بسم الله الرحمن الرحيم

١٠٢٥٥١

دانشگاه شهید بهشتی

دانشکده علوم زیستی

پایان نامه کارشناسی ارشد – گرایش میکروبیولوژی

عنوان:

مطالعه کاربردهای آزولا

Study on applications of *Azolla*

۱۳۸۶/۱۲/۲۵

اساتید راهنما:
دکتر حسین ریاحی و دکتر یوسف حمیداوغلی

دانشجو:
حجت اله زمانی
آذر ۱۳۸۶

۱۰۲۵۵۱

تاریخ .....
شماره .....
پیوست.....

دانشگاه شهید بهشتی

بسمه تعالی

« صورتجلسه دفاع پایان نامه دانشجویان دوره کارشناسی ارشد»

تهران ۱۹۸۳۹۶۳۱۱۳ اوین
تلفن: ۲۹۹۰۱

بازگشت به مجوز دفاع ۲۹۱۴ مورخ ۸۶/۸/۲۰ جلسه هیأت داوران ارزیابی پایان نامه آقای حجت اله زمانی آلمانی به شماره شناسنامه ۱۰۲۹ صادره از رشت متولد ۱۳۶۱ دانشجوی دوره کارشناسی ارشد ناپیوسته رشته زیست شناسی- میکروبیولوژی

با عنوان :

مطالعه کاربردهای آزولا

به راهنمائی:

آقای دکتر حسین ریاحی
آقای دکتر یوسف حمیداوغلی

طبق دعوت قبلی در تاریخ ۱۳۸۶/۹/۷تشکیل گردید و براساس رأی هیأت داوری و با عنایت به ماده ۲۰ آئین نامه کارشناسی ارشد مورخ ۷۵/۱۰/۲۵ پایان نامه مزبور با نمره ۱۹/۹۰ و درجه عالی مورد تصویب قرار گرفت.

۱- استاد راهنما : آقای دکتر حسین ریاحی

۲- استاد راهنما: آقای دکتر یوسف حمید اوغلی

۳- استاد مشاور:

۴- استاد داور : آقای دکتر محمدرضا صعودی

۵- استاد داورونماینده تحصیلات تکمیلی : خانم دکتر فرشته افتخار

تقدیم به

پدر و مادر فداکارم

سپاس و حمد فراوان به درگاه ایزد منان، او که داناست و توانا

ازخانواده مهربانم که همواره مشوق و قوت قلب من در رسیدن به اهداف عالیه بوده اند کمال تشکر و قدردانی را دارم. آنانکه در لحظه لحظه های زندگی نسیم امید را در زندگی من به وزش در آورده اند.

مراتب سپاس قدردانی ویژه خود را نثار اساتید ارجمند راهنما جناب آقای دکتر حسین ریاحی و دکتر یوسف حمیداوغلی می نمایم که در این راه از راهنمایی های این عزیزان بهره جستم. از اساتید محترم گروه زیست شناسی دانشگاه شهید بهشتی آقایان دکتر ابراهیم پور، دکتر حسینی، دکتر شیدایی و خانم دکتر افتخارو ... که در طول دوران تحصیل و تدوین پایان نامه از راهنمایی و مشاوره آن ها بهره مند گشته ام نهایت تشکر و قدردانی را دارم.

مراتب تشکر و قدردانی خود را از مدیریت محترم شرکت کشت و صنعت قارچ ملارد جناب آقای مهندس نوربخش، و همینطور جناب آقای مهندس میرزاده، مهندس شهبازی، خانم الوندیان و کلیه کارکنان آن مجموعه بیان می دارم.

از کارکنان ارجمند موسسه تحقیقات برنج کشور،خصوصا جناب آقای مهندس رضوی و آقای احمدزاده سپاسگزارم.

در نهایت از کلیه دوستان و عزیزانی که در دانشکده زیست شناسی دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، مؤسسه تحقیقات برنج شمال کشور و واحد کشت و صنعت قارچ ملارد و موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی رشت که در اجرای این پژوهش مرا یاری دادند تشکر می نمایم.

حجت اله زمانی
پائیز ۱۳۸۶

چکیده:

آزولا یک سرخس آبی است که بطور طبیعی در زمین های مرطوب، سطح آب کانال ها، رودخانه ها، آبگیرها و تالاب ها رشد می کند. این موجود قادر به تثبیت نیتروژن جوی می باشد که این عمل را بکمک شریک همزیست خود یعنی جلبک سبز-آبی *Anabaena azollae* انجام می دهد. سرعت تکثیر این گیاه بسیار بالا می باشد و در شرایط بهینه، در مدت ۳-۵ روز بیوماس آن دو برابر می گردد، به گونه ای که در مناطق مختلف جهان، سطح آب مناطق آبی توسط لایه ای ضخیم از این سرخس پوشیده می شود و مانع نفوذ نور و اکسیژن به درون آب می گردد. گونه *Azolla filiculoides* یک گیاه مهاجم است که به طرز کنترل نشده ای در حوضچه های پرورش ماهی و مزارع برنج شمال ایران و تالاب بین المللی انزلی رشد می کند و تبدیل به یک معضل زیست محیطی گردیده است.

هدف از این پژوهش، مطالعه موارد کاربرد آزولا بود تا بتوان ضمن استفاده بهینه از آنها، سبب کاهش مضرات زیست محیطی آن از طریق جمع آوری و مصرف آن گردید.

در مطالعه اول، کمپوست آزولا بعنوان مکمل در کشت گیاهان آپارتمانی و زینتی بکار گرفته شد. آزولای تازه جمع آوری وبر روی هم انباشته گردید. جهت تنظیم C/N، کلش برنج و جهت تنظیم pH، کربنات کلسیم افزوده شد. بررسی های فیزیکی و شیمیایی و میکروبی در طول پروسه کمپوستینگ صورت پذیرفت. سپس کمپوست آزولا به خاک کشت گیاهان مختلف افزوده شد و پس از چهار ماه رشد در شرایط مشابه و یکسان، تاثیر آن بر روی پارامترهای رشد گیاهان بررسی شد و مشاهده گردید که همه تیمارها، تفاوت های معنی دار مثبتی نسبت به تیمار کنترل نشان دادند.

در مطالعه دوم، از کمپوست آزولا بعنوان جایگزین خاک پیت، در خاک پوششی کشت قارچ دگمه ای استفاده گردید. در کشور ما خاک پیت وجود ندارد و هزینه واردات پیت از سایر کشورها بسیار بالاست. از طرفی از سوی دوستداران محیط زیست یک فشار جهانی مبنی بر توقف یا کاهش استخراج پیت، بعنوان یک منبع پایان یافتنی وجود دارد. لذا یک جستجوی جهانی جهت یافتن جایگزینی مناسب برای خاک پیت وجود دارد. کمپوست آزولا در نسبت های مختلف با **SMC (Spent Mushroom Compost)** مخلوط گردید و با تیمارهای مختلف خاک پیت و SMC از لحاظ کیفیت و کمیت محصول مقایسه شد. در نهایت نشان داده شد که هیچ تفاوت معنی داری از لحاظ میزان محصول بین تیمارهای کمپوست آزولا و پیت وجود ندارد. از سوی دیگر، محصول تیمارهای کمپوست آزولا کیفیت بالاتری نسبت به محصول تیمار پیت نشان دادند. بنابراین در بسیاری از کشورهای آسیایی و افریقایی که خاک پیت وجود ندارد و هزینه واردات آن بالاست، کمپوست آزولا می تواند جایگزین مناسبی برای خاک پیت محسوب گردد.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول:کلیاتی در مورد آزولا..... ۱

۱ – ۱ – آزولا چیست؟ ۲

۱ – ۲ – همزیستی آزولا با آنابنا..... ۴

۱ – ۳ – تولید مثل و چرخه زیست ۹

۱ – ۴ – تاکسونومی ۱۲

۱ – ۵ – پراکندگی جغرافیایی ۱۴

۱ – ۶ – عوامل مورد نیاز رشد ۱۵

۱ – ۶ – ۱ – آب

۱ – ۶ – ۲ – نور

۱ – ۶ – ۳ – دما

۱ – ۶ – ۴ – مواد معدنی

۱ – ۶ – ۵ – pH

۱ – ۶ – ۶ – غلظت نمک

۱ – ۷ – ارزش غذایی ۱۷

۱ – ۸ – کاربرد ۱۸

۱ – ۸ – ۱ – آزولا بعنوان کودسبز..... ۱۸

۱ – ۸ – ۲ – آزولا و کشت برنج ۱۹

۱ – ۸ – ۳ – مزایای استفاده از آزولا در کشت برنج ۲۱

۱ – ۸ – ۴ – کمپوست آزولا (Azo-compost)..... ۲۳

۱ – ۸ – ۵ – آزولا بعنوان غذای حیوانات اهلی مثل خوک ، اردک و ماهی ۲۴

۱ – ۸ – ۶ – سایر موارد استفاده از آزولا..... ۲۶

۱ – ۹ – آزولا در ایران ۲۷
فصل دوم: کمپوست وکمپوستینگ..... ۳۲
۲ – ۱ – دلایل استفاده از کمپوست..... ۳۳
۲ –۲ – عوامل مؤثر در کمپوستینگ ۳۴
۲ – ۲ – ۱ – هوا
۲ – ۲ – ۲ – رطوبت
۲ – ۲ – ۳ – حرارت
۲ – ۲ – ۴ – pH
۲ – ۲ – ۵ – کربن و نیتروژن
۲ – ۳ – میکروارگانیسمهای کمپوست ۳۷
۲ – ۳ – ۱ – باکتری ها
۲ – ۳ – ۲ – اکتینومیست ها
۲ – ۳ – ۳ – قارچ ها
۲ – ۳ – ۴ – پروتوزوآها
فصل سوم: خاک پوششی و پرورش قارچ خوراکی دگمه ای ۳۹
فصل چهارم: مواد و روش ها ۴۳
۴ – ۱ – کمپوست آزولا- کلش برنج ۴۴
۴ – ۲ کمپوست آزولا- کلش برنج و کشت گیاهان ۴۴
۴ – ۳ کمپوست آزولا بعنوان جایگزین پیت در خاک پوششی کشت قارچ دگمه ای ۴۵
۴ – ۴ آزولا بعنوان مکمل (Supplement) در پرورش قارچ دگمه ای ۴۶
۴ – ۵ بررسی خصوصیات فیزیکی - شیمیایی کمپوست ۴۶
۴ – ۵ – ۱ اندازه گیری میزان رطوبت
٤ – ۵ – ۲ اندازه گیری ظرفیت نگهداری آب (WHC)
۴ – ۵ – ۳ اندازه گیری pH
٤ – ۵ – ٤ هدایت الکتریکی (Ec)
٤ – ۵ – ۵ محاسبه خاکستر و کربن

٤ ـ ٥ ـ ٦ اندازه گیری مواد آلی (OM%)
۴ ـ ۵ ـ ۷ محاسبه میزان نیتروژن
۴ ـ ۵ ـ ۸ درجه حرارت
٤ ـ ٥ ـ ٩ اندازه گيري عناصر معدني
٤ ـ ٦ مطالعه میکروارگانیسمهای کامپوست ۵۰
فصل پنجم: نتایج و تحلیل ها ۵۲
۵ ـ ۱ نتایج آنالیز شیمیایی آزولای تازه ۵۳
۵ ـ ۲ نتایج بررسی کمپوست آزولا ـ کلش برنج ۵۳
۵ ـ ۲ ـ ۱ خصوصیات فیزیکی و شیمیایی کمپوست آزولا ـ کلش برنج
۵ ـ ۲ ـ ۲ نتایج روند تغییرات دمایی در طول پروسه کمپوستینگ آزولا - کلش برنج
۵ ـ ۲ ـ ۳ نتایج روند تغییرات pH
۵ ـ ۲ ـ ۴ نتایج بررسی روند وقایع میکروبی در طول کمپوستینگ و شناسایی عوامل قارچی کمپوست
۵ ـ ۲ ـ ۵ نتایج استفاده از کمپوست آزولا ـ کلش برنج در کشت گیاهان ۵۵
۵ ـ ۲ ـ ۵ ـ ۱ کمپوست آزولا ـ کلش برنج و پرورش گیاه آپارتمانی آگلونما با نام علمی ***Aglaonema treubii***
۵ ـ ۲ ـ۵ ـ ۲ کمپوست آزولا ـ کلش برنج و پرورش گیاه آپارتمانی سینگونیوم با نام علمی ***Syngonium vellozianum***
۵ ـ ۲ ـ ۵ ـ ۳ کمپوست آزولا ـ کلش برنج و پرورش گیاه ذینتی شمشاد با نام علمی ***Buxus sempervirens***
۵ ـ ۳ نتایج استفاده از کمپوست آزولا بعنوان جایگزین پیت در خاک پوششی کشت قارچ خوراکی دگمه ای ۷۰
۵ ـ ۳ ـ ۱ اندازه گیری خصوصیات فیزیکی ـ شیمیایی تیمارهای خاک ها ی پوششی..... ۷۰
۵ ـ ۳ ـ ۲ نتایج کمی و کیفی محصول تیمارهای مختلف خاک پوششی ۷۱
۵ ـ ۴ نتایج و تحلیل آزمایشها ۸۱
۵ ـ ۴ ـ ۱ تحلیل خصوصیات pH ۸۱
۵ ـ ۴ ـ ۲ تحلیل میزان شوری ۸۲

۵ ـ ۴ ـ ۳ تحلیل ظرفیت نگهداری آب (WHC) ۸۳
۵ ـ ٤ ـ ٤ تحلیل میزان چگالی حجمی ، چگالی ذره ای ، و فضای هوای خاک ۸۳
۵ ـ ۴ ـ ۵ تحلیل میزان محصول ۸۵
۵ ـ ۵ جمع بندی نتایج ۸۵
پیشنهادات ۸۶
فهرست منابع ۸۷

فصل اول

کلیاتی در مورد

آزولا

۱–۱ آزولا چیست؟

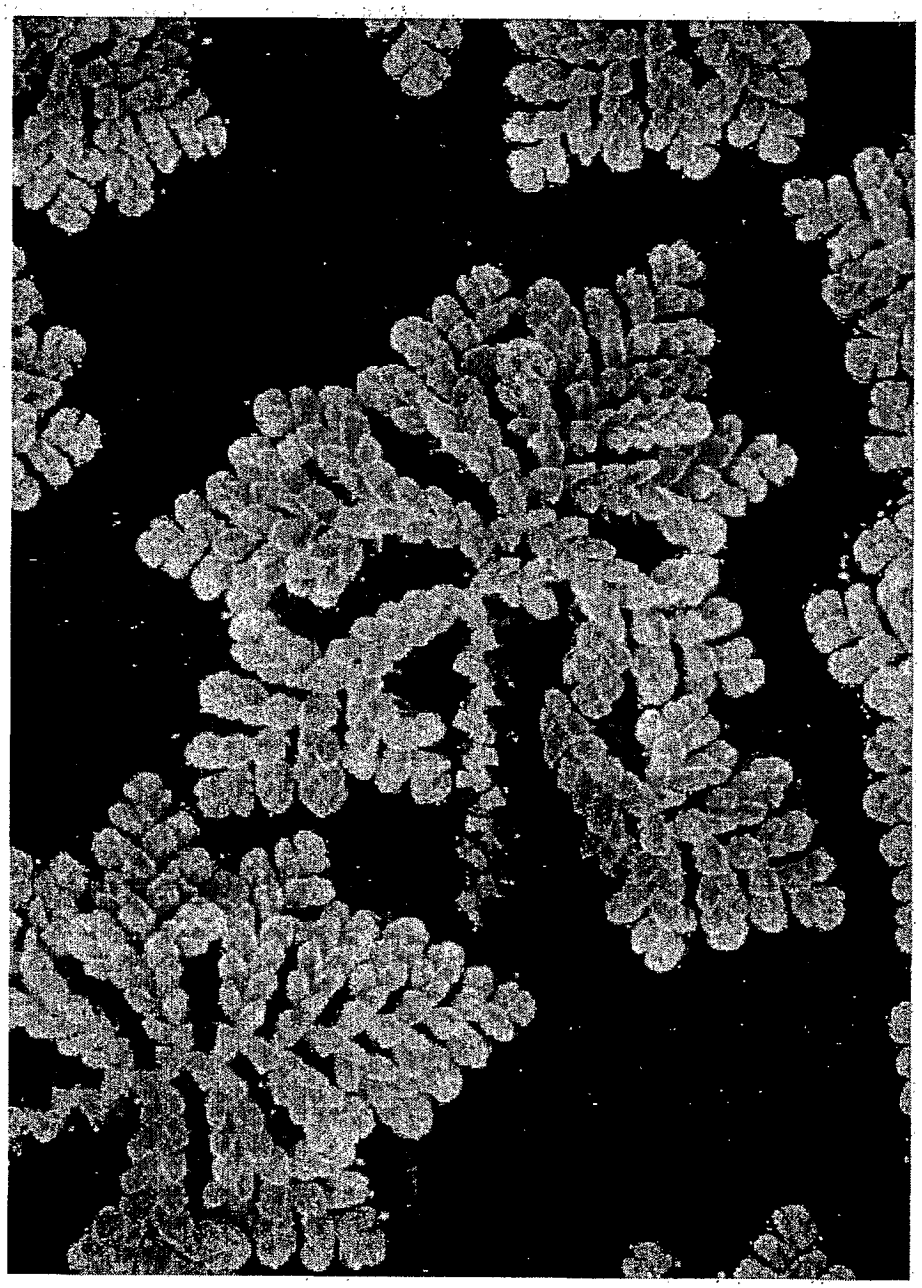
کلمه آزولا دارای ریشه ای یونانی و مرکب از دو کلمه Azo و Olloyo است که بمعنای کشته شده توسط خشکی میباشد(Moore,1969; Ashton and Walmsley,1976). آزولا (Azolla) یک سرخس آبی است که در سطح آب رودخانه ها، مزارع برنج، کانال های آب، حوضچه های پرورش ماهی و مرداب ها زندگی می کند. این موجود از سرعت رشد بسیار بالایی برخوردار بوده وتکثیر آن اغلب بصورت رویشی و گاهی تولید مثل جنسی انجام می گیرد. اندازه این گیاه بین ۱– ۵ سانتی متر بوده و دارای برگهای لایه لایه می باشد. از خصوصیات مهم این سرخس تثبیت نیتروژن هوا است به طوری که در شرایط اپتیمم یا بهینه، روزانه ۳–۵ کیلوگرم ازت هوا را تثبیت می کند. این عمل را به کمک شریک همزیست خود یعنی جلبک سبزآبی (سیانوباکتری) *Anabaena azollae* انجام می دهد. سرعت تکثیراین گیاه بسیار بالا بوده بطوریکه درمدت ۳–۵ روزبیوماس آن به دوبرابرافزایش می یابد. جنس آزولا مشتمل بر ۶ گونه مختلف میباشد که پراکندگی آنها در نقاط مختلف دنیا متفاوت است. گونه های این جنس شامل:

A.filiculoides , A.mexicana , A.pinnata , A.nilotica ,A.carolina ,A.microphyla

می باشند.

این گیاه دارای یک ساقه اصلی است که در سطح آب رشد میکند و به همراه آن ریشه های منظم و برگهای پراکنده وجود دارد. هر یک از برگ های آزولا دارای یک لوب ضخیم پشتی و یک لوب باریک جلویی است که این لوب شبیه قایق میباشد و درسطح آب قرارمی گیرد و عامل شناور ماندن گیاه می باشد. لوب بالایی یک حفره مرکزی دارد که مکان زیست سیانوباکتری آنابنا است. دمای رشد این موجود در حالت اپتیمم ۲۰–۳۰ درجه است. بنظر میرسد دما بر رطوبت و نیتروژن آن تاثیرگذار است.

این گیاه جهت زیست نیازمند رطوبت و آب کافیست و درخشکی در مدت چند ساعت می میرد. بنابراین آب یک فاکتور حیاتی برای آن محسوب می گردد. این موجود براحتی در غیاب هرگونه منبع ازت قادر به رشد میباشد و فسفر مهمترین فاکتور محدودکننده رشد آن می باشد.



—Vegetative morphology of *Azolla* seen from above.

۱ - ۲ همزیستی آزولا با آنابنا:

پیوند دائم بین یک سیانوباکتری و یک سرخس

مثال های زیادی از گیاهان، باکتری ها و جلبک هایی که رابطه همزیست و نزدیک به هم دارند وجود دارد. یکی از جالبترین این مثال ها، ارتباط همزیستی بین سرخس آبی آزولا وجلبک سبز-آبی آنابنا است. هوایی که استشمام میکنیم حاوی ۷۹٪ ازت میباشد. گیاهان جهت ساخت پروتئین و جذب نور خورشید و ادامه پروسه های حیاتی نیازمند ازت هستند. متأسفانه نیتروژن جوی بصورت ذاتی به فرم N_2 بوده که فرم غیر قابل استفاده توسط گیاهان است.

تنها دونوع موجود زنده در جهان قادر به تبدیل ازت جوی به فرم های قابل استفاده مثل آمونیوم هستند. این دو دسته شامل باکتری های ریزوبیوم و سیانوباکتر ها میباشند.

باکتریهای ریزوبیوم بصورت همزیست در ریشه گیاهان خانواده لوگومیناسه مثل یونجه ، سویا و ... زندگی مینمایند در حالیکه جلبک های سبزآبی یا سیانوباکترها شریک همزیست سرخس های آبی آزولا میباشند. تاکنون این دو دسته عهده دار بیشترین سهم از ورود ازت به سیستم های گیاهی و کشاورزی هستند. آزولا به همراه شریک همزیست خود یعنی جلبک سبزآبی آنابنا در سطح جریانهای آبی آرام و تالابهای مناطق معتدل یا گرمسیر جهان زندگی میکنند.

همه نمونه های این سرخس در زیر میکروسکپ حاوی رشته های آنابنا است که درون حفرات بیضی شکل برگها وجود دارند. در این همزیستی، سرخس شریک همزیست خود را از آسیبهای اکسیژن محیط محافظت میکند و در مقابل آنابنا برای سرخس زمینه تثبیت ازت را فراهم می نماید. هر دو جزء، انرژی خود را از نور خورشید و طی فرایند فتوسنتز تأمین میکنند و نیتروژن مورد نیاز میتواند طی فرایند تثبیت ازت توسط آنابنا فراهم گردد. هربرگ آزولا پتانسیل در برگیری حدود ۷۵۰۰۰ سلول آنابنا را دارا است.

همانطور که گفته شد، محل زیست سلولهای آنابنا حفرات بیضی و مرکزی در لوب های بالایی برگهای آزولا است. احتمالاً آسان ترین مسیر جهت مشاهده این سلولها جداسازی لوبهای بالایی (پشتی) و قراردادن آنها روی اسلاید به همراه یک قطره آب میباشد. پس از آن یک لامل روی آن قرار داده و فشار مناسبی جهت شکستن و خورد شدن بافت برگ وارد می گردد و بدین ترتیب در بزرگنمایی ۴۰۰ برابر رشته های آنابنا قابل رویت خواهند بود.

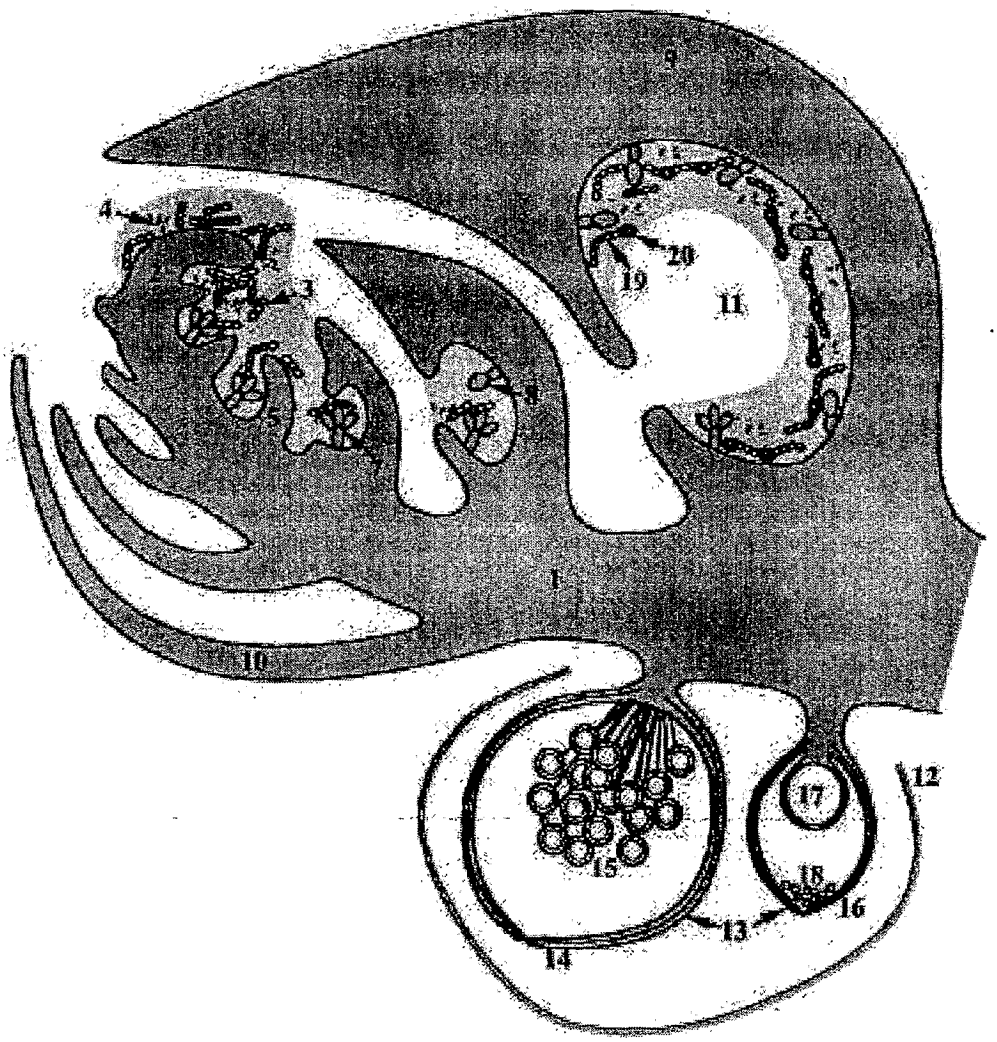


Fig. 1—Morphology of *Azolla* stem and sporocarps (longitudinal section). 1. Stem; 2. Stem apex; 3. Apical *Anabaena* colony without heterocysts; 4. Other bacteria; 5. Leaf primordium; 6. Young leaf; 7. Pluricellular branched hair; 8. Bicellular single hair; 9. Upper leaf lobe; 10. Lower leaf lobe; 11. Leaf cavity (showing a central gaseous region and a peripheral mucilaginous region); 12. Involucre; 13. Indusia; 14. Microsporocarp; 15. Microsporangia; 16. Megasporocarp; 17. Megasporangium; 18. Akinetes of *Anabaena*; 19. Vegetative cell of *Anabaena*; 20. Heterocyst. (Adapted from van Hove 1989)

در بین سلولهای رشته ای آنابنا احتمالاً برخی از سلولها بزرگتر از سایرین میباشند که به آنها هتروسیست گفته میشود. این سلولها به شکل بیضی بوده و دارای دیواره هایی ضخیم هستند. مطالعات نشان داده که هتروسیست ها مکانهای واقعی تثبیت ازت هستند. زمانیکه یک هتروسیست بالغ میگردد، اعضاء

فتوسنتتیک آن (تیلاکوئیدها) تغییر یافته و تبدیل به بخش های غیر فتوسنتز کننده میگردند که اکسیژن تولید نمی نمایند و این امر بدلیل آنست که تثبیت ازت نیازمند فعالیت آنزیم نیتروژناز میباشد و فعالیت این آنزیم در حضور اکسیژن متوقف می گردد. در درون هتروسیست، N_2 تبدیل به آمونیوم می گردد. پروسه تثبیت ازت بهمراه پروسه های نیتریفیکاسیون و آمونیفیکاسیون، نیتروژن مورد نیازرا در اختیار گیاه اتوتروف و در نهایت همه اعضاء اکوسیستم قرار میدهد. اگرچه آزولا قدرت جذب نیترات از آب را نیزدارد، میتواند ازت تولید شده توسط آنابنا در برگهای خود را نیز جذب نماید.

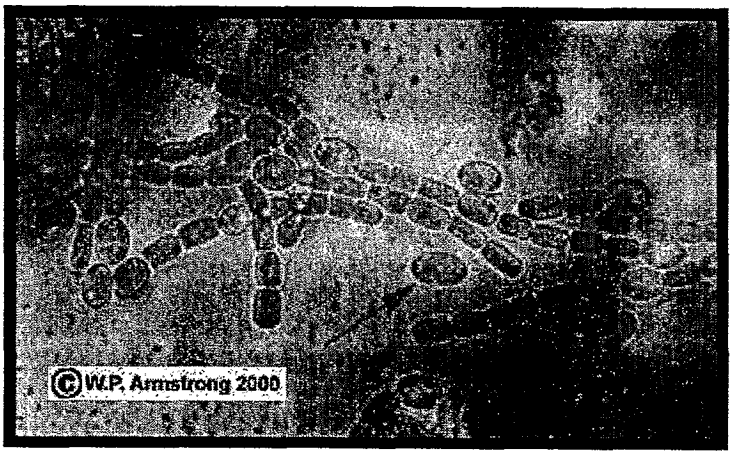
$$N_2 + 12\ ATP \xrightarrow{\text{nitrogenase}} 2\ NH_3 + 12\ ADP + 12\ P_i$$

nitrogen (atmospheric) — ammonia — phosphate (inorganic)

It takes 12 ATPs to provide sufficient energy to break the strong triple bond betwen the two nitrogen atoms of N_2 gas: $N \equiv N$

Simplified Equation For Nitrogen Fixation

تثبیت ازت تنها درصورت رابطه همزیستی در سلولهای آنابنا رخ میدهد و بیشترین انرژی این فرآیند توسط پروسه فتوسنتز آزولا یا گیاه میزبان فراهم میگردد. بدلیل سطح پایین آنزیم های جذب کننده آمونیوم (Ammonium assimilating-Enzymes) درسلولهای آنابنا، تثبیت ازت از راندمان بالایی برخوردار است. نیتروژن توسط آنابنا تثبیت شده و به آزولا منتقل میگردد و میزبان ازت تثبیت شده را وارد ساختار آمینواسیدهای خود می کند و احتمالا یکسری از آمینواسیدها توسط میزبان برای آنابنا فراهم میگردد. آنابنا نیازی به زندگی مستقل ندارد واین بدلیل حضورهمیشگی آن در درون مگاسپوروکارپ های آزولا در طول سیکل جنسی آن است. البته در صورت لزوم، سیانوباکتری آنابنا می تواند به طور مستقل زیست نماید. آزولا دارای شش گونه است و همه گونه های شناخته شده آن حاوی جلبک های سبزآبی Anabaena azollae می باشند. آنابنا دارای دونوع سلول، رویشی و هتروسیست است. همانطور که ذکر گردید هتروسیست ها مکان های واقعی تثبیت ازت جوی هستند. یکی از مشخصه های آنابنای همزیست، فراوانی بالای تعداد هتروسیست های آن است. فاصله بین هتروسیست ها در آنابنای همزیست بین ۳–۵ سلول رویشی میباشد در حالیکه این فاصله درآنابنای آزاد زی در حدود۱۵–۳۰ سلول رویشی است.



سلولهای آنابنا درون برگهای سرخس آزولا

فراوانی زیاد هتروسیست ها در آنابناهای همزیست میتواند با سطح پایین آنزیم های جذب کننده آمونیوم مرتبط باشد.

آنزیم های متابولیسم نیتروژن در هتروسیست و سلول رویشی آنابنا

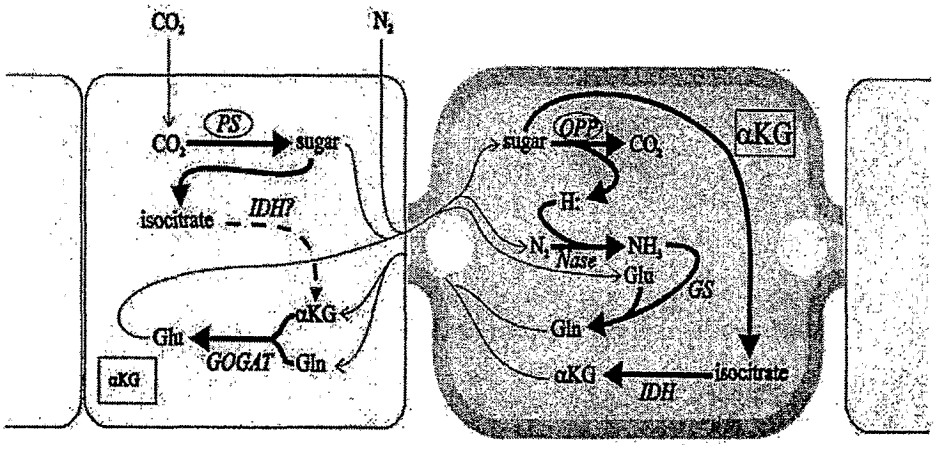
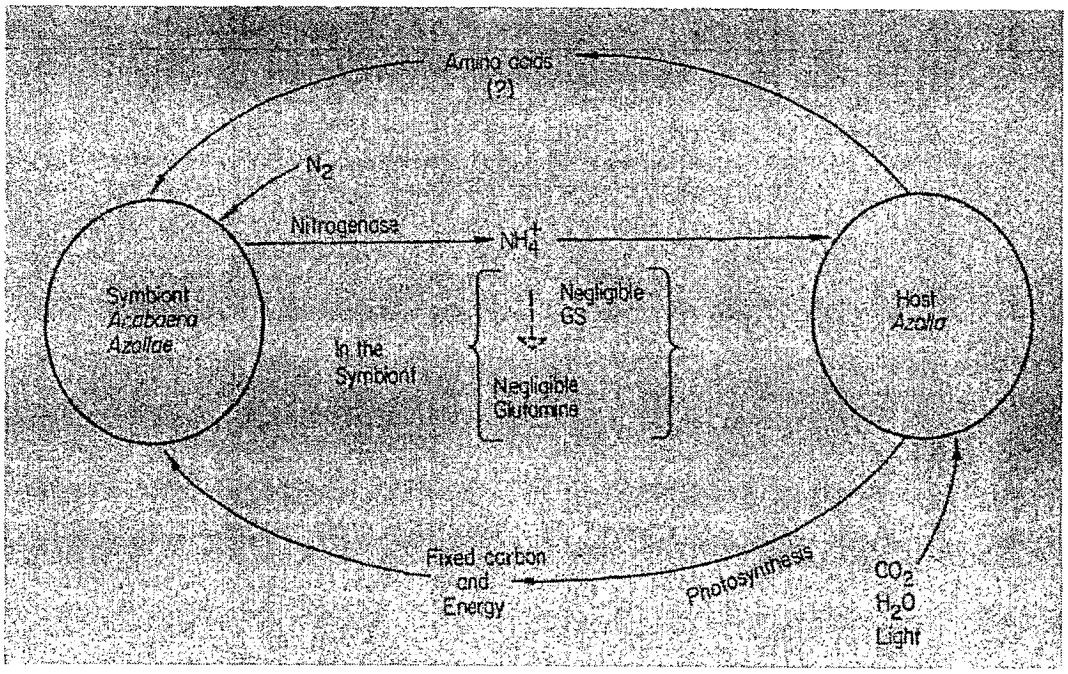


FIG. 3. Metabolic interactions between heterocysts and vegetative cells. A lighter vegetative cell exchanges metabolites (thin lines) with a darker heterocyst bound by its characteristic thick envelope. The heterocyst has polar plugs at either end. Thick lines indicate metabolic pathways. The dotted line indicates a pathway whose existence is uncertain. Carbon dioxide is fixed in vegetative cells through the dark reactions of photosynthesis (PS), and the resulting triose is metabolized to pyruvate through the partial tricarboxylic acid cycle to isocitrate and then via IDH to α-ketoglutarate (αKG). The α-ketoglutarate combines with glutamine (Gln) via glutamate synthase (GOGAT) to form glutamate (Glu). In heterocysts, carbohydrate from vegetative cells enters the oxidative pentose phosphate (OPP) pathway to produce reductant (H:) used to support the activity of nitrogenase (Nase) to produce ammonium and concurrently yield α-ketoglutarate. Ammonium combines with glutamate, derived from the vegetative cell, through a reaction catalyzed by GS to form Gln. These reactions (if confirmed) should serve to reduce the level of α-ketoglutarate in the vegetative cell (small type) and increase it in heterocysts (large type). See the text for a discussion of the proposed cellular levels of α-ketoglutarate.

آنزیم نیتروژناز در سلول هتروسیست وجود دارد. انرژی تثبیت ازت ازفتوسیستم یک (PSI) یا فتوفسفریلاسیون چرخه ای فراهم می شود. احیاء کننده ها نیزازمسیر پنتوز- فسفات اکسیداتیوتامین می گردند. نیتروژن تثبیت شده نیز توسط آنزیمی بنام گلوتامین سنتتاز(Gs) وارد گلوتامات که در هتروسیست وجود دارد می شود. آنزیم گلوتامات سنتتاز (GOGAT) تنها درسلول رویشی موجود است و لذا گلوتامات تنها از سلول رویشی برای هتروسیست فراهم می گردد. یکی از ویژگیهای هتروسیست این است که فاقد قدرت تثبیت کربن وهمینطور فاقد PS2 (فتوسیستم۲) می باشد. بنابراین هتروسیست تنها نیتروژن را تثبیت و به سلول رویشی مجاور منتقل می نماید. سلول رویشی هم در مقابل کربن را تثبیت و به هتروسیست منتقل می کند و این خود مثال جالبی از همزیستی در سطح سلولی است.

بنظر میرسد مکانیسم مشابهی بین آنابنا و آزولا وجود دارد، بطوریکه نیتروژن توسط آنابنا تثبیت و به آزولا منتقل میگردد و سپس آزولا این نیتروژن را وارد اسیدهای آمینه خود میکند و احتمالا این آمینواسید ها بهمراه احیاء کننده ها و فتوسنتتات ها برای آنابنا فراهم میشوند.

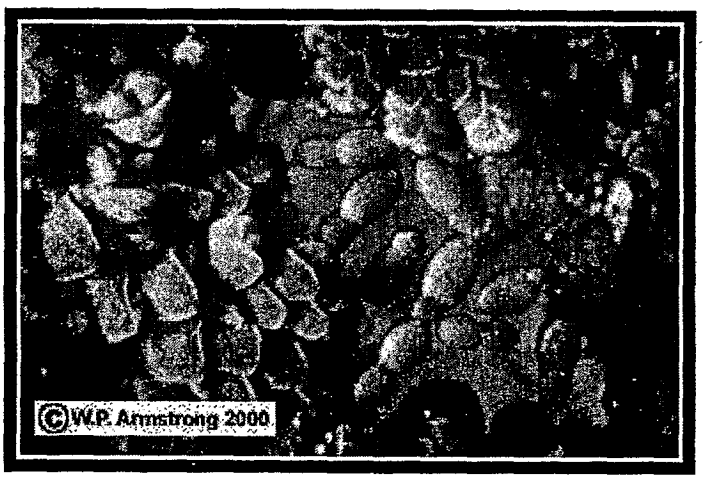


Exchange of metabolites between host and symbiont in Azolla

۱–۳ تولید مثل و چرخه زیست آزولا:

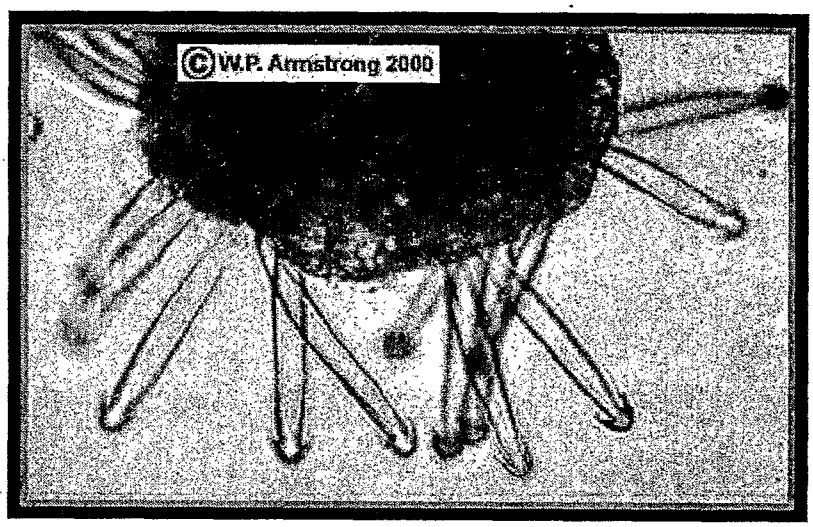
آزولا دارای دونوع تولید مثل رویشی و جنسی می باشد. تولید مثل رویشی آن از طریق قطعه قطعه شدن انجام می پذیرد. همچنین آزولا دارای یک چرخه جنسی تخصصی و منحصر بفرد و البته نه چندان رایج است. آزولا همانند همه سرخس ها قادر به تولید اسپور است، گرچه برخلاف اکثریت سرخس ها دو نوع اسپور تولید می نماید. اگر به دقت آزولا را در ماههای تابستان مورد بررسی قرار دهیم، به آسانی هزاران ساختار کروی بنام اسپوروکارپ را در زیر شاخه ها مشاهده می کنیم. اسپوروکارپ ها بصورت جفت هستند. البته دربعضی از گونه های آزولا مثل گونه *A.nilotica*، مکان آنها لوب پایینی اولین برگهای شاخه اسپوروفیت می باشد.

این جفت ها شامل میکروسپوروکارپ یا مگاسپوروکاپ و یا یکی ازآنها است. میکروسپوروکارپ یک ساختار سبز یا قرمز رنگ به قطر حدود دو میلیمتر است که درون آن تعدادی میکروسپورانژیا که از لحاظ ظاهری شبیه تخم حشرات است وجود دارد. هر میکروسپورانژیا حاوی۳۲–۶۴ میکروسپور می باشد .



نمایی نزدیک از *A.filiculoides*. برگ ها بصورت لایه لایه روی هم قرار گرفته اند. در سمت راست ۲ اسپوروکارپ نر که حاوی دستجات اسپور(ماسول) هستند، وجود دارند که شکلی شبیه تخم حشرات را تداعی می کنند.

یک نکته عجیب درمورد میکروسپورها این ا ست که آنها تمایل دارند در دستجاتی بهم بچسبند که به این ساختارماسول (Massulae) گفته می شود. هرمیکروسپورانژیوم حاوی ۳–۱۰ ماسول است. هر ماسول توسط ساختارهای پیکانی شکل و مومانندی بنام Glochidia احاطه و پوشیده میگردد . البته این دریکی از زیرجنس های آزولا بنام Rhizosperma به چشم نمی خورد.



دستجات اسپور (ماسول) *A.filiculoides* به همراه بخش های پیکانی شکل بنام گلوشیدیا

میکروسپورانژیوم بالغ ماسول را در آب رها میکند. میکروسپورها در درون آن جوانه می زنند و تولید آنتروزوییدهای تاژک دار و محرک می نمایند که درجهت بارور نمودن اسپورهای ماده موجود در درون آرکوگونیوم عمل می کنند(Brown-Howland & Nierzwicki – Bauer 1990) .

اسپوروکارپ ماده (مگاسپوروکارپ) کوچکتر از نوع نر میباشد و تنها حاوی یک اسپرانژیوم و یک اسپوراست. اما از آنجا که این اسپور، بزرگتر از اسپورنر است به آن مگاسپور گفته می شود. مگاسپوروکارپ ها دارای دو بخش مجزا هستند. دربخش پایینی، هرمگاسپوروکارپ حاوی یک مگاسپور است که در زیر آب جوانه می زند و یک پروتال تولید کننده آرکوگونیا را تشکیل می دهد و بخش شناور بالایی بنام Float که تعداد آن در زیر جنس های مختلف آزولا متفاوت است، بطوریکه در در زیرجنس آزولا به تعداد سه عدد و در ریزوسپرما نه عدد می باشد.