بررسی تأثیر تغییرات اسیدیته در شدت محدود نور بر بقا، رشد، وضعیت رنگیزه‌ای و برون‌ریزش آمونیوم سیانوباکتری *Nostoc* sp. جمع‌آوری شده از شالیزارهای استان گلستان

*فریبا امیرلطیفی[۱]، شادمان شکروی[۲]، مریم صفایی[۱] و زهرا حسینی کلبادی[۱]

۱- باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

۲- گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

چکیده

سیانوباکتریوم خاکزی *Nostoc* sp. از نظر توان تعدیل اسیدیته در شرایط آزمایشگاهی نمونه‌ای توانمند به نظر می‌رسد. با توجه به بعد کاربردی نمونه، در این بررسی این توان در رابطه با شدت نور محدود مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌برداری از شالیزارهای استان گلستان در طی یک دوره یک ساله انجام گرفت. در شرایط محدودیت دی‌اکسیدکربن اعمال شده، تیمارهای اسیدیته مرحله اول از نوع شرایط کاملاً اسیدی (۵ pH)، شرایط خنثی (۷ pH) و شرایط قلیایی (۹ pH) بود. نتایج نشان داد که در هرسه محیط نمونه‌های تلقیح شده ظرف روزهای اول در فاز تصاعدی رشد قرار گرفتند، ولی شرایط اسیدی سبب افت محسوس رشد در روز سوم به بعد گردید. اسیدیته قلیایی بیشترین نرخ رشد را نشان داد. در مرحله بعد این اسیدیته با دو مقدار نزدیک (۹/۵- ۸/۵ pHs) مقایسه گردید. نتایج نشان داد که نمونه دارای توان رشد یکسان در مرزهای نزدیک به اسیدیته بهینه نمی‌باشد. با توجه به منحنی‌های طیف جذبی در (۵ pH)، (۷ pH) و (۹ pH با هوادهی) در روزهای اول و سوم تلقیح کاروتنوئیدها بیشتر و فیکواریترین در روز دوم تلقیح بیشتر بوده است و در (۹/۵- ۸/۵ pHs) و (۹ pH بدون هوادهی) در هر سه روز اول تلقیح مقدار فیکواریترین بیشتر بوده است. مقدار برون ریزش آمونیوم در شرایط کاملا اسیدی (۵ pH) نسبت به شرایط خنثی (۷ pH) و شرایط قلیایی (۹ pH) در روز دوم تلقیح بیشتر بوده است.

کلمات کلیدی: اسیدیته، برون‌ریزش آمونیوم، دی اکسیدکربن، سیانوباکتری، نور، نوستوک، وضعیت رنگیزه‌ای

مقدمه

سیانوباکتریای شالیزار در محدوده‌ای از تغییرات اسیدیته قرار دارند که حتی می‌توانند به صورت روزانه در محیط شالیزار ظاهر گردد (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱). غرقابی شدن شالیزارها سبب می‌شود که میان دی اکسیدکربن و بی‌کربنات نوعی تعادل ایجاد گردد. عامل تعیین کننده این تعادل اسیدیته محیط است (Stal, 1995). اکثر سیانوباکتری‌ها دارای مکانیسم تراکمی دی‌اکسیدکربن هستند که می‌توانند در شرایطی که کمبود دی‌اکسیدکربن و یا افزایش تعادل به سمت بیکربنات وجود داشته باشد، سبب تعدیل رابطه میان این دو گردد (Valiente & Leganes, 1989).

*e.mail:Amirlatifi100@yahoo.com

نور نقش عمده‌ای در اجتماعات سیانوباکتری خاک‌ها و شالیزارها دارد (Boussiba، ۱۹۸۸). نور در هنگامی که برنج رشد می‌کند محسوس است و در برخی بررسی‌ها نشان داده شده است که میزان نوری که شالیزار پس از رشد کامل برنج دریافت می‌کند در حدود یک درصد میزان دریافتی قبل از رشد برنج می‌باشد (Valiente & Leganes، ۱۹۸۹). سیانوباکتریا استراتژی‌های خاصی برای استفاده از نور محدود وجود دارد. وجود دستگاه فیکوبیلی‌زوم یکی از این استراتژی‌ها است. فیکوبیلی‌زوم‌ها سیانوباکتریا را قادر می‌سازند که در شرایط کم نوری مانند شالیزارها یا درون خاک‌ها با تنش موجود مقابله نمایند (سلطانی و همکاران، ۱۳۸٤).

متأسفانه تا زمان حاضر بررسی چندانی در خصوص نقش توأم نور و اسیدیته در رابطه با رشد و بقای سیانوباکتری‌ها انجام نگرفته است. این در حالی است که به دلیل توانمندی اقتصادی ذاتی سیانوباکتریا، بخصوص در بیوتکنولوژی کشاورزی، بررسی اکوفیزیولوژیک این نمونه‌ها و از جمله سنجش قابلیت بقای آنها در شرایط توام محدودیت نور و اسیدیته کمال اهمیت را دارد (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱). نشان ویژه‌سازی سیانوباکتریای خاک در شرایط توأم محدودیت نور و اسیدیته، با انتخاب کاراترین نمونه جهت کاربرد به عنوان کود بیولوژیک همبستگی مستقیم دارد (شکروی و ساطعی، ۱۳۸۲).

سیانوباکتری *Nostoc* sp. که در این بررسی مورد توجه قرار گرفته است، از سیانوباکتریای دارای هتروسیست می‌باشد. بدلیل داشتن هتروسیست می‌تواند عمل تثبیت ازت مولکولی را در اندام‌های خاصی به نام هتروسیست انجام دهد. کمپلکس آنزیمی نیتروژناز که در درون هتروسیست‌ها بوجود می‌آید، قادر است با مصرف قابل توجه انرژی، ازت هوا را تثبیت کند و از این طریق در شرایط محدودیت نیتروژن، بقای نمونه را حفظ نماید (Stal, 1995). نشان داده شده که فعالیت نیتروژنازی تا حد قابل توجهی تحت تأثیر شرایط محیطی و از جمله نور و تغییرات اسیدیته قرار می‌گیرد (Valiente & Leganes, 1989).

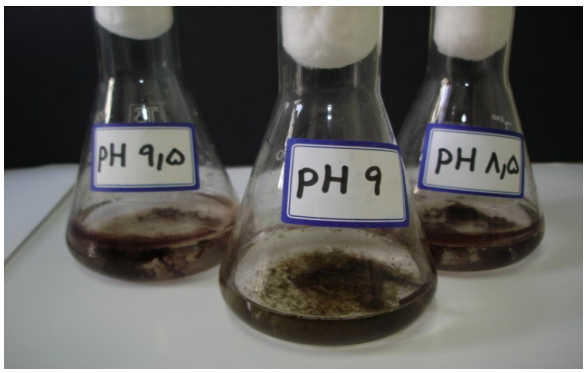
رشد و وضعیت هتروسیست سیانوباکتریوم *Nostoc* sp. در شرایط نوری بالاتر از ۱۰۰۰ لوکس در محیط‌های اسیدی و قلیایی مورد بررسی قرار گرفته است. در شکروی و همکاران (۱۳۸۱) نمونه‌هایی از *Nostoc* جمع‌آوری شده از شالیزارهای گلستان، مازندران و گیلان، تحت تأثیر اسیدیته مختلف از نظر وضعیت رنگیزه‌ای بررسی شده‌اند. در شکروی و ساطعی (۱۳۸۲) نمونه‌هایی از سیانوباکتریای استیگونماتال تحت تأثیر اسیدیته و شدت‌های نوری مختلف نشان ویژه‌سازی شده‌اند. در Soltani و همکاران (۲۰۰۵) نمونه‌ای از سیانوباکتریال استیگونماتال تحت تأثیر توأم نور و اسیدیته از نظر فتوسنتز و فعالیت نیتروژنازی بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های خاک از شالیزارهای استان گلستان، در طول دوره زمانی یک ساله جمع‌آوری شدند. کشت نمونه‌های خاک مطابق روش کشت سیانوباکتری‌های خاکزی انجام گرفت (Kaushik, 1988). سازی به روش پلیت آگار انجام شد. پس از تشکیل کلنی، جدا سازی و کشت‌های بعدی، سیانوباکتریوم *Nostoc* sp. به صورت خالص تهیه گردید (Kaushik,1988). شناسایی مقدماتی و شناسایی در حد گونه با استفاده از کلیدهای شناسایی معتبر John و همکاران (۲۰۰۲)، Anagnostidis & Komarek (۱۹۹۰)، Geitler (۱۹۳۲)، Prescott (۱۹٦۲)، Desikachary (۱۹۵۹) انجام گرفت. کشت در محیط BG0-11 فاقد نیتروژن انجام گرفت. نمک‌های واجد نیتروژن چه در میکرو و چه در ماکروالمان‌ها به طور کامل از محیط حذف گردیدند. جهت نگهداری نمونه به شرایط نور محدود در حد ۲ میکرو مول کوانتا برمتر مربع درثانیه (که توسط لامپ فلورسانت تامین می‌گشت)، دمای ۲۸°C و ۷/۲ pH انتقال داده شد (Soltani et al. 2005). بررسی‌ها در

ارلن‌های با حجم ۲۵۰ میلی لیتر محتوی ۱۰۰ میلی لیتر سوسپانسیون انجام شد. کشت‌ها به مدت ۱ ساعت هم زده شده و سپس به اتاق کشت منتقل گردیدند. پیش از تلقیح، نمونه به مدت ٤٨ ساعت جهت ایجاد سازگاری به محیط مایع وارد گردید. بررسی اولیه تیمارهای اسیدیته در شرایط سه گانه اسیدی، خنثی و قلیایی انجام گرفت (pHs ۹،۷،۵). مرحله دوم سنجش اسیدیته بر مبنای نتایج مرحله اول در محدوده اسیدیته کاملاً قلیایی (pHs ۸/۵-۹/۵) تنظیم گردید. در هر دو مورد از تلقیح دی‌اکسیدکربن به محیط خودداری شد. رشد بر اساس کدورت‌سنجی، با استفاده از اسپکتروفتومتر (OD_{750}) انجام شد. سنجش کلروفیل پس از استخراج با متانول با روش Jensen (۱۹۷۸)، کاروتنوئیدها بر اساس Jensen (۱۹۷۸) و فیکوبیلی پروتئین‌ها بر اساس سلطانی و همکاران (١٣٨٤) اندازه گیری گردیدند. بررسی‌های مورفولوژیک با استفاده از نمونه‌های زنده و نمونه‌های تثبیت شده در مونت گلیسرین، انجام گرفتند (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱). پس از استخراج کلروفیل به صورت در شیشه In vitro از طریق بررسی همبستگی و تعیین معادله خط ثابت رشد نسبی محاسبه گردید. به همین ترتیب وضعیت رنگیزه‌ای به صورت در زیوه In vivo در طول موجهای ٤٨٠- ٦٢٠-٦٥٠-٦٨٠ نانومتر تعیین گردید (Suda, 2002). برون ریزش آمونیوم با استفاده از روش فنات انجام شد (Solarzano, 1969). آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزارهای SPSS Ver 11.5 و Excel 2003 انجام شد.

تصویر ۱: تیمارهای pH



تصویر ۲: تیمارهای pH

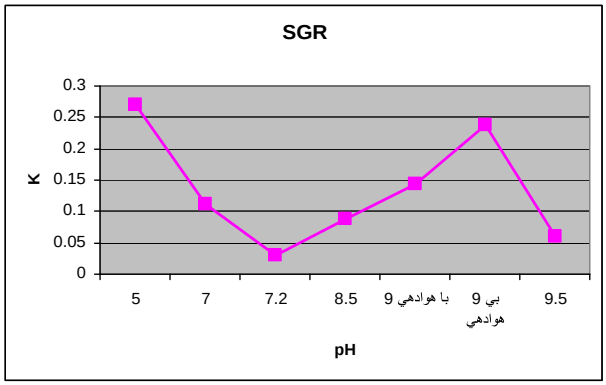
نتایج

جدول ۱: مقدار نرخ رشد و زمان مضاعف شدن سیانوباکتریوم *Nostoc* sp.

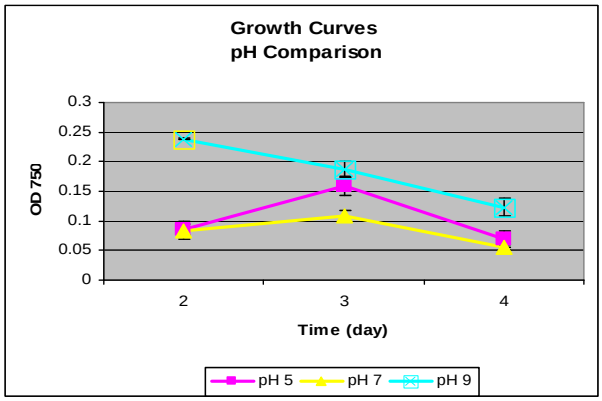
نوع تیمار	زمان مضاعف شدن (G)	ثابت ویژه رشد (μ)
pH ۵	۲/۵۵	۰/۲۷
pH ۷	٦/۲۱	۰/۱۱۱
pH ۹ (با هوادهی)	٤/۸۳	۰/۱٤۳
pH ۹ (بدون هوادهی)	۲/۹۰	۰/۲۳۸

جدول ۲: مقدار نرخ رشد و زمان مضاعف شدن سیانوباکتریوم *Nostoc* sp.

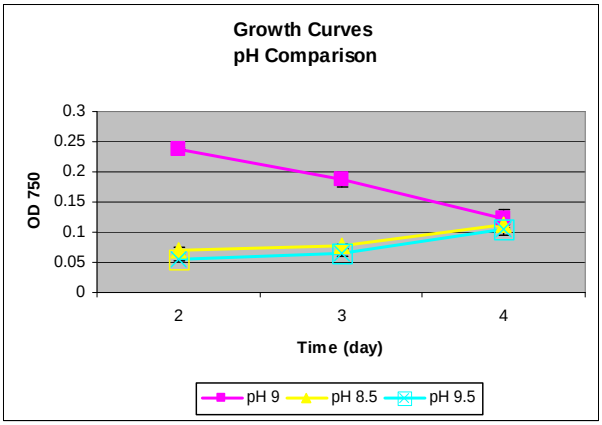
نوع تیمار	زمان مضاعف شدن (G)	ثابت ویژه رشد (μ)
pH ۷/۲	۲۳/٦۲	۰/۰۲۹
pH ۸/۵	۷/۸۹	۰/۰۸۷
pH ۹/۵	۱۱/٦٦	۰/۰۵۹



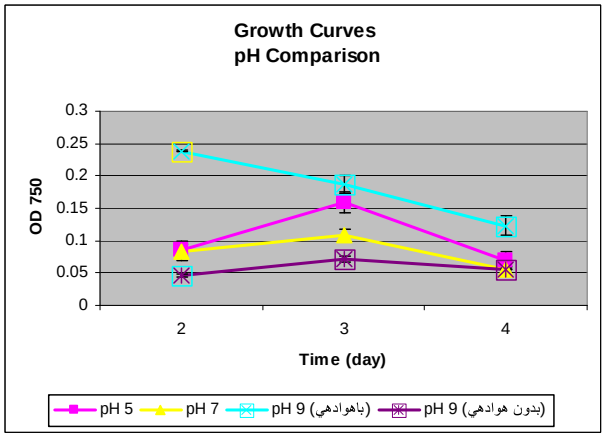
شکل ۱: مقایسه نرخ رشد ویژه در سیانوباکتری *Nostoc* sp. در شرایط تیمارهای مختلف pH SGR (Specific Growth Rate) نرخ رشد ویژه



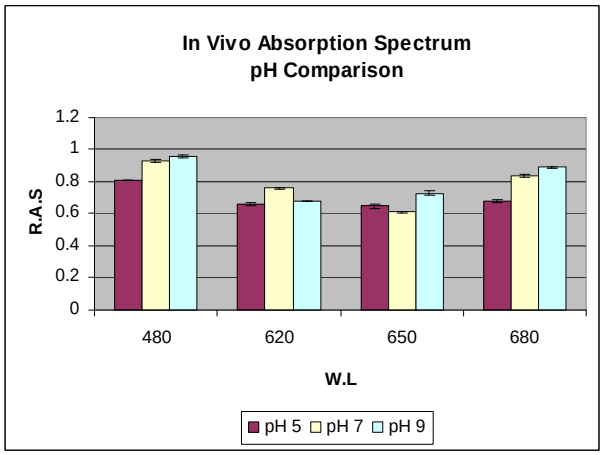
شکل ۲: مقایسه منحنی رشد در سیانوباکتری *Nostoc* sp. در pHs ۵،۷،۹ (با هوادهی)



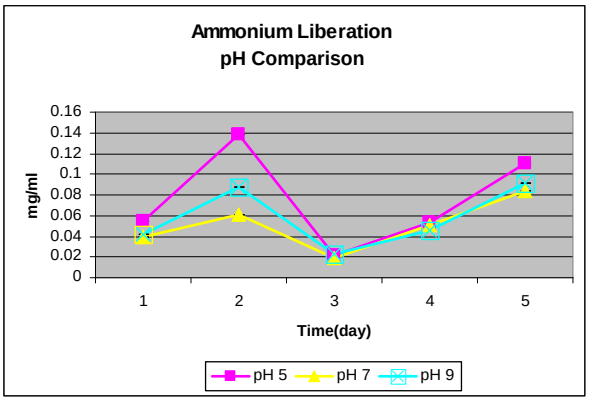
شکل ۳: مقایسه منحنی رشد در سیانوباکتری *Nostoc* sp. در pHs ۹ - ۸/۵ - ۹/۵ (با هوادهی)



شکل ٤: مقایسه منحنی رشد در سیانوباکتری *Nostoc* sp. در pHs ۵،۷،۹ (با هوادهی) و pH ۹ (بدون هوادهی)



شکل ۵: شکل هیستوگرام مقایسه رنگیزه‌ها در pHs ۵،۷،۹ (با هوادهی)
RAS: Relative Absorption Spectrum
WL: Wavelenght



شکل ٦: مقایسه برون ریزش آمونیوم سیانوباکتری *Nostoc* sp. در pHs ۵،۷،۹ (با هوادهی)

بحث

در شرایط قلیایی (pH ۹) سیانوباکتریوم، به سرعت وارد فاز تصاعدی رشد می‌شود و نرخ رشد ویژه آن به طور نسبی بالا می‌باشد (جدول ۱ و شکل‌های ۱ و ۲). این امر با یافته‌های خاوری نژاد و همکاران (۱۳۸۱) متفاوت ولی با یافته‌های Valiente و همکاران (۱۹۸۹) بر روی *Nostoc* sp. UAM 205 و یافته‌های Pozza Carrion و همکاران (۲۰۰۱) بر روی *Nostoc* sp. UAM206 سازگار می‌باشد. در پژوهش خاوری‌نژاد و همکاران (۱۳۸۱) از تلقیح دی‌اکسیدکربن استفاده شده است در حالی که در دو پژوهش دیگر مشابه این بررسی از اعمال دی‌اکسیدکربن به صورت هوادهی و یا بدون هوادهی استفاده گردیده است. بقای نمونه در شرایط قلیایی بالا (pH ۹) چه درشرایطی که از هوادهی استفاده نمایید (**شکل ۲**) و چه بدون استفاده از هوادهی (**شکل ٤**)، از روز دوم تضعیف می‌گردد. این امر به اضافه رشد به مراتب پایین‌تر نمونه درشرایط بدون هوادهی (**شکل ٤**) احتمالاً نشان دهنده آن است که مکانیسم تراکمی دی‌اکسیدکربن در نمونه مذکور در شرایط بیکربنات کارایی قابل توجهی ندارد (شکروی و همکاران ۱۳۸۱). این امر با یافته‌های خاوری‌نژاد و همکاران (۱۳۸۱) بر روی *Nostoc* sp. جمع‌آوری شده از شالیزارهای استان گلستان متفاوت است. همین‌طور با بررسی‌های سلطانی و همکاران (۱۳۸٤) بر روی *Fischerella* sp. FS18 متفاوت است. نا کارایی سیستم تراکمی دی‌اکسیدکربن به صورت دیگر یعنی در شرایط اسیدی (pH ۵) نیز نشان داده می‌شود. در این حالت نمونه بقای خود را به صورت نسبی و در حد پایین حفظ می‌کند (**شکل ۲**)، ولی این میزان به مراتب از روز دوم مربوط به رشد نمونه در شرایط کاملاً قلیایی پایین‌تر است.

این امر در شرایط هوادهی و بدون هوادهی صدق می‌کند. به نظرمی‌رسد که در نمونه امکان تراکم دی‌اکسیدکربن وجود ندارد یا توانایی آن بالا نیست. این نتایج با خاوری‌نژاد و همکاران (۱۳۸۱)، Valiente و همکاران (۱۹۸۹)، Pozza Carion و همکاران (۲۰۰۱)، سازگار است. همچنین با یافته‌های Soltani و همکاران (۲۰۰۵) سازگار می‌باشد.

هوادهی سبب بالا رفتن نسبی غلظت دی‌اکسیدکربن شده، سبب از کار انداختن یا تضعیف مکانیسم تراکمی گردد که به صورت کاهش در بقا و رشد آشکار می‌شود (**شکل ٤**). این مکانیسم در شرایطی که به شرایط اسیدیته در محدوده خنثی نزدیک شویم، افت محسوس پیدا می‌کند. بنابراین شاهد رشد پایین‌تر در اسیدیته خنثی هستیم (**شکلهای ۲و ٤**). حساسیت نمونه به شرایط قلیایی و رفتارهای آن، با آنچه در بررسی های سلطانی و همکاران (۱۳۸٤) آمده است، سازگار می‌باشد. دور شدن از شرایط pH ۹ سبب می‌شود که رفتارهای رشدی نمونه تغییر قابل توجه پیدا کند و به شرایطی مشابه اسیدیته خنثی و اسیدی نزدیک شود (جدول ۲ و **شکل ۳**). با توجه به اینکه در روزهای نخست پس از تلقیح (روز دوم)، در pH ۹ رشد نمونه به بالاترین حد خود می‌رسد، ولی در pH ۹/۵ و pH ۸/۵ شاهد رشدی تدریجی و ضعیف هستیم، احتمال آن وجود دارد که طی روزهای نخست پس از تلقیح مکانیسم تراکمی از نوع بیکربنات در نمونه فعال شده و فعالیت خود را از دست داده باشد. از این نظر نمونه را می‌توان به نوعی وابسته به اسیدیته دانست (شکروی و همکاران ۱۳۸۱). مشابهت نسبی الگوهای رشد در شرایط نزدیک به pH ۹ با شرایط خنثی و اسیدی، این فرض را تقویت می‌نماید (شکل‌های ۲ و ۳).

تغییرات اسیدیته بر محتوای رنگیزه‌ای تأثیر می‌گذارد (شکل ۵). این امر با یافته‌های مربوط به Anand و همکاران (۱۹۹۰) و Stal (۱۹۹۵) سازگار است. اینکه کاروتنوییدها در شرایط قلیایی pH ۹ از غلظت بالاتری برخوردار هستند، با

توجه به یافته‌های Adams و همکاران (۱۹۹۹) می‌تواند ناشی از فعال بودن سیستم فتوسنتزی در روزهای نخست پس از تلقیح در این شرایط باشد که به نوعی فرض بالا را تأیید می‌نماید. بالاتر بودن نسبی فیکوبیلی پروتئین‌ها در این شرایط نیز تأیید دیگری بر این فرض است (**شکل ۵**). به نظر می‌رسد که سیستم فیکوبیلی زوم در شرایط قلیایی در روزهای نخست تقویت می‌شود و با توجه به نیاز این سیستم به اسکلت کربنه و نیتروژنه قابل توجه افزایش این سیستم در روزهای نخست پس از تلقیح می‌شود (Adams, 1999). روزهای بعد، بخصوص بعد از روز سوم محتوای فیکوبیلی پروتئینی سقوط می‌کند. بدین ترتیب می‌توان روی صحت نظریه مذکور تأکید کرد.

نقش فیکواریترین‌ها در تعدیل نوری در سیانوباکتریوم مذکور قابل توجه است. به نظر می‌رسد که در نمونه مذکور محتوای بالاتر فیکواریترینی نشان از نقش عمده آن در تعدیل فعالیت‌های نوری و اسیدیته دارد. این امر با آنچه در شکروی و همکار (۱۳۸۲) و Soltani و همکاران (۲۰۰۵) آمده است، سازگار می‌باشد. در خاوری‌نژاد و همکاران (۱۳۸۱) تعدیل نوری از طریق محتوای فیکوسیانین انجام می‌گیرد که با نمونه حاضر متفاوت است. در Valiente و همکاران (۱۹۸۹) تعدیل در شرایط اسیدیته با توجه به محتوای فیکواریترینی انجام می‌گیرد که نتایج بدست آمده با پژوهش فوق سازگار است.

مقدار برون ریزش آمونیوم در اسیدیته‌های متفاوت (اسیدی، خنثی و قلیایی) در روز دوم به بیشترین مقدار خود رسیده است. در روز دوم مقدار برون ریزش آمونیوم در pH ۵ بیشتر و در pH ۷ کمتر بوده است.

نتیجه گیری

دستاوردهای بدست آمده، از نقطه نظر کاربردی، استفاده از نمونه را به عنوان نمونه‌ای توانمند در بیوتکنولوژی کاربردی مورد تایید قرار می‌دهد. نمونه در شرایط قلیایی قادر به حفظ مطلوب بقای خود است. علاوه بر این نوسان‌های اسیدیته بخصوص در محدوده قلیایی، رفتارهای نمونه را تغییر می‌دهد ولی این تغییر با کاهش محسوس نرخ رشد همراه است. وجود مکانیسم تراکمی از نوع بیکربنات و دی‌اکسیدکربن در نمونه مورد تایید است و محدودیت دی‌اکسیدکربن سبب کاهش جدی در رشد نمونه می‌گردد.

از سوی دیگر قابلیت‌هایی در نمونه وجود دارد که حاکی از توانمندی نمونه به طور ذاتی است. نمونه در شرایط نوری پایین، در شرایط خنثی و اسیدی، قابلیت بقای خود را حفظ می‌کند. ضمن اینکه در شرایط قلیایی، در روزهای نخست پس از تلقیح رشد قابل توجهی از خود نشان می‌دهد. از نظر رنگیزه‌ای نمونه توانمندی آن را دارد که در اسیدیته متفاوت در محتوای رنگیزه‌ای خود تغییر بوجود آورد. ضمن اینکه سیستم فیکوبیلی زومی آن قادر است در شرایط محدودیت دی‌اکسیدکربن در شدت‌های نوری پایین رشد و بقای نمونه را حفظ نماید. برون ریزش معنی‌دار آمونیوم در شریط pH ۵ نشان می‌دهد که این تیمار می‌تواند به نمونه از نظر بیوتکنولوژی کشاورزی ارزش کاربردی بدهد.

سپاسگزاری

نگارندگان وظیفه خود می‌دانند، از کلیه افرادی که در طول انجام این پژوهش، کمال همکاری را داشته‌اند، صمیمانه سپاسگزاری نمایند. سپاسگزاری خاص از سرکار خانم الهه کیایی (کارشناس آزمایشگاه تحقیقات)، سرکار خانم رسایی (کارشناس آزمایشگاه ژنتیک)، سرکار خانم میرکریمی (کارشناس آزمایشگاه بیوشیمی) و همچنین آقایان آیینه و بیک‌نژاد (کارشناسان آزمایشگاه شیمی) به ویژه ضروری است.

منابع

خاوری نژاد، ر.، ریاحی، ح. و شکروی، ش. (۱۳۸۱). بررسی تأثیر شوری، اسیدیته و عدم تلقیح دی‌اکسیدکربن بر رشد، وضعیت رنگیزه‌ای و فرکانس هتروسیست سیانوباکتریوم *Nostoc* sp. مجله علوم پایه دوره دکترای دانشگاه آزاد اسلامی، شماره ٤١ بهار.

سلطانی، ن.، خاوری نژاد، ر.، طباطبایی یزدی، م.، شکروی، ش. و فرناندز والینته، ا. (١٣٨٤). بررسی خواص آنتی میکروبیال و فیزیولوژی سیانوباکتری‌ها در محیط‌های افراطی، پایان‌نامه دکترای تخصصی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم تهران.

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

Adams, D.J. and Duggan P.S. (1999). Heterocyst and Akinete differentiation in cyanobacteria. Tansley Review No 107 New Phytologist 144: 3-33

Anagnostidis, K. and Komarek J. (1990). Modern approaches to the classification of cyanobacteria. Stigonematales. Archieves for hydrobiology supl4: Pp. 224-286

Anand, N., Radha L., Shanthakumar Hopper RS. Revathi G. and Subramanian TD. (1990). Blue-green algae as biofertilizers: Certain view points on the choice of suitable isolates-Perspective in phycology, International symposium of phycology at university of Madras, Today and Tomorrow's Publishers. New Delhi, India, PP. 383-391

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

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

Jensen, A. (1978). Chlorophylls and carotenoides in: Handbook of Phycological Methods, Physiological and Biochemical Methods(ed.) Hellebust,J.A. and Craigie, J.S., 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. (1988). Laboratory methods for blue-green algae-Associated Publishing Company, New Delhi, India.

Poza-Carrion, C., Fernandez-Valiente, E., Pinas, FF. 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, J.Plant Physiol, 158. Pp: 1455-1461.

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

Solarzano, L. (1969). Determination of ammonia in natural waters by the phenol-hypochlorite method. Limno.oceanogr., 14, 799-801

Soltani, N., Khavari-Nejad, RA., Tabatabaei Yazdi, M., Shokravi, Sh. and Fernandez-Valiente, E. (2005b). Variation of Nitrogenase Activity, photosynthesis and pigmentation of cyanobacterium *Fischerella ambigua* strain FS18 under different irradiance and pH. World Journal of Microbiology and Biotechnology. Vol 22, No6, 571-576

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

Suda, S., Watanabe, M.M., Otsuka, S., Mahakahant, A., Yongmanitchai, W., Nopartnaraporn, N., Liu, Y. and Day, J.G. (2002). Taxonomic revision of water-bloom-forming species of oscillatorioid cyanobacteria. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 52, 1577-1595.

Valiente, EF. and Leganes, L. (1989). Regulatory effect of pH and Incident Irradiance on the levels of Nitrogenase activity in the cyanobacterium *Nostoc* sp.UAM205 J.Plant Physiol.Vol.135. Pp. 623-627.

The effect of acidity at limited irradiance on survival, growth, pigment composition and ammonium liberation of soil cyanobacterium *Nostoc* sp., collected from paddy-fields of Golestan province

Amirlatifi F.[1], Shokravi Sh.[2], Safaei M.[1] and Hosseini kolbadi Z.[1]

1- Dept. Biology and Researching, Young Club Islamic Azad University Gorgan Branch, Gorgan, Iran.
2- Dept. Biology, Islamic Azad Univ.- Gorgan Branch, Gorgan, Iran.

Abstract

Cyanobacterium *Nostoc* sp. can be considered as an interesting microorganism for the ability of excretion buffering compounds. With respect to possible applied potential of this strain, this ability has been studied under limited irradiance. Soil samples were collected from paddy-fields during one year. At the first step, different acidities (pHs 5,7,9) were studied under limited carbon dioxide condition. Results showed that in all treatments, organism tends to enter logarithmic phase of growth until third day, but acidic condition cause sharp decline on growth after this. Highest specific growth rate belong to alkaline condition (pH 9). For the next step, two alkaline condition near to pH 9 (pHs 8.5 and 9.5), were selected to compare. Results showed that specific growth rate was significantly less than pH 9, and even continuous aeration couldn't be able to enlarge specific growth rate. Pigment composition can be rearranged at different acidities and phycobilisome systems cause viability and growth under acidity fluctuations and limited irradiance in addition of low carbon dioxide concentration. Ammonium liberation showed the highest rate at pH 5 and day two too.

Keywords: Acidity, Ammonium liberation, Carbon dioxide, Cyanobacterium, Irradiance, Nostoc, Pigment composition,