 3, 2019).

Medicinal Plants of Bazarjan Region (Tafresh, Markazi Province, Iran)

M. Mohammadi¹, S. Jalali², Z. Tavakli³, F. Ghahremaninejad^{4*}

Received: 2020.4.26

Accepted: 2020.6.2

Abstract

The identification of medicinal plants has always been of practical use for human or people. Such studies have already been carried out in several areas of Iran. In this research, the medicinal plants used in Bazarjan area were investigated for the first time. First, the floristic survey of Bazarjan was carried out. Then, the species from which medicinal knowledge would be obtained were identified. The methods included field methods and the use of reliable scientific resources. To gather medicinal properties of plants local in habitats of the whole area for uniformity. The herbarium sampled of the studied plants are deposited in Kharazmi University. In this research, 33 species of medicinal plants were identified. The biggest families included Asteraceae, Brassicaceae and Lamiaceae in turn. The medicinal plant species were found to comprise 10.54 % of the whole flora of the area. Of the different applications of medicinal plants in Bazarjan, we could point to antipyretic, diuretic, expectorant, stomachic and tonic could be mentioned.

Keywords: Ethnobotany, Markazi province, Pharmaceutical

1- MSc Graduate, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.

2- MSc student, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.

3- Assistant professor, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.

4- Professor, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.

*(Corresponding Author: ghahremaninejad@khu.ac.ir)

اثرات محافظتی عصاره‌ی الکلی گل ختمی (*Althaea officinalis* L.) بر آسیب کبدی القا شده

توسط دیازینون در همستر نر بالغ

مجید مروتی شریف آباد*^۱، زهرا لطفی^۲، الهام صالحی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۹/۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۴/۷

چکیده

دیازینون یکی از پرکاربردترین حشره‌کش‌های ارگانوفسفره است که به‌طور وسیعی برای کنترل آفات نباتی در مزارع کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد و به عنوان یک آلاینده‌ی زیست‌محیطی مضر در دنیا شناخته شده است. از این رو مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثرات عصاره‌ی الکلی گل ختمی در حفاظت از کبد آسیب دیده توسط دیازینون در همسترهای بالغ نر انجام شد. برای انجام این مطالعه ۴۲ سر همستر نر به شش گروه تقسیم شدند: گروه کنترل مثبت، آب مقطر دریافت کردند، گروه کنترل منفی، سم دیازینون دریافت کردند، گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی گل ختمی (۶۰۰ mg/kg)، عصاره‌ی الکلی گل ختمی را به ترتیب با دوزهای ۳۰۰ mg/kg و ۶۰۰ mg/kg وزن بدن دریافت کردند، گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون و عصاره‌ی گل ختمی (۳۰۰ mg/kg) و گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون و عصاره‌ی گل ختمی (۶۰۰ mg/kg)، ابتدا سم دیازینون و سپس عصاره‌ی الکلی گل ختمی را به ترتیب با دوزهای ۳۰۰ mg/kg و ۶۰۰ mg/kg وزن بدن دریافت کردند. همسترها به مدت ۱۵ روز به صورت خوراکی روزانه تیمار شدند. در پایان آزمایش نمونه‌ی خون حیوانات اخذ گردید و سطوح آلانین آمینوترانسفراز، آسپارات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، کل (Total) بیلی روبین، کل (Total) پروتئین و آلبومین سرم اندازه‌گیری شد. داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی به کمک نرم‌افزار SPSS تحلیل شد. داده‌ها حاکی از آن بود که گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون افزایش قابل توجهی در سطوح سرمی آلانین آمینوترانسفراز، آسپارات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، کل (Total) بیلی روبین و کاهش قابل توجهی در سطوح سرمی کل (Total) پروتئین و آلبومین سرم در مقایسه با گروه کنترل مثبت داشت. عصاره‌ی الکلی گل ختمی باعث کاهش معنی‌دار و متناسب با دوز سطوح آنزیم‌های کبدی و کل (Total) بیلی روبین و افزایش معنی‌دار در سطوح کل (Total) پروتئین و آلبومین سرم گردید. نتایج این مطالعه نشان داد گل ختمی دارای اثرات حفاظتی و درمانی در برابر مسمومیت کبدی ناشی از دیازینون در همستر است.

۱- استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران

* (نویسنده مسئول: mmorovati@ardakan.ac.ir)

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد زیست‌شناسی جانوری گرایش سلولی و تکوینی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران

۳- استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های کبدی، ارگانو فسفره، گل ختمی، مسمومیت کبدی

مقدمه

کبد بزرگ‌ترین غده‌ی داخلی بدن است که واکنش‌های بیوشیمیایی وسیعی را انجام می‌دهد. کبد در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه، لیپیدها، داروها، همچنین سم‌زدایی، تولید صفرا، سنتز پروتئین‌های سرم و جذب مواد غذایی نقش دارد (Mitra & Metcalf, 2012). هرگونه اختلال در عملکرد کبد سبب ایجاد صدمات جبران‌ناپذیری در این عضو می‌شود. عواملی مثل استرس اکسیداتیو، رادیکال‌های آزاد، الکل سفید، ویروس‌ها، مواد شیمیایی و داروها می‌توانند باعث تخریب بافت کبدی شوند (Mitra & Metcalf, 2012). حشره‌کش‌های ارگانوفسفره به‌طور گسترده برای کنترل حشرات در محیط انسان، در امور کشاورزی، دامپروری و صنعت استفاده می‌شوند. تماس مستقیم با این حشره‌کش‌ها و تماس غیرمستقیم از طریق مصرف بقایای این حشره‌کش‌ها در فرآورده‌های کشاورزی و دامی، افراد زیادی از جمله کارگران و کشاورزان و خانواده‌های آن‌ها را درگیر می‌کند (Yassa *et al.*, 2011).

دiazinon یکی از شناخته‌شده‌ترین سموم حشره‌کش فسفره‌ی آلی است که در اوایل دهه‌ی ۱۹۵۰ به بازار معرفی گردید. دیری نگذشت که استفاده از این حشره‌کش فسفره در فضاها، عمومی، مزارع کشاورزی به ویژه شالیزارها، باغ‌های میوه و نیز کنترل برخی از انگل‌های خارجی حیوانات اهلی مرسوم گردید. Diazinon به‌طور گسترده در مزارع برنج گیلان، مازندران، گلستان و سایر مناطق ایران استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر از این سم به‌طور وسیع برای کنترل کرم ساقه‌خوار برنج نیز استفاده شده است (Yassa *et al.*, 2011). این حشره‌کش غالباً پس از استفاده، در پی آبیاری بیش از حد و یا پس از بارش باران‌های فصلی، از سطح گیاهان و خاک شسته شده و وارد آب‌های سطحی و حتی زیرزمینی می‌گردد. تا به حال گزارش‌های متعددی مبنی بر وجود این سم و متابولیت‌های آن، در آب‌های سطحی و زیرزمینی، حتی پس از گذشت ۳ تا ۵ ماه از زمان سم‌پاشی، در مناطق مختلف جهان صورت گرفته است (Bernstein *et al.*, 1997). ارگانوفسفره‌ها با فسفریلاسیون اسیدهای آمینه‌ی سرین در جایگاه فعال آنزیم استیل‌کولین‌استراز باعث مهار این آنزیم می‌شود، در نتیجه تجمع استیل‌کولین در سیناپس‌های کولینرژیک و وقوع بحران کولینرژیک سبب تشنج و در موارد حاد رخداد ضایعه‌ی مغزی می‌شود (Saulsbury *et al.*, 2009). این حشره‌کش از طریق سیستم گوارش، پوست و مسیر هوایی (در صورت تبخیر) جذب و عمدتاً از راه کلیه دفع می‌شود. آنزیم‌های میکروزومی کبد، Diazinon را اکسید می‌کنند و ترکیبات مهارکننده استیل‌کولین‌استراز قوی‌تری نظیر Diazoxon، هیدروکسی Diazoxon و هیدروکسی Diazinon را تولید می‌کنند (Saulsbury *et al.*, 2009). در معرض قرارگیری حاد و تحت حاد با بعضی از ارگانوفسفره‌ها علاوه بر مهار استیل‌کولین‌استراز، تولید رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد. مهم‌ترین اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد، شروع روند پراکسیداسیون لیپیدی است که منجر به تخریب غشای سلول‌ها می‌شود. همچنین این ترکیبات به سایر مولکول‌های زیستی

همانند اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها صدمه وارد می‌کند و منجر به موتاسیون در ژن‌ها می‌شوند. مهم‌ترین عامل دفاعی علیه رادیکال‌های آزاد، آنتی‌اکسیدان‌ها هستند. نقش فیزیولوژیکی آنتی‌اکسیدان‌ها در جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد است. این ترکیبات، رادیکال‌های آزاد به ویژه آنیون‌های سوپراکسید و هیدروکسیل را جمع‌آوری می‌کنند. عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان در بدن باعث استرس اکسیداتیو می‌شود که علت ایجاد بسیاری از بیماری‌ها است (Saulsbury et al., 2009).

بسیاری از گیاهان دارویی برای مقابله با آسیب‌های کبدی ناشی از مسمومیت کبدی، مورد بررسی قرار گرفته‌اند. در سالیان اخیر خطرات ناشی از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی از یک‌سو و همچنین مقرون به صرفه بودن اثرات درمانی مناسب و خطر کمتر گیاهان دارویی از سوی دیگر موجب شده است، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بالاخص متابولیت‌های ثانویه در گیاهان بیشتر مورد توجه قرار بگیرد (Osawa & Kato, 2005). گیاه ختمی با نام علمی *Althaea officinalis* L. از خانواده‌ی Malvaceae که با نام Marshmallow هم از آن یاد می‌شود، یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی خانواده‌ی مالواسه است که منشأ آن را نواحی مختلف آسیا و اروپا می‌دانند. نام این گیاه از لغت یونانی Altho به معنی التیام‌دهنده‌ی زخم گرفته شده است. مصرف گیاه ختمی قرن‌هاست که در مواردی از جمله التهاب، برونشیت، سرفه‌های شدید، ورم و درد معده، سنگ کلیه و بیماری‌های مثانه توصیه شده است (Mosihuzzaman & Choudhary, 2008; Šutovská et al., 2009). این گیاه به دلیل داشتن پلی‌ساکاریدهای مختلف، موسیلاژ، آنتی‌اکسیدان‌ها، فلاونوئیدها، تریپن و تریپنوئیدهای مختلف، استرول‌های گیاهی، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع و نیز ترکیبات فنولیک و فرار دارای ویژگی‌های ضد قارچی، ضد باکتریایی و ضد ویروسی و نیز خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Šutovská et al., 2009).

بنابراین، تجویز عصاره‌ی ختمی ممکن است در پیشگیری از بروز استرس اکسیداتیو مؤثر باشد. باتوجه به ترکیبات موجود در گل ختمی، تحقیق حاضر به منظور مطالعه‌ی اثر عصاره‌ی الکلی گیاه ختمی در درمان مسمومیت کبدی القا شده به وسیله‌ی سم دیازینون در همستر بالغ نر پایه‌ریزی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه‌ی حیوانات

در این تحقیق از ۴۲ سر همستر نر بالغ در محدوده‌ی وزنی ۹۰-۱۱۰ g استفاده شد، که این حیوانات از مؤسسه‌ی انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. حیوانات به منظور سازگاری با شرایط محیط در دمای حدود 22 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، رطوبت 50 ± 5 درصد همچنین آب و غذا به صورت روزانه و آزاد، به مدت یک هفته در اتاق حیوانات نگهداری شدند.

تهیه‌ی عصاره

پس از تهیه‌ی گیاه ختمی، گونه‌ی مذکور توسط کارشناس آزمایشگاه هرباریوم دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی یزد شناسایی شد. گلبرگ‌های گیاه جمع‌آوری شده در سایه قرار گرفت تا کاملا خشک شود. پودر از آن تهیه شد و به مدت ۲۴ ساعت در الکل ۹۶ درصد قرار گرفت تا تمام مواد مؤثره‌ی آن خارج و در الکل حل گردد. سپس آن را صاف نمودیم و توسط دستگاه روتاری اقدام به تهیه‌ی عصاره‌ی تقریباً خالص کردیم.

گروه‌بندی حیوانات

در این بررسی، حیوانات به‌طور تصادفی به شش گروه کنترل مثبت، کنترل منفی، دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی گل ختمی (۳۰۰ mg/kg)، دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی گل ختمی (۶۰۰ mg/kg)، دریافت‌کننده‌ی دیازینون و عصاره‌ی گل ختمی (۳۰۰ mg/kg) و دریافت‌کننده‌ی دیازینون و عصاره‌ی گل ختمی (۶۰۰ mg/kg) تقسیم شدند (n=7). گروه کنترل مثبت، آب مقطر را به میزان ۲ ml/kg وزن بدن به مدت ۱۵ روز به صورت تک‌دوز و خوراکی دریافت کرد. گروه کنترل منفی، سم دیازینون (شرکت Supelco-USA) را به میزان ۱۵۰ mg/kg وزن بدن (Jouhari *et al.*, 2010) به صورت تک‌دوز و درون‌صفافی دریافت کرد. گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی گل ختمی (۳۰۰ mg/kg)، عصاره‌ی الکلی گل ختمی را با دوز ۳۰۰ mg/kg وزن بدن (Ashtiyani *et al.*, 2015) به مدت ۱۵ روز به صورت دهانی و از طریق لوله‌ی گاوژ دریافت کرد. گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی گل ختمی (۶۰۰ mg/kg)، عصاره‌ی الکلی گل ختمی را با دوز ۶۰۰ mg/kg وزن بدن (Ashtiyani *et al.*, 2015) به مدت ۱۵ روز به صورت دهانی و از طریق لوله‌ی گاوژ دریافت کرد. گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون و عصاره‌ی گل ختمی (۳۰۰ mg/kg)، ابتدا دیازینون را به میزان ۱۵۰ mg/kg وزن بدن به صورت تک‌دوز دریافت نمودند. بعد از دو ساعت، عصاره‌ی الکلی گل ختمی را با دوز ۳۰۰ mg/kg وزن بدن به مدت ۱۵ روز به صورت دهانی و از طریق لوله‌ی گاوژ دریافت کرد. گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون و عصاره‌ی گل ختمی (۶۰۰ mg/kg)، ابتدا دیازینون را به میزان ۱۵۰ mg/kg وزن بدن به صورت تک‌دوز دریافت نمود. بعد از دو ساعت، عصاره‌ی الکلی گل ختمی با دوز ۶۰۰ mg/kg وزن بدن به صورت دهانی و از طریق لوله‌ی گاوژ دریافت کرد.

ارزیابی آنزیم‌های کبدی

حیوانات پس از هر نوبت تزریق، از نظر میزان آب و غذای مصرفی، سلامت، نحوه‌ی اثر عصاره و میزان مرگ و میر مورد ارزیابی قرار گرفتند. در پایان روز پانزدهم، با رعایت اصول اخلاقی، پس از بی‌هوشی توسط اتر، خون‌گیری مستقیم از قلب از گروه‌های مختلف انجام شد. نمونه‌های خون به دست آمده از حیوانات گروه‌های مختلف سانتریفیوژ و سرم آن‌ها جدا شد. سرم‌های به دست آمده را به آرامی با سمپلر برداشته و به میکروتیوب‌های مخصوص منتقل شد. نمونه‌های سرم، برای اندازه‌گیری و سنجش آنزیم‌های آسپارات‌آمینوترانسفراز (AST)، آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) و همچنین کل (Total)

پروتئین، کل (Total) بیلی‌روبین و آلبومین بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد. سنجش آنزیم‌های کبدی با استفاده از کیت‌های بیوشیمیایی (شرکت پارس آزمون؛ ایران) و دستورالعمل‌های مربوطه‌ی موجود در هر کیت توسط دستگاه اتوآنالیزور مدل RA1000 ساخت شرکت Technicon آمریکا انجام شد.

سپس برای سنجش القای مسمومیت کبدی بافت کبد از ناحیه‌ی ناف جدا و پس از شستشو بلافاصله در مایع نیتروژن قرار داده شد و سپس تا زمان هموژنیزه شدن در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد ذخیره‌سازی شد. برای سنجش غلظت آنزیم‌های ALT، AST و ALP بافت کبد، ابتدا بافت کبد با استفاده از مایع نیتروژن پودر شد و سپس ۰,۱ گرم (۱۰۰ میلی‌گرم) از پودر ساخته شده با ۱ میلی‌لیتر بافر حاوی ۱۳۷ میلی‌مول NaCl، ۲۰ میلی‌مول tris-HCl (pH ۸)، ۱٪ NP۴۰، ۱۰٪ گلیسرول، ۱ میلی‌مول PMSF، ۱ میکروگرم لپتین، ۰,۵ میلی‌مول سدیم‌وانادایت و ۱۰۰ میلی‌گرم AEBSF هموژنیزه شد و سپس محلول به دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۹۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و برای سنجش شاخص‌های مورد نظر با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شد. برای تعیین مقادیر غلظت آنزیم‌های ALT، AST و ALP از روش الیزا و کیت کمپانی Zellbio chemical (company, Germany) استفاده شد (جمالی و همکاران، ۱۳۹۵).

آنالیز آماری

در این مطالعه نرم‌افزار SPSS Version 25 برای آنالیز داده‌های کمی به دست آمده مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین نرمال بودن داده‌ها از تست کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. داده‌های مورد بررسی همه نرمال بودند. در صورت عدم نرمال بودن توزیع داده‌ها، تفاوت بین گروه‌ها با استفاده از تست آماری کوریسکال-والیس تعیین می‌شود. آزمون مورد استفاده آنوا یک‌طرفه بود و تست توکی برای آنالیز تفاوت بین دو گروه به کار گرفته شد (ندایی و میرازی، ۱۳۹۵). تمام نتایج به دست آمده به صورت $Mean \pm SEM$ محاسبه گردید و در تمامی موارد $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از این پژوهش به دو شکل جدول و نمودارها به شرح زیر می‌باشد:

مقایسه‌ی آنزیم‌های کبدی، کل پروتئین، کل بیلی‌روبین و آلبومین

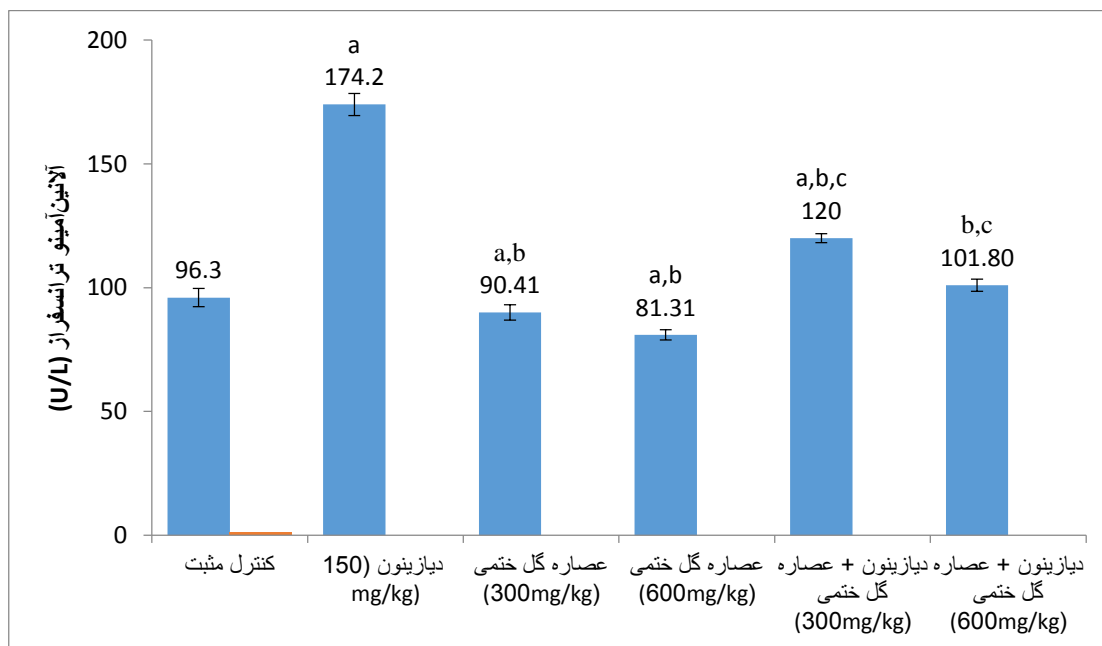
جدول ۱: مقایسه آنزیم‌های (آسپارات‌آمینوترانسفراز، آلانین‌آمینوترانسفراز، آلكالین فسفاتاز، کل پروتئین، کل بیلی‌روبین و آلبومین در گروه‌های مختلف)

پارامترها/ گروه‌ها	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	کل بیلی‌روبین (mg/dl)	کل پروتئین (mg/dl)	آلبومین سرم (mg/dl)
کنترل مثبت	96/3 ± 3/66	86/8 ± 2/88	108/8 ± 3/2	0/91 ± 0/05	8/55 ± 0/20	4/88 ± 0/15
کنترل منفی	174/2 ± 4/5	141/01 ± 3/5	189/01 ± 1/02	3/9 ± 0/09	4/1 ± 0/15	2/6 ± 0/16
تیمار ۱	90/41 ± 3/1	79 ± 1/8	101/1 ± 2/01	0/6 ± 0/01	9/1 ± 0/1	5/3 ± 0/1
تیمار ۲	81/31 ± 2/05	70 ± 1/04	95 ± 3/1	0/4 ± 0/05	9/75 ± 0/2	5/8 ± 0/1
تیمار ۳	120 ± 1/76	118/1 ± 4/5	142/5 ± 4/37	1/43 ± 0/06	4/85 ± 0/16	3/1 ± 0/22
تیمار ۴	101/80 ± 2/4	97/40 ± 2/4	118/2 ± 5/84	1/11 ± 0/06	5/05 ± 0/12	3/41 ± 0/08

طبق نتایج نشان داده شده در جدول ۱ در همسترهای گروه مسموم شده توسط دیازینون سطح سرمی آنزیم‌های آسپارات‌آمینوترانسفراز، آلانین‌آمینوترانسفراز و آلكالین فسفاتاز و همچنین کل بیلی‌روبین در مقایسه با گروه کنترل مثبت افزایش و سطح کل پروتئین و آلبومین سرم کاهش یافت. تیمار دو گروه از همسترها با عصاره‌ی الکلی گل ختمی در دو دوز ۳۰۰ mg/kg و ۶۰۰ mg/kg وزن بدن، سطوح افزایش یافته‌ی آنزیم‌های کبدی و بیلی‌روبین تام سرم را تا حد نرمال کاهش داد و سطوح کاهش‌یافته‌ی کل پروتئین و آلبومین را تا حد نرمال افزایش داد. تیمار دو گروه همسترهای مسموم شده با دیازینون با عصاره‌ی گل ختمی در دو دوز ۳۰۰ mg/kg و ۶۰۰ mg/kg موجب کاهش سطح سرمی آنزیم‌های کبدی و کل بیلی‌روبین و افزایش سطح کل پروتئین و آلبومین نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون شد (جدول ۱).

آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT)

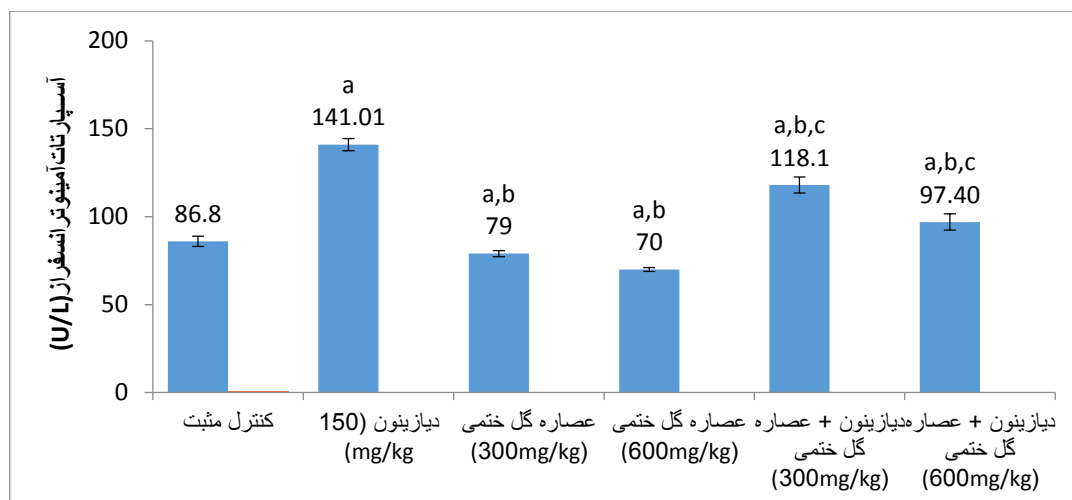
با توجه به نتایج مندرج در نمودار ۱ دیده شده است که سطح سرمی آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) در همسترهای نر در گروه مسموم شده توسط دیازینون در مقایسه با گروه کنترل مثبت به صورت معنی‌دار افزایش یافت. در دو گروه تیمار ۱ و ۲ عصاره‌ی گل ختمی باعث کاهش سطح سرمی آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) در مقایسه با دو گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون و کنترل مثبت به صورت معنی‌دار و وابسته به دوز گردید. همچنین در دو گروه تیمار ۳ و ۴ به صورت معنی‌دار و وابسته به دوز شاهد کاهش سطح سرمی آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون هستیم. سطح سرمی آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) در دو گروه تیمار ۳ و ۴ نسبت به گروه کنترل مثبت افزایش داشته است که این افزایش در گروه تیمار ۳ معنی‌دار می‌باشد (نمودار ۱).



نمودار ۱: مقایسه‌ی داده‌های حاصل از سنجش آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) در گروه‌های مورد آزمون. a بیانگر معنی داری نسبت به گروه کنترل. b بیانگر معنی داری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون. c بیانگر معنی داری نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره (آزمون آنوا یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی؛ $p < 0.05$)

آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST)

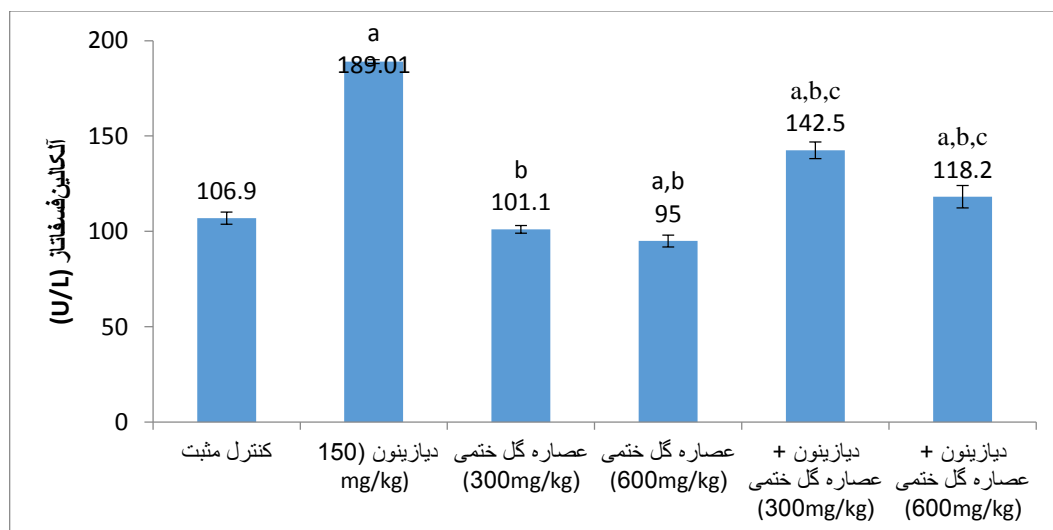
مقایسه‌ی بین گروه‌های کنترل منفی و کنترل مثبت اختلاف معنی داری را در سطح سرمی آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) نشان می‌دهد. گروه‌های تیمار ۱ و ۲ به صورت معنی دار و وابسته به دوز کاهش سطح سرمی آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) را در مقایسه با گروه کنترل مثبت نشان می‌دهند. گروه‌های تیمار ۳ و ۴ افزایش سطح سرمی آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) را در مقایسه با گروه کنترل مثبت نشان می‌دهند. نمودار ۲ بیان‌کننده‌ی این مطلب است که گروه‌های تیمار ۱ و ۲ و گروه‌های تیمار ۳ و ۴ دارای کاهش معنی دار و وابسته به دوز در میزان سرمی آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون است. همچنین یک افزایش معنی دار در میزان آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) سرم در گروه‌های تیمار ۳ و ۴ نسبت به گروه‌های تیمار ۱ و ۲ و کنترل مثبت دیده می‌شود (نمودار ۲).



نمودار ۲: مقایسه‌ی داده‌های حاصل از سنجش آسپارات آمینوترانسفراز (AST) در گروه‌های مورد آزمون. a بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل. b بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون. c بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره (آزمون آنوا یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی؛ $p < 0.05$)

آلکالین فسفاتاز (ALP)

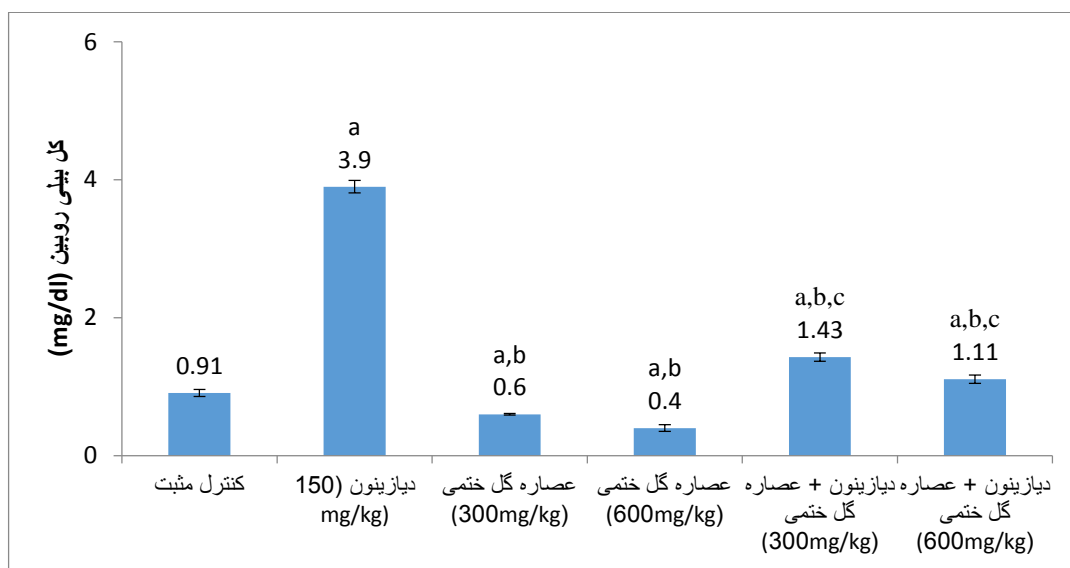
نتایج موجود در نمودار ۳ بیان‌کننده‌ی این مطلب است که سطح سرمی آلکالین فسفاتاز (ALP) در گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون نسبت به گروه کنترل مثبت به صورت معنی‌داری افزایش داشته است. گروه‌های تیمار ۱ و ۲ و ۳ و ۴ به صورت معنی‌دار و وابسته به دوز، کاهش سطح سرمی آلکالین فسفاتاز (ALP) را در مقایسه با گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون نشان می‌دهند. گروه‌های تیمار ۳ و ۴ افزایش معنی‌دار در سطح سرمی آلکالین فسفاتاز (ALP) نسبت به گروه‌های تیمار ۱ و ۲ و کنترل مثبت نشان می‌دهند (نمودار ۳).



نمودار ۳: مقایسه‌ی داده‌های حاصل از سنجش آلکالین فسفاتاز (ALP) در گروه‌های مورد آزمون. a بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل. b بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون. c بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره (آزمون آنوا یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی؛ $p < 0.05$)

کل (Total) بیلی روبین

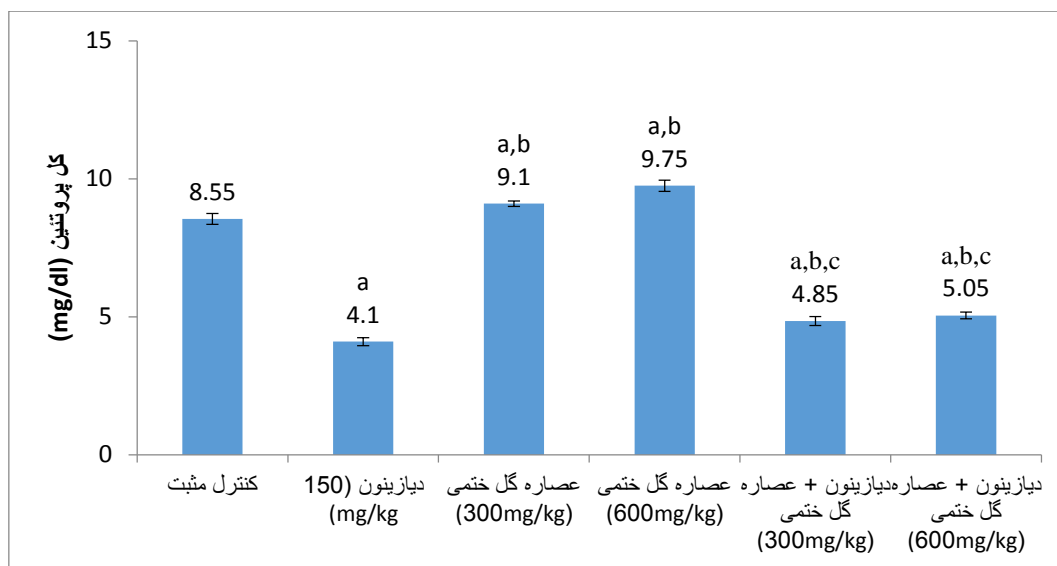
مقدار کل (Total) بیلی روبین سرم در همسترهای گروه دریافت کننده دیازینون نسبت به گروه کنترل مثبت از افزایش معنی داری برخوردار بود. بر اساس نمودار ۴ گروه های تیمار ۱ و ۲ و ۳ و ۴ به صورت معنی دار و وابسته به دوز کاهش سطح کل (Total) بیلی روبین سرم را در مقایسه با گروه دریافت کننده دیازینون نشان می دهند. این پارامتر در گروه های تیمار ۳ و ۴ به صورت وابسته به دوز نسبت به گروه های تیمار ۱ و ۲ و کنترل مثبت افزایش نشان می دهند (نمودار ۴).



نمودار ۴: مقایسه‌ی داده‌های حاصل از سنجش کل (Total) بیلی روبین در گروه‌های مورد آزمون. a بیانگر معنی داری نسبت به گروه کنترل. b بیانگر معنی داری نسبت به گروه دریافت کننده دیازینون. c بیانگر معنی داری نسبت به گروه های دریافت کننده عصاره (آزمون آنوا یک طرفه و تست تعقیبی توکی؛ $p < 0.05$)

کل (Total) پروتئین

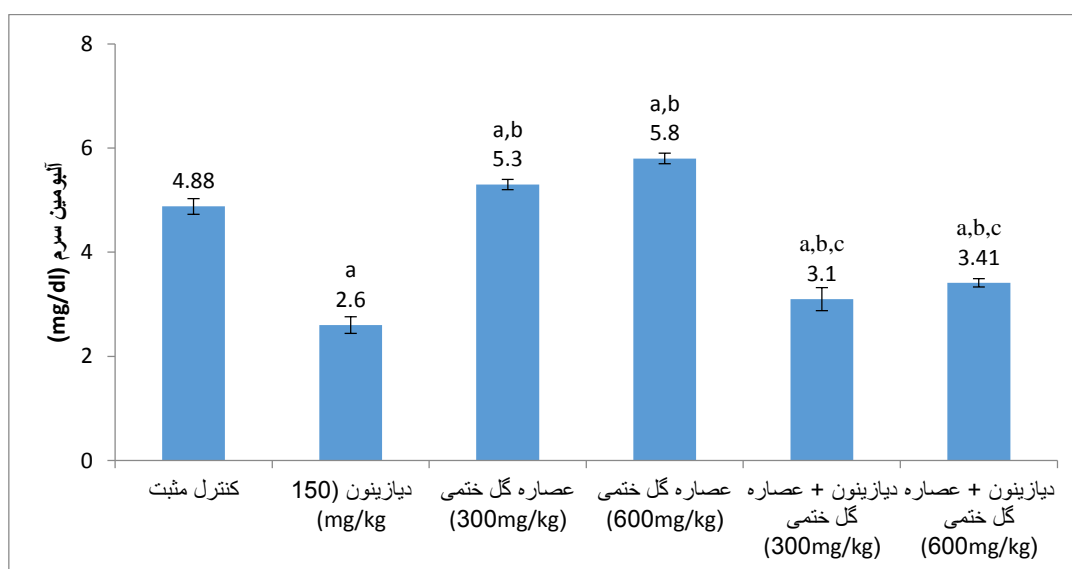
نتایج مندرج در نمودار ۵ بیان کننده‌ی این مطلب است که سطح سرمی کل (Total) پروتئین در گروه دریافت کننده دیازینون نسبت به گروه کنترل مثبت به صورت معنی داری کاهش داشته است. گروه های تیمار ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل مثبت به صورت معنی دار افزایش نشان دادند. در گروه های تیمار ۱ و ۲ و ۳ و ۴ به صورت معنی دار و وابسته به دوز شاهد افزایش سطح سرمی کل (Total) پروتئین نسبت به گروه کنترل منفی هستیم. گروه های تیمار ۳ و ۴ کاهش معنی داری در سطح سرمی کل (Total) پروتئین نسبت به گروه های تیمار ۱ و ۲ و کنترل مثبت نشان می دهند (نمودار ۵).



نمودار ۵: مقایسه‌ی داده‌های حاصل از سنجش کل پروتئین در گروه‌های مورد آزمون. a بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل. b بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون. c بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره (آزمون آنوا یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی؛ $p < 0.05$)

آلبومین

سطح سرمی آلبومین همسترهای مورد آزمایش در گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون نسبت به گروه کنترل مثبت و گروه‌های تیمار کاهش معنی‌داری نشان داد. گروه‌های تیمار ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل مثبت و تیمار ۳ و ۴ به صورت معنی‌دار افزایش نشان دادند. در گروه‌های تیمار ۳ و ۴ نیز شاهد کاهش سطح سرمی این پارامتر به صورت معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل مثبت هستیم (نمودار ۶).



نمودار ۶: مقایسه‌ی داده‌های حاصل از سنجش آلبومین سرم در گروه‌های مورد آزمون. a بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل. b بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون. c بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره (آزمون آنوا یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی؛ $p < 0.05$)

بحث

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد، ۱۵ روز تیمار با دیازینون با دوز ۱۵۰ mg/kg به‌طور معنی‌دار باعث افزایش سطح آنزیم‌های ALT، AST و ALP و کل (Total) بیلی‌روبین و کاهش سطح کل (Total) پروتئین و آلبومین در مقایسه با گروه کنترل گردید. بر اساس نتایج به دست آمده، عصاره‌ی گل ختمی به صورت معنی‌دار و وابسته به دوز موجب کاهش میزان آنزیم‌های کبدی و کل (Total) بیلی‌روبین و افزایش میزان کل (Total) پروتئین و آلبومین سرم نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون شد.

کبد یکی از حیاتی‌ترین و مهم‌ترین ارگان‌های بدن می‌باشد که در تولید صفرا، پروتئین‌های دخیل در سیستم انعقاد، متابولیسم مواد سه‌گانه و بخصوص در سم‌زدایی سموم و داروها و گزنوبیوتیک‌ها نقش دارد. کبد با استفاده از سیستم سیتوکروم P450 موجود در شبکه‌ی اندوپلاسمی، طی دو فاز که در فاز اول اکسیداسیون و احیا و در فاز دوم کونژوگاسیون (گلوکونیداسیون) انجام می‌شود، می‌تواند سموم و داروها را به موادی با سمیت پایین و قابل حل در آب تبدیل و دفع کند (Mitra & Metcalf, 2012). دیازینون پس از جذب توسط کبد ممکن است به متابولیت‌های دی‌اکسان و تترااتیل‌مونوپروفسفات شکسته شود و این ترکیبات، استیل‌کولین‌استراز را مهار می‌کنند. دیازینون بر روی حمل و نقل مواد از غشاء میتوکندری تأثیر می‌گذارد، فعالیت سیستم سیتوکروم P450 را در سلول‌های کبدی مختل می‌کند و به علت حمله‌ی الکترونی به اجزای درون سلول تولید رادیکال آزاد می‌کند. سیتوکروم P450 ها، آنزیم‌های مونو اکسیژنازی هستند که با اضافه نمودن یک اتم اکسیژن مولکولی به یک سوبسترا (از قبیل ارگانوفسفره‌ها) موجب اکسیداسیون آن‌ها و تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردند.

بنابراین ارگانوفسفره‌ها هومئوستاز نرمال آنتی‌اکسیدانی را تغییر می‌دهند که این امر در صورت تأمین نشدن آنتی-اکسیدان مورد نیاز سبب تخلیه‌ی آنتی‌اکسیدانی بدن خواهد شد (Shah & Iqbal, 2010). Gockcimen و همکاران که در سال ۲۰۱۰ اثر دیازینون بر کبد موش‌های صحرائی را مورد مطالعه قرار دادند، آثار پاتولوژیک شامل نکروز هپاتوسیت‌ها و نفوذ سلول‌های آماسی را گزارش کردند و علت آن را به فعالیت سم‌زدایی کبد نسبت دادند که باعث تجمع سم در کبد می‌گردد و همچنین تولید میزان زیاد رادیکال آزاد در سلول‌های کبدی را ذکر نموده‌اند (Gockcimen *et al.*, 2010). این نتایج توسط محققین دیگری نیز تأیید شده است (Kalender *et al.*, 2005; Rebl *et al.*, 2012).

چربی دوست بودن مولکول‌های دیازینون منجر به عبور آن‌ها از غشاء فسفولیپیدی سلول و در نتیجه آشفستگی و اختلال در ساختار غشاهای سلولی می‌شود (Shah & Iqbal, 2010). در ارزیابی آسیب کبد سنجش سطوح آنزیم‌های ALT، AST و ALP به‌طور وسیع مورد استفاده قرار می‌گیرد. وقوع نکروز یا آسیب غشاء سلول باعث رها شدن این آنزیم‌ها به گردش خون می‌شود. افزایش سطح AST در سرم، آسیب کبد ناشی از هیپاتیت‌های ویروسی، آنفارکتوس قلبی و صدمات عضلانی را نشان

می‌دهد. ALT که تبدیل آلانین به پیرووات و گلوتامات را کاتالیز می‌کند، برای کبد اختصاصی‌تر بوده و پارامتر مناسب‌تری برای تشخیص آسیب کبد می‌باشد. این دو آنزیم غالباً در داخل میتوکندری سلول‌ها، به ویژه در سلول‌های کبدی قرار دارند. سطوح افزایش یافته‌ی این آنزیم‌های سرمی حاکی از نشت سلولی است و نشانگر آسیب ساختار و اختلال عملکرد غشاهای سلولی در کبد می‌باشد. افزایش سطح سرمی ALP به دلیل افزایش تولید در حضور فشار فزاینده‌ی صفراوی می‌باشد (Banaee *et al.*, 2008). تغییر در سنتز پروتئین یکی از متداول‌ترین پاسخ‌ها به آسیب سلولی می‌باشد، لذا با سنجش میزان پروتئین می‌توان به میزان آسیب سلولی پی برد. با توجه به این که اکثر پروتئین‌ها در کبد سنتز می‌شوند کاهش پروتئین در پلاسما خون را می‌توان به نقص کبد ارتباط داد (Canli, 1996). آلبومین مهم‌ترین و بیش‌ترین بخش پروتئین‌های موجود در پلاسما است که در کبد سنتز می‌شود؛ از این رو شاخص مناسبی برای بررسی عملکرد کبد محسوب می‌گردد. بیلی‌روبین از رنگدانه‌های صفراوی است. بیلی‌روبین غیرکنژوگه (non conjugate) به وسیله‌ی کبد گرفته، کنژوگه و دفع می‌شود؛ بنابراین میزان طبیعی بیلی‌روبین بیان‌گر سلامت سیستم ترشحات کبد است (Stockham & Scott, 2008). مطالعات انجام شده تأیید کننده‌ی این نکته است که مسمومیت با ارگانوفسفرها مانند دیازینون باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، آسپارات آمینوترانسفراز و آلانین-آمینوترانسفراز می‌گردند (Gomes *et al.*, 1999; Morowati, 1997). Kalender و همکاران در سال ۲۰۰۵ افزایش فعالیت آنزیم-های آلکالین فسفاتاز، آسپارات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز را در موش‌های صحرایی که با دیازینون مسموم شده بودند گزارش کردند و علت آن را آسیب به بافت کبد موش‌ها اعلام کردند (Kalender *et al.*, 2005). سموم ارگانوفسفره از جمله دیازینون باعث کاهش تولید پروتئین‌ها و تخریب چربی‌ها می‌شوند (Kalender *et al.*, 2005). در مطالعه‌ای دیگر، کاهش متابولیسم پروتئین‌ها، متعاقب مسمومیت با سموم ارگانوفسفره مورد تأیید قرار گرفت (Ashgar *et al.*, 1994). در بین گیاهان دارویی که خواص و کاربرد مختلف آن‌ها مورد مطالعه قرار گرفته است، گل ختمی از جمله گیاهانی است که خواص آنتی‌اکسیدانی آن شناسایی شده و در جایگزینی با آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی در جیره، منجر به افزایش بهینه‌ی مقاومت بدن شده است. خواص آنتی‌اکسیدانی گل ختمی به حضور ترکیباتی از قبیل فلاونوئید و موسیلاژ نسبت داده شده است. خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی فلاونوئیدها به دلیل وجود گروه‌های هیدروکسیل و فنولی در ساختمان آن‌ها است. یکی از فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات به دام انداختن و حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشد. فلاونوئیدها همچنین دارای فعالیت آنتی‌فسفودی‌استرازی هستند و از این رو می‌توانند سطح نوکلئوتیدهای حلقوی درون سلولی را افزایش دهند. این نوکلئوتیدها (cAMP و cGMP) کاهنده‌ی استرس اکسیداتیو در بسیاری از سیستم‌های بیولوژیک و بیماری‌ها می‌باشند (Mosihuzzaman & Choudhary, 2008; Šutovská *et al.*, 2009). گیاه ختمی همچنین دارای خاصیت ضدالتهابی است. بیش‌ترین خواص ضدالتهابی این گیاه مربوط به موسیلاژ آن است (Al-Snafi, 2013). مواد مؤثره‌ی گل ختمی به ویژه موسیلاژ، از طریق مهار آزادسازی اینترلوکین ۶ و فاکتور نکروز تومور (TNF) اثر ضدالتهابی خود را اعمال می‌کنند (Sweetman, 2011).

در مطالعه‌ای که بر روی موش‌های صحرایی انجام گرفت، محققان مشاهده کردند که تجویز عصاره‌ی هیدروآلکلی یونجه سطوح سرمی آنزیم‌های ALT و AST را کاهش داد که در اثر تجویز نیکوتین و القای آسیب کبدی افزایش یافته بودند و به سطحی مشابه با سطح گروه کنترل رسید. این کنترل آسیب کبدی به آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی موجود در یونجه نظیر ویتامین C، ویتامین E و فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی نسبت داده شد (بهشتی پور و همکاران، ۱۳۹۶). فلاونوئیدها بزرگ‌ترین گروه پلی‌فنول هستند که دارای اثر ضدالتهابی و حفاظت کبدی می‌باشند (Šutovská et al., 2009). در مطالعه‌ای که توسط غلامی و میرازی در سال ۱۳۹۴ بر روی اثر محافظتی برگ گیاه حرا در سمیت کبدی ناشی از تتراکلرید کربن انجام شده بود مشاهده کردند که القاء تتراکلرید کربن به موش‌های صحرایی به‌طور معنی‌دار موجب افزایش آنزیم‌های کبدی و کاهش کل (Total) پروتئین و آلبومین می‌شود که در اثر تجویز عصاره‌ی هیدروآلکلی برگ گیاه حرا آنزیم‌های کبدی و کل (Total) پروتئین و آلبومین به صورت وابسته به دوز به سطحی مشابه با سطح گروه کنترل رسیدند. این کنترل آسیب کبدی به حضور فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، موسیلاژ و تانن‌ها نسبت داده شد (غلامی و میرازی، ۱۳۹۵) که با مطالعات ما همخوانی داشت. مطالعه‌ی فتاحی و همکاران در سال ۱۳۹۴ نشان داد که گیاه مریم‌گلی با دارا بودن ترکیبات فنلی موجب جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو می‌شود و نقش آنتی‌اکسیدانی و حفاظتی را در برابر آسیب‌های ناشی از سم دیازینون در بافت کبد ایفا می‌کند (فتاحی و همکاران، ۱۳۹۵). در مطالعه‌ی نقش N-استیل‌سیستئین (NAC) در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون در کبد و کلیه‌ی موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته شد. نتایج این ارزیابی نشان داد که دیازینون با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و غلظت گلوتاتیون و افزایش میزان مالون‌دی‌آلدهید (MDA) در بافت‌های کبد و کلیه باعث تولید رادیکال‌های آزاد و وقوع استرس اکسیداتیو می‌شود. NAC به عنوان آنتی‌اکسیدان از طریق حذف رادیکال‌های آزاد و افزایش سنتز گلوتاتیون تا حدی باعث کاهش سمیت دیازینون می‌شود (ایزدی و همکاران، ۱۳۹۲).

تأثیر عصاره‌ی گیاه ختمی بر بهبود توان فیزیولوژیکی ماهی کپور معمولی در مواجهه با سرب و کادمیوم نیز بررسی شده است. در این مطالعه، در گروه‌های دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گل ختمی بعد از آلوده‌سازی با فلزات سنگین، در میزان آنزیم‌های LDH، AST و ALP، کلسترول، کل پروتئین و گلوکز تغییرات معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. میزان این فاکتورها در گروهی که گل ختمی دریافت نکردند بعد از آلوده‌سازی، تغییرات معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد. طبق نتایج این آزمایش به نظر می‌رسد که استفاده از عصاره‌ی گیاه گل ختمی می‌تواند موجب افزایش توان فیزیولوژیک ماهی در مقابل اثرات منفی آلاینده‌های زیست محیطی گردد (آقابابایی و همکاران، ۱۳۹۳). عدم تغییر سطح آنزیم‌های کبدی ماهیان کپور تحت تأثیر نسبت‌های مختلف عصاره‌ی گل ختمی نیز ممکن است ناشی از تأثیر فلاونوئیدها و آنتی‌اکسیدان‌های موجود در عصاره‌ی گل ختمی بر عملکرد فیزیولوژیکی غشای سلول‌ها در بافت کبد، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها و افزایش پایداری غشای سلولی باشد (آقابابایی و همکاران، ۱۳۹۳). در تحقیقی با موضوع اثر محافظت کبدی گیاه ختمی در برابر سمیت

کبدی ناشی از استامینوفن، محققان مشاهده کردند که استامینوفن به‌طور معنی‌داری سطح سرمی مارکرهای آنزیم کبدی را افزایش داد و عصاره‌ی گل ختمی باعث کاهش معنی‌دار در سطح سرمی مارکرهای آنزیم کبدی، به صورت وابسته به دوز، در مقایسه با گروه موش‌های تحت درمان با استامینوفن شد (Hussain *et al.*, 2014). در مطالعه‌ای دیگر، محققان با انجام آزمایشاتی از قبیل دناتوراسیون پروتئین و تثبیت غشای RBC و آزمایش‌هایی برای ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از بافت کبد و روش LPO (lipid peroxidation) خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدآرتیتری و مهارکننده‌ی پراکسیداسیون لیپیدی گیاه *Hibiscus rosa sinensis* یا ختمی چینی را مورد ارزیابی و تأیید قرار دادند (Singh *et al.*, 2018). در مطالعه‌ای اثرات محافظتی عصاره‌ی گیاه *Malva sylvestris* L. از خانواده‌ی مالواسه بر آسیب‌های کلیوی ناشی از ایسکمی و آسیب‌دیدگی کبد مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، عصاره‌ی گیاه پنیرک باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی (کاهش MDA) و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کلیه (افزایش FRAP) شد. طبق نتایج حاصل از این پژوهش، آسیب حاد کلیوی ناشی از ایسکمی-ریپرفیوژن موجب افزایش آنزیم‌های کبدی و افزایش آسیب‌های سلولی در بافت کبد موش‌های صحرایی شد و عصاره‌ی گیاه ختمی از طریق کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو باعث حفاظت کبد در برابر آسیب حاد کلیوی شد (Najafi *et al.*, 2017). در تحقیق دیگری با موضوع اثر محافظتی گیاه پنیرک بر آسیب کبدی القا شده توسط تتراکلرید کربن، نتایج نشان داد که تیمار با عصاره‌ی گیاه پنیرک موجب کاهش سطح آنزیم‌های کبدی به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی تتراکلرید کربن شد و به‌صورت معنی‌داری تمامی شاخص‌های آسیب‌بافتی را بهبود بخشید. محققان اذعان داشتند که عصاره‌ی گیاه پنیرک احتمالاً با مهار برهم‌کنش‌های شیمیایی رادیکال‌های آزاد ناشی از تتراکلرید کربن که آغازکننده‌ی استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی و تغییرات مولکولی هستند و همچنین با سرکوب روند التهاب‌بافتی در کبد، اثر حفاظت‌کنندگی خود در کبد را اعمال می‌کند (تروهید و همکاران، ۱۳۹۴). در مطالعه‌ای دیگر محققان نشان دادند که عصاره‌ی گیاه پنیرک با کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب، موجب تخفیف آسیب‌های کلیوی و کبدی القا شده به وسیله‌ی جنتامایسین می‌شود و به صورت معنی‌داری شاخص‌های آسیب‌بافتی را بهبود می‌بخشد (Yarijani *et al.*, 2019). نتایج فوق با نتایج مطالعه‌ی حاضر همسو می‌باشد. اساس گل ختمی شامل مخلوطی از ترپن‌ها و ترپنوئیدهای طبیعی است که در دیگر گیاهان دارویی نیز یافت می‌شود. این ترکیبات نظیر کارواکرول، تیمول، لینالول، بتا‌بیسابولن، ترپنین دارای ویژگی‌های درمانی متعددی از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (Šutovská *et al.*, 2009). تیمول و کارواکرول پاسخ ایمنی و تغییرات متابولیکی را تحریک می‌کنند و همچنین مانع از آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو از طریق سرکوب سطح ROS، پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش سطح گلوکوتیون می‌شوند. علاوه بر این، کارواکرول می‌تواند با سرکوب بیان ژن TNF و IL-6 باعث تضعیف فرآیندهای التهابی و در نتیجه کاهش آسیب بافت شود (Kim *et al.*, 2014). به‌طور مشابهی، Ramos و همکاران در سال ۲۰۱۴ گزارش کردند که پس از تجویز کارواکرول افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آمینوترانسفراز ناشی از تغذیه با جیره‌ی غنی از چربی به‌طور معنی‌داری تا رسیدن به سطح نرمال کاهش یافت

(Ramos *et al.*, 2014). تجویز خوراکی تیمول و کارواکرول منجر به فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محافظت از سلول‌های کبدی در برابر آسیب‌های شدید می‌شود (Hashemipour *et al.*, 2013). مکمل کارواکرول به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های AST، ALT، ALP و LDH در پلاسمای موش‌های تحت تیمار دی-گلوکزآمین را کاهش داد (Jayakumar *et al.*, 2012). در مطالعه‌ای که رحیمی و همکاران در سال ۱۳۹۴ بر روی اثر حفاظت کبدی گیاه لعل کوهستان در مسمومیت کبدی القا شده با تتراکلرید کربن انجام دادند مشاهده کردند که با تجویز عصاره‌ی هیدروالکلی لعل کوهستان سطوح سرمی آنزیم‌های AST، ALP و ALT که در اثر تجویز کلرید کادمیوم به‌طور معنی‌دار افزایش یافته بودند کاهش یافت و به سطحی مشابه با گروه کنترل رسید. آن‌ها اثر حفاظتی عصاره‌ی لعل کوهستان را به توانایی آن در جدا کردن کادمیم از طریق تشکیل کمپلکس‌های فنل-کادمیم نسبت دادند. مهم‌ترین ترکیبات فنلی گیاه لعل کوهستان تیمول و کارواکرول است. ترکیبات فنلی از طریق اهدای الکترون به رادیکال‌های آزاد واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کند. بنابراین لعل کوهستان احتمالاً از طریق تقویت سیستم آنتی-اکسیدانی، منجر به غیر فعال ساختن رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط کلرید کادمیم می‌شود و از آسیب به غشای سلول‌ها و القای نکروز و همچنین از آزاد شدن آنزیم‌های کبدی به سرم جلوگیری می‌کند (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۴). بنابر این احتمال می‌رود عصاره‌ی گل ختمی به واسطه‌ی دارا بودن فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی، موسیلاژ، آکالوئید و تانن، اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و مهارکننده‌ی پراکسیداسیون لیپیدی را از خود بروز می‌دهد و اثرات حفاظت‌کنندگی خود را در کبد اعمال می‌کند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد تیمار با عصاره‌ی گل ختمی می‌تواند در بهبود آسیب کبدی ناشی از دیازینون مؤثر باشد. القاء سمیت کبدی توسط دیازینون موجب افزایش آنزیم‌های کبدی و میزان کل (Total) بیلی‌روبین و کاهش سطوح سرمی کل (Total) پروتئین و آلبومین سرم شد. تیمار با عصاره‌ی گل ختمی با دوزهای به کار رفته، موجب کاهش معنی‌دار در آنزیم‌های کبدی و کل (Total) بیلی‌روبین و افزایش معنی‌دار در میزان کل (Total) پروتئین و آلبومین سرم گردید که نشان‌دهنده‌ی اثرگذاری مؤثر ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره‌ی فوق بر کاهش سمیت کبدی ایجاد شده است. از آن جایی که اثرات حفاظتی این گیاه بیش‌تر به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئیدی آن نسبت داده شده است، لذا بررسی اختصاصی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مؤثره‌ی موجود در گیاه و همچنین مکانیسم دقیق تأثیر آن‌ها در این اثر حفاظتی، توصیه می‌گردد.

منابع

- آقابابایی، ز.، محسنی، م.، بنایی، م.، نعمت‌دوست حقی، ب. و شوکت، پ. (۱۳۹۳). ارزیابی تأثیر عصاره گیاه ختمی (*Althaea officinalis*) بر بهبود توان فیزیولوژیکی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با سرب و کادمیوم. مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۳(۳): ۵۳-۶۶.
- ایزدی، ف.، جعفری، م.، بهادران، ح.، عسگری، ع.، دیوسالار، ع. و صالحی، م. (۱۳۹۲). بررسی نقش N-استیل سیستئین در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون در کبد و کلیه موش صحرایی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ۱۲(۱۱): ۸۹۵-۹۰۶.
- بهشتی‌پور، ج.، رئیس‌زاده، م.، جمالی، ر. و سیستانی، س. (۱۳۹۶). بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی یونجه بر آسیب کبدی ناشی از نیکوتین در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. ماهنامه علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ۲۵(۱۰): ۷۵۹-۷۶۹.
- تروهید، ف.، میرازی، ن. و صریحی، ع. (۱۳۹۴). بررسی اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی برگ پنیرک (*Malva neglecta* L.) بر آسیب کبدی القا شده توسط تتراکلرید کربن در موش‌های صحرایی نر. مجله سلول و بافت، ۶(۱): ۳۱-۴۲.
- جمالی، ن.، دبیدی روشن، و. و سادات حسینی، ک. (۱۳۹۵). آسیب و استرس اکسیداتیو کبدی ناشی از القای حاد دوزهای مختلف دوکسوروبیسین: اثر پیش‌درمان شش هفته تمرین منظم هوازی. مجله پزشکی ارومیه، ۲۷(۴): ۳۲۰-۳۱۰.
- رحیمی، س.، مختاری، م.، شریعتی، م. و رحیمی، م. (۱۳۹۴). اثر هیپاتوپروتکتیو (حفاظت کبدی) عصاره هیدروالکلی لعل کوهستان (*Oliveria decumbens*) در برابر مسمومیت کبدی القا شده با کلرید کادمیوم در موش صحرایی نر بالغ. مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، ۲۵(۲): ۱۰۵-۱۱۱.
- غلامی، م. و میرازی، ن. (۱۳۹۴). اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا (*Avicennia marina* L.) بر کبد موش صحرایی نر القاء شده با تتراکلرید کربن. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، ۲۰(۱۰): ۱۰۵.
- فتاحی، ا.، حاجی‌زاده مقدم، ا. و باقری، ط. (۱۳۹۵). بررسی اثرات محافظت کبدی تمرین اختیاری و عصاره گیاه مریم‌گلی بر سمیت القا شده توسط دیازینون در موش‌های صحرایی. فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری، ۹(۳): ۶۵-۷۳.
- ندایی، ل. و میرازی، ن. (۱۳۹۵). اثرات محافظت کبدی عصاره هیدرواتانولی *Tragopogon graminifolius* L. در بهبود آسیب کبدی موش‌های صحرایی نر تحت مسمومیت حاد با تتراکلرید. مجله سلول و بافت، ۷(۲).
- Hussain, L., Akash, M. S. H., Tahir, M., Rehman, K., & Ahmed, K. Z. (2014). Hepatoprotective effects of methanolic extract of *Alcea rosea* against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 9(3), 322-327.
- Al-Snafi, A. E. (2013). The pharmaceutical importance of *Althaea officinalis* and *Althaea rosea*: A review. *Int J Pharm Tech Res*, 5(3), 1387-1385.
- Ashgar, M., Sheikh, A.M. and Hashmi, A. (1994). Effects of orally fed methyl parathion on some hematochemical parameters of rabbits. *Pakistan. Vet. J*, 14: 34-36.
- Ashtiyani, C., Yarmohammady, P., Hosseini, N., & Ramazani, M. (2015). The Effect of *Althaea officinalis* L Root Alcoholic Extract on Blood Sugar Level and Lipid Profiles of Streptozotocin Induced-Diabetic Rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 17(3), 238-250.
- Banaee, M., Mirvaghefi, A.R., Rafiee, G.R. and Mojazi Amiri, B. (2008). Effect of sublethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. *International Journal of Environmental Research*, 2(2), 189-198.

- Bernstein R.M., Schluter S.F. and Marchalonis J.J. (1997). Immunity In: "The Physiology of Fish". (2nd ed) Evans, D. H (Ed). New York .CRC Press. 215-242.
- Canli, M. (1996). Effects of Mercury, Chromium and Nickel on Glycogen Reserves and Protein Levels in Tissues of *Cyprinus caprio*. Turkish Journal of Zoology, 20, 161-168.
- Shah, M. D., & Iqbal, M. (2010). Diazinon-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. Food and chemical toxicology, 48(12), 3345-3353.
- Gokcimen, A., Gulle, K., Demirin, H., Bayram, D., Kocak, A., & Altuntas, I. (2007). Effects of diazinon at different doses on rat liver and pancreas tissues. Pesticide biochemistry and physiology, 87(2), 103-108.
- Gomes, J., Dawodu, A. H., Lloyd, O., Revitt, D. M., & Anilal, S. V. (1999). Hepatic injury and disturbed amino acid metabolism in mice following prolonged exposure to organophosphorus pesticides. Human & experimental toxicology, 18(1), 33-37.
- Hashemipour, H., Kermanshahi, H., Golian, A. & Veldkamp, T. (2013). Effect of thymol and carvacrol feed supplementation on performance, antioxidant enzyme activities, fatty acid composition, digestive enzyme activities, and immune response in broiler chickens. Poultry Science, 92(8): 2059-2069.
- Jayakumar, S., Madankumar, A., Asokkumar, S., Raqhunandhakumar, S. & Gokula dhas, K. (2012). Potential preventive effect of carvacrol against diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in rats. Molecular and Cellular Biochemistry, 360(1): 51-60.
- Jouhari, H. E., Shariati, M., Abbasi, S., Sharifi, E., & Askari, H. R. (2010). The effects of diazinon on pituitary-gonad axis and ovarian histological changes in rats.
- Kalender, S., Ogutcu, A., Uzunhisarcikli, M., Açikgoz, F., Durak, D., Ulusoy, Y., & Kalender, Y. (2005). Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. Toxicology, 211(3), 197-206.
- Kim, Y. S., Hwang, J. W., Kang, S. H., Kim, E. H., Jeon, Y. J., Jeong, J. H., ... & Park, P. J. (2014). Thymol from *Thymus quinquecostatus* Celak. protects against tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative stress in Chang cells. Journal of natural medicines, 68(1), 154-162.
- Mitra, V., & Metcalf, J. (2012). Metabolic functions of the liver. Anaesthesia & Intensive Care Medicine, 13(2), 54-55.
- Morowati, M. (1997). Inhalation toxicity studies of thimet (phorate) in male Swiss albino mouse, *Mus musculus*: I. Hepatotoxicity. Environmental pollution, 96(3), 283-288.
- Mosihuzzaman, M., & Choudhary, M. I. (2008). Protocols on safety, efficacy, standardization, and documentation of herbal medicine (IUPAC Technical Report). Pure and Applied Chemistry, 80(10), 2195-2230.
- Najafi, H., Mohamadi Yarijani, Z., Changizi-Ashtiyani, S., Mansouri, K., Modarresi, M., Madani, S. H., & Bastani, B. (2017). Protective effect of *Malva sylvestris* L. extract in ischemia-reperfusion induced acute kidney and remote liver injury. PloS one, 12(11), e0188270.
- Osawa, T., & Kato, Y. (2005). Protective role of antioxidative food factors in oxidative stress caused by hyperglycemia. Annals of the New York Academy of Sciences, 1043(1), 440-451.
- Ramos, M., Beltrán, A., Peltzer, M., Valente, A.J.M. & del Carmen Garrigós, M. (2014). Release and antioxidant activity of carvacrol and thymol from polypropylene active packaging films. LWT-Food Science and Technology, 58(2), 470-477.

- Rebl, A., Verleih, M., Korytář, T., Kühn, C., Wimmers, K., Köllner, B., & Goldammer, T. (2012). Identification of differentially expressed protective genes in liver of two rainbow trout strains. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 145(1-2), 305-315.
- Saulsbury, M. D., Heyliger, S. O., Wang, K., & Johnson, D. J. (2009). Chlorpyrifos induces oxidative stress in oligodendrocyte progenitor cells. *Toxicology*, 259(1-2), 1-9.
- Singh, K.G., Sonia, S., & Konsoor, N. (2018). In-vitro and ex-vivo studies on the antioxidant, anti-inflammatory and antiarthritic properties of *Camellia sinensis*, *Hibiscus rosa sinensis*, *Matricaria chamomilla*, *Rosa* SP., *Zingiber officinale* tea extracts. *inflammation*, 49, 50.
- Stockham, S.L. and Scott, M. (2008). *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2nd ed. Blackwell publishing. PP:437-438,649-652,655-659,664665,676-690.
- Šutovská, M., Nosáľová, G., Šutovský, J., Fraňová, S., Prisenžňáková, L., & Capek, P. (2009). Possible mechanisms of dose-dependent cough suppressive effect of *Althaea officinalis* rhamnogalacturonan in guinea pigs test system. *International Journal of Biological Macromolecules*, 45(1), 27-32.
- Sweetman, S.C. (2011). *Martindale: The Complete Drug Reference* 37th ed. Pharmaceutical Press.
- Yarijani, Z.M., Najafi, H., Shackebaei, D., Madani, S.H., Modarresi, M., & Jassemi, S.V. (2019). Amelioration of renal and hepatic function, oxidative stress, inflammation and histopathologic damages by *Malva sylvestris* extract in gentamicin induced renal toxicity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 112, 108635.
- Yassa, V.F., Girgis, S.M. & Abumourad, I.M.K. (2011). Potential protective effects of vitamin E on diazinon-induced DNA damage and some haematological and biochemical alterations in rats. *Journal of Mediterranean Ecology*, 11, 31-39.

Protective Effects of Alcoholic Extract of *Althaea officinalis* on Diazinone-Induced liver toxicity in Adult male hamster

M. Morovati-sharifabad^{1*}, Z. Lotfi², E. Salehi³

Received: 2019.11.28

Accepted: 2020.6.27

Abstract

Diazinon is one of the most widely used organophosphorus insecticides, to control plant pests in agricultural fields and is known to be a harmful environmental pollutant in the world. Therefore, the study aimed to investigate the hepatoprotective effects of alcoholic extract of *Althaea officinalis* against Diazinon-induced liver damage in adult male hamsters. 42 male hamsters were divided into six groups: The positive control group received distilled water, The negative control group received Diazinon poison, The group receiving the *Althaea officinalis* extract (300 mg/kg) and the group receiving the *Althaea officinalis* extract (600 mg/kg) received alcoholic extract of *Althaea officinalis* at doses of 300 mg/kg and 600 mg/kg of body weight, The group receiving Diazinon and the *Althaea officinalis* extract (300 mg/kg) and the group receiving Diazinon and the *Althaea officinalis* extract (600 mg/kg) received Diazinon toxin first and then alcoholic extract of *Althaea officinalis* at doses of 300 mg/kg and 600 mg/kg of body weight. Daily the hamsters were treated orally for 15 days. At the end of the experiment, blood samples were taken and serum levels of Alanine aminotransferase, Aspartate aminotransferase, Alkaline phosphatase, the whole (total) Bilirubin, the whole (total) protein and serum Albumin were measured. Data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey's test using SPSS software. In Diazinon group, there was a significant increase in serum levels of Alanine aminotransferase, Aspartate aminotransferase, Alkaline phosphatase, the whole (total) Bilirubin and a significant decrease in serum (total) protein and Albumin levels compared with the positive control group. Alcoholic extract of *Althaea officinalis* caused a significant and dose-dependent decrease in the levels of hepatic enzymes and the whole (total) Bilirubin and significant increase in the whole (total) protein and serum Albumin levels. The result of this study showed that *Althaea officinalis* has a protective and therapeutic effect against Diazinon-induced hepatotoxicity in hamster.

Keywords: *Althaea officinalis*, Hepatotoxicity, Liver enzymes, Organophosphate

1-Assistant professor, Department of Basic sciences, faculty of Veterinary medicine, Ardakan university, Ardakan, Iran

*(Corresponding Author: mmorovati@ardakan.ac.ir)

2-M.Sc of cell and developmental biology, Department of Basic sciences, Ardakan university, Ardakan, Iran

3-Assistant professor, Department of Basic sciences, faculty of Veterinary medicine, Ardakan university, Ardakan, Iran

Content

The effect of ecological and edaphic factors on the active ingredients of Euphorbia (*Euphorbia helioscopia* L.)

N. Jafari, S. M. Hosseini, M. A. Ebrahimzadeh.....24

Effect of Different Levels of Biomin Imbo Synbiotic on Growth Indices, Feeding Factors and Survival Rate of Convict cichlid fish(*Amatitlania nigrofasciata*)

R. Changizi, H. Manouchehri, S. M. Hosseinifard, S. Ghobadi.....36

Evaluation of ecosystem health of Bazangan wetland (Mashad-Iran) via qualitative, biological and biodiversity indices

A. Heydari, O. Safari, H. Ahmadniaye Motlagh.....51

Screening and isolation of some phenol-degrading bacteria from petroleum-contaminated soils

F. Rabbani, V. Jafarian, A. Asoodeh.....69

Impact of Temperature, Irradiance and photoperiod on Biomass and Alginate Content of Brown Alga *Sargassum boveanum*

F. Rafiei, P. Nejatkhah manavi, H. Kermanshahi.....83

Effect of essential oil of *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi* on blood metabolites and histopathology of liver and kidney male Wistar rat under dexamethasone-induced stress

A.Riasi ,R. Abasi, A. M. Mahdavi, A. Talebi, S.Abdollahzadeh.....98

Evaluatation of water quality of Ghareh-Aghaj River(Fars province ,Iran) based on macrobenthos indices

H. Shahradiania, A. Chamani, M. Zamanpoore.....110

Morphological characters of Scales in ten Mullet species from Iran

N. Firouzi, J. Ghasemzadeh, M.S. Alavi-Yeganeh121

Medicinal Plants of Bazarjan Region (Tafresh, Markazi Province, Iran)

M. Mohammadi, S. Jalali, Z. Tavakkli, F. Ghahremaninejad.....134

Protective Effects of Alcoholic Extract of *Althaea officinalis* on Diazinone-Induced liver toxicity in adult male hamster

M. Morovati-sharifabad, Z. Lotfi, E. Salehi153

Journal of Applied Biology
Autumn 2020

Alzahra University - Vice Chancellery for Research

Chief Editor: A. Abdi Ali, Associate Professor of Alzahra University

Director in charge: M.Seifali, Assistant Professor of Alzahra University

Associate Editor: P. Ghadam, Associate Professor of Alzahra University

Editorial Boards

F. Eftekhari, Associate Professor of Shahid Beheshti University

M. Aghdasi, Associate Professor of Golestan University

M. Pakravan, Associate Professor of Alzahra University

N. Hosseinmardi, Associate Professor of Shahid Beheshti University of Medical Sciences.

F. Darvishi, Professor of Alzahra University

M. Seyyedi, Associate Professor of Tehran University

M. Soudi, Professor of Alzahra University

A. Saboora, Associate Professor of Alzahra University

P. Ghadam, Associate Professor of Alzahra University

Z. Minochehr, Associate Professor of Tehran University

T. Valinassabpouri, Research Professor of Iranian Fisheries Science Research Institute

International Editorial Board: H. Rajaei, Professor of Zoology Research Alexander Quinn

Executive Manager: Sh. Borjian

Publisher: Alzahra University - Vice Chancellery for Research

English& Persian Editor: Banafsheh Mohamadi

Printing and Binding: Graduate Publishing

Circulation: 10 copies

Publication Frequency: Quarterly

Price: 10000 Rls

In order to have access to the table of Contents and abstracts contact:

Address: Alzahra University-Vice Chancellery for Research, Vanak Sq, Tehran, 1993891176, Iran.

Tel/Fax:021- 85692205

Website: <http://journals.alzahra.ac.ir/jab>

ISSN: 1607- 9884

Email: Japplbiol@alzahra.ac.ir