Archive of SID

# بررسی اثر تناوبهای متفاوت نوری بر رشد سیانوباکتر *Cylindrospermopsis raciborskii*

میترا صباحی اصل *[۱] ، پریسا نجات خواه،[۱] زهره رمضانپور[۲] ،نگین حیدری[۱]

۱. گروه زیست شناسی دریا، دانشکده ی علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال
۲. گروه اکولوژی ،انستیتوتحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری

## چکیده

جلبک سبز_آبی *Cylindrospermopsis raciborskii* گسترش وسیعی در نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری دارد. این گونه در ماههای مرداد و شهریور به فراوانی در تالاب ساحلی انزلی مشاهده می شود. در این مطالعه تاثیر تناوبهای مختلف نوری در نرخ رشد *C. raciborskii* بررسی شده است. سلول های *C. raciborskii* از آب تالاب انزلی جداسازی و خالص سازی شد. نمونه ها تحت شرایط دمایی ۲ ±۲۵، شدت نور۳۰۰۰ لوکس و محیط کشت *Z8-n* در چهار تیمار با تناوبهای نوری متفاوت (۸:۱۶ ،۱۴:۱۰ ،۱۰:۱۴ ،۱۲:۱۲ *Light/Dark*) کشت شدند.ریسه ها طی ۲۵ روز، بوسیله لام نئوبار شمارش شدند. سرعت رشد ویژه (μ) و میزان تقسیم سلولی در روز(*G*) برای هر تیمار بدست آمد. بررسی های انجام شده نشان داد که *C. raciborskii* در تناوب نوری ۱۲:۱۲ با تراکم سلولی ۵±۱۰$^{۶}$×۸ سلول در میلی لیتر بیشترین میانگین تراکم سلولی و پس از آن تیمارهای۱۴:۱۰، ۱۰:۱۴ و ۸:۱۶ با مقادیر ۴ ±۱۰$^{۶}$×۷ ، ۲ ±۱۰$^{۶}$×۴ و۹±۱۰$^{۶}$×۲ سلول در میلی لیتر به ترتیب فراوانی کمتری داشتند. با توجه به اینکه این گونه در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری در ماههای گرم سال با طول روز بلندتر شکوفایی ایجاد می کند، افزایش رشد در تناوبهای ۱۲:۱۲ و ۱۴:۱۰ نیز می تواند موید این پدیده باشد. احتمالاً رشد این سیانوباکتر تحت تاثیر عواملی مانند ذخیره نیتروژن، زمانی که دیگر گروه های جلبکی دچار کمبود نیترات هستند و قابلیت رشد در نور کم و دمای بالا قرار دارد.

**واژگان کلیدی:** سیانوباکتری ، *Cylindrospermopsis raciborskii*، تالاب انزلی، تناوب نوری، رشد.

* نویسنده مسوول، پست الکترونیک: Mitra.sabahi2@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

**۱. مقدمه**

شکوفایی سیانوباکترها سبب ایجاد مشکل در سراسر جهان در آبهای بومی و منطقه ای شده است و سم تولید شده در دریاچه ها،رودخانه ها،مصب ها،اقیانوسها و سیستمهای ذخیره آب،باعث از بین رفتن بسیاری از موجودات می گردد (Wilson et al.,1999).گونه ( Senenaya et *Cylindrospermopsis* Subba Raju 1972 *raciborskii*) متعلق به،تیره *Nostocaceae* و راسته *Ocsillatoriales* از جلبکهای سبز_ آبی Cyanobacteriaمی باشد که توانایی تولید سم دارد و به واسطه وجود آکینیت و سلولهای رویشی و ترایکوم ها قابل شناسایی می باشد و به دو شکل straight مستقیم و coiled فنری وجود دارد ( et Wilson al.,1999).در این گونه یک یا دو عدد هتروسیست در دو انتهای ریسه دیده می شود، که اغلب به شکل شعله شمع هستند (شکل ۱).آکینیت ها تخم مرغی تا بیضی شکل بوده و معمولاً به شکل غیرفعال نزدیک هتروسیست ها قرار می گیرند. جداره سلولهای رویشی دارای دیواره نامشخص هستند.سلولها حاوی واکوئلهای گازی می باشند(Hawkins et al.,1985). ضخامت ریسه در تمام نقاط یکسان است غلاف ژلاتینی اطراف ریسه ها بسیار لزج بوده و معمولاً با یکدیگر متصل می گردند (رحیمیان،۱۳۵۷). گزارشات متعددی از تلفات حیوانی و مسمویت انسان،در پی شکوفایی سیانوباکتر *C. raciborskii* از کشور های مختلف مانند: شمال فلوریدا ۱۹۹۷،ایسلند ،هلند و استرالیا۱۹۷۹ در منابع آمده است ( Chapman, and Schelske,1997,Hawkins,1985). در مناطق حاره به علت یکنواخت بودن شرایط محیط، رشد جلبک ها درتمام طول سال انجام می شود.در صورتی که در مناطق معتدله تغییر فصل موجب بروز تغییرات فیزیکی و شیمیایی در آب می گردد و در نتیجه در بعضی از فصل ها رشد زیاد سیانوباکترها در آب ایجاد بلوم می کنند( Bernard and Dufour.,2004).دوره نوری از عوامل موثر بر روی رشد فیتو پلانکتون است که برای هر گونه جلبکی متفاوت است. از این رو بررسی دوره ی نوری بر روی رشد هر یک از گونه های فیتوپلانکتونی به خصوص گونه های غالب و سمی،به بهره برداری صحیح تر از اکوسیستم های آبی و جلوگیری از مرگ و میر آبزیان ، پرندگان و احشام کمک می کند.

## ۲.مواد و روش کار

نمونه اولیه *C.raciborskii* از تالاب ساحلی انزلی در مرداد ماه سال ۱۳۸۸ در ساعات میانی روز که تابش نور خورشید حداکثر است و فیتوپلانکتون برای فتوسنتز به لایه های سطحی آب مهاجرت می کنند، توسط تور پلانکتون گیری (۲۵ میکرون)برداشته و سپس در آزمایشگاه اکولوژی انستیتو بین المللی ماهیان خاویاری جدا سازی و بصورت خالص کشت شد.آزمایش تحت تناوبهای نوری متفاوت (۸:۱۶، ۱۰:۱۴، ۱۲:۱۲ تاریکی/روشنایی) در محیط کشت $Z_8$ بدون منابع نیتروژنی و یک گروه شاهد انجام شد. برای هر تیمار ۳ تکرار تهیه شد. دمای اتاق کشت در محدوده ۲۵± ۲°C تنظیم شده و شدت نور ۳۰۰۰ لوکس در نظر گرفته شده بود. شمارش نمونه ها بطور روزانه و با ۳ بار تکرار برای هر نمونه با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ نوریNikon با بزرگنمایی ۱۰۰ X انجام گرفت. مقادیر μ و G از معادلات پیشنهادی (Fogg and Thake,1987) محاسبه شد.

www.SID.ir

Archive of SID

$\mu = \ln x_1 - \ln x_0 / (t_1 - t_0)$[1]

$G = \ln 2 / \mu 1$

X0 : میانگین تعداد سلولها در زمان $t_0$

X1 : میانگین تعداد سلولها در زمان $t_1$

$\mu$ : میزان سرعت رشد ویژه $(d^{-1})$

G : زمان لازم برای یکبار تقسیم سلولی (d)

تجزیه و تحلیل داده ها با آنالیز واریانس یکطرفه(one way ANOVA)و بر اساس آزمون جداساز دانکن به وسیله نرم افزارهای آماری Spss و Excel 2003 انجام شد.

## ۳. نتایج

میانگین تراکم سلولی درتناوب نوری ۱۲:۱۲ $۸\times۱۰^{۶}\pm۵$ (selol/mililiter) و ۱۴:۱۰ $۷\times۱۰^{۶}\pm۴$ (selol/mililiter) نسبت به دو تیمار دیگر بیشتر بود. رشد *C .raciborskii* همانند سایر فیتوپلانکتونها از منحنی رشد باکتری‌ها تبعیت کرد. همانطور که در نمودار (۱) مشاهده می شود مرحله تاخیر در رشد برای هر چهار تیمار بین روزهای اول تا سوم دیده شد که در تیمار ۱۰:۱۴ این مرحله بسیار کوتاه بود. مرحله رشد لگاریتمی[1] در تمام تیمارها بین روزهای چهارم تا هفتم قرار داشت، روز هشتم تا نوزدهم میانگین رشد سلولها در یک سطح قرار داشت و جلبکها در مرحله سکون بودند. روز بیستم به بعد سلولها وارد مرحله مرگ[2] شدند و رشد منفی داشتند. البته تیمار ۸:۱۶ در روز بیست و سوم وارد فاز مرگ شد.

آنالیزهای آماری طی ۲۵ روز نشان داد که چهار تناوب نوری در نظر گرفته شده برای این بررسی تاثیر معنی داری درسرعت رشد جلبک *Cylindrospermopsis raciborskii* داشته بطوریکه تناوبهای نوری ۱۴:۱۰ و ۱۲:۱۲ اختلاف معنی داری نسبت به ۱۰:۱۴و۸:۱۶ دارند ($P<0.05$) (شکل ۲).

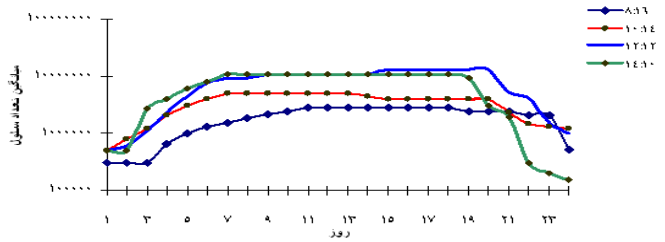
شکل (۱) :تصویر جلبک Cylindrospermopsis raciborskii جدا شده از تالاب انزلی (۴۰۰ × )

مقادیر سرعت ویژه رشد ($\mu$) در تناوب نوری ۱۲:۱۲ در بالاترین سطح $d^{-1}$ ۰/۶ بود. سپس تناوبهای نوری ۱۰:۱۴ و ۸:۱۶ با رشد ویژه $d^{-1}$ ۱± ۰/۵ و تناوب نوری ۱۴:۱۰ با مقدار $d^{-1}$ ۱± ۰/۴ به ترتیب کمترین مقدار سرعت ویژه رشد را نشان دادند (شکل ۳). مدت زمان تقسیم سلولی در روز (G) در شکل(۴) نشان داده شده است. برای تیمار نوری ۱۲:۱۲ مدت زمان تقسیم سلولی $d^{-1}$ ۱ ± ۰/۹ و برای تناوبهای نوری ۱۰:۱۴و ۸:۱۶، $d^{-1}$ 1± 7/0 بود. کوتاهترین زمان برای تیمار ۱۴:۱۰ d-1 6/0± 1 محاسبه شد نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه که بر اساس آزمون جداساز دانکن انجام گرفت، نشان داد که بین نرخ رشد ویژه و مدت زمان تقسیم سلولی در تیمارهای متفاوت اختلاف معنی داری وجود نداشت ($P>0.05$).

[1] exponential phase
[2] death phase


www.SID.ir

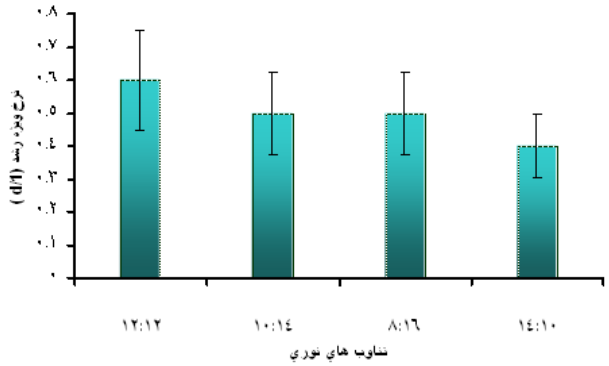
Archive of SID



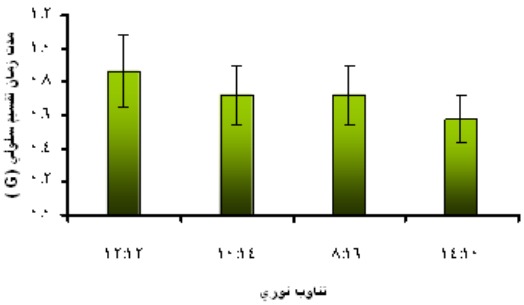
شکل ۲. نمودار تراکم سلولی روزانه جلبک *Cylindrospermopsis raciborskii* در تیمار نوری

## ۴.بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه، سلولهایی که برای کشت در تیمارهای مختلف مورد استفاده قرار گرفت از مرحله سکون رشد سلولهای ذخیره مادر انتخاب شدند.چنین سلولهایی در محیط اولیه خود به نهایت رشد رسیده و عملاً در مرحله ای از حیات بودند که اگر به یک محیط تازه ،مشابه شرایط متداول خود انتقال نمی یافتند از بین می رفتند، به همین دلیل رشد بعد از تاخیر سه روزه در تمام تیمارها مشاهده شد. در تناوبهای نوری ۱۴:۱۰ و ۱۲:۱۲ بیشترین تراکم سلولی مشاهده شد و افزایش میزان رشد(**μ**) با مدت زمان تابش ارتباط مستقیم داشت. در تحقیقی که Shafik و همکارانش در سال ۲۰۰۱ انجام دادند



شکل ۳. نمودار سرعت رشد ویژه *Cylindrospermopsis raciborskii* در هر تناوب نوری



شکل ۴ .نمودار مدت زمان تقسیم سلولی در روز جلبک *Cylindrospermopsis raciborsk*

www.SID.ir

Archive of SID

تاثیر تابش های مختلف نوری را بر رشد جلبک *C. raciborskii* بررسی کردند که نتایج این تحقیق نشان داد که در تابش های ۱۲:۱۲ بیشترین نرخ رشد را بین ۰/۸ تا ۱ دارد و تابش های نوری بالاتر از آن ممانعت در رشد ایجاد می کند،که با نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر یعنی کاهش سرعت ویژه رشد (μ) در تناوب ۱۴:۱۰ نیز مطابقت می نماید.علت کاهش میزان رشد در تابش های پیوسته و بالا مثل ۱۴:۱۰ را می توان به این صورت بیان نمود: هنگامی که سلول در معرض تابش نور قرار می گیرد ،زیست زایی غشاهای تیلاکوییدی و بیوسنتز کلروفیل در آن تحریک میشود(ابراهیم زاده، ۱۳۷۲).افزایش سنتز کلروفیل منجر به افزایش فتوسنتز و متعاقباً افزایش محصولات فتوسنتزی در سلول می گردد. اگر تابش نور پیوسته باشد ،دیگر زمانی برای مصرف این محصولات باقی نمی ماند. تحقیقات نشان داده اند که انباشته شدن مواد حاصل از فتوسنتز از جمله قندها و نشاسته می تواند باعث کاهش شدت فتوسنتز شود(ابراهیم زاده ۱۳۷۴).بنابراین با کاهش فتوسنتز بازده رشد سلولی نیز کاهش می یابد ودر نتیجه، در تناوبهای نوری بلندتر علی رغم بالا بودن سرعت تقسیم سلولی و تراکم بالای سلولها،میزان رشد سلولی (μ)نسبت به سایر تناوب ها کمتر خواهد شد،از طرف دیگر طول روز کوتاهتر نرخ رشد را در سیانوباکتری ها و دیاتومه ها کاهش می دهد و تاثیر این عامل برای سیانوباکتریها بیشتر است (Foy and Gibson, 1993).با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و مجموع مطالعات انجام شده می توان گفت *C. raciborskii* در تیمارهای مختلف خود را با تغییرات مدت تابش و سایر عوامل محیطی سازگار می نماید ،در غیر این صورت جلبک در محیط طبیعی زندگی خود با مشکلات زیادی مواجه خواهد بود، در صورتی که در همه تیمارهای مورد بررسی در این تحقیق، تقسیم سلولی و افزایش رشد وجود داشت و تنها سرعت و میزان تراکم سلولی متفاوت بود. شرایط اکولوژیکی که این گونه در آن رشد می کند بسیار متغییر است و این شرایط اکولوژیکی مختلف رشد و شکوفایی در هر دو منطقه گرمسیری و نیمه گرمسیری را ممکن می سازد.به طوری **که** Tang and Vincent در سال ۲۰۰۰ نشان دادند، رشد و فتوسنتز سیانوباکترها در قطب به طول روز و دما بستگی دارد. رشد جلبک *C. raciborskii* متاثر از طول دوره نوری است و علت پراکنش جهانی این گونه در مناطق مختلف جغرافیایی بدلیل داشتن صفات فیزیولوژیک خاص این گونه است .در این رابطه سه فرضیه ادائه شده است: ۱) کلنی این گونه با اقلیم معتدله سازگار شده و ممکن است برای پیشروی در نواحی یا عرضهای شمالی هم انتخاب شده باشد.۲) دارای دامنه تحمل وسیعی از نظر فیزیولوژیک است.۳)تغییرات اقلیمی ناشی از پدیده گرم شدن جهان باعث توسعه و پراکنش بیشتر این گونه شده است (Bernard and Dufour, 2004).

گزارشهای بدست آمده از پراکنش جهانی این جلبک ،نشان می دهد که **C.**raciborskii از قدرت سازگاری بالایی برخوردار بوده و در عرض های جغرافیایی میانی هم وارد شده است. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق احتمالاً رشد این سیانوباکترتحت تاثیر عواملی مانند توانایی ذخیره نیتروژن به واسطه وجود هتروسیست زمانی که دیگر گروه های جلبکی دچار کمبود نیترات هستند و قابلیت رشد در نور کم و دمای بالا قرار دارد( Shafik et al.,2001 ).

www.SID.ir

Archive of SID

**منابع:**


ابـراهیم زاده،ح.۱۳۷۲. فیزیولـوژی گیـاهی، فتوسنتز،جلد چهارم، انتشارات دانشگاه تهران،۶۹۰ صفحه.

ابـراهیم زاده ، ح.۱۳۷۴. فیزیولـوژی گیـاهی، متابولیسم،جلد سوم، انتشارات دانشگاه تهران،۵۱۴ صفحه.

رحیمیـان، ح. ۱۳۷۵. جلبـک شناسـی، جلـد اول، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه: ۳۵-۵۴ .

Bernard,C. and Dufour,P.H. 2004. Cylindrospermopsis raciborskii (Cyanobacteria) invasion at mid-latitudes: selection, wide physiological tolerance. Phycol. Soc. Am. 40: 231-238.

Chapman, A.D.and Schelske, C.L. 1997. Recent appearance of Cylindrospermopsis (Cyanobacteria) in five hypertrophic Florida Lakes J. Phycol. 33: 191-195.

Foy, R.H. and Gibson, C.E. 1993. The influence of irradiance photoperiod and temperature on the growth kinetics of three planktonic diatims. Eur. J. phycol. 28: 203-212.

Hawkins, P.R. and Runngar, M.T.C. and Jackson, A.R.B. 1985. Sever hepatotoxicity caused by the tropical, cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* isolated from a domestic water supply reservoir. Appl. Environ. Microbial. 50:1292-1295

Shafik ,M and Herodek ,S.and Presing,M. and Voros,L.2001.Factors effecting growth and cell composition of cyanoprokaryote Cylindrospermopsis raciborskii. Alg. Stud. 103:75-93.

Smith,G.J., Zammerman, R.C. and Alberte, R. 1992. Molecular and physiological responses of diatoms to variable levels of Irradiance and nitrogen availability growth of costatumin simulated up welling conditions. limnol.Oceanogr. 37 5: 989-107.

Tang, E.P.Y. and Vincent,W.F. 2000. Effects of daylength and temperature on the growth and photosynthesis of an Arctic Cyanobacterium, *Schizothrix calcicola* (Oscillatoriaceae). Eur. J. phycol. 35: 263-272.

Wilson, K., Mark, S. M. and Baker,p. 1999. Molecular characterizaton of the toxic Cyanobacterium Cylindrospermopsis raciborskii and Design of a Species-Specific PCR.The Cooperative Research center for Water Quality and Treatment, Australian Water Quality Center.SA Water Corporation, Australia.



www.SID.ir