

## بررسی بقاء، رشد و وضعیت رنگیزهای در شرایط تغییرات توام دی اکسید کربن و نور جلبک سبز *Senedesmus obliquous*

پیمان آقایی<sup>۱\*</sup>، رقیه سیاه بالایی<sup>۲</sup>

۱. مریبی، گروه زیست شناسی دانشگاه پیام نور مرکز اردستان، اردستان، ایران

۲. کارشناس ارشد دانشکده علوم دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۹/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۷/۰۱

### چکیده

هدف از این پژوهش، تاثیر توام نور و دی اکسید کربن بر روی جلبک سبز *Senedesmus obliquous* بوده است که معمولاً در شالیزارها استان گلستان به وفور وجود دارد و در عین حال از نظر فیزیولوژیکی ناشناخته می‌باشد. در این تحقیق نمونه‌ی جلبکی *obliquous Senedesmus* از شالیزارهای استان گلستان شناسایی گردید. فلور جلبکی از پنج ایستگاه در شالیزارهای مورد مطالعه طی پاییز ۱۳۸۹ تا تابستان ۱۳۸۹ انتخاب شد. خاک‌های جمع آوری شده کشت گردیدند. بعد از تشکیل کلنی و جداسازی، جلبک سبز سندسموس خالص و در محیط کشت مایع BG-11 در شرایط نوری ۲ میکرومول کوانتا بر مترمربع بر ثانیه، دمای ۲۸ درجه سانتیگراد و pH ۷ غنی سازی گردید. تیمارهای نوری شامل ۲، ۴، ۶ و ۱۰۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه، تناوب‌های نوری ۲، ۴ و ۶ ساعت تاریکی در شبانه روز، تیمارهای دی اکسید کربن عدم هوادهی، هوادهی و تلقیح دی اکسید کربن به میزان ۳٪ بود. بقا، رشد، نرخ رشد ویژه، محتوای کلروفیل، بتا کاروتون، گرانتوفیل، آنالیز گردید. نتایج نشان داد که در این نمونه رشد در شدت ۶۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه به مراتب بالاتر بود. اعمال روشانی مستقیم به صورت ۲۴ ساعت، سبب افزایش معنی‌دار رشد نمونه گردید. محتوای کلروفیل در دوره‌های طولانی تر تاریکی افزایش معنی‌دار پیدا کرد. در شرایط بهینه نوری، افزایش قابل توجه در مقدار کاروتونوییدها نشان دهنده سازگاری سیستم فتوستتری این گیاه با شرایط اعمال شده بود. در شرایط بهینه نوری و هوادهی تولید کاروتونوییدها در روزهای نخست پس از تلقیح افزایش یافت.

**واژگان کلیدی:** اکوفیزیولوژی، جلبک‌های سبز، شالیزار، گلستان، سندسموس، کودزیستی

### مقدمه

مجموعه‌ی ای از تنفس‌ها قرار دارند که نور و دی اکسید کربن از عملده ترین آن‌ها محسوب می‌شود (شکری و همکاران، ۱۳۸۱). شرایط غرقابی سبب تغییر در محتوای اسیدیته و نور شالیزار می‌گردد و این امر همراه با دیگر تنفس‌ها از جمله دی اکسید کربن، شوری می‌باشد توسط جلبک‌ها تحمل شده و منجر به از بین رفتن آنها نگرد (Boussiba 1989).

جلبک‌ها از مهمترین اجتماعات تشکیل دهنده خاک مرطوب به خصوص شالیزارها هستند. این گیاهان از جمله دیرینه ترین یوکاریوت‌های فتوستتر کننده هوازی بسطح این کره محسوب می‌شوند. در شالیزارها جلبک‌ها تحت تاثیر

محصولات کشاورزی همراه خواهد بود (Stal, 1995).

اکثر جلبک‌های سبز دارای مکانیسم تراکمی دی اکسید کربن هستند. در مطالعات انجام شده بر روی گونه‌هایی از *Chlorella* و *Senedesmus* مشخص گردید که آنها می‌توانند با استفاده از مکانیسم تراکمی دی اکسیدکردن در شرایطی که کمبود دی اکسید کربن و یا افزایش تعادل به سمت بیکربنات وجود داشته باشد، سبب تعديل رابطه میان این دو گردند (Quesada and Fernandez-Valient, 1997). مکانیسم تراکمی، سیستم حساسی است که از سویی وابسته به عملکرد مطلوب سیستم‌های مولد انرژی نظیر فتوستتر و تنفس است و از سوی دیگر با اسیدیته محیط در ارتباط مستقیم می‌باشد. این سیستم نیاز به انرژی دارد و بنابراین عملکرد دائم آن، حداقل از نظر اقتصاد انرژی مفروض به صرفه نیست. بنابراین نمونه‌هایی که قابلیت انعطاف در القای این مکانیسم و منابع لازم برای تامین انرژی آن را داشته باشند، از نظر کاربردی توانمند محسوب می‌شوند (Richmond, 1986).

*Senedesmus obliquus* شالیزارهای استان گلستان به وفور یافت می‌گردد. این جلبک به دلیل توانمندی در ابعاد متفاوت، می‌تواند در بیوتکنولوژی کاربردی ریز جلبک‌ها مورد توجه جدی قرار گیرد. توانمندی این جلبک از نظر تولید انواع رنگیزهای ضد تنفس، سبب شده است که استفاده از آن به عنوان کود زیستی، در دهه اخیر مورد توجه بسیاری از محققین قرار گیرد (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱). علاوه بر این، قابلیت بالای دی آزوتروفی و برون ریزش قابل توجه ترکیبات نیتروژنی در برخی از گونه‌های آن سبب شده است تا این موجودات از نظر دی آزوتروفی نیز مورد توجه قرار گیرند. مجموع این ویژگی‌ها این نمونه را از نظر بیوتکنولوژی کشاورزی ارزشمند نموده است (Anand et al., 1990).

بدین ترتیب نشان ویژه سازی این موجود از جنبه‌های مختلف و از جمله فیزیولوژی و اکوفیزیولوژی می‌تواند راه‌گشای استفاده‌های کاربردی آتی از این جلبک باشد. با توجه به اینکه برنج در کشاورزی ایران، به نوعی گیاه زراعی

نور نقش عمده‌ای در اجتماعات فلور جلبکی خاک‌ها و شالیزارها دارد (Boussiba, 1988). تغییرات نور در هنگامی که برنج رشد می‌کند محسوس است و در برخی بررسی‌ها نشان داده شده است که میزان نوری که شالیزار پس از رشد کامل برنج دریافت می‌کند در حدود یک درصد میزان دریافتی قبل از رشد برنج است (Valiente and Leganes, 1988).

جلبک‌های خاکزی، عموماً سایه پسند هستند (Stal, 1995). این بدان معنی نیست که این موجودات قابلیت بقاء و رشد در شرایط نوری بالا را از دست داده‌اند. بازدارندگی نوری در این شاخه جلبکی حتی در شدت‌های نوری بالا، نادر است و قابلیت سازگاری آن‌ها به شدت‌های بالای نور می‌تواند قابل توجه باشد (Stal, 1995). مطالعات انجام شده McKinny, 1941) به همین ترتیب وجود ساختارهای فتوستتری و قدرت تطبیق نوری آن‌ها، سبب می‌شود که این جلبک‌ها، قابلیت سازگاری قابل توجهی به شدت‌های نوری محدود نشان دهند (Valiente and Leganes, 1989).

علاوه بر نور دی اکسید کربن، از مهم ترین عواملی است که در حوزه اکولوژی و اکوفیزیولوژی جلبک‌های خاکزی، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. این امر هم به نگرش جهانی و هم به نگرش‌های بیوتکنولوژیک موضعی مربوط است. از نقطه نظر نگرش جهانی، مسئله تغییر نسبت گازهای گلخانه‌ای بخصوص افزایش غلظت دی اکسید کربن و واکنش موجودات زنده به این تغییرات مورد توجه قرار می‌گیرد.

غرقابی شدن شالیزارها، باعث ایجاد شکل دیگری از زندگی می‌شود. به این ترتیب در میزان دی اکسید کربنی که جهت فعالیت‌های فتوستتری می‌باشد در اختیار جلبک‌ها قرار گیرد، تفاوتی بوجود می‌آید. با توجه به اهمیت لایه‌های جلبکی در ارتباط با لایه‌های زیرین از نظر حفظ تعادل میکروفلور، هرگونه اختلال در رسیدن دی اکسید کربن به اندازه و به موقع، خطر از میان رفتن میکروفلور را بدنبال خواهد داشت که خود با تضعیف خاک و کاهش تولید

۴۸ ساعت جهت ایجاد سازگاری وارد محیط کشت مایع شد. در این رابطه مراحل نمونه برداری و استخراج رنگدانه ها دو روز یکبار در شرایط کاملاً استریل و یکسان داخل اتاق کشت و هر یک درسه تکرار انجام شد و مقادیر کلروفیل، بتاکاروتین، گزانتوفیل، طیف جذبی رنگیزه ها و میزان رشد آنها اندازه گیری گردید. ابتدا آنالیز رشد در شرایط متفاوت نور انجام گرفت. تیمارهای نوری با استفاده از لامپ های فلورسنت با شدت ۲، ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ میکرومول کواتنا بر مترمربع در ثانیه بود که با استفاده از توری های محافظ و نزدیک کردن و دور کردن از منبع نور تنظیم می گردید (شکروی و همکاران، ۱۳۷۸). تناوب های نوری ۲، ۴، ۶ ساعت تاریکی در شبانه روز بود که توسط زمان سنج اتوماتیک تنظیم می گردید. تیمارهای دی اکسید کربن و بررسی مکانیسم تراکمی در شرایط محدودیت دی اکسید کربن (بدون هوادهی)، محدودیت نسبی (هوادهی) و عدم محدودیت (تلقیح دی اکسید کربن به میزان ۳٪) انجام گرفت با استفاده از اسپکتروفتومتر (OD750) سنجش گردید. سنجش کلروفیل پس از استخراج با متابول با روش Marker (Marker ۱۹۸۰) انجام گرفت و کاروتوئینیدها بر اساس Jensen (۱۹۷۸) به صورت در شیشه سنجش گردیدند. بررسی های مورفولوژیک با استفاده از نمونه های زنده و نمونه های تثبیت شده در مونت گلیسرین، انجام گرفتند (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱). آنالیز های آماری با استفاده از نرم افزارهای SPSS Ver. 11 و Sigmaplot انجام شد.

### نتایج

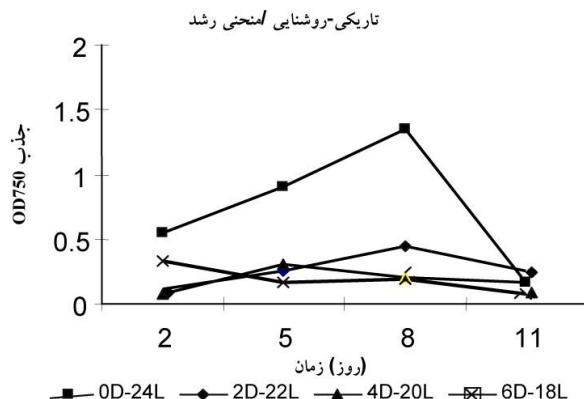
در این سویه رشد در شرایط ۶۰ میکرومول کواتنا بر مترمربع در ثانیه، نشان می دهد که اعمال روشنایی مستقیم به صورت ۲۴ ساعت، سبب افزایش رشد در نمونه می گردد. (شکل ۱).

استراتژیک محسوب می شود و نیز با توجه به مسئله ضرورت استفاده از کودهای بیولوژیک در آینده، مسئله بقاء و رشد این موجودات در شرایط تسبتاً مشابه شالیزار می تواند بسیار مفید باشد (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱).

تاکنون عمدۀ بررسی های انجام گرفته در دنیا و ایران، بررسی هایی با تأکید بر یک عامل بوده است، اما با توجه به وجود اثرات متقابل بسیار زیاد در محیط، در این پژوهش، بررسی توازن تاثیر تغییرات نور و دی اکسید کربن معدنی بر رفتار جلبک سبز (*Senedesmus obliquous*) مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش ها

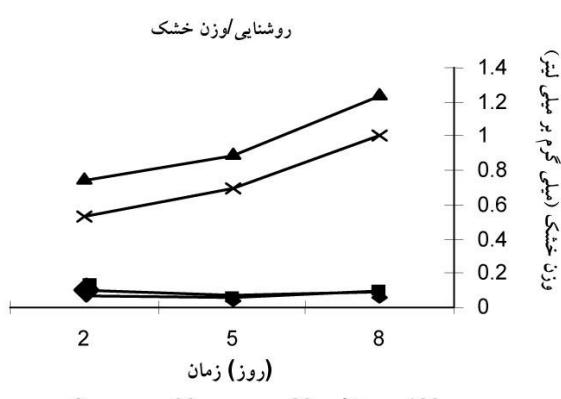
فلور جلبکی از شالیزارهای استان گلستان جمع آوری شدند. این نمونه ها از ۵ ایستگاه در شالیزارهای مورد مطالعه طی پاییز ۱۳۸۸ تا تابستان ۱۳۸۹ انتخاب گردیدند. نمونه ها در تمام نقاط از سطح خاک تا عمق ۲.۵ سانتی متری از خاک برداشته و درون کیسه های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل گردیدند. به منظور کشت خاک مقداری از خاک های نمونه برداری شده از یک غربال ۲ میلی متری عبور داده شد و ۵ گرم از خاک های صاف شده به درون ظروف پتري از قبل استریل شده منتقل گردید و سپس کشت نمونه های خاک مطابق روش کشت جلبک های خاکزی انجام گرفت (Kaushik, 1987). پس از تشکیل کلنی، جدا سازی و کشت های بعدی، جلبک سبز (*Senedesmus obliquous*) به صورت خالص تهیه گردید (Kaushik, 1987). شناسایی مقدماتی و شناسایی در حد گونه با استفاده از John و همکاران (۱۹۶۲)، Tiffany (۱۹۶۲) و Prescott (۱۹۰۳) انجام گرفت. کشت در محیط مایع BG-11 و در شرایط نوری ۲ میکرومول کواتنا بر متر مربع بر ثانیه (که توسط لامپ فلورسانست تأمین می گشت)، دمای ۲۸ درجه سانتی گراد و pH ۷ انجام گرفت. بررسی های فیزیولوژیک در ارلن های با حجم ۲۵۰ میلی لیتر محتوی ۱۰۰ میلی لیتر سوسپانسیون انجام شد. کشت ها به مدت ۱ ساعت هم زده شده و سپس به محفظه روشنایی منتقل گردیدند. پیش از تلقیح نمونه به مدت



شکل ۲ مقایسه رشد (کدورت سنجی) در جلبک سبز *Scenedesmus obliquus* در شرایط متفاوت تناوب نوری (D: تاریکی، L: روشنایی)

در روشنایی  $60\text{ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه}$

توان تولید کلروفیل با رشد نمونه سازگار نیست و شرایط تاریکی طولانی تر حاکی از تشديد بیوسنتز کلروفیل و دوره های تاریکی کوه تاتر ناشی از تشديد فعالیت تولید رنگیزهای کارتنوئیدی می باشد (جدول ۱).



شکل ۱. مقایسه رشد (وزن خشک) در جلبک سبز *Scenedesmus obliquus* در شرایط متفاوت شدت نوری در روشنایی ۲، ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه

در صورتی که تناوب های نوری، به طور محسوس رشد نمونه را کاهش می دهد (شکل ۲). اختلاف میان روشنایی دائم و تناوب های نوری (۲، ۴ و ۶ ساعت تاریکی) معنی دار می باشد ( $p \leq 0.05$ ). بدین ترتیب در مقایسه شدت های نوری بسیار محدود، محدود، بالا و افراطی نمونه گرایش بیشتری به شدت های نوری بالا دارد

جدول ۱. مقدار کلروفیل (میلی گرم بر میلی لیتر) در تناوب های نوری مختلف در در روشنایی  $60\text{ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه}$  و هوادهی در جلبک سبز *Scenedesmus obliquous*

کلروفیل	روز	عدم تاریکی	۲ ساعت تاریکی	۴ ساعت تاریکی	۶ ساعت تاریکی
	2	0.02	0.02	0.12	0.07
	5	0.03	0.04	0.20	0.29
	8	0.07	0.11	0.15	0.85

بیشترین نرخ رشد مربوط به زمانی بود که در محدوده شرایط نوری بالا و نسبتاً بالا، به هوادهی اکتفا نمودیم.

نتایج بررسی مقدماتی (جدول ۲) نشان می دهد جلبک سبز *Scenedesmus obliquus* در شرایط نوری محدود و افراطی از خود رشد نشان داد هر چند این رشد اندک بود.

جدول ۲: میزان رشد و زمان مضاعف شدن و ثابت ویژه رشد (از راست به چپ) عدم هوادهی، هوادهی، و تلقیح دی اکسید کربن

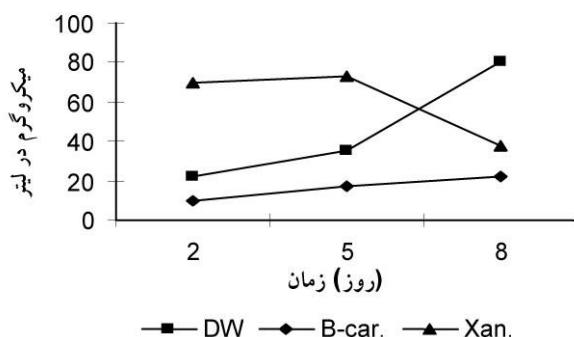
روشنایی	زمان مضاعف شدن (G)				روشنایی
	ثابت ویژه رشد ( $\mu$ )	0.051	0.14	0.18	
2	0.03	0.02	2.37	6.01	3.70
30	1.09	0.21	4.87	3.95	2.50
60	2.07	0.171	6.78	15.20	4.10
100	1.03	0.04	12.31	5.1	15.02

دقت در منحنی‌های رشد در این حالت حاکمی از آن است که در شرایط نوری افزایشی نمونه بقای خود را حفظ می‌کند هر چند بطور طبیعی کاهش رشد به چشم می‌خورد. اما در شرایط نوری ۳۰ و ۶۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع نمونه نه تنها بقای خود را حفظ می‌کند بلکه دارای رشد قابل توجهی است. این نمونه از نظر محتوای کاروتونوییدی بویژه محتوای گزان توفیل قابل توجه می‌باشد (جدول ۳).

جدول ۳. میزان وزن خشک (میلی گرم بر میلی لیتر)، میزان کاروتونوییدها (میلی گرم در لیتر) در شرایط بهینه نور ۶۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه (هوادهی)

روز	۲	۵	۸
وزن خشک	۲۲	۳۵	۸۰
بتا کاروتون	۱۰	۱۷	۲۲
گزان توفیل	۷۰	۷۳	۳۸

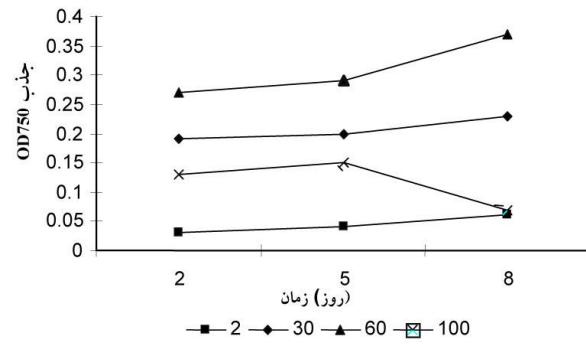
دقت در منحنی‌های مقایسه ای نشان می‌دهد که در روزهای نخست رشد محتوای گزان توفیل بالاست و سپس به طور معنی‌دار کاهش می‌یابد (شکل ۵). در شرایط نوری محدود و افزایشی، محتوای رنگیزه ای کاروتونوییدی بسیار اندک بود. این امر نشان می‌دهد که برای فعال ماندن سیستم تولید کاروتون و گزان توفیل، در این سویه وجود نور بسیار مهم است.



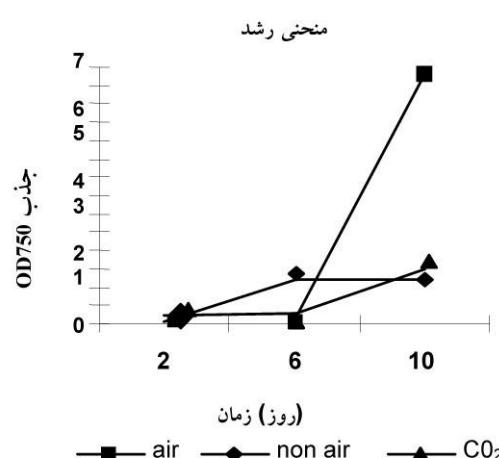
شکل ۵. مقایسه رشد (وزن خشک) در جلبک سبز *Scenedesmus obliquus* با محتوای کاروتونوییدی

اعمال هوادهی در هر سه حالت سبب شد که نرخ رشد افزایش معنی‌داری پیدا کند ( $p \leq 0.05$ ) (شکل ۳).

(هوادهی) شدت های نوری منحنی رشد



شکل ۳. مقایسه منحنی رشد در جلبک سبز *Scenedesmus obliquous* در شرایط نوری ۲ و ۳۰ و ۶۰ و ۱۰۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه (با شیکر و هوادهی) تلقیح دی اکسید کربن به میزان ۳٪ در این سویه، سبب افزایش رشد نشد، بلکه در مقایسه با دی اکسید کربن معمول (هوادهی)، رشد را کاهش داد و باعث افزایش زمان تولید مثل گشت. بدین ترتیب این نمونه در شرایط تلقیح دی اکسید کربن مکانیسم تراکمی نیرومندی از خود بروز می‌دهد (شکل ۴).



شکل ۴. مقایسه منحنی رشد در جلبک سبز *Scenedesmus obliquus* در شرایط نوری ۱۰۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه در سه حالت بدون هوادهی، هوادهی و تلقیح دی اکسید کربن

## بحث

اتصال به حاشیه ظرف پیدا می‌کند و نیز رنگ نمونه به سبز متمايل به زرد گرايش می‌يابد که می‌تواند ناشی از تشديد فعالیت تولید رنگیزه‌های کارتوئنییدی در آن‌ها باشد (Lichtenthaler, 1987). اين يافته ها با بررسی‌های سلطانی و همکاران در ۱۳۷۲ مطابقت دارد. از نظر کاربردی، با در نظر گرفتن شاخص‌های Boussiba (1988) به نظر می‌رسد که توان سیستم فتوستتری در این سویه با افزایش شدید نور (و یا کاهش آن) سازگار نیست. جلبک سبز *Scenedesmus obliquous* نه تنها در شرایط هوادهی، بلکه در شرایط تلقیح دی اکسید کربن رشد نسبتاً خوبی را نشان می‌دهد، به نظر Poza-Carion et al., (2001) در این سویه فعال می‌باشد. بقای نمونه در چنین شرایطی، آن را از نظر کاربردی توانمند نشان می‌دهد (Anand et al., 1990) وجود چنین مکانیسم‌هایی در جلبک‌های سبز-آبی اسیلاتوریال مورد بحث جدی بوده است (Stal 1995).

در سیانوبکتری *L. wolsei* و *Lyngbya majuscule* شواهدی از وجود چنین مکانیسمی بدست آمده است (شکروی و همکاران، ۱۳۸۷) با اینحال این مکانیسم‌ها عمدتاً دو طرفه بوده و در شرایط قلیایی همپوشانی می‌کنند که سبب رشد قابل توجه در این شرایط می‌شود. کارایی سیستم کاروتونییدی که در شرایط خشی (بهینه برای رشد) ملاحظه می‌شود، شاهدی بر توان انرژی دهی برای اعمال مکانیسم تراکمی دی اکسید کربن است (Poza- Carion et al., 2001). در شرایط اسیدی، کارایی این سیستم در توان جمع آوری نور و رساندن آن به مرکز واکنش، به شدت کاهش می‌یابد (Hogyan etal., 2008). عدم کارایی نمونه‌ها در جمع آوری دی اکسید کربن به میزان کافی در شالیزارها، بخصوص در شرایط غرقابی می‌تواند ناشی از همین باشد. با حرکت به سمت شرایط خشی، دستگاه کاروتونییدی تقویت می‌شود و از نظر کمیت افزایش قابل توجه می‌یابد. توان نمونه برای رشد در شرایط خشی، ناشی از القای مکانیسم تراکمی دو طرفه‌ای است که خود می‌تواند از تقویت سیستم کاروتونییدی منشاء بگیرد. در شرایط تلقیح دی اکسید کربن، تمامیت این سیستم

نتایج نشان داد که نمونه مورد بحث به سمت نورپسندی گرايش دارد. شدت نور ۶۰ میکرومول کواترا بر متر مربع در ثانیه، آنچنانکه در بررسی‌های Valiente and Leganes (1989) و سلطانی و همکاران (۱۳۷۲) تایید شده است، شدت نور مناسبی برای رشد این نمونه در شرایط آزمایشگاهی است. واکنش نمونه به تناوب‌های نوری، از الگوی عمومی جلبک‌های سبز در شرایط آزمایشگاهی تعیت می‌کند (Henley and Ramus, 1989). به نظر می‌رسد سیستم فردوسکین- تیوردوکسین به صورت سیستم خود تنظیمی تناوب‌های نوری در این سویه فعال باشد. نمونه در شرایط نوری محدود معادل ۶۰ میکرومول کواترا بر مترمربع در ثانیه، بقای خود را حفظ نمود و از این نظر با نتایج دستاوردهای و سلطانی و همکاران (۱۳۷۲) مطابقت دارد. تناوب‌های نوری سبب بروز کاهش محسوس رشد گردید. هرچند در تناوب‌های نوری ۲ و ۴ ساعت، نمونه بقای خود را حفظ نمود. به نظر می‌رسد در فتوپریودهایی با دوره‌های تاریکی بالاتر، نمونه دچار تنفس می‌شود. در یافته‌های Stal (1995) در خصوص گونه *Lyngbya majuscula* چنین رفتاری مشاهده شده است. شدت نوری معادل ۶۰ میکرومول کواترا بر مترمربع در ثانیه که از الگوی Valiente and Leganes (1989) برگرفته شده است، در خصوص سویه مذکور در شرایط نور مستقیم صادق می‌باشد. برای بررسی‌های بعدی، این شدت نور می‌تواند به صورت مستقیم اعمال گردد. توان تولید کلروفیل به عنوان شاخصی از سیستم فتوستتری، با رشد نمونه سازگار نبود. بنظر می‌رسد تأثیر نور، به خصوص از نظر تغییر آرایش مورفولوژیک در زمان‌های مختلف و شکل‌گیری مختلف می‌تواند در این زمینه موثر باشد. دقیقت در نحوه آرایش و شکل‌گیری اجتماعات نشان داد که به عنوان مثال در شرایط تاریکی طولانی تر، نمونه‌ها تمایل خود را به اتصال به کناره‌های ظرف از دست می‌دهند و نیز از نظر ظاهری رنگ سبز تیره به خود می‌گیرند که حاکی از تشديد بيوستتر کلروفیل در آن‌ها است. در تاریکی کوتاه تر نمونه تمایل به

باعث افزایش زمان تولید مثل می‌گردد. بدین ترتیب این نمونه در شرایط تلقیح دی اکسید کربن مکانیسم تراکمی نیرومندی از خود نشان می‌دهد.

توان تولید کلروفیل با رشد نمونه سازگار نیست و به نظر می‌رسد روند متفاوتی نشان می‌دهند. تاثیر نور، به خصوص از نظر تغییر آرایش مورفولوژیک در زمان‌های مختلف و شکل‌گیری مختلف می‌تواند در این زمینه موثر باشد. دقت در نحوه آرایش و شکل‌گیری اجتماعات نشان داد که در شرایط تاریکی طولانی مدت تر نمونه‌ها تمایل خود را به اتصال به کناره‌های ظرف از دست می‌دهند و نیز از نظر ظاهری رنگ سبز تیره به خود می‌گیرند که حاکی از تشديد بیوستتر کلروفیل در آن‌ها است. در تاریکی کوتاه مدت تر نمونه تمایل به اتصال به ظرف پیدا می‌کند و نیز رنگ نمونه به سبز متمایل به زرد گرایش می‌یابد که می‌تواند ناشی از تشديد فعالیت تولید رنگیزه‌های کاروتوپنییدی در آن‌ها باشد. این نمونه در شرایط بهینه نوری، از نظر محتوای کاروتوپنییدی غنی می‌باشد و محتوای کاروتوپنییدی بالا می‌تواند ناشی از فعال بودن مسیر بیوستتر تراپیروولی باشد. *Senedesmus obliquous* از زمرة نمونه هایی است که در گلستان شالیزارهای استان گلستان به وفور یافت می‌گردد. این جلبک به دلیل توانمندی در ابعاد متفاوت، می‌تواند در بیوتکنولوژی کاربردی ریز جلبک‌ها مورد توجه جدی قرار گیرد. در شالیزارها جلبکها تحت تاثیر مجموعه‌ای از تشنه ها قرار دارند که نور و دی اکسید کربن از عمدۀ ترین آن‌ها محسوب می‌شود. بدین ترتیب نشان ویژه سازی این موجود از جنبه‌های مختلف، فیزیولوژی و اکوفیزیولوژی می‌تواند راهگشای استفاده‌های کاربردی آتی باشد. این نمونه به سمت نور گرایش دارد. شدت نور ۶۰ میکرومول کواتا بر متر مربع در ثانیه، شدت نور مناسبی برای رشد این نمونه در شرایط آزمایشگاهی است. در صورتی که تناوب‌های نوری، به طور محسوس رشد نمونه را کاهش می‌دهد بدین ترتیب در مقایسه شدت‌های نوری بسیار محدود و محدود و بالا و افراطی نمونه گرایش بیشتری به شدت‌های نوری بالا دارد. در شرایط نوری محدود و افراطی هر چند نرخ رشد بطور طبیعی نسبت به شرایط بهینه نزول کرده، اما حاکی از بقای نمونه می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که محدودیت دی اکسید کربن تاثیر بازدارنده‌ای بر رشد نمونه نداشته است. بنابراین حفظ بقا در این شرایط آن هم با محدودیت دی اکسید کربن قابل توجه می‌باشد. تلقیح دی اکسید کربن به میزان ۳٪ در این سویه، سبب افزایش رشد نمی‌شود بلکه در مقام مقایسه با دی اکسید کربن معمول (هوادهی)، رشد را کاهش می‌دهد و

حفظ می‌شود، ولی از توان آن کاسته می‌شود. هرچند در جلبک‌های سبز-آبی خاکزی، کاروتوپنییدها کمتر مورد توجه قرار گرفته اند، به نظر می‌رسد که محتوای آن‌ها به طور کلی با افزایش شدت نور افزایش می‌یابد (بافته چی و همکاران، ۱۳۸۱). جلبک سبز مورد نظر در شرایط بهینه نوری، از نظر محتوای کاروتوپنییدی غنی می‌باشد. بهر حال محتوای کاروتوپنییدی بالا می‌تواند ناشی از فعال بودن مسیر بیوستتر تراپیروولی و به نوعی شاخص فعال بودن مسیرهای اسیمیلاسیون نیتروژن باشد (Soltani et al., 2006).

### نتیجه گیری نهایی

*Senedesmus obliquous* از زمرة نمونه هایی است که در شالیزارهای استان گلستان به وفور یافت می‌گردد. این جلبک به دلیل توانمندی در ابعاد متفاوت، می‌تواند در بیوتکنولوژی کاربردی ریز جلبک‌ها مورد توجه جدی قرار گیرد. در شالیزارها جلبکها تحت تاثیر مجموعه‌ای از تشنه ها قرار دارند که نور و دی اکسید کربن از عمدۀ ترین آن‌ها محسوب می‌شود. بدین ترتیب نشان ویژه سازی این موجود از جنبه‌های مختلف، فیزیولوژی و اکوفیزیولوژی می‌تواند راهگشای استفاده‌های کاربردی آتی باشد. این نمونه به سمت نور گرایش دارد. شدت نور ۶۰ میکرومول کواتا بر متر مربع در ثانیه، شدت نور مناسبی برای رشد این نمونه در شرایط آزمایشگاهی است. در صورتی که تناوب‌های نوری، به طور محسوس رشد نمونه را کاهش می‌دهد بدین ترتیب در مقایسه شدت‌های نوری بسیار محدود و محدود و بالا و افراطی نمونه گرایش بیشتری به شدت‌های نوری بالا دارد. در شرایط نوری محدود و افراطی هر چند نرخ رشد بطور طبیعی نسبت به شرایط بهینه نزول کرده، اما حاکی از بقای نمونه می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که محدودیت دی اکسید کربن تاثیر بازدارنده‌ای بر رشد نمونه نداشته است. بنابراین حفظ بقا در این شرایط آن هم با محدودیت دی اکسید کربن قابل توجه می‌باشد. تلقیح دی اکسید کربن به میزان ۳٪ در این سویه، سبب افزایش رشد نمی‌شود بلکه در مقام مقایسه با دی اکسید کربن معمول (هوادهی)، رشد را کاهش می‌دهد و

سیاه بالایی، ره. افشارزاده، س. و شکروی، ش. (۱۳۸۷). تعین مشخصات مورفولوژیک و تاکسونومیک جلبک‌های رشته‌ای جمع آوری شده از شالیزارهای استان گلستان. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه اصفهان

شکروی، ش. (۱۳۷۸). بررسی پتانسیل سیانوباکتریوم خاکزی *Nostoc.sp* به عنوان کاندیدای کود بیولوژیک در شالیزار، پایان نامه دکتری تخصصی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

شکروی، ش. و ساطعی، آ. (۱۳۸۲). بررسی پتانسیل سیانوباکتری به منظور تلقیح در شالیزار، گزارش طرح پژوهشی، معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

شکروی، ش. و ساطعی، آ. (۱۳۸۴). نشان ویژه سازی مورفولوژیک سیانوباکتری به منظور تلقیح در شالیزار، گزارش طرح پژوهشی، معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

شکروی، ش. سلطانی، ن. و بافته چی، ل. (۱۳۸۱). تدوین تکنولوژی استفاده از سیانوباکتری‌ها به عنوان کود بیولوژیک در شالیزارها، شورای عالی تحقیقات نهاد ریاست جمهوری (طرح ملی) مجری پژوهشکده علوم پایه کاربردی، جهاد دانشگاهی، دانشگاه شهید بهشتی.

شکروی، ش. سلطانی، ن. و بافته چی، ل. (۱۳۸۷). سیانوباکتریولوژی، چاپ اول، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

**Anand, N.L., Radha, R.S., Hopper, G.R. and Subramanian, T.D. (1990).** Blue-green algae as biofertilizers: certain view points on the choice of suitable isolates. In: Perspective in phycology, International symposium of phycology at university of Madras, New Delhi: Today and Tomorrow's Publishers.

**Boussiba, S. (1988).** *Anabaena azollae* as biofertilizer. In: Algal biotechnology, eds. T.J. Stadler, M.C. Millon, Y. Verdus, H. M. Karamanos and D. Christiaen, Elsevier applied science.

ضعف آشکار در خوگیری نمونه به شرایط اعمال شده می‌گردد. از نقطه نظر توان حفظ رشد در شرایط نوری محدود و نیز محدودیت دی اکسید کربن می‌توان نمونه را واجد ارزش کاربردی دانست. با این حال چون در شرایط طبیعی و یا کشت انبوه احتمال قرار گرفتن نمونه در شرایط نور ضعیف و نیز دوره‌های طولانی مدت تاریکی وجود دارد می‌باشد بررسی‌های بیشتری را برای نمونه پیشنهاد کرد بررسی امکان خوگیری در زمان‌های طولانی و نیز بررسی توان فتوستتزری و فعالیت نیتروزنازی در این شرایط برای نمونه پیشنهاد کرد.

#### منابع

بافته چی، ل.، نژاد ستاری، ط.، ابراهیم زاده معبد، ح. و شکروی، ش. (۱۳۸۱). بررسی شدت‌های نوری بر رشد و بسامد هتروسیست سیانوباکتری *Fischerella sp*. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم دانشگاه تهران.

سلطانی، ن. (۱۳۷۷). تاثیر شدت نور بر ترکیبات بیوشیمیایی جلبک سبز *Scenedesmus brevispina*، مجله علمی شیلات، شماره ۱. صفحات ۲۴-۱۷.

سلطانی، ن.، شکروی، ش. و بافته چی، ل. (۱۳۷۶). بررسی جلبک‌های دارویی و اقتصادی با تکیه بر پژوهش‌های صورت گرفته در ایران، گزارش طرح پژوهشی، جهاد دانشگاهی شهید بهشتی

سلطانی، ن.، شکروی، ش. و بافته چی، ل. (۱۳۸۴). فلورستیک و فیزیولوژیک ریز جلبک‌های خاکزی دارای خاصیت ضد باکتریایی، گزارش طرح پژوهشی جهاد دانشگاهی شهید بهشتی.

سلطانی، ن. خاوری نژاد، ر. ریاحی، ح. و قربانی، م. (۱۳۷۲). تاثیر شدت‌های مختلف نور سفید بر رشد و فتوستز جلبک سبز *Scenedesmus brevispina* پایان نامه کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه تربیت معلم.

- Hangyan, W., Dinghui, Z. and Kunshan, G. (2008).** Impacts of increased atmospheric CO<sub>2</sub> concentration on photosynthesis and growth of micro and macro algae. Life Sciences, 51: 1144-1150
- Henley,WJ. and Ramus, J. (1989).** Photo acclimation of Ulvarotundata (Chlorophyta) under natural irradiance, Journal of Physiology, 103: 261-266.
- Jensen, A. (1978).** Chlorophylls and carotenoides. In: Handbook of Phycological Methods, Physiological and Biochemical Methods, eds. J.A. Hellebust & J.S. Craigie, Cambridge University Press.
- John, D.M., Whitton, B.W. and Brook, A.J. (2002)** .The Freshwater Algal Flora of The British Isles - Cambridge University Press.
- Kaushik, B.D. (1987).** Laboratory methods for blue-green algae. Associated Publishing Company, New Delhi, India.
- Lichtenthaler, H.K. (1987).** Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: PACKER, L. and DOUCE, R. eds. Methods in Enzymology. Washington, Academic Press, 148: p. 350-382.
- Marker, A.F.H., Nusch, E.A., Rai, H. and Riemann, B. (1980).** The measurement of photosynthetic pigments in freshwaters and standardization of methods: Conclusions and recommendations. Ergeb. Limnol. (Suppl. To Hydrobio.) 14: 91-106.
- Mckinney, G. (1991).** Absorption of light by chlorophyll solutions Biochemistry, 140: 315-322.
- Prescott, G.W. (1962).** Algae of the western great lake area. W.M.C. Brown Company Pub.
- Poza-Carrion, C., Fernandez-Valiente, E., Fernandez Pinas, F. and Leganes, F. (2001).** Acclimation of photosynthetic pigments and photosynthesis of the cyanobacterium *Nostoc* sp. Strain UAM 206 to combined flactuations of irradiance, pH, and inorganic carbon availability, Journal of Plant Physiology, 158: 1455-1461.
- Quesada, A., and Fernandez-Valiente, E. (1997).** Enviromental factors controlling N<sub>2</sub> fixation in Mediterranean ricefields. Microbial Ecology, 34: 39-48.
- Richmond, A. (1989).** Handbook of micro algal mass culture. CRC press. 154-190.
- Soltani, N., Khavari-Nejad, R., Tabatabaie, M., Shokravi, Sh. and Valiente, E.F. (2006).** Variation of Nitrogenase Activity, photosynthesis and pigmentation of cyanobacterium *Lyngbya* sp. FS33 Agardh strain FS18 under different irradiance and pH. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 22(6): 571-576.
- Stal, J.S. (1995).** Physiological ecology of cyanobacteria in microbial mats and other communities. New Phytology, 131: 1-32.
- Valiente, E.F. and Leganes, L. (1989)** .Regulatory effect of pH and Incident Irradiance on the levels of Nitrogenase activity in the cyanobacterium *Nostoc* sp.UAM205 Journal of Plant Physiology, 135: 623-627.