Archive of SID

نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال چهاردهم، شماره ۵۵، پاییز ۱۳۹۸ / صفحات: ۶۵-۵۲

بررسی تاثیر پیش تیماری pH بر رشد و ویژگی‌های فتوسنتزی سیانوباکتریوم *Fischerella* sp. FS 18

بهاره عباسی[۱]، شادمان شکروی[۱*]، مازیار احمدی گلسفیدی[۲]، آرین ساطعی[۱]، الهه کیایی[۱]

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

[۲]گروه شیمی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۸/۲٤ تاریخ پذیرش:۹۸/۰۱/۲٦

چکیده

در این تحقیق تاثیر پیش تیمار ترکیبی زمان (۲٤ و ۹٦ ساعت) و pH (۷ و ۹) در شرایط محدودیت افراطی دی اکسید کربن (عدم هوادهی، عدم تلقیح دی اکسید کربن)، بر فاز تصاعدی رشد، محتوای رنگیزه ای به ازای سلول، جابجایی جذب کلروفیل، ساختار و عملکرد فیکوبیلی زوم، نسبت رنگیزه‌های مرکز واکنش و کمپلکس‌های جمع آوری کننده نور و نسبت فتوسیستم یک به دو در سیانوباکتری استیگونماتال *Fischerella* sp.FS 18 بررسی گردید. نتایج نشان داد اعمال پیش تیمارها در هردو زمان ۲٤ و ۹٦ ساعت و هر دو شرایط خنثی و قلیایی، سبب حفظ فاز تصاعدی رشد شد. بر خلاف قله جذبی کلروفیل، رنگیزه‌های سلولی از الگوی ثابتی در رابطه با پیش تیمارها تبعیت نمی‌کردند. نقطه اصلی تاثیر پیش تیمارها، فیکوبیلی‌زوم بود. سیانوباکتری در بخش میله‌ای خود الگوی یکسانی را از نظر واکنش به پیش تیمارها نشان داد. فیکوسیانین به اندازه یک واحد و فیکواریترین تا سه واحد تحت تاثیر پیش تیمارها تغییر جذب نشان داد. بالاترین نسبت فتوسیستم یک به دو در شرایط بیست و چهار ساعت و محیط خنثی مشاهده شد. گذشت زمان این نسبت را کاهش داد و سبب ضعف در بهره‌وری انتقال انرژی در سیستم‌های فتوسنتزی گردید. تغییر در عملکرد فیکوبیلی زوم می‌تواند نوعی مکانیسم ترمیمی برای جبران این کاهش باشد.

واژه‌های کلیدی: پیش تیمار، زمان، سیانوباکتری، فیکوبیلی زوم، فیشرلا، قلیایی.

مقدمه

پس از مقاله Tang و Wincent (۱۹۹۹)، تفکر امکان بکارگیری پیش تیمارها جهت افزایش کارایی بیوتکنولوژیک سیانوباکتری‌ها به صورت یک مکتب مستقل ایجاد شد. افزایش رشد گونه‌هایی از اسیلاتوریال‌های مناطق قطبی تا بالاتر از صد برابر و افزایش توانمندی فتوسنتزی آن‌ها تحت تاثیر پیش تیمارهای دمایی، بخصوص در مورد گونه‌های *Oscillatoria foverollatum* و *Lyngbya diguetti*، امکان بکارگیری این شیوه را با استفاده از پیش تیمار دیگر عوامل محیطی، منطقی نشان داد (Tang and Wincent.,1999). بکارگیری پیش تیمارهایی که در محدوده عوامل اساسی محیطی قرار دارند (بسته به شرایط و زیستگاه خاص نمونه بخصوص در مورد زیستگاه‌های خشکی، Amirlatifi و همکاران (۲۰۱۸) به‌طور منطقی از اولویت برخوردار است.

سیانوباکتریای شالیزار در محدوده‌ای از تغییرات اسیدیته وقلیاییت قرار دارند که حتی می‌توانند به‌صورت روزانه در محیط شالیزار ظاهر گردد (Gan et al., 2014; Shokravi et al., 2006). غرقابی شدن شالیزارها سبب میشود که میان دی اکسید کربن

*نویسنده مسئول: shadmanshokravi @yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

و بیکربنات نوعی تعادل ایجاد گردد. عامل تعیین کننده این تعادل اسیدیته محیط است (Stal, 1995). وجود مکانیسم تراکمی فعال در بررسی‌های انجام شده بر روی گونه‌هایی از *Nostoc* توسط Amirlatifi و همکاران (۲۰۰۵) و *Fischerella* sp. Shokravi و همکاران (۲۰۰۶) نشان داده شده است.

در شرایطی که محدودیت دی اکسید کربن آزاد در شرایط غرقابی وجود داشته باشد، القا شدن این مکانیسم برای حفظ حیات موجود ضروری است و به این لحاظ نمونه‌هایی که از نظر کاربردی توانمند محسوب می‌شوند می‌بایست قابلیت انعطاف در القای این مکانیسم و منابع لازم برای تامین انرژی آن را داشته باشند (Shokravi et al., 2006). سیانوباکتری‌های جمع‌آوری شده از استان گلستان تقریبا به‌طور کامل به محیط‌های قلیایی گرایش داشته‌اند (Shokravi et al., 2012).

تاکنون سیانوباکتری ای که بتواند در شرایط اسیدی بقای خود را حفظ کند از استان گلستان گزارش نگردیده است (Rajabnasab et al., 2012). با توجه به این، بکارگیری پیش تیمارهای قلیایی می‌تواند منطقی باشد. امکان آن وجود دارد که با استفاده از انتقال‌های متوالی و تغییر محیط و استفاده از توانمندی‌های ناشی از تغییرات تغذیه ای از جمله کلسیم Baftehchi و همکاران (۲۰۰۱)، بتوان توان مقابله با شرایط اسیدی را در سیانوباکتری‌های استان گلستان پدید آورد. این مسئله در خصوص برخی سویه‌های سیانوباکتری اسیلاتوریال و نوستوکال در حد گام‌های اولیه بررسی گردیده است (Shokravi et al., 2006). با این حال چون تا زمان حاضر چنین پژوهشی، حتی در شرایط آزمایشگاهی در استان گلستان انجام نگرفته، استفاده از پیش تیمارهای قلیایی منطقی به نظر می‌رسد.

Fischerella sp. FS 18 از زمره نمونه‌هایی است که از شالیزارهای استان‌های شمالی کشور گزارش شده است (Shokravi et al., 2006; Soltani et al., 2009). سیانوباکتری‌های استیگونماتال، به‌دلیل توانمندی در ابعاد متفاوت، می‌تواند در بیوتکنولوژی کاربردی ریزجلبک‌ها مورد توجه جدی قرار گیرد (Shokravi et al., 2012; Deblois et al., 2013). توانمندی این گروه از سیانوباکتری‌ها از نظر برون ریزش ترکیبات نیتروژنه، از جمله آمونیوم، سبب کارایی ذاتی آن‌ها به عنوان کود زیستی بویژه در استان گلستان که قطب کشاورزی است، می‌باشد (Shokravi et al., 2012; Shokravi et al., 2006).

علاوه بر این، مورفولوژی خاص این نوع سیانوباکتری‌ها و شکل ریسه‌های آن‌ها، سبب گسترش آن‌ها در خاک زمین‌های کشاورزی و شالیزارها می‌گردد که به همراه برون ریزش طیف وسیعی از ترکیبات آنتی‌میکروبی، سبب حفظ و نگهدای خاک و نیز ضد عفونی کردن آن می‌شود (Soltani et al., 2009). مجموع این ویژگی‌ها سبب شده است تا بررسی سیانوباکتری‌های استیگونماتال در استان گلستان، از نظر بیوتکنولوژی کشاورزی ارزشمند نشان دهند (Anand et al., 1990). بدین‌ترتیب نشان ویژه سازی این موجود از جنبه‌های مختلف و از جمله فیزیولوژی و اکوفیزیولوژی می‌تواند راهگشای استفاده‌های کاربردی آتی باشد. با توجه به اینکه برنج در غذای روزانه مردم ایران، حائز جایگاهی خاص است و از این نظر این گیاه در کشاورزی ایران به نوعی گیاه زراعی استراتژیک محسوب می‌شود و نیز با عنایت به مسأله ضرورت استفاده از کودهای بیولوژیک در آینده، مسأله بقاء و رشد موجود در شرایط نسبتاً مشابه شالیزار می‌تواند برای ابعاد کاربردی مفید باشد (Shokravi et al., 2006).

www.SID.ir

Archive of SID

در ایران تاکنون در رابطه با نشان ویژه سازی سیانوباکتری‌های استیگونماتال پژوهش‌های پراکنده ای انجام شده است ولی هیچ کدام از این پژوهش‌ها به مسئله پیش تیمارها اختصاص نداشته است. (www.Irandoc.ac.ir). بررسی‌هایی بر روی خواص آنتی باکتریال بر روی برخی گونه‌های سیانوباکتری استیگونماتال انجام گرفته که گونه‌هایی شناسایی نشده از *Calothrix* sp. را شامل می‌شود (Soltani et al., 2012; Amirlatifi et al., 2018). در Shokravi و همکاران (۲۰۰۶) نمونه‌ای از Stigonematal از نظر مورفولوژی و در Shokravi و همکاران (۲۰۱۲) از نظر تاکسونومی Baftehchi و همکاران (۲۰۰۱) رشد و وضعیت رنگیزه‌ای *Fischerella* sp. را در تناوب نوری ۱۲ ساعت، Shokravi و همکاران (۲۰۰۶) قابلیت رشد نمونه در شرایط نوری مداوم، فعالیت نیتروژنازی یک سویه شناسایی نشده (در حد گونه) از سیانوباکتری *Fischerella* sp. در شرایط توأم اسیدیته و شدت‌های نوری، (Soltani et al., 2006). تاثیر شوری و اسیدیته بر بقا و رشد گونه‌هایی از *Fischerella* sp. توسط Rajabnasab و همکاران (۲۰۱۸) به عنوان کاندیدای مناسب کود زیستی معرفی شده است و Amirlatifi و همکاران (۲۰۱۸) ، تاثیر تناوب‌های نوری بر رشد و فرکانس هتروسیست سیانوباکتریوم *Fischerella* sp. توسط Rajabnasab و همکاران (۲۰۱۸) بررسی شده است. بررسی منابع نیتروژن و شوری بر روی سیانوباکتریوم متعلق به راسته استیگونماتالز *Fischerella* sp. (Soltani et al., 2007, 2008) در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفته است که در شوری بین ۰ تا ۱ درصد نرخ رشد کاهش یافته است با افزایش شوری هر چند که در سدیم کلسیم ۱ درصد، یک شوری مشخص و باریک ادامه داشت. در Soltani و همکاران (۲۰۰۹)، گونه‌ای از این سیانوباکتری تحت کد موزه‌ای *Fischerella* sp. FS 18 به‌صورت چند وجهی نشان ویژه سازی شده است. Shokravi و همکاران (۲۰۱۲) گونه‌هایی از استیگونماتال‌های دیگر از جمله *Hapalosiphon* sp. FS 44 و *Hapalosiphon* sp. FS 76 را از نظر خوگیری به شرایط ترکیبی دی اکسید کربن، pH و نور محدود افراطی (دو میکرومول کوانتا بر متر مربع در ثانیه)، مورد بررسی قرار داده‌اند. در Iranshahi و همکاران (۲۰۱٤) و Amirlatifi و همکاران (۲۰۱۸)، سویه‌ای از *Fischerella* sp. از نظر مورفولوژیک و خوگیری به شوری و غلظت‌های متفاوت نفت خام مورد توجه قرار گرفته است که نوع و فراوانی گونه‌ها منجر شد که بتوان به برآورد میزان آلودگی در مناطق نمونه برداری سوق داد. Safaie و همکاران (۲۰۱٤) به بررسی تاثیر ترکیبی pH، نور محدود افراطی (دو و سه میکرومول کوانتا بر متر مربع در ثانیه) و محدودیت دی اکسید کربن بر ویژگی‌های فیزیولوژی و مورفولوژی (و فراساختاری) گونه ای از *Fischerella* sp. پرداخته است. در Kiyaei و همکاران (۲۰۱۳) و Rajabnasab و همکاران (۲۰۱۷)، چند سیانوباکتری و از جمله *Fischerella* sp. به‌عنوان کاندیدای احتمالی سوخت‌های زیستی و نیز تعدیل کننده آلودگی‌های نفتی مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند.

هدف از این آزمایش، بررسی اثر پیش تیماری قلیاییت بر رشد و وضعیت رنگیزه‌های فتوسنتزی سیانوباکتریوم *Fischerella* sp. FS 18 می‌باشد. تراکم بالای این نمونه در زمین‌های کشاورزی و شالیزارهای استان‌های شمالی Shokravi و همکاران (۲۰۰٦) ایجاب می‌کند که این نمونه مورد ارزیابی دقیق اکوفیزیولوژیک کاربردی قرار گیرد. تصور می‌شود که هرگونه تغییر ناشی از پیش تیمارهای قلیاییت روی رشد و تولید زی توده و بهره وری فتوسنتزی این سویه می تواند سبب افزایش احتمالی توانمندی کشت

www.SID.ir

Archive of SID

انبوه و صرفه جویی اقتصادی کلان در آینده خواهد بود (Fraser et al., 2013) تغییر احتمالی رشد و توده زنده می‌تواند با حجم و اندازه و تجهیزات حوضچه‌های آینده در ارتباط مستقیم باشد و بدیهی است حفظ و افزایش تولید همراه با کاهش حجم حوضچه‌ها و صرفه جویی در تجهیزات، بازخوردهای قابل توجه اقتصادی به همراه خواهد داشت (Wang et al., 2011). ضمن اینکه مطالعه چنین تاثیراتی از نظر جلبک شناسی و سیانوباکتریولوژی محض جهت مقایسه میان استفاده از تکنیک‌های زیست شناسی مولکولی و انتقال ژن و فرایندهای به ظاهر ساده اصلاحی می تواند حایز اهمیت جدی باشد (Ban et al., 2013).

مواد و روش‌ها

نمونه به صورت خالص از بانک جلبکی دانشگاه شهید بهتشی دریافت گردید.. اطلاعات مربوط به محل جمع آوری و تکنیک‌های جمع آوری و کشت، به طور کامل در Soltani و همکاران (۲۰۰۹) آمده است. واکشت و بررسی‌های ابتدایی به روش متداول سیانوباکتری‌ها انجام گرفت (Kaushik, 1987). پس از اطمینان از تخلیص، شناسایی مجدد مورفولوژیک جهت افزایش اطمینان، با استفاده از Anagnostidis و Komarek (۱۹۹۰)، Prescott (۱۹۶۲)، Desikachary (۱۹۵۹) و John و همکاران (۲۰۰۳) انجام گرفت. کشت ابتدایی در محیط‌های جامد و مایع BG0-11 در شرایط نوری ۶۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع بر ثانیه، دمای ۲۸ درجه سانتیگراد و pH ۷,۸ انجام شد (Soltani et al., 2009). پس از رشد اولیه نمونه‌های جداسازی شده. در شرایط پیش تیماری شامل pH 7,9. به‌مدت ۲۴ و ۹۶ ساعت قرار گرفتند و سپس به محیط کشت عادی در pH 9 انتقال یافتند. منحنی رشد بر اساس کدورت سنجی و وزن خشک ترسیم گردید (Leganes et al., 1987). نرخ رشد بر اساس Shokravi و همکاران (۲۰۱۲) در فاز تصاعدی رشد محاسبه گردید. آنالیزهای بیوشیمیایی شامل سنجش کلروفیل، فیکوسیانین، فیکواریترین و آلو فیکوسیانین بوده است (Ernest et al., 1984)، نسبت‌های فتوسیستمی و پارامترهای فتوسنتز-نور، با استفاده از اکسی گراف مدل کلارک مطابق Soltani و همکاران (۲۰۰۷) ارزیابی گردید. تعداد و نسبت بخش میله‌ای به پایه فیکوبیلی زوم‌ها مطابق Amirlatifi و همکاران (۲۰۱۸) و Shokravi و همکاران (۲۰۱۲) محاسبه گردید. ارزیابی اولیه تاثیر پیش تیماری با مقایسه طیف‌های جذبی و فیزیولوژی نوری انجام شد (Amirlatifi et al., 2018). نسبت‌های فتوسیستمی با استفاده از آنالیزهای اسپکتروفلوریمتری بعد از تعیین طیف‌های اسپکتروفلوریمتر در محدوده ۶۸۰ و ۵۶۰ بر اساس Amirlatifi و همکاران (۲۰۱۸) انجام شد. قله‌های جذبی و تغییرات آن با استفاده از طیف‌های جذبی و بر اساس Taheri و همکاران (۲۰۱۷) ترسیم و محاسبه گردید. استاندارد سازی نتایج بر اساس Poza-Carion و همکاران (۲۰۰۱) انجام گرفت. اندازه‌گیری قند و پروتیین و کاروتنویید کل با اسپکتروفلوریمتری و بر اساس روش مندرج در Tamkini و همکاران (۲۰۱۵) انجام شد. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS (ver11)، انجام گرفت.

نتایج

پیش تیمار سیانوباکتری در زمان‌های ۲۴ و ۹۶ ساعت، سبب حفظ رشد تصاعدی در هردو شرایط خنثی و قلیایی می‌شود. شرایط قلیایی، در هر دو زمان ۲۴ و ۹۶ ساعت، شیب رشد تصاعدی بالاتری را سبب می‌شود (جدول ۱). رشد نمونه در شرایط خنثی نسبت به شرایط قلیایی به طرز معنی‌دار کاهش می‌یابد

www.SID.ir

Archive of SID

(ANOVA $p<0.05$) دقت در جدول۱ نشان می‌دهد که در هردو حالت خنثی و قلیایی، پیش تیمار ۲٤ و ۹٦ ساعت، سبب قطع رشد منفی می‌شود. افزایش غلظت دی اکسید کربن تاثیری بر عدم تمایل سویه به شرایط خنثی ندارد (نتایج نشان داده نشده). در شرایط قلیایی در صورتی که غلظت دی اکسید کربن با محدودیت مواجه باشد، پیش تیمار در زمان‌های ۲٤ و ۹٦ ساعت سبب می‌شود که رشد به طرز معنی دار نسبت به شرایط خنثی افزایش یابد. همین امر در مورد شرایط قلیایی که محدودیت دی اکسید کربن وجود داشته باشد، صادق است (ANOVA $p<0.05$) به نظر می‌رسد که سیانوباکتری در شرایطی که عدم محدودیت دی اکسید کربن وجود داشته باشد، در شرایط قلیایی بالاترین میزان رشد را نشان می‌دهد (جدول ۱).

جدول ۱: بررسی مقایسه‌ای فاز تصاعدی رشد در سیانوباکتریوم *Fischerella* sp. FS18 تحت تاثیر پیش تیمار ترکیبی زمان و pH

Fischerella FS 18	زمان (ساعت)	pH۷	pH۹
Ln (A 750)	۲٤	-٥,٤١	-۳,۷۲
	۹٦	-۱,۸٤	-۲,۲٥

افزایش توده زنده و کاهش زمان فاز تصاعدی تحت تاثیر پیش تیمارهای زمانی، با آهنگ تولید رنگیزه به ازای هر سلول هماهنگ نیست (جدول ۲) به نظر می رسد که پیش تیمار ۲٤ ساعت در شرایط خنثی، سبب افزایش میزان تولید رنگیزه در هر سلول می‌شود. در شرایط محدودیت دی‌اکسید کربن، کاهش زمان پیش تیمار از ۹٦ ساعت به ۲٤ ساعت سبب افزایش تولید رنگیزه در سلول می‌شود. افزایش محتوای کلروفیل در واحد سلولی به‌طور معنی‌دار در زمان ۲٤ ساعت قابل توجه است. هنگامی که زمان پیش تیمار افزایش می‌یابد (سه برابر می‌شود)، در شرایط خنثی، این میزان تا حد یک دهم کاهش می یابد. به عبارت دیگر کاهش زمان در شرایط خنثی، سبب افزایش ده برابری محتوای رنگیزه ای در سلول می گردد. دستاورد بیوتکنولوژیک این اثر پیش تیماری بویژه در شرایطی که سیانوباکتری *Fischerella* sp. FS18 به عنوان یک سیانوباکتری استراتژیک، در کشت انبوه قرار گیرد قابل توجه است.

جدول ۲: مقایسه میزان تولید کلروفیل کل و کلروفیل به ازای سلول در سیانوباکتریوم *Fischerella* sp. FS18 تحت تاثیر پیش تیمار ترکیبی زمان و pH

Fischerella FS 18	زمان(ساعت)	pH۷	pH۹
Ln (A٦۸۰-A۷٥۰)	۲٤	-٦,۳۰	-٦,۸٤
	۹٦	-۳,۰۸	۰,۰۳
(A٦۸۰-A۷٥۰)/A۷٥۰	۲٤	۰,٤۰	۰,۰٤
	۹٦	۰,۲۸	۰,۲۹

مقایسه بیشینه فعالیت فیکوبیلی زومی، ضمن تایید مطلب فوق (جداول ۱ و ۲)، نشان می‌دهد که عدم فعالیت و یا فعالیت نسبی مکانیسم تراکمی دی اکسید کربن در این سویه، در شرایط خنثی، رشد را تحریک نمی کند ضمن اینکه میزان فعالیت فیکوبیلی زومی در شرایط محدودیت دی اکسید کربن، تحت تاثیر ۹٦ ساعت پیش تیمار در شرایط خنثی به‌طور معنی‌دار افزایش می‌یابد (جدول ۳). افزایش فعالیت فیکوبیلی

www.SID.ir

Archive of SID

زومی باتغییر در وضعیت انتقال انرژی در سیستم فتوسنتزی همراه نیست. در جدول ۳، مشاهده می‌شود که بیشینه جذب کلروفیل در شرایط متفاوت قلیاییت و زمان پیش تیمار تغییر نمی‌کند (جدول ۳). با توجه به این، تغییر پیش تیمار به صورت مجموعه‌ای از زمان (۲٤ و ۹٦ ساعت) و قلیاییت (خنثی و قلیایی)، به‌طور عمده در ساختار درون سلولی بر بخش فیکوبیلی زومی موثر است. یافتن فیکوبیلی زوم به‌عنوان بخش هدف، می‌تواند سرآغاز سلسله پژوهش‌هایی باشد که مسئله تاثیر پیش تیمار در این سیانوباکتری بر روی فیکوبیلی زوم را تعقیب نماید. متاسفانه چنین پژوهش‌هایی از قبل وجود ندارد و در ضمن امکانات اسپکتروسکوپی در آزمایشگاه‌های ایران و البته استان گلستان بسیار محدود است. در حال حاضر تنها می توان به فعالیت‌های آینده با استفاده از طیف‌های فلوریمتری و بخصوص اسپکتروفلوریمتری امیدوار بود. ضمن اینکه ارزش ترکیبات فیکوبیلی زومی به‌صورت انتزاعی (از جمله فیکوسیانین)، سوای نقش عملکردی، چنین بررسی‌هایی را از جنبه کاربردی موجه نشان می‌دهد.

جدول ۳: مقایسه جابجایی قله جذبی کلروفیل و فعالیت فیکوبیلی زومی در سیانوباکتریوم *Fischerella* sp. FS18 تحت تاثیر پیش تیمار ترکیبی زمان و pH

Fischerella sp. FS18	زمان(ساعت)	pH۷	pH۹
Chl (λmax)	۲٤	٦٨٤	٦٨٤
	۹٦	٦٨٤	٦٨٤
(A٦٣٠-A٧٥٠)/(A٦٨٠-A٧٥٠)	۲٤	۰,۰۹	۲,۹٥
	۹٦	۱,۱۰	۱,۰٦

نتایج ارزیابی در زیوه (اسپکتروسکوپی) وضعیت رنگیزه‌های کلروفیلی (در محدوده آبی)، کاروتنوییدها و فیکوسیانین و فیکواریترین در جدول ٤ نمایش داده شده است. نتایج بر حسب ارزیابی طیف‌های درزیوه جمع‌بندی شده است (رجوع شود به مواد و روش‌ها). تغییر در وضعیت بخش فیکوسیانینی (بخش میانی میله ای فیکوبیلی زوم) و بخش فیکواریترینی (لایه خارجی فیکوبیلی زوم) تحت تاثیر پیش تیمارهای توام زمان و قلیاییت قابل توجه است. افزایش معنی‌دار محتوای فیکوسیانین به کلروفیل و فیکواریترین به کلروفیل، به همراه جابجایی قله جذبی فیکوسیانین (به اندازه یک واحد) و به‌خصوص فیکواریترین (به اندازه سه واحد) نشان از تاثیر پیش تیمار دارد. در صورتی که سیانوباکتری را قبل از ورود به کشت عادی در شرایط قلیایی، به‌مدت ۹٦ ساعت در شرایط قلیایی قرار دهیم، محتوای فیکوسیانین به میزان-تقریبی- بالاتر از چهل درصد افزایش می‌یابد. به‌طور طبیعی تغییر شرایط به خنثی، بخصوص در زمان کوتاه (۲٤ ساعت)، سبب کاهش چهل درصدی محتوای فیکوسیانین خواهد شد (جدول ٤). حساسیت بخش میله ای فیکوبیلی زوم به pH، بخصوص در شرایط خنثی و زمان کوتاه قابل مشاهده است. شرایط قلیایی حساسیت به زمان را کاهش می دهد. به همان شکل که زمان بلند (۹٦ ساعت) حساسیت به pH را کم می‌کند (جدول ٤). چنین الگویی در خصوص فیکواریترین‌ها نیز وجود دارد اما در مورد کاروتنوییدها و کلروفیل‌ها (در محدوده آبی) صدق نمی‌کند. بخش‌های مربوط به کمپلکس‌های جمع آوری کننده نور و نیز مراکز واکنش از الگوی فیکوبیلی زومی تبعیت نمی‌کنند. هرچند تغییر در این بخش‌ها نیز قابل مشاهده است (جدول ٤).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ٤: مقایسه میزان کلروفیل (بخش آبی)، کاروتنویید، فیکوسیانین و فیکواریترین در واحد کلروفیل در سیانوباکتریوم *Fischerella* sp. FS18 تحت تاثیر پیش تیمار ترکیبی زمان و pH.

		محدوده جذب *Fischerella* sp. FS18			
		٤٤٠/٦٨٠	٤٧٠/٦٨٠	٥٨٣/٦٨٠	٦٢١/٦٨٠
pH ٧	٢٤	٠,٩٩	٠,٧٣	٠,٤٧	٠,٦٧
	٩٦	١,٣٢	١,٢٢	٠,٩١	١,٠١
pH ٩	٢٤	١,٧٩	١,٦٩	٠,٩٩	١,١١
	٩٦	١,٣٩	١,٢٦	١,٢١	١,٠٢

مقایسه نسبت فتوسیستم‌ها در این سیانوباکتری، در شرایط پیش تیماری نتایج قابل توجهی را نشان می‌دهد (جدول ٥). شرایط قلیایی در مدت کوتاه (٢٤ ساعت) بالاترین نسبت فتوسیستم دو به یک (پایین ترین نسبت فتوسیستم یک به دو) را نشان می دهد. اختلاف میان این نسبت در شرایط قلیایی با زمان طولانی‌تر معنی‌دار نیست ولی نسبت به زمان کوتاه تر در هردو حالت خنثی و قلیایی معنی‌دار می‌باشد (ANOVA, $p<0.05$). میزان عملکرد بهره‌وری در انتقال انرژی از فتوسیستم دو به یک، تحت شرایط قلیایی افزایش می یابد. افزایش زمان در شرایط خنثی، سبب افزایش حدود ده درصد فتوسیستم یک می‌گردد. در شرایط قلیایی، نه تنها میزان تولید سیستم نوری، بلکه نرخ افزایش رشد آن تحت تاثیر زمان کاهش می‌یابد (جدول ٥). شرایط قلیایی (بدون توجه به زمان) سبب کاهش در عملکرد انتقال انرژی خواهد شد و این عملکرد می‌تواند از نظر کاربردی تاثیر قابل توجه بر فرایند کشت و تولید انبوه داشته باشد (رجوع شود به بحث).

جدول ٥: مقایسه نسبت فتوسیستم‌ها در سیانوباکتریوم *Fischerella* sp. FS18 تحت تاثیر پیش تیمار ترکیبی زمان و pH

زمان (ساعت)	pH	PSI/PSII	PSII/PSI
٢٤	٧	٠,٥٣١	١,٤٨٨
٩٦	٧	٠,٦١٥	١,٦٢٥
٢٤	٩	٠,٤١	٢,١٥
٩٦	٩	٠,٤٨١	١,٨٧٥

بحث

در این بررسی مدت زمان پیش تیمارها بیست و چهار و نود و شش ساعت انتخاب شده است. برای انتخاب دو مقطع زمانی، دلایل کافی و بیشینه اطلاعاتی وجود ندارد. سیانوباکتریوم *Fischerella* sp. FS 18 برای نخستین بار توسط Soltani و همکاران (٢٠٠٩) از نظر مورفولوژیک، فیزیولوژیک و تاکسونومیک نشان ویژه سازی گردید. این سیانوباکتری از ایران جمع‌آوری شد و نخستین بررسی‌های مربوط به فعالیت نیتروژنازی و تاثیر توام نور و pH بر روی آن در دانشگاه اتونوموس مادرید انجام گرفت (Soltani et al., 2007). مطابق الگوهای متداول، تا زمان حاضر کلیه بررسی‌های انجام شده بر روی این سیانوباکتری و دیگر سیانوباکتری‌های استیگونماتال، در زمان‌های سه روز به بالا و بدون پیش تیمار انجام گرفته است. همچنان که عاملی به نام

www.SID.ir

Archive of SID

پیش تیمار در رابطه با این نمونه ارزیابی نشده، تاثیر تغییرات زمان‌های کوتاه (زیر هفتاد و دو ساعت) نیز در فیزیولوژی آن ناشناخته می‌باشد. انتخاب چهار روز (۹۶ ساعت) بر اساس بررسی‌های Soltani و همکاران (۲۰۱۱) و Shokravi و همکاران (۲۰۱۲ و ۲۰۱٤) بر روی این سیانوباکتری و سویه‌های استیگونماتال *Hapalosiphon* spp. انجام گرفت. آنالیزهای رنگیزه ای بر روی این سیانوباکتری‌ها، پس از ورود به فاز تصاعدی انجام شده است که عموما از هفتاد و دو ساعت و یا نود و شش ساعت به بالا می‌باشد.

در خصوص اثر پیش تیماری، ایده اولیه از بررسی‌های Vakili و همکاران (۲۰۰٦) بر روی سیانوباکتری *Fischerella* sp. انجام شد. در این بررسی اعمال فتوپریود ۲۲ ساعت روشنایی در برابر دو ساعت تاریکی، سبب افزایش معنی دار رشد و فرکانس هتروسیست گردید (Vakili et al., 2006). نتایج مقاله Vakili و همکاران (۲۰۰٦) مورد توجه کاربردی قرار نگرفت و تنها مشابه آن در بررسی‌های Safaei و همکاران (۲۰۰۷) و Amirlatifi و همکاران (۲۰۰۷) به شکل تاثیر ترکیب عوامل محیطی از جمله pH و شوری، بر تغییرات رشد، رنگیزه، فعالیت فتوسنتزی و نیتروژنازی سیانوباکتری‌های نوستوکال و استیگونماتال دنبال گردید. ایده استفاده از ترکیب عوامل محیطی و همراه کردن آن با پیش تیمارها از این سلسله بررسی‌ها گرفته شد (Tang and Wincent, 1999). در بررسی‌های Amirlatifi و همکاران (۲۰۱۸)، برای نخستین بار این ایده بر روی سیانوباکتری *Calothrix* sp. پیاده شد. و نتایج در مواردی بیش از حد انتظار بود. جستجوهای مداوم و مستمر تا کنون ایده‌ای که به‌طور کامل با آنچه در انجام گرفته پیدا نشد. حتی در مورد سیانوباکتری‌های تک سلولی مدل نظیر *Synechococcus* sp. و *Synechocystis* sp. نیز بررسی‌های ترکیبی پیش تیماری با در نظر گرفتن شوری، دی اکسید کربن، pH و نور انجام نگرفته است. به کارگیری چنین ایده ای با بکارگیری سیانوباکتریوم *Fischerella* sp. FS18، به این شکل به‌دست آمد.

در بررسی Soltani و همکاران (۲۰۰۷) بر روی رشد سیانوباکتری *Fischerella* sp. FS18، در شرایط توام pH و شدت نور، بکارگیری شدت نوری بالا (۳۰۰ میکرومول کوانتا در مترمربع بر ثانیه) و شرایط خنثی و قلیایی سبب ایجاد فاز تاخیری رشد تا روز دوم و سوم در سیانوباکتری گردیده است. همین فاز تاخیری در بررسی‌های Soltani و همکاران (۲۰۱۱) هنگام بکارگیری ترکیب شوری و نور، مشاهده گردیده است. استفاده از پیش تیمارهای ۹٦ و به‌خصوص ۲٤ ساعت سبب می‌شود که فاز تاخیری حذف شود و نمونه از روز نخست وارد فاز تصاعدی گردد. حذف شدن فاز تاخیری می‌تواند دستاورد برجسته‌ای از نظر جلبک‌شناسی محض و کاربردی تلقی گردد. اگر پیش تیمار بتواند فاز تاخیری را حذف کند یا زمان آن را کوتاه نماید بدین معنی است که توانسته است از دو طریق، زمینه لازم برای خوگیری را فراهم کند. نخست از طریق تاثیر روی ساختارهای آنزیمی و تجهیزاتی که بخصوص برای دی آزوتروفی (فرایند به معنی واقعی پر هزینه از نظر انرژی) لازم هستند (Yamamoto et al., 2005) و دیگر تاثیر روی پوشش‌های اطراف سلول و برون ریزش ترکیبات دیواره ساز. نقش ترکیبات دیواره ساز روشن است (Czerny et al., 2009) پوشش‌های اطراف سلول که از همین ترکیبات منشا می گیرد، نوعی سیستم هوشمند در اطراف سلول ایجاد می کند که شرایط بیرونی را تحت کنترل سلول در می آورد (Parel et al., 2014). به عبارت دیگر یک مکانیسم نظارتی بسیار دقیق در اطراف سلول ایجاد می کند که

www.SID.ir

Archive of SID

متعادل کننده شرایط بیرونی به نفع سیستم سلول است. این مسئله در مورد بسیاری از تنش‌ها مشاهده شده است (Cao et al., 2007). اگر یک پیش تیمار ساده بتواند خوگیری را با کاهش فاز تاخیری افزایش دهد، هم سرعت ساخته شدن تجهیزات داخلی را افزایش داده و هم عوامل لازم برای سیستم هوشمند اطراف سلولی را سازمان دهی کرده است. این هردو جهت بقا و خوگیری سیانوباکتری با شرایط لازم است. ضمن اینکه زمینه لازم برای تکثیر و ورود به فاز تصاعدی را فراهم می نماید (Barcelos et al., 2006). بنابراین تاثیر پیش تیمارها روی حذف یا کاهش فاز تاخیری را می بایست با نهایت دقت مورد توجه قرار داد. طبیعی است که برون ده چنین اثری، افزایش کارایی و قابلیت خوگیری سیانوباکتری با شرایط ناهموار احتمالی محیط می نماید که از نظر بیوتکنولوژی امتیاز ارزشمندی است (Amirlatifi و همکاران، ۲۰۱۸).

در Safaei و همکاران (۲۰۱۵)، نرخ رشد در شرایط ترکیبی pH 9 و نور محدود (۲ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه)، ۰/۲۳ تعیین گردیده است. اعمال پیش تیمارهای ۹۶ و ۲٤ ساعت این میزان را به ۰/۳۳ و ۰/۳٦ می‌رساند. بنابراین استفاده از پیش تیمارها ضمن حذف فاز تاخیری و تسریع ورود به فاز تصاعدی، میزان تولید بیومس را به میزان تقریبی شصت درصد افزایش می‌دهد. مقایسه میان بررسی در شدت‌های نوری بالا (۳۰۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه) در شرایط خنثی Soltani و همکاران (۲۰۰۷ و ۲۰۱۱) افزایش عملکرد تولید توده زنده را به میزان ٤۰ تا ۵۰ درصد در شرایط پیش تیماری نشان می‌دهد. بنابراین استفاده از پیش تیمارها در شرایط غیر مطلوب قلیاییت نیز می‌تواند افزایش عملکرد به دنبال داشته باشد.

فیکوبیلی زوم‌ها از حساس ترین بخش‌های سیستم فتوسنتزی به تنش‌های محیطی می باشند (Endres et al., 2013). کاهش عملکرد بخش‌های مختلف فیکوبیلی زوم تحت تاثیر تنش‌های شوری و pH در سیانوباکتری‌ها توسط افراد مختلف نشان داده شده است (Trimborn et al., 2013). به‌دلیل نقش کلیدی فیکوبیلی زوم‌ها در انتقال انرژی از سیستم‌های جمع آوری کننده نور به فتوسیستم دو، هرگونه آسیب بر فیکوبیلی زوم می تواند کلیت سیستم فتوسنتزی را متاثر کند (Wang et al., 2015). بر عکس ترمیم فعالیت فیکوبیلی زوم‌ها می تواند به افزایش عملکرد انتقال انرژی کمک قابل توجه نماید. این افزایش عملکرد با افزایش رشد، تولید متابولیت‌ها و دیگر فرایندهای سلولی در سیانوباکتری همراه خواهد بود که از جنبه بیوتکنولوژیک و کاربردی، اهمیت ویژه دارد (Wang et al., 2011). پیش تیمارهای ۲٤ و ۹٦ ساعت قلیاییت، هرچند از الگوی یکسانی تبعیت نمی کنند ولی در مجموع با تاثیر روی نقطه آسیب دستگاه فتوسنتزی سیانوباکتری یعنی فیکوبیلی زوم‌ها می توانند سبب کمک به بازآرایی آن شوند و از این طریق فرایند انتقال انرزی را بهبود ببخشند. این دستاورد بزرگ دیگری است که می بایست مورد توجه جدی قرار گیرد. با توجه به اینکه فیکوبیلی زوم‌ها در جذب پرتوهای با شدت بسیار کم نوری موثر هستند، امکان زندگی سیانوباکتری در محیط‌های دارای نور کم را فراهم می سازند. از این نظر بر روی توزیع دامنه زیستگاه تاثیر چدی دارند. بازیابی فیکوبیلی زومی می‌تواند (در کنار سایر زیستگاه‌ها) مشکلات زندگی سیانوباکتری در شالیزارها و مناطق نفتی را که دارای معظل کم نوری هستند برطرف نماید. با توجه به اهمیت نفت و کشاورزی در اقتصاد ایران، و توجه روزافزون به ریزجلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها در

www.SID.ir

Archive of SID

تکنولوژی کود زیستی و نفت، بازیابی فعالیت فیکوبیلی زوم‌ها تحت تاثیر پیش تیمارهای ساده و کم هزینه محیطی، به منزله نیل به یک دستاورد بزرگ در افزایش بقا و برون ریزش و دیگر فرایندهای اصلاحی سیانوباکتری‌های خاک است (Raven et al., 2012). بدیهی است این بررسی در حد گام ابتدایی است و به ارائه فرضیه می پردازد اما قدرت فرضیه و توجیه علمی و کاربردی آن قابل توجه جدی است.

در خصوص نقش دی اکسید کربن در مقالات دیگر به تفصیل صحبت شده است (Wannincke et al., 2012). کارایی سیستم فیکوبیلی زومی که در شرایط خنثی (بهینه برای رشد) ملاحظه می‌شود، شاهدی بر توان انرژی دهی برای اعمال مکانیسم تراکمی دی اکسید کربن است (Poza-Carion et al., 2001). در شرایط اسیدی بدلیل نبود بخش مرکزی در سیستم فیکوبیلی زومی، به طور طبیعی توان جمع آوری نور و رساندن آن به مرکز واکنش، به شدت کاهش می‌یابد. عدم کارایی نمونه در جمع آوری دی اکسید کربن به میزان کافی در شالیزارها، بخصوص در شرایط غرقابی می‌تواند ناشی از همین باشد (Mimuro et al., 1986). با حرکت به سمت شرایط خنثی، دستگاه فیکوبیلی زومی تقویت می‌شود و بخش مرکزی متشکل از رنگیزه‌های آلوفیکوسیانین و بخش حاشیه ای متشکل از فیکوسیانین، از نظر کمیت افزایش قابل توجه می‌یابد. یافته‌های مذکور با گزارش Burns و همکاران (۲۰۰۵) بر روی سیانوباکتریوم *Synechococcus Elongatus* سازگار می‌باشد. توان نمونه برای رشد در شرایط خنثی، ناشی از القای مکانیسم تراکمی دو طرفه ای است که خود می‌تواند از تقویت سیستم فیکوبیلی زومی منشا بگیرد (Shokravi et al., 2006). از نظر کاربردی، با در نظر گرفتن شاخص‌های Boussiba در (۱۹۸۸) به نظر می‌رسد که توان سیستم فیکوبیلی زومی، چه از نظر ساختار و چه از نظر علمکرد با افرایش قلیاییت و محتوای دی اکسید کربن افزایش معنی دار پیدا می‌کند (Yamamaka and Glazer., 1981). افزایش بخش مرکزی و افزایش معنی دار رنگیزه‌های بخش میله ای، سبب افزایش علمکرد در فتوسنتز می‌شود که به صورت افزایش معنی دار رشد نمود می‌یابد. در سیانوباکتری نوستوکال *Nostoc* sp.UAM 205 (Valiente and Leganes., 1998) و سیانوباکتری استیگونماتال *Fischerella* sp. FS33 (Soltani et al., 2006) چنین وضعیتی مشابه است. در بررسی‌های Soltani و همکاران (۲۰۰۷)، تاثیر توام pH و نور، سبب می‌شود که بخش مرکزی سیستم فیکوبیلی زومی حذف گردد و محتوای بخش خارجی میله ای کاهش یابد. تاثیر پیش تیماری چه در زمان ۲٤ و چه ۹٦ ساعت در هردو pH خنثی و قلیایی، سبب می‌شود که بخش آلوفیکوسیانینی به محتوای فیکوبیلی زومی بازگشت نماید. ضمن اینکه محتوای فیکواریترین یعنی لایه خارجی بخش میله ای فیکوبیلی زوم افزایش یابد. به عبارت دیگر پیش تیمار سبب می‌شود که تمامیت ساختاری فیکوبیلی زوم حفظ شود. اگر تمامیت ساختاری را با افزایش عملکرد معادل بگیریم (Ploug, 2008)، عامل اصلی در افزایش عملکرد فیکوبیلی زومی، تمامیت ساختاری آن می‌باشد. ضمن اینکه با توجه به ارزش بیوتکنولوژیک فیکواریترین و نقش‌های متعدد آن افزایش تولید فیکواریترین مزیت بالای اقتصادی است که خود می تواند راهگشای بررسی‌های کاربردی آتی باشد (Levitan et al., 2007).

افزایش معنی‌دار رشد نمونه در شرایط قلیایی، در صورت رفع محدودیت دی اکسید کربن، همراه با برون ریزش بالای آمونیوم و عدم فاز تاخیری در منحنی رشد، با آنچه در مورد القایی بودن مکانیسم تراکمی در سیانوباکتری‌ها و برخی ریزجلبک‌های سبز

www.SID.ir

Archive of SID

بیان شده قابل توجیه است (Poza–Carion et al., 2001). کاهش نسبی عملکرد مکانیسم تراکمی سبب می‌شود که انرژی به سمت دیگر فرایندها و از جمله رشد گرایش یابد و از این نظر افزایش معنی دار رشد قابل توجیه است (Stal, 1995). عدم اختلاف معنی دار در زی توده در روزهای مختلف در شرایط قلیایی و خنثی، در شرایط تلقیح و عدم تلقیح – نسبی – دی اکسید کربن، شاهد دیگری بر این مدعاست. سیانوباکتریوم *Synechococcus* PCC7942 نیز چنین وضعیتی را نشان می‌دهد (Yu et al., 1994). بر خلاف آنچه در گزارش‌های شکروی و همکاران (۱۳۸۱) آمده است، سیانوباکتری *Lyngbya* sp. FS33 Agardh. نه در شرایط قلیایی افراطی (pH 9)، بلکه در شرایط خنثی، رشد بهینه را دارد. به نظر می‌رسد که سیستم تراکمی یک سویه در این سویه فعال می‌باشد (Poza-Carion et al., 2001). بقای نمونه در شرایط بسیار اسیدی و قلیایی، ان را از نظر کاربردی توانمند نشان می‌دهد (Anand et al., 1990). وجود چنین مکانیسم‌هایی در سیانوباکتری‌های اسیلاتوریا مورد بحث جدی بوده است (Stal, 1995). در سیانوباکتری *Lyngbya majuscula* و *Lyngbya wollei* شواهدی از وجود چنین مکانیسمی بدست آمده است. با اینحال این مکانیسم‌ها عمدتا دو طرفه بوده و در شرایط قلیایی همپوشانی می‌کنند که سبب رشد قابل توجه در این شرایط می‌شود. به نظر می‌رسد که نوسان‌هایی که در رشد در هنگام دور شدن از شرایط بهینه مشاهده می‌شود نوعی صفت گونه ای باشد که حداقل در سیانوباکتری‌های استیگونماتال و نوستوکال مشاهده نگردیده است (Safaei et al., 2013).

نسبت‌های فتوسیستمی در سیانوباکتری‌ها از مواردی است که ظرف سال‌های اخیر، توجه جدی به آن معطوف شده است. اگر این طور تصور کنیم که بر خلاف گیاهان گلدار، در سیانوباکتری‌ها به ازای هر فتوسیستم دو، یک فتوسیستم یک تولید نمی‌شود و بلکه این نسبت کاملا متغیر است، ضمن وقوف به امتیاز تکاملی این موجودات، با فرایندهای جدیدی از نظر انتقال انرژی مواجه هستیم (Wannincke et al., 2012). افزایش میزان فتوسیستم یک به دو، به طور طبیعی سبب می‌شود که انتقال انرژی از فتوسیستم دو به یک با کارایی به مراتب بیشتر همراه باشد. در صورتی که این نسبت یک به یک باشد، امکان اینکه به دلایل مختلف و از جمله موتاسیون در مرکز واکنش یا پروتیین‌هایی نظیر D1 و PSBU، کارایی عمل کرد فتوسیستم یک کاهش یابد و این کاهش سبب اتلاف انرژی انتقالی در مسیر ساختن انرزی و ردکتان شود، بالا می‌باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

رشد گونه در شرایط قلیایی و بویژه هنگامی که دی اکسید کربن در حد دی اکسید کربن محدود باشد، می‌تواند نوعی شبیه سازی شرایط محیطی باشد. پیش تیمارها ضمن افزایش نرخ ویژه رشد و حذف فاز تاخیری، سبب تقویت و بازیابی آسیب‌های احتمالی فیکوبیلی زوم‌ها می شوند و عملکرد انتقال انرژی را بهبود می بخشند. تمامیت ساختاری بخش میله ای فیکوبیلی زوم در این شرایط بازیابی و حفظ می‌شود. سوای این مانع آسیب به مراکز واکنش و کمپلکس‌های جمع آوری کننده نور می گردند. مکانیسم تراکمی دی اکسید کربن در این گونه تحت تاثیر پیش تیمارهای ترکیبی، فعال می‌باشد و بویژه در شرایط خنثی و قلیایی در حالت محدودیت دی اکسید کربن سبب بقا و رشد بالاتر نمونه می‌گردد.. بکارگیری پیش تیمارها سبب می‌شود که در شرایط قلیایی و بویژه هنگامی که محدودیت دی اکسید کربن وجود داشته باشد، ساختار فیکوبیلی زوم کامل می‌شود و بخش میله ای آن که از رنگیزه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

فیکوسیانینی و فیکواریترینی تشکیل شده است، به مراتب بیش از عدم بکارگیری پیش تیمار باشد.

سپاسگزاری

نگارندگان وظیفه خود می‌دانند، از کلیه افرادی که در طول انجام این پژوهش، کمال همکاری را داشته اند، صمیمانه سپاسگزاری نمایند. سپاسگزاری خاص از سرکار خانم رسایی (کارشناس آزمایشگاه ژنتیک)، آقایان آینه و بیک نژاد (آزمایشگاه آنالیز دستگاهی) ضروری است.

References

Amirlatifi, F., Soltani, N., Saadatmand, S., Shokravi, S. and Dezfulian, M. (2013). Crude oil-induced morphological and physiological responses in cyanobacterium *Microchaete tenera* ISC13. International Journal of Environmental Research, 7(4):1007-1014.

Amirlatifi, H.S., Shokravi, S., Sateei A., Golsefidi, M.A. and Mahmoudjanlo, M. (2018). Samples of cyanobacterium *Calothrix* sp. ISC 65 collected from oil polluted regions respond to combined effects of salinity, extremely low-carbon dioxide concentration and irradiance. Algologia, 28(2): 182–201.

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

Anand, N.L., Radha, R.S., Hopper, G.R. and Subramanian, T.D. (1990) Blue-green algae as biofertilizers: certain view points on the choice of suitable isolates. In: Perspective in phycology, International symposium of phycology at university of Madras, New Delhi: Today and Tomorrow's Publishers. pp. 383-391.

Baftechi, L., NejadSattari, T., Ebrahimzadeh Maboud, H. and Shokravi, S. (2001). The effects of light intensity and duration on growth and heterocyst frequency of the cyanobacterium *Fischerella* sp.-M.Sc.thesis, Facuty of Science, Tehran University.

Ban˜ ares-Espan˜ A., Jacco, E., Kromkamp, C., Lo´ pez-Rodas, V., Costas, E. and Flores-Moya, A. (2013). Photoacclimation of cultured strains of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to high-light and low-light conditions. FEMS Microbiology Ecology. 83: 700–710.

Barcelos e Ramos, J., Biswas, H., Schulz, K.G., LaRoche, J. and Riebesell, U. (2006). Effect of rising atmospheric carbon dioxide on the marine nitrogen fixer *Trichodesmium*. Global Biogeochemical Cycles. 21(2):1-6.

Boussiba, S. (1988). *Anabaena azollae* as biofertilizer. In: Algal biotechnology, eds. T., Stadler, J., Millon, M.C., Verdus, Y., Karamanos, H.M. and Christiaen, D. Elsevier applied science. pp. 177-180

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

Cao, L., Caldeira, K. and Jain, A.K. (2007). Effects of carbon dioxide and climate change on ocean acidification and carbonate mineral saturation. Geophysical Research Letters. 34:1-5.

Czerny, J., Barcelos e Ramos, J. and Riebesell, U. (2009). Influence of elevated CO_2concentrations on celldivision and nitrogen fixation rates in the bloom–forming cyanobacterium Nodularia spumigena. Biogeosciences, 6:1865–1875.

Deblois, G. and Giguère, V. (2013). Oestrogen-related receptors in breast cancer: control of cellular metabolism and beyond. Nature Reviews Cancer. 13(1): 27.

Desikachary, T.V. (1959) Cyanophyta. Indian council of agricultural research, monographs on Algae New Delhi, India. Vol.1 No.3.

Endres, S., Unger, J., Wannicke, N., Nausch, M., Voss, M. and Engel, A. (2013). Response of Nodulariaspumigena to pCO_2—Part 2: Exudation and extracellular enzyme activities. Biogeosciences. 10:567–582.

Fraser, J.M., Tulk, S.E., Jeans, J.A., Campbell, D.A., Bibby, T.S. and Cockshutt, A.M. (2013). Photophysiological and photosynthetic complex changes during iron starvation in *Synechocystis* sp. PCC 6803 and *Synechococcus elongatus* PCC 7942. Plos One, 8(3):1-11.

Gan, F., Shen, G. and Bryant, D.A. (2014). Occurrence of far-red light photoacclimation (FaRLiP) in diverse cyanobacteria. Life, 5(1):4-24.

Geitler, L. (1932). Cyanophyceae von Europa Kryptogamen flora Akademiche Verlagsgesellschaft. - Leipzig. Kryptogamen-Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz. Ed. 2. (Rabenhorst, L. Eds) 14: 673-1196, i-[vi].

www.SID.ir

Archive of SID

Iranshahi, S. Nejadsattari, T., Soltani, N. and Shokravi, Sh. (2014). The effect of salinity on morphological and molecular characters and physiological responses of *Nostoc* sp. ISC 101. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 13(4): 907-917.

John, D.M., Whitton, B.W. and Brook, A.J. (2003). The Freshwater Algal Flora of the British Isles -Cambridge University Press. Hydrobiologia. DOI 10.1007/s10750-016-2851-2

Kaushik, B.D. (1987). Laboratory methods for blue-green algae. Associated Publishing Company, New Delhi, India. 171pp.

Kiaei, E., Soltani, N., Mazaheri Assadi, M., Khavarinegad, R. and Dezfulian, M. (2013). Study of optimal conditions in order to the use of the cyanobacteria *Synechococcus* sp. ISC106 as a candidate for biodiesel production. Journal of Aquatic Ecology. 2(4):40-51.

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

Levitan, O., Rosenberg, G., Setlik, I., Setlikova, E., Grigel, J., Klepetar, J., Prasil, O. and Berman-Frank, I. (2007). Elevated CO_2 enhances nitrogen fixation and growth in themarine cyanobacterium *Trichodesmium*. Global Change Biology. 13:531-538.

Mimuro, M., Lipschultz, C. and Gantt, E. (1986). Energy flow in the phycobilisome core of *Nostoc sp.* (MAC): two independent terminal pigments. Biochimicaet Biophysica Acta. 852:126-132.

Paerl, H.W. (2014). Mitigating harmful cyanobacterial blooms in a human- and climatically-impacted world. Life. 4: 988–1012.

Ploug, H. (2008). Cyanobacterial surface blooms formed by *Aphanizomenon* sp. and *Nodularia spumigena* in the Baltic Sea: Small-scale fluxes, pH, and oxygen microenvironments. Limnology Oceanography. 53: 914–921.

Poza-Carrion, C., Fernandez-Valiente, E., Fernandez Pinas, F. and Leganes, F. (2001). Acclimation of photosynthetic pigments and photosynthesis of the cyanobacterium *Nostoc* sp. Strain UAM 206 to combined flactuations of irradiance, pH, and inorganic carbon availability. Journal of Plant Physiology. 158: 1455-1461.

Prescott, G.W. (1962). Algae of the western great lake area. W.M.C. Brown Company Pub. 977pp.

Rajabnasab, M., Khavari Nejad, R.A., Shokravi, Sh. and Nejadsattari, T. (2018). Investigating the physiological responses of three endafic strains of cyanobacteria to crude oil concentrations in limited salinity and irradiation conditions. Applied Ecology and Environmental Research. 16(4): 4559-4573.

Rajabnasab, M., Khavari-nejad, R.A., Shokravi, S. and Nejadsattari, T. (2017). Adaptation of the cyanobacterium *fischerella* sp. ISC 107 to the combined effects of pH and carbon dioxide concentration. Iranian Journal of Plant Physiology. 7(4):2163-2171.

Raven, J.A., Giordano, M., Beardall, J. and Maberly, S.C. (2012). Algal evolution in relation to atmospheric CO_2: carboxylases, carbon-concentrating mechanisms and carbon oxidation cycles. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences. 367:493–507.

Shokravi, S., Kiaei, E., Pakzad, A. and Amirlatifi, H.S. (2017). Ecophysiological acclimation and salinity amelioration of soil Cyanobacterium *Anabaena* sp. FS 76 collected from oil polluted regions under ccombined effects of salinity and extremely limited irradiances. Journal of Iranian Plant Ecophysiology Research. 8(11):89-102.

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. 3: 55-63.

Shokravi, Sh., Siahbalaie, R., Jorjani, S. and Soltani, N. (2012). *Haplosiphon fontinalis* (C.Agardh) Bornet, A New Record of Stigonematalean Cyanophyta for Algal Flora of Iran. Iranian Journal of Botany. 17(2): 257-262.

Solarzano, K. (1969). Determination of ammonia in natural waters by phenol hypochlorite method. Limnology and Oceanography. 14: 799–801.

Soltani, N., Baftechi, L. and Ehsan, Sh. (2009). Isolation and record of new species of cyanobacteria belonged to Oscillatoriaceae from Tehran province with use of different culture media. Journal of Plant Environmental Physiology. 4(2): 1-7.

Soltani, N., Khavari-Nejad, R., Tabatabaei Yazdi, M., Shokravi, Sh. And Fernández-Valiente, E. (2005). Screening of Soil Cyanobacteria for Antifungal and Antibacterial Activity. Pharmaceutical biology. 43(5):455-459.

Soltani, N., Khavari-Nejad, R., TabatabaeiYazdi, M., Shokravi, Sh. and

www.SID.ir

Archive of SID

Fernández-Valiente, E. (2006). Variation of Nitrogenase Activity, Photosynthesis and Pigmentation of cyanobacterium *Fischerella ambigua* Strain FS18 under Different Irradiance and pH. World Journal Microbiology Biotechnology. 22(6): 571-576.

Soltani, N., Khavari-Nejad, R., Tabatabaie, M., Shokravi, Sh. and Valiente, E.F. (2006). Variation of Nitrogenase Activity, photosynthesis and pigmentation of cyanobacterium *Lyngbya* sp. FS33 *Agardh* strain FS18 under different irradiance and pH. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 22(6): 571-576.

Soltani, N., Khavarinejad, R.A., Tabatabaei Yazdi, M. and Shokravi, Sh. (2008). Growth and metabolic Feature of cyanobacterium *Fischerella* sp.FS18 in different Combined Nitrogen sources. Iranian Journal of Science. 18(2): 123-128

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

Soltani, N., Siahbalaie, R. and Shokravi, Sh. (2010). Taxonomical Characteriazation of *Fischerella* sp. FS 18- International Journal of Algae. 12(1): 19-36.

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

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

Taheri, R., Shokravi, Sh. and Hossaianzadeh, M. (2017). Growth Assessment of Cyanobacteria *Anabaena* sp. FS 76 and *Nostoc* sp. FS 77 Affected by Thermal Shock Condition. Trakia Journal of Sciences. 1:5-13.

Tamkini, M., Abolfathi, A.A. and Shokravi, S. (2015). Photo biochemistry of photosynthetic pigments of edaphic cyanobacterium *Anabaena* sp. FS76, under the combination effect of irradiance and carbon dioxide concentrations. International Journal of Scientific and Engineering Research. 6(2): 386-394.

Tang, E.P. and Vincent, W.F. (1999). Strategies of thermal adaptation by high-latitude cyanobacteria. The New Phytologist, 142(2): 315-323.

Trimborn S., Brenneis T., Sweet E. and Rost, B. (2013). Sensitivity of Antarctic phytoplankton species to ocean acidification: growth, carbon acquisition, and species interaction. Limnology and Oceanography. 58:997–1007.

Valiente, E.F. and Leganes, L. (1998). Regulatory effect of pH and Incident Irradiance on the levels of Nitrogenase activity in the cyanobacterium *Nostoc* sp. UAM205. Journal of Plant Physiology. 135:623-627.

Vakili, F., Shokravi, Sh., Ghorchibeigi, K. and Soltani, N. (2005). Studying of growth and heterocycst variationsin *Fischerella ambigua*., Thesis of Plant Science (M.Sc), Islamic Azad University, Gorgan Branch.

Vierling, E.F. and Alberte, R.S. (1980). Functional organization and plasticity of the photosynthetic unit of the cyanobacterium *Anacystis nidulans*. Physiologia Plantarum. 50:93-98.

Wang, Y., Stessman D.J. and Spalding M.H. (2015). The CO2concentrating mechanism and photosynthetic carbon assimilation in limiting CO2: how works against the gradient. The Plant Journal 82, 429–448

Wang, X., Hao, C., Zhang, F., Feng, C. and Yang, Y. (2011). Inhibition of the growth of two blue-green algaespecies (*Microsystis aruginosa* and *Anabaena spiroides*) by acidification treatments using carbondioxide. Bioresource Technology. 102:5742-5748.

Wannicke, N., Endres, S., Engel, A., Grossart, H., Nausch, M., Unger, J. and Voss, M. (2012). Response of Nodularia spumigenato pCO_2—Part 1: Growth, production and nitrogen cycling. Biogeosciences. 9:2973–2988.

Yamamaka, G. and Glazer, A.N. (1981). Dynamic aspects of phycobilisome structure: modulation of phycocyanin content of *Synechococcus* phycobilisomes. Archives of Microbiology. 130: 23-30.

Yamamoto, Y. and Nakahara, H. (2005). The formation and degradation of cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae* blooms: The importance of pH, water temperature, and day length. Limnology. 6(1):1-6.

Yu, J.W., Price, G.D. and Badger, M.R. (1994) Characterization of CO_2 and HCO_3^- uptake during steady-state photosynthesis in the cyanobacterium *Synechococcus* PCC7942. Australian Journal of Plant Physiology. 21:185-195.

www.SID.ir