نشریه پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران، شماره پیاپی ۳۳، سال نهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۳ / صفحات: ۶۶-۵۷

بررسی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی ریزجلبک *Chlorella vulgaris* Beijernick. به حضور آلومینیوم در محیط کشت در شرایط اتوتروفی و هتروتروفی

سحر سلیمانیان*[۱]، آرین ساطعی[۲]، شادمان شکروی[۳]

[۱] کارشناس‌ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

[۲] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

[۳] دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۲/٤ تاریخ پذیرش: ۹۲/۵/۱

چکیده

در پژوهش حاضر جلبک *Chlorella vulgaris* Beijernick. پس از جمع‌آوری و تخلیص، در محیط کشت BG-11 دارای آلومینیوم ($AlCl_3$) با غلظت‌های ۰ و ۳۰۰ میکرومولار، pH=۷/۱ و دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط اتوتروفی و هتروتروفی به‌مدت ۲۱ روز رشد داده شد. به‌منظور ایجاد شرایط اتوتروفی، شدت نوری ۱۵۰۰ لوکس با تناوب نوری ۲۰ ساعت روشنایی و ٤ ساعت تاریکی و به منظور ایجاد شرایط هتروتروفی، تاریکی مطلق به همراه ۰/۰۵ گرم قندهای متفاوت گلوکز و سوکروز فراهم شد. در هر مورد بقا و رشد (براساس کدورت‌سنجی و شمارش سلولی)، pH محیط کشت، وزن‌تر، محتوای پروتئین کل، محتوای رنگیزه‌ای (کلروفیل a، کلروفیل b و بتا کاروتن) و محتوای آلومینیوم درونی نمونه در فاز لگاریتمی رشد مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج، آلومینیوم موجب افزایش معنی‌دار رشد، pH و وزن تر در تیمار اتوتروفی حاوی ۳۰۰ میکرومولار آلومینیوم نسبت به سایر تیمارها گردید. تحت تاثیرآلومینیوم، مقدار کلروفیل a در سلول‌های اتوتروف *Chlorella vulgaris* Beijernick. تقریباً دو برابر مقدار آن درسلول‌های هتروتروف، در حالی که مقدار کلروفیل b، در سلول‌های اتوتروف نصف مقدار آن در سلول‌های هتروتروف را نشان داد. مقدار بتاکاروتن در کشت‌های هتروتروف در مقایسه با مقدار آن در سلول‌های اتوتروف ۳۱ درصد کاهش یافت. کاهش اندک محتوای پروتئین کل تحت شرایط هتروتروفی مشاهده شد. بقای نمونه در تاریکی مطلق طی دوره ۲۱ روزه کشت حفظ شد، اما در شرایط تاریکی مطلق، نمونه تمایل به گلوکز را نشان داد. نمونه در شرایط هتروتروفی گلوکز، بدون فاز تاخیری، رشد را نشان داد که نشان از قابلیت خوگیری سریع ارگانیسم با شرایط هتروتروفی دارد. به نظر می‌رسد ویژگی‌های عنوان شده، جلبک سبز تک سلولی *Chlorella vulgaris* Beijernick. را از جنبه‌های گوناگون، نمونه‌ای کارا و توانمند می‌شناساند.

واژگان کلیدی: آلومینیوم، اتوتروفی، محتوای رنگیزه‌ای، هتروتروفی، *Chlorella vulgaris* Beijernick.

*نویسنده مسئول: sa.soleymanian@gmail.com

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

جلبک سبز خاکزی *Chlorella vulgaris* Beijernick. از نظر بیوتکنولوژی نمونه‌ای بسیار توانمند است (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱). در حقیقت *Chlorella vulgaris* Beijernick. ابزار مناسبی است که به منظور تحقیقات فیزیولوژیکی به کار می‌رود و نقش مهمی را در تحقیقات فتوسنتزی، تنفس و سنتز کلروفیل بر عهده دارد.

این نمونه از لحاظ غذایی نمونه‌ای بسیار با ارزش محسوب می‌گردد و حاوی مقادیر زیادی پروتئین، چربی و ویتامین است. خواص آنتی اکسیدانی کلرلا در حفاظت از پرتوهای مخرب به پوست ثابت شده است و به عنوان بهترین سم زدای طبیعی علیه فلزات سنگین نظیر جیوه، کادمیوم، کروم، حشره‌کش‌ها و سایر سموم شناخته شده است (John et al., 1982).

به‌طورکلی آلومینیوم در تقسیم سلولی نوک ریشه و ریشه‌های جانبی دخالت می‌کند. کاهش همانندسازی DNA، اثر بر میکروتوبول‌ها و میکروفیلامنت‌ها و ساختار اسکلت سلولی، تثبیت فسفر به اشکالی که کمتر در خاک در دسترس گیاه باشد، کاهش تنفس نوری، کاهش تنفس ریشه، اثر بر فعالیت آنزیم‌های دخیل در فسفریلاسیون قندها، دخالت در اسیمیلاسیون چندین عنصر ضروری مانند کلسیم، منیزیم، پتاسیم، فسفر، آهن، پراکسیداسیون لیپیدها و تغییر ترکیب لیپیدهای غشاء پلاسمایی از اثرات دیگر آلومینیوم می‌باشند (Thornton et al., 1986 Foy, 1992; Benneta et al., 1991). غلظت‌های آلومینیوم در حدود ۰/۲ تا ۱ میلی مولار سبب بازدارندگی تقسیم می‌شود که خود نتیجه بازدارندگی شدید سنتز DNA در طی ۱۶تا ۲٤ ساعت بعد از در معرض قرار گرفتن با تیمار آلومینیوم می‌باشد. اتصال آلومینیوم به DNA سبب بازدارندگی تقسیم سلولی می‌شود (Bennetb et al., 1985). آلومینیوم پلیمریزاسیون توبولین‌ها را القاء می‌کند و بر روی حرکت کروموزوم‌ها که به‌وسیله دوکهای میتوز انجام می‌گیرد، مو ثر است (Rout et al., 2001). آلومینیوم از مواد غذایی اصلی محسوب نمی‌شود اما غلظت کم آن بعضی اوقات رشد گیاهان را افزایش می‌دهد و یا اثرات مطلوب دیگری را باعث می‌شود. طولانی شدن استرس آلومینیوم، تقویت پراکسیداسیون لیپیدها را القاء می‌کند و موجب شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد اکسیژن به میزان بالا می‌شود. افزایش در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در ریشه‌های تیمار شده با آلومینیوم نشان داده شده است (Hue et al., 1986).

فلزات سنگین، اثرات زیان آور اکسیژن‌های واکنشگر را به‌طور مستقیم با افزایش غلظت سلولی آنها افزایش داده و در عین حال باعث افزایش گنجایش آنتی اکسیدان سلولی می‌شوند (Teresa, 2001). پاسخ جلبک سبز سندسموس به آلومینیوم و pH پایین توسط Jusu و همکاران (۲۰۰٤)، مورد بررسی قرار گرفت. محتوای پروتئین با افزایش غلظت آلومینیوم و اسیدیته کاهش پیدا کرد.

میکروارگانیسم‌ها از قبیل باکتری‌ها، قارچ‌ها، مخمرها و جلبک‌ها می‌توانند فلزات سنگین را از محلول‌های آبی خارج کنند، که تحت عنوان جذب سطحی نامیده می‌شود (Shi-Rong, Lei, 2002). استفاده از روش‌های بیولوژیک در حذف فلزات سنگین از محلول‌های آبی به منظور تصفیه فاضلاب‌ها دارای مزیت‌های متعددی می‌باشد در این روش احتیاج به افزودن مواد شیمیایی برای حذف فلزات سنگین نمی‌باشد، زیرا که سیستم کاملاً بطور طبیعی عمل می‌نماید (Shi-Rong, Lei, 2002).

یافته‌های این پژوهش مقدماتی می‌تواند درک بهتری از توان این جلبک خاکزی در زدودن آلومینیوم اضافی خاک ایجاد نماید.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

کشت جلبک: جلبک *Chlorella vulgaris* Beijernick به‌طور خالص از کلکسیون ریز جلبک پژوهشکده علوم کاربردی دانشگاه شهید بهشتی تهیه و در محیط کشت BG-11 کشت داده شد. انواع تیمارهای درنظر گرفته شده در این پژوهش عبارتند از: ۱: تیمار هتروتروفی Al300µM، Glu، شاهد: هتروتروفی Al0µM، Glu. ۲: تیمار هتروتروفی Al300µM، Suc، شاهد: هتروتروفی Al0µM، Suc. ۳ :تیمار اتوتروفی Al300µM، شاهد: اتوتروفی Al0µM.

تلقیح در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری (با سه تکرار) انجام شد. تیمارهای اتوتروفی در شرایط روشنایی ۱۵۰۰ لوکس و دمای بین ۲۷-۲۵ درجه سانتی‌گراد و تناوب نوری ۲۰ ساعت روشنایی و ٤ ساعت تاریکی و تیمارهای هتروتروفی در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه به‌مدت ۲۱ روز رشد نمودند.

سنجش رشد: توسط اسپکتروفتومتر مدل (spectronic LABOMED ,INC, U.S.A) سنجش گردید (ساطعی و میربهبهانی، ۱۳۸۵).

سنجش pH محیط کشت: pH تیمارها هر روز توسط pH متر دیجیتال مدل ELMERONCP-501 قرائت گردید.

سنجش وزن تر: وزن تر جلبک از رابطه مقابل به دست آمد: وزن لوله- (وزن لوله + جلبک)= وزن‌تر

سنجش کلروفیل a و کلروفیل b و بتاکاروتن (Jensen, 1978): سوسپانسیون جلبکی را سانتریفوژ نموده و روی رسوب جلبکی استن ۸۰ درصد اضافه نموده و جذب نور محلول رویی در طول موج‌های ٤١٢، ٤٣١، ٤٦٠، ٤٨٠،٦٤٥ و ٦٦٣ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید. با استفاده از فرمول‌های زیر میزان بتاکاروتن، کلروفیل a وکلروفیل b محاسبه شد.

$chla\ (mg/ml) = 0.0127A_{663} - 0.00269A_{645}$

$chlb\ (mg/ml) = 0.0229A_{645} - 0.00468A_{663}$

$\beta\text{- caroten}\ (\mu g/ml) = -0.430A_{412} + 0.251A_{431} - 4.376A_{460} + 13.216A_{480}$

سنجش پروتئین (Lowery و همکاران، ۱۹۵۱): یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون جلبکی سانتریفوژ شد و به رسوب جلبکی گلایسین ۰/۳ مولار اضافه شد. محلول رویی که حاوی عصاره پروتئینی است با آب مقطر به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانده شد و محلول Lowery splution اضافه گشت و سپس معرف فولین افزوده و جذب در ۷۵۰ نانومتر با شاهد آب مقطرخوانده شد.

سنجش آلومینیوم : با استفاده از روش عصاره‌گیری اسیدی با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی (Atomic Absorption Spectroscopy) مدل VARIAN AA240 ابتدا جلبک با اسیدنیتریک و اسیدکلریدریک مخلوط گردید و بعد از سانتریفوژ، جذب محلول‌های رویی توسط دستگاه جذب اتمی قرائت گردید.

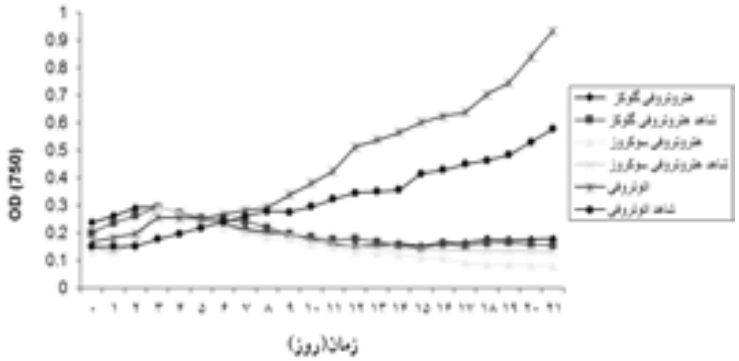
تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق طرح کاملاً تصادفی و مقایسه بین تیمارها و شاهد بر اساس آزمون Duncan و Tamhane T2 در سطح ۵ درصد انجام گرفت. نتایج بر اساس $\overline{X} \pm SD$ ارائه شده‌اند.

نتایج

تاثیر تیمارهای اتوتروفی و هتروتروفی در حضور آلومینیوم بر رشد: در این پژوهش بالاترین نرخ رشد در شرایطی مشاهده شد که نمونه در شرایط اتوتروفی به همراه ۳۰۰ میکرومولار آلومینیوم قرار می‌گیرد (شکل ۱) و کمترین نرخ رشد در شرایط کشت هتروتروفی به همراه ۳۰۰ میکرومولار آلومینیوم و ۰/۰۵ گرم سوکروز مشاهده شد. در تیمار اتوتروفی افزایش معنی‌دار رشد نسبت به شاهد، در حالی که در تیمار هتروتروفی (سوکروز)، کاهش معنی‌دار رشد نسبت به شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۵).

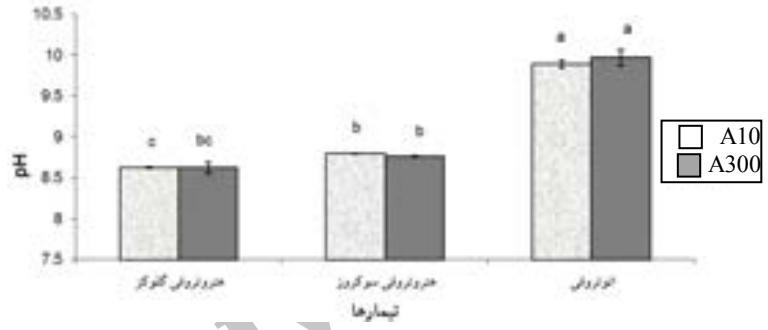
Archive of SID

www.SID.ir



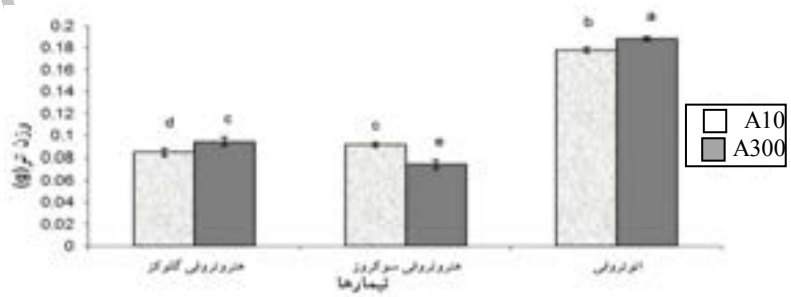
شکل ۱: مقایسه منحنی‌های رشد جلبک سبز .*Chlorella vulgaris* Beijernick در تیمارهای مختلف

تاثیر تیمارهای اتوتروفی وهتروتروفی در حضور آلومینیوم، بر pH: با توجه به شکل ۲، آلومینیوم در هیچ کدام از تیمارها باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار pH نسبت به شاهد نگردید ($P<0/05$). در حضور آلومینیوم، بالاترین pH مربوط به تیمار اتوتروفی بود.



شکل ۲: هیستوگرام مقایسه pH، بین تیمارها (Al300) و شاهد آنها (Al0) در جلبک سبز *Chlorella vulgaris* Beijernick.

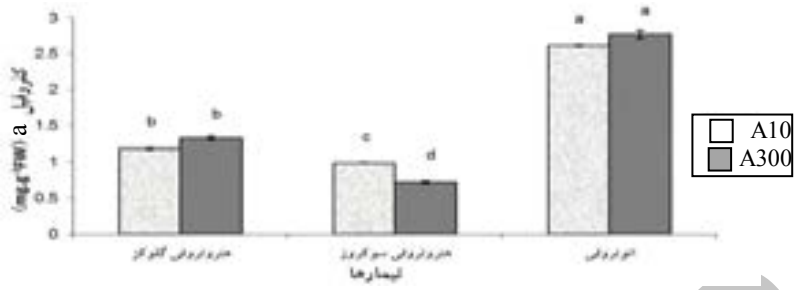
تاثیر تیمارهای اتوتروفی وهتروتروفی در حضور آلومینیوم، بر وزن تر: با توجه به شکل۳ در همه تیمارها تفاوت معنی‌دار از نظر میزان وزن تر نسبت به شاهد آنها دیده شد ($P<0/05$).



شکل ۳ : هیستوگرام مقایسه میزان وزن تر، بین تیمارها (Al300) و شاهد آنها (Al0) در جلبک سبز *Chlorella vulgaris* Beijernick.

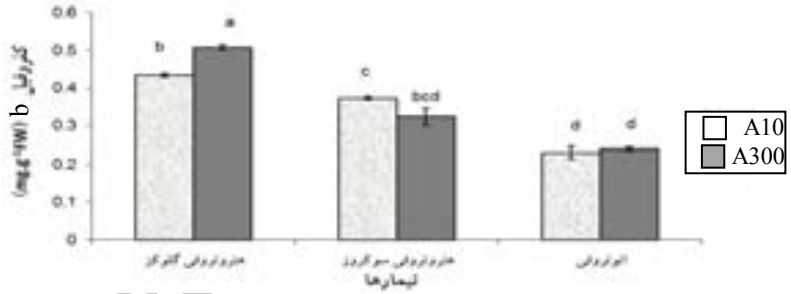
www.SID.ir

تاثیر تیمارهای اتوتروفی وهتروتروفی در حضور آلومینیوم، بر محتوای رنگیزه‌ای: فقط در تیمارهتروتروفی سوکروز تفاوت معنی‌دار از نظر محتوای کلروفیل a نسبت به کنترلش مشاهده شد (شکل ٤).



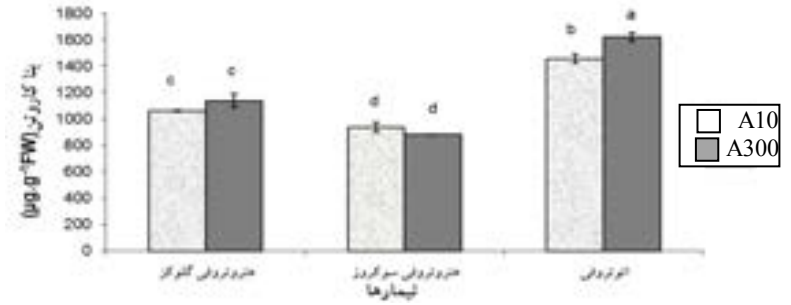
شکل ٤: هیستوگرام مقایسه محتوای کلروفیل a، بین تیمارها (Al300) و شاهد آنها (Al0) در جلبک سبز *Chlorella vulgaris* Beijernick.

با توجه به شکل ٥، در تیمار اتوتروفی و هتروتروفی سوکروز از نظر محتوای کلروفیل b، تفاوت معنی‌دار با شاهد آنها مشاهده نشد (P<۰/۰۵). در حالی که در تیمار هتروتروفی گلوکز افزایش معنی‌دار در محتوای کلروفیل b نسبت به شاهد آن مشاهده شد (P<۰/۰۵). حروف یکسان نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمار و شاهد آن هستند.



شکل ٥: هیستوگرام مقایسه محتوای کلروفیل b، بین تیمارها (Al300) و شاهد آنها (Al0) در جلبک *Chlorella vulgaris* Beijernick.

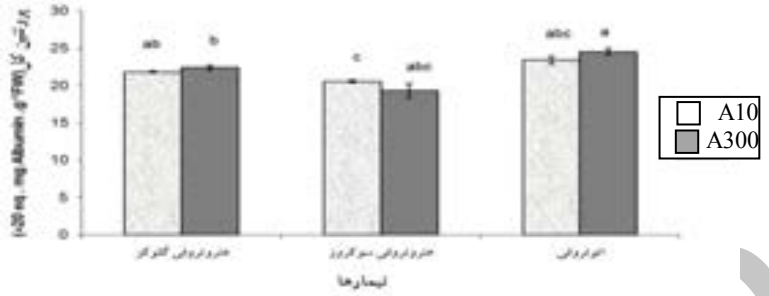
با توجه به شکل ٦ در تیمار اتوتروفی افزایش معنی‌دار در میزان بتاکاروتن نسبت به شاهدش مشاهده می‌شود (P<۰/۰۵). در تیمارهای هتروتروفی تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ از نظر میزان بتاکاروتن نسبت به شاهد آنها مشاهده نمی‌شود.



شکل ٦: هیستوگرام مقایسه میزان بتاکاروتن، بین تیمارها (Al300) و شاهد آنها (AL0) در جلبک سبز *Chlorella vulgaris* Beijernick.

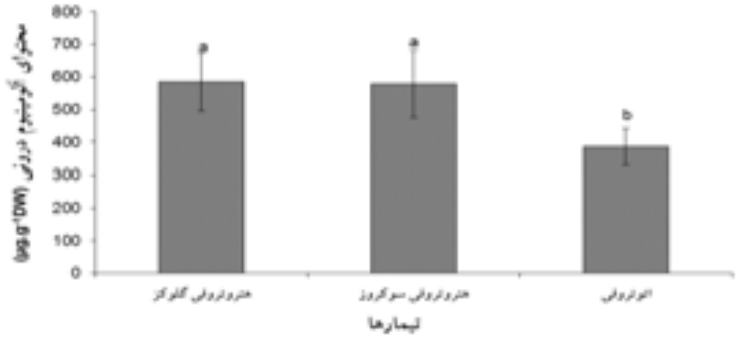
www.SID.ir

تاثیر تیمارهای اتوتروفی وهتروتروفی در حضور آلومینیوم، بر محتوای پروتئین کل: با توجه به شکل ۷، در میزان پروتئین کل هیچ یک از تیمارها نسبت به شاهد آنها تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (P<۰/۰۵). حروف یکسان نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها با شاهد آنها است.



شکل ۷: هیستوگرام مقایسه مقدار پروتئین کل، بین تیمارها (Al300) و شاهد آنها (Al0) در جلبک *Chlorella vulgaris* Beijernick.

تاثیر تیمارهای اتوتروفی وهتروتروفی بر محتوای آلومینیوم درونی: با توجه به شکل ۸، میزان آلومینیوم درونی در تیمار اتوتروفی نسبت به سایر تیمارها کاهش معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ داشت. اما تیمارهای هتروتروفی از نظر میزان‌آلومینیوم درونی نسبت به یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند (P<۰/۰۵). حروف یکسان نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها، هستند.



شکل ۸: هیستوگرام مقایسه محتوای آلومینیوم درونی، در تیمارهای مختلف جلبک .*Chlorella vulgaris* Beijernick در شرایط تیماردهی آلومینیوم ۳۰۰ میکرومولار

بحث

عدم فاز تأخیری در تیمار هتروتروفی گلوکز نشان از قابلیت خوگیری سریع ارگانیسم با شرایط هتروتروفی دارد. باتوجه به این که مکانیسم‌های برون ریزشی و از جمله برون ریزش ترکیبات دیواره ساز برای ورود به فاز تصاعدی ضروری است (Stal, 1995)، نمونه از این نظر توانسته است از زمان تلقیح خودرا با شرایط جدید انطباق دهد.

آنچه از مطالعه منحنی‌های رشد قابل تشخیص است، آن است که با افزایش دوره‌های تاریکی، بقای نمونه علی‌رغم کاهش رشد حفظ می‌شود و از این نظر، نتایج ما با دستاوردهای وکیلی (۱۳۸۵) و Soltani و همکاران (۲۰۰٤) مطابقت دارد. محققانی

www.SID.ir

چون Samejima and Myers (۱۹۵۸)، Neish (۱۹۵۱) و Bristol-Roach (۱۹۲۶) با استفاده از جلبک تک سلولی سبز گزارش کردند که d- گلوکز به‌عنوان منبع کربن در محیط کشت هتروتروفی نسبت به سایر قندهای آزمایش شده ارجح است.

در این پژوهش با توجه به شکل ۲، pH در تیمار اتوتروفی افزایش معنی‌داری نسبت به تیمارهای هتروتروفی دارد ($P<0/05$). افزایش pH در تیمار اتوتروفی موجب کاهش انحلال آلومینیوم می‌شود که این با نمودار رشد مطابقت دارد.

شکروی و همکاران (۱۳۸۶) بیان کردند قابلیت بقاء موجود در شرایط اسیدیته (در محدوده ۶-۳) ناشی از مکانیسم‌های تراکمی چندگانه (آنزیم کربنیک آنهیدراز و پمپ متابولیسمی که با مصرف ATP عمل می‌کند) در فضای پری پلاسمیک، غشاء پلاسمایی و پوشش کلروپلاستی بوده است که موجود را به راحتی در شرایطی که میزان دی اکسید کربن به حدود صفر می‌رسد، زنده و کارا نگاه می‌دارد.

با توجه به اهمیت آلومینیوم تحقیقات قابل توجهی بر روی سمیت آن (علائم سمیت، مکانیسم‌های سمیت) و مقاومت به آلومینیوم انجام شده است. در بررسی منوچهر و همکاران (۱۳۸۸) که اثر غلظت‌های مختلف فلز آلومینیوم بر جلبک سبز سندسموس مورد بررسی قرار گرفت، جلبک مورد نظر در تمامی این غلظت‌ها قادر به رشد بود. رشد در غلظت‌های پایین تر توسط آلومینیوم تحریک شده وآلومینیوم باعث افزایش pH محیط کشت شد. که به نظر می‌رسد قلیایی شدن محیط باعث کاهش سمیت آلومینیوم از طریق کاهش انحلال پذیری آلومینیوم می‌شود (Matsumoto, 2000). علاوه بر این افزایش رشد ممکن است در نتیجه کم شدن سمیت پروتون به وسیله آلومینیوم باشد. توضیح مناسب برای تحریک رشد گیاه با غلظت کم آلومینیوم ممکن است مرتبط با دردسترس قرار دادن آنیون‌هایی ازقبیل نیترات وفسفات باشد. در pHهای پایین به علت رقابت بین یون‌های H^+ و کاتیون فلزی، یون H^+ بر روی سایت‌های جذب، غلبه کرده و دسترسی کاتیون‌ها به این سایت‌ها در نتیجه نیروی دافعه محدود و سبب کاهش درصد جذب می‌شود. اما در pHهای بالاتر، لیگاندهای موجود در جاذب مانند COO^-، دانسیته بار منفی را روی سطح لیگاندها افزایش داده، در نتیجه جاذبه الکترواستاتیکی یون‌های فلزی با بار مثبت روی سطح لیگاندها افزایش یافته و درصد جذب بیشتر خواهد شد. با افزایش pH در نتیجه تراکم یون‌های OH^-، رسوب یون‌های فلزی به صورت هیدروکسید مشاهده و سبب کاهش درصد جذب می‌شود (Sag and Aktay, 2002; Matheickal et al., 1991). از طرفی با افزایش غلظت آلومینیوم تقسیم سلولی افزایش می‌یابد. این پدیده به کاهش غلظت آلومینیوم درون سلولی، منجر شود. گرچه کلرلا قابلیت سم‌زدایی داشته و جمع کننده فلزات سنگین می‌باشد ولی این نقش را فقط تا حدی که از گنجایش سلولی فراتر نباشد، می‌تواند ایفا کند.

افزایش پروتئین می‌تواند به‌دلیل سنتز بیشتر پروتئین‌هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز، سوپر اکسیداز و دهیدرو آسکوربات ردوکتاز باشد (Yang et al., 2000; Pallavi, 2005). امروزه ثابت شده وقتی گیاهان در معرض سمیت فلزات سنگین مثل سرب قرار می‌گیرند سنتز پلی پپتیدهای غنی از سیستئین مانند فیتوکلاتین و متالوتیونین‌ها افزایش پیدا می‌کند .افزایش میزان پروتئین حتی در غلظت بالای آلومینیوم به‌دلیل تشکیل کمپلکس‌های پایدار پروتئین فلز در سیتوزول می‌باشد (Gaspar, 2002; Cobbett, 2000).

ناطقی و همکاران (۱۳۸۸) گزارش کردند افزایش محتوای پروتئین در تیمارهای مس با آلومینیوم می‌تواند به دلیل افزایش جذب نیترات توسط جلبک و

Archive of SID

www.SID.ir

تبدیل آن به آمونیوم، ورود آن به مسیر اسیمیلاسیون و سنتز بیشتر اسیدهای آمینه ودر نهایت پروتئین باشد که منجر به رشد جلبک نیز گردیده است. در تحقیقات El-Sheekh and Fathy (۲۰۰۹) با مقایسه مقدار پروتئین .*Chlorella vulgaris* Beijernick که در شرایط اتوتروفی و هتروتروفی رشد کرده بودند، کاهش جزئی (٦/٠٥ درصد) در مقدار پروتئین به‌وجود آمده بود.

در این تحقیق محتوای کلروفیل a در تیمار اتوتروفی، افزایش معنی‌دار نسبت به تیمارهای هتروتروفی دارد . افزایش محتوای کلروفیل a می‌تواند دلیلی بر توان بردباری کلرلا به مقادیر فزاینده آلومینیوم باشد و با Lazaros و همکاران (٢٠٠٤) همخوانی دارد. در سمیت کدو با آلومینیوم Lazaros و همکاران (٢٠٠٤) نشان دادند که با افزایش انتقال منیزیم ازریشه به ساقه و افزایش سطح منیزیم ساقه، شکل گیری کلروفیل a افزایش می‌یابد، ولی به نظرنمی رسد که در جلبک تک سلولی کلرلا چنین باشد.پژوهش Hirayama و همکاران (۲۰۰۲) که بر روی اثر تراکم نوری بر کلرلا مطالعه کردند، نشان داد که کلروفیل در کلرلاهایی که تحت تراکم نوری کم رشد کردند، دو برابر بیشتر از سلول‌های رشد یافته در تراکم نوری بالاست که این با نتایج ما مغایرت دارد. پژوهش Richard (۱۹۷۹) نشان داد که در جلبک‌هایی که در تاریکی رشد داده شدند، پروتوکلروفیل‌ها وجود نداشتند و در مقایسه با رنگیزه‌ها در روشنایی، سنتز کلروفیل در تاریکی بوسیله مکانیسمی مهار می‌شود. El-Sheekh and Fathy (۲۰۰۹) بیان کردند کلروفیل a در سلول‌های اتوتروفی دو برابر مقدار تخمین زده شده در سلول‌های هتروتروفی است که این با نتایج ما مطابقت دارد. در شرایط هتروتروفی مقدار کلروفیل b افزایش چشمگیری نسبت به سایر رنگدانه‌ها دارد. این نتایج ثابت می‌کند که با یک منبع کربن مانند گلوکز در محیط کشت و در غیاب نور، *Chlorella vulgaris* Beijernick. تشکیل کلروفیل b را مناسب می‌داند. این نتایج با تحقیقات Misonou and Pachlavuni (١٩٨٦) که نشان دادند تحت شرایط هتروتروفی مسیرهای سنتزی کلروفیل a و کاروتنوئید متوقف شده و به کمترین میزان می‌رسد، در حالی که مسیر سنتز کلروفیل b به مقدار زیادی تحریک می‌شود. یک تفسیر و توضیح دیگر این است توسط Vladimirova (١٩٧٦) ارائه شد، بدین‌صورت که فراساختار سیستم فتوسنتزی .*Chlorella vulgaris* Beijernick در شرایط هتروتروفی رشد می‌کند.

کاروتنوئیدها نقش مهمی بواسطه عملکردشان مانند آنتی‌اکسیدان‌های زیستی، در حفاظت سلول‌ها و بافت‌ها از اثرات آسیب رادیکال‌های آزاد و اکسیژن یکتایی دارند (Di Mascio et al., 1989). تولید گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان و جلبک‌ها در حضور فلزات سنگین افزایش می‌یابد.از طرف دیگر بتا کاروتن به‌عنوان یک آنتی اکسیدان غیرآنزیمی در داخل سلول بویژه کلروپلاست مطرح می‌گردد. تجمع بتاکاروتن در غلظت‌های بالای فلزات سنگین در جلبک کلرلا می‌تواند به‌دلیل نقش پاک کنندگی بتاکاروتن در حضور اکسیدکننده‌ها باشد. جلبک کلرلا در مقابله با استرس اکسیداتیو حاصل از آلومینیوم میزان بتاکاروتن را در غلظت‌های بالا (۳۰۰ و ٤٠٠ میکرومولار) آلومینیوم افزایش می‌دهد (ساطعی و سروش نسب، ۱۳۸۷) که با نتایج ما مطابقت دارد. در این تحقیق اثر آلومینیوم فقط در تیمار اتوتروفی معنی‌دار بوده و همچنین مقدار بتاکاروتن در تیمار اتوتروفی افزایش معنی‌دار نسبت به تیمارهای هتروتروفی دارد.به نظر می‌رسد با کاهش غلظت بتاکاروتن در تیمار هتروتروفی سوکروز جلبک کلرلا نتوانسته در مقابل آسیب‌های ناشی از تولید ROS

Archive of SID

www.SID.ir

بردباری نشان دهد در نتیجه منجر به کاهش فتوسنتز و رشد در جلبک گردیده است.

نتیجه‌گیری نهایی

این تحقیق در مورد جلبک سبز . *Chlorella vulgaris* Beijernick نشان داد که شرایط اتوتروفی موجب افزایش معنی دار رشد، pH، وزن تر، کلروفیل a، مقدار بتاکاروتن و محتوای پروتئین کل و نیز کاهش معنی‌دار کلروفیل b نسبت به شرایط رشد هتروتروفی گردید.بقای نمونه در شرایط هتروتروفی حفظ شد و در این شرایط بیشتر تمایل به گلوکز نشان داد.

سپاسگزاری

نگارندگان وظیفه خود می‌دانند از تمامی عزیزانی که در این پژوهش همکاری نمودند، بالاخص سرکار خانم کیائی مسئول محترم آزمایشگاه تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی گرگان تشکر و سپاسگزاری نمایند.

منابع

سروش نسب، ل.، ساطعی آ.، قربانلی، م. (۱۳۸۷). بررسی برخی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی جلبک کلرلاولگاریس به اضافه کردن آلومینیوم در محیط کشت، پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد «فیزیولوژی گیاهی»، دانشگاه آزاد گرگان، دانشکده علوم پایه.

شکروی، ش.، سلطانی، ن. و بافته چی، ل. (۱۳۸۱). تدوین تکنولوژی استفاده از سیانوباکتری‌ها به‌عنوان 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. (۱۳۸٦). سیانوباکتریولوژی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

منوچهر، پ.، ساطعی، آ.، قربانلی، م. (۱۳۸۸). اثر آلومینیوم بر رشد و برخی جنبه‌های فیزیولوژیکی ریز جلبک سندسموس، پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد «فیزیولوژی گیاهی»، دانشگاه آزاد گرگان، دانشکده علوم پایه.

میربهبهانی، س.ج.، ساطعی، آ.، و شکروی، ش. (۱۳۸۵). بررسی اکوفیزیولوژیک ریزجلبک سبز سندسموس. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم پایه.

ناطقی، ن.، ساطعی، آ.، شکروی، ش. (۱۳۸۸). اثر مس و آلومینیوم بر رشد و برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی جلبک کلرلاولگاریس، پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد «فیزیولوژی گیاهی»، دانشگاه آزاد گرگان، دانشکده علوم پایه.

وکیلی، ف. (۱۳۸۵). بررسی رشد و وضعیت هتروسیست در سیانوباکتریوم *Fisherella ambiguo*. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

Benneta, R.J., Breen, C.M., and Fey, M.V. (1991). The aluminium signal:new dimensions of aluminium tolerance, Plant and Soil 134:153-166

Bennt, R.J., Breen, C.M., and Fey, M.V. (1985). Aluminium-change in the morphology of the guiescent center, proximal meristem and growth region of the root of *Zea mays*, African Plank. 51:355-362.

Bristol-Roach, B.M. (1926). On the relation of certain soil algae to some soluble carbon Compounds. Annual Botany 40: 149.

Di Mascio, P., Kaiser, S., and Sies, H. (1989). Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. Biochemical Biophysics. 274: 532-538

El-Sheekh, M.M., and Fathy, A.A. (2009). Variation of some nutritional constituents and fatty acid profiles of *Chlorella vulgaris* beijerinck grown under auto and heterotrophic

Archive of SID

www.SID.ir

conditions. International Journal of Botany 5(2): 153-159.

Ernest, A., Kirschenlohr, H., Diez, J. and Böger, P. (1984). Glycogen content and nitrogenize activity in *Anabaena variabilis*. Archives of Microbiology, 140: 120-125.

Foy C.D. (1992). Soil chemical factors limiting plant root growth. Springer verlag, NewYork, 15:97-149.

Gaspar, G.M. and Anton, A. (2002). Heavy metal uptake by two radish Varieties. Hungarian Congress on Plant Physiology, 46 (3-4):113-114.

Hirayama, Sh., Ueda, R., Sugata, K. and Pandalai, S.G. (2002). Active oxygen effect on photosynthesis and application for higher microalga productivity from relationship between active oxygen behavior and chlorophyll content of *chlorella vulgaris*. Biotechnology Research Laboratory, Japan.

Hue, N.V., Croddock, G.R. and Adams, F. (1986). Effect of organic acids on Al toxicity in subsoil. Soil Science Society of American Journal, 50: 28-34.

Jensen, A. (1978). Chlorophylls and carotenoides in: Handbook of Phycological Methods, Physiological and Biochemical Methods (ed.) Hellebust, J.A. and J.S. Craigie, Cambridge University Press.

John, U., Grobbellaar, B., Kroon, M.A., Tineke B., Wiersma and Luuc, M.R. (1982). Influence of medium frequency light/dark cycles of equal duration on the photosynthesis and respiration of chlorella pyrenoidosa. Journal Article, 238: 53-62.

Lazaros, S. Mohamad, M., Abou, A. and Traianos Y. (2004). Aluminium toxicity effects on *Cucumis melo* and response of diphosphonucleoide kinase. Biology, Bratlslava, 59(1):133-130.

Lowery, O.H., Rosbroch, N.J., Farr and Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the folinreagent. Journal Biology Chemical. 193:256-277.

Matheickal, J.T., Lyengar, L., Venkobachar, C. (1991). Sorption and desorption of Cu (II) by Ganoderma lucidum, Water Pollution, Research Journal Canadian, 26: 187-200.

Matsumoto, H. (2000). Call biology of aluminium toxicity and tolerance in higher plants. International Review of cytology, 200:1-43.

Misonou, T. and Pachlavuni, I.K. (1986). Photosynthetic pigments of *Chlorella* sp. K cultured under photoauto-mixo and chemohetero-trophic growth conditions. Japanese Journal of Phycology, 34: 163-170.

Neish, A.C. (1951). Carbohydrate nutrition of *Chlorella vulgaris*. Canadian Journal Botany, 39-68.

Pallavi, Sh. and Rama, Sh.D. (2005). Lead toxicity in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology. 17(1).

Richard, J.E., and Timson, C. (1979). The absence of protochlorophyll (ide) accumulation in Algae with inhibited Chlorophyll Synthesis. Plant physiology. 65: 469-471.

Rout, G.R., Samantaray, S. and Das, P. (2001). Aluminium toxicity in plant: review. Plant physiology and biochemistry laboratory, regional plant resource center, bhubaneswar-751 015, Orissa, India

Sag, Y., and Aktay, Y. (2002). Kinetic studies on sorption of Cr(VI) and Cu(II) ions by chitin, chitosan and Rhizopusarrhizus, Biochemical Engineering Journal, 12 (143).

Samejima, H., and Myers, J. (1958). On the heterotrophic growth of *Chlorella pyrenoidosa*. Journal of Genetic and Microbiology, 18 (107).

Shi–Rong, T., and Lei, X. (2002). Accumulation of chromium by *Commelina commuis* L. grown in solution with different Science, 3(2):232-236.

Soltani, N., Khavari-Nejad, R.A., Tabatabai, M., Shokravi, S. and Valiente E.F. (2004). Morphological variations of soil cyanobacterium *Fischerella* sp. from Iran under different light intensities and pH. Proceeding of the 16th Symposium of the International Association for Cyanophyte Research, Luxamburg.

Stal, J.S. (1995). Physiological ecology of cyanobacteria in microbial mats and other Communities, New Phytology, 131:1-32.

Teresa, M. (2001). Effect of aluminium on plant growth and metabolism. Department of biochemistry, 48: 673-686.

Thornton, F.C., Schaedle, M., and Raynal, D.L. (1986). Effect of aluminium on the growth of sugar maple in solution culture Canadian Journal of Forest Result. 16: 892-896

Vladimirova, M.G. (1976). Changes in ultrastructure of the cell of *Chlorella* sp. K. during its functional reorientations. Fiziologia Rastenii, 23: 1180-1187.

Yang, S.S., E.H. Chang, J.Y. Lee, Y.Y. Horng, and Lan, C.R. (2000). Isolation and application of carbon dioxide fixation microbes in Taiwan. Monthly Journal Tai power's Engineering, 624:65-82.

Archive of SID

www.SID.ir