نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال نهم، شماره ۳۶، زمستان ۱۳۹۳ / صفحات: ۹۵-۸۶

ارزیابی پتانسیل سیانو باکتر (جلبک سبز- آبی) *Nostoc* sp. FS77 در شرایط خارج آزمایشگاه با رویکرد شناخت کاربردها در بیوتکنولوژی کشاورزی

بهجت ایمانی*[1]، شادمان شکروی[2]

[1]دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گرگان

[2]دانشیار گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گرگان

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۷ تاریخ پذیرش:۹۳/۵/۲۰

چکیده

هدف پژوهش مطالعه بقاء، رشد و خوگیری جلبک سبز آبی *Nostoc* sp.FS77 جمع آوری شده از استان گلستان بصورت تلقیح ریز جلبک در شرایط طبیعی خارج آزمایشگاه بود. پس از جداسازی و تلخیص، نمونه در محیط کشت مایع BG0-11 تحت شدت نور ۲ میکرومول کوانتا برمترمربع در ثانیه، دمای ۲۸ درجه سانتی گراد و روشنایی سفید مداوم و عدم تلقیح دی اکسید کربن قرار گرفت. سپس نمونه به ۹ ظرف پلی اتیلن با ابعاد ۳۰×۲۰ سانتی متر در ردیفی از گودال‌های حفر شده درزمین منتقل گردید. تلقیح یک لیتر در هر ظرف محیط کشت با مقدار مساوی سوسپانسیون جلبکی انجام شد. پاسخ‌های اکوفیزیولوژیک و فیزیولوژیک براساس روش‌های رایج جلبک شناسی حاکی از رفتارهای متفاوت نمونه در محیط طبیعی بود. بررسی منحنی رشد نشان داد که نمونه در نخستین روزهای پس از تلقیح فاقد فاز منفی رشد و تأخیری است. این مسئله در مورد فعالیت‌های فیزیولوژیک نمونه نیز صدق می‌کند. سیستم فتوسنتزی شامل رنگیزه‌های فیکوبیلی پروتئینی از جمله آلوفیکوسیانین، فیکوسیانین، فیکواریترین و رنگیزه‌های کلروفیلی در طی دو هفته دارای افزایش معنی‌دار بود. میزان برون ریزش آمونیوم با پیشرفت زمان و افزایش زیست توده شدت یافت. نتایج حاصل در تطابق با دیگر رفتارهای این سیانوباکتری در محیط طبیعی، نشان داد که نمونه حاضر کاندید مناسبی برای اهداف آینده بیوتکنولوژی کشاورزی ازجمله کود زیستی، اصلاحگر خاک و اکوسیستم می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: بیوتکنولوژی، خوگیری، رشد، سیانوباکتری، کشت خارج آزمایشگاه، گلستان، نوستوک

مقدمه

استان گلستان از قطب‌های مهم کشاورزی و دامپروری کشور محسوب می‌شود به همین دلیل دارای گونه‌های خاص از جانداران متفاوت است. با توجه به اینکه جلبک‌های سبز- آبی (سیانوباکتری‌ها) دارای ابعاد کاربردی جهت استفاده در زیست فناوری کشاورزی می‌باشند متأسفانه اطلاعات موجود، به خصوص در اکوفیزیولوژی وفیزیولوژی سیانوباکتری‌های شالیزارها و زمین‌های کشاورزی اندک است و اغلب سیانوباکتری‌های استان و کاربردهای آن‌ها ناشناخته‌اند (شکروی و همکاران، ۱۳۸٤). سیانو باکتری‌ها متعلق به شاخه سیانوفیتا می‌باشند. در پژوهش‌های اخیر به جلبک‌های خاک زی توجه زیادی شده است از جمله سیانوباکترها در مزارع برنج که در حفظ حاصلخیزی مزارع از طریق

*نویسنده مسئول: imani.behjat@gmail.com

تثبیت نیتروژن حائظ اهمیت هستند (Jeong-Dong, 2006). با توجه به توان بالقوه سیانوباکتری‌های هتروسیست‌دار در تثبیت ازت اتمسفری، اهمیت این موجودات در تأمین ازت مزارع کشاورزی و افزایش محصولات از جمله غلات که غذای اصلی مردم جهان است، آشکار می‌شود (Fogg, 1973). استفاده از سیانوباکتری‌ها به عنوان کودهای بیولوژیک، ضمن افزایش کارایی حاصل از افزودن کودها به مزارع از ضررهای ناشی از کودهای شیمیایی نیز می‌کاهد. امیرلطیفی و همکاران (۱۳۹۱) در یک مطالعه سیانوباکتری نوستوک را در محیط‌هایی با pH متفاوت تلقیح دادند و ظرف روزهای اول فاز تصاعدی رشد را مشاهده نمودند و نتیجه گرفتند که نمونه از نظر سازگاری توان بالایی دارد و می‌تواند در شرایط pHهای افراطی نیز بقاء و رشد داشته باشد. ولی شرایط قلیایی pH بیش ترین نرخ رشد را به آنها نشان داد. این توانمندی‌ها تحت تأثیر عوامل محیطی هستند که هر سیانوباکتری در مزارع با آن رو به رو است و این نتایج با دست یافته‌های ما در شرایط خارج آزمایشگاه مطابقت دارد. طبق بررسی عباسی و همکاران (۱۳۹۱) در مجموع انعطاف پذیری مورفولوژیک این سیانوباکتری نشان از توانمندی بالای آن به عنوان کاندیدای کود زیستی در زمینه ی علوم زیست فناوری دارد. امروزه بیش تر جنبه‌های کاربردی سیانوباکتری‌ها بعنوان کود بیولوژیک و تثبیت نیتروژن، تهویه کننده و اصلاحگر خاک و اکوسیستم، موضوع تحقیق است. به این منظور، ابتدا باید توان رشد و بقاء و خوگیری سیانوباکتری‌ها در محیط طبیعی بررسی شود (Jeong-Dong, 2006). تحقیقات نشان می‌دهد که تثبیت نیتروژن حاصل از سیانوباکتری‌ها پس از رشد و تجزیه سلول‌ها در دسترس گیاه قرار می‌گیرد و باعث افزایش محصول می‌شود، به همین دلیل به سیانوباکتر ی‌ها، کود زنده نیز گفته می‌شود (Hedge, 1988).

سیانوباکترها علاوه بر برون ریزش ترکیبات نیتروژنه و تثبیت ازت، قادرند ترکیبات متعدد ازجمله هورمونی، آنتی بیوتیک، ویتامین B_{12}، اکسین‌ها و اسیدآسکوربیک را برون ریزش نمایند که ممکن است این مواد سهمی در رشد محصولات کشاورزی داشته باشند (Hashem, 1998). با توجه به مشاهدات عباسی و همکاران (۱۳۹۱) آمونیوم نه تنها سبب کاهش اندازه و تحلیل رفتن سلول‌های رویشی نمی‌شود، بلکه بر ابعاد آن‌ها می افزاید. رشد و تثبیت سیانوباکتری‌ها در محلی معین به شدت تحت تأثیر عوامل فیزیکی و شیمیایی است (Desikachary, 1959). هدف از این پژوهش بررسی بقاء، رشد، خوگیری و سنجش پاسخ‌های فیزیولوژیک و اکوفیزیولوژیک سیانوباکتریوم *Nostoc* sp. FS77 جمع‌آوری شده از استان گلستان برای اولین بار بصورت تلقیح ریز جلبک در شرایط محیط طبیعی خارج آزمایشگاه به منظور شناسایی توانمندی‌های نمونه در زمینه بیوتکنولوژی کشاورزی بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های خاک از استان گلستان جمع‌آوری شدند. کشت نمونه‌های خاک مطابق روش کشت سیانوباکتری‌های خاکزی انجام گرفت. پس از تشکیل کلنی، جدا سازی و کشت‌های بعدی، سیانوباکتری *Nostoc* sp. به‌صورت خالص تهیه گردید (Kaushik, 1987). شناسایی مقدماتی با استفاده از John و همکاران (۱۹۸۷)؛ Geitler (۱۹۳۲)؛ Desikachary (۱۹۵۹)، Prescott (۱۹۶۲)؛ Anagnostidis and Komarek (۱۹۹۰) انجام گرفت. کشت در محیط مایع BG0-11 و در شرایط نوری ۲ میکرومول کوانتا بر مترمربع بر ثانیه (که توسط لامپ فلورسانت تأمین

می‌گشت)، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و pH=۷/۲ انجام گرفت (Soltani et al., 2010). بررسی‌های فیزیولوژیک در ارلن‌های با حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر محتوی ۱۰۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون انجام شد. کشت‌ها به‌مدت ۱ ساعت هم زده شده و سپس به روشنایی منتقل گردیدند. پیش از تلقیح نمونه، به‌مدت ٤٨ ساعت جهت ایجاد سازگاری وارد محیط کشت مایع شد. نمونه سیانوباکتریوم در محیط مایع BG0-11 مورد بررسی قرار گرفت که فاز رشد نمونه ترسیم و وضعیت رنگیزه‌ای بررسی گردید. سپس نمونه به ۹ ظرف پلی‌اتیلن با ابعاد ۲۰×۳۰ سانتی‌متر در مجاورت هم در گودال‌های حفر شده در مزرعه کشاورزی (شبیه سازی کشت حوضچه‌ای) منتقل گردید. تلقیح به صورت یک لیتر در هر ظرف محیط کشت به همراه مقدار مساوی سوسپانسیون جلبکی انجام شد. به‌منظور سنجش‌ها هنگامی که جلبک در فاز رشد قرار داشت. در دو مرحله بررسی انجام شد، نخست از نمونه داخل آزمایشگاه و دوم از نمونه شرایط طبیعی، ٥-٤ میلی‌لیتر از آن را برداشته و ODها با اسپکتروفتومتر در طول موج‌های مختلف بررسی شدند (Suda et al., 2002). رشد با اندازه‌گیری وزن خشک به روش Legnes و همکاران (۱۹۸۷) سنجیده شد. برای اندازه گیری محتوای کلروفیل از روش اسپکتروفتومتری استفاده گردید بدین منظور سلول‌ها با استفاده از متانول خالص برای ٢٤ ساعت در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد، استخراج شد و OD سوپرناتانت با اسپکتروفتومتر در ٦٦٥ نانومتر سنجیده شد (Marker, 1972).

به‌منظور سنجش قند کل، به سوسپانسیون جلبکی تولوئن اضافه شد و پس از ٢٤ ساعت انکوباسیون در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد فنل ۸۰ درصد و اسیدسولفوریک خالص به‌صورت قطره‌ای افزوده شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق ورتکس انجام گرفت و در نهایت کدورت سنجی عصاره استخراج شده با اسپکتروفتومتر در ٤٨٥ نانومتر سنجیده شد (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱). برای اندازه‌گیری فیکوبیلی پروتئین‌ها، ابتدا سلول‌ها با کمک گلیسرول تحت شوک اسمزی قرار گرفت، سپس با افزودن استات سدیم جذب فیکوبیلی پروتئین‌ها با اسپکتروفتومتردر طول موج‌های مختلف ٥٦٢، ٦١٥ و ٦٥٢ خوانده و سنجیده شد (Wyman and Fay,1986). سنجش میزان پروتئین به روش شکروی و همکاران (۱۳۸۱) انجام گرفت، بدین صورت که با استفاده از محلول Lowery splution و سانتریفیوژ، سلول‌ها هموژنیزه شدند و بعد از ۲۰ دقیقه استراحت در اتاق تاریک محلول فولین افزوده شد. در نهایت پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون سوپرناتانت حاصل با اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۵۰ نانومتر سنجیده شد.

میانگین و انحراف معیار حداقل سه تکرار انجام شد. تحلیل‌های آماری چند مؤلفه اصلی، همبستگی، آنالیزهای واریانس ۲ عاملی با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS Ver18، Excel 2007 انجام گردید.

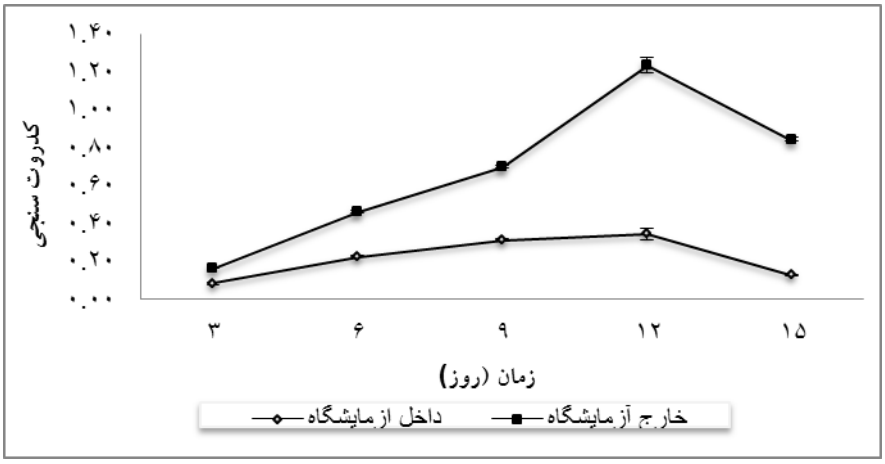
نتایج

دقت در جدول زمان مضاعف شدن و ثابت ویژه رشد نشان می‌دهد که سیانوباکتریوم دارای زمان تضاعف بیشتر و نرخ رشد کمتر در کشت داخل آزمایشگاه و حالت بالعکس در محیط طبیعی می‌باشد. نتایج حاکی از آن است که سازگاری نمونه در شرایط طبیعی بیشتر است (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه مقدار نرخ رشد و زمان تضاعف سیانوباکتری *Nostoc* sp. FS 77 .

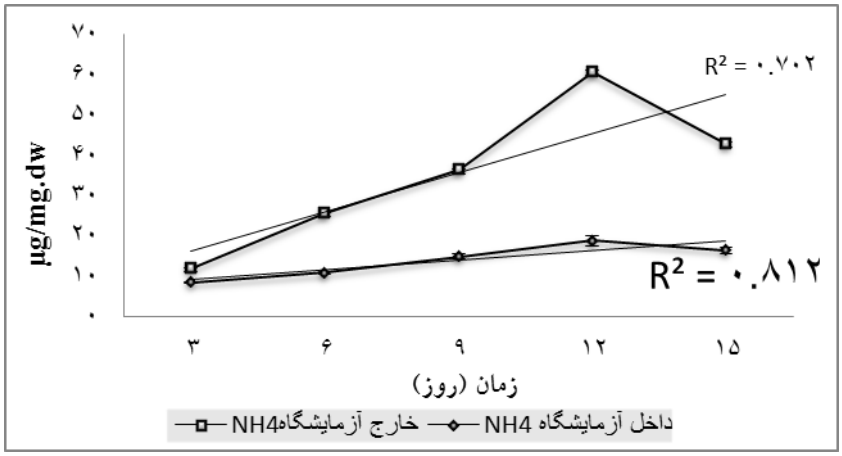
شرایط	زمان تضاعف (G)	ثابت ویژه رشد (μ)
کشت داخل آزمایشگاه	۲/۷۳۹	۰/۲۵۳
کشت خارج آزمایشگاه	۱/۷۷۸	۰/۳۹

ملاحظه در منحنی‌های رشد نشان می‌دهد که سیانوباکتری، آهنگ رشد تصاعدی خود را تا انتهای روزدوازدهم پس از تلقیح حفظ می‌نمایند. مقایسه منحنی مربوط به نمونه کشت شده در داخل و خارج آزمایشگاه می‌باشد که نتایج نشان از آن داشته که در شرایط طبیعی نمونه رشد بیشتری دارد (شکل ۱).



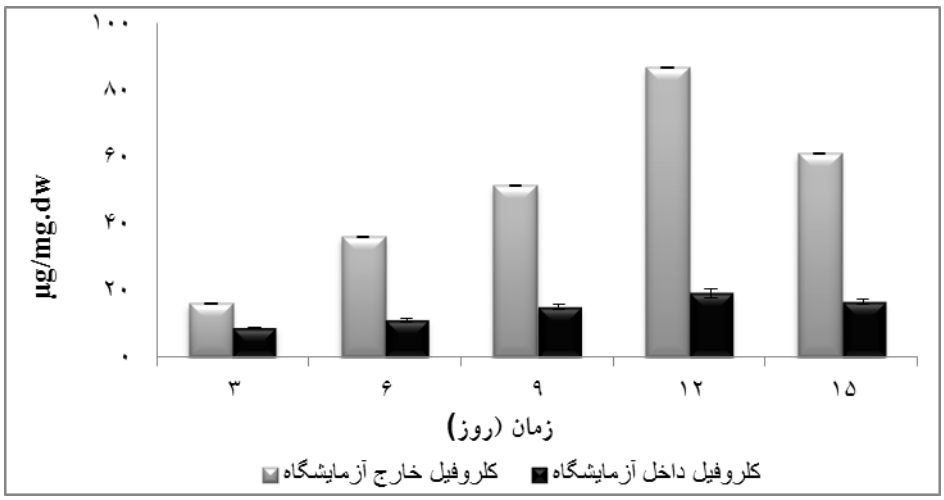
شکل ۱: مقایسه منحنی رشد سیانوباکتری *Nostoc* sp. FS 77 در شرایط داخل و خارج آزمایشگاه.

طبق مشاهدات، مقدار برون ریزش آمونیوم در شرایط طبیعی در روز دوازدهم پس از تلقیح افزایش چشمگیری داشته و در مقایسه با همبستگی رشد نمونه هماهنگی معنی دار وجود دارد، به علت اینکه در روز دوازدهم میزان توده زنده نیز بالا رفته و پس از آن کاهش می‌یابد می‌توان اظهار کرد که انتقال نمونه به شرایط طبیعی، سبب تحریک برون ریزش آمونیوم می‌گردد (شکل ۲).

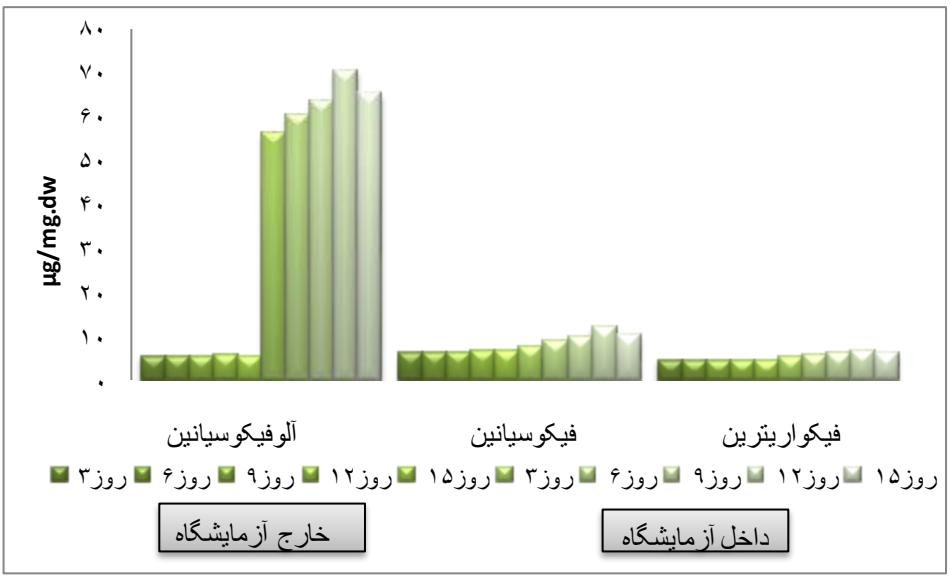


شکل ۲: مقایسه همبستگی رشد با برون ریزش آمونیوم سیانوباکتری *Nostoc* sp. FS 77 در شرایط داخل و خارج آزمایشگاه

بررسی رنگیزه‌ای نمونه از دو شرایط محیط داخل و خارج آزمایشگاه انجام گرفت. نتایج نشان دهنده روند افزایشی کلروفیل تا روز دوازدهم پس از تلقیح می‌باشد که میزان تولید کلروفیل در محیط طبیعی بسیار بیشتر از داخل آزمایشگاه است (شکل ۳). همچنین بیشترین میزان رنگیزه‌های فیکو بیلی پروتئینی مربوط به آلوفیکوسیانین در شرایط محیط خارج آزمایشگاه می‌باشد (شکل ٤). چنانچه مشاهده می‌شود روند افزایش رنگیزه‌های نمونه تماماً دارای ثبات می‌باشد و این مورد نشان‌دهنده توانمندی نمونه در سازگاری و خوگیری با شرایط متفاوت است.

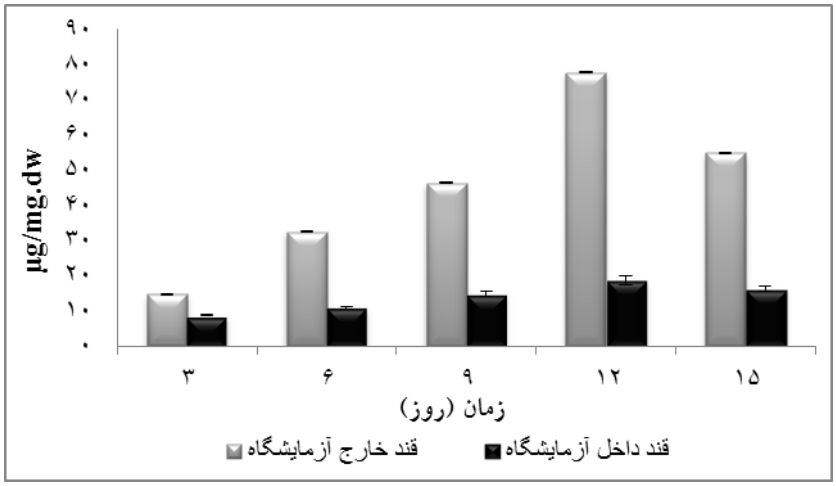


شکل ۳: هیستوگرام مقایسه رنگیزه ی کلروفیلی سیانوباکتری *Nostoc* sp. FS 77 در شرایط داخل و خارج آزمایشگاه

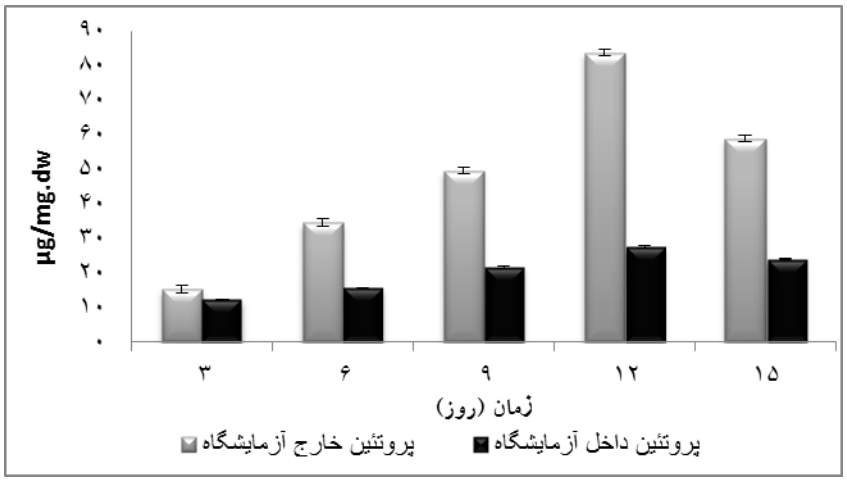


شکل ٤ : هیستوگرام مقایسه رنگیزه‌های فیکوبیلی پروتئینی سیانوباکتریوم *Nostoc* sp. FS 77 در شرایط داخل و خارج آزمایشگاه

طبق بررسی پیش رو تولید قند و پروتئین در نمونه علاوه بر روند افزایشی در هر دو محیط، در محیط خارج آزمایشگاه اختلاف معنی‌داری نسبت به داخل آزمایشگاه دارد که نشان‌دهنده خوگیری و توانمندی بالای نمونه در برابر استرس‌های طبیعت می‌باشد (شکل ٥؛ شکل ٦).



شکل ۵: هیستوگرام مقایسه مقدار قند کل سیانوباکتری *Nostoc* sp. FS 77 در شرایط داخل و خارج آزمایشگاه



شکل ٦: هیستوگرام مقایسه مقدار پروتئین کل سیانوباکتری *Nostoc* sp. FS 77 در شرایط داخل و خارج آزمایشگاه

بحث

تاکنون کلیه بررسی‌هایی که در رابطه با فیزیولوژی و اکوفیزیولوژی جلبک‌ها و سیانوباکتری‌های استان گلستان انجام گرفته، در شرایط آزمایشگاهی بوده است. آنچه این بررسی را مجزا می‌سازد، وارد کردن نمونه‌ها در محیط طبیعی و بررسی رشد و مقداری بیوشیمیایی و فیزیولوژی می‌باشد. در بررسی‌های شکروی و همکاران (۱۳۸۱)، مشابه چنین بررسی‌هایی بر روی نمونه‌هایی از سیانوباکتری‌های اسیلاتوریال و نوستوکال انجام گرفته است. منتهی از شرایط کنترل شده در زیستگاه‌های بیرونی استفاده شده است. نمونه‌ها با محفظه‌های شیشه‌ای از محیط جدا شده و دما و رطوبت و دیگر عوامل تحت کنترل بود. از سوی دیگر نمونه‌ها در تهران ارزیابی گردیده‌اند و نه استان گلستان. به علت عدم سابقه در راستای بررسی حاضر که نکته مجزا کننده این پژوهش نیز همین امر می‌باشد، فقط امکان مقایسه با نتایج شرایط داخل آزمایشگاه خود و دیگران وجود دارد، که از قرار زیر است: دقت در منحنی‌های رشد سیانوباکتری نوستوک نشان داد که به سرعت وارد فاز تصاعدی رشد می‌شود و نرخ رشد ویژه در محیط طبیعی به‌طور نسبی بالاتر از محیط داخل آزمایشگاه می‌باشد (جدول ۱) که ناشی از سازگاری و خوگیری نمونه با شرایط طبیعی می‌باشد. این یافته‌ها با یافته‌های آزمایشگاهی

خـود، امیرلطیفـی (۱۳۹۱) و امیرلطیفـی (۱۳۹۰)، در تناقض است زیرا نمونه در داخل آزمایشگاه وارد فـاز تأخیری و اندکی فاز منفی رشد می‌شود که این تفاوت رفتار نشان‌دهنده کارایی بیشتر و پاسخ سـریعتر نمونـه در محـیط طبیعـی مـی‌باشـد. از دیـد بیوتکنولـوژی کشاورزی البته عدم فاز منفی رشد و آغـاز فـاز رشـد تصاعدی بعد از تلقیح به محیط طبیعی مزیت بزرگـی است کـه کـارایی نمونـه را بـه‌عنـوان کـود زیسـتی و اصلاحگر خاک موجه نشان مـی‌دهـد (Anand et al., 1990). نمونه‌ای که از روزهای نخست بعـد از تلقـیح بتواند خود را با شرایط جدید سازگار کنـد، در رابطـه با ترکیبات دیواره ساز و تولید مثل‌های بعـدی جهـت ورود به فاز تصاعدی مشکلی نخواهـد داشـت (Stal, 1995). ایـن مـورد از نظـر کـاربردی مثبـت ارزیـابی می‌گردد. مقدار برون ریزش ترکیبات نیتروژنه از جمله آمونیوم در شـرایط طبیعـی در روز دوازدهـم پـس از تلقیح به میزان قابل توجهی است و می‌توان بیـان کـرد که میان برون ریزش آمونیوم و رشد نمونـه همـاهنگی نسبی و همبستگی معنی‌دار وجـود دارد، زیـرا در روز دوازدهم میزان توده زنده نیز به بیشینه خود می‌رسد و پس از آن سقوط می‌کند (شکل ۱ و شکل۲). بـه نظـر می‌رسد کـه انتقـال نمونـه بـه شـرایط طبیعـی، سـبب تحریـک بـرون ریـزش آمونیـوم مـی‌گـردد. چنانکـه مـی‌دانـیم در مسـیر اسیمیلاسـیون نیتـروژن در سیانوباکتری‌ها، میان نیتـروژن بـرون ریختـه شـده (از جمله به صـورت آمونیـوم) و سـایر اشـکال نیتـروژن نوعی تعادل ظریف وجود دارد (چکی گر و همکاران، ۱۳۹۱). عامل تعیین کننـده ایـن تعـادل تنهـا نیازهـای موجود نیست بلکه کلیت اکوسیستم مـی‌باشـد. نـوعی تعادل بسـیار ظریـف کـه بـر مبنـای نیازهـای داخلـی ارگانیسم و گیاهان زراعی و دیگـر ارگانیسـم‌هایی کـه به آمونیوم بیرون ریخته شده نیـاز دارنـد تنظـیم شـده است (شکروی و همکاران، ۱۳۸۷). این شبکه ارتباطی چه در رابطه با پشته‌های میکروبی (Stal, 1995) و چه در رابطه با گیاهان زراعی، کاملا دقیق عمـل مـی‌کنـد. محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی وفیکو بیلی پروتئینی به عنوان شاخصی از سیستم فتوسنتزی می‌باشد که طبـق نتایج حاصل (شکل ۳) و (شکل ٤) در محیط طبیعـی در طول زمان به آهستگی زیاد می‌شود و این افـزایش کم و بیش معنی دار بیانگرنوعی ثبات است. در نتیجـه می‌توان ثبات کلروفیل و فیکوبیلی پروتئین‌هـا را یکـی از نشانه‌های ثبات سیستم فتوسنتزی دانست. همچنـین در شـکروی و همکـاران (۱۳۸۱)، سـیانوباکتری نوسـتوک در شـرایط نسـبتاً طبیعـی از نظـر محتـوای کلروفیلی با زمان تغییر معنی‌دار داشته است. مـی‌تـوان نتیجـه گرفـت کـه رفتارهـای سـیانوباکتری درهـر دو محیط از نظر سیستم فتوسـنتزی در یـک راسـتا بـوده چنانچه در شرایط طبیعی محتوای رنگیـزه‌ای بیشـتر از محیط آزمایشگاهی است و نمونه ثبات خود را حفـظ می‌کند. در بررسـی‌های Pakzad و همکـاران (۲۰۱۱) ثبـات سیسـتم فتوسـنتزی در شـرایط آزمایشـگاهی و اثرات اسیدیته و قلیائیـت و ترکیـب آن بـا دی اکسـید کربن تحت تاثیر زمان ثابت نمـی‌مانـد و سـبب عـدم ثبات در سیستم فتوسنتزی می‌گردد که ایـن امـر خـود نشـان از تفـاوت رفتـار نمونـه در داخـل و خـارج آزمایشگاه دارد.می‌توان بیان کرد که توان بالای نمونـه برای رشد در شرایط طبیعی ناشی از اتصـال مکانیسـم تراکمی دو طرفه‌ای است که خود می‌توانـد از سیسـتم فیکـوبیلی زومـی منشـا گرفتـه باشـد (John et al., 2003). قرینه دیگر برای ثبات سیستم فتوسنتزی، ثبات نسبی تولید قند کل می‌باشد کـه در محـیط طبیعـی بـا تولید کلروفیل همبستگی دارد. نمونه نه تنها در محیط طبیعی محتوای قند خود را بالا می‌برد بلکه این محتـوا را حفـظ مـی‌کنـد (شـکل ۵). در بررسـی‌های بـادلی (۱۳۹۰) تولید قند کـل در سـیانوباکتری هـم خـانواده نوسـتوک یعنـی آنابنـا تحـت تـاثیر تیمـار شـوری

اختلاف‌های معنی‌دار پیدا می‌کند. شوری‌های بالا و پایین افراطی، سبب افزایش معنی‌دار محتوای قند می‌شود. اندازه‌گیری مستقیم فتوسنتز در این شرایط نشان می‌دهد که نمونه در شرایط تنش‌های بالا و پایین شوری، قابلیت کسب توان فتوسنتزی بالا دارد. نمونه مورد نظر در شرایط طبیعی نه تنها محتوای قند خود را بالا می‌برد، بلکه این محتوای بالا را حفظ می‌کند. تنش‌های محیطی شناخته و ناشناخته که در عوامل محیطی یا بهتر گفته شود شبکه ارتباط‌های محیطی خلاصه می‌شود، بر این محتوا و ثبات تاثیر نداشته است. ضمن اینکه عامل تعیین کننده ای به نام زمان بر محتوای کلروفیلی و قندی مؤثر است. این دو ویژگی می‌تواند نمونه را کاندیدای مناسبی برای بررسی‌های مربوط به انتخاب نمونه کارا برای استفاده در پروژه‌های تلقیح جلبک به زمین‌های کشاورزی نشان دهد (Becker,1994). در بررسی‌هایی که تاکنون روی نمونه انجام شده، محتوای پروتئین به طور کامل اندازه‌گیری نشده است. بنابراین نمی‌توان مقایسه ای انجام داد اما نتیجه سنجش میزان پروتئین در خارج آزمایشگاه این است که از روز نخست به آرامی افزایش داشته و تقریباً ثبات مشاهده شده است. با توجه به تنش‌های شناخته و ناشناخته در محیط طبیعی می‌توان ثبات پروتئین را ناشی از قدرت بالای نمونه جهت مقابله با تنش‌ها ذکر کرد (شکل ٦).

نتیجه‌گیری نهایی

مطابق بررسی فوق، قابلیت‌هایی در نمونه سیانوباکتری *Nostoc* sp. FS77 وجود دارد که حاکی از توانمندی ذاتی نمونه است. با توجه به اینکه تا کنون در کشور و استان گلستان اینگونه بررسی روی سیانوباکتری‌ها بررسی نگردیده است، این پژوهش به‌عنوان گام نخست می‌تواند حائز نتایج قابل عنایت باشد. خصوصیات منحصر به فرد نمونه، نرخ رشد بالا، حفظ ثبات دستگاه فتوسنتزی از نظر محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی، فیکوبیلی پروتئینی، حفظ مقادیر قند کل و پروتئین کل در شبکه ای از تغییرات می‌باشد که طبق نتایج حاصله از توانمندی بالائی در مقابله با تنش‌های موجود در محیط طبیعی نسبت به داخل آزمایشگاه برخوردار است. مسئله بقاء و رشد واستراتژی کسب سازگاری موجود در شرایط طبیعی می‌تواند برای انبوه سازی به منظور استفاده از ابعاد کاربردی در زمینه بیوتکنولوژی ارزشمند و مفید باشد.

سپاسگزاری

نگارندگان وظیفه خود می‌دانند ازسرکار خانم دکتر کیایی کارشناس محترم آزمایشگاه تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان سپاس ویژه را داشته باشند.

منابع

امیرلطیفی، ح. (۱۳۹۰). خوگیری سیانوباکتری خاکزی *Anabaena* sp. FS 76 و *Nostoc* sp. FS 77 به شرایط توأم اسیدیته و قلیاییت و نور محدود، پایان نامه کارشناسی‌ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

امیرلطیفی، ف. (۱۳۹۱). بررسی خوگیری سیانوباکتری خاکزی *Anabaena* sp. FS76 جمع‌آوری شده از شالیزارهای استان گلستان به شرایط توأم pH و دی‌اکسیدکربن در محدودیت افراطی شدت نور، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

بادلی، ز. (۱۳۹۰). بررسی تاثیر شوری و نور محدود بر بقا و رشد سیانوباکتریای خاکزی *Anabaena* sp. FS 76 و *Nostoc* sp. FS 77 پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی‌واحد تنکابن.

چکی گر، ش. (۱۳۹۱). نقش سیانوباکتری‌های شالیزارهای استان گلستان به‌عنوان پدافند غیرعامل در حمله‌های نظامی. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

شکروی، ش. و ساطعی، آ. (۱۳۸۲). بررسی پتانسیل سیانوباکتری به منظور تلقیح در شالیزار، گزارش طرح پژوهشی، معاونت پژوهشی دانشگاه آزاداسلامی واحد گرگان.

شکروی، ش.، سلطانی، ن.، بافته‌چی، ل. (۱۳۸۱). تدوین تکنولوژی استفاده از سیانوباکتری‌ها به عنوان کود بیولوژیک در شالیزارها، شورای عالی تحقیقات نهاد ریاست جمهوری (طرح ملی)، مجری پژوهشکده علوم پایه کاربردی، جهاد دانشگاهی، دانشگاه شهید بهشتی.

شکروی، ش.، سلطانی، ن. و بافته‌چی، ل. (۱۳۸۷). سیانو باکتریولوژی، چاپ اول، دانشگاه آزاداسلامی واحد گرگان. صفحه ۱۲۸.

عباسی، ب.، شکروی، ش.، امیرلطیفی، ح.، پاکزاد، ا. و جعفری، م. (۱۳۹۱). شناخت و بررسی قابلیت‌های *Nostoc* sp. FS 77 به‌عنوان کود زیستی در کشاورزی ارگانیک, سومین همایش ملی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران ۱۳-۱۵ شهریور.

Anand, N., Radha, L., Shanthakumar Hopper, R.S., Revathi, G. and Subramanian, TD. (1990) Blue-green algae as biofertilizers: certain view points on the choice of suitable isolates. In Perspective in phycology, ed Rajarao, V.N. pp. 383-391. New Delhi: Today and tomorrow's Printer and Publisher. ISBN 81-7019-360-5.

Becker, E.W. (1994). Microalgae: biotechnology and microbiology. Cambridge university perss.

Anagnostidis, K. and Komarek, J. (1990). Approaches to the classification Stigonematales. Cyanobacteria Achieves for Hydrobiology. 70(4): 224-286.

Desikachary, T.V. (1959). Cyanophyta-Indian council of agricultural research. Monographs on Algae New Delhi India. Pp: 35–46.

Fogg, G.E., stewart, W.D.P., Fay, P. and Walsby, A.E. (1973). The blue-green algae. Academic press- London and New York. A Subsidiary of Harcourt Brsde Jovanovich Publishers. 311-344.

Geitler, L. (1932). Cyanophyceae von europa kryptogamen flora. Akademiche Verlagsgesellscha Leipzig. Pp: 85–90.

Hashem, M.A.(1998)."Ecophysiological studies of cyanobacteria in paddy soils of bangladesh", Kluwer Academic Publishers, printed in Great Britain. 39: 333-344.

Hedge, G.R. and Malammanavar, S.G (1988). Some noteworthy rice field algae of Dharwad Karnataka state. Phykose. (27) 4-7.

Jeong-Dong, K. and Choul-Gyun, L. (2006). Diversity of heterocystous filamentous cyanobacteria (Blue-Green Algae) frome rice paddy field and their differential susceptibility to ten fungicidies used in Korea. Journal Microbiology. 16(2):240-246.

John, D.M., Whitton, B.A. and Brook, A.J. (2003). The freshwater algal florao the British Isles, an identification guide to fresh water and terrestrial algal. Cambridge University Press.

Sardeshpande, J.S. and Goyal, S.K. (1981). Distributional pattern of blue- green algae in rice fields of region of Maharashtra state. Psykose. 20(1-2):102-106.

Kaushik, B.D. (1987). Laboratory methods for blue-green algae. Associated Publishing Company, New Delhi, India. Pp: 185–196.

Legnes, F., Sanchez Maeso, E. and Fernandez-Valiente, E. (1987). Effect of indoleacetic acid on growth and dinitrogen fixation in Cyanobacteria". Plant Cell Physiology. 28:529533.

Marker, A.F.H. (1972). The use of acetone and metanol in the estimation of chlorophyll in the of presence Phaeophytin. Freshwater Biology. 2:361-385.

Pakzad, A., Shokravi, Sh. and Soltani, N. (2011). Studying on morphological variation of *Nostoc* sp. FS 78 and *Anabaena* sp. FS 77 at co mbination effect of PH and carbon dioxide dissertation, of Master Degree. Azad University Damghan, Iran. 7-23.

Prescott, G.W. (1962). Algae of the western great lake area. W.M.C. Brown Company Pubisher. Pp: 45-49.

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

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

Suda, S., Watanabe, M.M., Otsuka, S., Mahakahant, A., Yongmanitchai, W., Nopartnraporn, N., Liu, Y. and Day, J.G. (2002). Taxonomic revision of water–bloom- forming species of Oscillatorioid Cyanobacteria. International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology. 81(2): 1577-1594.

Wyman, M. and Fay, P. (1986). Underwater light climate and the growth and pigmentation of Plangtonic blue-green algae (Cyanobacteria). The influence of light quantity. Royal Society of Londen. 227:367-380.