نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال سیزدهم، شماره ۴۹، بهار ۱۳۹۷ / صفحات: ۱۰۶-۹۴

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

امیرعلی کلیایی[1*]، قربانعلی نعمت زاده[2]، ندا سلطانی[3]، شادمان شکروی[4]

[1]گروه کشاورزی، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان، ایران

[2]گروه کشاورزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی، ساری، ایران

[3]گروه میکروبیولوژی نفت، پژوهشکده علوم کاربردی جهاد دانشگاهی، دانشگاه شهید بهشتی ، تهران، ایران

[4]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۱۳ تاریخ پذیرش:۹۵/۷/۱٤

چکیده

سیانو باکتری‌ها ارگانیسم‌های فتوسنتز کننده گرم منفی می‌باشند. آنها یکی از موفق‌ترین گروه‌های ارگانیسم این سیاره به شمار می‌آیند که از شکل اولیه حیات تا تکامل امروزی بر روی زمین دیده شده‌اند. در طی تاریخچه تکامل طولانیشان، سیانوباکتری‌ها تغییراتی کارکردی پیموده‌اند که این تغییرات مسئول فیزیولوژی قابل انعطاف و مقاومت وسیع اکولوژی در این باکتری‌ها است. توانایی سیانوباکتری‌ها در مقاومت به دمای بالا، تشعشع ماورای بنفش، خشک شدن، تنش‌های شوری و آبی موجب موفقیت رقابتی در دامنه وسیعی از شرایط محیطی می‌گردد. گونه‌های متنوعی از سیانوباکتری‌ها ترکیبات متفاوتی از کروموفورها و فیکوبیلی پروتئین‌ها را در جهت بهبود توانایی برداشت نور در فرایند فتوسنتز به کار می‌برند. فیکوبیلی زوم‌ها به عنوان آنتن‌های اولیه برداشت کننده نور در فتوسیستم II در سیانوباکتری‌ها و جلبک‌های قرمز وجود دارند. هدف از این تحقیق بررسی رنگیزه‌های فیکوبیلین در سویه‌های هتروسیست دار جدا شده از شالیزارهای غرب استان مازندران می‌باشد. بعد از جمع آوری نمونه خاک و کشت سویه در محیط کشت $BG11_0$، به‌منظور انجام پروسه خالص سازی کشت مجدد در محیط کشت جامد و مایع انجام گرفت. سپس سویه‌ها از لحاظ ریخت‌شناسی بررسی شدند، نتایج نشان داد که به‌دلیل سازش سویه در شرایط نوری قابل دسترس، گونه‌های مختلف از سیانوباکتری‌ها تنوع بالایی از فیکوبیلی پروتئین را در جهت بهینه سازی توانایی دریافت نور برای فتوسنتز بکار می‌گیرند. به گونه‌ای که میزان فیکوسیانین، آلوفیکوسیانین و فیکو اریترین در هر سویه متفاوت از سویه دیگر بوده و بالاترین میزان این ترکیبات پروتئینی به ترتیب در سویه MGCY372 (*Plectonema boryanum*) مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: آلوفیکوسیانین، سیانوباکتری، فیکواریترین، فیکوبیلین، فیکوسیانین

مقدمه

سیانوباکتری‌ها یا جلبک‌های سبز آبی گروه وسیع و متنوعی از باکتری‌های پروکاریوت فتوسنتز کننده با قابلیت استفاده از نور خورشید، آب و CO_2 می‌باشند (Stanier and Cohen, 1977). این گروه شامل گونه‌هایی از باکتری با توانایی تثبیت ازت و سازگاری بسیار بالا نسبت به شرایط متنوع محیطی بوده و به‌صورت کلنی‌هایی در طیف وسیعی از محیط‌های آبی و خاکی ساکن شده‌اند (Tandeau et al., 1993, Pandey et al., 1995, Oren, 2000) فیکوبیلی

*نویسنده مسئول: amiralik6@gmail.com

Archive of SID

www.SID.ir

پروتئین‌ها به‌عنوان گروه مهمی از رنگدانه‌های کمکی در پروسه‌های دریافت نور نقش مهمی در برداشت نوری در سیانوباکتری‌ها و کریپتو مونادها و پروکلروفیت‌ها ایفا می‌نماید (Lawrenz et al., 2011). سیستم‌های رنگدانه ای در سیانوباکتری‌ها مقدار کمی سیگنال فلورسنسی را در کلروفیل تولید می نماید اما عملکرد فلوروسنسی فیکوبیلین‌ها بسیار بالا می‌باشد و می تواند به عنوان یک شاخص مهم در ارزیابی میزان فراوانی سیانوباکتری‌ها در محیط مورد استفاده قرار گیرد (Yentsch, 1979). امروزه دسترسی به غلظت‌های دقیق رنگدانه‌های فیکوبیلین در تعیین میزان تراکم جمعیت میکروارگانیسم‌ها بسیار حائز اهمیت می‌باشد. به‌طوری‌که نقش مهمی در بکارگیری تکنیک‌های سنجش از راه دور به منظور ارزیابی بلوم‌های جلبکی ایفا می‌نماید (Wozniak et al., 2011). امروزه تکنیک‌های متعددی در جهت شناسایی ترکیبات فعال در سلول بمنظور ارزیابی و شناسایی میکروارگانیسم‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Sobiechowska et al., 2010; Ston-Egiert et al., 2010; Roy et al., 2011). چنین روش‌هایی برای ارزیابی و تعیین بیوماس فیتوپلانگتون‌ها 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). بطور معمول فیکوبیلین‌ها بالاترین میزان جذب را در طول موج ٤٥٠ تا ٦٦٠ نانومتر دارا می‌باشند. تنوع طیف جذبی فیکوبیلی پروتئین‌ها به دلیل تغییر جایگاه ویژه کروموفورها با سایر پروتئین‌ها می‌باشد (Bennet and Bogorad, 1973; Zhao et al.,2011). امروزه مطالعات گسترده ای بر روی فلورسانس رنگدانه‌های موجود در سیانوباکتری‌ها آغاز شده است (Babichenko et al., 2000; Seppala, 2009). اما روش‌های استانداردی برای استخراج فیکوبیلی پروتئین وجود ندارد. جداسازی و خالص سازی فیکوبیلی پروتئین‌ها از جلبک‌ها و سیانو باکتری‌ها می‌تواند بسیار پیچیده و زمان بر باشد و تحت تاثیر عواملی همچون دما، زمان استخراج، نوع بافر و pH قرار گیرد (Lawrenz et al., 2011). تحقیقات اخیر بمنظور تلاش برای بهینه سازی روش‌های استخراج و خالص سازی و ارزیابی رنگدانه‌ها و دستیابی به حداکثر عملکرد در حال گسترش می‌باشد (Zimba, 2012; H0rvath et al., 2013). یکی از روش‌های کارآمد جهت استخراج رنگدانه، تلفیق روش‌های مکانیکی و شیمیایی بمنظور خالص سازی پروتئین‌های رنگدانه ای می‌باشد و شامل استفاده از بافرهای متعدد (Bennet and Bogorad, 1973) هضم آنزیمی (Steward and Farmer, 1984) استفاده از آزولکتین چبس، انجماد و خورد کردن مکانیکی و کاپیلاری الکتروفورز می‌باشد (Horvath, 2013; Lawrenz et al., 2011). فیکو بیلی پروتئین‌ها در بسیاری از سیانوباکتری‌ها جهت بالا بردن راندمان فتوسنتزی و کمک به جذب نور توسط کلروفیل بکار گرفته می‌شوند. این مولکول‌های آنتن شامل، فیکوبیلی پروتئین‌های رنگدانه ای و بخش پروتئینی غیر رنگدانه‌ای می‌باشند (Lawrenz et al., 2011). چهار ساختار تتراپیرول کلروموفور خطی (بیلین) شامل فیکوسیانوبیلین، فیکوواریتروبیلین، فیکووایولوبیلین و فیکواوروبیلین می‌تواند به‌عنوان فیکوبیلی‌پروتئین‌های سیانوباکتری‌ها شناخته شوند (Zimba, 2012).

گزارش‌های متعددی نشان می‌دهد که فیکوبیلی پروتئین‌ها کمپلکسی از بخش‌های رنگدانه-پروتئین می‌باشند که به سه دسته رنگدانه‌های آبی یا فیکوسیانین، رنگدانه‌های سبز-آبی یا آلوفیکوسیانین و رنگدانه‌های قرمز یا فیکواریترین به‌ترتیب با قابلیت حداکثر جذب در طول موج‌های ٦٢٠، ٦٥٠ و ٥٦٥

Archive of SID

www.SID.ir

نانومتر می‌باشند (Grossman et al., 1994) گزارش‌های متعددی نشان می‌دهد که فیکوبیلی پروتئین‌ها تحت تاثیر فاکتورهای محیطی مانند نور، آب و pH قابل تغییر است (Grossman et al., 1994; Takano et al., 1995; Chaneva et al., 2007; Simeunovic et al., 2013). به گفته سلطانی و همکاران ۱۳۸٤، تنش‌های محیطی از جمله شوری می‌تواند برروی کارایی فتوسنتز و توان فیکوبیلی پروتئین‌ها تاثیر گذار باشد. کاربرد فیکوپروتئین‌ها به عنوان یک ترکیب ضد سمی و ضد سرطانی به عنوان رنگ دهنده غذایی به یک هدف بسیار مهم در صنعت غذایی و دارویی مد نظر قرار گرفته است (Chaneva et al., 2007). همچنین مصارف دارویی و آرایشی فیکوبیلی پروتئین‌ها (Kronick et al., 1986; Araoz et al., 1998) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محافظ عصبی، ضد سرطانی و ضد عفونتی فیکوبیلین‌ها توسط محققین بسیاری گزارش شده است (Ri mbau et al., 1999; Liu et al., 2000; Romay et al., 2003). 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).

هدف از این تحقیق جمع آوری سویه‌های مختلف سیانوباکتریهای هتروسیست دار شالیزارهای استان مازندران و بررسی تنوع و ظرفیت تولید رنگدانه‌های فیکوبیلی پروتئین سویه‌ها بوده است.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری خاک با استفاده از روش‌های متداول از مناطق مختلف شالیزارهای غرب استان مازندران انجام گردید. سپس با استفاده از محیط کشت اختصاصی $BG11_0$ جداسازی سیانوباکتری‌های هتروسیست دار از سطح خاک صورت گرفته و پس از کشت‌های متوالی در محیط جامد، ۱۹ 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 هوادهی مناسب فراهم گردید. هوادهی با شدت جریان ۲۰۰ میلی‌لیتر در دقیقه در ارلن‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری و در شرایط نوری ۸۰ میکرومول فوتون در متر مربع بر ثانیه با ٤ لامپ فلورسانس و ایجاد دمای بهینه رشد در دامنه ۲۵ تا ۲۸ درجه سانتی گراد فراهم گردید. به منظور بررسی فیکوبیلین‌های موجود در هر سویه، بعد از رسیدن به حداکثر رشد از هر استوک۳ میلی‌لیتر بیوماس تهیه و با اضافه نمودن محلول گلیسرول به منظور ایجاد شوک اسمزی و با استفاده از استات سدیم، میزان فیکوبیلی پروتئین بعد از قرائت جذب در طول موج‌های ٦۲۰، ٦۵۲ و ۵٦۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکترومتر از روش Bennet و Bogorad (۱۹۷۳) بر حسب میلی گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردیدند. برآورد کمی انواع فیکوبیلین‌ها طبق معادلات زیر صورت گرفت. سپس مقدار هر رنگیزه بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید.

فیکوسیانین (PC)=(A_{620} –(0.474× A_{652}))/5.34

آلوفیکوسیانین(APC)= (A_{652} – (0.208 × A_{620}))/5.09

فیکواریترین (PE)= ((A_{562} – (2.41× PC))- (0.849 × (APC))/9.62

فیکوبیلین کل (TPB)= (PC+APC+PE)

جهت شناسایی مورفولوژی سویه‌ها از کلیدهای رایج شناسایی دسیکاچاری استفاده گردید (جدول ۱).

Archive of SID

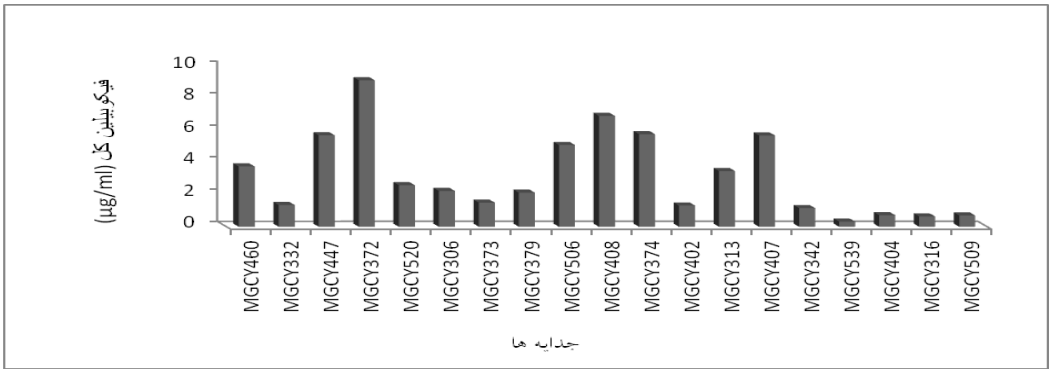
www.SID.ir

جدول ۱: نام سویه‌های مورد بررسی

نام سویه	کد سویه
unknown	MGCY460
Nostoc microscopicum	MGCY332
unknown	MGCY447
Plectonema boryanum	MGCY372
Nostoc muscorum	MGCY520
Anabaena cylindrica	MGCY306
Calothrix stagnalis	MGCY373
Microchaete tenera	MGCY379
unknown	MGCY506
Aphanocapsa grevielli	MGCY408
Phormidium sp.	MGCY374
Chroococcus pallidus	MGCY402
Phormidium sp.	MGCY313
unknown	MGCY407
Anabaena cylindrica	MGCY342
Phormidium angustissimum	MGCY539
Calothrix stellaris	MGCY404
Calothrix atricha	MGCY316
Anabaena variabilis	*MGCY509*

نتایج

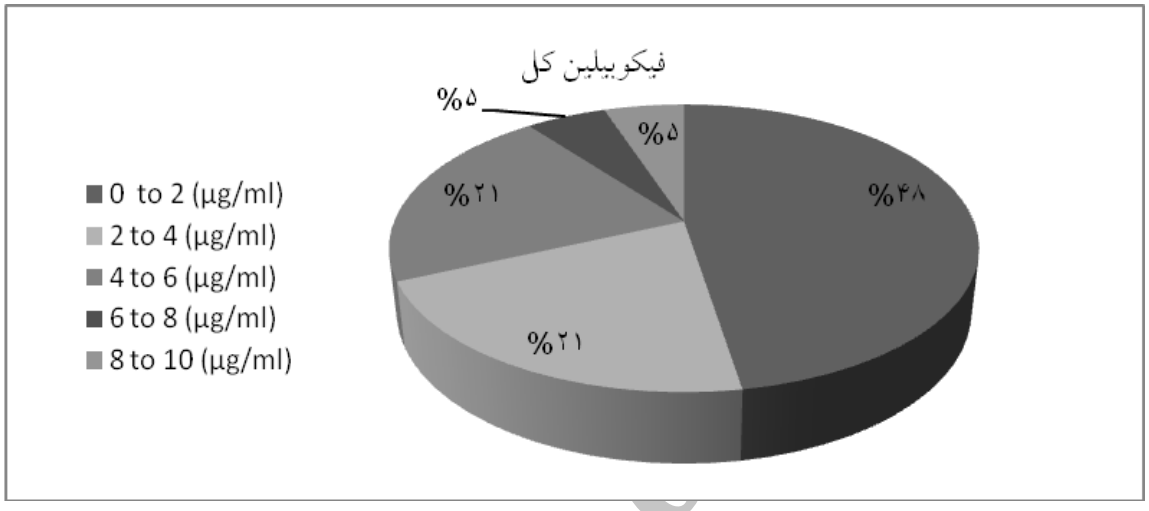
بررسی میزان فیکوبیلین کل در سویه‌های هتروسیست دار جدا شده از شالیزارهای غرب استان مازندران : بررسی‌های انجام شده بر روی ۱۹ سویه جدا شده از مناطق شالیزاری غرب استان مازندران موئد آن است که میزان فیکوبیلی پروتئین‌ها در سیانوباکتری‌ها، متناسب با جنس سویه، شرایط محیطی و اقلیمی در هر سویه متغییر است (شکل ۱). بالاترین میزان فیکوبیلین کل در سویه MGCY372 (*Plectonema boryanum*) از منطقه کله بست به میزان ۹/۱۵٦ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده و متعاقب آن سویه‌های (*Aphanocapsa grevielli*)MGCY408 MGCY407 به‌ترتیب از مناطق کلارآباد و نشتارود با میزان ٦/۹۲۷، ۵/۷۰٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مکان‌های بعدی قرار گرفتند. کمترین میزان فیکوبیلی‌پروتئین کل در سویه (*Phormidium angustissimum*MGCY539) به میزان ۰/۳۲۷۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر از منطقه نشتارود بوده است. دو سویه (*Calothrix atricha*) MGCY316 و MGCY509 *(Anabaena variabilis)* از مناطق عباس آباد و بابلسر نیز به‌ترتیب با ۰/٦٤۵ و ۰/۷۰٦ میکروگرم بر میلی‌لیتر از میزان فیکوبیلی پروتئین کمتری نسبت به سایر سویه‌ها برخوردار بودند.



شکل ۱: میزان فیکوبیلین کل در ۱۹ سویه مورد بررسی از شالیزارهای غرب استان مازندران (برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر)

Archive of SID
www.SID.ir

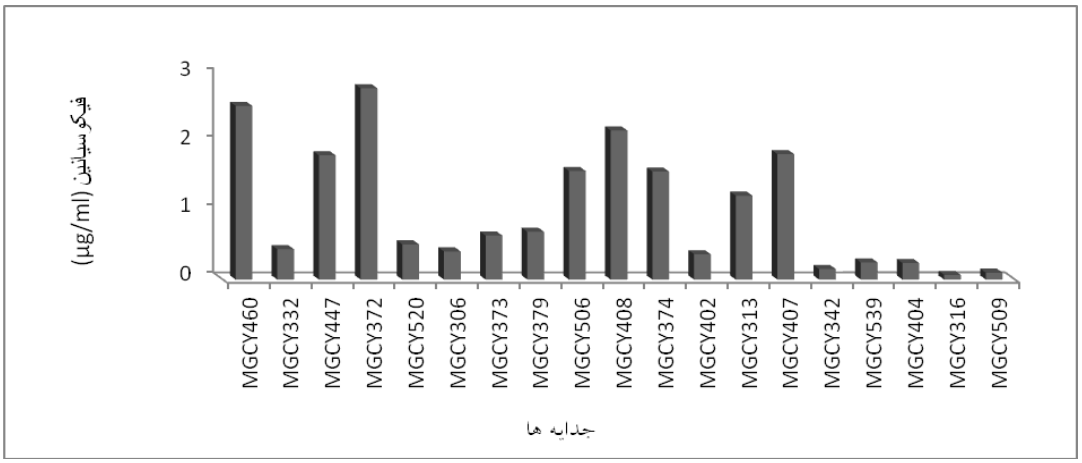
علاوه بر این نتایج این تحقیق در بررسی میزان فیکوبیلی پروتئین‌های کل نشان می‌دهد که ٤٧/٣٦ درصد از سویه‌ها دارای میزان فیکوبیلی پروتئین کل به میزان ٠ تا ٢ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ٢١/٠٥ درصد دارای فیکوبیلی پروتئین کل به میزان ٢ تا ٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ٢١/٠٥ درصد دارای میزان فیکوبیلی پروتئین کل در دامنه ٤ تا ٦ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ٥/٢٦ درصد دارای میزان فیکوبیلی پروتئین کل در دامنه ٦ تا ٨ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ٥/٢٦ از سویه‌ها نیز دارای میزان فیکوبیلی‌پروتئین کل در دامنه ٨ تا ١٠ میکروگرم قرار گرفته‌اند (شکل ٢).



شکل ٢: تنوع میزان فیکوبیلین کل در ١٩ سویه مورد بررسی از شالیزارهای غرب استان مازندران (بر حسب درصد)

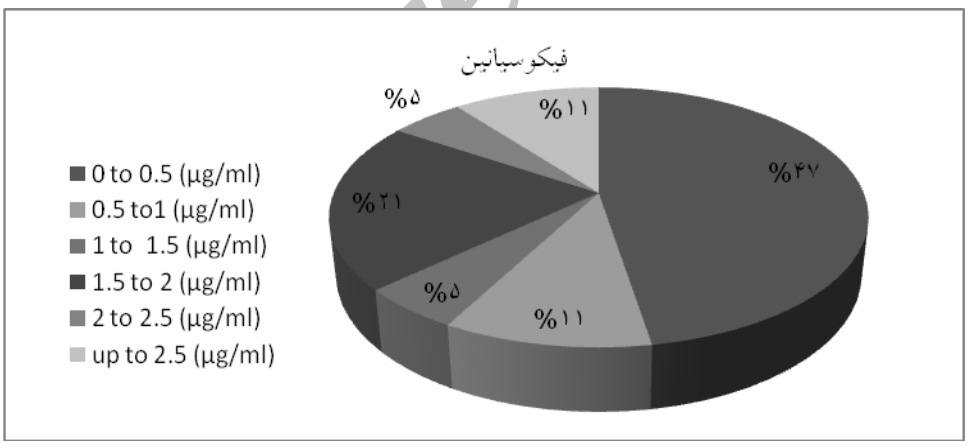
بررسی میزان فیکوسیانین در سویه‌های هتروسیست‌دار جدا شده از شالیزارهای غرب استان مازندران: نتایج آزمایش نشان می‌دهد که بالاترین میزان فیکوسیانین در سویه‌های MGCY372 (*Plectonema boryanum*) به مقدار ٢/٨١٢ میکروگرم در میلی‌لیتر از منطقه کله بست بوده و سویه‌های MGCY460، MGCY408 (*Aphenocapsa grevielli*) و MGCY407 به‌ترتیب از مناطق رامسر، کلارآباد و نشتارود با میزان ٢/٥٥٣، ٢/١٩١ و ١/٨٤٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر در بالاترین جایگاه نسبت به سایر سویه‌ها قرار داشت. کمترین میزان فیکوسیانین نیز مربوط به سویه MGCY316 (*Calothrix atricha*) با میزان ٠/٠٦٨ میکروگرم بر میلی‌لیتر از منطقه عباس آباد بوده است (شکل ٣). همچنین دوسویه MGCY509 (*Anabaena variabilis*) و MGCY342 (*Anabaena cylindrica*) از منطقه بابلسر و محمودآباد با میزان ٠/١٠١ و ٠/١٥٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر از میزان فیکو سیانین پایین تری نسبت به سایر سویه‌ها بر خوردار بوده است.

www.SID.ir



شکل ۳: میزان فیکوسیانین در ۱۹سویه مورد بررسی از شالیزارهای غرب استان مازندران (برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر)

بررسی‌های صورت گرفته بر روی میزان فیکوسیانین‌های موجود در ۱۹ سویه جدا شده نشان داد در ٤٧/٣٦ در صد از سویه‌ها میزان فیکوسیانین بین ۰ تا ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر، در ۱۰/۵۲ درصد از سویه‌ها میزان فیکوسیانین بین ۱ تا ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، در ۵/۲٦ درصد سویه‌ها میزان فیکوسیانین بین ۱ تا ۱/۵ میکروگرم، در ۲۱/۰۵ درصد سویه‌ها میزان فیکوسیانین بین ۱/۵ تا ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر، در ۵/۲٦ درصد سویه‌ها میزان فیکوسیانین بین ۲ تا ۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در ۱۰/۵۲ درصد سویه‌ها میزان فیکوسیانین بالاتر از ۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش گردید (شکل ٤).

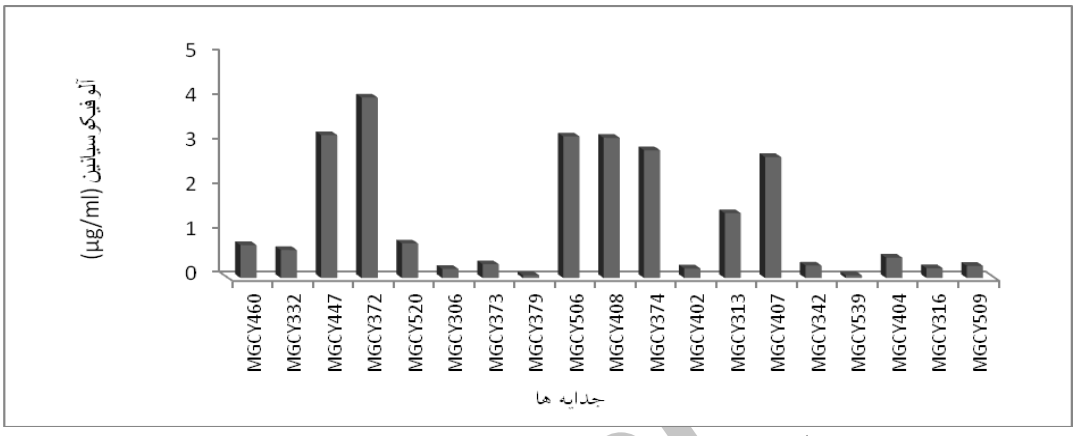


شکل ٤: تنوع میزان فیکوسیانین در ۱۹ سویه مورد بررسی از شالیزارهای غرب استان مازندران (برحسب درصد)

بررسی میزان آلوفیکوسیانین در سویه‌های هتروسیست دار جدا شده از شالیزارهای غرب استان مازندران: بررسی میزان آلوفیکوسیانین در ۱۹ سویه مورد نظر در شکل (۵) قابل مشاهده است. با توجه به نتایج بدست آمده ، بالاترین میزان آلوفیکوسیانین در سویه MGCY372 (*Plactonema boryanum*) به میزان ٤/۰٦۹ میکرو گرم در میلی‌لیتر از منطقه کله بست مشاهده شد. سه سویه MGCY447 (*Phormidium sp*)، MGCY506 و MGCY408 (*Aphanocapsa grevielli*) به‌ترتیب از

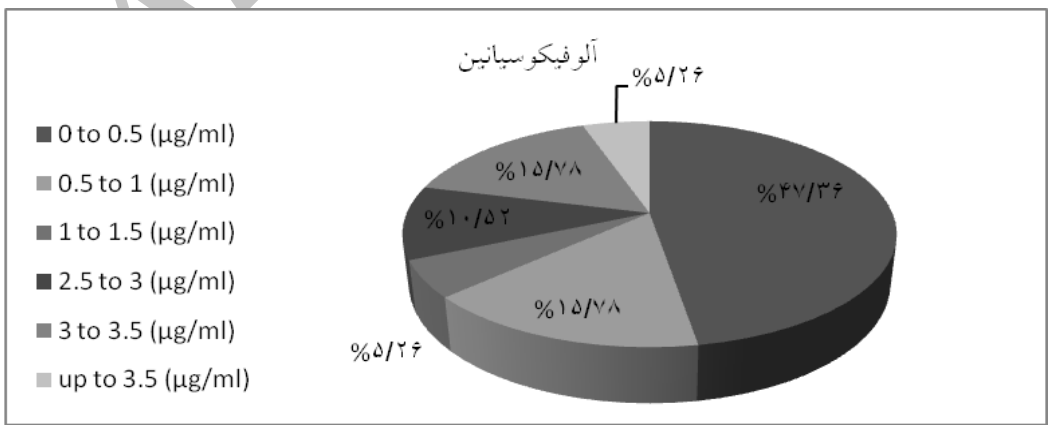
www.SID.ir

مناطق عباس آباد، کله بست و کلارآباد با میزان ۳/۲۲۲، ۳/۱۹۳ و ۳/۱۶۲ میکرو گرم بر میلی‌لیتر در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. کمترین میزان آلوفیکوسیانین نیز در دو سویه MGCY539 (*Phormidium angustissimum*) و MGCY379 (*Microchaete tenera*) به میزان ۰/۰۶۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر از مناطق نشتارود و فریدون کنار بوده و سویه‌های MGCY306 (*Anabaena cylindrica*)، MGCY402 (*Chrococcus pallidus*) به‌ترتیب از مناطق کلارآباد و نشتارود با میزان ۰/۲۰۴ و ۰/۲۱۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر از میزان آلوفیکوسیانین کمتری نسبت به سایر سویه‌ها برخوردار بودند.



شکل ۵: میزان آلوفیکوسیانین در ۱۹ سویه مورد بررسی از شالیزارهای غرب استان مازندران (بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر)

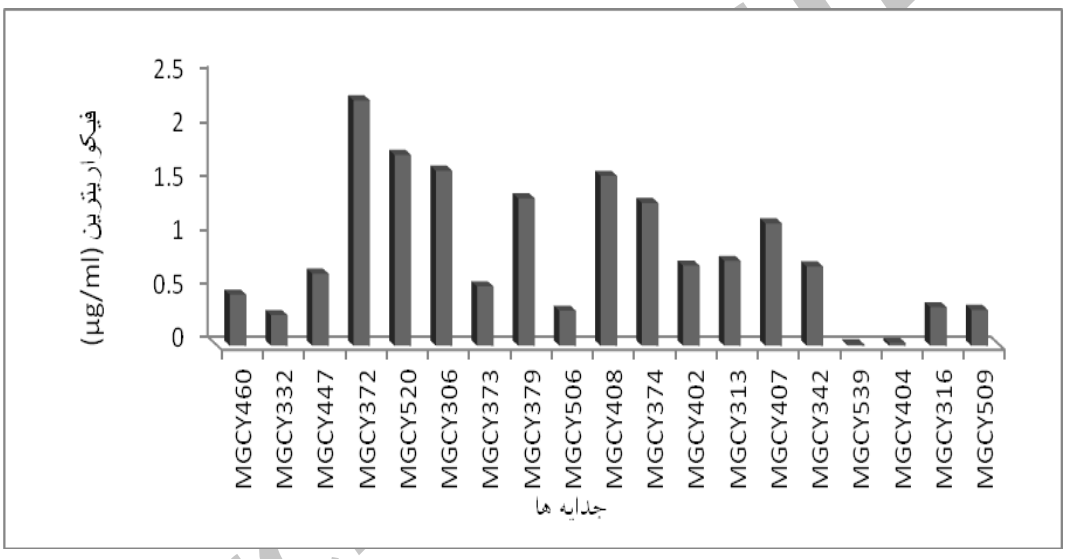
بررسی میزان آلوفیکوسیانین در ۱۹ سویه جدا شده نشان داد که با توجه به شکل (٦) در ٤٧/٣٦ درصد از سویه‌ها میزان آلوفیکوسیانین بین ۰ تا ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده گردید. در ۱۵/۷۸ درصد سویه‌ها میزان آلوفیکوسیانین در دامنه ۰/۵ تا ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، در ۵/۲٦ درصد از سویه‌ها میزان آلوفیکوسیانین در دامنه ۱ تا ۱/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد و تنها در ۱۰/۵۲ درصد از سویه‌ها میزان آلوفیکوسیانین در دامنه ۲/۵ تا ۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر قرار گرفت. ۱۵/۷۸ درصد از سویه‌ها دارای میزان آلوفیکوسیانین در دامنه ۳ تا ۳/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۵/۲٦ درصد از سویه‌ها میزان آلوفیکوسیانین در دامنه بالاتر از ۳/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر قرار گرفت.



شکل ٦: تنوع میزان آلوفیکوسیانین در ۱۹ سویه مورد بررسی از شالیزارهای غرب استان مازندران (بر حسب درصد)

Archive of SID
www.SID.ir

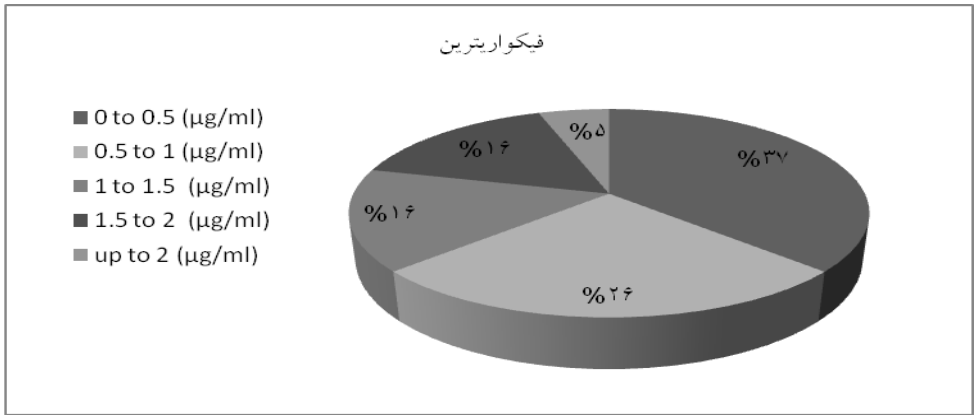
بررسی میزان فیکواریترین در سویه‌های هتروسیست دار جدا شده از شالیزارهای غرب استان مازندران: بررسی میزان فیکواریترین در ۱۹ سویه‌های جدا شده (شکل ۷) نشان داد که سویه MGCY372 *(Plectonema boryanum)* از کله بست به مقدار ۲/۲۷٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر بالاترین میزان فیکواریترین را نسبت به سایر سویه‌ها دارد و سه سویه MGCY520 *(Nostoc muscorum)*، MGCY306 *(Anabaena cylindrica)* و MGCY408 *(Aphanocapsa grevielli)* به‌ترتیب از مناطق آمل، کلارآباد با ۱/۷٦۹، ۱/٦۲۲ و ۱/۵۷٤ از فیکواریترین بالاتری نسبت به سایر سویه‌ها برخوردار هستند. کمترین میزان فیکواریترین نیز در سویه MGCY539 *(Phormidium angustissimum)* از منطقه نشتارود به میزان ۰/۰۱۱۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده و دو سویه MGCY404 (*Calothrix stellaris*) و MGCY332 (*Nostoc microscopicum*) از مناطق نشتارود و نور با ۰/۰۲۵ و ۰/۲۸۲ از فیکواریترین کمتری نسبت به سایر سویه‌ها برخوردار هستند.



شکل ۷: میزان فیکواریترین در ۱۹ سویه مورد بررسی از شالیزارهای غرب استان مازندران (بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر)

بررسی‌های انجام شده بر میزان فیکواریترین با توجه به شکل (۸) حاکی از آن است که ۳٦/۸٤ درصد سویه‌های جدا شده دارای میزان فیکواریترین در دامنه ۰ تا ۰/۵ میکرو گرم بر میلی‌لیتر و ۲٦/۳۱ درصد از آنها دارای میزان فیکواریترین در دامنه ۰/۵ تا ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۱۵/۷۸ درصد سویه‌ها میزان فیکواریترین در دامنه ۱ تا ۱/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۱۵/۷۸ درصد سویه‌ها میزان فیکواریترین در دامنه ۱/۵ تا ۲ و در ۵/۲٦ درصد سویه‌ها میزان فیکواریترین بالاتر از ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد.

www.SID.ir



شکل ۸: تنوع میزان فیکوواریترین در ۱۹ سویه مورد بررسی از شالیزارهای غرب استان مازندران (بر حسب درصد)

بحث

با توجه به بررسی میزان فیکوبیلی پروتئین‌های موجود در سویه‌های جدا شده استنباط می‌گردد که هر سویه به تنهایی پتانسیل قابل توجه‌ای نسبت به نوع رنگدانه‌های موجود خود را دارا می‌باشد که متناسب با اهداف تجاری در جهت مصارف دارویی، صنعتی و آرایشی می تواند مورد توجه قرار گیرد. چنین استنباط می‌شود که گونه‌های مختلف سیانو باکتری‌ها، ترکیبات متفاوتی از کرموفورها و فیکوبیلی پروتئین‌ها را در جهت بهینه‌سازی توانایی دریافت نور برای فتوسنتز بکار می گیرند و این بدلیل سازگاری سویه در شرایط نوری قابل دسترس می‌باشد (Babichenko et al., 2000; Seppala, 2009). همین امر زمینه تنوع گسترده‌ای را از حیث ظرفیت تولید رنگدانه ایجاد می نماید. به عنوان مثال در بررسی‌های انجام شده توسط Ojit و همکاران (۲۰۱۲) بالاترین میزان فیکوواریترین، فیکوسیانین و آلوفیکوسیانین در سویه *Anabaena fuelleborni*، *Phormidium bohneri* و *Nostoc spongiaeforme* مشاهده گردید. امروزه به‌دلیل پتانسیل بالای سیانوباکتری‌ها در تولید دامنه ای از فیکوبیلی پروتئین‌ها و سایر ترکیبات رنگدانه ای، این میکروارگانیسم‌ها به عنوان منبع تولید فراورده‌های تجاری مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته اند. به عنوان مثال گونه‌های متنوعی از جنس نوستوک قابلیت تولید مقادیر قابل توجهی فیکوواریترین را دارا می‌باشند (Babichenko et al., 2000; Seppala, 2009) و تحقیقات بنیادی در زمینه شناخت پتانسیل هر سویه می‌تواند زمینه را در جهت بهینه سازی روش‌های استخراج و دستیابی به این ترکیبات مفید فراهم آورد. امروزه از ترکیبات رنگدانه ای سیانوباکتری‌ها از جمله فیکوسیانین و فیکواریترین به‌عنوان ترکیبات با ارزش در صنایع مختلف استفاده می شود. جوهر بی بو و آبی رنگ تولید شده از فیکوسیانین در ژاپن با نام Lina blue به‌صورت پودر آبی رنگ در صنایع مختلف غذایی به‌عنوان رنگ خوراکی در بستنی آبنبات و فراورده‌های لبنی مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین فیکوسیانین‌های جدا شده از جنس‌های مختلف سیانوباکتری‌ها از جمله اسپیرولینا به دلیل دارا بودن خاصیت غیر محلول در آب در صنایع آرایشی و تولید سایه و خط چشم و رژلب به صورت تجاری مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Chen et al., 1996). 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 به‌عنوان یک محصول بررسی

Archive of SID
www.SID.ir

می‌کند. اما نگرش‌های فیزیولوژیک و اکوفیزیولوژیک عمده توجه خود را به سیستم فتوسنتزی و آنتن‌های گیرنده و کمپلکس‌های جمع آوری کننده نور معطوف می‌دارد. در دو دهه اخیر، انتقال انرژی میان فتوسیستم‌های یک و دو و نقش فیکوبیلی پروتیین‌ها در حوزه فیزیولوژی مدرن و فیزیولوژی مولکولی مورد توجه جدی قرار گرفته است. در اکوفیزیولوژی، چه به صورت در زیوه و چه به‌صورت در شیشه سیستم‌های فیکوبیلی زومی به‌طور کلی مد نظر هستند و ارتباط آن‌ها با کنترل انرژی از طریق انتقال میان سیستم‌های نوری و بخصوص فتوسیستم دو که حتی وارد حوزه‌های ریزتر مانند انتقال میان گیرنده‌های الکترون از فئوفیتین 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 پروتیین‌ها 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 می‌بایست به مراتب بیش از این توسعه یابد. در خصوص نمونه‌های بومی ایران بدلیل عدم اطلاعات پایه در استان مازندران، ورود به بحث‌های جزیی فعلا منطقی نیست کمااینکه در استان گلستان که از حوزه اطلاعات پایه غنی تری برخوردار است، تجاربی پراکنده در این زمینه وجود دارد.

وجود ساختارهای تشکیل دهنده فیکوبیلی زومی، بخصوص فیکوواریترین و آلوفیکوسیانین، در همه سویه‌ها قابل توجه است. در بررسی‌های Soltani و همکاران (۲۰۰۵) آلو فیکوسیانین در گونه فیشرلای مورد بررسی تحت تاثیر اسیدیته و قلیاییت به همراه شدت نور، بوجود نمی آمده اند. ساختمان پایه در فیکوبیلی زومی تحت شرایط آزمایشگاهی جدید، نشان از ثبات این بخش دارد. هرچند البته در حال حاضر به قطعیت نمی توان گفت که این ثبات تحت تاثیر تنش‌های محیطی همچنان حفظ می شود. اما در کنار آلوفیکوسیانین وجود فیکوواریترین با میزان به نسبت بالا در ۲۰ درصد از سیانوباکتری‌های جدا شده و تقریبا ۹۵ درصد از کل سیانوباکتری‌های جدا شده تایید دیگری بر ثبات سیستم فیکوبیلی زومی در نمونه‌های جمع آوری شده است.

در مورد فیکوسیانین، به قطعیت می توان گفت که مقادیر کلی فیکوسیانین در نمونه‌های جمع آوری شده به نسبت دیگر بررسی‌های انجام شده در گلستان توسط Shokravi و همکاران (۲۰۰۲) 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 به‌خصوص شوری مقاوم نشان می دهند، 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 مقایسه ای)، در حال حاضر قابل توجیه 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 دقیق تری بدهد.

نتیجه‌گیری نهایی

به‌طورکلی آنچه از بررسی‌های انجام شده می توان نتیجه گرفت آن است که ثبات سیستم فیکوبیلی زومی در نمونه‌های سیانوباکتری مناطق غرب استان مازنداران دیده می‌شود اما هم اندازه و هم ساختار این سیستم، تحت شرایط محیطی به مراتب از مناطق

Archive of SID

www.SID.ir

همجوار کمتر می‌باشد. نتیجه دقیق در خصوص تاثیر عوامل محیطی یا به عبارت بهتر شرایط آزمایشگاهی، می بایست بعد از بررسی‌های ابزاری دقیق تر و نیز بهینه سازی شرایط کشت اعلام گردد.

وجود ساختارهای تشکیل دهنده فیکوبیلی زومی، بخصوص فیکواریترین و آلوفیکوسیانین، 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 حال حاضر محکم ترین دلیلی است که عدم دشواری خوگیری نمونه با شرایط طبیعی را نشان می‌دهد. به نظر می رسد که سیستم فتوسنتزی در شرایط طبیعی با کارایی بالا کار می‌کند. شرایط آزمایشگاهی- شاید - عامل تغییر کمی و کیفی سیستم‌های فتوسنتزی باشد. بر طبق تحقیقات انجام شده، سویه‌های مختلف از خانواده سیانوباکتری‌های هتروسیست دار جمع‌آوری شده از شالیزارهای استان مازندران، دارای پتانسیل بالایی از ترکیبات ارزشمند ثانویه می‌باشند که می توان از این ترکیبات پپتیدی و رنگدانه‌های متنوع موجود در این گروه از ریز جلبک‌ها، در صنایع غذایی و دارویی بهره برد و حتی به عنوان مکمل‌های غذایی در صنایع دامپروری و طیور نیز می‌توانند حائز اهمیت باشند که جای دارد در این راستا تحقیقات گسترده تری صورت گیرد.

References

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 photohetrotrophic culture. Biotechnology Letters. 18: 603-608.

Grossman, A.R., Schaefer, M.R., Chiang, G.G. and Collier, J.L. (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, A.W., 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, M.N. (1986). The use of phycobiliproteins as fluorescent labels in immunoassay. Journal of Immunological Methods. 92: 1-13.

Lawrenz, E., Fedewa, E.J. and Richardson, T.L. (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). Inhibitery 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

Archive of SID

www.SID.ir

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.

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.

Stanier, R.Y. and Cohen-Bazire, G. (1977). Phototrophic prokaryotes: the cyanobacteria. Annual Review of Microbiology. 31: 225-274.

Steward, D.E. and Farmer, F.H. (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, C.S. and Yentsch, C.M. (1979). Fluorescence spectral signatures: the characterization of phytoplankton populations by the use of excitation and emission spectra. Journal of Marine Research. 37: 471–483.

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, K.D., Kashyap, A.K. and Gupta, R.K. (1995). Nutrient Status, algal and cyanobacterial flora of six streams of Schumacher Oasis, Antarctica. Hydrobiologia. 299 83-91.

Piero Estrada, J.E., Bermejo Besc, P. and Villar del Fresno, A.M. (2001). Antioxidant activity of different fractions of Spirulina platensis protean extract. Il Farmaco. 56: 497–500.

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., Remirez, 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, C.A., Egeland , E.S. and Johnsen, G. (2011). Phytoplankton pigments: characterization, chemotaxonomy and applications in oceanography. Cambridge University Press, Cambridge. 165-194.

Seppälä, J. (2009). Fluorescence properties of Baltic sea phytoplankton. Monographs of the Boreal environment research (34). Edita Prima Ltd, Helsinki, p 83

Shokravi, S., Soltani, N. and Baftechi, L. (2002). Cyanobacteria as biofertilizer in paddy fields.- National Research Council of Islamic Republic of Iran, Grant no. NRCI 489-66.

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, A.H., Perez- Fuentetaja, A. and Alben, K. (2010). Biomarkers of

Archive of SID

www.SID.ir

Zhao, K.H., Porra, R.J. 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.

Archive of SID

www.SID.ir