بررسی بقاء، رشد و وضعیت رنگیزه‌ای درشرایط تغییرات توام دی اکسید کربن و نور جلبک سبز *Senedesmus obliquous*

پیمان آقایی[1*]، رقیه سیاه بالایی[2]

۱. مربی، گروه زیست شناسی دانشگاه پیام نور مرکز اردستان، اردستان، ایران

۲. کارشناس ارشد دانشکده علوم دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۷/۰۱ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۹/۱۵**

چکیده

هدف از این پژوهش، تاثیر توام نور و دی اکسید کربن بر روی جلبک سبز *Senedesmus obliquous* بوده است که معمولا در شالیزارها استان گلستان به وفور وجود دارد و در عین حال از نظر فیزیولوژیکی ناشناخته می‌باشد. در این تحقیق نمونه‌ی جلبکی *Senedesmus obliquous* از شالیزارهای استان گلستان شناسایی گردید. فلور جلبکی از پنج ایستگاه در شالیزارهای مورد مطالعه طی پاییز ۱۳۸۸ تا تابستان ۱۳۸۹ انتخاب شد. خاک‌های جمع آوری شده کشت گردیدند. بعد از تشکیل کلنی و جداسازی، جلبک سبز سندسموس خالص و در محیط کشت مایع BG-11 در شرایط نوری ۲ میکرومول کوانتا بر مترمربع بر ثانیه، دمای ۲۸ درجه سانتیگراد و pH 7 غنی سازی گردید. تیمارهای نوری شامل ۲، ۳۰، ٦۰ و ۱۰۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه، تناوب‌های نوری ۲، ٤ و ٦ ساعت تاریکی در شبانه روز، تیمارهای دی اکسید کربن عدم هوادهی، هوادهی و تلقیح دی اکسید کربن به میزان ۳٪ بود. بقا، رشد، نرخ رشده ویژه، محتوای کلروفیل، بتا کاروتن، گزانتوفیل، آنالیز گردید. نتایج نشان داد که در این نمونه رشد در شدت ٦۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه به مراتب بالاتر بود. اعمال روشنایی مستقیم به صورت ۲٤ ساعت، سبب افزایش معنی‌دار رشد نمونه گردید. محتوای کلروفیل در دوره‌های طولانی‌تر تاریکی افزایش معنی‌دار پیدا کرد. در شرایط بهینه نوری، افزایش قابل توجه در مقدار کاروتنوییدها نشان دهنده‌ی سازگاری سیستم فتوسنتزی این گیاه با شرایط اعمال شده بود. در شرایط بهینه نوری و هوادهی تولید کاروتنوییدها در روزهای نخست پس از تلقیح افزایش یافت.

واژگان کلیدی: اکوفیزیولوژی، جلبک‌های سبز، شالیزار، گلستان، سندسموس، کودزیستی

مقدمه

جلبک ها از مهمترین اجتماعات تشکیل دهنده خاک مرطوب به خصوص شالیزارها هستند. این گیاهان از جمله دیرینه ترین یوکاریوتهای فتوسنتز کننده هوازی برسطح این کره محسوب می‌شوند. در شالیزارها جلبکها تحت تاثیر مجموعه ای از تنش ها قرار دارند که نور و دی اکسید کربن از عمده ترین آن ها محسوب می‌شود (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱). شرایط غرقابی سبب تغییر در محتوای اسیدیته و نور شالیزار می‌گردد و این امر همراه با دیگر تنش‌ها از جمله دی اکسید کربن، شوری می‌بایست توسط جلبک ها تحمل شده و منجر به از بین رفتن آنها نگرد (Boussiba 1989).

Email: payman_ agh@yahoo.com

نور نقش عمده ای در اجتماعات فلور جلبکی خاک ها و شالیزارها دارد (Boussiba, 1988). تغییرات نـور در هنگـامی که برنج رشد میکند محسوس است و در برخـی بررسـی هـا نشان داده شده است که میزان نوری که شالیزار پـس از رشـد کامل برنج دریافت می‌کند در حدود یک درصد میزان دریافتی قبل از رشد برنج است (Valiente and Leganes, 1988).

جلبک‌های خـاکزی، عمومـاً سـایه پسـند هسـتند (Stal, 1995). این بدان معنی نیست که این موجودات قابلیت بقاء و رشد در شرایط نوری بـالا را از دسـت داده انـد. بازدارنـدگی نوری در این شاخه جلبکی حتی در شـدت‌هـای نـوری بـالا، نادر است و قابلیت سازگاری آن ها به شدت‌هـای بـالای نـور می‌تواند قابل توجه باشد (Stal, 1995). مطالعات انجـام شـده بر روی کلروفیتا، چنین ویژگی را تأیید می‌نماید (McKinny, 1941). به همین ترتیب وجود ساختارهای فتوسنتزی و قدرت تطبیق نوری آن ها، سبب می‌شود که این جلبـک هـا، قابلیـت سازگاری قابل توجهی به شدت‌های نوری محدود نشان دهند (Valiente and Leganes, 1989).

علاوه بر نور دی اکسید کربن، از مهم ترین عواملی است که در حوزه اکولوژی و اکوفیزیولوژی جلبـک‌هـای خـاکزی ، توجه زیادی را به خود جلب کـرده اسـت. ایـن امـر هـم بـه نگرش جهانی و هم به نگـرش‌هـای بیوتکنولوژیـک موضـعی مربوط است. از نقطه نظر نگرش جهانی، مسئله تغییـر نسـبت گازهای گلخانه ای بخصوص افزایش غلظت دی اکسید کربن و واکنش موجودات زنده به این تغییـرات مـورد توجـه قـرار می‌گیرد.

غرقابی شدن شـالیزارها، باعـث ایجـاد شـکل دیگـری از زندگی می‌شود. به این ترتیب در میزان دی اکسید کربنـی کـه جهت فعالیت‌های فتوسنتزی می‌بایست در اختیـار جلبـک هـا قرار گیرد، تفاوتی بوجود می‌آید. با توجه به اهمیت لایـه‌هـای جلبکی در ارتباط بـا لایـه‌هـای زیـرین از نظـر حفـظ تعـادل میکروفلور، هرگونه اختلال در رسـیدن دی اکسـید کـربن بـه اندازه و به موقع، خطـر از میـان رفـتن میکروفلـور را بـدنبال خواهد داشت کـه خـود بـا تضـعیف خـاک و کـاهش تولیـد محصولات کشاورزی همراه خواهد بود (Stal, 1995).

اکثر جلبک‌های سبز دارای مکانیسم تراکمـی دی اکسـید کربن هستند. در مطالعات انجام شـده بـر روی گونـه‌هـایی از *Senedesmus* و *Chlorella* مشخص گردید که آنها می‌تواننـد با استفاده از مکانیسم تراکمی دی اکسیدکربن در شـرایطی کـه کمبود دی اکسید کربن و یا افزایش تعادل به سمت بیکربنـات وجود داشته باشد، سبب تعـدیل رابطـه میـان ایـن دو گردنـد (Quesada and Fernandez-Valient, 1997). مکانیسـم تراکمی، سیستم حساسی است که از سویی وابسته به عملکرد مطلوب سیستم‌های مولد انرژی نظیر فتوسنتز و تنفس است و از سوی دیگر با اسیدیته محیط در ارتباط مستقیم می‌باشد. این سیستم نیاز به انرژی دارد و بنابراین عملکرد دائم آن، حـداقل از نظر اقتصاد انرژی مقرون به صرفه نیسـت. بنـابراین نمونـه هایی که قابلیت انعطاف در القای ایـن مکانیسـم و منـابع لازم برای تامین انرژی آن را داشته باشند، از نظر کاربردی توانمنـد محسوب می‌شوند (Richmond, 1986).

Senedesmus obliquous از جمله نمونه‌هایی است که در شالیزارهای استان گلستان به وفور یافت می‌گردد. این جلبـک به دلیل توانمندی در ابعاد متفاوت، می‌توانـد در بیوتکنولـوژی کاربردی ریزجلبک ها مورد توجه جدی قرار گیرد .توانمنـدی این جلبک از نظر تولید انواع رنگیزه‌هـای ضـد تـنش ، سـبب شده است که استفاده از آن به عنوان کود زیستی، در دهه اخیر مـورد توجـه بسـیاری از محققـین قـرار گیـرد (شـکروی و همکاران، ۱۳۸۱). علاوه بر این، قابلیت بالای دی آزوتروفی و بـرون ریـزش قابـل توجـه ترکیبـات نیتروژنـی در برخـی از گونه‌های آن سبب شده است تـا ایـن موجـودات از نظـر دی آزوتروفی نیز مورد توجه قرار گیرند. مجموع این ویژگـی هـا این نمونه را از نظر بیوتکنولوژی کشـاورزی ارزشـمند نمـوده است (Anand et al., 1990).

بدین ترتیب نشان ویژه سازی این موجـود از جنبـه‌هـای مختلـف و از جملـه فیزیولـوژی و اکوفیزیولـوژی مـی‌توانـد راه‌گشای استفاده‌های کاربردی آتـی از ایـن جلبـک باشـد. بـا توجه به اینکه برنج در کشاورزی ایران، به نوعی گیـاه زراعـی

استراتژیک محسوب می‌شود و نیز با توجه به مسأله ضرورت استفاده از کودهای بیولوژیک در آینده، مسأله بقاء و رشد این موجودات در شرایط نسبتاً مشابه شالیزار می‌تواند بسیار مفید باشد (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱).

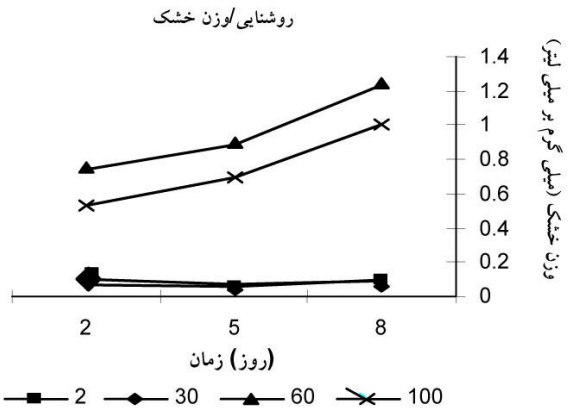
تاکنون عمده بررسی‌های انجام گرفته در دنیا و ایران، بررسی‌هایی با تاکید بر یک عامل بوده است، اما با توجه به وجود اثرات متقابل بسیار زیاد در محیط، در این پژوهش، بررسی توام تاثیر تغییرات نور و دی اکسید کربن معدنی بر رفتار جلبک سبز (*Senedesmus obliquous*) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

فلور جلبکی ازشالیزارهای استان گلستان جمع آوری شدند. این نمونه ها از ۵ ایستگاه در شالیزارهای مورد مطالعه طی پاییز ۱۳۸۸ تا تابستان ۱۳۸۹ انتخاب گردیدند. نمونه‌ها در تمام نقاط از سطح خاک تا عمق ۲.۵ سانتی متری از خاک برداشته و درون کیسه‌های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل گردیدند. به منظور کشت خاک مقداری از خاک‌های نمونه برداری شده از یک غربال ۲ میلی متری عبور داده شد و ۵ گرم از خاک‌های صاف شده به درون ظروف پتری از قبل استریل شده منتقل گردیدو سپس کشت نمونه‌های خاک مطابق روش کشت جلبک‌های خاکزی انجام گرفت (Kaushik, 1987). پس از تشکیل کلنی، جدا سازی و کشت‌های بعدی، جلبک سبز Senedesmus obliquous به صورت خالص تهیه گردید (Kaushik, 1987). شناسایی مقدماتی و شناسایی در حد گونه با استفاده از John و همکاران (۲۰۰۳)، Prescott (۱۹٦۲) و Tiffany (۱۹٦۲) انجام گرفت. کشت در محیط مایع BG-11 و در شرایط نوری ۲ میکرومول کوانتا بر متر مربع بر ثانیه (که توسط لامپ فلورسانت تأمین می‌گشت)، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و pH۷ انجام گرفت. بررسی‌های فیزیولوژیک در ارلن‌های با حجم۲۵۰ میلی‌لیتر محتوی ۱۰۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون انجام شد. کشت‌ها به مدت ۱ ساعت هم زده شده و سپس به محفظه روشنایی منتقل گردیدند. پیش از تلقیح نمونه به مدت ٤٨ ساعت جهت ایجاد سازگاری وارد محیط کشت مایع شد. در این رابطه مراحل نمونه‌برداری و استخراج رنگدانه ها دو روز یکبار در شرایط کاملاً استریل و یکسان داخل اتاقک کشت و هر یک درسه تکرار انجام شد و مقادیر کلروفیل، بتاکاروتن، گزانتوفیل، طیف جذبی رنگیزه‌ها و میزان رشد آنها اندازه‌گیری گردید. ابتداآنالیز رشد در شرایط متفاوت نور انجام گرفت. تیمارهای نوری با استفاده از لامپ‌های فلورسنت با شدت ۲، ۳۰، ٦۰ و۱۰۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه بود که با استفاده از توری‌های محافظ و نزدیک کردن و دور کردن از منبع نور تنظیم می‌گردید (شکروی و همکاران، ۱۳۷۸). تناوب‌های نوری ۲، ٤، ٦ ساعت تاریکی در شبانه روز بود که توسط زمان‌سنج اتوماتیک تنظیم می‌گردید. تیمارهای دی اکسید کربن و بررسی مکانیسم تراکمی در شرایط محدودیت دی اکسید کربن (بدون هوادهی)، محدودیت نسبی (هوادهی) و عدم محدودیت (تلقیح دی اکسید کربن به میزان ۳٪) انجام گرفت (Poza Carion et al., 2001). رشد بر اساس کدورت‌سنجی، با استفاده از اسپکتروفتومتر (OD750) سنجش گردید. سنجش کلروفیل پس از استخراج با متانول با روش Marker (۱۹۸۰) انجام گرفت و کاروتنوییدها بر اساس Jensen (۱۹۷۸) به صورت در شیشه سنجش گردیدند. بررسی‌های مورفولوژیک با استفاده از نمونه‌های زنده و نمونه‌های تثبیت شده در مونت گلیسرین، انجام گرفتند (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱). آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزارهای SPSS Ver. 11 و Sigmaplot انجام شد.

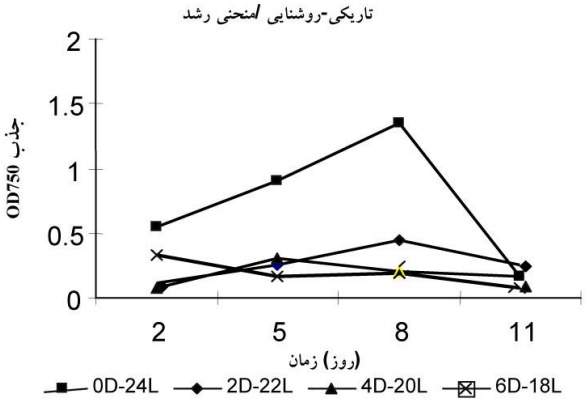
نتایج

در این سویه رشد در شرایط ٦۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه، نشان می‌دهد که اعمال روشنایی مستقیم به صورت ۲٤ ساعت، سبب افزایش رشد در نمونه می‌گردد. (شکل ۱).



شکل ۱. مقایسه رشد (وزن خشک) در جلبک سبز *Scenedesmus obliquous* در شرایط متفاوت شدت نوری در روشنایی ۲، ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه

در صورتی که تناوب‌های نوری، به طور محسوس رشد نمونه را کاهش می‌دهد (شکل ۲). اختلاف میان روشنایی دائم و تناوب‌های نوری (۲، ٤و ٦ ساعت تاریکی) معنی‌دار می‌باشد($p\leq0.05$). بدین ترتیب در مقایسه شدت‌های نوری بسیار محدود، محدود، بالا و افراطی نمونه گرایش بیشتری به شدت‌های نوری بالا دارد



شکل ۲. مقایسه رشد (کدورت سنجی) در جلبک سبز *Scenedesmus obliquous* در شرایط متفاوت تناوب نوری (D: تاریکی، L: روشنایی)
در روشنایی ٦٠ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه

توان تولید کلروفیل با رشد نمونه سازگار نیست و شرایط تاریکی طولانی تر حاکی از تشدید بیوسنتز کلروفیل و دوره‌های تاریکی کوه تاتر ناشی از تشدید فعالیت تولید رنگیزه‌های کارتنوییدی می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱. مقدار کلروفیل(میلی گرم بر میلی لیتر) در تناوب‌های نوری مختلف در در روشنایی ٦٠ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه و هوادهی در جلبک سبز *Scenedesmus obliquous*

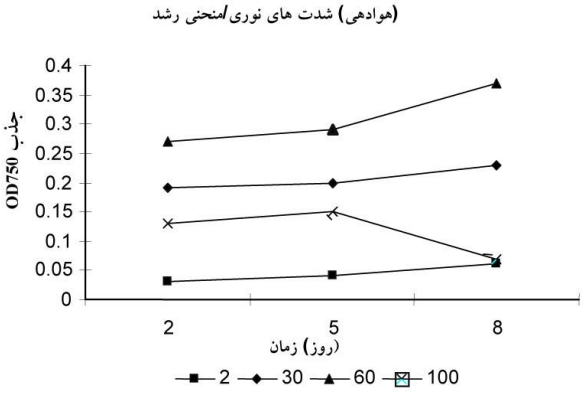
کلروفیل / روز	عدم تاریکی	۲ساعت تاریکی	٤ ساعت تاریکی	٦ ساعت تاریکی
2	0.02	0.02	0.12	0.07
5	0.03	0.04	0.20	0.29
8	0.07	0.11	0.15	0.85

نتایج بررسی مقدماتی (جدول ۲) نشان می‌دهد جلبک سبز *Scenedesmus obliquous* در شرایط نوری محدود و افراطی از خود رشد نشان داد هر چند این رشد اندک بود. بیشترین نرخ رشد مربوط به زمانی بود که در محدوده شرایط نوری بالا و نسبتا بالا، به هوادهی اکتفا نمودیم.

جدول ۲: میزان رشد و زمان مضاعف شدن و ثابت ویژه رشد (ازراست به چپ) عدم هوادهی، هوادهی، و تلقیح دی اکسید کربن

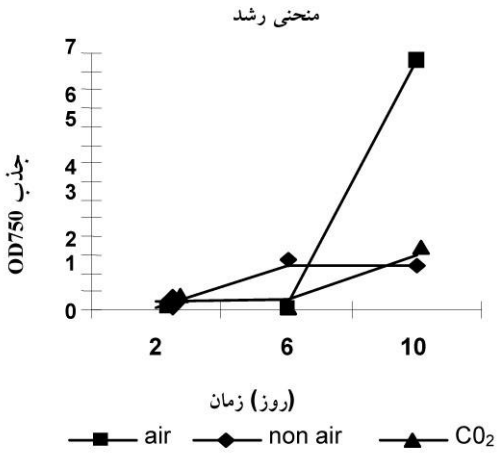
ثابت ویژه رشد (μ)			زمان مضاعف شدن (G)			روشنایی
0.051	0.03	0.02	2.37	6.01	3.70	2
0.14	1.09	0.21	4.87	3.95	2.50	30
0.18	2.07	0.171	6.78	15.20	4.10	60
0.08	1.03	0.04	12.31	5.1	15.02	100

اعمال هوادهی در هر سه حالت سبب شد که نرخ رشد افزایش معنی‌داری پیدا کند ($p\leq0.05$)(شکل۳).



شکل ۳. مقایسه منحنی رشد در جلبک سبز *Scenedesmus obliquous* در شرایط نوری ۲و ۳۰ و ۶۰و۱۰۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه (با شیکر و هوادهی)

تلقیح دی اکسید کربن به میزان ۳٪ در این سویه، سبب افزایش رشد نشد، بلکه در مقایسه با دی اکسید کربن معمول (هوادهی)، رشد را کاهش داد و باعث افزایش زمان تولید مثل گشت. بدین ترتیب این نمونه در شرایط تلقیح دی اکسید کربن مکانیسم تراکمی نیرومندی از خود بروز می‌دهد (شکل٤).



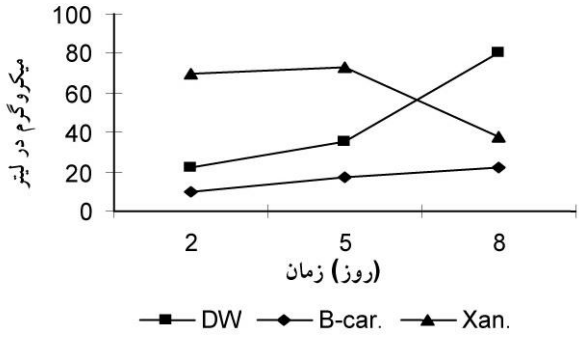
شکل ٤. مقایسه منحنی رشد در جلبک سبز *Scenedesmus obliquous* در شرایط نوری ۱۰۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه در سه حالت بدون هوادهی, هوادهی و تلقیح دی اکسید کربن

دقت در منحنی‌های رشد در این حالت حاکی از آن است که در شرایط نوری افراطی نمونه بقای خود را حفظ می‌کند هر چند بطور طبیعی کاهش رشد به چشم می‌خورد. اما در شرایط نوری ۳۰ و ٦۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع نمونه نه تنها بقای خود را حفظ می‌کند بلکه دارای رشد قابل توجهی است. این نمونه از نظر محتوای کاروتنوییدی بویژه محتوای گزانتوفیل قابل توجه می‌باشد (جدول ۳).

جدول ۳. میزان وزن خشک (میلی گرم بر میلی لیتر)، میزان کاروتنوییدها (میلی گرم در لیتر) در شرایط بهینه نور٦۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه (هوادهی)

روز	۲	۵	۸
وزن خشک	۲۲	۳۵	۸۰
بتا کاروتن	۱۰	۱۷	۲۲
گزانتوفیل	۷۰	۷۳	۳۸

دقت در منحنی‌های مقایسه ای نشان می‌دهد که در روزهای نخست رشد محتوای گزانتوفیل بالاست و سپس به طور معنی‌دار کاهش می‌یابد (شکل ۵). در شرایط نوری محدود و افراطی، محتوای رنگیزه ای کاروتنوییدی بسیار اندک بود. این امر نشان می‌دهد که برای فعال ماندن سیستم تولید کاروتن و گزانتوفیل، در این سویه وجود نور بسیار مهم است.



شکل ۵. مقایسه رشد (وزن خشک) در جلبک سبز *Scenedesmus obliquous* با محتوای کاروتنوییدی

بحث

نتایج نشان داد که نمونه مورد بحث به سمت نورپسندی گرایش دارد. شدت نور ٦٠ میکرومول کوانتا بر متر مربع در ثانیه، آنچنانکه در بررسی‌های Valiente and Leganes (١٩٨٩) و سلطانی و همکاران (١٣٧٢) تایید شده است، شدت نور مناسبی برای رشد این نمونه در شرایط آزمایشگاهی است. واکنش نمونه به تناوب‌های نوری، از الگوی عمومی جلبک‌های سبز در شرایط آزمایشگاهی تبعیت می‌کند (Henley and Ramus, 1989). به نظر می‌رسد سیستم فردوکسین- تیوردوکسین به صورت سیستم خود تنظیمی تناوب‌های نوری در این سویه فعال باشد. نمونه در شرایط نوری محدود معادل ٦٠ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه، بقای خود را حفظ نمود و از این نظر با نتایج دستاوردهای و سلطانی و همکاران (١٣٧٢) مطابقت دارد. تناوب‌های نوری سبب بروز کاهش محسوس رشد گردید. هرچند در تناوب‌های نوری ٢و ٤ ساعت، نمونه بقای خود را حفظ نمود. به نظر می‌رسد در فتوپریودهایی با دوره‌های تاریکی بالاتر، نمونه دچار تنش می‌شود. در یافته‌های Stal (١٩٩٥) در خصوص گونه *Lyngbya majuscula* چنین رفتاری مشاهده شده است. شدت نوری معادل ٦٠ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه که از الگوی Valiente and Leganes (١٩٨٩) برگرفته شده است، در خصوص سویه مذکور در شرایط نور مستقیم صادق می‌باشد. برای بررسی‌های بعدی، این شدت نور می‌تواند به صورت مستقیم اعمال گردد. توان تولید کلروفیل به عنوان شاخصی از سیستم فتوسنتزی، با رشد نمونه سازگار نبود. بنظر می‌رسد تأثیر نور، به خصوص از نظر تغییر آرایش مورفولوژیک در زمان‌های مختلف و شکل‌گیری مختلف می‌تواند در این زمینه موثر باشد. دقت در نحوه آرایش و شکل گیری اجتماعات نشان داد که به عنوان مثال در شرایط تاریکی طولانی تر، نمونه‌ها تمایل خود را به اتصال به کناره‌های ظرف از دست می‌دهند و نیز از نظر ظاهری رنگ سبز تیره به خود می‌گیرند که حاکی از تشدید بیوسنتز کلروفیل در آن‌ها است. در تاریکی کوتاه تر نمونه تمایل به اتصال به حاشیه ظرف پیدا می‌کند و نیز رنگ نمونه به سبز متمایل به زرد گرایش می‌یابد که می‌تواند ناشی از تشدید فعالیت تولید رنگیزه‌های کارتنوییدی در آن‌ها باشد (Lichtenthaler, 1987). این یافته ها با بررسی‌های سلطانی و همکاران در ١٣٧٢ مطابقت دارد. از نظر کاربردی، با در نظر گرفتن شاخص‌های Boussiba (١٩٨٨) به نظر می‌رسد که توان سیستم فتوسنتزی در این سویه با افزایش شدید نور (و یا کاهش آن) سازگار نیست. جلبک سبز *Scenedesmus obliquous* نه تنها در شرایط هوادهی، بلکه در شرایط تلقیح دی اکسید کربن رشد نسبتا خوبی را نشان می‌دهد، به نظر می‌رسد که سیستم تراکمی یک سویه (Poza-Carion et al., 2001) در این سویه فعال می‌باشد. بقای نمونه درچنین شرایطی، آن را از نظر کاربردی توانمند نشان می‌دهد (Anand et al., 1990) وجود چنین مکانیسم هایی در جلبک‌های سبز- آبی اسیلاتوریال مورد بحث جدی بوده است (Stal, 1995)

در سیانوباکتری *Lyngbya majuscule* و *L. wollei* شواهدی از وجود چنین مکانیسمی بدست آمده است (شکروی و همکاران، ١٣٨٧) با اینحال این مکانیسم ها عمدتاً دو طرفه بوده و در شرایط قلیایی همپوشانی می‌کنند که سبب رشد قابل توجه در این شرایط می‌شود. کارایی سیستم کاروتنوییدی 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، کارایی این سیستم در توان جمع آوری نور و رساندن آن به مرکز واکنش، به شدت کاهش می‌یابد (Hogyan etal., 2008). عدم کارایی نمونه‌ها در جمع‌آوری دی اکسید کربن به میزان کافی در شالیزارها، بخصوص در شرایط غرقابی می‌تواند ناشی از همین باشد. با حرکت به سمت شرایط خنثی، دستگاه کاروتنوییدی تقویت می‌شود و از نظر کمیت افزایش قابل توجه می‌یابد. توان نمونه برای رشد در شرایط خنثی، ناشی از القای مکانیسم تراکمی دو طرفه‌ای است که خود می‌تواند از تقویت سیستم کاروتنوییدی منشاء بگیرد. در شرایط تلقیح دی اکسید کربن، تمامیت این سیستم

حفظ می‌شود، ولی از توان آن کاسته می‌شود. هرچند در جلبک‌های سبز-آبی خاکزی، کاروتنوییدها کمتر مورد توجه قرار گرفته اند، به نظر می‌رسد که محتوای آن ها به طور کلی با افزایش شدت نور افزایش می‌یابد (بافته چی و همکاران، ۱۳۸۱). جلبک سبز مورد نظر در شرایط بهینه نوری، از نظر محتوای کاروتنوییدی غنی می‌باشد. بهرحال محتوای کاروتنوییدی بالا می‌تواند ناشی از فعال بودن مسیر بیوسنتز تتراپیرولی و به نوعی شاخص فعال بودن مسیرهای اسیمیلاسیون نیتروژن باشد (Soltani et al., 2006).

نتیجه گیری نهایی

Senedesmus obliquous از زمره نمونه هایی است که در شالیزارهای استان گلستان به وفور یافت می‌گردد. این جلبک به دلیل توانمندی در ابعاد متفاوت، می‌تواند در بیوتکنولوژی کاربردی ریزجلبک‌ها مورد توجه جدی قرار گیرد. در شالیزارها جلبکها تحت تاثیر مجموعه ای از تنش ها قرار دارند که نور و دی اکسید کربن از عمده ترین آنها محسوب می‌شود. بدین ترتیب نشان ویژه سازی این موجود از جنبه‌های مختلف، فیزیولوژی و اکوفیزیولوژی می‌تواند راهگشای استفاده‌های کاربردی آتی باشد. این نمونه به سمت نور گرایش دارد. شدت نور ٦٠ میکرومول کوانتا بر متر مربع در ثانیه، شدت نور مناسبی برای رشد این نمونه در شرایط آزمایشگاهی است. در صورتی که تناوب‌های نوری، به طور محسوس رشد نمونه را کاهش می‌دهد بدین ترتیب در مقایسه شدت‌های نوری بسیار محدود و محدود و بالا و افراطی نمونه گرایش بیشتری به شدت‌های نوری بالا دارد. در شرایط نوری محدود و افراطی هر چند نرخ رشد بطور طبیعی نسبت به شرایط بهینه نزول کرده، اما حاکی از بقای نمونه می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که محدودیت دی اکسید کربن تاثیر بازدارنده ای بر رشد نمونه نداشته است. بنابراین حفظ بقا در این شرایط آن هم با محدودیت دی اکسید کربن قابل توجه می‌باشد. تلقیح دی اکسید کربن به میزان ۳٪ در این سویه، سبب افزایش رشد نمی شود بلکه در مقام مقایسه با دی اکسید کربن معمول (هوادهی)، رشد را کاهش می‌دهد و باعث افزایش زمان تولید مثل می‌گردد. بدین ترتیب این نمونه در شرایط تلقیح دی اکسید کربن مکانیسم تراکمی نیرومندی از خود نشان می‌دهد.

توان تولید کلروفیل با رشد نمونه سازگار نیست و به نظر می‌رسد روند متفاوتی نشان می‌دهند. تأثیر نور، به خصوص از نظر تغییر آرایش مورفولوژیک در زمان‌های مختلف و شکل‌گیری مختلف می‌تواند در این زمینه موثر باشد. دقت در نحوه آرایش و شکل گیری اجتماعات نشان داد که در شرایط تاریکی طولانی مدت تر نمونه‌ها تمایل خود را به اتصال به کناره‌های ظرف از دست می‌دهند و نیز از نظر ظاهری رنگ سبز تیره به خود می‌گیرند که حاکی از تشدید بیوسنتز کلروفیل در آن‌ها است. در تاریکی کوتاه مدت تر نمونه تمایل به اتصال به ظرف پیدا می‌کند و نیز رنگ نمونه به سبز متمایل به زرد گرایش می‌یابد که می‌تواند ناشی از تشدید فعالیت تولید رنگیزه‌های کارتنوییدی در آن‌ها باشد. این نمونه در شرایط بهینه نوری، از نظر محتوای کاروتنوییدی غنی می‌باشدو محتوای کاروتنوییدی بالا می‌تواند ناشی از فعال بودن مسیر بیوسنتز تتراپیرولی باشد. *Senedesmus obliquous* از زمره نمونه‌هایی است که در شالیزارهای استان گلستان به وفور یافت می‌گردد.

به طور کلی می‌توان ادعا کرد رشد قابل توجه در شدت‌های نوری بالادر جلبک سبز مذکور که می‌تواند نشان از مقاومت در برابر بازدارندگی نوری داشته باشد به ویزه در شرایط کشت انبوه در اواخر بهار و تابستان از اهمیت برخوردار است . این نمونه قادر است در شرایط قلیلیی از ذخایر بیکربنات محیط استفاده کند و ساختار فیکوبیلوزومی آن در شرایط خنثی حفظ می‌شود .این شرایط امتیاز بسیار مهمی است برای این نمونه که در بررسی‌های کاربردی پایه می‌بایست بدان توجه کرد و همچنین نمونه ی مذکور قابلیت بقاو رشد در شرایط نوری محدود و محدودیت دی اکسید کربن را دارد ولی در شرایط مذکور رشد به ویژه در فتوپریودهای با تاریکی بیش از ۲ ساعت کاهش می‌یابد و همچنین اگر این دوره‌ی تاریکی از حدی تجاوز کند سبب

ضعف آشکار در خوگیری نمونه به شرایط اعمال شده می‌گردد. ازنقطه نظر توان حفظ رشد در شرایط نوری محدود و نیز محدودیت دی اکسید کربن می‌توان نمونه را واجد ارزش کاربردی دانست. با این حال چون در شرایط طبیعی و یا کشت انبوه احتمال قرار گرفتن نمونه در شرایط نورضعیف و نیز دوره‌های طولانی مدت تاریکی وجوددارد می‌بایست بررسی‌های بیشتری رابرای نمونه پیشنهاد کرد بررسی امکان خوگیری در زمان‌های طولانی و نیز بررسی توان فتوسنتزی و فعالیت نیتروزنازی دراین شرایط برای نمونه پیشنهاد کرد.

منابع

بافته چی، ل.، نژاد ستاری، ط.، ابراهیم زاده معبود، ح. و شکروی، ش. (۱۳۸۱). بررسی شدت‌های نوری بر رشد و بسامد هتروسیست سیانوباکتری *Fischerella* sp. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم دانشگاه تهران.

سلطانی، ن. (۱۳۷۷). تاثیر شدت نور بر ترکیبات بیوشیمیایی جلبک سبز *Scenedesmus brevispina*، مجله علمی شیلات، شماره ۱. صفحات ۲٤-۱۷.

سلطانی، ن.، شکروی، ش. و بافته چی، ل. (۱۳۷٦). بررسی جلبک‌های دارویی و اقتصادی با تکیه بر پژوهش‌های صورت گرفته در ایران، گزارش طرح پژوهشی، جهاد دانشگاهی شهید بهشتی

سلطانی، ن.، شکروی، ش. و بافته چی،ل. (۱۳۸٤). بررسی فلورستیک و فیزیولوژیک ریزجلبک‌های خاکزی دارای خاصیت ضد باکتریایی، گزارش طرح پژوهشی جهاد دانشگاهی شهید بهشتی.

سلطانی، ن. خاوری نژاد، ر. ریاحی، ح. و قربانلی، م. (۱۳۷۲). تاثیر شدت‌های مختلف نور سفید بر رشد و فتوسنتز جلبک سبز *Scenedesmus brevispina*، پایان نامه کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه تربیت معلم.

سیاه بالایی، ر.، افشارزاده، س. و شکروی، ش. (۱۳۸۷). تعیین مشخصات مورفولوژیک وتاکسونومیک جلبک‌های رشته ای جمع آوری شده از شالیزارهای استان گلستا ن. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه اصفهان

شکروی، ش. (۱۳۷۸). بررسی پتانسیل سیانوباکتریوم خاکزی *Nostoc.sp* به عنوان کاندیدای کود بیولوژیک در شالیزار، پایان نامه دکتری تخصصی واحد علوم و تحقیقات 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 آزاد اسلامی واحد گرگان.

شکروی، ش. و ساطعی، آ. (۱۳۸٤). نشان ویژه سازی مورفولوژیک سیانوباکتری به منظور تلقیح در شالیزار، گزارش طرح پژوهشی، معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

شکروی، ش. سلطانی، ن. و بافته چی، ل. (۱۳۸۱). تدوین تکنولوژی استفاده از سیانوباکتری ها 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 بافته چی.ل. (۱۳۸۷). سیانوباکتریولوژی، چاپ اول، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

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.

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

Hangyan, W., Dinghui, Z. and Kunshan, G. (2008). Impacts of increased atmospheric CO_2 concentration on photosynthesis and growth of micro and macro algae. Life Sciences, 51: 1144-1150

Henley,WJ. and Ramus, J. (1989). Photo acclimation of Ulvarotundata (Chlorophyta) under natural irradiance, Journal of Physiology, 103: 261-266.

Jensen, A. (1978). Chlorophylls and carotenoides. In: Handbook of Phycological Methods, Physiological and Biochemical Methods, eds. J.A. Hellebust & J.S. Craigie, Cambridge University Press.

John, D.M., Whitton, B.W. and Brook, A.J. (2002) .The Freshwater Algal Flora of The British Isles - Cambridge University Press.

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

Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: PACKER, L. and DOUCE, R. eds. Methods in Enzymology. Washington, Academic Press, 148: p. 350-382.

Marker, A.F.H., Nusch, E.A., Rai, H. and Riemann, B. (1980). The measurement of photosynthetic pigments in freshwaters and standardization of methods: Conclusions and recommendations. Ergebn. Limnol. (Suppl. To Hydrobio.) 14: 91-106.

Mckinney, G. (1991. Absorption of light by chlorophyll solutions Biochemistry, 140: 315-322.

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

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.

Quesada, A., and Fernandez-Valiente, E. (1997). Enviromental factors controlling N2 fixation in Medditerranean ricefields. Microbial Ecology, 34: 39-48.

Richmond, A. (1989). Handbook of micro algal mass culture. CRC press. 154-190.

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.

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

Valiente, E.F. and Leganes, L. (1989) . 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.