تأثیر محیط‌های مختلف کشت بر رشد سیانوباکتری‌های خاک‌زی برای استفاده در حفاظت خاک و آب

عاطفه جعفرپور*[۱]، سیدحمیدرضا صادقی [۲و۳]، مهدی همایی [۳و۴]، بهروز زارعی‌دارکی [۵]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۲۴)

چکیده

سیانوباکتری‌ها یکی از اجزای اصلی پوسته‌های زیستی خاک در مناطق خشک و نیمه‌خشک هستند که در لایه سطحی خاک رشد می‌کنند و با ترشح مواد پلی‌ساکاریدی در چرخه عناصر شرکت کرده و نقش مهمی در بهبود کیفیت و حاصلخیزی خاک دارند. بر همین اساس، در سال‌های اخیر با کشت و تولید زی‌توده موردنیاز در شرایط آزمایشگاهی و با تلقیح در سطح خاک در مباحث حفاظت منابع خاک و آب مورد استفاده قرار گرفته‌اند. ولی تاکنون ارزیابی جامعی برای شناسایی محیط‌های کشت مناسب ریزموجودات خاک‌زی گزارش نشده است. در همین راستا، پژوهش حاضر باهدف انتخاب محیط کشت بهینه برای رشد سیانوباکتری‌ها در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. برای این هدف به مقایسه عملکرد سه محیط کشت BBM، BG_{11} و CHU_{10} در مدت زمان رشد یک‌ماهه سیانوباکتری‌های خاک‌زی پرداخته شد. نتایج نشان داد سیانوباکتری‌های خاک‌زی در محیط کشت BBM نسبت به دو محیط کشت دیگر رشد بهتری داشته‌اند؛ به‌طوریکه در انتهای دوره رشد تعداد سیانوباکتری‌های رشد یافته در محیط کشت‌های BBM، BG11 و CHU10 به ترتیب ۹۱۷۹۰، ۴۸۶۳۸ و ۱۴۹۱ عدد در یک میلی‌لیتر بوده است. بنابراین محیط کشت BBM به‌عنوان محیط کشت بهینه برای استفاده در خصوص تهیه زی‌توده موردنیاز از سیانوباکتری‌ها برای تلقیح در سطح خاک انتخاب و پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: افزودنی آلی خاک، ریزموجودات خاک‌زی، عناصر رشد، مدیریت زیستی فرسایش خاک

جعفرپور ع.، صادقی ح. ر، مهدی همایی م.، زارعی‌دارکی ب. ۱۴۰۲. تأثیر محیط‌های مختلف کشت بر رشد سیانوباکتری‌های خاک‌زی برای استفاده در حفاظت خاک و آب. تحقیقات کاربردی خاک. جلد ۱۱، شماره ۲. صفحه: ۷۱-۸۱.

۱- دانش‌آموخته دکتری، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی تربیت مدرس، دانشگاه تربیت مدرس
۲- استاد گروه مهندسی آبخیزداری، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی تربیت مدرس، دانشگاه تربیت مدرس
۳- هسته اگروهیدرولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس
۴- استاد گروه مهندسی معدن، دانشکده فنی مهندسی، دانشگاه تربیت مدرس
۵- دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس
* پست الکترونیک: atefeh.jafarpoor@modares.ac.ir

مقدمه

تخریب اراضی به‌وسیله فرسایش و پیامدهای ناشی از آن یکی از چالش‌های محیط‌زیستی و تهدیدکننده منابع آب‌وخاک است که منجر به کاهش حاصلخیزی، قدرت تولید اراضی و تهدید امنیت غذایی می‌شود (Chamizo *et al.*, 2017; Hajigholizadeh *et al.*, 2018). در این راستا در سال‌های اخیر روش‌های احیا و تحکیم لایه سطحی خاک با استفاده از روش‌های زیست‌مهندسی و توسعه پوسته‌های زیستی در مراحل اولیه فرسایش موردتوجه قرارگرفته است (Kheirfam *et al.*, 2017 a,b). ازجمله ریزموجودات خاک‌زی تولیدکننده پوسته‌های زیستی سیانوباکتری‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها، گلسنگ‌ها و خزه‌ها را می‌توان نام برد (Barger *et al.*, 2013; Muñoz-Martín *et al.*, 2019) که در لایه سطحی خاک تشکیل می‌شوند و نقش مهمی در فرآیندهای هیدرولوژی و فرسایش خاک دارند (Jafarpoor *et al.*, 2000b).

سیانوباکتری‌ها یا جلبک‌های سبزآبی گروهی از پروکاریوت‌های فتوسنتزی و به‌عنوان اولین حلقه تشکیل‌دهنده بوم‌سازگان هستند که در سراسر زمین پراکنش دارند (Chamizo *et al.*, 2017; Rossi *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2019). سیانوباکتری‌ها به‌عنوان تولیدکنندگان منابع غذایی برای سایر ریزموجودات بوده و با ترشح اگزوپلی‌ساکارید (Maqubela *et al.*, 2012; Tiwari *et al.*, 2019) توانایی تثبیت نیتروژن، کربن، فسفر رادارند که باعث تقویت خاک و جلوگیری از فرسایش می‌شود (Kim *et al.*, 1997; Kheirfam *et al.*, 2017b; Román *et al.*, 2021). این ریزموجودات تحمل مقاومت به شرایط سخت محیطی با دمای بالا، شوری، رطوبت، اشعه ماوراءبنفش خورشیدی، شرایط قلیایی و اسیدی محیط را دارند (Huixia *et al.*, 2007; Fallah *et al.*, 2010). سیانوباکتری‌ها در سطح خاک با ترشح مواد چسبنده پلی‌ساکاریدی و اگزوپلی‌ساکاریدی باعث به‌هم‌پیوستگی خاکدانه‌ها شده، هدررفت خاک را در فرسایش آبی و بادی کاهش می‌دهد (Kheirfam *et al.*, 2017a,b; Kheirfam *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2019; Gharemahmoodli *et al.*, 2020; Kheirfam & Asadzadeh, 2020; Jafarpoor *et al.*, 2022a,b). از طرفی برای رشد بهینه به نور، رطوبت و عناصر غذایی نیاز دارند. در این میان وجود آهن در ترکیبات غذایی سیانوباکتری‌ها برای انجام فعالیت‌های حیاتی و تثبیت نیتروژن ضروری است (Kaushik et al., 2019). از طرفی کربن و نیتروژن هر دو برای فعالیت‌های سلولی مورد نیازند (Zhang *et al.*, 2018). در این راستا در شرایط آزمایشگاهی برای رشد سیانوباکتری‌ها تأمین عناصر غذایی با استفاده از تهیه محیط کشت‌های مختلف صورت می‌گیرد. در محیط کشت عناصر موردنیاز برای رشد سیانوباکتری‌ها وجود دارد با این تفاوت که در محیط کشت‌های مختلف مقدار و نوع عناصر متفاوت است. بر همین اساس افزایش جمعیت سیانوباکتری‌ها در سطح خاک با استفاده از روش تلقیح مصنوعی رویکردی نوین در حفاظت منابع خاک و آب است (Chamizo *et al.*, 2017; Sadeghi *et al.*,2021) و برای تلقیح مصنوعی نیاز به کشت و به حجم رساندن سیانوباکتری‌ها در آزمایشگاه و پس از آن تلقیح به سطح خاک انجام می‌شود. برای این منظور از محیط کشت‌های مختلف که مواد غذایی اولیه برای رشد سیانوباکتری‌ها را دارند می‌توان در آزمایشگاه استفاده کرد (Kheirfam *et al.*, 2017b,c; Li *et al.*, 2019). در این خصوص Safari *et al.*, 2014 از محیط کشت BG_{11}[1] برای خالص‌سازی سیانوباکتری‌ها استفاده کردند. همچنین Kheirfam *et al.*, 2017b,c; در آزمایشگاه با استفاده از محیط کشت CHU_{10}[2] سیانوباکتری‌های خاک‌زی را به حجم مورد نظر برای تلقیح در کرت‌های آزمایشی تهیه کردند. Román *et al.*, 2021 Kuwabara *et al.*, 2021; نیز از محیط کشت BG_{11} برای کشت و خالص‌سازی سیانوباکتری‌ها استفاده کردند. از طرفی Gharemahmoodli *et al.*, 2020; Jafarpoor *et al.*, 2022a,b برای کشت و خالص‌سازی سیانوباکتری‌های خاک‌زی از محیط کشت BBM[3] استفاده کردند.بر همین اساس پژوهش حاضر باهدف انتخاب بهترین محیط کشت برای رشد سیانوباکتری‌های خاک‌زی در دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس انجام پذیرفت. نتایج پژوهش حاضر با ارائه محیط کشت مناسب رشد سیانوباکتری‌های خاک‌زی برای انجام مطالعات تولید مصنوعی سیانوباکتری‌ها برای تلقیح در سطح خاک مفید خواهد بود.

۱. Blue Green Medium

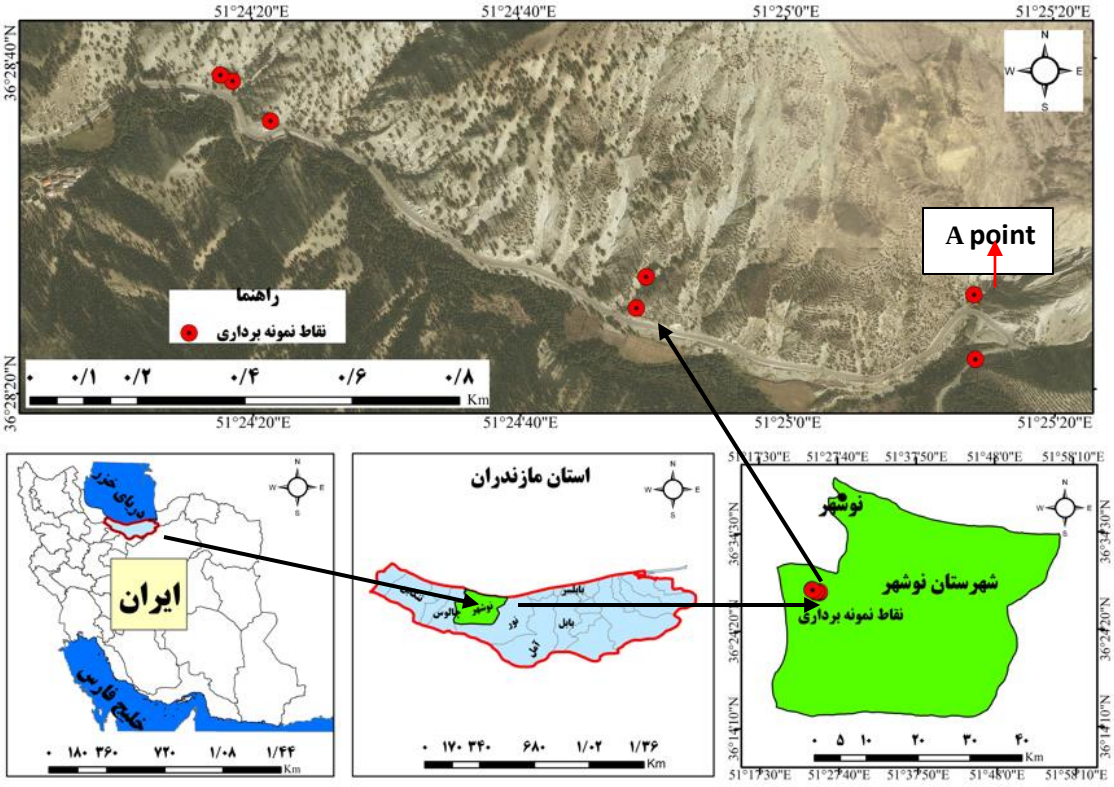
۲. Chus Medium

۳. Bold Basal's Medium

مواد و روش‌ها

خاک موردمطالعه

منطقه موردمطالعه، منطقه مرزن‌آباد از زیرحوزه‌های آبخیز رودخانه چالوس واقع در غرب استان مازندران، جنوب شهرستان نوشهر در شمال ایران است. دلیل انتخاب این منطقه وجود تشکیلات حساس، فرسایش‌پذیری و تولید رسوب بالای خاک و قابلیت دسترسی آسان بوده است (Kheirfam *et al.*, 2017a,b,c; Sadeghi *et al.*, 2020b; Jafarpoor *et al.*, 2022a,b). نمونه‌های خاک منطقه از هفت نقطه نماینده منطقه به‌صورت تصادفی انتخاب شدند. شکل ۱ نمونه‌برداری از خاک منطقه موردمطالعه را نشان می‌دهد.



شکل ۱- موقعیت منطقه و محل نمونه‌برداری خاک موردمطالعه در استان مازندران و کشور

Figure 1 Location of the study area and soil sampling site in Mazandaran province and the country

کشت و شناسایی سیانوباکتری‌های خاک‌زی

در پژوهش حاضر برای مقایسه محیط کشت‌های BBM، BG_{11} و CHU_{10} بر رشد سیانوباکتری‌های خاک‌زی، محیط کشت‌های موردمطالعه آماده و به مدت ۳۰ دقیقه برای استریل اتوکلاو، و پس از اتوکلاو شدن به مدت ۲۰ دقیقه در زیر هود UV قرار داده شدند. در ادامه نمونه‌های خاک برای کشت، شناسایی و خالص‌سازی سیانوباکتری‌ها از الک دو میلی‌متر عبور و حدود پنج گرم در ظروف پتری ریخته شد (Chamizo *et al.*, 2012; Kheirfam *et al.*, 2016; Kheirfam *et al.*, 2017a,b,c) و تعداد هفت لامل برای بررسی دوره رشد سیانوباکتری‌های موجود در خاک موردمطالعه در ظروف پتری قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار داده شد (Gharemahmoodli *et al.*, 2020; Sadeghi *et al.*, 2020a,b; Sadeghi *et al.*, 2021). در مرحله بعد تنظیمات نور موردنیاز برای رشد سیانوباکتری‌ها انجام و به‌صورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی تنظیم شد و در دوره زمانی یک‌ماهه به‌طور متوسط هر چهار روز یک نمونه از لامل‌های قرار داده‌شده در ظروف برداشته و پس از شستشو با آب مقطر و سانترفیوژ کردن به میکروتیوب‌های دو میلی‌لیتری انتقال داده شد (Jafarpoor *et la.*, 2022b). برای شمارش تعداد ریزموجودات موجود در میکروتیوب‌ها، از لام نئوبار و در زیر میکروسکوپ استفاده شد. نتایج حاصل از شمارش با استفاده از روش Korde و استفاده از جدول ارائه شده روش

مذکور به تعداد در لیتر تبدیل شد (Korde, 1956; Barinova and Nevo, 2012). در این روش شش مقیاس برای شمارش در نظر گرفته می‌شود، بدین صورت که اگر تعداد سلول‌های (یا رشته که در پژوهش حاضر رشته‌های سیانوباکتری‌های رشد یافته شمارش شده است) سیانوباکتری مشاهده شده یک و یا کمتر از یک سلول در هر بخش از چهار قسمت لام نئوبار باشد، تعداد سلول‌ها 10^3سلول در لیتر است، اگر دو تا ۱۰ سلول در هر بخش لام نئوبار مشاهده شود، تعداد 10^3 تا 10^4 سلول در لیتر وجود دارد. همچنین اگر ۱۰ تا ۴۰ سلول در هر بخش مشاهده شود تعداد سلول‌های سیانوباکتری 10^4 تا 10^5 سلول در لیتر است. همچنین اگر به ترتیب تعداد سلول مشاهده شده در هر بخش از لام نئوبار برابر با ۴۰-۶۰، ۶۰-۸۰ و ۸۰-۱۰۰ سلول باشد تعداد سلول در لیتر برابر خواهد بود با 10^5-10^6، 10^6-10^7 و بیش از 10^7 (Barinova *et la*.,2017). برای این منظور و با توجه به تعداد نقاط نمونه‌برداری، تکرارهای موجود و هم‌چنین محیط کشت‌های مختلف، شمارش حدود ۶۳۰ نمونه در زیر میکروسکوپ صورت گرفت و نمودار رشد سیانوباکتری‌ها به دست آمد. شکل ۲ مراحل کشت و شناسایی ریزموجودات در آزمایشگاه فایکولب دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس را نشان می‌دهد. هم‌چنین پس از برداشت هفت سری لامل قرار داده‌شده در ظروف پتری، به ظروف پتری ۱۰ میلی‌لیتر از محیط کشت اضافه و به مدت پنج روز در همان شرایط دوره رشد قرار داده شد. در جدول ۱ ترکیبات مورد نیاز در محیط کشت‌های مورد مطالعه ارائه شده است. همچنین در شکل ۳ کشت سیانوباکتری از روز ۲۰، ۲۴، ۲۸ نمونه‌برداری و نیز پایان نمونه‌برداری و اضافه کردن محیط کشت مجدد در نقطه A برای سه محیط کشت موردمطالعه ارائه شده است.

جدول ۱- ترکیبات موردنیاز محیط کشت‌های اختصاصی CHU_{10}، BG_{11} و BBM برای سیانوباکتری‌های خاک‌زی

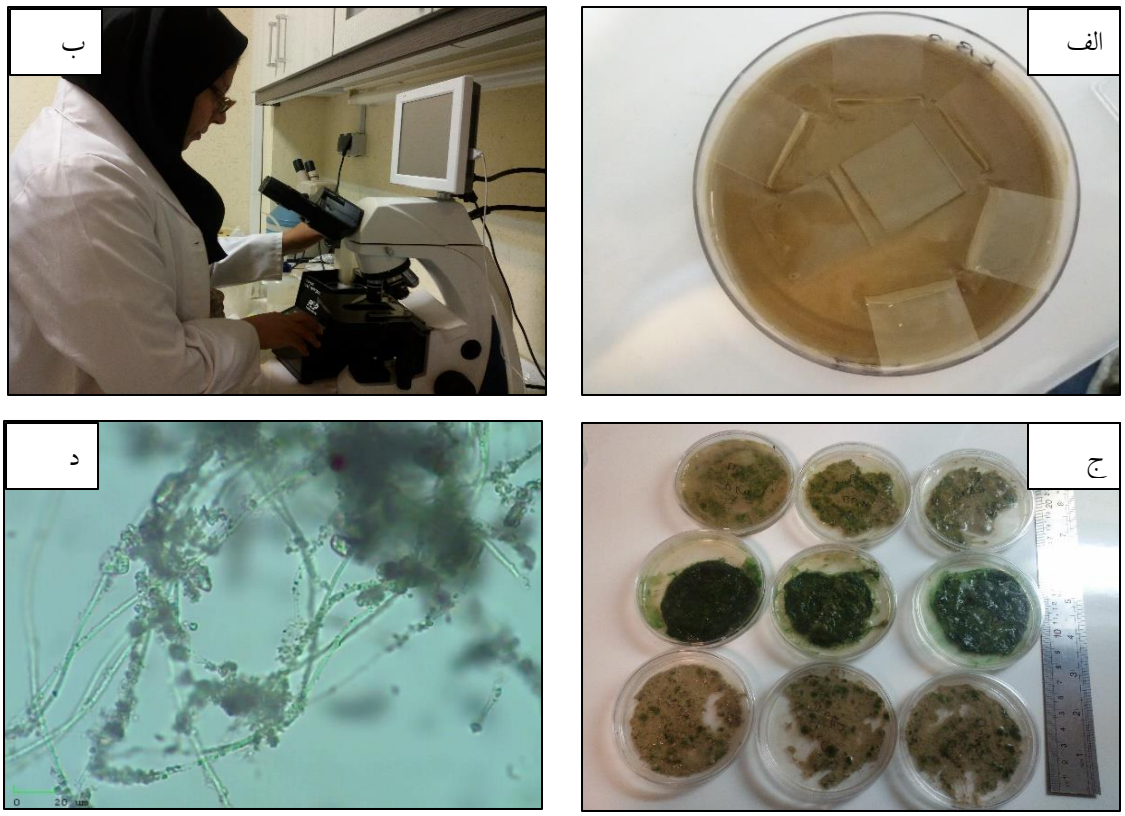
Table 1. Required compounds of CHU_{10}, BG_{11} and BBM specific culture media for soil cyanobacteria

BBM		BG11		CHU10	
Component	Stock solution ($g.l^{-1}$)	Component	Stock solution ($g.l^{-1}$)	Component	Stock solution ($g.l^{-1}$)
$NaNo_3$	0.25	$NaNo_3$	1.5	Ca(NO3)2.4H2O	0.232
$CaCl_2.2H_2O$	0.025	K_2HPO_4	0.04	K2HPO4	0.01
$MgSO_4.7H_2O$	0.075	$MgSO_4.7H_2O$	0.075	MgSO4.7H2O	0.025
K_2HPO_4	0.075	$CaCl_2.2H_2O$	0.036	Na2CO3	0.02
KH_2PO_4	0.175	Citric Acid·H_2O	0.006	Na2SiO3.5H2O	0.044
NaCl	0.025	Ammonium Ferric Citrate	0.006	Ferric Citrate	0.0035
Alkaline[1] EDTA Solution	0.05	Na2EDTA·$2H_2O$	0.001	Citric Acid	0.0035
$FeSO_4.7H_2O$	0.031				
H_2SO_4	0.0498	Na2CO3	1.5	Noble Agar	15
Trace[2] Metals solution	* 1 ml	Trace Metals solution	1 ml		

* مواد میکرو المنت به‌طور مجزا در یک لیتر یا ۱۰۰ میلی‌لیتر تهیه و سپس ۱ میلی لیتر به محیط اصلی اضافه می‌شوند.

1 EDTA (Titriplex III), KOH

2 $H3BO3$, $ZnSO4.7H2O$, $MnCl2.4H_2O$, MoO_3, $CuSO_4.5\ H_2O$, $Co(NO_3)_26H_2O$

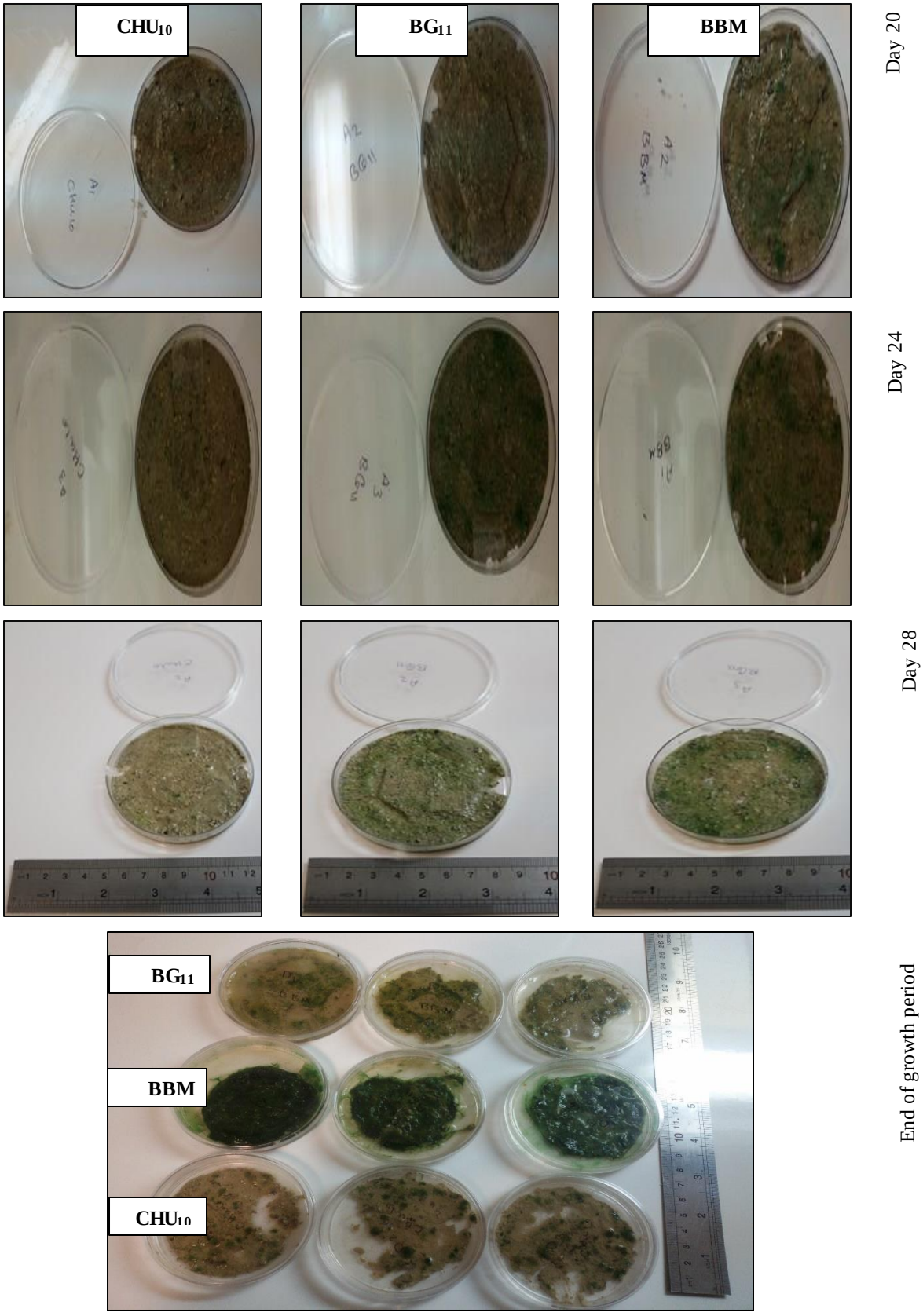


شکل ۲- مراحل مختلف کشت و شناسایی سیانوباکتری‌های خاک‌زی: قرار دادن لامل‌ها برای بررسی دوره رشد (الف)، شمارش (ب)، انتهای دوره رشد (ج) و نمونه‌های سیانوباکتری‌های رشته‌ای درهم‌تنیده (د)

Figure 2. Different stages of culture and identification of soil cyanobacteria: Placement of slides to study growth period (a), count (b), end of growth period (c) and samples of intertwined filamentous cyanobacteria (d)

نتایج و بحث

بررسی‌های انجام‌شده نشان داد که در خاک منطقه موردمطالعه و در محیط کشت‌های مختلف ریزموجودات نام‌برده به شرح مندرج در جدول ۲ وجود داشته و از رشد قابل گزارش برخوردار بوده‌اند. هم‌چنین تعداد سیانوباکتری‌ها در طول دوره رشد و در زیر میکروسکوپ شمارش و متوسط تعداد سیانوباکتری رشد یافته در نقاط موردمطالعه به‌صورت نمودار رشد در شکل ۴ ارائه‌شده است. نتایج نشان داد با اضافه کردن محیط کشت BBM به خاک موردمطالعه گونه‌های بیش‌تری از سیانوباکتری‌ها و جلبک‌های خاک‌زی رشد یافته است. هم‌چنین شمارش رشته‌های سیانوباکتری‌های رشد یافته در طول دوره رشد یک‌ماهه نشان داد در تیمار BBM نسبت به BG_{11} و CHU_{10} بیش‌تر بوده است. به عبارتی عناصر استفاده‌شده در محیط کشت BBM نیاز غذایی ریزموجودات بیش‌تری را داشته و شرایط بهتری برای رشد را فراهم کرده است. با توجه به جدول ۱ محیط کشت‌های اختصاصی شامل میزان متفاوتی از میکرو و ماکرو عناصر برای رشد انواع سیانوباکتری‌ها هستند. در دو محیط کشت BBM و BG_{11} ترکیبات مورد استفاده شباهت بیشتری با هم داشته و نسبت به CHU_{10} تفاوت بیشتری دارد.



شکل ۳- رشد سیانوباکتری‌ها در محیط کشت‌های موردمطالعه در روزهای مختلف

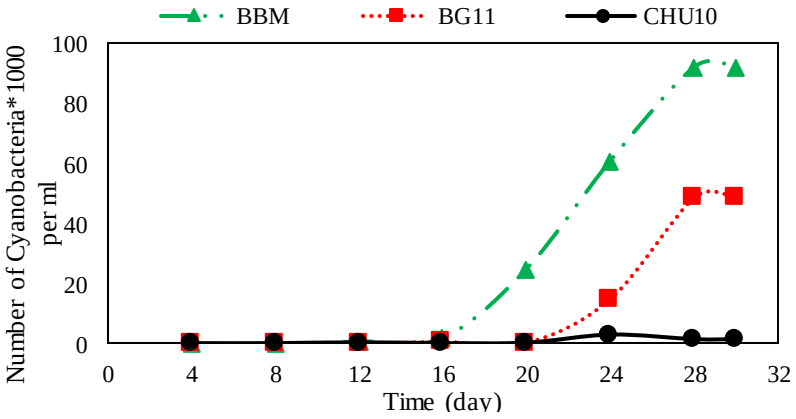
Figure 3. Growth of cyanobacteria in the culture medium studied on different days

در همین راستا دو ترکیب $MgSO_4.7H_2O$ و K_2HPO_4 در هر سه محیط کشت مشترک با مقدار مصرف متفاوت است. همچنین $NaNo_3$ ، $CaCl_2.2H_2O$ و Trace Metals solution در محیط کشت‌های BBM و BG_{11} استفاده می‌شود و در محیط کشت CHU_{10} به عنوان عناصر مورد نیاز ارائه نشده است هر چند عناصر سدیم، کلسیم و نیتریت به صورت ترکیب متفاوت در این محیط کشت استفاده شده است. با توجه به رشد بیشتر رشته‌های سیانوباکتری و حتی گونه‌های بیشتر از سیانوباکتری‌های موجود در خاک منطقه در دو محیط کشت BBM و BG_{11} شاید بتوان گفت علاوه بر ضرورت عناصر یاد شده نوع ترکیب مورد استفاده نیز در رشد سیانوباکتری‌های خاک‌زی تأثیرگذار بوده است. از طرفی وجود آهن در ترکیبات غذایی برای رشد سیانوباکتری‌ها ضروری است که در محیط کشت BBM ترکیب $FeSO_4.7H_2O$ استفاده شده است که در دو محیط دیگر وجود ندارد. به هر تقدیر، تفاوت در میزان رشد انواع سیانوباکتری‌ها در محیط کشت‌های مختلف به نوع عناصر مصرفی، ترکیب و میزان مصرف بستگی دارد. بر همین اساس در پژوهش حاضر محیط کشت BBM به‌عنوان محیط کشت بهینه برای رشد سیانوباکتری‌های خاک‌زی انتخاب و برای مطالعات تلقیح مصنوعی سیانوباکتری‌ها در حفاظت منابع خاک‌وآب پیشنهاد می‌شود.

جدول ۲- ریزموجودات رشد یافته در محیط کشت‌های BBM، BG_{11} و CHU_{10}

Table 1. Microorganisms grown in BBM, BG11 and CHU10 culture media

	CHU_{10}	BG_{11}	BBM
Algae	*Anabaena* sp. *Cynechococcus* sp. *Lyngbya* sp. *Melosira* sp. *Nostoc* sp. *Oscillatoria* sp. *Synechocystis* sp. *Stephanodiscus* sp. *Tribonema* sp. – –	*Anabaena* sp. *Chlamydomonas* sp. *Colasterela* sp. *Cynochesystis* sp. *Lyngbya* sp. *Nostoc* sp. *Oscillatoria* sp. *Phormidium* sp. *Tribonema* sp. – –	*Anabaena* sp. *Chlamydomonas* sp. *Cynechococcus* sp. *Hantzschia* sp. *Lyngbya* sp. *Nitzschia* sp. *Nostoc* sp. *Oscillatoria* sp. *Phormidium* sp. *Synechocystis* sp. *Tribonema* sp.
Other microorganisms	*Diatoms*	*Diatoms* *Fungi*	*Diatoms* *Fungi*



شکل ۴- نمودار رشد سیانوباکتری‌های خاک‌زی در طول دوره رشد یک‌ماهه

Figure 4. Growth chart of soil cyanobacteria during one-month growth period

همچنین از بین گونه‌های سیانوباکتری شناسایی‌شده (جدول ۱)، *Lyngbya* sp.، *Nostoc* sp. و *Oscillatoria* sp. به سبب غیربیماری‌زا بودن برای انسان، ترشح زیاد مواد چسبنده پلی‌ساکاریدی، تثبیت نیتروژن و کربن و نیز

مشارکت فعال در چرخه‌های مبنایی غذایی (Méjean et *al.*, 2009; Møller *et al.*, 2014; Kheirfam *et al.*, 2017a; Tiwari *et al.*, 2019; Du *et al.*, 2020) در پژوهش‌های مربوط به حفاظت منابع خاک و آب مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Belnap *et al.*, 2014; Sadeghi *et al.*, 2017; Kheirfam *et al.*, 2018; Kheirfam *et al.*, 2020; Sadeghi *et al.*, 2020; Jafarpoor *et al.*, 2022a,b) که با استفاده از محیط کشت BBM می‌تواند در آزمایشگاه به حجم موردنیاز برای تلقیح مصنوعی رسانده و سپس در مناطق حساس و مستعد فرسایش پاشش شود. در شکل ۵ نمونه‌های از تصویرهای میکروسکوپی تهیه‌شده از گونه‌های سیانوباکتری مورداستفاده در حفاظت منابع خاک‌وآب نشان داده‌شده‌اند.

شکل ۵ تصویرهای میکروسکوپی از گونه‌های سیانوباکتری مورداستفاده در حفاظت منابع خاک و آب به ترتیب (الف) *Nostoc* sp.، **(ب)** *Oscillatoria* sp. **و (ج)** *Lyngbya* sp.

Figure 5. Microscopic images of cyanobacterial species used to protect soil and water resources (a) *Nostoc* sp., (b) *Oscillatoria* sp. and (c) *Lyngbya* sp.

نتیجه‌گیری کلی

پوسته‌های زیستی با بهبود شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک نقش مهمی در کاهش مؤلفه‌های رواناب و رسوب دارند. در همین راستا، در سال‌های اخیر گرایش به غنی‌سازی و تلقیح مصنوعی پوسته‌های زیستی به‌عنوان رویکردی زیستی، پایدار و دوستدار محیط‌زیست زیاد شده است. ازاین‌رو، پژوهش حاضر باهدف انتخاب محیط کشت بهینه برای رشد سیانوباکتری‌های خاک‌زی در آزمایشگاه علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. نتایج نشان داد با توجه به عناصر و ترکیبات متفاوت در محیط کشت‌های مختلف، رشد فراوان سیانوباکتری‌ها در محیط کشت BBM مشاهده شده است. در انتهای دوره رشد تعداد سیانوباکتری‌ها در محیط کشت BBM به ترتیب، ۴۳۱۵۲ و ۹۰۲۹۹ رشته از دو محیط کشت BG_{11} و CHU_{10} بیشتر بوده است. نتایج پژوهش حاضر می‌تواند در تولید زی‌توده برای تلقیح سیانوباکتری‌ها در بهبود کیفیت پوسته‌های زیستی، مدیریت و حفاظت منابع آب‌وخاک مورداستفاده قرار گیرد.

References

Barger N. N., Castle S. C., Dean G. N. 2013. Denitrification from nitrogen-fixing biologically crusted soils in a cool desert environment, southeast Utah, USA. Ecological Processes, 2(1): 2- 16.

Barinova S. 2017. How to align and unify the cell counting of organisms for bioindication. *International Journal of Environmental Sciences and Natural Resources*, 2(2), 555-585.

Barinova S., Nevo E. 2012. Algal diversity of the Akko Park wetlands in the Bahai Gardens (Haifa, Israel). *Transylvanian review of Systematical and Ecological Research*, 14: 55-80.

Belnap J., Walker B.J., Munson S.M., Gill R.A. 2014. Controls on sediment production in two US deserts. *Aeolian Research*,14: 15–24.

Chamizo S., Rodríguez-Caballero E., Román J. R., Cantón Y. 2017. Effects of biocrust on soil erosion and organic carbon losses under natural rainfall. *Catena*, 148(2): 117-125.

Chamizo, S., Cantón, Y., Miralles, I., Domingo, F. 2012. Biological soil crust development affects physicochemical characteristics of soil surface in semiarid ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 49(1): 96-105.

Du L., Wang R., Gao X., Hu Y., Guo S., 2020. Divergent responses of soil bacterial communities in erosion-deposition plots on the Loess Plateau. *Geoderma*, 358: 1-11.

Fallah. A.R., Besharati H., Khosravi H., 2010. soil microbiology. Aiij Publications2. 182p. (In Persian)

Gharemahmoodli S., Najafinejad A., Sadeghi S.H.R., Zarei Darki B., Mohammadian Behbahani A., Kheirfam H., 2020. Reducing Surface Runoff from Soils Subjected to a Freezing-Thawing Cycle using Soil Cyanobacteria. *Iranian Journal of soil and water research*.27 (3): 163-180.(In Persian)

Hajigholizadeh M., Melesse A., Fuentes H. 2018. Erosion and sediment transport modelling in shallow waters: A review on approaches, models and applications. I*nternational Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(3): 1-24.

Huixia P., ZhengMing C., XueMei Z., ShuYong M., XiaoLing Q., Fang W. 2007. A Study on an Oligotrophic Bacteria and Its Ecological Characteristics in an Arid Desert Area. Science in China Series D: *Earth Sciences*, 50(1): 128-134.

Jafarpoor A., Sadeghi S. H. R, Zarei-Darki B., Homaee M. 2022a. Changes in Morphologic, Hydraulic, and Hydrodynamic Properties of Rill Erosion due to Surface Inoculation of Endemic Soil Cyanobacteria, *Catena* 208, 105782.

Jafarpoor A., Sadeghi S. H.R, Zarei-Darki B., Homaee M. 2022b. Changes in hydrologic components from a mid-sized plots induced by rill erosion due to cyanobacterization. *Interannual Soil and Water Conservation Research*. 10(1): 143-148.

Kaushik M. S., Srivastava M., & Mishra A. K. 2019. Iron homeostasis in cyanobacteria. In Cyanobacteria, Academic Press. pp 245-260

Kheirfam H., Asadzadeh F. 2020. Stabilizing sand from dried-up lakebeds against wind erosion by accelerating biological soil crust development. *European Journal of Soil Biology*, 98, 103189.

Kheirfam H., Homaee M., Sadeghi S.H.R., Zarei Darki B. 2017a. Role of biological soil crusts enrichment through bacteria inoculation and stimulation of nitrogen increasing in an erosion-Prone soil. *Journal of Water and Soil*. 31 (2): 545-556. (In Persian)

Kheirfam H., Sadeghi S. H. R., Homaee M., Zarei-Darki B. 2017b. Quality improvement of an erosion-prone soil through microbial enrichment. *Soil and Tillage Research*, 165: 230-238.

Kheirfam H., Sadeghi S. H. R., Zarei-Darki B. 2020. Soil conservation in an abandoned agricultural rain-fed land through inoculation of cyanobacteria. *Catena*, 187: 104341.

Kheirfam H., Sadeghi S. H. R., Zarei-Darki B., Homaee M. 2017c. Controlling rainfall-induced soil loss from small experimental plots through inoculation of bacteria and cyanobacteria. *Catena*, 152: 40-46.

Kheirfam H., Sadeghi S.H.R., Zarei Darki B., Homaee M. 2018. Reducing soil and water loss through stimulation of soil bacteria in experimental small plots. *Journal of Water and Soil Conservation*, 25 (4): 243-257. (In Persian)

Kheirfam H., Zarei Darki B., Sadeghi S.H.R., Homaee M., 2016. Identification and proliferation of soil microorganisms in Marzanabad region with capability in applying for soil and water conservation. *Journal of Aqrohydrology*. 6 (1): 213-226. (In Persian)

Kim K. Y., Jordan D., McDonald G. A. 1997. Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. *Biology and fertility of soils*, 26(2): 79-87.

Korde N. V. 1956. The methods of biological studies for the bottom deposits of lakes (the field methods of biological analysis). Freshwater life in USSR, 4(1): 383-413.

Kuwabara T., Iwamoto K., Hara H., Yamaguchi T., Mohamad S. E., Abdullah N., Othman F. S. 2021. February. Prevention of Soil Erosion Using Microalgae in Malaysia. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 1051(1), 012047.

Li H., Zhao Q., Huang H. 2019. Current states and challenges of salt-affected soil remediation by cyanobacteria. *Science of the Total Environment*, 669: 258-272.

Maqubela M. P., Muchaonyerwa P., Mnkeni P. N. 2012. Inoculation effects of two South African cyanobacteria strains on aggregate stability of a silt loam soil. *African Journal of Biotechnology*, 11(47): 10726-10735.

Méjean A., Mann S., Maldiney T., Vassiliadis G., Lequin O., Ploux O. 2009. Evidence that biosynthesis of the neurotoxic alkaloids anatoxin-a and homoanatoxin-a in the cyanobacterium Oscillatoria PCC 6506 occurs on a modular polyketide synthase initiated by L-proline. *Journal of the American Chemical Society*, 131(22), 7512-7513.

Møller C. L., Vangsøe M. T., Sand-Jensen K. 2014. Comparative growth and metabolism of gelatinous colonies of three cyanobacteria, Nostoc commune, Nostoc pruniforme and Nostoc zetterstedtii, at different temperatures. *Freshwater Biology*, 59(10), 2183-2193.

Muñoz-Martín M. Á., Becerra-Absalón I., Perona E., Fernández-Valbuena L., Garcia-Pichel F., & Mateo P. 2019. Cyanobacterial biocrust diversity in Mediterranean ecosystems along a latitudinal and climatic gradient. New Phytologist, 221(1), 123-141.

Román J. R., Roncero-Ramos B., Rodríguez-Caballero E., Chamizo S., & Cantón Y. 2021. Effect of water availability on induced cyanobacterial biocrust development. *Catena*, 197, 104988.

Rossi F., Li H., Liu Y., Philippis R.D., 2017. Cyanobacterial inoculation (cyanobacterisation): Perspectives for the development of a standardized multifunctional technology for soil fertilization and desertification reversal. *Earth-Science Reviews*. 171: 28-43.

Sadeghi S.H.R, Kheirfam H., Zarei-Darki B. 2020a. Controlling runoff generation and soil loss from field experimental plots through inoculating cyanobacteria. *Journal of Hydrology*. 585, 124814.

Sadeghi S. H. R., Najafinejad A., Gharemahmudli S., Zarei Darki B., Behbahani A. M., Kheirfam H. 2021. Reduction in soil loss caused by a freeze-thaw cycle through inoculation of endemic soil microorganisms. *Applied Soil Ecology*, 157, 103770.

Sadeghi S. H.R., Sadeghi-Satri M., Kheirfam H., & Zarei-Darki B. 2020b. Runoff and soil loss from small plots of erosion-prone marl soil inoculated with bacteria and cyanobacteria under real conditions. *European Journal of Soil Biology*, 101, 103214.

Sadeghi S.H.R., Kheirfam H., Homaee M., Zarei Darki B., 2017. Improvability of Water Infiltration in an Erosion-Prone Soils under Laboratorial Conditions through Artificial Increasing of Soil Microorganisms Population. *Iranian Journal of soil and water research*. 47 (4): 797-805. (In Persian)

Safari M., Ahmady-Asbchin S., Soltani N., 2014. The potential of cyanobacterium Schizothrix vaginata ISC108 in biodegradation of crude oil. Iran. J. *Health and Environ.*, 7 (3): 363-374. (In Persian)

Tiwari O. N., Bhunia B., Mondal A., Gopikrishna K., Indrama T. 2019. System metabolic engineering of exopolysaccharide-producing cyanobacteria in soil rehabilitation by inducing the formation of biological soil crusts: A review. *Journal of Cleaner Production*, 211: 70-82.

Zhang C., Niu D., Song M., Elser J. J., Okie J. G., & Fu H. 2018. Effects of rainfall manipulations on carbon exchange of cyanobacteria and moss-dominated biological soil crusts. *Soil Biology. Biochem.*, 124, 24-31.

Effect of Different Culture Media on the Growth of Soil Cyanobacteria for Soil and Water Conservation

Atefeh Jafarpoor*[1], Seyed Hamidreza Sadeghi[2, 3], Mehdi Homaee[3, 4] and Behrouz Zarei Darki[5]

(Received: March, 2022 Accepted: October, 2022)

Abstract

Cyanobacteria are one of the main components of soil biocrusts in arid and semi-arid regions that grow in the surface layer of the soil. They actively participate in the cycle of elements by secreting polysaccharides and play an important role in improving soil quality and fertility. Accordingly, they have been used in soil and water resources conservation issues in recent years through cultivating and producing the required biomass in laboratory conditions and inoculating at the soil surface. However, the proper media for optimal growth of the soil microorganisms have not been reported comprehensively. The present study was conducted to select the optimal culture medium for the growth of cyanobacteria in experimental conditions. For this purpose, the performance of three culture media viz. BBM, BG_{11} and CHU_{10} was compared during the one-month growth period of soil cyanobacteria. In this regard, the types of grown microorganisms as well as the number of cyanobacteria present during the growth period of one-month and on average once every 4 days were examined. The results showed that soil cyanobacteria in BBM culture medium had better growth than the other two culture media and at the end of the growth period, the number of cyanobacteria grown in BBM, BG11 and CHU10 medium was 91790, 48638 and 1491, respectively, per milliliter. Therefore, BBM culture medium is proposed as the optimal culture medium for use in preparing the biomass required by cyanobacteria for inoculation at the soil surface.

Keywords: Biologic control of soil erosion, Growth elements, Soil microorganisms, Soil organic amendment, Soil protection

Jafarpoor A., Sadeghi H.R., Homaee M., Zarei Darki B. 2023. Effect of Different Culture Media on the Growth of Soil Cyanobacteria for Soil and Water Conservation. *Applied Soil Research*.11(2): 71-81.

1. Former Ph.D. Student, Department of Watershed Management Engineering, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
2. Professor, Department of Watershed Management Engineering, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
3. Agrohydrology Research Group, College of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
4. Department of Mining, Faculty of Engineering, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
5. Associate Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
* Corresponding Author E-mail: atefeh.jafarpoor@modares.ac.ir