سال نهم/ ویژه‌نامه/ بهار ۱۳۹۱
اولین کنفرانس ملی جلبک‌شناسی ایران
Vol.9/ Special Issue/ Spring 2012
The First National Conference of Phycology of Iran
۷۳ -۸۶

آنالیز الگوهای تنوع‌پذیری مورفولوژیک و فراساختاری دو سویه ناشناخته از تیره Nostocaceae جمع‌آوری شده از شالیزارهای گرگان (استان گلستان)

افسانه پاکزاد[۱*]، ناهید مسعودیان[۲]، شادمان شکروی[۳]، حمیده سادات امیرلطیفی[۴] و بهاره عباسی[۴]

۱- *دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی*
۲- *استادیار، گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی*
۳- *دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی*
٤- *کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی*

تاریخ دریافت: ۹۰/٤/۹ تاریخ پذیرش: ۹۰/٦/۱

چکیده

در پژوهش حاضر، دوسویه از خانواده نوستوکاسه (*Anabaena* sp. FS76، *Nostoc* sp. FS77) جمع‌آوری شده از شالیزارهای استان گلستان از نظر مورفولوژیک و فراساختار با استفاده از میکروسکوپ نوری، فاز کنتراست، فلور سانس و TEM مورد مطالعه قرارگرفتند. نتایج مقایسه بین سویه‌ها نشان داد که *Anabaena* sp. FS77 ، تغییرات قابل ملاحظه‌ای را از نظر اندازه و شکل سلول‌ها در سه روز اول رشد نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد که فرم فضایی این گونه در این روز تغییر می‌کند. تجمع کلنی در محیط کشت مایع، به میزان زیادی در روز هشتم کاهش یافت و این حالت تا پایان دوره باقی ماند. تغییر رنگ این نمونه از قهوه‌ای روشن به قهوه ای- سبز قابل توجه می‌باشد. عموماً طول سلول‌های رویشی و اسپورها بیشتر از قطر آنها است. سلول‌های رویشی *Anabaena* sp. FS 76 تمایل قابل توجهی از نظر تغییر اندازه و شکل نشان می‌دهند. طول سلول‌های رویشی از اولین روز تا روز دهم نسبت به قطر بیشتر است، اما در روز دهم تا پایان دوره به حالت معکوس تغییر می‌یابد، به همان حال باقی می‌ماند. به نظر می‌رسد که در آنالیزهای فراساختاری، آرایش تیلاکوییدهای فتوسنتزی در طول دوره تغییر محسوسی نداشته، به طور نسبی به شکل خطی باقی مانده‌اند. در *Nostoc* sp. FS77 کربوکسی زوم و دانه‌های فسفات تنوع شکلی بیشتری در مقایسه با *Anabaena* sp.FS76 نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: آنابنا، تنوع مورفولوژیکی، سیانوباکتری، شالیزار، فراساختار، نوستوک.

Analysis of Morphological and Ultrastructure Variation Patterns In Two Previously Unexplored Strains of Nostocaceae Collected From Paddy fields of Gorgan (Golestan Province)

Afsaneh Pakzad,[1*] Nahid Masoudian,[2] Shadman Shokravi,[3] Hamide sadat Amirlatifi[4] and Bahareh Abbasi[4]

1- Student M.Sc., Department of Biology, Gorgan Branch , Islamic Azad University
2- Assistant Professor, Department of Biology, Damghan Branch , Islamic Azad University
3- Associate Professor, Department of Biology,Gorgan Branch, Islamic Azad University
4- M.Sc., Department of Biology, Gorgan Branch , Islamic Azad University

Abstract

In this current research, two strains of Nostocaceae (*Anabaena* sp.FS76 and *Nostoc* sp. FS77) were collected from paddy fields in Golestan Province and were studied morphologically and ultra-structurally using optical, phase contrast, fluorescence and TEM electron microscopy. Results showed that, in comparison between strains, *Anabaena* sp.FS76 showed considerable fluctuations in the dimensions and shapes of cells on the third day, and it seems that the spatial form of this specimen changes on this day. Compression of the aggregations in liquid culture medium decreased sharply on the 8th day and remained in a similar form until the end of the period. The specimen exhibited interesting color changes from light brown to green-brown. Generally, the length of vegetative cells and spores is greater than their diameter. The vegetative cells in *Anabaena* sp.FS76 showed interesting shape and size variations, with vegetative cell length greater than diameter from the first to the 10th day but, on the 10th day to the end of the period, this turned to the opposite and stayed permanently this way. It seems that shapes of the thylakoides in ultra-structure analysis was not so changeable during the days in question and kept their relatively dense to linear configuration. In *Nostoc* sp.FS77, carboxysome and phosphate granules showed more varied shapes in comparison with *Anabaena* sp. FS76

Keywords: Anabaena, Cyanobacteria, Nostoc, Morphological variation, Paddy fields, Ultra-structure.

* Corresponding author. *E-mail Address*: pakzadafsaneh@yahoo.com

www.SID.ir

مقدمه

در حال حاضر سیانوباکتری‌ها از طبقه بندی رضایت بخش و مورد توافق عام محققین برخوردار نیستند. علت عمده در این خصوص را می‌توان در وجود دیدگاه‌های متفاوت درباره صفات مورد نظر در طبقه‌بندی و چگونگی تشخیص آن‌ها جستجو کرد. در مورد فلسفه تنوع پذیری مورفولوژیک این نمونه‌ها هنوز ابهام جدی وجود دارد. به عنوان مثال ارزنده‌ترین مباحث تاکسونومی امروز نظیر آن‌چه توسط Anagnostidis و Komarek (1990) و Castenholz (2001) نگاشته شده، اگرچه شاخص‌های جدیدی برای رسیدن به قطعیت بیشتر ارائه کرده است، اما چون عمده این شاخص‌ها تعقیب مسیر گذشته می‌باشد، به گفته خود محققین دارای نقاط ابهام و خطا می‌باشد. استفاده از سایر تخصص‌ها و گرایش‌های زیست‌شناسی نظیر فیتوشیمی، فیزیولوژی، بیولوژی مولکولی و ژنتیک در خصوص برخی گونه‌ها تا حدی قطعیت به دنبال داشته است، اما اولاً این قطعیت بسیار محدود بوده و در ثانی خود با موارد خطا همراه بوده است.(Shokravi *et al.*, 2010)

استان گلستان از قطب‌های کشاورزی کشور است. با توجه به ارزش بیوتکنولوژیک سیانوباکتری‌ها در کشاورزی، نیاز به بررسی‌های همه جانبه این موجودات در استان احساس می‌شود. بدیهی است گام نخست در هرگونه پژوهش اقتصادی، اشراف به فلور منطقه است که خود نیاز به نشان ویژه سازی (کاراکتریزاسیون) نمونه‌ها را می‌طلبد(Shokravi *et al.*, 2001). در حال حاضر بررسی‌های چند وجهی در رابطه با تنوع پذیری مورفولوژیک سیانوباکتری‌ها در ایران بسیار محدود است و به همین ترتیب شمار این بررسی‌ها در استان گلستان بسیار اندک می‌باشد. در این بررسی هدف آن است که به عنوان گام نخست دو سیانوباکتری *Nostoc* sp.FS 77 و *Anabaena* sp. FS 76 که در سال جاری از شالیزارها و زمین‌های کشاورزی استان جدا گردیده‌اند و لی هنوز از نظر تاکسونومی ناشناخته می‌باشند، با تکیه بر تنوع پذیری مورفولوژیک در طی دوره‌های زمانی و نیز الگوهای فراساختاری مورد بررسی قرار گیرند. نتایج حاصل، بی‌تردید در کنار دیگر بررسی‌ها به شناسایی و تعیین جایگاه نسبتا دقیق این دو سویه کمک شایسته‌ای خواهد کرد.

تا کنون تنها بررسی‌های انجام شده در خصوص فراساختار سیانوباکتری‌های ایران، به بررسی Soltani و همکاران (2009) و Soltani و همکاران(2010) باز می‌گردد که به سیانوباکتری استیگونماتال *Hapalosiphon* sp. FS18 مربوط است. در Monadi و همکاران (2009)، گونه هایی از سیانوباکتری‌های اسیلاتوریال از نظر مورفولوژی نشان ویژه سازی شده‌اند. در Jorjani و همکاران(2010) سیانوباکتری استیگونماتال *Hapalosiphon* sp. FS 56 جمع آوری شده از زمین‌های کشاورزی استان گلستان با ترکیبی از فیزیولوژی و مورفولوژی، مورد بررسی قرار گرفته است. در Sepehri و همکاران (2010) و Shokravi و همکاران (2010)، سیانوباکتری‌های استیگونماتال استان گلستان از نظر تنوع پذیری مورفولوژیک بررسی گردیده‌اند. در خصوص گونه‌های *Nostoc* و *Anabaena*، بررسی‌های معدود انجام شده، در حوزه فیزیولوژی و اکوفیزیولوژی بوده است.

Archive of SID
www.SID.ir

Amirlatifi و همکـــــــــاران (2006) و Safaie و همکـاران (2006)، گونـه‌ای از *Nostoc* را از نظـر تاثیر تـوام دی اکسـید کـربن و اسـیدیته و تـاثیر تـوام شـوری و اسـیدیته مـورد بررسـی قـرار داده‌انـد. در Siahbalaie و همکاران (2006)، گونه هـایی از ایـن دو جنس در بررسی‌هـای فلورسـتیک گـزارش شـده است که البته تکیه بر صفات ثابت در شـرایط طبیعـی بوده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های خاک از استان گلستان جمع آوری شـدند. کشـــت نمونـــه‌هـــای خـــاک مطـــابق روش کشـت سـیانوباکتری‌هـای خـاکزی انجـام گرفـت (Kaushik, 1987). پس از تشکیل کلنی، جدا سازی و کشت‌های بعـدی، دو سـیانوباکتری .*Nostoc* sp و .*Anabaena* sp بـه صـورت خـالص تهیـه گردیـد (Kaushik, 1987). شناسایی مقدماتی و شناسایی در حـد گونـه بـا اسـتفاده از John *et al.* (2003), Anagnostidis and Komarek (1990), Prescott (1962), Desikachary (1959),Geitler (1932) انجام گرفـت. نمونـه‌هـا پـس از شناسـایی بـا عنـوان *Nostoc* sp.FS 77 و *Anabaena* sp. FS 76 کدگـذاری گردیـد و در مـوزه جلبکـی پژوهشـکده علـوم پایـه کـاربردی دانشـگاه شـهید بهشـتی ثبـت گردید. کشت در محیط مایع BG0-11 و در شـرایط نـوری ۶۰ میکـرو مـول کوانتـا بـر متـر مربـع بـر ثانیـه (که توسط لامپ فلورسانت تأمین می‌گشت)، دمای ۲۸ درجـه سـانتی گـراد و۷/۲ pH انجـام گرفـت (Soltani *et al.*, 2010) بررسی‌های فیزیولوژیک در ارلن‌های با حجم۵۰۰ میلی‌لیتر محتوی ۳۰۰ میلـی‌لیتـر سوسپانسیون انجام شد. کشت‌هـا بـه مـدت ۱ سـاعت هـم زده شـده و سـپس بـه محفظـه روشـنایی منتقـل گردیدند. پیش از تلقیح نمونـه، بـه مـدت ۴۸ سـاعت جهت ایجاد سازگاری وارد محیط کشـت مـایع شـد. بررسی‌هـای مورفولوژیـک بـا اسـتفاده از نمونـه‌هـای زنده و نمونه‌های تثبیت شده درمونت گلیسرین انجام گرفتنـد (Shokravi *et al.*, 2005).بـرای مشـاهده و تشـــخیص از میکروســـکوپی نـــوری، فلورســـانس، فازکنتراسـت و فتـومیکروگراف‌هـای TEM اسـتفاده گردید. فتومیکروگراف‌ها توسط دپارتمـان بیولـوژی دانشـگاه اتونومـوس مادریـد (اسـپانیا) تهیـه گردیـد. شـکل و آرایـش تیلاکوییـدهـا و وضـعیت دانـه‌هـای سیانوفایسین و دیگر دانـه‌هـای ذخیـره‌ای، و شـکل و آرایـــش کربوکســـی زوم هـــا، از عمـــده‌تـــرین شاخص‌هایی بود که در تهیه فتومیکروگراف‌ها مورد توجه قرار گرفت. بررسی‌هـای مورفولوژیـک شـامل تجزیـه و تحلیـل‌هـای بیـومتری، وضـعیت اسـپورها، وضـعیت هتروسیسـت‌هـا، شـکل و فـرم اجتماعـات، وضـعیت غـلاف و بررسـی سـلول‌هـای رویشـی در دوره‌های یک و دو هفته‌ای پس از تلقیح بودند. برای ترسیم منحنی‌هـای رشـد از کـدورت سـنجی مطـابق Amirlatifi و همکـــاران (2006) اســـتفاده گردیـــد. آنـالیزهـای آمـاری بـا اسـتفاده از نـرم افـزارهـای SPSS Ver11، Sigmaplot Ver8 و Past انجام شد.

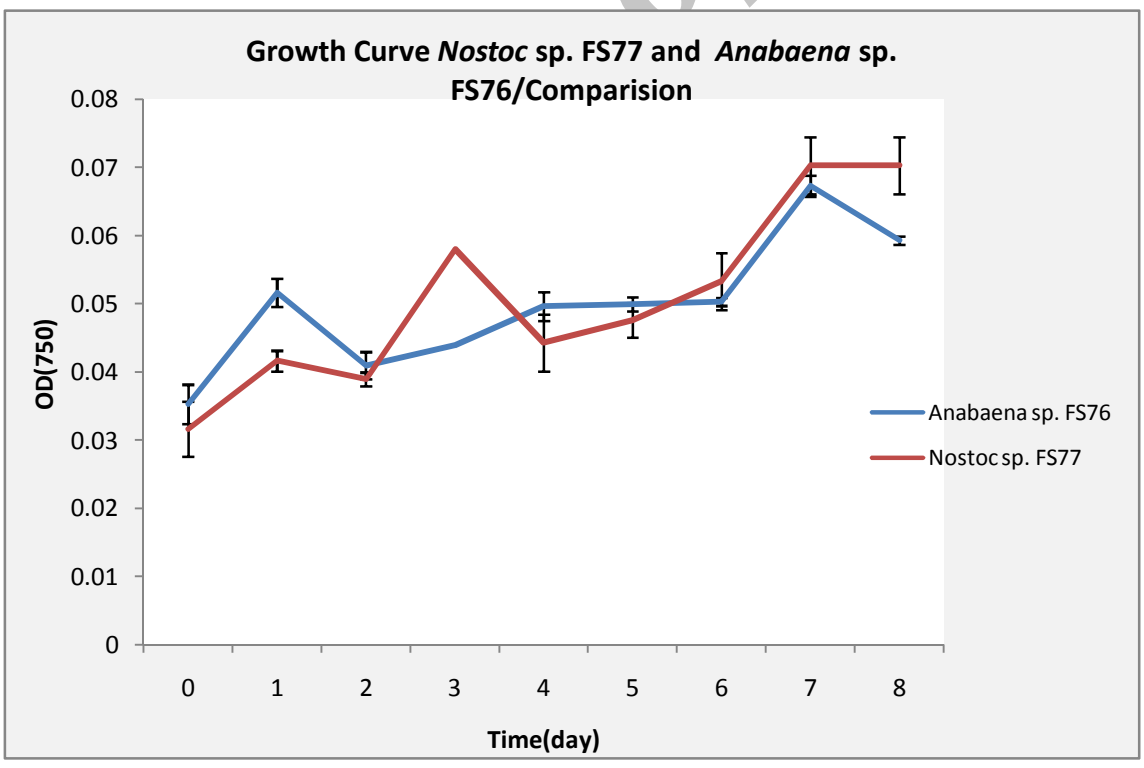
نتایج

دقت در منحنی‌های رشـد نشـان مـی‌دهـد کـه هـردو سیانوباکتری، آهنگ رشد تصاعدی خود را تا انتهای روز هشتم پس از تلقیح حفـظ مـی‌نماینـد (شـکل ۱). عـدم رشـد منفـی بخصـوص در روزهـای اول و دوم پـس از تلقـیح نشـان از سـازگاری بـا محـیط دارد

Archive of SID
www.SID.ir

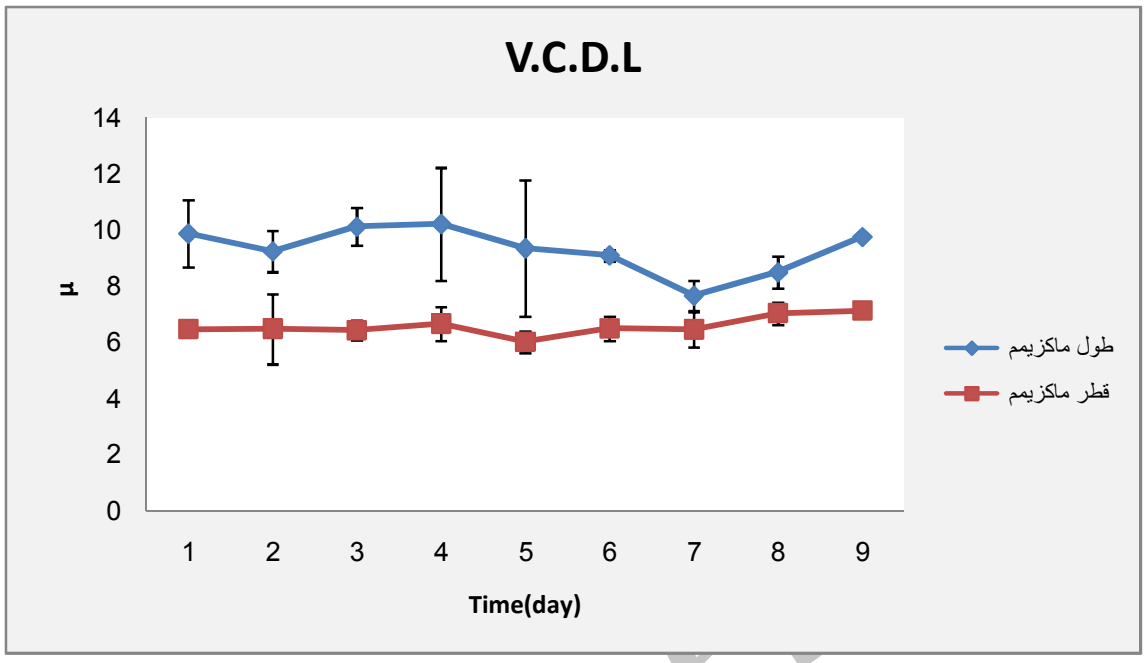
(Shokravi *et al.*, 2001). افزایش رشد هر دو نمونه در روز نخست پس از تلقیح این امر را تایید می‌نماید (شکل ۱). تجزیه و تحلیل‌های مربوط به نرخ رشد ویژه و ثابت تضاعف (در نتایج نیامده) نشان از عدم اختلاف معنی‌دار دارد (ANOVA, $P<0.05$). از این نظر می‌توان گفت که عواملی نظیر برون ریزش ترکیبات نیتروژنه، بویژه در طی فاز تصاعدی رشد، برای هر دو نمونه یکسان است و تاثیر تعیین کننده‌ای بر تجزیه و تحلیل‌های مورفولوژیک بر جای نمی‌گذارد (Shokravi and Sateei, 2005).

مقایسه میان طول سلول‌های رویشی در دو سیانوباکتری در این مقطع زمانی (شکل‌های ۲ و ۳)، نشان می‌دهد که الگوی تغییرات طول سلول‌های رویشی در دو سیانوباکتری متفاوت است. هرچند هر دو نمونه از نظر تغییر در طول سلول‌های رویشی، در روزهای اخر پس از تلقیح به نوعی ثبات نسبی می‌رسند (شکل‌های ۲ و ۳). از نظر تغییرات قطر، هماهنگی میان دو نمونه بیشتر است و آهنگ تغییرات قطر بیشینه سلول‌های رویشی در هر دو سویه، تقریبا از همان روز نخست نوعی ثبات نشان می‌دهد (شکل‌های ۲ و ۳). افزایش قطر در هر دو نمونه از روزهای پنجم به بعد (پس از تلقیح) جالب توجه است. در روزهای قبل از روز پنجم، در مقام مقایسه *Anabaena* sp.FS76 از نوسان بیشتری برخوردار است (شکل ۳).

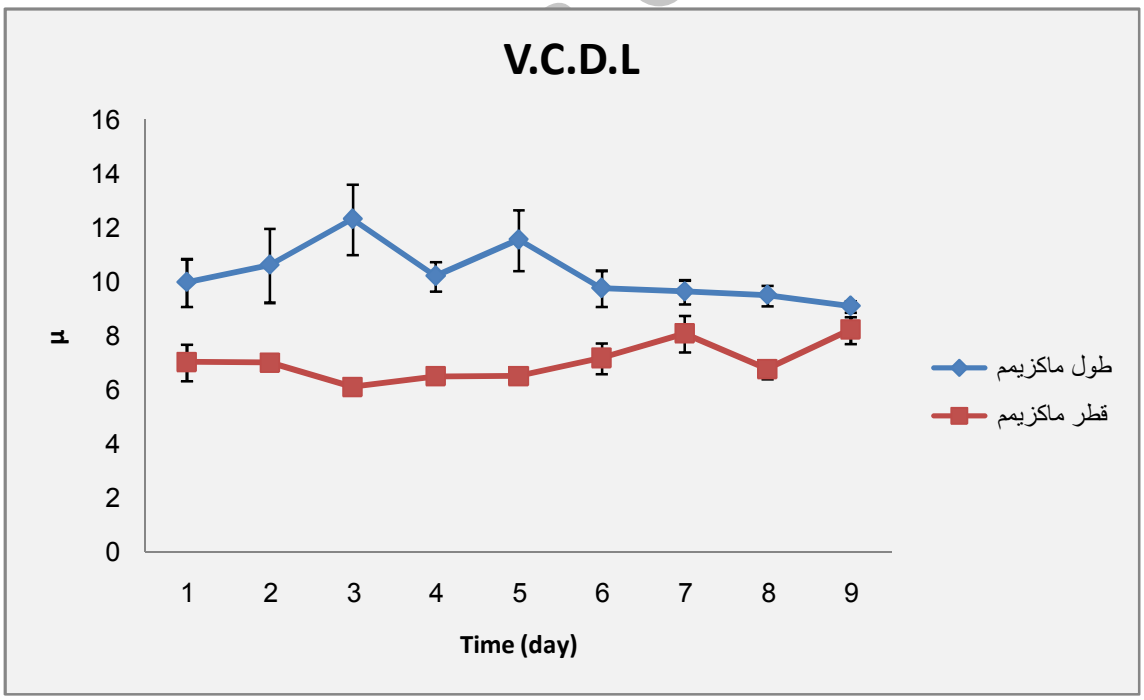


شکل ۱– منحنی مقایسه ای منحنی رشد سیانوباکتریوم‌های *Anabaena.* sp. Fs76 و *Nostoc* sp.Fs77

www.SID.ir



شکل ۲- منحنی مقایسه ای طول و قطر ماکزیمم سلول‌های رویشی *Nostoc* sp.Fs77 در روزهای اول تا نهم دوره رشد
V.C.D:vegetative cell diameter V.C.L=Vegetative cell length



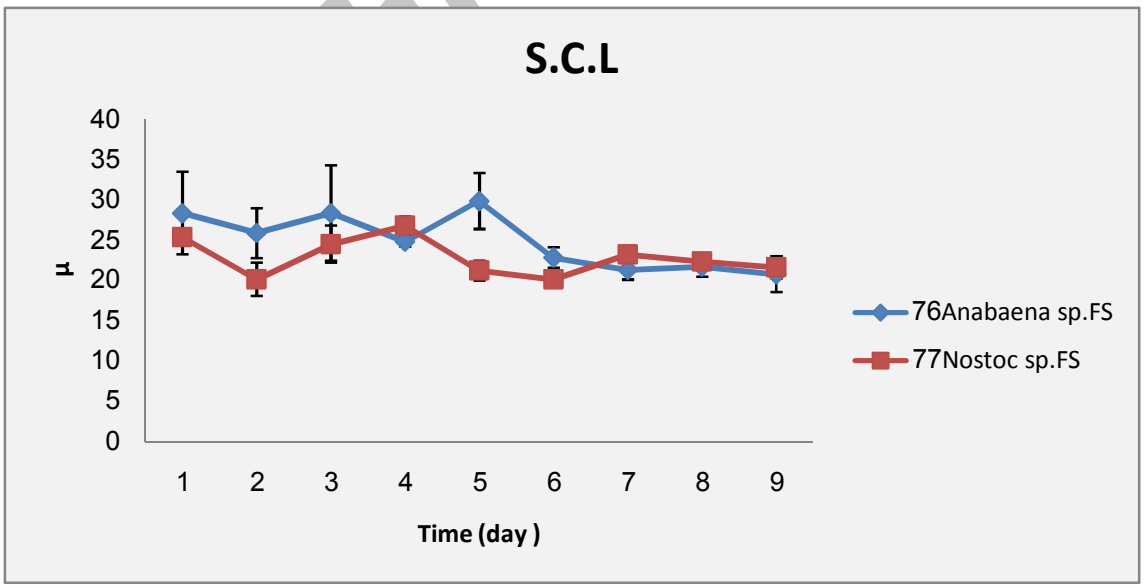
شکل ۳- منحنی مقایسه ای طول و قطر ماکزیمم سلول‌های رویشی *Anabaena* sp. Fs76 در روزهای اول تا نهم دوره رشد
C.D:vegetative cell diameter V.C..L:vegetative cell lenght

www.SID.ir

همانند سلول‌های رویشی، تغییرات ابعاد اسپور در هر دو نمونه از روز پنجم به بعد به نوعی ثبات می‌رسد (شکل ۴). در انتهای دوره اندازه گیری شده (روز نهم)، اختلاف طول سلول‌های رویشی از نظر آماری بی معنی می گردد (ANOVA,P<0.05). در هر دو سیانوباکتری، نوسان بیشینه اسپورها از ۲۰ تا ۲۵ میکرون فراتر نمی‌رود.

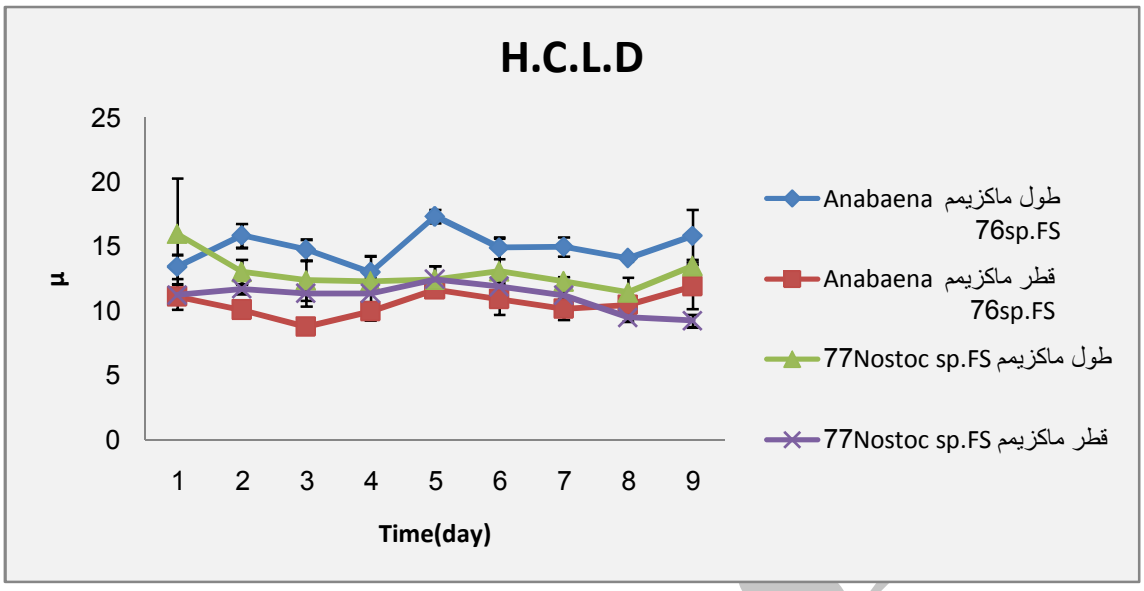
دقت در منحنی مقایسه‌ای ابعاد هتروسیست نشان می‌دهد که کاهش معنی دار در بیشینه طول هتروسیست در روزهای نخست پس از تلقیح در *Anabaena* sp.FS76، در روزهای بعد به تدریج تعدیل می گردد (شکل ۵). افزایش ناگهانی در قطر هتروسیست که در روز پنجم آغاز می گردد، در در روزهای دیگر ادامه نمی یابد و همانند سلول‌های رویشی و اسپورها آهنگ تغییر ابعاد ملایم تر می گردد (شکل ۵). بر خلاف بیشینه قطر، در هردو نمونه در روزهای انتهایی رشد، شاهد افزایش ناگهانی در طول هتروسیست‌ها هستیم که با طول قطرها همراه نیست (شکل ۵).

بررسی فتومیکروگراف‌های الکترونی (شکل‌های ۶ و ۷) نشان می‌دهد که در هر دو سویه، آرایش تیلاکوییدهای فتوسنتزی خطی و تقریبا مشابه یکدیگر است. علاوه براین شکل کروی و کروی – بیضوی اسپورها (شکل ۶) و عدم فشردگی دیواره در ریسه‌های *Anabaena* sp.FS76 قابل تشخیص می‌باشد (شکل ۶). پوشش ضخیم تر دیواره در سویه دیگر قابل توجه می‌باشد (شکل ۷). پراکنش کربوکسی زوم‌ها و دانه‌های فسفات به مراتب در *Nostoc* sp. Fs77 بیشتر می‌باشد (شکل ۷). به نظر می‌رسد که زمان بر این مسئله تاثیرچندانی ندارد. بررسی‌های روزهای پنجم (نشان داده نشده) و ششم (شکل‌های ۶ و ۷)، سوای تغییرات بیومتری (شکل‌های ۲ تا ۵) تغییر خاصی در فراساختار نشان نمی دهد.



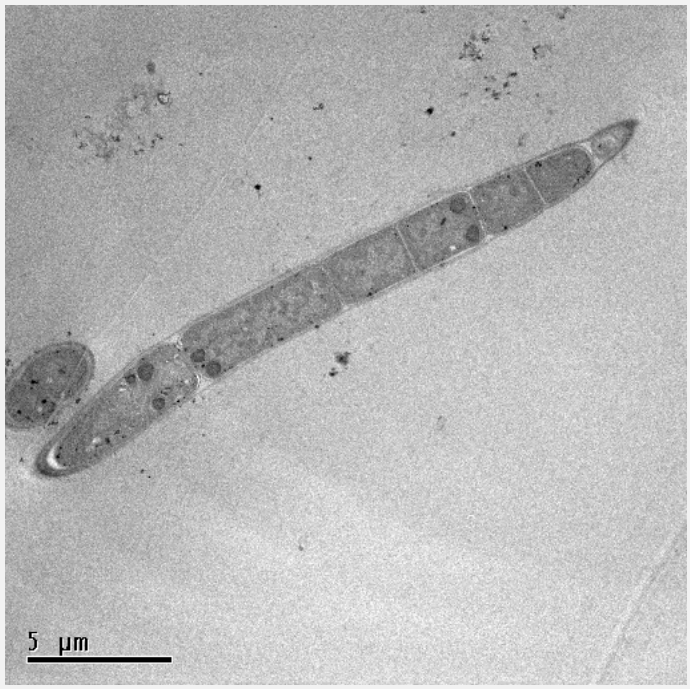
شکل ۴– مقایسه منحنی رشدماکزیمم سلولهای اسپور *Anabaena* sp.FS76 و *Nostoc* sp. FS77در روزهای اول تا نهم دوره رشد
S.C.L=Spore cell lengths

Archive of SID
www.SID.ir



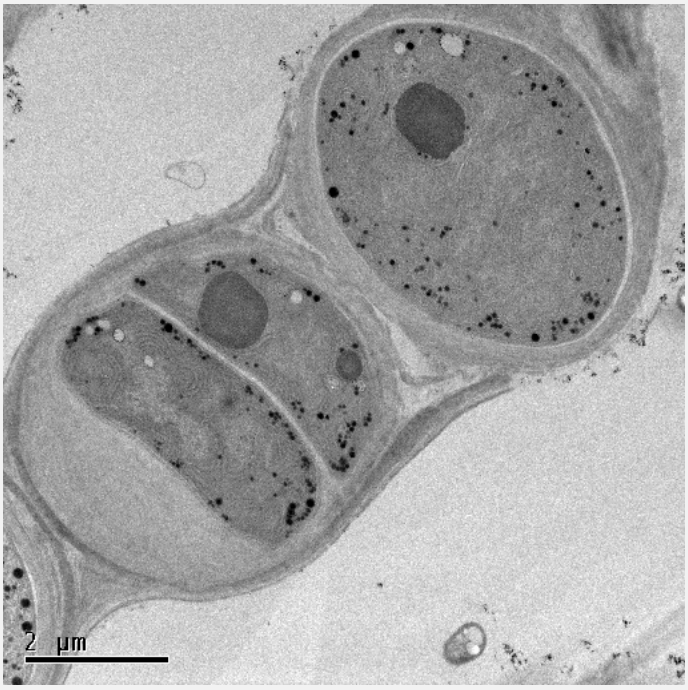
شکل ۵– منحنی مقایسه رشدماکزیمم و مینیمم سلول‌های هتروسیست *Nostoc* sp. FS77 و *Anabaena* sp.FS76 در روزهای اول تا نهم دوره رشد

H.C.L=Heterocyst cell length H.C.D=Heterocyst cell diamete



شکل ۶– فتومیکروگراف TEM ریسه ای کوتاه از سلول‌های رویشی در *Anabaena* sp. FS 76 در روز ششم پس از تلقیح

www.SID.ir



شکل ۷- فتو میکروگراف TEM سلول‌های رویشی *Nostoc* sp. FS77 در روز ششم پس از تلقیح

بحث

چنانکه ذکر گردید بررسی‌های مربوط به نشان ویژه سازی مورفولوژیک سیانوباکتری‌های نوستوکال در ایران محدود می‌باشد. در Shokravi و همکاران (2006) تنوع پذیری مورفولوژیک چهار سویه سیانوباکتری (دو سویه اسیلاتوریال و دو سویه استیگونماتال)، تاثیر عوامل محیطی نظیر نور و دی اکسید کربن را بر تغییر بیومتری و شکل ظاهری و انشعاب‌زایی (در خصوص اشکال استیگونماتال) تایید می‌نماید. در Soltani و همکاران (2010) تاثیر اسیدیته و قلیاییت و دی اکسید کربن بر تولید انشعاب و ابعاد سلول‌های رویشی، هتروسیست و اسپورهای سیانوباکتری *Fischerella* sp.FS18 نشان داده شده است. در Vakili و همکاران (2005) تاثیر تناوب‌های نوری بر رشد و فراوانی هتروسیست و در عین حال تغییرات مورفولوژیک سیانوباکتری *Fischerella ambigua* تایید شده است. با این همه بدلیل عدم بررسی سیانوباکتری‌های نوستوکال، در این خصوص و بویژه از منظر فراساختاری، آنچه ذکر می‌گردد، حداقل در ایران چندان مسبوق به سابقه نیست.

نتایج مقایسه بین سویه‌ها نشان دادکه *Anabaena* sp. FS76، تغییرات قابل ملاحظه‌ای را از نظر اندازه و شکل سلول‌ها در سه روز اول رشد نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد که فرم فضایی این گونه در این روز تغییر می‌کند. افزایش طول سلول‌های رویشی در این سویه در روزهای اول تا

Archive of SID
www.SID.ir

سوم پس از تلقیح با نتایج حاصل از بررسی‌های Jorjani و همکاران (2010) بر روی سیانوباکتری استیگونماتال *Hapalosiphon* sp. FS 56 مشابه است ولی در Jorjani و همکاران (2010)، این افزایش قطر بیشینه را هم شامل می‌شده است. در بررسی‌های Koohsari و همکاران (2010) بر روی همین سیانوباکتری، تاثیر محیط‌های مختلف نیتروژن معدنی و آلی بر این رشد بی‌تاثیر بوده است. به این ترتیب به نظر می‌رسد که این سویه همانند *Hapalosiphon* sp. FS 56 از نظر افزایش طول سلول‌های رویشی الگوی مشابهی نشان می‌دهد. همین تشابه در خصوص روز پنجم به عنوان روزی که از نظر تغییر ابعاد (چه در مورد سلول‌های رویشی و چه اسپور و چه هتروسیست)، میان دو سیانوباکتری صادق است. هم بستگی میان افزایش طول و رشد نمونه در دو روز اول، در روز سوم بر هم می‌خورد (R^2=0.26). بنابراین به نظر می‌رسد که الگوی رشد در این سویه برخلاف *Hapalosiphon* sp. FS 56 (Jorjani *et al.,* 2010) با تغییر طول رشد سلول‌های رویشی متفاوت است.

بررسی اجتماعات درمحیط مایع نشان می‌دهد که بر خلاف کشت‌های جامد، تجمع کلنی در محیط کشت مایع، در روز هشتم به میزان قابل توجه کاهش می‌یابد و این حالت تا پایان دوره باقی ماند. برای اینکه یک حکم کلی در خصوص تغییر شکل اجتماعات اعمال شود و به تمامی شرایط تعمیم یابد، البته می‌بایست تغییرات پس از این دوره نه روزه نیز مورد ارزیابی قرار گیرد و در عین حال تاثیر عوامل محیطی نظیر شدت و کیفیت نور، اسیدیته و قلیاییت، محتوای دی اکسید کربن، شوری و دیگر عوامل محیطی بر این تغییرات ارزیابی گردد (Shokravi *et al.,* 2001). در حد بررسی فعلی، تنها در همین حد می‌توان اظهار نظر کرد که در *Anabaena* sp. FS 76 تغییر رنگ از قهوه‌ای روشن به قهوه ای- سبز قابل توجه می‌باشد. تغییر محتوای فیکوبیلی پروتیین و نسبت کلروفیل به فیکواریترین و فیکوسیانین، در بررسی‌های Sasani و همکاران (2009) و Shakeri و همکاران (2009)، بر روی سیانوباکتری اسیلاتوریال *Oscillatoria* formosa، با نتایج این بررسی سازگار است. در Soltani و همکاران (2010) و Shokravi و Soltani (در دست انتشار) این تغییر بر روی سیانوباکتری‌های Fischerella sp. FS 18 و Hapalosiphon sp. FS 56 در شرایط متفاوت محیطی انجام شده که نتایج با بررسی‌های بدست آمده برروی این نمونه سازگار است. هرچند تغییر رنگیزه ای در Fischerella sp. FS 18 کمتر محسوس می‌باشد.

در هردو سیانوباکتری، نتایج بررسی‌های بیومتریک نشان می‌دهد که عموماً طول سلول‌های رویشی و اسپورها بیشتر از قطر آنها است. در بررسی‌های Sepehri و همکاران (2010) برروی سیانوباکتری‌های استیگونماتال استان گلستان، این امر تایید شده است منتهی در Shokravi و همکاران (2006) نشان داده شده است که در شدت‌های نوری بالا (۳۰۰ میکرومول کوانتا بر متر مربع درثانیه)، این رابطه یا معکوس می‌شود یا به سمت تساوی طول و قطر گرایش می‌یابد. با توجه به اینکه در حال حاضر عمده بررسی‌های انجام شده در شدت‌های نوری پایین و یا به حد افراطی پایین (در حد ۲ میکرومول کوانتا برمتر مربع در ثانیه) انجام شده است (Jorjani *et al.,* 2010; Ahmadi *et al.,* 2010;

Archive of SID
www.SID.ir

Kaviani *et al.,* 2010; Boshruye *et al.,* 2007; Shpkravi *et al.,* 2010) تاثیرشدت‌های نوری بالاتر از ۶۰ میکرومول کوانتا بر متر مربع در ثانیه بر تغییر ابعاد، تکرار نگردیده است. بنابراین امکان اظهار نظر قاطع وجود ندارد. بهرحال در بررسی انجام شده نکته قابل ذکر این است که سلول‌های رویشی Anabaena sp. FS76 تمایل قابل توجهی از نظر تغییر اندازه و شکل نشان می‌دهند. طول سلول‌های رویشی از اولین روز تا روز دهم نسبت به قطر بیشتر است، اما در روز دهم تا پایان دوره به حالت معکوس تغییر می‌یابد، به همان حال باقی می‌ماند. تفسیر این تغییر شکل حداقل از طریق مسئله رشد امکان پذیر نیست چون بررسی منحنی رشد نشان می‌دهد که بر خلاف سیانوباکتری Nostoc sp. Fs77، در این نمونه شاهد سقوط رشد در روزهای آخر تلقیح هستیم و از این رو، نمی توان این مسئله را به سازگاری برای ادامه رشد در فاز تصاعدی نسبت داد (Poza-carion *et al.,* 2001).

میان افزایش ابعاد هتروسیست در هر دو سویه و رشد در روزهای آخر بررسی همبستگی مثبت وجود دارد (R2=0.83) اگر آنچه در بررسی‌های Ahmadiو همکاران (2010) و Kaviani و همکاران (2010) در خصوص رابطه بین افزایش ابعاد هتروسیست و فعالیت نیتروژنازی در سیانوباکتری Hapalosiphon sp. FS 56 آمده است، به عنوان دلیلی برای افزایش توان فعالیت سیستم همگون سازی نیتروژن گرفته شود (Stal, 1995) می‌توان این افزایش رشد را توجیه کرد. در بررسی‌های Shokravi و همکاران (در دست انتشار) بر روی *Hapalosiphon* sp. FS 56 میان ابعاد هتروسیست و افزایش توان نیتروژنازی در این روزها همبستگی معنی داری مشاهده گردیده است. هرچند تغییر شکل هتروسیست‌ها از استوانه‌ای به تحت استوانه‌ای در این روزها درسیانوباکتری‌های نوستوکال مورد بررسی دراین پژوهش مشاهده نشده است.

اگر چه در Gastenholdz (2001) روی ویژگی‌های فراساختاری به عنوان یک شاخص مهم طبقه بندی تاکید شده است، با این همه در استان گلستان، بررسی فراساختاری در خصوص سیانوباکتری‌های خاک انجام نگرفته است. در بررسی‌های Soltani و همکاران (2009) بر روی سیانوباکتریوم *Fischerella* sp. FS 18، وضعیت خطی و کمانی تیلاکوییدها به عنوان یک شاخص مورد توجه قرار گرفته است، اما چون هدف بررسی‌های آنتی باکتریال و اکوفیزیولوژیک بوده است، به اشاره اکتفا گردیده است. در Soltani و همکاران (2010) همین نمونه با هدف تاکسونومی ترکیبی بررسی گردیده است و به وضعیت تیلاکوییدها به عنوان یک شاخص تاکید شده است. وضعیت گرانول‌های ذخیره‌ای و کربوکسی زوم‌ها در بررسی‌های انجام شده در ایران، تا کنون مورد توجه قرار نگرفته است. در این پژوهش، مقایسه ابتدایی نشان می‌دهد که در هردو سیانوباکتری، در آنالیزهای فراساختاری، آرایش تیلاکوییدهای فتوسنتزی در در طول دوره تغییر محسوسی نداشته، به طور نسبی به شکل خطی باقی مانده‌اند. در *Nostoc* sp. FS77 کربوکسی زوم و دانه‌های فسفات تنوع شکلی بیشتری در مقایسه با *Anabaena* sp. FS 76 نشان دادند (مکاتبه با پروفسور ادواردو فرناندز والینته از داشنگاه

Archive of SID
www.SID.ir

اتونومـوس مادریـد). ظهـور کربوکسـی زوم‌هـای درشت و واضح در سیانوباکتری *Nostoc* sp. FS77 در روز ششم پس ازتلقیح، می‌تواند با افزایش فعالیت فتوسـنتزی در ارتبـاط باشـد. بـه همـین ترتیـب تنـوع دانه‌هـای سیانوفایسـین و دانـه‌هـای فسـفات، ناشـی از نـوعی پـیش بینـی بـرای شـرایط احتیـاطی کـاهش نیتـروژن و فسـفات مـی‌باشـد (Richmond, 1988). برای توجیه این پدیده، با توجه به شرایط عادی، دلیل موجهی وجود نـدارد. رشـد در ایـن سـیانوباکتری بـا نوسان شدید مواجه نیسـت و از طرفـی سـقوط معنـی دار منحنی رشد و نیز ابعاد هتروسیست‌ها در روزهای پس از روز ششم مشاهده نمی‌گردد کـه بتـوان آن را توجیهی برای افزایش دانـه‌هـای ذخیـره‌ای و افـزایش فعالیت فتوسـنتزی دانسـت. بـه‌هرحـال سـوای توجیـه اکوفیزیولوژیـک، در حـال حاضـر ایـن تفـاوت را می‌توان نوعی تاییـد دال بـر اسـتفاده از شـاخص‌هـای فراسـاختاری در بررسـی‌هـای مورفولوژیـک و تاکسونومیک دانست.

نتیجه‌گیری

دو گونه سیانوباکتری نوسـتوکال *Nostoc* sp. FS77 و *Anabaena* sp.FS76، برای تعیین سـاختار واقعـی تاکسـونومیک خـود نیازمنـد نشـان ویـژه سـازی مورفولوژیک دقیق هستند. با توجه به این که ایـن دو گونه تا کنون در استان گلستان بررسی نگردیـده‌انـد، این پژوهش به عنوان گام نخست می‌تواند حائز نتایج قابل عنایـت باشـد. ایـن بررسـی نتـایج نشـان داد کـه سلول‌های رویشی، اسپورها و هتروسیست‌ها در هردو گونـه در طـول زمـان دچـار تغییـر مـی‌شـوند کـه بـا تغییرات منحنی رشد و فراساختار بـویژه در روزهـای اول و پایانی دوره بررسی شده (نه روزه) قابـل توجـه می‌باشـد. فراسـاختار گونـه *Anabaena* sp.FS76 از نظر تجمع دانه‌های سیانوفایسـین و مـواد ذخیـره‌ای بـا *Nostoc* sp. FS77 متفـاوت مـی‌باشـد کـه بـویژه در تجمـع دانـه‌هـای ذخیـره‌ای مشـهود اسـت. بـرای بررسـی‌هـای دقیـق تـر، بـا توجـه بـا اهمیـت بیوتکنولوژیـک احتمـالی نمونـه، نیـاز بـه نشـان ویـژه سازی تاکسونومیک در ارتباط با عوامل محیطی و بـه صورت چند وجهی (پلی فازیک) ضروری می‌باشد.

سپاسگزاری

نگارندگان وظیفه خود می‌دانند از سرکار خانم دکتر ندا سلطانی (پژوهشـکده علـوم پایـه کـاربردی جهـاد دانشگاهی دانشگاه شهید بهشتی) بـه سـبب همکـاری ارزنده در تهیه نمونه و نیز پروفسـور ادواردو فرنانـدز والینته و پروفسور آسون دروس ریس (بخش زیسـت شناسی، دانشگاه اتونومـوس مادریـد) بـه سـبب تهیـه میکروگراف‌های الکترونی و تفسیر آن ها سپاسـگزار باشند. سپاس ویژه از سرکار خـانم کیـایی کارشـناس محتـرم آزمایشـگاه تحقیقـات دانشـگاه آزاد اسـلامی واحد گرگان ضروری است.

منابع

Ahmadi, H., Sh. Shokravi and N. Soltani (2010). Studying of viability and growth of the soil cyanobacterium at combination effects ofsalinity pH and Carbon dioxide availability., Thesis of Plant Science (M.S.c), Islamic Azad University, Gorgan Branch.

Amirlatifi, F., Sh. Shokravi and M. Olamaei (2006). Studying of viability and growth of the soil cyanobacterium at pH and Carbon dioxide limited conditions., Thesis of Plant

Archive of SID
www.SID.ir

Kaviani, A., S.H. Shokravi and N. Soltani (2010). Studying of acclimation of soil cyanobacterium todifferent light – dark limited duration, pH and carbon dioxide concentrations.Thesis of Plant Science (M.S.c), Islamic Azad University, Gorgan Branch.

Koohsari, M., S.H. Shokravi and M. Dezfoolian (2010). Morphological characterization of blue-green microalgae (*Hapalosiphon* sp) in different N-medium., Thesis of Plant Science (M.Sc.), Islamic Azad University, Gorgan Branch.

Monadi, N., S.H. Shokravi and A. Sateei (2009). Microalgae as biological shields in agriculture – Studying of acclimation of soil microalgae to extreme conditions caused by possibly military attacks with morphological variation strategy., Thesis of Plant Science (M.Sc.), Islamic Azad University, Gorgan Branch.

Poza-Carrión, C., E. Fernández-Valiente, F.F. Piñas and F.Leganés (2001). Acclimation to photosynthetic pigments and photosynthesis of the cyanobacterium Nostoc sp. strain UAM206 to combined fluctuations 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 Publication.

Richmond, A, (1986). The response of cyanobacteria to salt stress. Clarendon press. Oxford, 217-2B1.

Safaie, M., S.H. Shokravi, M. olamaie and N. Soltani (2006). Studying of acclimation of soil cyanobacterium to salt streeses in laboratory conditions irradiances., Thesis of Plant Science (M.Sc.), Islamic Azad Science (M.Sc.), Islamic Azad University, Gorgan Branch.

Anagnostidis, K. and J. Komarek (1990). Modern approaches to the classification of cyanobacteria. Stigonematales.- Archieves for hydrobiology supl, 4: 224-286.

Boshruye, A., Sh. Shokravi and N. Soltani (2007). Studying of physiological responses of agriculture land protected microalgae to extreme temperature conditions resulted from possibly military attacks., Thesis of Plant Science (M.Sc.), Islamic Azad University, Gorgan Branch.

Castenholz, R. W. (2001). *Class I: "Chloroflexi".- In:* Boone, D. R.; Castenholz, R. W. and Garrity, G. M. (Eds.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Springer-Verlag New York.

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

Geitler, L. (1932). Cyanophyceae von Europa Kryptogamen flora Akademiche Verlagsgesellschaft.- Leipzig.

John, D.M., B.A. Whitton and A.J. Brook (2003). The freshwater algal florao fthe British Isles,and identification guide to fresh water and terrestrial algal. cambridge university press.

Jorjani, S., S.H. Shokravi and M. Dezfoolian (2010). Studying of Morphological variation of soil cyanobacterium at combination effects of pH and Carbon dioxide at the extreme limited irradiances., Thesis of Plant Science (M.Sc.), Islamic Azad University, Gorgan Branch.

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

Archive of SID
www.SID.ir

Siahbalaie, R., S. Afsharzadeh and S.H. Shokravi (2006). Studying of algae filamentus in Golestan province., Thesis of Plant Science (M.Sc.), Esfehan university.

Soltani, N., R. Khavari-Nejad, M. Tabatabaieyazdi, S.H. Shokravi and E.F. Valiente (2009). Studying of antimicrobial and physiological effects cyanobacterium at the extreme enviromentes., Thesis of ph.D of Plant Science,.tarbiat moalem in tehran.Depateman of biology .

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

Spehri, S., T. Nejad satari and S.H. Shokravi (2010). Studying of cyanobacteria Golestan province stigonamtales., Thesis of Plant Science (M.Sc.), Islamic Azad University, science and reserch Branch.

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

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

University, Gorgan Branch.

Sasani, Z., S.H. Shokravi, R. Khalilzadeh and A. Sateei (2009). Studying of acclimation of microalgae as possible shields in agriculture at extreme Carbon dioxide concentrations included by possibly military attacks., Thesis of Plant Science (M.Sc.), Islamic Azad University, Gorgan Branch.

Shakeri, Z., S.H. Shokravi, R. Molaeii raad and N. Soltani (2009). Microalgae as biological shields in agriculture – Studying of toleration of extreme acidic and alkaline condition included by chemical attacks in possibly protecting agricultural microalgae., Thesis of Plant Science (M.Sc.), Islamic Azad University, Gorgan Branch.

Shokravi, S.H., M. Safaie and F. Amirlatifi (2010). Ecophysiological characterization of cyanobacterium lyngbya sp.Fs33 agardh collected from paddy-fields of golestan province,Quarterly Jornal on Plant Sciences Researches.

Shokravi, S.H. and A. Sateei (2001). Studying potansil Certain Potent in paddy-fields,report of resercg projects,resrch deputy, Islamic Azad University, Gorgan Branch.

Shokravi, S.H. and A. Sateei (2005). Morphological Characterization of Certain Potent Strains of Cyanobacteria of Golestan Province., resercg projects, Islamic Azad University, Gorgan Branch.

Shokravi, S.H., N. Soltani and L. Baftechi (2001). Technology edition of cyanobacteria as biology compost in paddy field council of researches in perisdental, institute apply science ,shahid beheshti University.

Shokravi, S.H., N. Soltani and L. Baftechi (2006). Cyanobacteriology .one Edition. Islamic Azad university, Gorgan Branch.

Archive of SID

www.SID.ir