بررسی تنوع‌پذیری مورفولوژیک سیانوباکتریوم خاکزی *Hapalosiphon* sp. FS56 در شرایط توام pH، محدودیت نسبی دی اکسید کربن و محدودیت افراطی شدت نور

سارا جرجانی*[۱]، شادمان شکروی[۲]، معصومه کوهساری[۳]، حوریه احمدی لیوانی[۳]، عادله کاویانی[۳]

۱. کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، باشگاه پژوهشگران جوان، گرگان، ایران

۲. دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان ایران

۳. کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۲/۳۰ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۲/۲۶**

چکیده

سیانوباکتریوم خاکزی *Hapalosiphon* sp. FS56 در شالیزارها و زمین‌های کشاورزی استان گلستان وجود دارد، ولی از نظر مورفولوژیک ناشناخته می‌باشد. در این تحقیق نمونه خالص در محیط کشت مایع BG0-11 وارد شد. تیمارهای pH (۵، ۷، ۹) در شرایط محدودیت نوری افراطی (۲ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه) و محدودیت نسبی دی‌اکسید کربن (عدم استفاده از تلقیح) بررسی نمونه‌ها اعمال گردید. تغییرات مورفولوژیکی شامل وضعیت اجتماعات، آنالیزهای بیومتریک، وضعیت سلول اسپور، رنگ نمونه، شکل‌گیری اجتماعات، وضعیت هتروسیست و ابعاد آن در هر کدام از تیمارهای اعمال شده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که سیانوباکتریوم خاکزی *Hapalosiphon* sp. FS56 تحت تاثیر عوامل محیطی شکل ظاهری خود را در همه جنبه‌های بررسی شده تغییر می‌دهد. از صفات نسبتاً ثابت این سویه می‌توان به تمایل اجتماعات به رنگ قهوه‌ای، لایه دار بودن اسپور در شرایط قلیایی و تک ردیفه بودن محور اصلی اشاره کرد. در رابطه با ابعاد، قطر و طول کمینه اسپورها در این نمونه با زمان و تحت شرایط متفاوت pH به طور دائم تغییر می‌کند.

واژگان کلیدی: تنوع پذیری مورفولوژیک، سیانوباکتری، شالیزار، گلستان، *Hapalosiphon*.

مقدمه

در حال حاضر سیانوباکتری‌ها از طبقه‌بندی رضایت‌بخش و مورد توافق عام محققین ذیربط برخوردار نیستند. علت عمده در این خصوص را می‌توان در وجود دیدگاه‌های متفاوت درباره صفات موردنظر در طبقه‌بندی و چگونگی تشخیص آن‌ها جستجو کرد. در مورد فلسفه‌ی تنوع‌پذیری مورفولوژیک این نمونه‌ها هنوز ابهام جدی وجود دارد. به عنوان مثال ارزنده‌ترین مباحث تاکسونومی امروز نظیر آنچه توسط Anagnostidis و Komarek (۱۹۹۰) و Castenholz (۲۰۰۱) نگاشته شده، اگرچه شاخص‌های جدیدی برای رسیدن به قطعیت بیشتر ارائه کرده است، اما چون عمده این شاخص‌ها تعقیب مسیر گذشته می‌باشد به گفته خود محققین دارای نقاط ابهام و خطا می‌باشد. استفاده از سایر تخصص‌ها و گرایش‌های زیست‌شناسی نظیر فیتوشیمی، فیزیولوژی،

Email:Sarah.jorjani@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

بیولوژی مولکولی و ژنتیک در خصوص برخی گونه‌ها هرچند تا حدی قطعیت به دنبال داشته است، اما اولاً این قطعیت بسیار محدود بوده و در ثانی خود با موارد خطا همراه است (Anagnostidis, 1990). در رابطه با تنوع پذیری مورفولوژیک سیانوباکتریوم هاپالوسیفون در شالیزارهای استان گلستان تنها پژوهش‌های موجود به شکروی و ساطعی (۱۳۸٤) و شکروی و همکاران (۱۳۸۷) اختصاص دارد.

سیانوباکتری‌های شالیزار در محدوده‌ای از تغییرات اسیدیته قرار دارند و حتی این امکان وجود دارد که به طور روزانه در محیط شالیزار ظاهر گردد (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱). غرقابی شدن شالیزارها سبب می‌شود که میان دی اکسید کربن و بی‌کربنات نوعی تعادل ایجاد شود (شکروی و همکاران، ۱۳۸۹). وجود مکانیسم تراکمی فعال در بررسی‌های انجام شده بر روی گونه‌هایی از *Nostoc* (امیرلطیفی و همکاران، ۱۳۸٦) و *Fischerella* (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱) نشان داده شده است. در صورتی که محدودیت دی اکسید کربن آزاد در شرایط غرقابی وجود داشته باشد، القا شدن این مکانیسم برای حفظ حیات موجود ضروری است و از این رو نمونه‌هایی که از نظر کاربردی (کود زیستی) توانمند محسوب می‌شوند، می‌بایست قابلیت انعطاف در القای این مکانیسم و منابع لازم برای تامین انرژی آن را داشته با شند (شکروی و همکاران، ۱۳۸۹).

تاکنون پژوهشی که به طور مستقیم مسئله تنوع‌پذیری مورفولوژیک سیانوباکتریوم مورد مطالعه، یعنی *Hapalosiphon* sp. FS 56 را در رابطه با شدت‌های نوری محدود، دی اکسید کربن و pH، مورد توجه قرار دهد انجام نگرفته است. در ارتباط با تنوع پذیری مورفولوژیک در شکروی و همکاران (۱۳۸٤)، چهار نمونه از سیانوباکتری‌های خاکزی استان گلستان از نظر مورفولوژی مورد شناسایی قرار گرفتند. در شکروی و همکاران (۱۳۸۷)، این چهار نمونه از نظر تاکسونومیک بررسی گشتند که بخشی از کار به تکمیل تنوع‌پذیری مورفولوژیک اختصاص داشته است. در منادی (۱۳۸۸) سیانوباکتری‌های اسیلاتوریال (دو گونه) از نظر مورفولوژیک مورد بررسی قرار گرفته‌اند. ویژگی‌های مورفولوژیک این نمونه‌ها پیچیده و تغییرپذیر است. اشکال ریسه‌ای منشعب با انشعابات حقیقی و کاذب، غیر ریسه‌ای، فرم‌های کلونی منظم و نامنظم وجود دارد. البته فرم پارانشیم کاذب تاکنون در این نمونه ها مشاهده نشده است. ابعاد سلول اعم از رویشی، اسپور و هتروسیست و شکل آنها چه در آرایش فضایی و چه تصاویر میکروسکوپی متنوع می‌باشد و از ۲۰-۳ میکرون را شامل می شود.در رابطه با واکنش‌های سیانوباکتریوم *Hapalosiphon* sp. FS44 به دما و شدت نور و دی اکسید کربن، در شکروی و صفایی (۱۳۸۸) این ویژگی‌ها به خصوص با تاکید بر دی اکسید کربن و اسیدیته و قلیاییت مورد بررسی قرار گرفته است. در شکروی و همکاران (۱۳۸۱) گونه‌ای از این جنس از شالیزارهای استان گلستان گزارش شده است. در شکروی و ساطعی (۱۳۸٤) از چهار گونه مورد بررسی جهت تنوع مورفولوژیک، یکی از گونه ها به صورت ابتدایی با نام *Hapalosiphon* sp. مورد مطالعه قرار گرفته که البته در شکروی و همکاران (۱۳۸٦)، تحت نام *Hapalosiphon* sp. FS44 کدگذاری شده است. در وکیلی (۱۳۸۵) تاثیر تناوب‌های نوری بر رشد و بقا و وضعیت هتروسیست سیانوباکتری استیگونماتال *Fischerella* sp. مورد بررسی قرار گرفته است. در Soltani و همکاران (۲۰۱۰)، سیانوباکتری *Fischerella* sp. FS18 از نظر تاکسونومیک نشان ویژه سازی شده است. در Soltani و همکاران (۲۰۰۷) همین گونه در ارتباط با شوری از نظر اکوفیزیولوژیک (خوگیری) مورد ارزیابی قرار گرفته است.

هدف از این آزمایش نشان ویژه سازی مورفولوژیک سیانوباکتری ناشناخته *Hapalosiphon* sp. FS56 می‌باشد که از شالیزارهای استان گلستان جدا شده، ولی تاکنون از نظر مورفولوژی و تاکسونومیک نشان ویژه سازی نشده است. وجود این نمونه در زمین‌های کشاورزی و شالیزارهای استان گلستان (شکروی و ساطعی، ۱۳۸٤)، ایجاب می‌کند که این نمونه مورد ارزیابی دقیق مورفولوژیک قرار گیرد. به عنوان گام نخست، رشد و تغییرات مورفولوژیک این نمونه در

www.SID.ir

شرایط توام دی اکسید کربن و اسیدیته و قلیاییت در این بررسی مورد توجه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های خاک از استان گلستان جمع آوری شدند. مشخصات جغرافیایی و نحوه نمونه برداری در سیاه بالایی و همکاران (۱۳۸٦) آمده است. کشت نمونه‌های خاک مطابق روش کشت سیانوباکتری‌های خاکزی انجام گرفت (Kaushik, 1987). پس از تشکیل کلنی، جدا سازی و کشت‌های بعدی، سیانوباکتری *Haplosiphon* sp. به صورت خالص تهیه گردید (Kaushik, 1987). شناسایی مقدماتی و شناسایی در حد گونه با استفاده از John و همکاران (۲۰۰۳)؛ Anagnostidis and Komarek (۱۹۹۰)؛ Desikachary (۱۹۵۹)، Prescott (۱۹٦۲) و Geitler (۱۹۳۲) انجام گرفت. نمونه پس از شناسایی با عنوان *Haplosiphon* sp. FS. 56 کد گذاری گردید و در موزه جلبکی پژوهشکده علوم پایه کاربردی دانشگاه شهید بهشتی ثبت گردید. کشت در محیط مایع BG0-11 و در شرایط نوری ۲ میکرو مول کوانتا بر متر مربع بر ثانیه (که توسط لامپ فلورسانت تأمین می‌گشت)، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و pH ۸ انجام گرفت (Soltani et al., 2006). بررسی‌های تغییرات مورفولوژیک دررابطه با تنش‌های اکوفیزیولوژیک، در ارلن‌های با حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر محتوی ۳۰۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون انجام شد. کشت‌ها به مدت ۱ ساعت هم زده شده و سپس به محفظه روشنایی منتقل گردیدند. پیش از تلقیح نمونه به مدت ٤۸ ساعت جهت ایجاد سازگاری وارد محیط کشت مایع شد. بررسی‌های اولیه تیمارهای اسیدیته و قلیایت و تیمار دی اکسید کربن از نوع هوادهی (محدودیت نسبی) انجام گرفت (Poza Carion et al., 2001).

بررسی‌های مورفولوژیکی با استفاده از نمونه‌های زنده و نمونه‌های تثبیت شده در مونت گلیسرین انجام گرفتند (شکروی و ساطعی، ۱۳۸٤). برای مشاهده و تشخیص از میکروسکوپ نوری، فلورسانس استفاده شد. مطالعه نمونه هم در کشت مایع و هم کشت جامد انجام گرفت. به طور روزانه در تیمارهای مختلف از نمونه، اسلایدهای نیمه دائم تهیه شد و صفات بارز مطالعه و ثبت گردید. صفات عمده شامل شکل اجتماعات، رنگ اجتماعات ، وضعیت اسپورها، آنالیزهای بیومتریکی شامل طول و قطر سلول‌های اسپور و هتروسیست‌ها بودند. برای مشاهده هتروسیست‌ها از میکروسکوپ فلورسانس استفاده شد. کوشیده شد تا به طور روزانه نمونه‌ها از نظر انشعاب، وضعیت محور اصلی و شکل تولید انشعاب بررسی شوند (شکروی و همکاران، ۱۳۸٤). آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزارهای SPSS Ver11، Sigmaplot Ver8 و Past انجام شد.

نتایج

سیانوباکتری مورد بررسی، سویه ای قلیایی پسند به نظر می‌رسد (شکل ۱). هرچند در شرایط اسیدی و خنثی نیز قادر به رشد می‌باشد. سقوط نسبی رشد در روز ششم بعد از تلقیح در شرایط قلیایی و خنثی بیشتر ناشی از رفتارهای طبیعی نمونه به نظر می‌رسد تا تغییرات احتمالی در محیط چه در شرایط اسیدی در همین زمان، رشد افزایش نشان می‌دهد (شکل ۱).

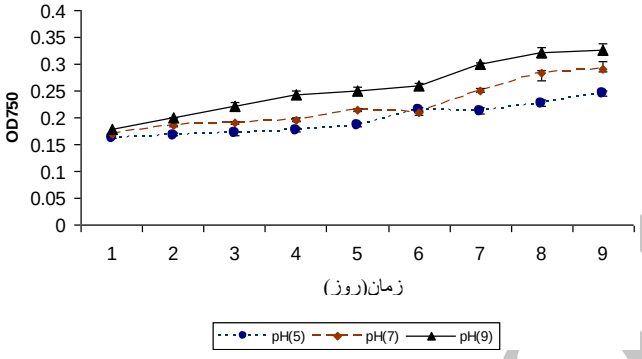
با توجه به اینکه در شرایط قلیایی، نمونه بهینه رشد را دارد، منطقی است که بررسی مورفولوژیکی به طور عمده در همین شرایط انجام شود. در جدول ۱، صفات مربوط به مورفولوژی نمونه در شرایط قلیایی آورده شده است. با توجه به منحنی رشد (شکل ۱) و ورود نسبی به فاز ایستایی از روز هشتم، صفات از روز اول تا روز هشتم به صورت روزانه بررسی گردیده است.

در شرایط بهینه pH به نظر می‌رسد که رنگ اجتماعات گرایش به رنگ قهوه‌ای دارد. در روز نخست پس از تلقیح، رنگ سبز به صورت مختصر مشاهده گردید، اما به تدریج در روزهای بعد، این رنگ به قهوه‌ای گرایش یافت. از نظر رفتار اجتماعات شاهد دو گونه رفتار بودیم. اجتماعات در محیط مایع، گاه رفتاری مرکزگرا پیدا می‌کنند و گاهی در تمام ظرف منتشر می‌شوند. وجود اسپورهای لایه دار در شرایط قلیایی در

Archive of SID

www.SID.ir

روزهـای نخسـت حـداقل تـا آنجـایی کـه بـا میکروسـکوپ معمـولی بتـوان تشـخیص داد ابتـدا چنـد لایـه و بـه تـدریج روی دو لایـه ثابـت مـی‌شـود. شـکل اسـپورها کـروی یـا کـروی- بیضـوی اسـت حالـت کـروی معمـولاً بیشـتر در روزهای نخست پـس از تلقـیح مشـاهده مـی‌گـردد. اسـپورها از نظر زمـان حالـت خـود را از کـروی بـه کـروی- بیضـوی تغییر می‌دهند (جدول ۱).



شکل ۱: مقایسه منحنی رشد نمونه *Hapalosiphon* sp در شرایط متفاوت pH (۵، ۷، ۹)

منحنی رشد / مقایسه در تیمارهای pH: Growth curves/pH comparison

جدول ۱: جدول مشخصات بر اساس تغییرات مورفولوژیکی سیانوباکتر *Hapalosiphon* sp در شرایط بهینه pH

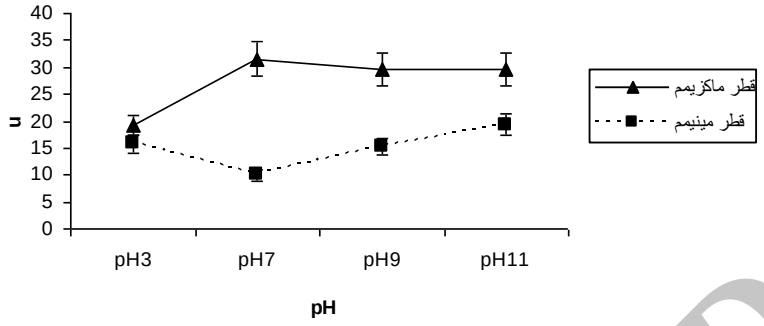
قطر و طول اسپور	وضعیت اسپور	شکل اجتماعات	رنگ اجتماعات	تیمار
قطر: ۱۷.۰۵۹-۴۴/۶۰۴ طول: ۲۵.۸۵-۳۳/۰۱۸	کـروی، کـروی- بیضـوی، بیضـوی دارای دو لایـه گـاه چندتایی	اجتماع در حاشیه ها کمی در وسط	قهوه ای کمی متمایل به سبز	$pH9,1^{th}$
قطر:۱۴.۳۱۱-۱۴/۸۰۹ طول:۱۴.۶۷۶-۱۶/۵	کروی، کروی- بیضـوی دارای دو لایه	توده‌هـای کوچـک و پراکنـده در تمام ظرف	قهوه ای تیره	$pH9,4^{th}$
قطر:۱۴.۴۶۸- ۳۹/۰۵۴ طول:۱۵.۴۸۸-۱۹/۰۹۲	کروی- بیضوی دارای دو لایه	اجتمـاع در حاشـیه و بـه مقـدار ناچیز پراکندگی در وسط ظرف	قهوه‌های تیره	$pH9,6^{th}$
قطر:۲۴.۲۵۶-۴۲/۹۵۶ طول:۱۵.۳۴۱-۲۹/۷	کروی- بیضوی، بیضـوی دارای دو لایه گاه دو تایی گاه سه تایی	پراکنده	قهوه ای	$pH9,8^{th}$

کمینـه قطـر در اسـپورها درایـن شـرایط، بـین ۱۴ تـا ۲۵ میکرون متفاوت است. به همین ترتیب بیشـینه قطـر اسـپورها بین ۱۶ تا ۴۴ میکرون متفاوت می‌باشد که البته به شکل اسپور بستگی دارد. کمینه طول با حـدود ۱۴-۱۵ میکـرون و بیشـینه طول اسپورها بین ۱۶/۵ تا ۳۳ میکرون نوسان مـی‌کنـد کـه بـا زمان دچار تغییر می‌شود. در شکل‌های ۲ و ۳ مقایسه بیشینه و کمینه اسپورها در شرایط متفـاوت pH آورده شـده اسـت. در روز نخست پس از تلقیح تغییر ابعاد در شـرایط pH متفـاوت، تاثیر اسیدیته بر بیشینه قطر سلول‌هـای اسـپور کـه از فراوانـی برخوردار هستند، معنی دار می‌باشد ($p\leq0.05$).

در شرایط اسیدی pH 5، قطر بیشینه سلول‌ها به طور معنی داری اندک است، اما در روزهای آخر پـس از تلقـیح، بیشـینه

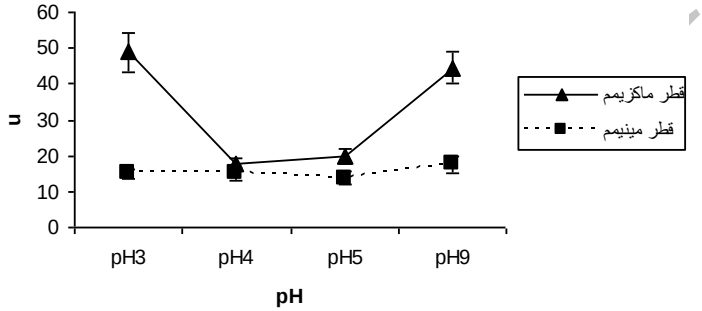
www.SID.ir

طول سلول‌های اسپور در شرایط خنثی، قلیایی و قلیایی افراطی، فاقد اختلاف معنی دار است ($p\leq0.05$)، اما در شرایط اسیدی، این تعادل بر هم می‌خورد و بیشینه طول سلول‌ها به طور معنی‌داری کوچک می‌شود. در مورد کمینه طول سلول‌ها، در شرایط اسیدی، روند معکوس طی می‌شود (شکل‌های ۲ و ۳).



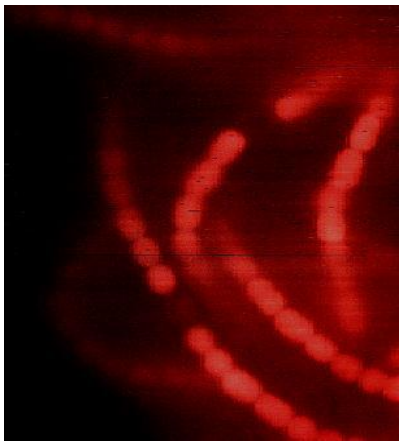
شکل ۲: منحنی مقایسه ای تغییرات طول ماکزیمم و مینیمم سلول‌های اسپور روزهشتم از دوره رشد در اسیدیته متفاوت

طول سلول‌های اسپور: S.C.L (Spore Cell Length)

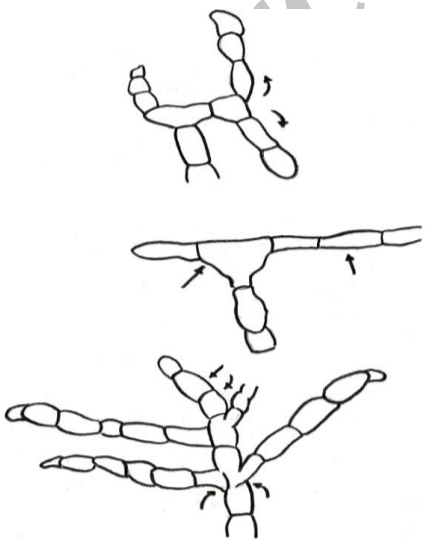


شکل ۳: منحنی مقایسه ای تغییرات قطر ماکزیمم و مینیمم سلول‌های اسپور روز اول از دوره رشد

قطر سلول‌های اسپور: S.C.D (Spore Cell Diameter)



شکل ٤: هتروسیست با میکروسکوپ فلورسانس در سیانوباکتری *Hapalosiphon* sp.FS56



شکل ٥: انشعابات در سیانوباکتری *Hapalosiphon* sp.FS56

www.SID.ir

در شرایط متفاوت اسیدی و قلیایی و مقادیر متفاوت دی اکسید کربن، نمونه در عمده موارد گرایش به حالت پوسته‌ای Crustose دارد. در رابطه با محور اصلی در این سیانوباکتری، تقریبا در تمامی تیمارهای اعمال شده pH و دی اکسید کربن، به صورت تک ردیفه مشاهده گردید (شکل۵). انشعابات کمتر تحت تاثیر تنش ها دچار تغییر می‌گردند و حتی انشعابات دو طرفی هم مشاهده می‌شود (شکل۵).

در خصوص هتروسیست و غلاف مشاهده با میکروسکوپ معمولی امکان پذیر نبود، ولی مشاهدات با میکروسکوپ فلورسانس و فاز کنتراست نشان داد که تحت تاثیر pH و دی اکسید کربن قرار می‌گیرند (شکل ٤). ابعاد هتروسیست به مراتب از ابعاد اسپورها کوچکتر است، ولی مابین ابعاد هتروسیست و سلول‌های رویشی، به ویژه در شرایط مایع اختلاف معنی‌دار وجود ندارد ($P > 0.05$). اختلاف ابعاد هتروسیست در شرایط اسیدی و قلیایی از نظر آماری معنی‌دار نیست ($P \leq 0.05$).

بحث

در سیانوباکتریوم *Hapalosiphon* sp.FS56 عدم فاز تاخیری در شرایط قلیایی و نیز وجود فاز تصاعدی از روز نخست، نشان می‌دهد که نمونه به طور ذاتی قابلیت سازگاری با شرایط قلیایی را دارد (شکروی و همکاران، ۱۳۸۷). این یافته با عمده بررسی‌های انجام شده در ایران و جهان سازگاری دارد. به عنوان مثال، در بررسی‌های انجام شده بر روی گونه‌هایی از نوستوک (Nostoc UAM205, Nostoc UAM 206) که در شالیزارهای اسپانیا انجام شده است، قلیایی‌پسند بودن نمونه مورد تایید و تاکید قرار گرفته است (Leganes and Fenandez Valiente, 1991). در خصوص *Nostoc* sp. UAM206، ضمن تاکید بر قلیایی پسند بودن نمونه، تاثیر محتوای دی اکسید کربن و نور بر رفتارهای سویه مورد توجه قرار گرفته است (Poza-Carion et al., 2001).

به این ترتیب بررسی‌های مورفولوژیک در شرایط قلیایی نمونه متمرکز شد. در شرایط بهینه pH، البته سوای روز نخست پس از تلقیح، گرایش به رنگ قهوه‌ای در این اجتماعات نوعی صفت ثابت می‌باشد. با تغییر محتوای رنگیزه‌ای، رنگ قهوه‌ای به قهوه ای روشن و تیره گرایش پیدا می‌کند. به نظر می‌رسد که در روزهای چهارم به بعد پس از تلقیح، رنگ قهوه‌ای به سمت قهوه‌ای تیره گرایش می‌یابد. در رابطه با رفتار اجتماعات در محیط مایع گاه مرکزگرا و گاه در تمام ظرف منتشر می‌شود. البته در صورت اتخاذ استراتژی مرگزگرایی، این مرکزگرایی شدید نیست و به عنوان مثال با رفتار سیانوباکتری *Fischerella* sp. (وکیلی و همکاران، ۱۳۸۵) متفاوت می‌باشد.

وجود اسپورهای لایه دار در شرایط قلیایی، صفت تقریباً ثابتی به نظر می‌رسد. در تمامی شرایط لایه‌دار بودن حفظ می‌شود. این لایه‌ها می‌توانند از دو بیشتر باشند، اما به تدریج اسپورها تعداد لایه‌های خود را روی دو تثبیت می‌کنند و به نظر می‌رسد که تغییر زمان، نمی تواند سبب کم یا زیاد شدن لایه‌های اسپور گردد. در بررسی‌های Perona و همکاران (۲۰۰۳) این مسئله مورد تایید قرار گرفته است. برخلاف لایه‌ها که ظاهرا صفت ثابت و محکمی است، اسپورها از نظر زمان حالت خود را تغییر می‌دهند می‌توان نتیجه گرفت که تمایل اسپورها روی هم رفته در شرایط قلیایی، به حالت کروی – بیضوی به مراتب بیشتر است و ظاهرا این شکل در اسپورهای این سیانوباکتری از عمومیت برخوردار است.

در رابطه با کمینه و بیشینه ابعاد اسپورها، این یافته‌ها با آنچه در John و همکاران (۲۰۰۳) در خصوص سیانوباکترهای هاپالوسیفون آمده متناقض است. به نظر می‌رسد که در گونه‌های محدوده جغرافیایی مورد توجه ایشان، ابعاد اسپورها به مراتب کوچک تر می‌باشد. به نظر می‌رسد که هم pH و هم زمان، در شدت نور محدود که در این بررسی لحاظ شده است، بر تنوع این گونه تاثیر می‌گذارند. الگوی تغییر بیشینه و کمینه قطر سلول‌های اسپور، در شرایط قلیایی و اسیدی افراطی با هم سازگار نیست. به هرحال کمینه قطر در شرایط اسیدی به بیشینه نزدیک می‌شود و اختلاف معنی دار نیست.

Archive of SID

www.SID.ir

برعکس در شرایط اسیدی افراطی، همانند قلیایی افراطی، واگرایی افزایش می‌یابد و همبستگی میان طول و قطر ضعیف می‌شود (R^2=0.27). همبستگی میان کمینه طول و pH، همبستگی نسبتاً ضعیفی است (R^2=0.39) و این نشان از عدم تعادل – ظاهری – در آهنگ کاهش اندازه سلول‌ها تحت تاثیر شرایط اسیدی و قلیایی دارد. در مجموع به نظر می‌رسد که شرایط اسیدی و قلیایی، سبب نوعی عدم تعادل در آهنگ رشد اسپورها می‌شوند و از این نظر الگوی غیرقابل پیش‌بینی پدید می‌آورند. بهرحال آنچه مشخص است اینکه در شرایط بهینه pH 9، واگرایی بیشتری بین قطرهای سلولی وجود دارد تا طول سلول‌ها. آنچه در رابطه با تمایل به شکل‌های کروی ـ بیضوی، بیان گردید، می‌تواند یک تفسیر سطحی بر این رویکرد باشد

نمونه در عمده موارد گرایش به حالت پوسته‌ای Crustose دارد. تنها درحالتی که با شرایط افراطی اسیدی و قلیایی مواجه باشیم در شرایط محدودیت دی اکسید کربن، نمونه از حالت پوسته ای به حالت جدا و منقطع در می‌آید و آرایش نسبتاً همگن کروی به خود می‌گیرد و در محیط به صورت تقریباً یکسان پخش می‌شود. غیر از این، به ویژه در شرایط pH 9 بدون توجه به محتوای دی اکسید کربن، نمونه حالت پوسته‌ای خود را حفظ می‌کند. به هرحال عدم این حالت در شرایط افراطی اسیدی و قلیایی، مانع می‌شود تا به عنوان یک صفت ثابت و دائم روی آن تاکید کرد، ولی می‌توان گفت که در عمده حالات این ویژگی در نمونه هست و می‌تواند به عنوان یک صفت تقریباً ثابت مورد توجه و بعد ارزیابی قرار گیرد.

به نظر می‌رسد محور اصلی تک ردیفه در این سیانوباکتری نوعی صفت ثابت باشد و یا حداقل از تیمارهای بکار رفته تاثیر نپذیرفته است. در بررسی‌هایی که بر روی سایر سیانوباکتری‌های استیگونماتال استان گلستان انجام گرفته، این قطعیت در تک ردیفه بودن محور اصلی وجود نداشته است. در شکروی و ساطعی (۱۳۸٤)، شکروی و همکاران (۱۳۸۷)، سیاه‌بالایی و همکاران (۱۳۸٦) و وکیلی (۱۳۸۵)، محورهای اصلی در جنس‌هایی مانند *Fischerella* و *Stigonema* تک ردیفه و چند ردیفه معرفی شده‌اند. در سلطانی و صفایی (۱۳۸٤)، سیانوباکتری استیگونماتال *Fischerella* sp. FS18 نمونه ای با محور اصلی است که هم تک ردیفه و هم چند ردیفه مشاهده شده است. در شکروی و همکاران (۱۳۸۸)، سیانوباکتریوم مشابه همین گونه یعنی *Hapalosiphon* sp. FS44 به صورت نمونه‌ای با محور اصلی تک ردیفه معرفی گردیده است، اما روی مسئله تنوع مورفولوژیک و وضعیت محور اصلی تاکیدی نگردیده است. با شواهدی که در حال حاضر در دست است، می‌توان محور اصلی تک ردیفه را برای این گونه صفتی بارز و ثابت دانست.

از نظر انشعابات، بررسی‌های انجام شده نشان داد که نوع انشعابات، به انشعاب‌های گروه استیگونما / فیشرلا شبیه است. نوع انشعاب در این گونه، صفت ثابتی بود. روی هم رفته در این سیانوباکتری، انشعاب‌ها در محیط جامد بهتر قابل بررسی بودند و کمتر از تنش‌های محیطی متاثر می‌شدند. این نتیجه با آنچه در Castenholz (۲۰۰۱) آمده منطبق می‌باشد.

هتروسیست‌ها در این سیانوباکتری، به ندرت مشاهده شدند. به خصوص در بررسی‌هایی که در رابطه با تنش‌های دی اکسید کربن و pH به صورت توام انجام گرفت. هتروسیست‌ها در این گونه همانند *Fiscerella* sp. FS18 (Soltani, 2010) تحت تاثیر تیمارهای pH و دی اکسید کربن قرار می‌گیرند. تنوع پذیری مورفولوژیک آن‌ها به صورت پیش هتروسیست‌ها و بعد هتروسیست‌های کامل، در شکل‌های استوانه‌ای و استوانه‌ای بیضوی و بیضوی قابل مشاهده است که البته تمایل به اشکال استوانه‌ای و استوانه‌ای بیضوی، به خصوص در شرایط قلیایی و هوادهی (شرایط بهینه برای رشد)، بارزتر می‌باشد. در این گونه، حداقل در شرایط متفاوت اسیدیته و دی اکسید کربن، ابعاد هتروسیست صفت پایداری نیست تا بتوان به استناد آن به ارائه توصیف دیگری از نمونه پرداخت.

نمونه می‌تواند هم در محیط‌های اسیدی افراطی و هم در محیط‌های قلیایی افراطی بقای خود را حفظ نماید و این بقا

www.SID.ir

نشانی از وجود مکانیسم تراکمی دو طرفه است که توانسته بقای نمونه را در شرایط نامطلوب اسیدیته و قلیاییت حفظ کند. هرچند عملکرد نمونه در محدوده شرایط قلیایی بهتر می‌باشد، ولی در شرایط اسیدی افراطی نیز تا حد pH 4 قادر به عملکرد مطلوب است و البته تا pH 3، کارایی خود را به طور نسبی حفظ می‌کند.

نتیجه گیری نهایی

سیانوباکتر *Hapalosiphon* sp. FS56 در شالیزارهای استان گلستان وجود دارد و از نظر ویژگی‌های مورفولوژیکی با نمونه گزارش شده یعنی *Hapalosiphon* sp. FS44 و دیگر اعضای استیگونماتال بررسی شده در این استان متفاوت می‌باشد. این تفاوت به خصوص از نظر ویژگی‌های مورفولوژیکی کلاسیک و ویژگی‌های اکوفیزیولوژیکی به ویژه در ارتباط با ابعاد اسپور ها مشهود می‌باشد. سیانوباکتری مورد بررسی سویه ای قلیایی پسند است. وجود فاز تصاعدی از روز نخست نشان می‌دهد که به طور ذاتی قابلیت سازگاری با شرایط قلیایی را دارد، وجود مکانیسم تراکمی دو طرفه دی اکسید کربن در این سیانوباکتر باعث می‌شود که هم در شرایط اسیدی و هم قلیایی بقای نمونه در شرایط نامطلوب حفظ شود هر چند عملکرد آن در محدوده شرایط قلیایی بهتر می‌باشد. لازم به توضیح است که این بررسی ها در شرایط نور محدود انجام شد و سیالیت مورفولوژیکی در این سیانوباکتریوم افراطی است.

سپاسگزاری

نگارندگان وظیفه خود می‌دانند از کلیه افرادی که در طول انجام این پژوهش، کمال همکاری را داشته‌اند، صمیمانه سپاسگزاری نمایند. سپاسگزاری از سرکار خانم کیایی (کارشناس آزمایشگاه تحقیقات دانشگاه آزاد گرگان) و سرکار خانم رسایی (کارشناس آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه آزاد گرگان) به ویژه ضروری است.

منابع

امیرلطیفی، ف. (۱۳۸٦). بررسی بقا و رشد و وضعیت رنگیزه‌ای سیانوباکتری *Nostoc* sp. در شرایط متفاوت اسیدیته و قلیاییت، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

سلطانی ن.، خاوری نژاد، ر.ع.، طباطبایی یزدی، م.، شکروی، ش. و فرناندز والینته، ا. (۱۳۸٤). بررسی خواص آنتی میکروبیال و فیزیولوژی سیانوباکتریا در محیط‌های افراطی، پایان نامه دکترای تخصصی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم تهران

سیاه بالایی، ر.، افشارزاده، س. و شکروی، ش. (۱۳۸٦). بررسی جلبک‌های رشته‌ای استان گلستان. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان.

شکروی، ش. و ساطعی، آ. (۱۳۸٤) نشان ویژه سازی مورفولوژیک سیانوباکتری به منظور تلقیح در شالیزار، گزارش طرح پژوهشی، معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

شکروی، ش. و ساطعی، آ. (۱۳۸٦). بررسی پتانسیل 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 بافته‌چی، ل. (۱۳۸۷). سیانوباکتریولوژی، چاپ اول، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، صفحات ۹۸-۷۰.

Archive of SID

www.SID.ir

شکروی، ش.، صفایی، م. و جرجانی. س. (۱۳۸۹)، بررسی خوگیری سیانوباکتریوم *Hapalosiphon* sp. FS44 به شرایط توام دی اکسید کربن و pH. فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، سال پنجم. شماره۳. صفحات ۴۳-۳۰

شکروی، ش. و صفایی، م. (۱۳۸۸). بررسی اکوفیزیولوژیک سیانوباکتری *Hapalosiphon* sp جمع‌آوری شده از شالیزارهای استان گلستان. گزارش طرح پژوهشی معاونت پژوهشی، دانشگاه آزاد اسلامی گرگان.

منادی، ن. (۱۳۸۸). ریزجلبک‌ها به عنوان سپر زیستی در کشاورزی-بررسی خوگیری ریزجلبک‌های زمین‌های کشاورزی به شرایط افراطی محیطی ایجاد شده در اثر حملات احتمالی با استراتژی ایجاد تنوع پذیری مورفولوژیک، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

وکیلی، ف. (۱۳۸۵) بررسی رشد و وضعیت هتروسیست در سیانوباکتریوم *Fischerella Ambigua*. پایان نامه کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

Anagnostidis, K. and Komarek, J. (1990). Modern approaches to the classification of cyanobacteria. Stigonematales. Archieves for Hydrobiology sup l4, 224-286.

Castenholz, R.W. (2001). Cyanobacteria. In Bergey's manual of systematic bacteriology. Oxygenic photosynthetic bacteria. 2nd edn., eds Castenholz, W.R. & Boone, D. pp. 474-487. Baltimore: Williams and Wilkins.

Desikachary, T.V. (1959). Cyanophyta,Academic Press.New York and London.686pp..

Geitler, L. (1932). Cyanophyceae von Europa Kryptogamenflora Deutschland, Osterreich, under de Sweitz. (Rabenhorst, L. Eds) Vol. 14, pp. 673-1056. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft.

John, D.M., Whitton, B.W. and Brook, A.J. (2003). 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.

Leganés, F. and Fernández-Valiente, E. (1991). The relationship between the availability of external CO_2 and nitrogenase activity in the cyanobacterium Nostoc UAM205. Journal of Plant Physiology, 139: 135-139.

Perona E., Abol, M., Bonilla,I. and Mateol, P. (2003). Cyanobacterial diversity in Spanish river determined by means of isolation cultures. Morphological variability of isolates in relation to natural populations. Algological Studies 109 Cyanobacterial research 4 pp: 475 486.

Poza-Carrión, C., Fernández-Valiente, E., Piñas, F.F. and Leganés, F. (2001) Acclimation to photosynthetic pigments and photosynthesis of the cyanobacterium *Nostoc* sp. strain UAM206 to combined fluctuations of irradiance, pH, and inorganic carbon availability. Journal of Plant Physiology,158: 1455-1461.

Prescott, G.W. (1962). Algae of the western great lake area. W.M.C. Brown Company Pub.

Soltani, N., Khavari-Nejad, R., Tabatabaie, M., Shokravi, Sh. and Valiente, E.F. (2006). Variation of Nitrogenase Activity, photosynthesis and pigmentation of cyanobacterium *Fischerella ambigua* strain FS18 under different irradiance and pH. World Microbiology Biotechnology, 22(6): 571-576.

Soltani, N., Siahbalaie, R. and Shokravi, Sh. (2010). Taxonomical characterization of cyanobacterium *Fischerella* sp. FS 18- Amultidisciplinary approach International journal on Algae, 1(9): 48-55.

Soltani, N., Zarrini, G., Ghasemi, Y., Shokravi, Sh. and Baftechi, L. (2007). Characterization of soil cyanobacterium *Fischerella* sp. FS18 under NaCl stress. Journal of Biological Sciences, 7(6): 931-936.

Archive of SID

www.SID.ir