نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال یازدهم، شماره ۴۱، بهار ۱۳۹۵ / صفحات: ۱۰۲-۸۹

بررسی خوگیری اکوفیزیولوژیک و قابلیت تعدیل شوری سیانوباکتری خاکزی *Anabaena* sp. FS 76 جمع‌آوری شده از مناطق آلوده نفتی تحت تاثیر تیمار مشترک شوری و محدودیت نور

شادمان شکروی*[۱]، الهه کیائی[۲]، افسانه پاکزاد[۱]، حمیده‌سادات امیرلطیفی[۲]

[۱]گروه زیست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

[۲]دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹٤/٦/۸ تاریخ پذیرش:۹۵/۲/۵

چکیده

مسئله رفع شوری ناشی از استخراج نفت در دهه اخیر یکی از عمده‌ترین مسائل زیست محیطی کشور می‌باشد. روش‌های زیستی در مناطق آلوده به نفت می‌توانند از کارامدترین روش‌ها محسوب گردند. هدف این مطالعه بررسی توان کاهش شوری توسط سیانوباکتری جدا شده از مناطق آلوده نفتی بود. سیانوباکتری *Anabaena* sp.FS 76 از مناطق نفتی جنوب کشور (استان خوزستان) جمع‌آوری شد و در شرایط آزمایشگاهی از نظر خوگیری توام به شوری و نور محدود افراطی، از نظر اکوفیزیولوژیک مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای شوری شامل محیط فاقد شوری و محیط کشت BG011 واجد کلرید سدیم با مقادیر مختلف (۰/۲۵، ۰/۵ ، ۰/۷۵و ۱ درصد) در نظر گرفته شد. سنجش‌ها شامل بررسی بقا و رشد، رنگیزه‌ها (فیکوسیانین، آلوفیکوسیانین، فیکواریترین)، قند و پروتئین بود. نتایج نشان داد که بیشینه نرخ رشد در شوری ۱ درصد بود. شوری تا حد ۱ درصد نه تنها سبب کاهش محتوای قند و پروتئین کل نشد بلکه به طور معنی‌داری آن را افزایش داد. طیف‌های جذبی در تنش توام شوری و نور محدود افراطی، وجود سیستم میله ای و مرکزی فیکوبیلی زوم را تایید نمود. قابلیت تعدیل شوری در این سیانوباکتری در شرایط طبیعی وجود دارد. این قابلیت در شوری‌های بالا به‌خصوص ۱ درصد به بالاترین حد رسید. نتایج این تحقیق نشان داد نمونه از نظر فیزیولوژی محیطی و بیوتکنولوژی نمونه‌ای توانمند و قابل توجه جهت بررسی‌های آتی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنابنا، اکوفیزیولوژی محیطی، تعدیل شوری، سیانوباکتری، نفت

مقدمه

سیانوباکتری‌های جنوب و از جمله مناطق آلوده به نفت نسبتاً ناشناخته می‌باشند. در بررسی اجتماعات سیانوباکتریایی کشورهای حوزه خلیج فارس، نشان داده شده که آلودگی نفتی در طی این مدت، بر تغییر و تنوع سیانوباکتری‌ها تاثیر داشته است. هرچند بررسی بر روی پشته‌های میکروبی اندک بوده است (Soltani et al., 2012). در محیط‌های خاکی اعم از مناطق نفتی و غیرنفتی، سیانوباکتری‌ها تحت تأثیر مجموعه‌ای از تنش‌ها قرار دارند که شوری و نور از عمده‌ترین آنهاست (Bhadduriya et al., 2007). این امر همراه با دیگر تنش‌ها از جمله دی اکسید کربن، اسیدیته و قلیاییت می‌بایست توسط سیانوباکتری

*نویسنده مسئول: shadmanshokravi@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

تحمل شده و منجر به از بین رفتن آنها نگردد (Shokravi et al., 2010). بنابراین نمونه‌ها از نظر هرگونه بهره‌برداری اقتصادی و از جمله بیوتکنولوژی می‌بایست توانمندی‌هایی داشته باشد که تحمل به تغییرات شوری و نور محدود از جمله مهم‌ترین آنهاست (Boussiba, 1988). با توجه به اینکه سیانوباکتری‌ها لایه فوقانی اجتماعات میکروبی را تشکیل می‌دهند، هرگونه تغییر در این لایه، به طور مستقیم تعادل ظریف میکروفلور در این پشته‌ها را بر هم می‌زند و عدم تعادل به معنی برهم خوردن ارتباط ظریف میان اجزا و ایجاد الگوهای ارتباطی جدید می‌باشد که الگوهای تهاجمی از جمله آن‌ها می‌باشد (Stal, 1995). نکته با اهمیت دیگر در این خصوص افزایش بی‌رویه شوری در مناطق نفتی است. حفاری در حوضچه‌های نفتی سبب اضافه شدن مقادیر قابل توجهی نمک می‌شود. این نمک معمولاً در مخازنی نگهداری می‌گردد که خود به مرور زمان سبب افزایش قابل توجه شوری محیط و تهدید کشاورزی منطقه می‌گردد. اینکه آیا می‌توان با استفاده از تعدیل کننده‌های زیستی این شوری را کنترل کرد یا خیر به عوامل متعدد بستگی دارد. در حال حاضر بدلیل نبود اطلاعات پایه هرگونه گام عملی می‌تواند توام با ریسک بالا و عدم اخذ نتیجه یا نتیجه معکوس باشد. تصور می‌شود حداقل یک دهه جمع‌آوری اطلاعات بنیادین و از جمله فیزیولوژی و اکوفیزیولوژی لازم است تا بتوان بر مبنای یک برنامه مدون و قابل اعتماد به بررسی‌های عملی دست زد. با این توضیح نشان ویژه‌سازی این موجودات از جنبه‌های مختلف و از جمله فیزیولوژی، اکوفیزیولوژی می‌تواند راه‌گشای بهره‌برداری‌های کاربردی آتی باشد. با توجه به اینکه نفت در اقتصاد ایران، جایگاه خاصی دارد، اینگونه بررسی‌ها، استراتژیک محسوب می‌شود (Chakigar et al., 2012). به‌عنوان هدف فرعی ولی البته نه چندان کم اهمیت تر از هدف اصلی، در یک تفکر چند منظوره، با عنایت به مسأله ضرورت استفاده از اصلاحگرهای خاک در آینده مسأله بقاء و رشد در شرایط تنش‌های مختلف، سیانوباکتری‌های استیگونماتال و نوستوکال، به‌دلیل داشتن هتروسیست و قابلیت تثبیت نیتروژن اتمسفری و نیز مورفولوژی خاص خود که سبب گسترش در خاک و حفظ بافت خاک می‌شود، به‌طور بالقوه، می‌توانند در بیوتکنولوژی کاربردی ریزجلبک‌ها مورد توجه جدی قرار گیرد (Safaie et al., 2015). مجموع این ویژگی‌ها سبب شده است تا بررسی سیانوباکتری‌های استیگونماتال و نوستوکال سوای علوم پایه و بیوتکنولوژی نفت، از نظر بیوتکنولوژی کشاورزی ارزشمند نشان داده شوند (Anand et al., 1990).

سیانوباکتری‌ها از لحاظ ارتباط با نمک متغیرند، انواعی به زندگی در آب دریا سازش پیدا کرده‌اند (Sokravi et al., 2009). اشکال آزاد سیانوباکتری‌ها، اغلب در مکان‌هایی یافت می‌شوند که دامنه شرایط محیطی و از جمله شوری بالا نوسان وجود دارد. علاوه بر رفتارهای فیزیولوژیک، به نظر می‌رسد که مورفولوژی سلول‌ها نیز در پاسخ به شوری تغییر می‌کند. سلول‌های کوچک به صورت منفرد یا جفت در شوری‌های پائین و سلول‌های بزرگ واجد واکوئل و گرد در شوری‌های زیاد هستند (Safaie et al., 2015).

نور نقش عمده‌ای در اجتماعات سیانوباکتری خاک‌ها و شالیزارها دارد (Boussiba, 1988). تغییرات نور در هنگامی که پشته‌های میکروبی تشکیل می شوند، وجود دارند (Stal., 1995). قرار گرفتن در لایه‌های نازک نفت، همانند غرقابی شدن خاک شالیزارها، سبب کاهش محسوس نور دریافتی توسط اجتماعات می گردد. در رابطه با لایه‌های نفتی، بررسی دقیقی انجام نگرفته است. اما به نظر می رسد

Archive of SID

www.SID.ir

که میزان نوری که شالیزار پس از رشد کامل برنج دریافت می‌کند در حدود یک در صد میزان دریافتی قبل از رشد برنج می‌باشد (Valiente and Leganes, 1989 -Fernandez). در سیانوباکتری‌ها استراتژی‌های خاصی برای استفاده از نور محدود وجود دارد. وجود دستگاه فیکوبیلی زوم یکی از این استراتژی‌هاست. فیکوبیلی زوم‌ها سیانوباکتری‌ها را قادر می‌سازند که در شرایط کم نوری مانند شالیزارها یا درون خاک‌ها با تنش موجود مقابله نمایند (Soltani et al., 2006).

در ایران بررسی‌های اکوفیزیولوژیک در ارتباط با نور و شوری صورت پذیرفته است (Chakigar et al., 2012; Jafari, 2013)، به‌نشان ویژه سازی مورفولوژیک تحت تاثیر توام شوری و نور محدود در شرایط آزمایشگاهی پرداخته‌اند. در رابطه با مسئله شوری و سیانوباکتری‌های استیگونماتال و نوستوکال، Safaei و همکاران (۲۰۱۲) و Shokravi و همکاران (۲۰۱۰)، از نقطه نظر اکوفیزیولوژیک بررسی‌هایی انجام داده‌اند. از دیگر سیانوباکتری‌های استیگونماتال که به هرحال نه مستقیماً در رابطه با شوری، بلکه از جهات متفاوت و از جمله تغییرات شوری، مورد بررسی قرار گرفته‌اند، می‌توان به بررسی‌های Safaei و همکاران (۲۰۱۲) بر روی *Fischerella* sp. و Soltani و همکاران (۲۰۰۵) بر روی *Fischerella* sp. FS18 اشاره کرد. تاثیر شوری و اسیدیته بر بقا و رشد گونه‌هایی از *Nostoc* توسط Amirlatifi و همکاران (۲۰۰۸) مورد بررسی قرار گرفته است. در رابطه با نور، تاثیر تناوب‌های نوری بر رشد و فرکانس هتروسیست سیانوباکتریوم *Fischerella* (Vakili et al., 2007)، تاثیر توام نور و دی‌اکسید کربن بر سیانوباکتریوم *Nostoc* sp. (Shokravi et al., 2006) و بررسی منابع نیتروژن و شوری بر روی سیانوباکتریوم متعلق به راسته استیگونماتالزهاپالوسیفون (Shokravi et al., 2010) و بررسی منابع نیتروژن و شوری بر روی سیانوباکتریوم متعلق به راسته استیگونماتالز *Fischerella* sp. (Soltani et al., 2007) در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفته است. تاثیر توام نور محدود و تنش‌ها، به طور عمده به اسیدیته و قلیاییت ارتباط داشته است. از جمله Shokravi و همکاران (۲۰۱۰) ، بر روی نمونه‌هایی از سیانوباکتری‌های استیگونماتال و نوستوکال بررسی‌های انجام داده اند. Ahmadi Livani (۲۰۱۱) *Nostoc* sp. FS 101 را در رابطه با شوری نشان ویژه سازی کرده اند ولی سایر عوامل در نظر گرفته نشده است، ضمن اینکه این نمونه‌ها به شالیزارها تعلق داشته است. *Hapalosiphon* sp. (Shokravi et al.,2010) و اخیرا Safaie et *Fischerella* sp. FS 18 (al., 2015) تنها نمونه‌هایی هستند که از مناطق نفتی نشان ویژه‌سازی اکوفیزیولوژیک گردیده‌اند. منتهی چنانکه ذکر گردید، این بررسی در رابطه با نور محدود و تغییرات اسیدیته و قلیاییت می‌باشند. ضمن اینکه در بررسی Safaie و همکاران (۲۰۱۵) بررسی مورفولوژیک اولویت داشته است. هدف این مطالعه بررسی توان کاهش شوری توسط سیانوباکتری جدا شده از مناطق آلوده نفتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جداسازی و شناسایی سیانوباکتری: نمونه خاک از مناطق نفت خیز جنوب کشور جمع‌آوری شد. کشت نمونه‌های خاک مطابق روش کشت سیانوباکتری‌های خاکزی انجام شد (Kaushik, 1987). پس از تشکیل کلونی، جداسازی و کشت‌های بعدی، سیانوباکتریوم *Anabaena* sp. به دلیل بالاتر بودن تعداد کلونی جهت انجام آزمایشات بعدی به صورت خالص تهیه گردید (Kaushik, 1987). شناسایی با استفاده از Anagnostidis و Komarek (۱۹۹۰)، Desikachary (۱۹۵۹) و John و همکاران (۲۰۰۲)

Archive of SID

www.SID.ir

انجام گرفت. نمونه با کد موزه‌ای *Anabaena* sp. FS 76 کدگذاری و در کلکسیون پژوهشکده علوم پایه کاربردی دانشگاه شهید بهشتی ثبت گردید. کشت ابتدایی در محیط‌های جامد و مایع BG110 در شرایط نوری ٦٠ میکرومول کوانتا بر مترمربع بر ثانیه، دمای ٢٨ درجه سانتی‌گراد و pH ٧/٨ انجام شد.

اعمال تیمار: پس از رشد اولیه سیانوباکتری ایزوله شده، در شرایط نوری محدود معادل ٢ میکرومول کوانتا بر متر مربع در ثانیه و شوری متفاوت شوری با غلظت‌های مختلف کلریدسدیم از محیط کشت فاقد شوری (شاهد) تا شوری ١ درصد با فاصله ٠/٢٥ درصد از یکدیگر در قرار گرفت. منحنی رشد براساس کدورت سنجی و وزن خشک بر اساس (Fernandez-Valiente and Leganes, 1989) ترسیم گردید. نرخ رشد بر اساس Shokravi و Soltani (٢٠١١) در فاز تصاعدی رشد محاسبه گردید.

سنجش بیلی پروتئین‌ها: برای اندازگیری میزان فیکوبیلی پروتئین های مختلف از روش Bermejo و همکاران(٢٠٠٢) استفاده شد. به این منظور به ٥ میلی‌لیتر سوسپانسیون جلبکی که محیط کشت آن پس از استفاده از سانتریفیوژ ١٤٠٠٠ دور در ٥ دقیقه جدا شده بود، ١٥٠ میکرولیتر گلیسرول اضافه شد و در یخچال به مدت یک روز قرار گرفت. پس از آن برای شکسته شدن سلول‌ها به آن آب و استات سدیم ٠/٣ نرمال افزوده شد، این محلول هم به مدت یک روز در تاریکی و سرما قرار داده شد. با استفاده از سانتریفیوژ محلول رویی جدا شد و جذب نوری آن در طول موج های ٦١٥، ٦٥٢، ٥٦٢ و ٧٥٠ نانومتر مشخص شد و با استفاده از روابط زیر میزان فیکواریترین، فیکوسیانین، آلوفیکوسیانین و فیکوبیلی پروتئین کل محاسبه شد(میکروگرم بر میلی‌لیتر) :

$$APC = [1000 (A_{652} - A_{750}) - 208 (A_{615} - A_{750})] / 5.09$$

$$PC = [1000 (A_{615} - A_{750}) - 474 (A_{652} - A_{750})] / 5.34$$

$$PE = [1000 (A_{562} - A_{750}) - 2.41(PC) - 0.948 (AP)] / 9.62$$

سنجش قندهای محلول: برای این سنجش به ١٠٠٠ میکرولیتر سوسپانسیون جلبکی ١٠ میکرولیتر تولوئن اضافه شد و پس از ورتکس به‌مدت ٢٤ ساعت در یخچال انکوبه گشت. سپس ١٠ دقیقه سانتریفوژ با دور 1500 rpm انجام شد و ٠/٤ میلی لیتر ازسوپرناتانت آن برداشته، با آب مقطر به حجم ٢ میلی‌لیتر رسانیده شد. آن گاه ٥٠ میکرولیتر فنل ٨٠ درصد قطره قطره طی ٣٠ ثانیه افزوده گردید و بعد از آن ٥ میلی لیتر اسید سولفوریک خالص اضافه شد و پس از ورتکس مجدد ٣٠ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفته و جذب آن در ٤٨٥ نانومتر خوانده شد (Burns et al., 2005).

سنجش پروتئین‌ها: ١ میلی لیتر از سوسپانسیون برداشته و در اپندورف ریخته و ١٠ دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رویی دورریخته وبه پلت حاصل ٥٠٠ میکرولیتر گلیسین ٠/٣ مولار اضافه شد. برای لیز شدن سلول‌ها هموژن دستی و سانتریفوژ به مدت ١٠ دقیقه انجام گرفت. محلول رویی که حاوی عصاره پروتئینی است به اپندورف دیگری انتقال یافت و در یخچال نگهداری شده و سپس ٣٠٠ میکرولیتر از عصاره پروتئینی با آب مقطر به حجم ١ میلی لیتر همراه با تکان‌های شدید رسانده شد و ٧٠٠ میکرو لیتر از محلول Lowery splution اضافه گشت واین بار به آرامی تکان داده شد و اطراف آن فویل آلومینیومی کشیده شد و٢٠ دقیقه دردمای اتاق درتاریکی قرار گرفت.

در ٥ دقیقه آخر انکوباسیون محلول فولین آماده شد و سپس ١٠٠ میکرولیتر (٠/١ میلی لیتر) معرف فولین افزوده گردیده و ورتکس شد، و به مدت ٣٠ دقیقه درتاریکی در دمای اتاق انکوبه گردید و پس از گذشت این زمان ورتکس شدو به اندازه ١/٣ میلی

Archive of SID

www.SID.ir

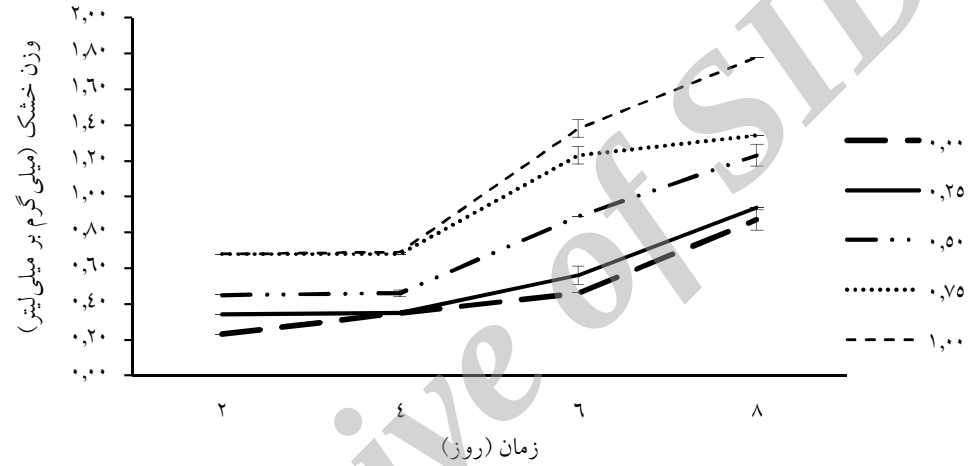
لیتر نمونه را در کووت ریخته وجذب در ۷۵۰ نانومتر با شاهد آب مقطر خوانده شد (Apte and Bhagwat, 1997).

طیف جذبی در زیوه با استفاده از اسپکتروفتومتری مقایسه ای، در طول موج‌های محدوده مرئی (۳۸۰ تا ۷۶۰ نانومتر) با فواصل ده نانومتری انجام گرفت. هردو عصاره متانولی و استنی جهت ارزیابی طیف‌های جذبی مقایسه گردیدند. شدت فتوسنتز و شاخص‌های فتوسنتزی با استفاده از اکسی گراف مدل کلارک سنجیده شد.

آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزارهای SPSS(ver11)، بر اساس سه تکرار در هر آزمون و آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA و طرح Tukey انجام گرفت.

نتایج

نتایج مربوط به رشد سیانوباکتریوم *Anabaena* sp.FS76 نشان می‌دهد که تاثیر توام شوری و نور محدود افراطی، روی هم رفته در روزهای اول تا چهارم رشد سبب بروز فاز تاخیری نمی‌گردد (شکل ۱).



شکل ۱: مقایسه وزن خشک سیانوباکتری *Anabaena* sp.FS *76* در غلظت‌های مختلف کلرید کلسیم

به نظر می‌رسد که رشد تا روز چهارم در کلیه تیمارهای شوری به استثنای شوری ۱ درصد به‌طور تقریبی مشابه است. افزایش رشد در تیمار شوری ۱ درصد، و کاهش آن و ورود به فاز ایستایی و مرگ در محیط کشت بدون شوری از روز چهارم آغاز می‌گردد که در هردو مورد با نوسان همراه است. در جدول ۱، مشخصات آنالیز رشد سیانوباکتری تحت تاثیر افزایش شوری تا یک درصد آورده شده است.

جدول ۱: میزان رشد و زمان مضاعف شدن در نمونه سیانوباکتریوم *Anabaena* sp.FS76 تحت شوری‌های متفاوت

زمان مضاعف شدن (G)	ثابت ویژه رشد (μ)	کلرید سدیم(درصد)
۱/۰	۰/۱۰۴	۰
۵/۷	۰/۱۲۱	۰/۲۵
۲/۱	۰/۳۲۸	۰/۵
۲/۳	۰/۳۴۶	۰/۷۵
۲/۳	۰/۳۸۷	۱

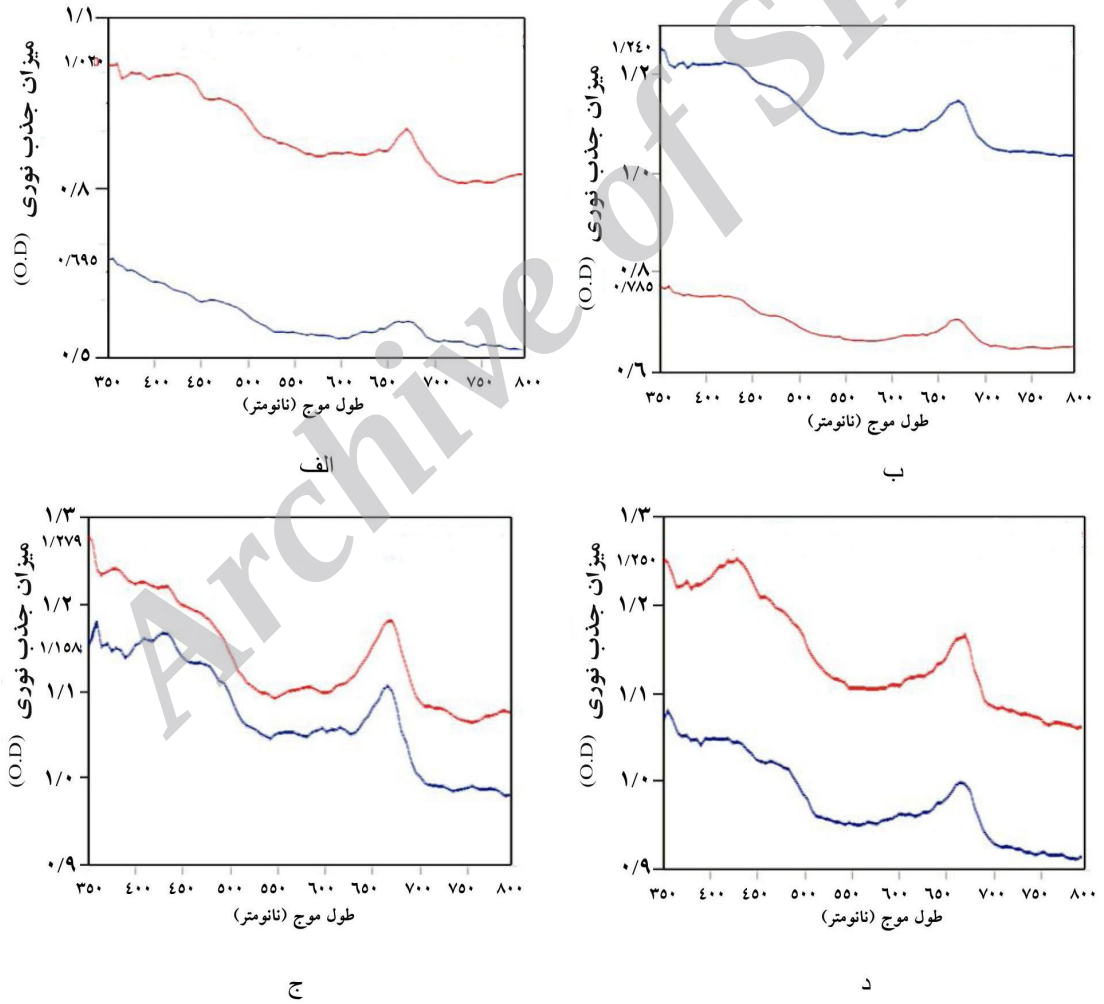
Archive of SID

www.SID.ir

با افزایش شوری افزایش هم در مرکز و هم در بخش‌های میله‌ای و بخصوص خارجی‌ترین بخش‌های میله‌ای یعنی فیکواریترین‌ها به‌طور معنی‌داری مشاهده گردید (جدول ۲)، محتوای فیکوسیانینی و آلوفیکوسیانینی نیز از این روند تبعیت کرد اما میزان افزایش فیکواریترین بخصوص در شوری ۰/۵ درصد به سمت ۱ درصد معنی‌دار بود.

جدول ۲: مقادیر فیکوبیلی پروتئین‌ها (میکروگرم میلی‌گرم در وزن خشک) در سیانوباکتریوم *Anabaena* sp.FS76 در تیمارهای مختلف شوری (درصد)

کلرید سدیم	۰	۰/۲۵	۰/۵	۰/۷۵	۱
آلوفیکوسیانین	۲۲/۲۹±۰/۲۷ ^{d}	۳٤/۹۹±۰/۲۲ ^{c}	۳۹/۷۵±۰/۰۹ ^{b}	۳۹/۸۷±۰/۵۱ ^{b}	٤٤/۳۳±۰/۰۸ ^{a}
فیکوسیانین	۱۸/۱۰±۰/۵٦ ^{e}	۲٤/۷۰±۰/۱۷ ^{d}	۲۷/۳۳±۰/۱۰ ^{c}	۲۸/۳۹±۰/۱۲ ^{b}	۳۱/۲۷±۰/۰٦ ^{a}
فیکواریترین	۳٦/۱٤±۰/۱۵ ^{e}	۳۸/۷۲±۰/۲۳ ^{d}	۳۹/۰٤±۰/٤۰ ^{c}	۱۱٦/۱۷±۰/۲۷ ^{b}	۱۲۱/۵۲±۰/۱٤ ^{a}
کل فیکوبیلی‌پروتئین‌ها	۷٦/۵۳±۰/۳۲ ^{e}	۹۸/٤۱±۰/۳۷ ^{d}	۱۰٦/۱۲±۰/۵۱ ^{c}	۱۸۷/٤۳±۰/۰٦ ^{b}	۱۹۷/۱۲±۰/۱٦ ^{a}



شکل ۲: منحنی مقایسه‌ای در زیوه رنگیزه‌های فیکوبیلی پروتئین سیانوباکتریوم *Anabaena sp. FS 76* به تفکیک تیمارنوری در روز اول (آبی) و روز ششم (قرمز) (الف) ۲ میکروکوانتا بر مترمربع در ثانیه، (ب) ۱۰ میکرو کوانتا بر مترمربع در ثانیه، (ج) ۵۰ میکروکوانتا بر مترمربع در ثانیه، (د) ۱۰۰ میکرو کوانتا بر مترمربع در ثانیه در تیمار غلظت ۱ درصد دی اکسید کربن و ۱ درصد شوری.

Archive of SID

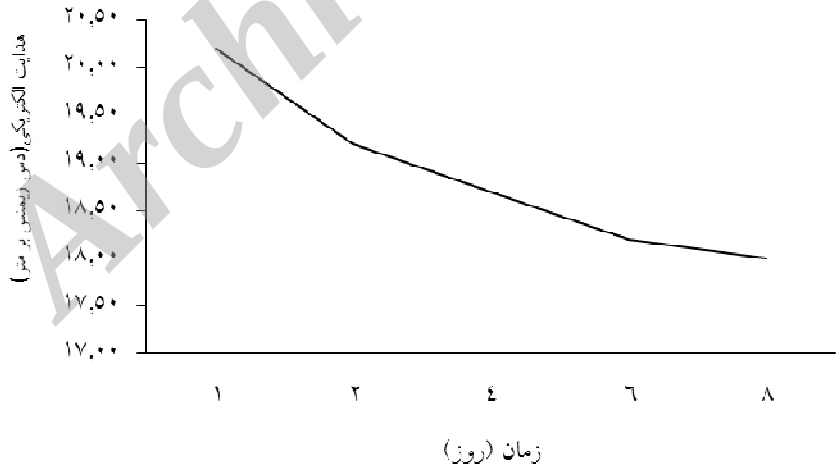
www.SID.ir

در شکل ۲، وضعیت رنگیزه‌ای در شرایط متفاوت نوری، غلظت ۱ درصد دی اکسید کربن و شوری یک درصد آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌گردد با افزایش میزان شدت نوری طیف جذبی در طول موج‌های مربوط به فیکوسیانین و فیکوواریترین برهم منطبق می باشند که نشان از همسان بودن فعالیت دستگاه فتوسنتزی دارد. روی هم رفته به نظر می‌رسد که سیستم فتوسنتزی نمونه حداقل از نظر دستگاه فیکوبیلی‌زومی و رنگیزه های بخش گیرنده نوری، در شرایط ۱۰۰ میکرو کوانتا بر مترمربع در ثانیه نه تنها عملکرد خود را کاهش نمی‌دهد بلکه کارایی خود را حفظ می‌کند.

کاهش هدایت‌الکتریکی در شرایط آزمایشگاهی، از روز نخست پس از تلقیح آغاز می گردد. با وجود آنکه نوسانات هدایت‌الکتریکی در تیمار شاهد (شوری ۰ درصد) کاهش نشان داد اما این اختلاف در ابتدای تلقیح سیانوباکتری و در انتهای روز ششم از نظر آماری معنی دار نیست(جدول ۳، شکل ٤). اما در انتهای روز ششم، سیانوباکتری قادر است در شوری یک درصد مقادیر هدایت‌الکتریکی را به میزان معنی داری کاهش دهد و این قابل توجه است. این مسئله در مورد غلظت‌های از نیم درصد به بالا مشابه است. مقادیر هدایت‌الکتریکی نمونه همراه با افزایش فعالیت دستگاه فتوسنتزی و سرعت گیری رشد تصاعدی آن کاهش می یابد(جدول ۳، شکل ۱ و ۳).

جدول ۳: مقایسه مقادیر هدایت‌الکتریکی (دس زیمنس بر متر) در سیانوباکتریوم *Anabaena* sp.FS76 در دو تیمار شوری (۰درصد و ۱درصد) در روز اول و ششم.

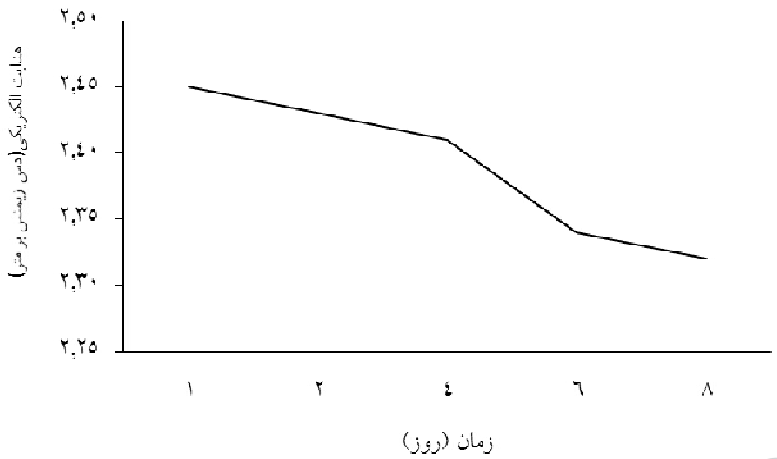
۱	۰	کلرید سدیم
۲۰/۱±۰/۵۲[a]	۲/٤٤±۰/۱۵[a]	هدایت‌الکتریکی روز اول
۱۵/۳٦±۰/۳۵[b]	۲/۳۲±۰/۲۲ [a]	هدایت‌الکتریکی روز ششم



شکل ۳: منحنی نوسانات هدایت‌الکتریکی سیانوباکتریوم *Anabaena* sp.FS76 در شوری ۱ درصد

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ٤: منحنی نوسانات هدایت‌الکتریکی سیانوباکتریوم *Anabaena* sp.FS76 در شوری ۰ درصد

دقت در جدول‌های ٤ و ٥ نشان می‌دهد که محدودیت نوری(۲ میکروکوانتا بر مترمربع در ثانیه) و شوری نه تنها سبب کاهش تولید قند و پروتئین نگردیده است، بلکه بر میزان آن افزوده است. با توجه به تاثیر محتوای قند و پروتئین (کل) بر فرایندهای مقابله با شوری در سیانوباکتری‌های نوستوکال و استیگونماتال، افزایش معنی دار محتوای پروتئین (ANOVA, $p<0.05$) در شوری ۱ درصد، ناشی از توان نمونه در تعدیل شوری به صورت پایدار می‌باشد.

جدول ٤: مقدار پروتئین و قند (میکروگرم در گرم وزن خشک) در تیمار ۲ میکروکوانتا بر مترمربع در ثانیه ، غلظت ۱ درصد دی‌اکسید کربن و شوری ۰ درصد در سیانوباکتریوم *Anabaena* sp. FS76

روز	پروتئین (میکروگرم در گرم وزن خشک)	قند (میکروگرم در گرم وزن خشک)
۱	٥/٦٨±۱/٥٩^{h}	۲/۰۰±۰/٦٨^{h}
۲	٦/۲۲±۰/۸۰^{g}	۲/۲۱±۰/۱٥^{g}
۳	٦/۳٦±۱/۰۰^{f}	۲/۲٦±۰/٥۹^{f}
٤	٦/۷۳±۰/٤۸^{e}	۲/٤۰±۰/۱۷^{e}
٥	٦/۸٥±۱/۱۳^{de}	۳/٦۷±۰/٤٥^{d}
٦	٦/۸٦±۱/۱۸^{d}	۳/۸۹±۰/۸۹^{c}
۷	٦/۹۸±۰/۷۰^{c}	٤/۱۲±۰/۲۲^{b}
۸	۷/٦٤±۰/۱۲^{b}	٤/۱۳±۰/۱۱^{b}
۹	۷/۸۷±۰/۳۲^{a}	٤/٥۰±۰/٥۰^{a}

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۵: مقدار پروتئین و قند (میکروگرم در گرم وزن خشک) در تیمار ۲ میکرو کوانتا بر مترمربع در ثانیه، غلظت ۱ درصد دی اکسید کربن و شوری ۱ درصد در سیانوباکتریوم *Anabaena* sp. FS76

روز	پروتئین (میکروگرم در گرم وزن خشک)	قند (میکروگرم در گرم وزن خشک)
۱	۷/۰۶±۱/۱۱	۱/۷۷±۰/۵۷^{h}
۲	۷/۳٤±۱/۰۹^{h}	۱/۷۹±۰/۲۵^{h}
۳	۸/٦۷±۰/۵۹^{g}	۱/۹۸±۰/٤۵^{g}
٤	۱۰/۱۲±۰/۲۸^{f}	۲/۰۱±۰/۵۷^{f}
۵	۱۲/٤۵±۰/۸٤^{e}	۳/٦۷±۱/۰۱^{e}
٦	۱٤/۵٦±۰/۹۹^{d}	٤/۵٦±۱/۱۸^{d}
۷	۱٦/۵۷±۰/٤۹^{c}	٦/٦۵±۰/۸۸^{c}
۸	۱۸/٦۸±۰/٦۸^{b}	٦/۷۰±۰/٤۷^{b}
۹	۱۹/۲۳±۰/٦٦^{a}	۷/۵۷±۰/۷۲^{a}

بحث

این نخستین گزارشی است که به نشان ویژه سازی سیانوباکتری *Anabaena* sp. FS 76 در ارتباط با شوری می پردازد. بررسی‌های مقدماتی رشد در شرایط فاقد شوری نشان داد که رشد در شرایط قلیایی، به مراتب بهتر از شرایط اسیدی می باشد. به همین دلیل شرایط قلیایی برای کشت نمونه و بررسی شوری انتخاب گردیده است (Badeli et al., 2012).

استفاده از بازدارنده‌های تراکم دی اکسید کربن در جلبک‌ها که در Amirlatifi و همکاران (۲۰۰۸) و Abbasi و همکاران (۲۰۱۲)، استفاده گردید نشان داد که میزان ۱ درصد دی اکسید کربن رشد و توده سلولی را افزایش می‌دهد ولی عدم تلقیح آن هم مانع رشد نمی‌گردد. مگر آنکه شوری بر روی مکانیسم تراکمی تاثیر داشته باشد.

تحقیقات نشان داده است که عوامل محیطی از جمله نور و دی اکسید کربن، می توانند تا حدی الگوهای ساخت و مهندسی بخش‌های فیکوبیلی زومی را تغییر دهند. بنابراین در رابطه با تاثیر شوری حکم کلی نمی توان کرد و می بایست سایر عوامل را نیز در نظر گرفت. اما آنچه در شکل ۱، اهمیت دارد آن است که در شرایط نوری بسیار محدود که در پشته‌های میکروبی در زیستگاه‌هایی نظیر شالیزار و مناطق آلوده به نفت عمومیت دارد، سیانوباکتری نه تنها قادر است فتوسنتز خود را در تیمار دوگانه شوری و نور محدود تنظیم نماید، بلکه می‌تواند از نظر محتوا به طور نسبی ثبات آن را حفظ کند ثبات نسبی بخصوص در بخش فیکوسیانینی قابل توجه است. هرچند به‌طور بدیهی با تغییر نور، محتوای سیستم فیکوبیلی زوم تغییر می کند اما در بخش مورد نظر ما یعنی نور محدود، بخش فیکوسیانین از ثبات برخوردار است (شکل ۲).

الگوی رشد این سیانوباکتری با دیگر سیانوباکتری‌های جمع آوری شده از منطقه خارک که تا کنون از نظر رشد نشان ویژه سازی شده اند شباهت‌ها و تفاوت‌هایی دارد (Soltani et al., 2012; Safaie et al., 2015) این سیانوباکتری از روز نخست بدون فاز تاخیری رشد را آغاز می‌کند و این رشد تا روزهفتم پس از تلقیح بدون دشواری ادامه می‌یابد. در تمامی شوری‌های اعمال شده در شرایط نور محدود افراطی، فاز رشد منفی وجود ندارد. از این نظر نتایج با آنچه در مورد *Hapalosiphon* sp. FS 56 جمع

Archive of SID

www.SID.ir

آوری شده از خاک‌های شمال ایران و نگهداری شده در شرایط مشابه نوری (۲ میکرومول کوانتا بر متر مربع در ثانیه) بدست آمد (Shokravi et al., 2010) مشابه می‌باشد. ورود موقت به فاز رشد منفی که از روز دوم در شرایط شوری ۱٪ ایجاد می‌شود با قابلیت بازیابی رشد در روزهای بعد همراه است و نمی توان آن را تنش تاثیر گذاری دانست چون نرخ رشد در این شرایط شوری نسبت به دیگر شرایط بالاتر می‌باشد. در بررسی‌های Livani Ahmadi (۲۰۱۱)، سیانوباکتری‌های استیگونماتال شمال کشور بخصوص گونه‌های‌هاپالوسیفون، به شوری حساس تشخیص داده شده اند و قابلیت بقای آن‌ها در شوری بالاتر از ۱٪ از دست رفته است و در این میزان شوری نیز به سختی بقای خود را حفظ کرده اند. در بررسی‌هایی که بر روی *Fischerella* sp. FS 18 صورت گرفت مشخص شد این سیانوباکتری نیز حداکثر رشد خود را در ۰/۵درصد دارا بوده و در شوری ۱ درصد رشد آن به طور معنی دار کاهش می‌یابد (Soltani et al., 2008). در بررسی‌های Shokravi و همکاران (۲۰۰۶) بر روی گونه‌هایی از نوستوک، شرایط مطلوب شوری در حد ۰/۵ درصد ارزیابی شده و شوری بالاتر سبب کاهش معنی دار نرخ رشد گردیده است. در خصوص *Microchaete* sp. FS 13، نوع رفتار متفاوت است. همه شوری‌ها تا روز سوم سبب رشد یکسان می‌شوند و فاز تصاعدی از روز نخست پس از تلقیح آغاز می‌گردد که نشان‌دهنده سازگاری سریع نمونه با شوری‌های مختلف می‌باشد. شوری ۱٪ بعد از روز پنجم مجدد فاز تصاعدی آغاز می‌کند ولی محیط فاقد شوری، از روز چهارم به بعد وارد فاز مرگ می‌شود که نشان دهنده عدم تمایل نمونه به این شرایط (محیط بدون شوری) می‌باشد (Chakigar et al., 2012). تا کنون در خصوص رفتارهای این سویه در شوری‌های بالاتر از ۱ درصد، گزارشی منتشر نشده است. با این‌حال بررسی‌های ایرانشاهی و همکاران نشان می‌دهد که *Microchaete* sp. FS 13 در حد شوری بالاتر از دو درصد دچار تنش شوری می‌شود و در حد ۵ درصد، رشد آن نسبت به ۱درصد کاهش چشمگیر می‌یابد. به نظر می رسد که *Anabaena* sp. FS76، همانند *Nostoc* sp. FS 77 نسبت به شوری تا حد یک درصد واکنش مثبت نشان می دهد. بهتر است گفته شود این شوری برای نمونه بهینه می باشد.

جهت ارزیابی کیفی تغییرات، استفاده از طیف‌های جذبی در زیوه به عنوان ابزاری کارامد جهت ارزیابی تاثیر عوامل مختلف بر رنگیزه‌های فتوسنتزی به کار رفته است. در بررس‌های گذشته و از جمله Chakigarو همکاران (۲۰۱۲) و Safaei و همکاران (۲۰۱۲)، اشاره شده که به‌طور دقیق نمی توان ذکر کرد که آیا الگوی رنگیزه‌های فتوسنتزی، ناشی از تاثیر شوری بر نور محدود است و یا اینکه این دو فرایند به طور مستقل عمل می‌کنند. هرچند اشاره گردیده که روی هم رفته احتمال نخست باید منطقی‌تر به نظر برسد اما تاکید شده که وضعیت رنگیزه‌ای نمونه در شوری ۰درصد (محیط کشت فاقد کلرید سدیم)، قدری این فرض را مخدوش می‌کند. ضمن اینکه نتایج بررسی‌ها در شرایط invitro نشان می‌دهد که محتوای رنگیزه ای (به‌طورکلی) در شرایط شوری صفر درصد به حداقل خود می‌رسد. با توجه به اینکه در نور محدود، می‌بایست این رنگیزه‌ها بیشترین مقدار را داشته باشند، کاهش این میزان در *Microchaete* sp. FS 13 می‌تواند در وهله اول عجیب باشد، اما هنگامی که نرخ‌های رشد را مقایسه می‌کنیم، در می‌یابیم که رشد نمونه در حضور کلرید سدیم تحریک می‌شود و این تحریک رشد البته می‌تواند ناشی از افزایش کمیت رنگیزه‌های فتوسنتزی باشد (Chakigar et al., 2012).

Archive of SID

www.SID.ir

طیف‌های جذبی در زیوه در روزهای نخست پس از تلقیح و مقایسه آن با روزهای بعد از تلقیح در شوری‌های مختلف نشان از تاثیر عاملی به نام نور و دی اکسید کربن در رفتارهای سیستم فیکوبیلی زومی نمونه در شرایط یکسان شوری دارند. به نظر می‌رسد که افزایش شدت نور، تاثیر تیمارهای دی اکسید کربن و شوری را تغییر می‌دهد. هنگامی که شدت نور کاهش می‌یابد، رنگیزه‌ها در شرایط شوری و دی اکسید کربن، رفتارهایی کاملا متمایز نشان می‌دهند. به نظر می رسد که رفتارهای شوری در خصوص تاثیر بر رنگیزه‌های فتوسنتزی به شدت نور وابسته است ولی این بدان معنی نیست که محتوای این رنگیزه‌ها افزایش یا کاهش معنی دار پیدا می‌کند. وجود اسید آمینه مایکوسپورین مانند MAA، در شرایط نوری محدود جالب توجه است. در این سیانوباکتری در شرایط محدودیت نور در حد ۲ میکرومول کوانتا بر متر مربع در ثانیه، نمونه توانسته در محدوده ۳۸۰-۴۰۰ جذب قابل توجهی نشان دهد که ناشی از بیان اسیدهای امینه مایکوسپورین مانند است (Sasani, 2010). با توجه به اینکه اسیدهای آمینه شبه مایکوسپورین در رابطه با تاثیر بر پرتو فرابنفش حائز اهمیت شناخته شده اند، فلسفه شکل‌گیری آن در پوشش‌های سلولی قابل درک نیست. بی تردید علاوه بر نقش در تنش‌های فرابنفش می‌بایست این ترکیبات نقش‌های دیگری هم بر عهده داشته باشند. این نقش هرچه باشد می بایست به شدت‌های نوری پایین محدود باشد چون در شدت‌های نوری بالاتر، تولید آن‌ها متوقف می‌شود. در این رابطه تنها می‌توان، به بررسی Lanzhou و همکاران (۲۰۰۳)، اشاره کرد. در این بررسی نظریه استفاده از اگزوپلی ساکاریدهای دیواره‌ای به عنوان عامل تعدیل کننده سیستم فتوسنتزی در تنش‌های شوری، بخصوص از نظر تولید منابع کربنه پیشنهاد گردیده است. افزایش ساکارز و افزایش ترکیبات تولید کننده پوشش‌های سلولی، سبب بالا رفتن توان فتوسنتزی *Microcoleus vaginatus* در تنش‌های شوری، چه هتروتروفی و چه اتوتروف بخصوص در نورهای پایین می گردد که از این نظر شاید بتوان وجود امینواسیدهای شبه مایکوسپورین و تغییرات تولید در محدوده پوشش سلولی را در *Anabaena* sp. FS 76 توجیه کرد.

در بررسی‌های Pakzad و همکاران (۲۰۱۱) پوشش‌های سلولی در اطراف سیانوباکتری نشان داده شده است. بررسی‌های فراساختاری در kiaei و همکاران (۲۰۱٤) و Safaie و همکاران (۲۰۱۰)، وجود پوشش‌های سلولی را در اطراف ریسه نشان می‌دهد.

تولید پروتئین و قند در این سیانوباکتری تحت تاثیر شوری افزایش می یابد. در عین حال این سیانوباکتری توانایی این را دارد که حداقل در کوتاه مدت و در شرایط آزمایشگاهی شوری را کاهش دهد. این توانایی بخصوص در شوری ۱٪ مشاهده می گردد که نمونه از نظر کارایی سیستم فتوسنتزی در بهینه شرایط خود قرار دارد.

محتوای قند و بخصوص پروتئین در اعمال شوری ۱ به ۰/۲۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌رسد که در مقایسه با دیگر سیانوباکتری‌های نوستوکال که در شرایط طبیعی بررسی شده اند، قابل توجه می‌باشد. تولید پروتئین و قند در شرایط متعارف (۰/۵ درصد) در محدودیت افراطی نور، تقریبا معادل مقداری است که در بررسی بر روی گونه‌های نوستوک و آنابنای جمع آوری شده از شالیزارهای شمال کشور و ارزیابی در نور متعارف بدست آمده است (Soltani et al., 2005).

نکته با اهمیت در اینجا افزایش معنی‌دار قند و پروتئین در این سیانوباکتری تحت تاثیر افزایش شوری است. در بررسی‌های Apte و Bhagwat

Archive of SID

www.SID.ir

(۱۹۹۷)، سیانوباکتری *Anabaena torulosa*، نشان داده شده است که تعدیل شوری با تلقیح این سیانوباکتری در زمان رشد گیاهان زراعی، می‌تواند ایده جالب توجهی باشد. کاهش شوری بین ۲۵ تا ۳۸ درصد گزارش شده است اما تعدیل شوری قابل توجه در این حد، به طور عمده مربوط به شوری موقت می باشد. این تعدیل موقت ممکن است تا ۹۰ درصد را هم شامل شود. *Anabaena torulosa* ، در بررسی‌های فوق توانسته است در شوری متوسط (هدایت‌الکتریکی بین ۵ تا ۸/۵ دسی‌زیمنس بر متر) به خوبی رشد کند و در عین حال عمل تثبیت نیتروژن را در سطح بالا انجام دهد. در این سیانوباکتری، بررسی‌های قند و پروتئین نشان از افزایش معنی دار نداشته است. بنابراین نمی توان تعدیل شوری را در این سیانوباکتری دائم دانست. در بررسی‌های Chakigar و همکاران (۲۰۱۲) و Badeli و همکاران (۲۰۱۲) این روند منظم مشاهده نگردیده است.

نتیجه‌گیری نهایی

به‌نظر می‌رسد که *Anabaena* sp.FS 76 در شرایطی افراطی محیط آزمایشگاه یعنی شدت نوری بسیار محدود و شوری در حد ۱٪ کلرید سدیم، دارای رشد بهینه و کارایی فتوسنتزی بالا می باشد. رنگیزه‌های فتوسنتزی بخصوص سیستم فیکوبیلی زومی در این شرایط، هم وجود و هم کارایی خود را حفظ می‌کنند. با توجه به این مسئله و به‌دلیل معظل شوری در مناطق نفتی و ضرورت بکارگیری سیستم‌های زیستی تعدیل کننده شوری، می‌توان روی این نمونه به‌صورت جدی متمرکز شد. شوک‌های شوری سبب تغییر سریع در سیستم رنگیزه ای و بخصوص بخش‌های مرکزی و میله ای فیکوبیلی زوم می‌شود که ظاهرا واکنش به تغییرات نوری در شرایطی است که نمونه با آلودگی نفتی درگیر است و امکان تغییر شرایط محیطی و از جمله شرایط نوری در زمان‌های کوتاه وجود دارد. این سیانوباکتری قادر به تعدیل شوری است و این یک امتیاز مهم از نظر بیوتکنولوژی محسوب می شود. هنوز نمی توان گفت که این تعدیل به طور موقت انجام می گیرد و یا دائم. برای هردو فرضیه‌هایی وجود دارد. اگر فرضیه دوم در بررسی‌های بعدی اثبات شود، می توان از این سیانوباکتری جهت پروژه‌های مربوط به کاهش شوری به صورت بیولوژیک که یک نیاز مبرم فعلی زیست محیطی است استفاده نمود.

سپاسگزاری

نگارندگان وظیفه خود می‌دانند از سرکار خانم دکتر ندا سلطانی و جناب آقای دکتر مازیار احمدی گلسفیدی به سبب همکاری خالصانه در مدت انجام مراحل آزمایشگاهی، صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایند.

References

Abbasi, B., Shokravi, Sh. and Soltani, N. (2012). Studying of viability, growth and pigment composition and ammonium of *Anabaena* sp. Fs76 in different organic and inorganic nitrogen medium. M.Sc Thesis On plant Physiology, Islamic Azad University of Gorgan.

Ahmadi Livani, H. (2011). Studying of survival and growth soil cyanobacterium to salt stress, carbon dioxide and pH. M.Sc Thesis On plant Physiology, Islamic Azad University of Gorgan.

Amirlatifi, F., Shokrav, Sh., Safaie, M. and Hosseini Kolbadi, Z. (2008). Studying of survival and growth cyanobacterium *Nostoc* sp. in pH stress and limited carbon dioxide. Journal of Plant Science Research. 6:38-45.

Amirlatifi, H., Shokravi, Sh. and Soltani, N. (2012). Studying of acclimation of soil cyanobacterium *Anabaena* sp. FS 76 to combination effect of pH and carbon dioxide at extremely limited irradiance. M.Sc Thesis On plant Physiology, Islamic Azad University of Gorgan.

Anagnostidis, K. and Komarek, J. (1990) Modern approaches to the classification of cyanobacteria. Stigonematales. Archieves for Hydrobiology. 14**:**224-286.

Archive of SID

www.SID.ir

Anand, N., Radha, L., Shanthakumar, R., Hopper, S., Revathi, G. and Subramanian, TD. (1990). Blue-green algae as biofertilizers: certain view points on the choice of suitable isolates. In *Perspective in phycology*, ed. Rajarao, V.N. pp. 383-391. New Delhi: Today and Tomorrow's Printer and Publisher.

Apte, S.K. and Bhagwat, A.A. (1997). Salinity-stress-induced proteins in two nitrogen-fixing *Anabeana* strains differently tolerant to salt. Journal of Bacteriology. 171:909-915.

Badeli, Z., Derakhshanpour, J. and Shokravi, Sh. (2012). Studying the effect of salinity and limited irradiance in survival and growth of soil cyanobacterium *Anabaena* sp. FS 76 and *Nostoc* sp. FS 77. M.Sc Thesis On plant Physiology, Islamic Azad University of Tonekabon .

Bermejo, R.N.R., Alva´rez-Pez, J.M., Acie´n Ferna´ndez, F.G. and Molina Grima, E. (2002). Recovery of pure B-phycoerythrin from the microalga *Porphyridum Cruentum*. Journal of Biotechnology. 93: 73-85.

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

Burns R., Danielle, J., MacDonald, C., Mc Ginn, J.P., and Campbell, D.A. (2005). Inorganic carbon repletion disrupts photosynthetic acclimation low temperature in the cyanobacteria *Synechococcus elongatus*. Journal Phycology. 41: 322-334.

Chakigar, Sh., Shokravi, Sh. and Sateii, A. (2012). Study aclimation of the soil cyanobacteria *Microchaete* sp.FS13 to salt stress and salinity ammelioration potentiality at the laboratory condition MS.c Thesis On plant Physiology, Islamic Azad University of Gorgan.

Desikachary, T. V. (1959). Cyanophyta. Indian council of agricultural research, monographs on Algae New Delhi, India.

Jafari, A. (2013). Study morphological variation patterns soil cyanobacteria in ph stress and study the effect of morphological fluidity as acidity and alkalinity adjustment strategy. MS.c Thesis On plant Physiology, Islamic Azad University of Gorgan.

John, D.M., Whitton, B.W., 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.

Kiaei, E., Soltani, N., Mazaheri assadi, M., Khavari nejad, R.A. and Dezfulian, M. (2014). Evaluation of the effect of environmental factors on cyanobacteria with ability of biodiesel production . Ph.D Thesis of Microbiology.

Lanzhou, C., Dunhai, L. and Yongding, L. (2003). Salt tolerance of *Microcoleus vaginatus* Gom., a cyanobacterium isolated from desert algal crust, was enhanced by exogenous carbohydrates. Journal of Arid Environments. 55(4): 645–656.

Pakzad, A., Masoudian, N., Shokravi, Sh., Amirlatifi, H. and Abbasi, B. (2011). Analysis of morphological and ultrastructure variation patterns in two previously unexplored strains of nostocaceae collected from paddy fields of Gorgan (Golestan Province). Environmental Sciences the First National Conference of Phycology of Iran. 9: 73-83.

Safaei, M., Shokravi, Sh., Amirlatifi, F. and Hoseinii kolbadi, Z. (2012). cyanobacterium *Fischerella* sp. in Different salinities. Quarterly Journal of Plant Science Researches. 4:72-78.

Safaie Katoli, M., Nejad–Sattari, T., Majd, A. and Shokravi, Sh. (2015). Physiological, morphological and ultrastructural responses of cyanobacterium *Fischerella* sp. FS 18 to combination effects of extreme conditions. Journal Apply Environment Biology Science. 5(1):135-149.

Sasani, Z. (2010). Acclimation possibility of micro algae as a biological shield in agriculture to carbon dioxide extreme situations caused by possible attacks. MS.c Thesis On plant Physiology, Islamic Azad University of Gorgan.

Shokravi, Sh. and Soltani, N. (2011). Acclimation of the *Hapalosiphon* sp. FS 56 (cyanoprokaryota) to combination effects of dissolved inorganic carbon and pH at extremely limited irradiance. International journal on Algae. 13 (4): 379-391.

Shokravi, Sh., Amirlatifi, F., Safaie, M., Ghasemi, Y. and Soltani, N. (2006). Some physiological responses of *Nostoc* sp. JAH 109 to the combination effects of limited irradiance, pH and DIC availability. Quarterly Journal on Plant Science Researches. 1(3):55-63.

Shokravi, Sh., Safaie, M. and Jorjani, S. (2010). Studying of acclimation of the cyanobacterium *Haplosiphon* sp. FS 44 to the combination Effects of pH and carbon dioxide concentration. Quarterly Journal on Plant Science Researches. 5(3): 31-42.

Archive of SID

www.SID.ir

Shokravi, Sh., Soltani, N. and Baftehchi, L. (2009). Cyanobacteriology. Islamic Azad University. First express.

Soltani N., Khavarinejad, R.A., TabatabaeiYazdi, M. and Shokravi, Sh. (2007). Growth and metabolic Feature of cyanobacteria *Fischerella* sp. FS18 in different Combined nitrogen sources. Iranian Journal of Science. 18(2): 123-128.

Soltani N., Zarrini G., Ghasemi, Y., Shokravi, Sh. and Baftechi, L. (2008). Characterization of soil cyanobacterium *Fischerella* sp. FS18 under NaCl stress Journal of Biological Sciences.7(6): 931-936.

Soltani, N., Khavari-Nejad, R., Tabatabaie, M., Shokravi, Sh. and Fernandez Valiente, E.F. (2006). Variation of Nitrogenase Activity, photosynthesis and pigmentation of cyanobacteria *Fischerella ambigua* strain FS18 under different irradiance and pH. World Journal Microbiology Biotechnology. 22 (6): 571-577.

Soltani, N., Baftechi, L., Dezfulian, M., Shokravi, Sh. and Alnajar, N. (2012). Molecular and Morphological Characterization of Oil Polluted Microalgae. International Journal of Environmental Research. 6(2): 481-492.

Soltani, N., Khavari-Nejad, R.A., Tabatabaei Yazdi, M., Shokravi, Sh. and Fernández-Valiente, E. (2005). Physiological and antimicrobial characterizations of some cyanobacteria in extreme environments. Ph.D Thesis On plant Physiology.

Soltani, N., Siahbalaie, R. and Shokravi, Sh. (2011). Taxonomical characterization of *Fischerella* sp. FS18- A multidisciplinary approach International journal on Algae. 1(9): 48-55.

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

Vakili, F., Ghorchibeigi, K., Soltani, N. and Shokravi, Sh. (2007). The effect of continuous illumination and photoperiods on growth and heterocyst frequency of cyanobacterium *Fischerella ambigua* from Golestan province. Quarterly Journal of Plant Science Researches. 1(2):11-20.

Archive of SID

www.SID.ir