

## بررسی رنگیزه‌های فیکوبیلین در سویه‌های سیانوباکتری هتروسیست دار جدا شده از شالیزارهای شرق استان مازندران

علی شمس\*<sup>۱</sup>، قربانعلی نعمت‌زاده<sup>۲</sup>، ندا سلطانی<sup>۳</sup>، شادمان شکروی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری، پژوهشکده ژنتیک و زیست فن‌آوری طبرستان، طبرستان

<sup>۲</sup> استاد، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی، ساری

<sup>۳</sup> دانشیار، گروه میکروبیولوژی نفت، پژوهشکده علوم کاربردی جهاد دانشگاهی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

<sup>۴</sup> دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۱۵

### چکیده

سیانوباکتری‌ها از جمله گروه پروکاریوت‌های فتوسنتز کننده می‌باشند که نسبت به دامنه وسیعی از شرایط محیطی سازگار شده‌اند. علاوه بر آن سیانوباکتری‌ها به‌عنوان منابع غنی فیکوپروتئین با کاربرد دارویی و صنعتی، نیز مورد توجه قرار گرفته‌اند. گونه‌های مختلف سیانوباکتری، ترکیبات متفاوتی از کروموفور و فیکوبیلی پروتئین‌ها را به منظور بهبود توانایی برداشت نور در فرایند فتوسنتز خود بکار می‌برند. هدف از این تحقیق بررسی رنگیزه‌های فیکوبیلین در سویه‌های هتروسیست دار جدا شده از شالیزارهای شرق استان مازندران بود. بعد از جمع‌آوری نمونه خاک از شالیزارهای شرق استان مازندران و کشت سویه در محیط کشت BG110، بمنظور انجام پروسه خالص‌سازی، کشت مجدد در محیط کشت جامد و مایع انجام گرفت. سپس سویه‌ها از لحاظ ریخت‌شناسی بررسی شدند. نتایج نشان داد که به‌دلیل سازگاری سویه‌های مورد نظر با شرایط نوری قابل دسترس این منطقه مشخص شد گونه‌های مختلف سیانوباکتری‌ها از فیکوبیلی پروتئین‌های متنوعی در جهت بهینه‌سازی توانایی دریافت نور جهت فتوسنتز استفاده می‌نمایند. به گونه‌ای که میزان فیکوسیانین، آلفیکوسیانین و فیکواریترین در هر سویه متفاوت از سویه دیگر بوده و بالاترین میزان این ترکیبات پروتئینی به‌ترتیب در سویه‌های *Lyngbya diguetii* (*Phormidium minnesotense*) مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: آلفیکوسیانین، سیانوباکتری، شالیزار، فیکواریترین، فیکوبیلین، فیکوسیانین

### مقدمه

کمک به جذب نور توسط کلروفیل بکار گرفته می‌شوند. این مولکول‌های آنتن جهت دریافت فوتون‌های نوری شامل فیکوبیلی پروتئین‌های رنگیزه‌ای و بخش پروتئینی غیر رنگیزه‌ای می‌باشند (Lawrenz et al., 2011). چهار ساختار تتراپیرول کلروموفور خطی (بیلین) شامل فیکوسیانوبیلین، فیکواریتروبیلیلین، فیکوایلوئوبیلین و فیکوآوروبیلین می‌تواند به‌عنوان فیکوبیلی پروتئین‌های سیانوباکتری‌ها

فیکوبیلی پروتئین‌ها به‌عنوان گروه مهمی از رنگیزه‌های کمکی نقش مهمی در دریافت نور در سیانوباکتری‌ها و کریپتو مونادها و پروکلروفیت‌ها ایفا می‌نماید. فیکوبیلی پروتئین‌ها در بسیاری از سیانوباکتری‌ها جهت بالا بردن راندمان فتوسنتزی و

\*نویسنده مسئول: ali.shams11@gmail.com

۱۳۸۴، دریافتند که تنش‌های محیطی از جمله شوری می‌تواند بر روی کارایی فتوسنتز و توان فیکوبیلی پروتئین‌ها تاثیر گذار باشد.

امروزه استفاده از فیکوبیلی پروتئین‌ها به‌عنوان ترکیبات ضدسرطانی، ضدسمی و رنگ‌های خوراکی در صنعت غذایی و دارویی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Chaneva et al., 2007). همچنین مصارف دارویی و آرایشی فیکوبیلی پروتئین‌ها (Kronick, 1986, Araoz et al., 1998) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محافظ عصبی، ضدسرطانی و ضدعفونی فیکوبیلین‌ها توسط محققین بسیاری گزارش شده است (Rimbau et al., 1999; Liu et al., 2003; Romay et al., 2000). گزارش‌ها نشان می‌دهد که پتانسیل گونه‌های متنوع سیانوباکتری‌ها برای تولید تجاری فیکوبیلی پروتئین‌ها متفاوت می‌باشد (Takano et al., 1995; Chen et al., 1996; Chaneva et al., 2007).

امروزه تکنیک‌های متعددی جهت شناسایی ترکیبات فعال در سلول بمنظور ارزیابی و شناسایی میکروارگانیسم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (Sobiechowska et al., 2010; Ston-Egiert et al., 2011; Roy et al., 2010). چنین روش‌هایی برای ارزیابی و تعیین بیوماس فیتوپلانکتون‌ها و تاکسونومی آن بر میزان کلروفیل و کاروتنوئید تمرکز می‌یابند و این در حالی است که مثال‌های بسیار معدودی برای فیکوبیلی پروتئین‌ها در دسترس می‌باشد (Lawrenz et al., 2011; Zimba, 2012). به‌طور معمول فیکوبیلین‌ها بالاترین میزان جذب را در طول موج ۴۵۰ تا ۶۶۰ نانومتر دارا می‌باشند. تنوع طیف جذبی فیکوبیلی پروتئین‌ها به دلیل تغییر جایگاه ویژه کروموفورها نسبت به سایر پروتئین‌ها است (Bennet and Bogorad, 1973; Zhao et al., 2011). امروزه مطالعات گسترده‌ای بر روی فلورسانس رنگیزه‌های

شناخته شوند (Zimba, 2012). سیانوباکتری‌ها یا جلبک‌های سبز آبی گروه وسیع و متنوعی از باکتری‌های پروکاریوت فتوسنتز کننده با قابلیت استفاده از نور خورشید، آب و CO<sub>2</sub> می‌باشند (Stanier and Cohen, 1977). این گروه شامل گونه‌ای از باکتری‌ها با توانایی تثبیت ازت و سازگاری بسیار بالا نسبت به شرایط متنوع محیطی بوده و به‌صورت کلنی‌هایی در طیف وسیعی در محیط‌های آبی و خاکی ساکن شده‌اند (Tandeau et al., 1993; Pandey et al., 1995; Oren, 2000). سیستم‌های رنگیزه‌ای در سیانوباکتری‌ها مقدار کمی سیگنال فلورسنسی در کلروفیل تولید می‌نماید اما عملکرد فلوروسنسی فیکوبیلین‌ها بسیار بالا می‌باشد و می‌تواند به‌عنوان یک شاخص مهم در ارزیابی میزان فراوانی سیانوباکتری‌ها در محیط مورد استفاده قرار گیرد (Yentsch and Yentsch, 1979). امروزه دسترسی به غلظت‌های دقیق رنگیزه‌های فیکوبیلین در تعیین میزان تراکم جمعیتی میکروارگانیسم‌ها بسیار حائز اهمیت می‌باشد. به‌طوری‌که نقش مهمی در بکارگیری تکنیک‌های سنجش از راه دور به‌منظور ارزیابی بلوم‌های جلبکی ایفا می‌نماید (Wozniak et al., 2011). گزارش‌های متعددی نشان می‌دهد که فیکوبیلی پروتئین‌ها کمپلکسی از بخش‌های رنگدانه پروتئین می‌باشند که به سه دسته رنگیزه‌های آبی یا فیکوسیانین، رنگیزه‌های سبز آبی یا آلفوفیکوسیانین و رنگیزه‌های قرمز یا فیکواریتین به ترتیب دارای قابلیت حداکثر جذب در طول موج‌های ۶۲۰، ۶۵۰ و ۶۶۵ نانومتر می‌باشند (Grossman et al., 1994). گزارش‌های متعددی نشان می‌دهد که فیکوبیلی پروتئین‌ها تحت تاثیر فاکتورهای محیطی مانند نور، آب و pH قابل تغییر هستند (Grossman et al., 1994, Takano et al., 1995; Chaneva et al., 2007; Simeunovic et al., 2013). سلطانی و همکاران

از کشت‌های متوالی در محیط جامد، ۱۸ سویه خالص از سیانوباکتری‌ها انتخاب گردیدند. بعد از اطمینان از خلوص، انتقال سویه‌ها به محیط کشت مایع جهت افزایش تولید بیوماس صورت پذیرفت. شرایط بهینه برای رشد هر سویه با در نظر گرفتن نیازهای دمایی، نوری و شرایط هوا دهی مناسب فراهم گردید. هوا دهی با شدت جریان ۲۰۰ میلی‌لیتر در دقیقه در ارلن‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری و در شرایط نوری ۸۰ میکرومول فوتون در مترمربع بر ثانیه با ۴ لامپ فلورسانس و ایجاد دمای بهینه رشد در دامنه ۲۵ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد فراهم گردید. به‌منظور بررسی فیکوبیلین‌های موجود در هر سویه، بعد از رسیدن به حداکثر رشد از هر استوک ۳ میلی‌لیتر بیوماس تهیه و با اضافه نمودن محلول گلیسرول به‌منظور ایجاد شوک اسمزی و با استفاده از استات سدیم، میزان فیکوبیلی پروتئین بعد از قرائت جذب در طول موج‌های ۶۲۰، ۶۵۲ و ۵۶۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکترومتر از روش Bennet و Bogorad (۱۹۷۳) بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردیدند. برآورد کمی انواع فیکوبیلین‌ها طبق معادلات زیر صورت گرفت. سپس مقدار هر رنگیزه بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید.

$$PC = (A_{620} - (0.474 \times A_{652})) / 5.34$$

$$APC = (A_{652} - (0.208 \times A_{620})) / 5.09$$

$$PE = ((A_{562} - (2.41 \times PC)) - (0.849 \times APC)) / 9.62$$

$$TPB = (PC + APC + PE)$$

جهت انجام شناسایی مورفولوژی سویه‌ها، از کلیدهای معتبر شناسایی استفاده گردید.

موجود در سیانوباکتری‌ها آغاز شده است (Babichenko et al., 2000; Seppala, 2009). اما روش‌های استاندارد برای استخراج فیکوبیلی پروتئین وجود ندارد. جداسازی و خالص سازی فیکوبیلی پروتئین‌ها از جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها می‌تواند بسیار پیچیده و زمان بر باشد و همچنین تحت تاثیر عواملی همچون دما، زمان استخراج، نوع بافر و pH قرار گیرد (Lawrenz et al., 2011). تحقیقات اخیر به‌منظور تلاش برای بهینه‌سازی روش‌های استخراج و خالص سازی و ارزیابی رنگیزه‌ها و دستیابی به حداکثر عملکرد در حال گسترش می‌باشد (Zimba, 2012; Horvath et al., 2013).

یکی از روش‌های کارآمد جهت استخراج رنگیزه، تلفیق روش‌های مکانیکی و شیمیایی به‌منظور خالص سازی پروتئین‌های رنگیزه‌ای است که شامل استفاده از بافرهای متعدد (Bennet and Bogorad, 1973)، هضم آنزیمی (Steward and Farmer, 1984) استفاده از آزولکتین چپس، انجماد و خورد کردن مکانیکی و کاپیلاری الکتروفورز می‌باشد (Horvath et al., 2011, Lawrenz et al., 2013). با توجه به مطالب فوق هدف از این تحقیق بررسی رنگیزه‌های فیکوبیلین در سویه‌های سیانوباکتری هتروسیست دار جدا شده از شالیزارهای شرق استان مازندران بود.

#### مواد و روش‌ها

نمونه برداری خاک با استفاده از روش‌های متداول از مناطق مختلف شالیزارهای شرق استان مازندران انجام گردید. سپس با استفاده از محیط کشت اختصاصی BG11<sub>0</sub> جداسازی سیانوباکتری‌های هتروسیست دار از سطح خاک صورت گرفته و پس

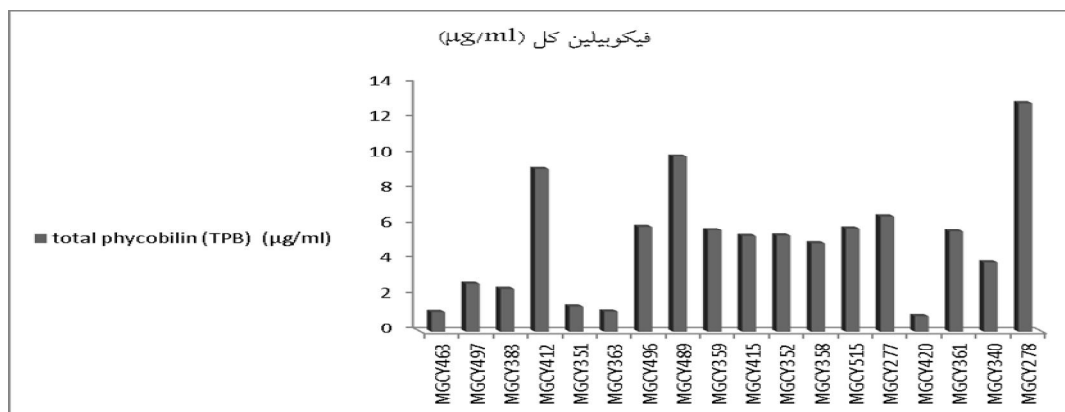
جدول ۱: نام سوبه‌های مورد بررسی

نام سوبه	کد سوبه
<i>Hapalosiphon flexuosus</i>	MGCY463
<i>Nostoc ellipsosporum</i>	MGCY497
<i>Stigonema ocellatum</i>	MGCY383
<i>Microchaete geopretiana</i>	MGCY412
<i>Stigonema turfaceum</i>	MGCY351
<i>Chroococcus sp.</i>	MGCY363
<i>Chroococcus minor</i>	MGCY496
<i>Phormidium tenue</i>	MGCY489
<i>Phormidium tenue</i>	MGCY359
<i>Nostoc muscorum</i>	MGCY415
<i>Microchaete geopertiana</i>	MGCY352
<i>Anabaena variabilis</i>	MGCY358
Unknown	MGCY515
<i>Lyngbya diguetii</i>	MGCY277
<i>Phormidium tenue</i>	MGCY420
<i>Phormidium minnesotense</i>	MGCY361
<i>Anabaena cylindrical</i>	MGCY340
Unknown	MGCY278

نتایج

بررسی میزان فیکوبیلین کل در سوبه‌های مورد بررسی: بررسی‌های انجام شده بر روی ۱۸ سوبه جدا شده از مناطق شالیزاری شرق استان مازندران موبد آن است که میزان فیکوبیلی پروتئین‌ها در سیانوباکتری‌ها، متناسب با جنس سوبه، شرایط محیطی و اقلیمی در هر سوبه متغییر است (شکل ۱). بالاترین میزان فیکوبیلین کل در سوبه MGCY278 (unknown) از منطقه بهشهر به میزان ۱۲/۹۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده و متعاقب آن سوبه‌های (*Phormidium tenue*) MGCY489، MGCY412 (*Microchaete*)

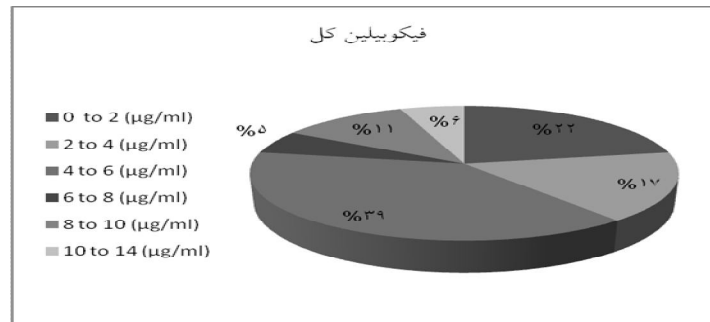
(*geopretiana*) به‌ترتیب از مناطق نکا، بهشهر با میزان ۹/۹۳۴، ۹/۲۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مکان‌های بعدی قرار گرفتند. کمترین میزان فیکو بیلی پروتئین کل در سوبه MGCY420 (*Phormidium tenue*) به میزان ۰/۹۰۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر از منطقه نکا بود. دو سوبه MGCY363 (*Chroococcus minor*) و MGCY463 (*Hapalosiphon flexuosus*) از مناطق میانکاله و نکا نیز به‌ترتیب با ۱/۱۶۰ و ۱/۱۳۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر از میزان فیکوبیلی پروتئین کمتری نسبت به سایر سوبه‌ها برخوردار بودند (شکل ۱).



شکل ۱: میزان فیکوبیلین کل در ۱۸ سوبه مورد بررسی از شالیزارهای شرق استان مازندران (بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر)

کل در دامنه ۴ تا ۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۵/۵۵ درصد دارای میزان فیکوبیلی پروتئین کل در دامنه ۶ تا ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۱۱/۱۱ درصد از سویه‌ها نیز دارای میزان فیکوبیلی پروتئین کل در دامنه ۸ تا ۱۰ میکروگرم و تنها ۵/۵۵ درصد در دامنه ۱۰ تا ۱۴ میکروگرم در میلی‌لیتر قرار دارند (شکل ۲).

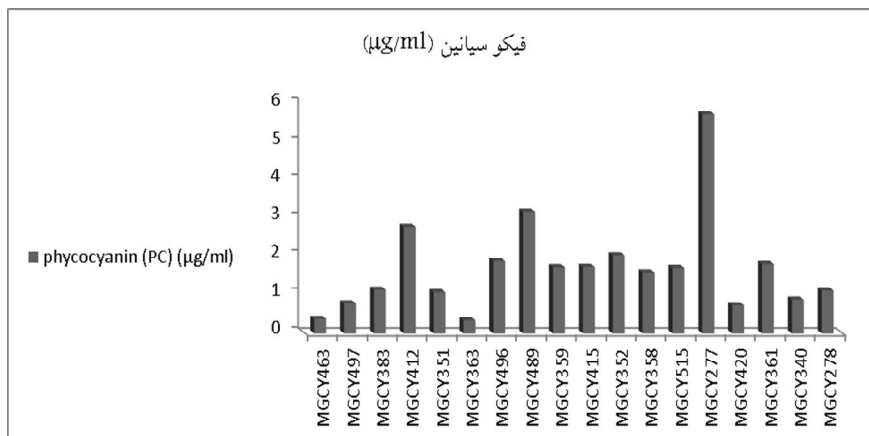
علاوه بر این نتایج این تحقیق در بررسی میزان فیکوبیلی پروتئین‌های کل نشان داد که ۲۲/۲۲ درصد از سویه‌ها دارای میزان فیکوبیلی پروتئین کل به میزان ۰ تا ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۱۶/۶۶ درصد دارای فیکوبیلی پروتئین کل به میزان ۲ تا ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۳۸/۸۸ درصد دارای میزان فیکوبیلی پروتئین



شکل ۲: تنوع میزان فیکوبیلین کل در ۱۸ سویه مورد بررسی از شالیزارهای شرق استان مازندران (بر حسب درصد)

سایر سویه‌ها بر خوردار بودند. کمترین میزان فیکوسیائین نیز مربوط به سویه (*Chroococcus* sp.) MGCY363 با میزان ۰/۳۳۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر از منطقه میانکاله بود (شکل ۳). همچنین سه سویه MGCY463 (*Hapalosiphon flexuosus*)، MGCY420 (*Phormidium tenue*) و MGCY497 (*Nostoc ellipsosporum*) از مناطق نکا و میانکاله با میزان ۰/۳۷۳، ۰/۷۴۵ و ۰/۷۹۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر از میزان فیکو سیائین پایین‌تری نسبت به سایر سویه‌ها برخوردار بودند.

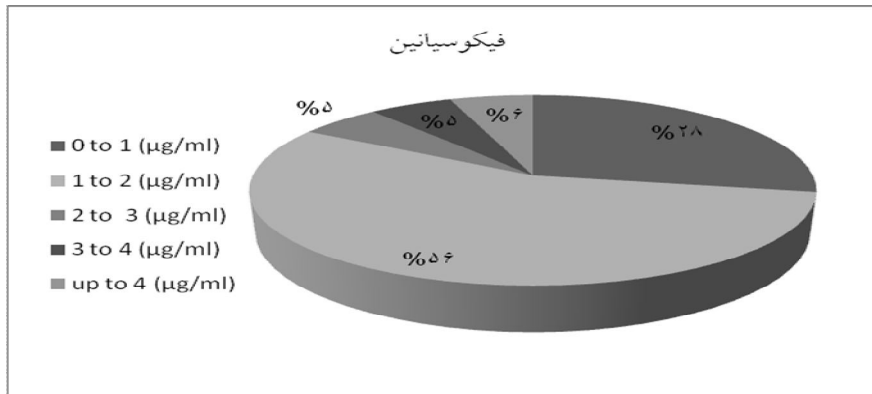
بررسی میزان فیکوسیائین در سویه‌های سیانوباکتری مورد بررسی: نتایج آزمایش نشان داد که بالاترین میزان فیکوسیائین در سویه‌های MGCY277 (*Lyngbya diguetii*) به مقدار ۵/۷۳۸ میکروگرم در میلی‌لیتر از منطقه بهشهر بوده و سویه‌های MGCY412 (*Phormidium tenue*)، MGCY489 (*Microchaete geopretiana*) و MGCY352 (*Microchaete geopretiana*) به‌ترتیب از مناطق نکا، بهشهر و میانرود با میزان ۳/۱۸۴، ۲/۷۹۸ و ۲/۰۴۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر در بالاترین جایگاه نسبت به



شکل ۳: میزان فیکوسیائین در ۱۸ سویه مورد بررسی از شالیزارهای شرق استان مازندران (بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر)

درصد از سویه‌ها میزان فیکوسیانین بین ۲ تا ۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در ۵/۵۵ درصد سویه‌ها میزان فیکوسیانین بین ۳ تا ۴ میکروگرم و در ۵/۵۵ درصد سویه‌ها میزان فیکوسیانین بالاتر از ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر را دارا بودند.

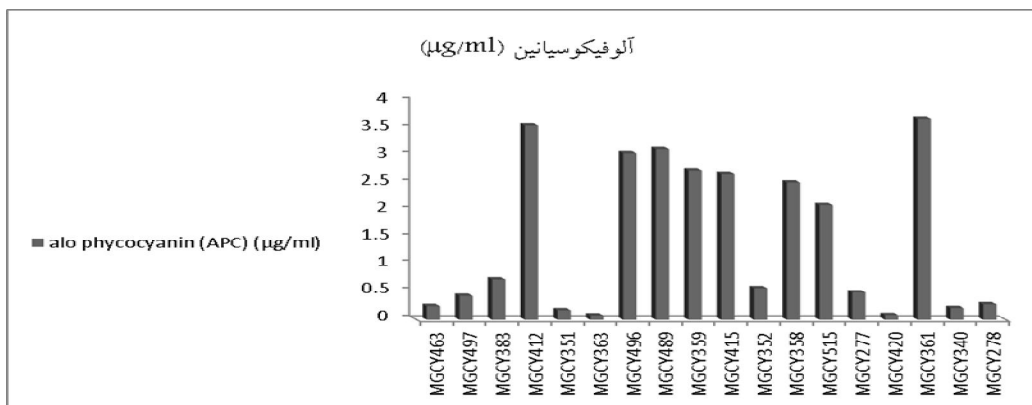
بررسی‌های صورت گرفته بر روی میزان فیکوسیانین‌های موجود در ۱۸ سویه جدا شده نشان داد که با توجه به شکل ۴ در ۲۷/۷۷ درصد از سویه‌ها میزان فیکوسیانین بین ۰ تا ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. در ۵۵/۵۵ درصد از سویه‌ها میزان فیکوسیانین بین ۱ تا ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر، در ۵/۵۵



شکل ۴: تنوع میزان فیکوسیانین در ۱۸ سویه مورد بررسی از شالیزارهای شرق استان مازندران (بر حسب درصد)

بر میلی‌لیتر در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. کمترین میزان آلفوفیکوسیانین نیز در سویه MGCY363 (*Chroococcus sp.*) به میزان ۰/۰۸۳۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر از منطقه میانکاله بوده و سویه‌های MGCY420 (*Phormidium tenue*)، MGCY340 و MGCY351 (*Stigonematurfaceum*) به ترتیب از مناطق نکا، میانرود و میانرود با میزان ۰/۰۹۳، ۰/۱۷۶ و ۰/۲۱۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر از میزان آلفوفیکوسیانین کمتری نسبت به سایر سویه‌ها برخوردار بودند.

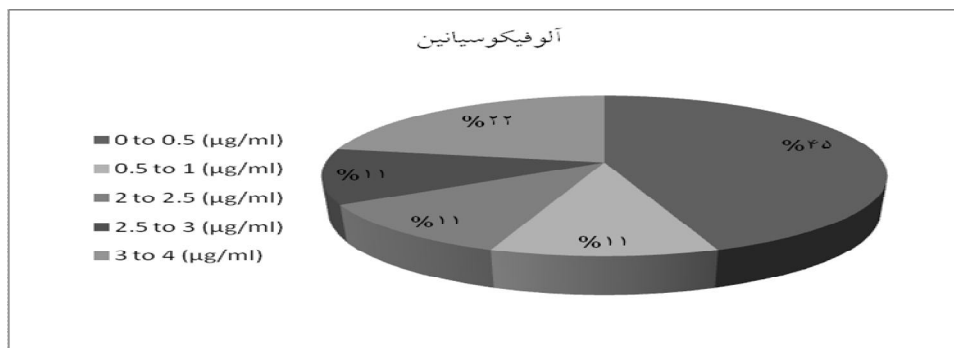
ارزیابی میزان آلفوفیکوسیانین در سیانوباکتری‌های مورد بررسی: بررسی میزان آلفوفیکوسیانین در ۱۸ سویه مورد نظر در شکل ۵ قابل مشاهده است. با توجه به نتایج بدست آمده، بالاترین میزان آلفوفیکوسیانین در سویه MGCY361 (*Phormidium minnesotense*) به میزان ۳/۶۷ میکروگرم در میلی‌لیتر از منطقه گلوگاه مشاهده شد. سه سویه MGCY412 (*Microchaete geopretiana*)، MGCY489 (*Phormidium tenue*) و MGCY496 (*Chroococcus minor*) به ترتیب از مناطق بهشهر، نکا و میانکاله با میزان ۳/۵۶، ۳/۱۲۲ و ۳/۰۵۱ میکروگرم



شکل ۵: میزان آلوفیکوسیانین در ۱۸ سویه مورد بررسی از شالیزارهای شرق استان مازندران (بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر)

آلوفیکوسیانین در دامنه ۲ تا ۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، در ۱۱/۱۱ درصد از سویه‌ها میزان آلوفیکوسیانین در دامنه ۲/۵ تا ۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد و تنها در ۲۲/۲۲ درصد از سویه‌ها میزان آلوفیکوسیانین در دامنه ۳ تا ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود.

بررسی میزان آلوفیکوسیانین در ۱۸ سویه جدا شده نشان داد که با توجه به شکل ۶ در ۴۴/۴۴ درصد از سویه‌ها میزان آلوفیکوسیانین بین ۰ تا ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. در ۱۱/۱۱ درصد سویه‌ها میزان آلوفیکوسیانین در دامنه ۰/۵ تا ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، در ۱۱/۱۱ درصد از سویه‌ها میزان

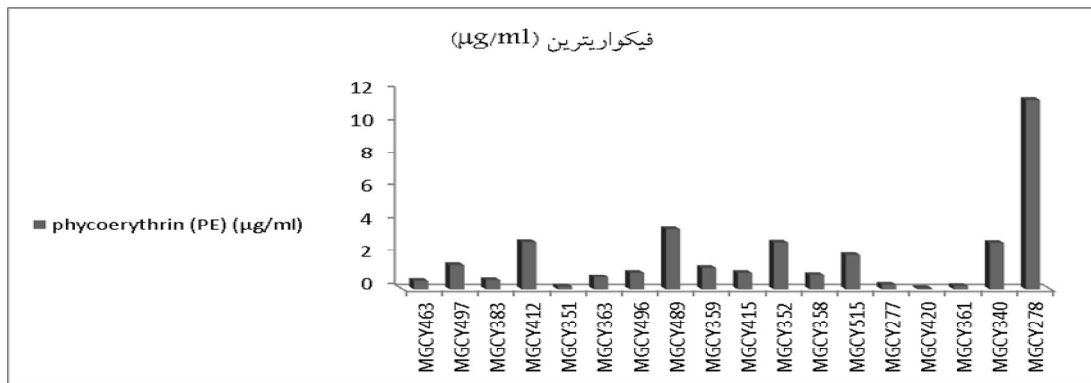


شکل ۶: تنوع میزان آلوفیکوسیانین در ۱۸ سویه مورد بررسی از شالیزارهای شرق استان مازندران (بر حسب درصد)

MGCY352 و MGCY340 (*Anabaena cylindrica*) به ترتیب از مناطق نکا، میانرود و میانرود با میزان ۳/۶۲۷، ۲/۸۳۲ و ۲/۸۰۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از فیکواریترین بالاتری نسبت به سایر سویه‌ها برخوردار بودند. کمترین میزان فیکواریترین نیز در سویه MGCY420 (*Phormidium tenue*) از منطقه نکا به میزان ۰/۰۷۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود و دو سویه MGCY361 و (*Stigonema turfatum*) MGCY351

ارزیابی فیکواریترین موجود در سویه‌های سیانوباکتری مورد بررسی: بررسی میزان فیکواریترین در سویه‌های جدا شده (شکل ۷) نشان داد که سویه MGCY278 (*unknown*) از بهشهر به مقدار ۱۱/۵۳۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر بالاترین میزان فیکواریترین را نسبت به سایر سویه‌ها دارد و سه سویه (*Phormidium tenue*) MGCY489 (*Microchaete geopretiana*)

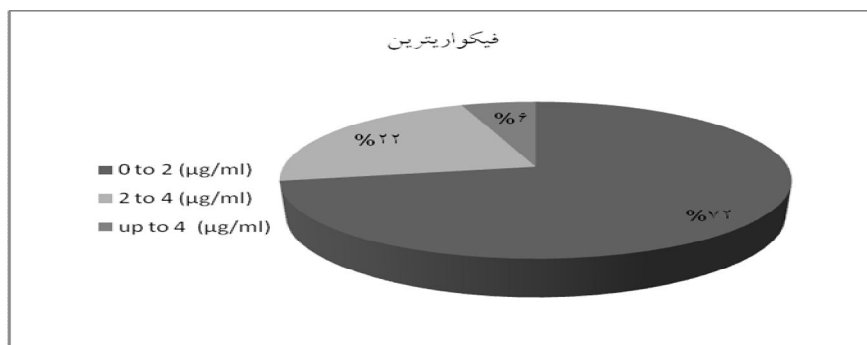
فیکواریترین کمتری نسبت به سایر سوبه‌ها برخوردار گلوگاه با میزان ۰/۱۷۵ و ۰/۲۰۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر از بودند.



شکل ۷: میزان فیکواریترین در ۱۸ سوبه مورد بررسی از شالیزارهای شرق استان مازندران (بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر)

دارای میزان فیکواریترین در دامنه ۲ تا ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. تنها در ۵/۵۵ درصد سوبه‌ها میزان فیکواریترین در دامنه بالاتر از ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد.

بررسی‌های انجام شده بر میزان فیکواریترین با توجه به شکل ۸ حاکی از آن است که ۷۲/۲۲ درصد سوبه‌های جدا شده دارای میزان فیکواریترین در دامنه ۰ تا ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۲۲/۲۲ درصد از آنها



شکل ۸: میزان فیکواریترین در ۱۸ سوبه مورد بررسی از شالیزارهای شرق استان مازندران (بر حسب درصد)

کمپلکس‌های جمع آوری کننده نور معطوف می‌دارد. در دو دهه اخیر، انتقال انرژی میان فتوسیستم‌های یک و دو و نقش فیکوبیلی پروتئین‌ها در حوزه فیزیولوژی مدرن و فیزیولوژی مولکولی مورد توجه جدی قرار گرفته است. در اکوفیزیولوژی، چه به صورت در زیوه و چه به صورت در شیشه سیستم‌های فیکوبیلی زومی به طور کلی مد نظر هستند و ارتباط آن‌ها با کنترل انرژی از طریق انتقال میان سیستم‌های نوری و

بحث

به‌طورکلی نوع نگرش به فیکوبیلی پروتئین‌ها، متفاوت است و هرگونه نگرش مکتب فکری خاص خود را طلب می‌کند. بررسی‌های بیوتکنولوژی، تغییرات فیکوبیلی پروتئین‌ها را از نظر میزان تولید و تنوع تولید به عنوان یک محصول بررسی می‌کند. اما نگرش‌های فیزیولوژیک و اکوفیزیولوژیک عمده توجه خود را به سیستم فتوسنتزی و آنتن‌های گیرنده و



چکی گر و همکاران (۱۳۹۱)، میزان تولید فیکوبیلی پروتئین از *Microchaete geopretian* بیش از سه برابر این مقدار می باشد و باتوجه به اینکه مطابق شکروی و همکاران (۱۳۸۱)، برخی نمونه‌های استیگوناتال در استان گلستان از تراکم به مراتب بالاتر برخوردار بوده‌اند، مسئله محیط و تاثیر آن جدی است. در بررسی‌های مربوط به مناطق نفتی هردو گونه که از جنوب جمع آوری شده و در شمال (استان گلستان) نشان ویژه سازی گردیده اند، حتی در شرایط عدم هوادهی (محدودیت افراطی دی‌اکسید کربن) و محدودیت افراطی نور (دو میکرومول کوانتا بر متر مربع در ثانیه)، به مراتب از شرق مازنداران بیشتر بوده است. البته در این میان باید توجه داشت که چون نمونه‌های استان‌های جنوبی و نیز شرق مازندران از نظر نوری و دی‌اکسید کربن نشان ویژه سازی نگردیده‌اند، احتمال ضعیفی وجود دارد که شرایط محدودیت به‌دلیل سازگاری نمونه به‌صورت نسل اندر نسل به شرایط مذکور، عامل اصلی یا یکی از عوامل اصلی باشد. با توجه به اینکه وجود حالت‌های پوسته‌ای یا پشته‌ای در نمونه‌ها در جنوب کشور، و آلوده بودن با قشر نفت، شرایط را به سمت خوگیری یا سازگاری با محدودیت‌ها سوق می‌دهد، احتمال دارد که مسئله تکامل در میان باشد. شاید بر هم زدن شرایط عادی نمونه (از محیط طبیعی) و ورود در شرایط کشت آزمایشگاهی که برای عمده سیانوباکتری‌ها مناسب به نظر می رسد در مورد این نمونه‌ها بر عکس پاسخ داده است. این مسئله ای است که بررسی‌های آینده می بایست روشن کند. در حال حاضر می بایست به گزارش‌های کمی و احیانا مقایسه ای به صورت جوامع کوچک، در جغرافیای محدود بسنده کرد.

وجود ساختارهای تشکیل دهنده فیکوبیلی زومی، بخصوص فیکواریترین و آلفیکوسیانین، در همه

بخصوص فتوسیستم دو که حتی وارد حوزه‌های ریزتر مانند انتقال میان گیرنده‌های الکترون از فتوفیتین گرفته تا کینون‌ها و البته کمپلکس فتولیز آب گردیده است. اینکه به کدام حوزه ورود کنیم، به موضوعیت بستگی دارد اما قدر مسلم بررسی ترکیبی اگر ممکن باشد کار دشواری است. ضمن اینکه ارتباط میان نقش فیکوبیلی پروتئین‌ها و سیستم فیکوبیلی زومی در رابطه با تنش‌های محیطی و تعمیم آن به کشت انبوه و گرفتن محصول برای پزشکی، داروسازی و کشاورزی، صنعت، محیط زیست و غیره فعلا امکان پذیر نیست. اطلاعات در این زمینه می بایست به مراتب بیش از این توسعه یابد. در خصوص نمونه‌های بومی ایران به‌دلیل عدم اطلاعات پایه در استان مازندران، ورود به بحث‌های جزئی فعلا منطقی نیست کما اینکه در استان گلستان که از حوزه اطلاعات پایه غنی تری برخوردار است، تجاربی پراکنده در این زمینه وجود دارد. به‌رحال به عنوان نتیجه گیری کلی اینکه اگر در این مقاله نگاه کل نگر و از بالا به وجود یا عدم فیکوبیلی پروتئین‌های کل در سویه‌هایی که نقش به نسبت غالب و یا با فراوانی بالا برخوردار هستند، به همین دلیل بوده است.

به‌طورکلی در شرق مازندران، فیکوبیلی پروتئین کل در سیانوباکتری‌های مطالعه شده در شرایط آزمایشگاهی وجود دارد ولی مقایسه با استان گلستان (جایی که اطلاعات پایه به صورت پراکنده) وجود دارد، محتوای آن کمتر می باشد. سویه‌های *MGCY489 (Phormidium tenue)* و *MGCY412 (Microchaete geopretiana)* که در شرق مازندران از بالاترین میزان برخوردار بوده‌اند، از نظر مقایسه با همین نمونه‌ها در استان گلستان (گرگان، علی‌آباد و فاضل‌آباد)، از تراکم به مراتب کمتری برخوردار هستند. با توجه به اینکه در بررسی

مازنداران دیده می‌شود اما هم اندازه و هم ساختار این سیستم، تحت شرایط محیطی به مراتب از مناطق همجوار کمتر می‌باشد. نتیجه دقیق در خصوص تاثیر عوامل محیطی یا به عبارت بهتر شرایط آزمایشگاهی، می‌بایست بعد از بررسی‌های ابزاری دقیق‌تر و نیز بهینه‌سازی شرایط کشت اعلام گردد. بررسی فلورستیک نشان می‌دهد که نمونه‌های جمع‌آوری شده از تراکم بالا و حتی غالبیت برخوردار هستند و این در حال حاضر محکم‌ترین دلیلی است که عدم دشواری خوگیری نمونه با شرایط طبیعی را نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد که سیستم فتوسنتزی در شرایط طبیعی با کارایی بالا کار می‌کند. شرایط آزمایشگاهی - شاید - عامل تغییر کمی و کیفی سیستم‌های فتوسنتزی باشد.

از نظر کاربردی در حال حاضر با توجه به عدم اطلاعات تنها می‌توان گفت که با توجه به بررسی میزان فیکوبیلی پروتئین‌های موجود در سوبه‌های جدا شده این گونه استنباط می‌گردد که هر سوبه پتانسیل رنگیزه‌ها را از نظر نوع و میزان آن دارا می‌باشد که متناسب با اهداف تجاری در جهت مصارف دارویی، صنعتی و آرایشی می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. چنین استنباط می‌شود که گونه‌های مختلف سیانو باکتری‌ها، ترکیبات متفاوتی از کرم‌فورها و فیکوبیلی پروتئین‌ها را در جهت بهینه‌سازی توانایی دریافت نور برای فتوسنتز بکار می‌گیرند و این بدلیل سازگاری سوبه در شرایط نوری قابل دسترس می‌باشد (Babichenko et al., 2012). همین امر زمینه تنوع گسترده‌ای را از حیث ظرفیت تولید رنگیزه ایجاد می‌نماید. به‌عنوان مثال در بررسی‌های انجام شده توسط Ojit و همکاران (۲۰۱۲) بالاترین میزان فیکواریترین، فیکوسیانین و آلفوفیکوسیانین در سوبه *Phormidium bohneri*، *Anabaena fuellebornii* و *Nostoc spongiaeforme* مشاهده گردید. بر طبق

سوبه‌ها قابل توجه است. در بررسی‌های سلطانی و همکاران (۱۳۸۴)، آلو فیکوسیانین در گونه فیشرلای مورد بررسی تحت تاثیر اسیدیته و قلیائیت به همراه شدت نور، بوجود نیامدند. ساختمان پایه در فیکوبیلی زومی تحت شرایط آزمایشگاهی جدید، نشان از ثبات این بخش دارد. هرچند البته در حال حاضر به قطعیت نمی‌توان گفت که این ثبات تحت تاثیر تنش‌های محیطی همچنان حفظ می‌شود. اما در کنار آلفوفیکوسیانین وجود فیکواریترین با میزان به نسبت بالا در بیست درصد از سیانوباکتری‌های جدا شده و تقریباً نود و پنج درصد از کل سیانوباکتری‌های جدا شده تایید دیگری بر ثبات سیستم فیکوبیلی زومی در نمونه‌های جمع‌آوری شده است.

در مورد فیکوسیانین، به قطعیت می‌توان گفت که مقادیر کلی فیکوسیانین در نمونه‌های جمع‌آوری شده به نسبت دیگر بررسی‌های انجام شده در گلستان (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱; Safaie et al., 2015)، اگرچه عمومیت دارد و این دلیل دیگری بر ثبات سیستم فیکوبیلی زومی است اما از نظر کمیت به مراتب پایین‌تر می‌باشند. در سیانوباکتری‌هایی مانند *Phormidium tenue* که از نظر بردباری به تنش بخصوص شوری مقاوم نشان می‌دهند، این کاهش فیکوسیانین جالب توجه است. با توجه به اینکه این سیانوباکتری در عمده پشته‌های میکروبی، نقش لایه فوقانی را دارد، کاهش مقدار آن (به صورت مقایسه‌ای)، در حال حاضر قابل توجه نیست. چون تکرارهای آزمایش، احتمال خطای آزمایشگاهی را ضعیف کرده است، شاید بررسی‌های از نظر طیف‌های جذبی در زیوه و یا فیتوشیمیایی از طریق HPLC، بتواند اطلاعات دقیق‌تری بدهد.

به‌طورکلی آنچه از بررسی‌های انجام شده می‌توان نتیجه گرفت آن است که ثبات سیستم فیکوبیلی زومی در نمونه‌های سیانوباکتری مناطق شرقی استان

حال حاضر محکم‌ترین دلیلی است که عدم دشواری خوگیری نمونه با شرایط طبیعی را نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد که سیستم فتوسنتزی در شرایط طبیعی با کارایی بالا کار می‌کند. شرایط آزمایشگاهی می‌تواند عامل تغییر کمی و کیفی سیستم‌های فتوسنتزی باشد.

بر طبق تحقیقات انجام شده، سویه‌های مختلف از خانواده سیانوباکتری‌های هتروسیست دار جمع آوری شده از شالیزارهای استان مازندران، دارای پتانسیل بالایی از ترکیبات ارزشمند ثانویه می‌باشند که می‌توان از این ترکیبات پپتیدی و رنگدانه‌های متنوع موجود در این گروه از ریز جلبک‌ها، در صنایع غذایی و دارویی بهره برد و حتی به‌عنوان مکمل‌های غذایی در صنایع دامپروری و طیور نیز می‌توانند حائز اهمیت باشند که جای دارد در این راستا تحقیقات گسترده‌تری صورت گیرد.

نظر Wozniak (۲۰۱۱)، امروزه استفاده از تکنیک‌های سنجش از راه دور و تعیین ارزیابی مکان بلوم‌های جلبکی، امکان دسترسی به غلظت‌های دقیق رنگیزه‌های فیکوبیلین به‌منظور میزان تراکم جمعیتی میکرواورگانیزم‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است. اهمیت فیکوبیلی پروتئین به‌عنوان یک ترکیب ضدسرطانی به‌صورت رنگ خوراکی در صنایع غذایی و دارویی توسط بسیاری از محققین مورد توجه قرار گرفته است (Chaneva et al., 2007). از آنجایی که پتانسیل گونه‌های متنوع سیانوباکتری برای تولید تجاری فیکوبیلی پروتئین‌ها بسیار متفاوت می‌باشد نیاز به تحقیقات گسترده‌تری جهت ارزیابی و شناسایی این اورگانیزم‌های ارزشمند احساس می‌گردد.

### نتیجه‌گیری نهایی

در شرق مازندران، سیستم فیکوبیلی زومی در نمونه‌های بررسی شده که عمدتاً نمونه‌های غالب می‌باشند از ثبات برخوردار است. فیکوبیلی پروتئین کل در سیانوباکتری‌های مطالعه شده در شرایط آزمایشگاهی وجود دارد ولی مقایسه با استان گلستان (جایی که اطلاعات پایه به‌صورت پراکنده وجود دارد، محتوای آن کمتر می‌باشد. سویه‌های *Phormidium* MG489 *MGCY412 tenue* (*Microchaete* *geopretiana*) و *MGCY352* (*Microchaete* *geopretiana*) که در شرق مازندران از بالاترین میزان برخوردار بوده‌اند، از نظر مقایسه با همین نمونه‌ها در استان گلستان (گرگان، علی‌آباد و فاضل‌آباد)، از تراکم به مراتب کمتری برخوردار هستند. وجود ساختارهای تشکیل دهنده فیکوبیلی زومی، بخصوص فیکواریترین و آلفیکوسیانین، در همه سویه‌ها قابل توجه است. بررسی فلورستیک نشان می‌دهد که نمونه‌های جمع‌آوری شده از تراکم بالا و حتی غالبیت برخوردار هستند و این در

### منابع

سلطانی، ن.، خاوری‌نژاد، ر.، طباطبایی‌یزدی، م.، شکروی، ش. و فرناندرز والیتسه، ا. (۱۳۸۴). بررسی خواص آنتی‌میکروبیال و فیزیولوژی سیانوباکتری‌ها در محیط‌های افراطی، پایان‌نامه دکتری تخصصی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشکده تربیت معلم تهران.

چکی‌گر، ش. (۱۳۹۱). بررسی خوگیری سیانوباکتری خاکزی به تنش‌های شوری و توان تعدیل شوری در شرایط آزمایشگاهی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

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

- Araoz, R., Lebert, M. and Hader, DP. (1998).** Electrophoretic applications of phycobiliproteins. *Electrophoresis*. 19: 215-219.
- Babichenko, S., Leeben, A., Poryvkina, L., van der Vagt, R. and de Vos, F. (2000).** Fluorescent screening of phytoplankton and organic compounds in sea water. *Journal of Environmental Monitoring*. 2: 378-383.
- Bennet, A. and Bogorad, L. (1973).** Complementary chromatic adaptation in filamentous blue-green alga. *Journal of Cell Biology*. 58: 419-435.
- Chaneva, G., Furnadzhieva, S., Minkova, K. and Lukavsky, J. (2007).** Effect of light and temperature on the cyanobacterium *Arthronema africanum*- a prospective phycobiliprotein-producing strain. *Journal of Applied Phycology*. 19: 537-544.
- Chen, F., Zhang, Y. and Guo, S. (1996).** Growth and phycocyanin formation of *Spirulina platensis* in photoheterotrophic culture. *Biotechnology Letters*. 18: 603-608.
- Grossman, AR., Schaefer, MR., Chiang, GG. and Collier, JL. (1994).** The responses of cyanobacteria to environmental conditions: light and nutrients. In: *The molecular biology of cyanobacteria*, edited by Bryant DA (Kluwer Academic, Dordrecht) 641-675.
- Horváth, H., Kovács, AW., Riddick, C. and Présing, M. (2013).** Extraction methods for phycocyanin determination in freshwater filamentous cyanobacteria and their application in a shallow lake. *European Journal of Phycology*. 48: 278-286.
- Kronick, MN. (1986).** The use of phycobiliproteins as fluorescent labels in immunoassay. *Journal of Immunological Methods*. 92: 1-13.
- Lawrenz, E., Fedewa, EJ. and Richardson, TL. (2011).** Extraction protocols for the quantification of phycobilins in aqueous phytoplankton extracts. *Journal of Applied Phycology*. 23: 865-871.
- Liu, Y., Xu, L., Cheng, N., Lin, L. and Zhang, C. (2000).** Inhibitory effects of phycocyanin from *Spirulina platensis* on the growth of human leukemia K562 cells. *Journal of Applied Phycology*. 52: 125-130.
- Oren, A. (2000).** Salts and brines. In: *The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space*, edited by Whitton BA and Potts M (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands) 281-306.
- Ojit Singh, K., Gunapati, O. and Tiwari, O. (2012).** New record of potential cyanobacteria from Indian region falling indo-burma biodiversity hotspots north-east region of india and partial characterization for value addition. *Philippine Journal of Scienc.* 141(1):57-66.
- Pandey, KD., Kashyap, AK. and Gupta, RK. (1995).** Nutrient Status, algal and cyanobacterial flora of six streams of Schermacher Oasis, Antarctica. *Hydrobiologia*, 299: 83-91.
- Rimbau, V., Camins, A., Romay, C., Gonzalez, R. and Pallas, M. (1999).** Protective effects of C-phycocyanin against kainic acid-induced neuronal damage in rat. *Neuroscience Letters*. 276: 75-78.
- Romay, C., Gonzalez, R., Ledon, N., Ramirez, D. and Rimbau, V. (2003).** C-phycocyanin: abiliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. *Current Protein and Peptide Science*. 4: 207-216.
- Roy, S., Llewellyn, CA., Egeland, ES. and Johnsen, G. (2011).** Phytoplankton pigments: characterization, chemotaxonomy and applications in oceanography. Cambridge University Press, Cambridge. 165-194.
- Safaei katoli, M. Nejadstari, T., Majd, A. and Shokravi, Sh. (2015).** Physiological morphological and ultrastructural to combination responses of cyanobacterium *Fischerella* sp. FS18 effects of extreme conditions. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*. 5(1):135-149.
- Seppälä, J. (2009).** Fluorescence properties of Baltic Sea phytoplankton. *Monographs of the Boreal environment research* (34). Edita Prima Ltd, Helsinki, p 83
- Simeunovic, J., Beslin, K., Svireev, Z., Kovac, D. and Babic, O. (2013).** Impact of nitrogen and drought on phycobiliprotein content in terrestrial strains. *Journal of Applied Phycology*. 25: 597-607.
- Sobiechowska, M., Bridoux, M., Ferreira Ferreira, AH., Perez- Fuentetaja, A. and Alben, K. (2010).** Biomarkers of algal populations in phytoplankton, filamentous alga, and sediments from the eastern basin of Lake Erie 2003-2005. *Journal of Great Lakes Research*. 36: 298-311.
- Stanier, RY. and Cohen-Bazire, G. (1977).** Phototrophic prokaryotes: the cyanobacteria. *Annual Review of Microbiology*. 31: 225-274.

- Steward, DE. and Farmer, FH. (1984).** Extraction, identification, and quantitation of phycobiliprotein pigments in phototrophic plankton. *Limnology and Oceanography*. 29: 392-397.
- Stoń-Egiert, J., Łotocka, M., Ostrowska, M. and Kosakowska, A. (2010).** The influence of biotic factors on phytoplankton pigment composition and resources in Baltic ecosystems: new analytical results. *Oceanologia*. 52: 101-125.
- Takano, H., Arai, T., Hirano, M. and Matsunaga, T. (1995).** Effect of intensity and quality of light on phycocyanin production by a marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. NKBG042902. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 43: 1014-1018.
- Tandeau de Marsac, N. and Houmard, J. (1993).** Adaptation of cyanobacteria to environmental stimuli: new steps towards molecular mechanisms. *FEMS Microbiology Letters*. 104: 119-189.
- Woźniak, B., Bradtke, K., Darecki, M. and Dera, J. (2011).** SatBaltic a baltic environmental satellite remote sensing system an ongoing project in Poland part 2: practical applicability and preliminary results. *Oceanologia*. 53: 925-958.
- Yentsch, CS. and Yentsch, CM. (1979).** Fluorescence spectral signatures: the characterization of phytoplankton populations by the use of excitation and emission spectra. *Journal of Marine Research*. 37: 471-483.
- Zhao, KH., Porra, RJ. and Scheer, H. (2011).** Phycobiliproteins. In: Roy S, Llewellyn CA, Egeland ES, Johnsen G (eds) *Phytoplankton pigments: characterization, chemotaxonomy and applications in oceanography*. Cambridge University Press, Cambridge, pp: 375-411.
- Zimba, PV. (2012).** An improved phycobilin extraction method. *Harmful Algae*. 17: 35-39.