مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد ۳، شماره۲، تابستان ۱۳۹۱، ۱۵۱-۱۴۱

بررسی اثر تنش شوری تحت دو شرایط روشنایی و تاریکی بر عملکرد *PSII* جلبک *Dunaliella bardawil*

مریم السادات قاسمی کلاچای .M.Sc[1]، منصور شریعتی .Ph.D [*2]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان
۲- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان
* پست الکترونیک نویسنده مسئول: mansour_shariati@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۵/۲

چکیده

هدف: در این مطالعه اثر تنش شوری بر فتوسیستم II دستگاه فتوسنتزی جلبک *Dunaliella bardawil* به عنوان گونه فتوسنتزی مدل جهت روشن نمودن تاثیرات بیشتر این تنش و ارائه راهکارهای مقابله با تنش شوری طی مطالعات آینده بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از تکنیک OJIP-test جهت آنالیز فلوئورسنس کلروفیل *a* در جلبک *D. bardawil* (سویه Utex-2538) تحت تنش‌های شوری ۱ به ۲ و ۱ به ۳ مولار نمک، در دو شرایط روشنایی و تاریکی استفاده گردید.

نتایج: نتایج نشان داد که در هر دو شرایط نور و تاریکی میزان پارامترهای Fv/Fo، Φ_{Po}، ψ_o، Φ_{Eo}، Φ_{Ro} و PI_{ABS} در ابتدای اعمال تنش بطور معنی دار کاهش یافت. در حالی که Φ_{Do} رو به افزایش نهاد. پس از گذشت ساعات اولیه از اعمال تنش، عملکرد PSII در نمونه‌های واقع در شرایط تاریکی افزایش نیافت و میزان Φ_{Do} رو به افزایش نهاد. در صورتی که در نمونه‌های واقع در شرایط روشنایی با افزایش عملکرد PSII همراه بود.

نتیجه‌گیری: بر طبق نتایج، با کاهش در فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب، میزان انتقال الکترون به فئوفیتین، Q_A، Q_B و سایر پذیرنده‌های الکترون در زنجیر انتقال الکترون فتوسنتزی کاهش می یابد. از این رو می توان گفت که کمپلکس تجزیه کننده آب نخستین مکانی است که تحت تنش شوری آسیب می بیند. از جهتی بررسی دو شرایط نور و تاریکی همراه با اعمال تنش شوری نشان می دهد که فتوپریود معمولی احتمالا همراه با مکانیسم‌های وابسته چون فتوسنتز و تولید کلروفیل سبب افزایش کارایی سیستم جلبکی در بازگشت به حالت طبیعی قبل از تنش می شود.

واژگان کلیدی: تنش، جلبک دونالیه‌لا، فتوسیستم II، OJIP تست

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

شوری از جمله عوامل تنش‌زای محیطی بوده، که در بسیاری از نقاط جهان خطر جدی برای رشد گیاهان و تولید محصول است (۱). حدود ۲۰ درصد زمین‌های کشاورزی و ۵۰ درصد گندم زارهای جهان در معرض تنش شوری هستند (۲). این تنش تقریبا بسیاری از جنبه‌های رشد و گسترش گیاهان را تحت تاثیر قرار داده و سبب سمیت یونی، کمبود مواد غذایی، تنش‌های اسمتیک و اکسیداتیو می شود (۳). پاسخ موجودات فتوسنتزی به شرایط نامساعد محیط به توانایی سازگاری دستگاه فتوسنتزی آن‌ها بستگی دارد (۴). از جمله این موارد می‌توان به تولید اسمولیت با استفاده از محصولات حاصل از فتوسنتز جهت مقابله با شرایط تنش شوری اشاره نمود (۵). شوری منجر به کاهش فعالیت فتوسنتزی شده و این امر با کاهش در محتوی کلروفیل و عملکرد فتوسیستم II (PSII) همراه است (۶). تحقیقات انجام شده حاکی از آن است که که PSII از حساس‌ترین مکان‌ها در سیستم فتوسنتزی، در پاسخ به شرایط تنش است. ولی به طور کلی اطلاعات اندکی در مورد تاثیر شوری بر PSII وجود دارد (۷). این کمپلکس پروتئینی از ۲۰ مولکول پلی‌پپتید و انواعی از مولکول کلروفیل و کاروتنوئید تشکیل شده است (۴). در زنجیر انتقال الکترون فتوسنتزی به ازاء هر فوتون جذب شده توسط مرکز واکنش PSII، یک الکترون برانگیخته به پلاستوکوئینون A (Q_A) منتقل می‌شود و با الکترون حاصل از تجزیه آب بوسیله کمپلکس آزاد کننده اکسیژن جایگزین می‌شود. در ادامه، الکترون‌ها از طریق حامل الکترون پلاستوکوئینون به کمپلکس سیتوکروم b_6-f منتقل شده و توسط ناقل الکترون پلاستوسیانین به PSI می‌رسند. PSI بعد از جذب نور و انتقال الکترون برانگیخته به پذیرنده بعدی جهت تولید NADPH و ATP، این الکترون را از پلاستوسیانین دریافت می کند (۸). با توجه به نقش PSII در اکسایش آب و تولید اکسیژن، می‌توان گفت که از اهمیت خاصی در پاسخ سیستم فتوسنتزی تحت شرایط تنش برخوردار می باشد (۹).

به دلیل پیچیده بودن سیستم‌های گیاهی، امروزه استفاده از جلبک‌های سبز تک‌سلولی، با قدرت تکثیر بالا مانند جلبک *Dunaliella* به عنوان سیستم مدل، مورد توجه محققان بوده و می‌تواند جهت بررسی و درک بهتر و سریع تر نتایج موثر باشد (۱۰و۱۱). این جلبک فاقد دیواره سلولی بوده، مقاوم به شوری است و می‌تواند در محیط با غلظت ۰/۱۷ تا ۵ مولار نمک (NaCl) زندگی کند. از ویژگی‌های دیگر این گونه می‌توان به تولید مقادیر بالایی از کاروتن ها خصوصا بتاکاروتن در شرایط نامساعد اشاره نمود که از لحاظ بیوتکنولوژی بسیار حائز اهمیت است (۱۲). بر پایه تحقیقات انجام شده، میزان فعالیت فتوسنتزی در جلبک *Dunaliella* نیز تحت تنش شوری کاهش می‌یابد (۱۳). اما همچون سایر گیاهان اطلاعات جزئی و کامل تر در این زمینه بسیار محدود می‌باشد. گزارش شده است که تولید گلیسرول به عنوان اسمولیت اصلی، از جمله مکانسیم های مقابله جلبک *Dunaliella* با شرایط تنش شوری می‌باشد (۱۴و۱۵) که در حضور نور به طور عمده از مسیر تجزیه نشاسته و به طور جزئی از مسیر فتوسنتز حاصل می‌شود ولی دیده شده است که در شرایط تاریکی تنها منبع تولید گلیسرول از تجزیه نشاسته است (۱۴و ۱۶). پس وجود نور نیز خود از مهم‌ترین فاکتورها جهت فتوسنتز و تامین انرژی در گیاهان و جلبک‌ها است. در عدم حضور نور، فتوسنتز متوقف شده و منبع انرژی جهت رشد و نمو و مقابله با شرایط تنش محدود می‌شود (۹).

در حال حاضر کاربرد آنالیز فلوئورسنس کلروفیل *a* ابزاری مفید و سودمند جهت مطالعه عملکرد فعالیت فتوسنتزی تحت شرایط تنش زا است (۱۷). گزارش شده است که نشر فلوئورسنس کلروفیل a، که پس از نوردهی به یک نمونه فتوسنتزی سازش یافته به تاریکی ایجاد می شود، همراه با تغییر در شرایط محیط تغییر می کند (۱۸). این نشر دارای دو فاز صعودی و نزولی است. فاز صعودی دارای چند مرحله اساسی بوده که به ترتیب با حروف O، J، I و P نشان داده می‌شود. مرحله O شدتی از فلوئورسنس را در مرحله ای که همه مراکز واکنش باز و آماده دریافت الکترون می‌باشند، نشان می‌دهد. J مرحله انتقال الکترون به Q_A و تبدیل آن به فرم احیا (Q_A^-) می‌باشد. در ادامه، مخزن پلاستوکوئینون (PQ) با دریافت الکترون احیا شده که در مرحله I این تغییر نمایش داده می شود. مرحله P، مربوط به انباشتگی الکترون در سمت پذیرنده الکترون PSI می‌باشد. به طوری‌که با دریافت الکترون همه کوئینون ها احیا و مراکز واکنش بسته شده و شدت فلوئورسنس به بیشترین مقدار آن می‌رسد (۱۹، ۲۰و۲۱). تکنیک OJIP-test که بر اساس مراحل فوق تعریف شده است، از جمله روش‌ها بر پایه آنالیز فلوئورسنس کلروفیل *a* است که توسط Strasser و همکاران در سال ۱۹۹۵ طراحی شد. این تکنیک گذار فلوئورسنس کلروفیل *a* را بر مبنای تئوری جریان انرژی در غشا زیستی اندازه گیری کرده و در نهایت کارایی سیستم فتوسنتزی را تحت شرایط تنش با طیف وسیعی از پارامترها نشان می‌دهد. از این رو با توجه به

www.SID.ir
Archive of SID

نقش مهم PSII در سیستم فتوسنتزی و نبود اطلاعات کافی در مورد تاثیر تنش شوری بر آن، در این مطالعه بنا نهاده شد که فعالیت بخش‌های مختلف PSII جلبک *Dunaliella* طی تنش شوری، تحت شرایط فتوپریود معمولی (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) با استفاده از روش OJIP-test بررسی و پارامترهایی از فلوئورسنس کلروفیل *a* که به شوری حساس ترند، مشخص شود. از جهتی دیگر اعمال تنش شوری در شرایط تاریکی و بررسی پارامترهای فلوئورسنس کلروفیل *a*، جهت مطالعه توانایی بخش‌های مختلف PSII در پاسخ به شوری در فقدان فتوسنتز و منبع انرژی کافی در مقایسه با شرایط روشنایی، از دیگر اهداف این تحقیق واقع شد تا بتوان از نتایج حاصل از این مطالعه، در ایجاد راهکارهای مناسب جهت مقابله با تنش شوری در گیاهان و جلبک‌ها استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

آماده سازی سوسپانسیون جلبکی پایه: در این تحقیق از جلبک *Dunaliella bardawil* سویه Utex-2538 تهیه شده از کلکسیون دانشگاه تگزاس آمریکا استفاده گردید. جلبک‌ها به منظور تکثیر و نگهداری در محیط غذایی اصلاح شده جانسون و همکاران (۲۲) در غلظت ۱ مولار NaCl کشت داده شدند. سپس سوسپانسیون های حاصل، به اتاق کشت با شدت نور ۱۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه، دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و فتوپریود ۱۶ ساعت تاریکی و ۸ ساعت روشنایی منتقل و بعد از گذشت ۱۵ روز و رسیدن به مرحله رشدی مناسب، از سوسپانسیون های موجود جهت طراحی آزمایشات استفاده شد. در ادامه بخشی از طرح آزمایش در اتاق کشت با فتوپریود معمولی و همزمان بخشی دیگر در اتاق کشت تاریک انجام شد.

اندازه‌گیری فلوئورسنس کلروفیل a: طی مطالعه فلوئورسنس کلروفیل a از دستگاه PEA (Plant Efficiency Analyzer from Handsatech-UK) و نرم افزار Biolizer HP4 استفاده گردید. کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار و مقایسه میانگین ها با استفاده از روش Repeated Measurement انجام شد.

اعمال تنش شوری تحت شرایط فتوپریود معمولی: در این بخش تنش‌های شوری بر روی جلبک‌های کشت شده در محیط کشت حاوی ۱ مولار نمک به صورت ۱ به ۲ و ۱ به ۳ مولار، به ترتیب با بزرگی ۲ و ۳ برابر، با استفاده از محیط کشت با غلظت متفاوت نمک اعمال گردید و پس از نمونه برداری از سوسپانسیون‌های جلبکی شاهد و تحت تنش، یک میلی‌لیتر از نمونه‌های مذکور به ظرف‌های مخصوص دستگاه PEA منتقل شد. در ادامه نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در یک محفظه تاریک قرار داده شدند تا همه مراکز واکنش باز و آماده دریافت الکترون گردند. سپس در همان محفظه با انتقال تک تک ظرف ها به محل مخصوص دستگاه، گذار فلوئورسنس کلروفیل *a* بر روی هر نمونه توسط سه دیود با نور قرمز (۶۵۰ نانومتر) و طول موج ۳۲۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه القا شد و این گذار توسط detector از ۱۰ میکروثانیه تا ۱ ثانیه ثبت گردید. داده‌های اولیه حاصل از محاسبه دستگاه به کامپیوتر منتقل و در نهایت طیف وسیعی از پارامترها که هر یک ویژگی از سیستم فتوسنتزی را بیان می‌کند، با استفاده از نرم افزار Biolizer HP4 محاسبه گردید (جدول ۱). اندازه گیری فلوئورسنس کلروفیل a، در زمان‌های ۰، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸ و ۶۰ ساعت پس از اعمال تنش شوری انجام شد.

جدول ۱: فهرست معانی اصلاحات استفاده شده در OJIP-test جهت آنالیز فلوئورسنس کلروفیل a

داده‌های اولیه حاصل از فلوئورسنس کلروفیل a توسط دستگاه PEA	
میزان فلوئورسنس پایه در ۱۰ میکروثانیه بعد از نور دهی	F_O
میزان فلوئورسنس در ۲ میلی ثانیه بعد از نوردهی	F_J
میزان فلوئورسنس در ۳۰ میلی ثانیه بعد از نور دهی	F_I
حداکثر میزان فلوئورسنس در بالاتر از ۳۰۰ میلی ثانیه بعد از نور دهی	F_P
پارامتر های فلوئورسنس حاصل از داده‌های اولیه	
میزان فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب	Fv/Fo
عملکرد کوانتومی یا میزان احیای فئوفیتین و Q_A	Φ_{Po}
احتمال ورود الکترون به زنجیر انتقال الکترون یا انتقال الکترون از Q_A به Q_B	ψ_o
میزان انتقال الکترون در زمان صفر	Φ_{Eo}
میزان احیای پذیرنده های انتهایی در سمت پذیرنده الکترون PSI	Φ_{Ro}
میزان اتلاف انرژی در زمان صفر	Φ_{Do}
شاخص کارایی بر مبنای جذب فوتون	PI_{ABS}

Archive of SID

www.SID.ir

اعمال تنش شوری تحت شرایط تاریکی: روند اندازه‌گیری فلوئورسنس کلروفیل a در نمونه‌های تحت تنش واقع در شرایط تاریکی مشابه حالت فوق بوده با این تفاوت که همه نمونه‌های شاهد و تحت تنش در طول مطالعه و انجام آزمایش (۶۰ ساعت) در شرایط تاریکی قرار داشتند، در حالی که در نمونه‌های واقع در فتوپریود معمولی، تنها مرحله اعمال شرایط تاریکی، قبل از اندازه گیری فلوئورسنس کلروفیل a است.

نتایج

مطالعه پارامترهای فلوئورسنس کلروفیل a در نمونه‌های تحت تنش شوری واقع در فتوپریود معمولی

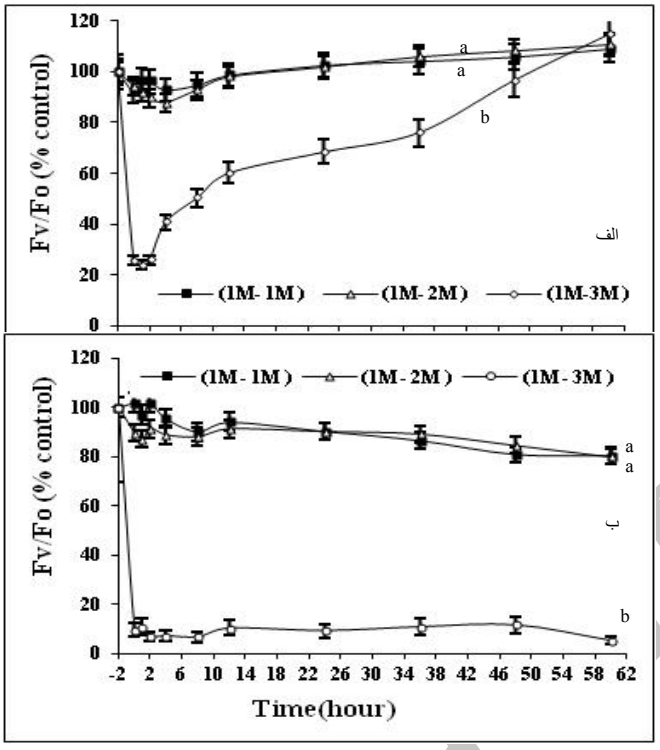
بررسی منحنی‌های شاخص Fv/Fo (میزان فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب) درشکل ۱، الف، نشان می دهد که در تنش ۱ به ۲ مولار نمک، با بزرگی ۲ برابر، میزان فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب مشابه نمونه شاهد (۱ به ۱ مولار نمک) است. در حالی که در ساعات اولیه پس از اعمال تنش ۱ به ۳ مولار با بزرگی ۳ برابر، میزان فعالیت این کمپلکس بطور معنی داری به شدت کاهش می یابد. بر مبنای داده‌های حاصل از محاسبه شاخص Φ_{Po} (عملکرد کوانتومی یا میزان احیای فئوفیتین و Q_A) در شکل ۲، الف، میزان کاهش در انتقال الکترون به فئوفیتین و Q_A، تحت تنش شوری ۱ به ۳ مولار، نسبت به نمونه شاهد (۱ به ۱ مولار نمک) معنی دار می‌باشد. این در حالی است که تحت تنش ۱ به ۲ مولار تغییر معنی داری در روند انتقال الکترون به این پذیرنده‌ها مشاهده نمی‌شود. میزان انتقال الکترون از Q_A به Q_B و روند احیا شدن آن‌ها که با شاخص ψ_o (شکل۳، الف) نشان داده می‌شود، در تنش ۱ به ۲ مولار نمک پس از اعمال تنش در مقایسه با نمونه شاهد (۱ به ۱ مولار نمک) تغییر نکرد ولی با افزایش در بزرگی تنش کاهش معنی داری در ψ_o تحت تنش ۱ به ۳ مولار نمک مشاهده شد. نتایج حاصل از بررسی پارامترهای Φ_{Eo} (میزان انتقال الکترون در زنجیر انتقال الکترون فتوسنتزی) و Φ_{Ro} (میزان احیای پذیرنده‌های انتهایی در سمت پذیرنده الکترون PSI) که به ترتیب در شکل ۴، الف و شکل ۵، الف نشان داده شده، بیانگر آن است که روند تغییرات در انتقال الکترون به پذیرنده های بعدی در زنجیر انتقال الکترون فتوسنتزی نیز مشابه پارامترهای فوق می باشد، به طوری که درتنش ۱ به ۳ مولار نمک برخلاف نمونه شاهد (۱ به ۱ مولار نمک)، میزان انتقال الکترون در زنجیر انتقال الکترون فتوسنتزی و میزان احیای پذیرنده‌های انتهایی الکترون در سمت پذیرنده الکترون PSI، در ابتدای اعمال تنش بطور معنی داری کاهش می‌یابد. میزان کارایی سیستم فتوسنتزی که با شاخص PI_{ABS} (شکل ۶، الف) مشخص می‌شود، در جلبک‌های تحت تنش ۱ به ۲ مولار، مشابه کارایی سیستم در شرایط بدون تنش بوده ولی در تنش ۱ به ۳ مولار که از شدت تنش بالاتری برخوردار می‌باشد، میزان کاهش این شاخص بعد از اعمال تنش معنی دار بود. در کلیه پارامترهای مورد اشاره فوق، روند کاهشی بعد از ساعات اولیه از اعمال تنش متوقف شده و روند بازیابی و رسیدن به حالت اولیه آغاز گردید و به تدریج رو به افزایش نهاد. پارامتر بعدی مورد بررسی در این مطالعه Φ_{Do} (شکل ۷، الف) بوده که بیانگر میزان اتلاف انرژی سیستم تحت شرایط تنش است. در تنش ۱ به ۲ مولار نمک، روندی از اتلاف انرژی بعد از اعمال این تنش مشاهده نشد ولی میزان این شاخص در تنش ۱ به ۳ مولار نمک کاملا در مقایسه با نمونه شاهد (۱ به ۱ مولار نمک) متفاوت بوده و در ابتدای اعمال تنش بطور معنی داری افزایش یافت.

مطالعه پارامترهای فلوئورسنس کلروفیل *a* در نمونه‌های تحت تنش شوری واقع در تاریکی

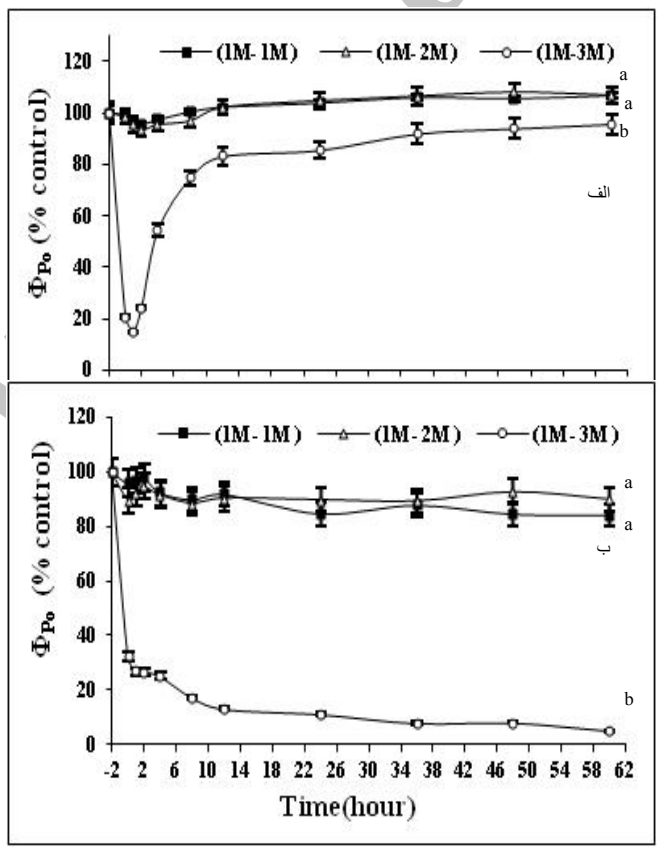
با مراجعه به نمودار پارامترهای Fv/Fo (شکل ۱، ب)، Φ_{Po} (شکل ۲، ب)، ψ_o (شکل ۳، ب)، Φ_{Eo} (شکل ۴، ب)، Φ_{Ro} (شکل ۵، ب) و PI_{ABS} (شکل ۶، ب) می‌توان دید که با افزایش شدت تنش شوری (۱ به ۳ مولار نمک)، میزان کلیه این شاخص‌ها در ساعات اولیه بعد از اعمال تنش به طور معنی‌داری کاهش و سپس با یک روند ثابت و بدون هیچ‌گونه افزایشی تا پایان آزمایش ادامه یافته است. روند اتلاف انرژی با توجه به شاخص Φ_{Do} (شکل ۷، ب) در نمونه‌های جلبکی تحت تنش ۱ به ۳ مولار نمک بلافاصله بعد از اعمال تنش بطور معنی‌داری افزایش یافته و تا پایان آزمایش، این روند افزایشی دنبال شده است. درحالی که روند تغییر این پارامتر تحت تنش ۱ به ۲ مولار مشابه نمونه شاهد (۱ به ۱ مولار نمک) می باشد. به طور کلی، می‌توان گفت که کلیه تغییرات مشاهده شده در تنش ۱ به ۳ مولار نمک در هر یک از پارامترهای فوق، در هر دو شرایط نور و تاریکی، در مقایسه با نمونه شاهد از نظر آماری معنی دار می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

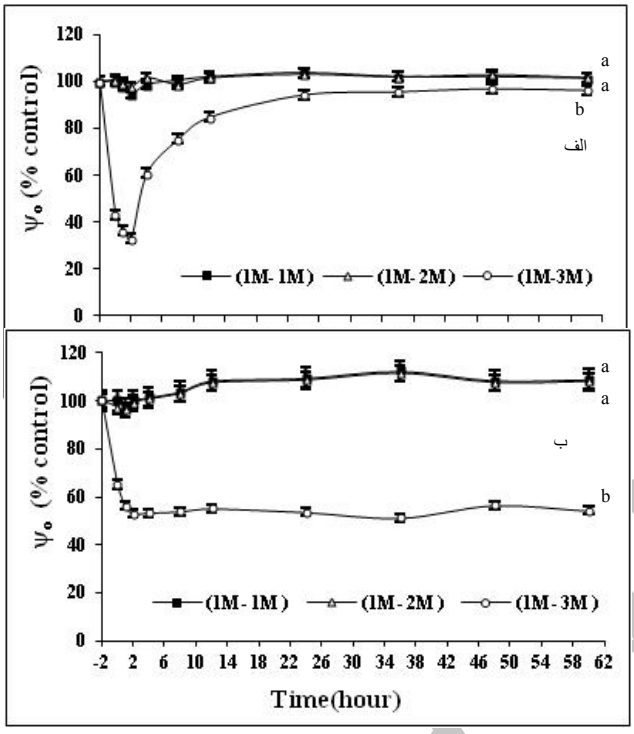


شکل ۱: روند تغییر Fv/Fo *(میزان فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب) در جلبک* *D. bardawil* *تحت تنش ۱به ۲ و ۱ به ۳ مولار نمک، در قیاس با شاهد (۱ به ۱ مولار نمک)، تحت دو شرایط فتوپریود معمولی (الف) و تاریکی (ب). مقایسه روند تغییرات با استفاده از روش* Repeated measurement *انجام شده است و حروف غیرمشابه نشان دهنده تغییر معنی‌دار در روند تغییرات می‌باشد.*

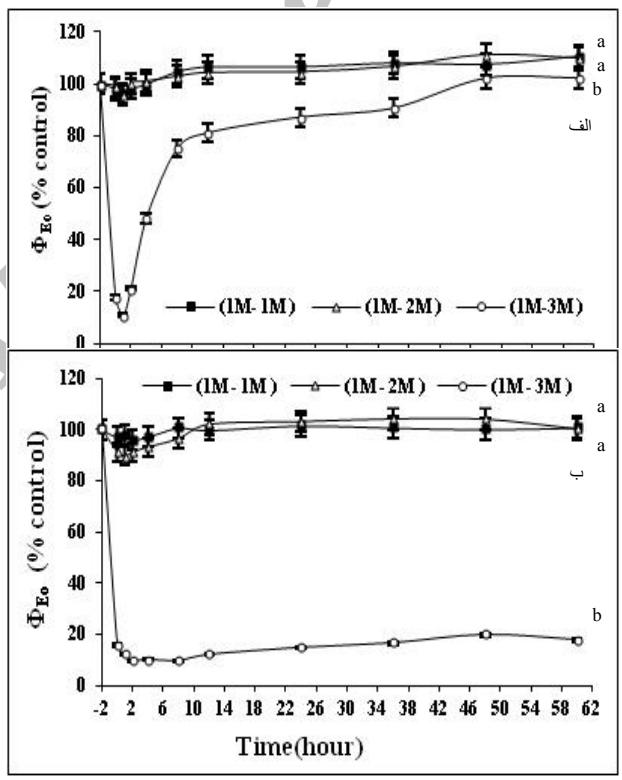


شکل ۲: روند تغییر Φ_{Po} *(عملکرد کوانتومی یا میزان احیای فئوفیتین و* Q_A*) در جلبک* *D. bardawil* *تحت تنش ۱به ۲ و ۱ به ۳ مولار نمک، در قیاس با شاهد (۱ به ۱ مولار نمک)، تحت دو شرایط فتوپریود معمولی (الف) و تاریکی (ب). مقایسه روند تغییرات با استفاده از روش* Repeated measurement *انجام شده است و حروف غیرمشابه نشان دهنده تغییر معنی‌دار در روند تغییرات می‌باشد.*

www.SID.ir

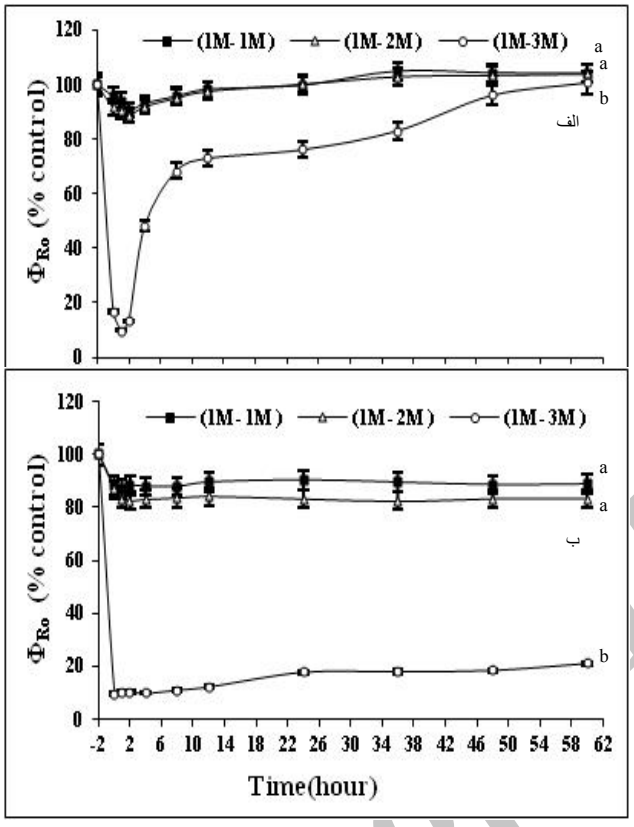


شکل ۳: روند تغییر ψ_o (احتمال ورود الکترون به زنجیر انتقال الکترون یا انتقال الکترون از Q_A به Q_B) در جلبک D. bardawil تحت تنش ۱به ۲ و ۱ به ۳ مولار نمک، در قیاس با شاهد (۱ به ۱ مولار نمک)، تحت دو شرایط فتوپریود معمولی (الف) و تاریکی (ب). مقایسه روند تغییرات با استفاده از روش Repeated measurement انجام شده است و حروف غیرمشابه نشان دهنده تغییر معنی‌دار در روند تغییرات می‌باشد.

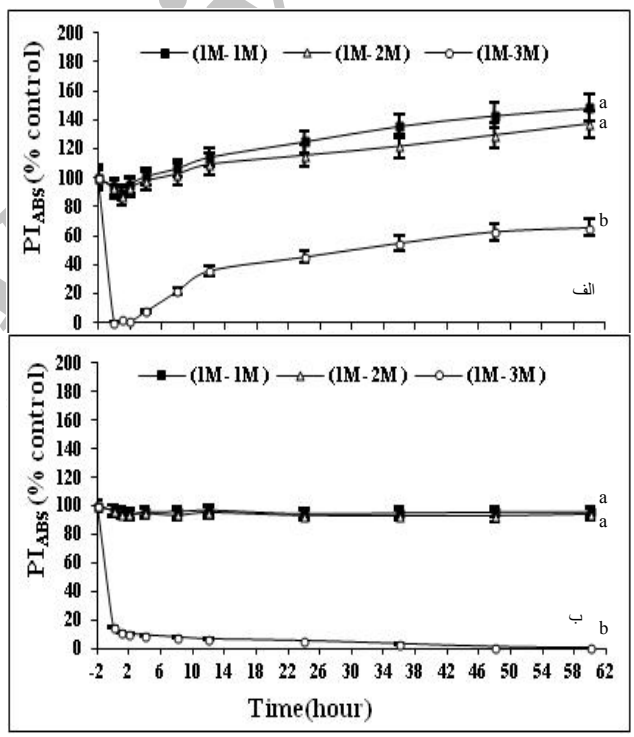


شکل ۴: روند تغییر Φ_{Eo} (میزان انتقال الکترون در زنجیر انتقال الکترون فتوسنتزی) در جلبک D. bardawil تحت تنش ۱به ۲ و ۱ به ۳ مولار نمک، در قیاس با شاهد (۱ به ۱ مولار نمک)، تحت دو شرایط فتوپریود معمولی (الف) و تاریکی (ب). مقایسه روند تغییرات با استفاده از روش Repeated measurement انجام شده است و حروف غیرمشابه نشان دهنده تغییر معنی‌دار در روند تغییرات می‌باشد.

www.SID.ir

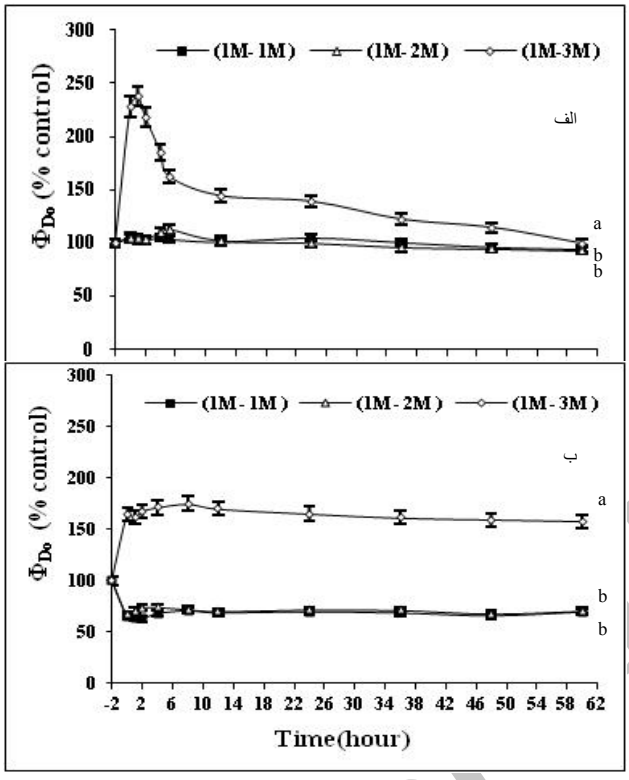


شکل ۵: روند تغییر Φ_{Ro} (میزان احیای پذیرنده‌های انتهایی در سمت پذیرنده الکترون PSI) در جلبک D. bardawil تحت تنش ۱به ۲ و ۱ به ۳ مولار نمک، در قیاس با شاهد (۱ به ۱ مولار نمک)، تحت دو شرایط فتوپریود معمولی (الف) و تاریکی (ب). مقایسه روند تغییرات با استفاده از روش Repeated measurement انجام شده است و حروف غیرمشابه نشان دهنده تغییر معنی‌دار در روند تغییرات می‌باشد.



شکل ۶: روند تغییر PI_{ABS} (شاخص کارایی بر مبنای جذب فوتون) در جلبک D. bardawil تحت تنش ۱به ۲ و ۱ به ۳ مولار نمک، در قیاس با شاهد (۱ به ۱ مولار نمک)، تحت دو شرایط فتوپریود معمولی (الف) و تاریکی (ب). مقایسه روند تغییرات با استفاده از روش Repeated measurement انجام شده است و حروف غیرمشابه نشان دهنده تغییر معنی‌دار در روند تغییرات می باشد.

www.SID.ir



شکل ۷: روند تغییر Φ_{Do} (میزان اتلاف انرژی) در جلبک D. bardawil تحت تنش ۱به ۲ و ۱ به ۳ مولار نمک، در قیاس با شاهد (۱ به ۱ مولار نمک)، تحت دو شرایط فتوپریود معمولی (الف) و تاریکی (ب). مقایسه روند تغییرات با استفاده از روش Repeated measurement انجام شده است و حروف غیرمشابه نشان دهنده تغییر معنی‌دار در روند تغییرات می‌باشد.

بحث

تاکنون تحقیقات مختلفی در رابطه با اثر تنش شوری بر فتوسنتز گیاهان نظیر جو (۲۳)، سورگوم (۶) و گندم (۲۴) و جلبک ها مانند *Porphyra perforate* (۲۵)، *Ulva lactuca* (۲۶) و همچنین *Dunaliella salina* (۲۲) صورت گرفته است ولی تحقیقات جامعی در خصوص اثر تنش شوری بر PSII جلبک *Dunaliella* وجود ندارد. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری فلوئورسنس کلروفیل *a*، در ابتدای اعمال تنش شوری، تحت هر دو شرایط روشنایی و تاریکی نتایج یکسانی را نشان می دهد. به طوری‌که در تنش شوری با شدت پایین، هیچ یک از بخش های بررسی شده سیستم فتوسنتزی در زنجیر انتقال الکترون تحت تاثیر واقع نشده در حالی که افزایش در شدت تنش، به اختلال در عملکرد PSII منجر شده و میزان فعالیت در بخش‌های مختلف به شدت کاهش یافته است.

از آنجا که جلبک *Dunaliella* یک جلبک مقاوم به شوری می‌باشد، لذا شوری با شدت دو برابر (۱ به ۲ مولار نمک) تاثیر چندانی بر PSII نداشته اما با افزایش شدت تنش تا ۳ برابر (۱ به ۳ مولار نمک) به نظر می‌رسد اولین محل اثر تنش شوری بر PSII، کمپلکس تجزیه کننده آب باشد. که این امر منجر به کاهش انتقال الکترون به فئوفیتین و Q_A، اولین پذیرنده‌های الکترون PSII (۲۶و ۲۷) می‌شود. در ادامه انتقال الکترون از Q_A به Q_B، کمپلکس سیتوکروم b_6-f، پلاستوسیانین و PSI کاهش می‌یابد. عدم انتقال الکترون و در نتیجه کاهش فعالیت فتوشیمیایی باعث افزایش میزان اتلاف انرژی بصورت حرارت (Φ_{Do}) می‌گردد که به خوبی در شکل ۷، الف قابل مشاهده می‌باشد. در واقع به نظر می‌رسد که افزایش اتلاف انرژی به عنوان مکانیسمی دفاعی در جهت جلوگیری از آسیب سیستم نوری فتوسنتزی عمل می‌کند.

مطالعه فلوئورسنس کلروفیل a در پاسخ به استرس شوری در گیاهان مختلف، همه حاکی از اثر منفی برروی فتوسیستم II می باشد. از جمله مطالعات انجام شده در این زمینه توسط دانشمندان می‌توان به گزارش های Allahverdiev و همکاران (۲۸) اشاره نمود که با بررسی شدت های مختلف تنش شوری بر روی karts *Trianea bogotensis* مشاهده نمودند که میزان شاخص Fv/Fo کاهش می یابد. Lu و Vonshak (۷) و Sudhir و همکاران (۲۹) با مطالعه تنش شوری بر *Spirulina platensis*

www.SID.ir
Archive of SID

به این نتیجه رسیدند که تحت تنش شوری میزان انتقال الکترون فتوسنتزی رو به کاهش می‌نهد. از جهتی کاهش در عملکرد کوانتومی واکنش‌های فتوشیمیایی اولیه تحت تنش شوری در گیاهان گندم (۲۴)، و سورگوم (۶) از دیگر مطالعات انجام شده در این زمینه می باشد (۳۰). مطالعه تنش شوری بر *Vinga radiate* L. و *Brassica juncea* Coss نشان داده است که مقدار Φ_{Po}، ψ_o و Φ_{Eo} کاهش می یابد (۱۹). با مقایسه دقیق بین تحقیقات انجام شده توسط دانشمندان فوق و نتایج حاصل از این تحقیق، علی رغم تشابه کلی در روند تغییر این پارامترها تحت تنش شوری، می‌توان گفت که فلوئورسنس کلروفیل a تحت تنش شوری، در این تحقیق در مقایسه با تحقیقات گذشته نسبتا کامل‌تر و از جنبه‌های مختلف بررسی شده است و با مطالعه همزمان طیف گسترده ای از پارامترها این امکان فراهم شد که محل دقیق اثر تنش شوری بر PSII مشخص گردد.

از دیگر ویژگی های مورد بحث در این تحقیق کارایی سیستم فتوسنتزی است که با شاخص PI_{ABS}، مشخص می‌شود. این پارامتر با تکیه بر کارایی جذب نور، عملکرد کوانتومی واکنش‌های فتوشیمیایی اولیه و عملکرد کوانتومی انتقال الکترون محاسبه می‌گردد (۳۱). تغییرات آن می‌تواند به طور کامل کارایی سیستم فتوسنتزی را نشان دهد که نتایج حاصل از این پارامتر نیز کاهش کارایی فتوسنتزی را در شدت‌های تنش بالاتر در ساعات اولیه نشان می دهد. اما پس از گذشت حدود ۱۰ تا ۱۴ ساعت در حضور نور کلیه پارامترهای مورد اشاره بازیابی شده و در برخی پارامترها به حدود مقدار اولیه افزایش می یابد. به نظر می‌رسد که در نمونه‌های جلبکی، همراه با مکانیسم‌هایی چون تقسیم سلولی، تولید کلروفیل، انجام فتوسنتز و وجود منبع انرژی کافی (داده‌ها نشان داده نشده است) و احتمالا تولید گلیسرول (۳۲)، تغییرات ژنی و تولید پروتئین‌های خاص (۱۰) و در نهایت به دنبال بهبود وضعیت کمپلکس تجزیه آب، میزان انتقال الکترون بهبود یافته و میزان اتلاف انرژی بصورت حرارت کاهش می‌یابد و انجام واکنش‌های نوری فتوسنتزی خصوصا PSII به شرایط طبیعی قبل از تنش نزدیک می‌شود. گزارش شده است که جلبک *Dunaliella* پس از اعمال تنش شوری پلاسمولیز شده و سپس در حضور نور با تشکیل گلیسرول پتانسیل اسمزی خود را بازیابی می‌کند و به حالت اولیه بر می‌گردد که این امر در بازگشت فعالیت دستگاه فتوسنتزی به حالت طبیعی تاثیر بسزایی دارد (۱۶).

از جهتی دیگر در نمونه‌های واقع در شرایط تاریکی بعد از کاهش اولیه در عملکرد بخش‌های مختلف هیچ گونه روند بهبود مشاهده نمی‌شود. گزارش شده است که جلبک *Dunaliella* در شرایط تاریکی از ذخیره نشاسته حاصل از فتوسنتز به عنوان منبع انرژی استفاده می‌کند و در فقدان نور نشاسته تجزیه شده و باعث تولید کربوهیدرات و گلیسرول جهت مقابله با شرایط تنش شوری می‌گردد (۱۶و۳۲). با توجه به محدود بودن این منبع انرژی، به نظر می‌رسد که نشاسته به عنوان تنها عامل بقاء این جلبک در شرایط تنش شوری و تاریکی باشد. نتایج حاصل از اعمال تنش شوری در شرایط تاریکی بر جلبک *Gracilaria sordia* نشان داده است که مقدار تجزیه نشاسته در این محیط افزایش می‌یابد (۳۳). لذا بر مبنای مطالعات انجام شده توسط محققان می‌توان گفت در نمونه‌های شاهد و تحت تنش شوری سازش یافته با تاریکی، به علت عدم وجود نور، نداشتن انرژی کافی جهت فتوسنتز و تولید انرژی و تنها با استفاده از تجزیه نشاسته موجود در کلروپلاست به عنوان انرژی ذخیره شده و محدود حاصل از فتوسنتز به حیات خود ادامه می‌دهند و این مقدار از انرژی ذخیره شده تنها به حفظ نسبی حیات سلول‌های جلبکی کمک می‌کند. از این رو این نمونه‌ها برخلاف نمونه های واقع در فتوپریود معمولی خصوصا در تنش های شوری با شدت بالا توانایی بازگشت به حالت بدون تنش را ندارند.

نتیجه گیری

در مجموع با توجه به موارد بحث شده در بالا می‌توان گفت که در PSII زنجیر انتقال الکترون فتوسنتزی، کمپلکس تجزیه کننده آب از مهم‌ترین بخش های PSII بوده و به نظر می‌رسد اولین مکانی است که تحت تنش شوری آسیب می بیند. طی این امر فرایند جبران الکترون ناشی از برانگیختگی مرکز واکنش PSII دچار اختلال می شود و در ادامه انتقال الکترون به سایر پذیرنده‌های زنجیر انتقال الکترون فتوسنتزی و به طورکلی میزان کارایی سیستم فتوسنتزی کاهش می‌یابد. از جهتی بررسی دو شرایط وجود نور و تاریکی همراه با تنش شوری به خوبی تایید می‌کند که بر پایه مطالعات انجام شده توسط محققان تابش نور و در پی آن فعالیت سیستم فتوسنتزی، تولید انرژی و اسمولیت گلیسرول وسایر فرایندهای وابسته توانایی این جلبک را در جهت سازگاری با شرایط جدید و بازگشت به حالت طبیعی قبل از تنش افزایش می دهد.

Archive of SID

www.SID.ir

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان به خاطر حمایت مالی در انجام این تحقیق قدردانی می‌گردد. نویسندگان مقاله از قطب تنش های گیاهی در دانشگاه اصفهان نیز تشکر و قدردانی می نمایند.

منابع

1. Dadashi MR, Majidi Hervan I, Noorinia AA. Evalution od different genotypes of barley to salinity stress. J Agri Sci. 2007; 1: 181-190. [Persian].

2. Flowers TJ, Yeo AR . Breeding for salinity resistance in crop plants: where next? Aust J Plant Physiol. 1995; 22(6): 875-884.

3. Munns R. Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell Envioron. 2002; 25: 239-250.

4. Allahverdiyev S, Atilla A, Ismail BS, Sahmurova A. Response of photosystem II and photosynthetic pigments to salt and Baikal EM1 in tree seedlings. Afr J Biotechnol. 2011; 10 (4): 535-538.

5. Yokthongwattana K, Melis A. Photoinhibition and recovery in oxygenic photosynthesis: mechanism of a photosystem II damage and repair cycle. In Demmig- Adams B, Adams ww, Matto AK, (eds). Photoprotection, photoinhibition, gene regulation and environment. Berlin: Springer; 2005; 175-191.

6. Netondo GW, Onyango JC, Beck E. Sorghum and salinity: II. gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. Crop Sci. 2004b; 44: 806-811.

7. Lu C, Vonshak A. Characterization of PSII photochemistry in salt-adapted cells of cyanobacterium *Spirulina platensis*. New Phytol. 1999; 141(2): 231-239.

8. Allen JP, Williams JC. Photosynthetic reaction centers. FEBS Letters. 1998; 438(5): 5-9.

9. Taize, L, Zeiger, E. Plant physiology. 2th Ed. Sunderland, Massachusetts; Sinauer Association, Publishers; 1998.

10. Glenn EP, Brown JJ, Blumwald E. Salt tolerance and crop potential of halophytes. CRC Crit Rev Plant Sci. 1999; 18: 227–255.

11. Madadkar Haghjou M. Induction of paraquat tolerance in *Dunaliella* by using some pre-treatments. J Plant Biol. 2011; 3 (10): 71-86. [Persian].

12. Ramakrishna A, Dayananda C, Giridhar P, Rajacekaran T, et al. Photoperiod influences endogenous indoleamines in cultured green alga *Dunaliella bardawil*. Indian J Exp Biol. 2011; 49: 234-240.

13. Gilmour DJ, Hipkins F, Boney AD. The effect of salt stress on the primary processes of photosynthesis in *Dunaliella tertiolecta.* Plant Sci. 1982; 26: 325-330.

14. Ben-Amotz A, Sussman I, Avron M. Glycerol production by *Dunalieilla*. Experientia. 1982; 38: 49-52.

15. Hadi MR, Shariati M, Afsharzadeh S. Microalgal biotechnology: carotenoid and glycerol production by the green algae *Dunaliella* isolated from the Gave-Khooni salt marsh, Iran. Biotechnol Bioproc Eng. 2008; 13: 540-544.

16. Brown A.D, Borowitzka L.J. Halotolerance of *Dunaliella*. In Levandowsky M, Hunter SH, (eds). Biochemistry and Physiology of Protozoa. New York. Academic Press. 1979; 139-189.

17. Baker NR. Chlorophyll Fluorescence: A probe of photosynthesis *in vivo*. Annu Rev Plant Physiol. 2008; 59: 89-113.

18. Srivastava A, Strasser A. Strasser and Strasser management of land palnts during a regular day. J Plant Physiol. 1996; 148: 445-455.

19. Misra AN, Srivastava A, Strasser RJ. Utilization of fast chlorophylla fluorescence technique in assessing the salt/ion sensitivity of mung bean and *Brassica* seedlings. J Plant Physiol. 2001; 158: 1173-1181.

20. Papageorgiou, G.C, Govindjee, A. Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis. Advances in Photosynthesis and Respiration. 1th Ed. Dordrecht: Springer; 2004.

21. Strasser B.J, Strasser R.J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP test. In: Mathis P, (eds). Photosynthesis: from light to biosphere. The Netherlands: Kluwer Academic; 1995; 977-980.

22. Shariati M, Madadkar Haghjou M. Effect of salt stress on beta-carotene and Chlorophyll accumulation of green alga *Dunaliella salina*, isolated from salt marsh of Gavkhooni, Isfahan. Sci Res bull Isfahan Univ. 2000; 14(2); 55-66. [Persian].

23. Belkhodja RF, Morales A, Abadia A, Gomes-Aparisi, et al. Chlorophyll fluorescence as a possible tool for salinity tolerance screening in barely (*Hordeum vulgare*). Plant Physiol. 1994; 104: 667-673.

24. Zair I, Chlyah A, Sabounji K. Tittahsen M, et al. Salt tolerance improvement in some wheat cultivars after application of in vitro selection pressure. Plant Cell Tiss Org. 2003; 73: 237-244.

Archive of SID

www.SID.ir

25. Satoh K, Smith CM, Fork DC. Effects of salinity on primary processes of photosynthesis in the red *Porphyra perforata*. Plant Physiol. 1983; 73(3): 643-647.

26. Ferreira KN, Tina M, Iverson TM, Maghlaoui K, et.al. Architecture of the photosynthetic oxygen-evolving center. Science. 2004; 303: 1831-1838.

27. Zouni A, Witt HT, Kern J, Fromme P, et.al. Crystal structure of photosystem II from *Synechococcus elongatus* at 38 °A resolution. Nature. 2001; 409(6821): 739-743.

28. Allahverdiev SR, Mavituna M, Ganieva R, Nafisi S. Effects of salt stress and synthetic hormone polystimuline K on photosynthetic activity of *Trianea bogotensis* Karst. Turk J Bot. 1998; 22: 19-23.

29. Sudhir PR, Pogoryelov D, Kovcs L, Garab G, et al. The effects of salt stress on photosynthetic electron transport and thylakoid membrane proteins in the Cyanobacterium *spirulina platensis*. J Biochem Mol Biol. 2005; 38 (4): 481-485.

30. Zhao GQ, Ma BL, Ren CZ. Growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence and ion content of naked oat in response to salinity. Crop Sci. 2007; 47: 123-131.

31. Rai MK, Shende S, Strasser RJ. JIP test for fast fluorescence transients as a rapid and sensitive technique in assessing the effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi in zea mays: Analysis of chlorophyll a fluorescence. Plant Biosyst. 2008; 142: 191-198.

32. Chen H, Jiang J, Wu G. Effect of salinity changes on the growth of *Dunaliella salina* and its isozyme activities of glycerol-3-phosphat dehydrogenase. J Agricult Food Chem. 2009; 57(14): 6178-6182.

33. Ekman P, Yu Sh. Pedersen M. Effects of altered salinity, darkness and algal nutrient status on floridoside and starch content, ot-galactosidase activity and agar yield of cultivated *Gracilaria sordida*. Br Phycol J. 1991; 26: 123-131.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Cell & Tissue (JCT) *Research Article*
Summer 2012; 3(2): 141-151

Effect of Salt Stress on PSII Efficiency of *Dunaliella bardawil* under Light and Dark Conditions

Ghasemi Kalachai M.S. M.Sc.[1], Shariati M. Ph.D. [2*]

1. M.Sc. Graduate, Department of Biology, Faculty of Science, Univercity of Isfahan, Isfahan
2. Department of Biology, Faculty of Science, Univercity of Isfahan, Isfahan

* Email corresponding author: mansour_shariati@yahoo.com

Received: 13 Mar. 2012 Accepted: 23 Jul. 2012

Abstract

Aim: In this study, the effect of salt stress on PSII of *Dunaliella bardawil* as a photosynthesis species model was invesigated to determines more effects of this stress and appropriate solutions to salt stress.

Material and methods: In this study, OJIP-test method was used for analyzing of chlorophyll a fluorescence under stress. Different concentrations of NaCl, 1 to 2 M and 1 to 3 M, were applied at light and dark conditions .

Results: The results showed in both light and dark regimes, the rate of Fv/Fo, Φ_{Po} ,ψ_o , Φ_{Eo}, Φ_{Ro} and PI_{ABS} were reduced by salt stress of 1 to 3 M NaCl at primary hours after salt stress while Φ_{Do} was increased. After first hours, the efficiency of PSII did not increased in dark regime unlike the samples in light condition.

Conclusion: According to the results, salt stress led to reduction of water-splitting complex activity and the function of other electron acceptor in PSII. The rate of electron transport to pheophytin, Q_A, Q_B and the other electron acceptors is also reduced. Hence it could be finalized that water-splitting complex is the first site damaged by salt stress. On the other hand, studying on salt stress under light and dark regimes showed that light accompanied by the other mechanisms such as photosynthesis and chlorophyll production increase the efficiency of algae system and recover to the condition before stress .

Key words: *Dunaliella*, OJIP-test, PSII, Stress

Archive of SID

www.SID.ir