

بررسی تنوع پذیری مورفولوژیک سیانوباکتریوم خاکزی *Hapalosiphon* sp. در شرایط توام pH، محدودیت نسبی دی‌اکسید کربن و محدودیت افراطی شدت نور

سارا جرجانی^{*}، شادمان شکروی^۱، معصومه کوهساری^۲، حوریه احمدی لیوانی^۳، عادله کاویانی^۴

۱. کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، باشگاه پژوهشگران جوان، گرگان، ایران

۲. دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان ایران

۳. کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۲/۲۶

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۲/۳۰

چکیده

سیانوباکتریوم خاکزی *Hapalosiphon* sp. FS56 در شالیزارها و زمین‌های کشاورزی استان گلستان وجود دارد، ولی از نظر مورفولوژیک ناشناخته می‌باشد. در این تحقیق نمونه خالص در محیط کشت مایع BG0-11 وارد شد. تیمارهای pH (۵، ۷، ۹) در شرایط محدودیت نوری افراطی (۲ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه) و محدودیت نسبی دی‌اکسید کربن (عدم استفاده از تلقیح) بررسی نموده‌اند. تغییرات مورفولوژیکی شامل وضعیت اجتماعات، آنالیزهای بیومتریک، وضعیت سلول اسپور، رنگ نمونه، شکل‌گیری اجتماعات، وضعیت هتروسیست و ابعاد آن در هر کدام از تیمارهای اعمال شده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که سیانوباکتریوم خاکزی *Hapalosiphon* sp. FS56 تحت تاثیر عوامل محیطی شکل ظاهری خود را در همه جنبه‌های بررسی شده تغییر می‌دهد. از صفات نسبتاً ثابت این سویه می‌توان به تمایل اجتماعات به رنگ قهوه‌ای، لایه دار بودن اسپور در شرایط قلیایی و تک ردیفه بودن محور اصلی اشاره کرد. در رابطه با ابعاد، قطر و طول کمینه اسپورها در این نمونه با زمان و تحت شرایط متفاوت pH به طور دائم تغییر می‌کند.

واژگان کلیدی: تنوع پذیری مورفولوژیک، سیانوباکتری، شالیزار، گلستان، *Hapalosiphon*

عنوان مثال ارزنده‌ترین مباحث تاکسونومی امروز نظری آنچه

توسط Castenholz (۱۹۹۰) و Komarek (۲۰۰۱) نگاشته شده، اگرچه شاخص‌های جدیدی برای رسیدن به قطعیت بیشتر ارائه کرده است، اما چون عمدۀ این شاخص‌ها تعقیب مسیر گذشته می‌باشد به گفته خود محققین دارای نقاط ابهام و خطأ می‌باشد. استفاده از سایر تخصص‌ها و گرایش‌های زیست‌شناسی نظری فیتوشیمی، فیزیولوژی،

مقدمه

در حال حاضر سیانوباکتری‌ها از طبقه‌بندی رضایت‌بخش و مورد توافق عام محققین ذیربطری برخوردار نیستند. علت عدمه در این خصوص را می‌توان در وجود دیدگاه‌های متفاوت درباره صفات موردنظر در طبقه‌بندی و چگونگی تشخیص آن‌ها جستجو کرد. در مورد فلسفه‌ی تنوع‌پذیری مورفولوژیک این نمونه‌ها هنوز ابهام جدی وجود دارد. به

مورفولوژیک مورد بررسی قرار گرفته‌اند. ویژگی‌های مورفولوژیک این نمونه‌ها پیچیده و تغییرپذیر است. اشکال ریسه‌ای منشعب با انشعابات حقیقی و کاذب، غیر ریسه‌ای، فرم‌های کلونی منظم و نامنظم وجود دارد. البته فرم پارانشیم کاذب تاکنون در این نمونه‌ها مشاهده نشده است. ابعاد سلول اعم از رویشی، اسپور و هتروسیست و شکل آنها چه در آرایش فضایی و چه تصاویر میکروسکوپی متنوع می‌باشد و از ۳-۲۰ میکرون را شامل می‌شود. در رابطه با واکنش‌های سیانوباکتریوم *FS44* به دما و شدت نور و *Hapalosiphon* sp. به دما و شدت نور و دی اکسید کربن، در شکروی و صفائی (۱۳۸۸) این ویژگی‌ها به خصوص با تأکید بر دی اکسید کربن و اسیدیته و قلیاییت مورد بررسی قرار گرفته است. در شکروی و همکاران (۱۳۸۱) گونه‌ای از این جنس از شالیزارهای استان گلستان گزارش شده است. در شکروی و ساطعی (۱۳۸۴) از چهار گونه مورد بررسی جهت تنوع مورفولوژیک، یکی از گونه‌ها به صورت ابتدایی با نام *Hapalosiphon* sp. مورد مطالعه قرار گرفته که البته در شکروی و همکاران (۱۳۸۶)، تحت نام *Hapalosiphon* sp. FS44 کدگذاری شده است. در وکیلی (۱۳۸۵) تاثیر تناوب‌های نوری بر رشد و بقا و وضعیت هتروسیست سیانوباکتری استیگونماتال *Fischerella* sp. مورد بررسی قرار گرفته است. در *Soltani* و همکاران (۲۰۱۰)، نشان ویژه سازی شده است. در *Soltani* و همکاران (۲۰۰۷) همین گونه در ارتباط با شوری از نظر اکوفیزیولوژیک (خوگیری) مورد ارزیابی قرار گرفته است.

هدف از این آزمایش نشان ویژه سازی مورفولوژیک سیانوباکتری ناشناخته *FS56* می‌باشد که از شالیزارهای استان گلستان جدا شده، ولی تاکنون از نظر مورفولوژی و تاکسونومیک نشان ویژه سازی نشده است. وجود این نمونه در زمین‌های کشاورزی و شالیزارهای استان گلستان (شکروی و ساطعی، ۱۳۸۴)، ایجاد می‌کند که این نمونه مورد ارزیابی دقیق مورفولوژیک قرار گیرد. به عنوان گام نخست، رشد و تغییرات مورفولوژیک این نمونه در

بیولوژی مولکولی و ژنتیک در خصوص برخی گونه‌ها هرچند تا حدی قطعیت به دنبال داشته است، اما اولاً این قطعیت بسیار محدود بوده و در ثانی خود با موارد خطأ همراه است (Anagnostidis, 1990). در رابطه با تنوع پذیری مورفولوژیک سیانوباکتریوم هاپالوسیفون در شالیزارهای استان گلستان تنها پژوهش‌های موجود به شکروی و ساطعی (۱۳۸۴) و شکروی و همکاران (۱۳۸۷) اختصاص دارد.

سیانوباکتری‌های شالیزار در محدوده‌ای از تغییرات اسیدیته قرار دارند و حتی این امکان وجود دارد که به طور روزانه در محیط شالیزار ظاهر گردد (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱). غرقایی شدن شالیزارها سبب می‌شود که میان دی اکسید کربن و بی‌کربنات نوعی تعادل ایجاد شود (شکروی و همکاران، ۱۳۸۹). وجود مکانیسم تراکمی فعال در بررسی‌های انجام شده بر روی گونه‌هایی از *Nostoc* (امیرلطیفی و همکاران، ۱۳۸۱) و *Fischerella* (شکروی و همکاران، ۱۳۸۶) نشان داده شده است. در صورتی که محدودیت دی اکسید کربن آزاد در شرایط غرقایی وجود داشته باشد، القا شدن این مکانیسم برای حفظ حیات موجود ضروری است و از این رو نمونه‌هایی که از نظر کاربردی (کود زیستی) توانمند محسوب می‌شوند، می‌بایست قابلیت انعطاف در القای این مکانیسم و منابع لازم برای تامین انرژی آن را داشته باشند (شکروی و همکاران، ۱۳۸۹).

تاکنون پژوهشی که به طور مستقیم مسئله تنوع پذیری مورفولوژیک سیانوباکتریوم مورد مطالعه، یعنی *Hapalosiphon* sp. FS 56 محدود، دی اکسید کربن و pH، مورد توجه قرار دهد انجام نگرفته است. در ارتباط با تنوع پذیری مورفولوژیک در شکروی و همکاران (۱۳۸۴)، چهار نمونه از سیانوباکتری‌های خاکزی استان گلستان از نظر مورفولوژی مورد شناسایی قرار گرفتند. در شکروی و همکاران (۱۳۸۷)، این چهار نمونه از نظر تاکسونومیک بررسی گشتند که بخشی از کار به تکمیل تنوع پذیری مورفولوژیک اختصاص داشته است. در منادی (۱۳۸۸) سیانوباکتری‌های اسیلاتوریال (دو گونه) از نظر

در تیمارهای مختلف از نمونه، اسلامیدهای نیمه دائم تهیه شد و صفات بارز مطالعه و ثبت گردید. صفات عمدۀ شامل شکل اجتماعات، رنگ اجتماعات، وضعیت اسپورها، آنالیزهای بیومتریکی شامل طول و قطر سلول‌های اسپور و هتروسیستها بودند. برای مشاهده هتروسیستها از میکروسکوپ فلورسانس استفاده شد. کوشیده شد تا به طور روزانه نمونه‌ها از نظر انشعاب، وضعیت محور اصلی و شکل تولید انشعاب بررسی شوند (شکروی و همکاران، ۱۳۸۴). آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزارهای SPSS Ver11، Sigmaplot Ver8 و Past انجام شد.

نتایج

سیانوباکتری مورد بررسی، سویه‌ای قلیایی پسند به نظر می‌رسد (شکل ۱). هرچند در شرایط اسیدی و خنثی نیز قادر به رشد می‌باشد. سقوط نسبی رشد در روز ششم بعد از تلقیح در شرایط قلیایی و خنثی بیشتر ناشی از رفتارهای طبیعی نمونه به نظر می‌رسد تا تغییرات احتمالی در محیط چه در شرایط اسیدی در همین زمان، رشد افزایش نشان می‌دهد (شکل ۱).

با توجه به اینکه در شرایط قلیایی، نمونه بهینه رشد را دارد، منطقی است که بررسی مورفولوژیکی به طور عمدۀ در همین شرایط انجام شود. در جدول ۱، صفات مربوط به مورفولوژی نمونه در شرایط قلیایی آورده شده است. با توجه به منحنی رشد (شکل ۱) و ورود نسبی به فاز ایستایی از روز هشتم، صفات از روز اول تا روز هشتم به صورت روزانه بررسی گردیده است.

در شرایط بهینه pH به نظر می‌رسد که رنگ اجتماعات گرایش به رنگ قهوه‌ای دارد. در روز نخست پس از تلقیح، رنگ سبز به صورت مختصر مشاهده گردید، اما به تدریج در روزهای بعد، این رنگ به قهوه‌ای گرایش یافت. از نظر رفتار اجتماعات مشاهده دو گونه رفتار بودیم. اجتماعات در محیط مایع، گاه رفتاری مرکزگرا پیدا می‌کنند و گاهی در تمام ظرف متشر می‌شوند. وجود اسپورهای لایه دار در شرایط قلیایی در

شرایط توام دی اکسید کربن و اسیدیته و قلیاییت در این بررسی مورد توجه قرار گرفته است.

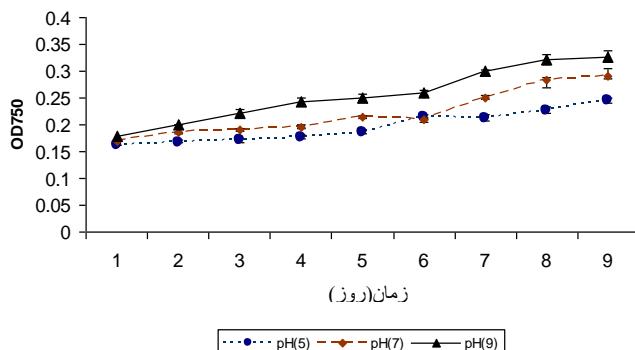
مواد و روش‌ها

نمونه‌های خاک از استان گلستان جمع آوری شدند. مشخصات جغرافیایی و نحوه نمونه برداری در سیاه بالایی و همکاران (۱۳۸۶) آمده است. کشت نمونه‌های خاک مطابق روش کشت سیانوباکتری‌های خاکزی انجام گرفت (Kaushik, 1987). پس از تشکیل کلنی، جدا سازی و کشت‌های بعدی، سیانوباکتری Haplosiphon sp. به صورت خالص تهیه گردید (Kaushik, 1987). شناسایی مقدماتی و شناسایی در حد گونه با استفاده از John و همکاران (۲۰۰۳)، Desikachary (۱۹۹۰) Anagnostidis and Komarek (۱۹۵۹)، Prescott (۱۹۶۲) و Geitler (۱۹۳۲) انجام گرفت. نمونه پس از شناسایی با عنوان ۵۶ Haplosiphon sp. FS. گذاری گردید و در موزه جلیکی پژوهشکده علوم پایه کاربردی دانشگاه شهید بهشتی ثبت گردید. کشت در محیط مایع BG0-11 و در شرایط نوری ۲ میکرو مول کوانتا بر متر مربع بر ثانیه (که توسط لامپ فلورسانس تأمین می‌گشت)، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و pH ۸ انجام گرفت (Soltani et al., 2006). بررسی‌های تغییرات مورفولوژیک در رابطه با تنش‌های اکوفیزیولوژیک، در ارلن‌های با حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر محتوی ۳۰۰ 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 ۴۸ ساعت جهت ایجاد سازگاری وارد محیط کشت مایع شد. بررسی‌های اولیه تیمارهای اسیدیته و قلیاییت و تیمار دی اکسید کربن از نوع هواده‌ی (محدودیت نسبی) انجام گرفت (Poza Carion et al., 2001).

بررسی‌های مورفولوژیکی با استفاده از نمونه‌های زنده و نمونه‌های تثبیت شده در مونت گلیسرین انجام گرفتند (شکروی و ساطعی، ۱۳۸۴). برای مشاهده و تشخیص از میکروسکوپ نوری، فلورسانس استفاده شد. مطالعه نمونه هم در کشت مایع و هم کشت جامد انجام گرفت. به طور روزانه

روزهای نخست پس از تلقیح مشاهده می‌گردد. اسپورها از نظر زمان حالت خود را از کروی به کروی-بیضوی تغییر می‌دهند (جدول ۱).

روزهای نخست حداقل تا آنجایی که با میکروسکوپ معمولی بتوان تشخیص داد ابتدا چند لایه و به تدریج روی دو لایه ثابت می‌شود. شکل اسپورها کروی یا کروی-بیضوی است حالت کروی معمولاً بیشتر در



شکل ۱: مقایسه منحنی رشد نمونه *Hapalosiphon* sp. در شرایط مختلف pH (۹، ۷، ۵)

Growth curves/pH comparison: pH comparison: pH

جدول ۱: جدول مشخصات بر اساس تغییرات مورفولوژیکی سیانوباکتر *Hapalosiphon* sp. در شرایط بهینه pH

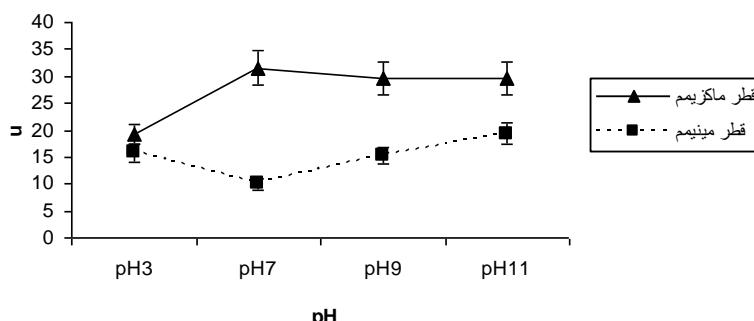
قطر و طول اسپور	وضعیت اسپور	شكل اجتماعات	رنگ اجتماعات	تیمار
قطر: ۴۴/۶۰۴-۱۷.۰۵۹ طول: ۳۳/۰۱۸-۲۵.۸۵	کروی، کروی- بیضوی، قهوه ای کمی متمایل به سبز	اجتماع در حاشیه ها کمی در وسط	بیضوی دارای دو لایه گاه	pH9,1 th
قطر: ۱۴/۸۰۹-۱۴.۳۱۱ طول: ۱۶/۵-۱۴.۶۷۶	کروی، کروی- بیضوی دارای دو توده های کوچک و پراکنده در تمام ظرف	توده های کوچک و پراکنده در قهوه ای تیره	لا یه	pH9,4 th
قطر: ۳۹/۰۵۴-۱۴.۴۶۸ طول: ۱۹/۰۹۲-۱۵.۴۸۸	کروی- بیضوی دارای دو لایه ناچیز پراکنده گی در وسط ظرف	اجتماع در حاشیه و به مقدار قهوه های تیره	لا یه	pH9,6 th
قطر: ۴۲/۹۵۶-۲۴.۲۵۶ طول: ۲۹/۷-۱۵.۳۴۱	کروی- بیضوی، بیضوی دارای دو لایه گاه دو تایی گاه سه تایی	قهوه ای	پراکنده	pH9,8 th

کمینه اسپورها در شرایط مختلف pH آورده شده است. در روز نخست پس از تلقیح تغییر ابعاد در شرایط pH متفاوت، تاثیر اسیدیته بر بیشینه قطر سلول های اسپور که از فراوانی برخوردار هستند، معنی دار می باشد ($p \leq 0.05$). در شرایط اسیدی ۵ pH، قطر بیشینه سلول ها به طور معنی داری اندک است، اما در روزهای آخر پس از تلقیح، بیشینه

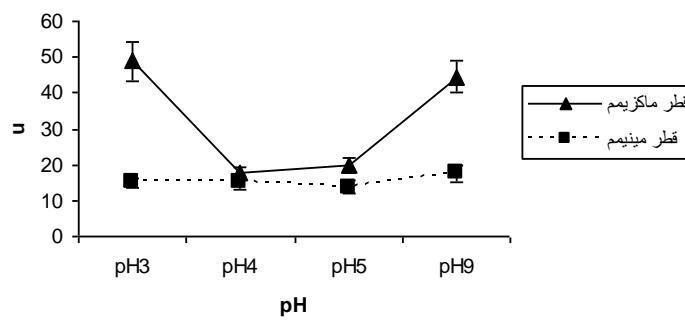
کمینه قطر در اسپورها در این شرایط، بین ۱۴ تا ۲۵ میکرون متفاوت است. به همین ترتیب بیشینه قطر اسپورها بین ۱۶ تا ۴۴ میکرون متفاوت می باشد که البته به شکل اسپور بستگی دارد. کمینه طول با حدود ۱۵-۱۶ میکرون و بیشینه طول اسپورها بین ۱۶/۵ تا ۳۳ میکرون نوسان می کند که با زمان دچار تغییر می شود. در شکل های ۲ و ۳ مقایسه بیشینه و

طور معنی داری کوچک می شود. در مورد کمینه طول سلول ها، در شرایط اسیدی، روند معکوس طی می شود (شکل های ۲ و ۳).

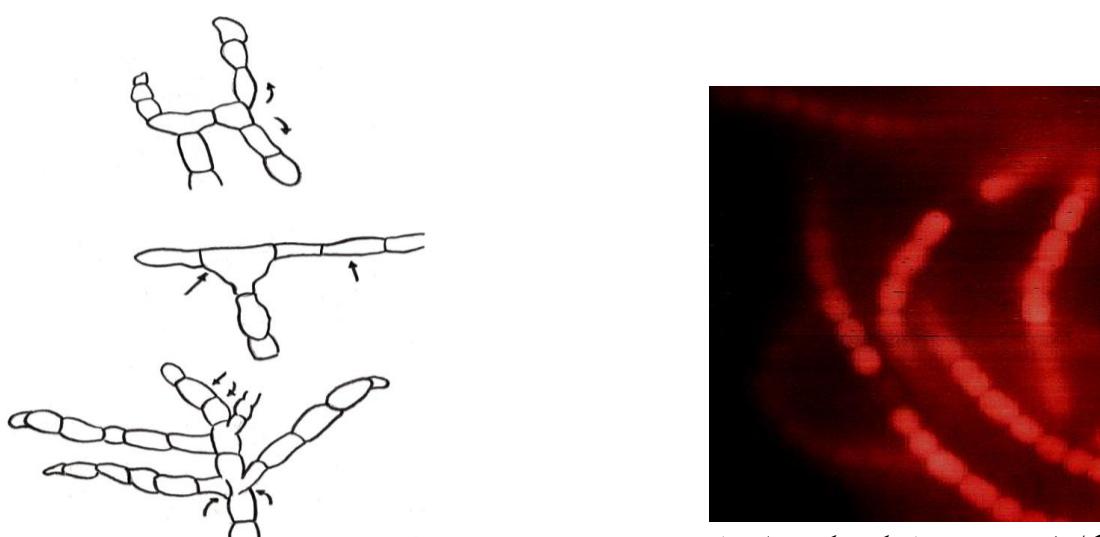
طول سلول های اسپور در شرایط خشی، قلیایی و قلیایی افراطی، فاقد اختلاف معنی دار است ($p \leq 0.05$)، اما در شرایط اسیدی، این تعادل بر هم می خورد و بیشینه طول سلول ها به



شکل ۲: منحنی مقایسه ای تغییرات طول ماکریزم و مینیزم سلول های اسپور روزهشتم از دوره رشد در اسیدیته متفاوت
طول سلول های اسپور: S.C.L (Spore Cell Length)



شکل ۳: منحنی مقایسه ای تغییرات قطر ماکریزم و مینیزم سلول های اسپور روز اول از دوره رشد
قطر سلول های اسپور: S.C.D (Spore Cell Diameter)



شکل ۵: انشعابات در سیانوباکتری *Haplosiphon* sp.FS56

شکل ۴: هتروسیست با میکروسکوپ فلورسانس در سیانوباکتری *Haplosiphon* sp.FS56

اجتماعات نوعی صفت ثابت می‌باشد. با تغییر محتوای رنگیزهای، رنگ قهوه‌ای به قهوه‌ای روشن و تیره گرایش پیدا می‌کند. به نظر می‌رسد که در روزهای چهارم به بعد پس از تلقیح، رنگ قهوه‌ای به سمت قهوه‌ای تیره گرایش می‌یابد. در رابطه با رفتار اجتماعات در محیط مایع گاه مرکزگرا و گاه در تمام ظرف منتشر می‌شود. البته در صورت اتخاذ استراتژی مرکزگرایی، این مرکزگرایی شدید نیست و به عنوان مثال با رفتار سیانوباکتری *Fischerella* sp. (وکیلی و همکاران، ۱۳۸۵) متفاوت می‌باشد.

وجود اسپورهای لایه دار در شرایط قلیایی، صفت تقریباً ثابتی به نظر می‌رسد. در تمامی شرایط لایه‌دار بودن حفظ می‌شود. این لایه‌ها می‌توانند از دو بیشتر باشند، اما به تدریج اسپورها تعداد لایه‌های خود را روی دو ثبیت می‌کنند و به نظر می‌رسد که تغییر زمان، نمی‌تواند سبب کم یا زیاد شدن لایه‌های اسپور گردد. در بررسی‌های *Perona* و همکاران (۲۰۰۳) این مسئله مورد تایید قرار گرفته است. برخلاف لایه‌ها که ظاهرًا صفت ثابت و محکمی است، اسپورها از نظر زمان حالت خود را تغییر می‌دهند می‌توان نتیجه گرفت که تمایل اسپورها روی هم رفته در شرایط قلیایی، به حالت کروی - بیضوی به مراتب بیشتر است و ظاهرًا این شکل در اسپورهای این سیانوباکتری از عمومیت برخوردار است.

در رابطه با کمینه و بیشینه ابعاد اسپورها، این یافته‌ها با آنچه در *John* و همکاران (۲۰۰۳) در خصوص سیانوباکترهای هاپالوسیفون آمده متناقض است. به نظر می‌رسد که در گونه‌های محدوده جغرافیایی مورد توجه ایشان، ابعاد اسپورها به مراتب کوچک‌تر می‌باشد. به نظر می‌رسد که هم pH و هم زمان، در شدت نور محدود که در این بررسی لحاظ شده است، بر تنوع این گونه تاثیر می‌گذارند. الگوی تغییر بیشینه و کمینه قطر سلول‌های اسپور، در شرایط قلیایی و اسیدی افراطی با هم سازگار نیست. به هر حال کمینه قطر در شرایط اسیدی به بیشینه نزدیک می‌شود و اختلاف معنی دار نیست.

در شرایط متفاوت اسیدی و قلیایی و مقادیر متفاوت دی اکسید کربن، نمونه در عمدۀ مواد گرایش به حالت پوسته‌ای *Crustose* دارد. در رابطه با محور اصلی در این سیانوباکتری، تقریباً در تمامی تیمارهای اعمال شده pH و دی اکسید کربن، به صورت تک ردیفه مشاهده گردید (شکل ۵). انشعبات کمتر تحت تاثیر تنش‌ها دچار تغییر می‌گردند و حتی انشعبات دو طرفی هم مشاهده می‌شود (شکل ۵).

در خصوص هتروسیست و غلاف مشاهده با میکروسکوپ معمولی امکان پذیر نبود، ولی مشاهدات با میکروسکوپ فلورسانس و فاز کتراست نشان داد که تحت تاثیر pH و دی اکسید کربن قرار می‌گیرند (شکل ۴). ابعاد هتروسیست به مراتب از ابعاد اسپورها کوچکتر است، ولی مابین ابعاد هتروسیست و سلول‌های رویشی، به ویژه در شرایط مایع اختلاف معنی دار وجود ندارد ($P < 0.05$). اختلاف ابعاد هتروسیست در شرایط اسیدی و قلیایی از نظر آماری معنی دار نیست ($P \leq 0.05$).

بحث

در سیانوباکتریوم *Hapalosiphon* sp.FS56 عدم فاز تاخیری در شرایط قلیایی و نیز وجود فاز تصاعدی از روز نخست، نشان می‌دهد که نمونه به طور ذاتی قابلیت سازگاری با شرایط قلیایی را دارد (شکری و همکاران، ۱۳۸۷). این یافته با عمدۀ بررسی‌های انجام شده در ایران و جهان سازگاری دارد. به عنوان مثال، در بررسی‌های انجام شده بر *Nostoc* UAM205, *Nostoc* (Nostoc UAM205, Nostoc 206) که در شالیزارهای اسپانیا انجام شده است، قلیایی‌پسند بودن نمونه مورد تایید و تاکید قرار گرفته است (Leganes and Fernandez Valiente, 1991). در خصوص *Nostoc* sp. UAM206، ضمن تاکید بر قلیایی‌پسند بودن نمونه، تاثیر محتوای دی اکسید کربن و نور بر رفتارهای سویه مورد توجه قرار گرفته است (Poza-Carion et al., 2001).

به این ترتیب بررسی‌های مورفولوژیک در شرایط قلیایی نمونه متوجه شد. در شرایط بهینه pH، البته سوای روز نخست پس از تلقیح، گرایش به رنگ قهوه‌ای در این

اصلی در جنس‌هایی مانند *Stigonema* و *Fischerella* تک ردیفه و چند ردیفه معرفی شده‌اند. در سلطانی و صفائی *Fischerella* sp. FS18 (۱۳۸۴)، سیانوباکتری استیگونماتال نمونه‌ای با محور اصلی است که هم تک ردیفه و هم چند ردیفه مشاهده شده است. در شکروی و همکاران (۱۳۸۸)، *Hapalosiphon* sp. FS44 به صورت نمونه‌ای با محور اصلی تک ردیفه معرفی گردیده است، اما روی مسئله تنوع مورفولوژیک و وضعیت محور اصلی تاکیدی نگرددیده است. با شواهدی که در حال حاضر در دست است، می‌توان محور اصلی تک ردیفه را برای این گونه صفتی بارز و ثابت دانست.

از نظر انشعابات، بررسی‌های انجام شده نشان داد که نوع انشعابات، به انشعاب‌های گروه استیگونما / فیشرلا شبیه است. نوع انشعاب در این گونه، صفت ثابتی بود. روی هم رفته در این سیانوباکتری، انشعاب‌ها در محیط جامد بهتر قابل بررسی بودند و کمتر از تنش‌های محیطی متأثر می‌شدند. این نتیجه با آنچه در Castenholz (۲۰۰۱) آمده منطبق می‌باشد. هتروسیست‌ها در این سیانوباکتری، به ندرت مشاهده شدند. به خصوص در بررسی‌هایی که در رابطه با تنش‌های دی اکسید کربن و pH به صورت توان انجام گرفت. هتروسیست‌ها در این گونه همانند *Fischerella* sp. FS18 (Soltani, 2010) تحت تاثیر تیمارهای pH و دی اکسید کربن قرار می‌گیرند. تنوع پذیری مورفولوژیک آن‌ها به صورت پیش هتروسیست‌ها و بعد هتروسیست‌های کامل، در شکل‌های استوانه‌ای و استوانه‌ای بیضوی و بیضوی قابل مشاهده است که البته تمایل به اشکال استوانه‌ای و استوانه‌ای بیضوی، به خصوص در شرایط قلیایی و هوادهی (شرایط بهینه برای رشد)، بارزتر می‌باشد. در این گونه، حداقل در شرایط متفاوت اسیدیته و دی اکسید کربن، ابعاد هتروسیست صفت پایداری نیست تا بتوان به استناد آن به ارائه توصیف دیگری از نمونه پرداخت.

نمونه می‌تواند هم در محیط‌های اسیدی افراطی و هم در محیط‌های قلیایی افراطی بقای خود را حفظ نماید و این بقا

برعکس در شرایط اسیدی افراطی، همانند قلیایی افراطی، واگرایی افزایش می‌یابد و همبستگی میان طول و قطر ضعیف می‌شود ($R^2=0.27$). همبستگی میان کمینه طول و pH همبستگی نسبتاً ضعیفی است ($R^2=0.39$) و این نشان از عدم تعادل - ظاهری - در آهنگ کاهش اندازه سلول‌ها تحت تاثیر شرایط اسیدی و قلیایی دارد. در مجموع به نظر می‌رسد که شرایط اسیدی و قلیایی، سبب نوعی عدم تعادل در آهنگ رشد اسپورها می‌شوند و از این نظر الگوی غیرقابل پیش‌بینی پدید می‌آورند. بهر حال آنچه مشخص است اینکه در شرایط بهینه pH ۹، واگرایی بیشتری بین قطرهای سلولی وجود دارد تا طول سلول‌ها. آنچه در رابطه با تمایل به شکل‌های کروی - بیضوی، بیان گردید، می‌تواند یک تفسیر سطحی بر این رویکرد باشد.

نمونه در عمدۀ مواد گرایش به حالت پوسته‌ای Crustose دارد. تنها در حالتی که با شرایط افراطی اسیدی و قلیایی مواجه باشیم در شرایط محدودیت دی اکسید کربن، نمونه از حالت پوسته‌ای به حالت جدا و منقطع در می‌آید و آرایش نسبتاً همگن کروی به خود می‌گیرد و در محیط به صورت تقریباً یکسان پخش می‌شود. غیر از این، به ویژه در شرایط pH ۹ بدون توجه به محتوای دی اکسید کربن، نمونه حالت پوسته‌ای خود را حفظ می‌کند. به هرحال عدم این حالت در شرایط افراطی اسیدی و قلیایی، مانع می‌شود تا به عنوان یک صفت ثابت و دائم روی آن تاکید کرد، ولی می‌توان گفت که در عمدۀ حالات این ویژگی در نمونه هست و می‌تواند به عنوان یک صفت تقریباً ثابت مورد توجه و بعد ارزیابی قرار گیرد.

به نظر می‌رسد محور اصلی تک ردیفه در این سیانوباکتری نوعی صفت ثابت باشد و یا حداقل از تیمارهای بکار رفته تاثیر نپذیرفته است. در بررسی‌هایی که بر روی سایر سیانوباکتری‌های استیگونماتال استان گلستان انجام گرفته، این قطعیت در تک ردیفه بودن محور اصلی وجود نداشته است. در شکروی و ساطعی (۱۳۸۴)، شکروی و همکاران (۱۳۸۷)، سیاه‌بالایی و همکاران (۱۳۸۶) و وکیلی (۱۳۸۵)، محورهای

منابع

- امیرلطیفى، ف. (۱۳۸۶). بررسی بقا و رشد و وضعیت رنگیزهای سیانوباکتری *Nostoc* sp. در شرایط متفاوت اسیدیته و قلیاییت، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.
- سلطانی ن.، خاوری نژاد، ر.ع.، طباطبائی یزدی، م.، شکروی، ش. و فرناندز والیته، ا. (۱۳۸۴). بررسی خواص آنتی میکروبیال و فیزیولوژی سیانوباکتریا در محیط‌های افراطی، پایان نامه دکترای تخصصی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم تهران
- سیاه بالایی، ر.، افشارزاده، س. و شکروی، ش. (۱۳۸۶). بررسی جلبک‌های رشته‌ای استان گلستان. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان.
- شکروی، ش. و ساطعی، آ. (۱۳۸۴) نشان ویژه سازی مورفولوژیک سیانوباکتری به منظور تلقیح در شالیزار، گزارش طرح پژوهشی، معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.
- شکروی، ش. و ساطعی، آ. (۱۳۸۶). بررسی پتانسیل مورفولوژیک سیانوباکتری به منظور تلقیح در شالیزار، گزارش طرح پژوهشی، معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.
- شکروی، ش.، سلطانی، ن. و بافتحه چی، 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 بافتحه چی، ل. (۱۳۸۷). سیانوباکتریولوژی، چاپ اول، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، صفحات ۷۰-۹۸.

نشانی از وجود مکانیسم تراکمی دو طرفه است که توانسته بقای نمونه را در شرایط نامطلوب اسیدیته و قلیاییت حفظ کند. هرچند عملکرد نمونه در محدوده شرایط قلیایی بهتر می‌باشد، ولی در شرایط اسیدی افراطی نیز تا حد ۴ pH قادر به عملکرد مطلوب است و البته تا ۳ pH کارایی خود را به طور نسبی حفظ می‌کند.

نتیجه گیری نهایی

سیانوباکتر FS56 *Hapalosiphon* sp. در شالیزارهای استان گلستان وجود دارد و از نظر ویژگی‌های مورفولوژیکی با نمونه گزارش شده یعنی *Hapalosiphon* sp. FS44 و دیگر اعضای استیگونماتال بررسی شده در این استان متفاوت می‌باشد. این تفاوت به خصوص از نظر ویژگی‌های مورفولوژیکی کلاسیک و ویژگی‌های اکوفیزیولوژیکی به ویژه در ارتباط با ابعاد اسپورها مشهود می‌باشد. سیانوباکتری مورد بررسی سویه ای قلیایی پسند است. وجود فاز تصاعدی از روز نخست نشان می‌دهد که به طور ذاتی قابلیت سازگاری با شرایط قلیایی را دارد، وجود مکانیسم تراکمی دو طرفه دی اسیدی کردن در این سیانوباکتر باعث می‌شود که هم در شرایط اسیدی و هم قلیایی بقای نمونه در شرایط نامطلوب حفظ شود هر چند عملکرد آن در محدوده شرایط قلیایی بهتر می‌باشد. لازم به توضیح است که این بررسی‌ها در شرایط نور محدود انجام شد و سیالیت مورفولوژیکی در این سیانوباکتریوم افراطی است.

سپاسگزاری

نگارندگان وظیفه خود می‌دانند از کلیه افرادی که در طول انجام این پژوهش، کمال همکاری را داشته‌اند، صمیمانه سپاسگزاری نمایند. سپاسگزاری از سرکار خانم کیایی (کارشناس آزمایشگاه تحقیقات دانشگاه آزاد گرگان) و سرکار خانم رسایی (کارشناس آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه آزاد گرگان) به ویژه ضروری است.

- John, D.M., Whitton, B.W. and Brook, A.J. (2003).** 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.
- Leganés, F. and Fernández-Valiente, E. (1991).** The relationship between the availability of external CO₂ and nitrogenase activity in the cyanobacterium *Nostoc* UAM205. Journal of Plant Physiology, 139: 135-139.
- Perona E., Abol, M., Bonilla,I. and Mateol, P. (2003).** Cyanobacterial diversity in Spanish river determined by means of isolation cultures. Morphological variability of isolates in relation to natural populations. Algological Studies 109 Cyanobacterial research 4 pp: 475 486.
- Poza-Carrión, C., Fernández-Valiente, E., Piñas, F.F. and Leganés, F. (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 Pub.
- Soltani, N., Khavari-Nejad, R., Tabatabaei, M., Shokravi, Sh. and Valiente, E.F. (2006).** Variation of Nitrogenase Activity, photosynthesis and pigmentation of cyanobacterium *Fischerella ambigua* strain FS18 under different irradiance and pH. World Microbiology Biotechnology, 22(6): 571-576.
- 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., 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.
- شکروی، ش.، صفائی، م. و جرجانی. س. (۱۳۸۹)، بررسی خوگیری سیانوباکتریوم FS44 به *Hapalosiphon* sp. شرایط توان دی اکسید کربن و pH. فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، سال پنجم، شماره ۳، صفحات ۴۳-۳۰.
- شکروی، ش. و صفائی، م. (۱۳۸۸). بررسی اکوفیزیولوژیک سیانوباکتری *Hapalosiphon* sp جمع آوری شده از شالیزارهای استان گلستان. گزارش طرح پژوهشی معاونت پژوهشی، دانشگاه آزاد اسلامی گرگان.
- منادی، ن. (۱۳۸۸). ریزجلبک‌ها به عنوان سپر زیستی در کشاورزی-بررسی خوگیری ریزجلبک‌های زمین‌های کشاورزی به شرایط افراطی محیطی ایجاد شده در اثر حملات احتمالی با استراتژی ایجاد تنوع پذیری مورفو‌لولوژیک، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.
- وکیلی، ف. (۱۳۸۵) بررسی رشد و وضعیت هتروسیست در سیانوباکتریوم *Fischerella Ambigua* پایان نامه کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.
- Anagnostidis, K. and Komarek, J. (1990).** Modern approaches to the classification of cyanobacteria. Stigonematales. Archieves for Hydrobiology sup 14, 224-286.
- Castenholz, R.W. (2001).** Cyanobacteria. In Bergey's manual of systematic bacteriology. Oxygenic photosynthetic bacteria. 2nd edn., eds Castenholz, W.R. & Boone, D. pp. 474-487. Baltimore: Williams and Wilkins.
- Desikachary, T.V. (1959).** Cyanophyta, Academic Press. New York and London. 686pp..
- Geitler, L. (1932).** Cyanophyceae von Europa Kryptogamenflora Deutschland, Osterreich, under de Sweitz. (Rabenhorst, L. Eds) Vol. 14, pp. 673-1056. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft.