مجله دنیای میکروب‌ها
سال هفتم شماره دوم (پیاپی ۱۹) تابستان ۱۳۹۳
صفحات ۱۷۹-۱۷۰

Original Article

آنالیز خوگیری مورفولوژیک سیانوباکتری *لپتولینگبیا* اس پی. به پرتوهای مونوکروماتیک قرمز، سبز و آبی

احترام دیلمی*[۱]، طاهر نژادستاری[۲]، یونس قاسمی[۳]، شادمان شکروی[۴]

[۱]دانشجوی دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه زیست شناسی، [۲]دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست شناسی، [۳]استاد، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، [۴]دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گروه زیست شناسی

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به سیال پذیری مورفولوژیک سیانوباکتری ها در شرایط مختلف، لازم است برای شناسایی آن ها علاوه بر مطالعات ریخت شناسی مطالعاتی در زمینه فیتوشیمی، فیزیولوژی، زیست شناسی مولکولی و ژنتیک نیز انجام گیرد. این مطالعه برای اولین بار در ایران با هدف شناسایی مولکولی سیانوباکتری *لپتولینگبیا* اس پی. و بررسی پاسخ های مورفولوژیک آن نسبت به پرتوهای مونوکروماتیک قرمز، سبز و آبی انجام شد.

مواد و روش ها: به منظور بررسی پاسخ های مورفولوژیک *لپتولینگبیا* اس پی. ابتدا نمونه خالص در محیط کشت مایع BG11 در شرایط اتوتروف (نور سفید)، و سپس تحت تاثیر پرتوهای مونوکروماتیک قرمز، سبز و آبی قرار گرفت. از ابتدا تا پایان تیماردهی نوع اجتماعات، سیّالیت فیلامنت، بیومتری، وضعیت تریکوم، وضعیت سلول ها و تغییرات ساختاری آن ها با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی نگاره (SEM)، در مقاطع زمانی ماهیانه، هفتگی و روزانه مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: مطالعات ساختاری و بیومتری انجام شده توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره و نوری، حاکی از این است که سیانوباکتری مورد نظر تحت تاثیر عوامل محیطی مختلف شکل ظاهری و میزان رشد سلول های خود را تغییر داده و در نور سبز و قرمز نسبت به نور آبی سازش بهتری از خود نشان می دهد. *لپتولینگبیا* اس پی. در نور سبز و قرمز سلول هایی با اشکال متمایز و دارای دیواره قرمز رنگ تولید می نماید که این تاییدی بر تنوع پذیری مورفولوژیک این گونه می باشند.

نتیجه گیری: سیانوباکتری *لپتولینگبیا* اس پی. دارای سیالیت مورفولوژیک بوده و در شرایط نور مونوکروماتیک رفتارهای متفاوتی از خود نشان می دهد.

واژگان کلیدی: خوگیری مورفولوژیک، پرتوهای مونوکروماتیک، بیومتری، *لپتولینگبیا* اس پی.

دریافت مقاله: آبان ماه ۹۲ پذیرش برای چاپ: بهمن ماه ۹۲

مقدمه

ریز جلبک ها میکروارگانیسم هایی فتوسنتز کننده اند که برخی از آن ها پروکاریوت و برخی دیگر یوکاریوت می باشند. به عنوان مثال سیانوباکتری ها از ریزجلبک های پروکاریوت، جلبک های سبز و دیاتومه ها از گروه یوکاریوت ها هستند (۱). ظهور سیانوباکتری ها در دوران پرکامبرین با قدمتی در حدود چهار میلیارد سال، در شرایطی روی داده که کره زمین در معرض نوسانات شدید شرایط محیطی بوده است (۲). دماهای بسیار بالا و یا به حد افراطی پایین، نوسان های نوری،

*) آدرس برای مکاتبه: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه زیست شناسی. تلفن: ۰۹۱۷۳۳۸۳۷۵۴ پست الکترونیک: esdeylami@gmail.com

نوسان های اسیدیته و قلیائیت، نوسان های پرتوهای فرابنفش و ... از جمله عواملی بوده اند که پروکاریوت های دارای قابلیت فتوسنتز اکسیژنی در آن زمان با آن مواجه بوده اند (۳). یکی از ویژگی هایی که ریزجلبک ها با اتکای به آن، تغییر شرایط محیطی را تعدیل می نمایند و فلسفه آن هنوز ناشناخته باقی مانده است، سیّالیت مورفولوژیک این موجودات می باشد (۴).

مکانیسم خوگیری و سازگاری های خاص سیانوباکتری ها نسبت به شرایط محیطی برای صاحب نظران روشن نمی باشد. این که این امر تا چه حد و با چه فلسفه ای به بقای این موجودات در شرایط افراطی کره زمین در گذشته کمک کرده است، نا مشخص است. اما به هرحال این قابلیّت وجود دارد و در مواردی نیز شناسایی و تشخیص علمی این موجودات را با مشکل مواجه می سازد. اگر این استدلال منطقی وجود داشته باشد که سیّالیت مورفولوژیک، سیّالیت متابولیک را نیز به همراه دارد (۲)، و این که این روش نوعی روش سازگاری بهینه با تغییر شرایط محیط است، این تصور ایجاد می گردد که بروز تغییرات ریختی در برابر تاثیر عوامل محیطی در طی زمان، نوعی حرکت تکاملی قهقرایی است که دو احتمال را پیش روی خود مصور می‌سازد. نخست اینکه این موجودات توان آن را دارند که این حرکت رو به عقب را انجام دهند و در کوتاه مدت با تشکیل مکانیسم های فیزیولوژیک یا حتی ایجاد موتان های مقاوم به تغییر خو بگیرند و یا ممکن است این توانایی را در طول زمان از دست داده باشند (۴).

سیانوباکتری ها به طور کلی نسبت به شدت های بالای نور حساس بوده و عموماً موجوداتی علاقه مند به شدت های پایین نور محسوب می شوند (۵). شدت نور عاملی است که ظاهراً در محیط طبیعی و آزمایشگاه آثار متفاوتی نشان می دهد. برخی از جلبک ها در محیط های طبیعی در شرایط نوری به سر می برند که در آزمایشگاه قادر به تحمل آن نیستند. به همین دلیل کشت ها در شرایط آزمایشگاهی در شدت های نوری پایین قرار می گیرند. البته در صورت فراهم بودن شرایط متابولیسمی (دی اکسید کربن و نیتروژن و مواد معدنی) با افزایش شدت نور، رشد آن ها ممکن است افزایش یابد (۶). با توجه به مطالعات محدودی که بر روی سیانوباکتری های بومی ایران از دیدگاه فیزیولوژی و ریخت شناسی تحت تنش های نوری انجام شده است، هدف از این مطالعه شناسایی مولکولی سیانوباکتری *لپتولینگبیا* اس پی. (*Leptolyngbya* sp.) و بررسی تاثیر تیمارهای مختلف پرتوهای مونوکروماتیک بر روی این میکروارگانیسم بود.

مواد و روش ها

الف) جمع آوری و شناسایی: در این مطالعه سیانوباکتری *لپتولینگبیا* اس-پی از خاک های مسجد سلیمان، با موقعیت جغرافیایی 0339545 x و3535959 y جداسازی گردید. عمل خالص سازی با استفاده از روش پلیت آگار و انجام پاساژهای متعدد صورت گرفت (۷). شناسایی مقدماتی و شناسایی در حد گونه با استفاده از جان (John) و همکاران (۸)، اناگنوستیدیس و کومارک (Anagnostidis Komarek) (۹)، پرسکات (Presscott) (۱۰)، دسیکاچری (Desikachary) (۱۱) و گایتلر (Geitler) (۱۲) انجام گرفت. نمونه ها پس از شناسایی با عنوان *لپتولینگبیا اس-پی* Isc25 کد گذاری گردیده و در موزه جلبکی پژوهشکده علوم پایه کاربردی دانشگاه شهید بهشتی به ثبت رسیدند.

در ادامه نمونه ها در محیط کشت مایع BG-11 ، در شرایط مطلوب از نظر دما ۳۰±۱ ºC و تحت هوادهی با سرعت جریان ۲۰۰ ml /min و در شرایط نوری ۲ میکرومول کوانتا بر مترمربع بر ثانیه قرار داده شدند. سپس به مدت یک ماه تحت تاثیر پرتوهای مونوکروماتیک قرمز، سبز و آبی قرار گرفتند (۱۳).

ب) بررسی های ریخت شناختی: برای این منظور تیمارها با استفاده از میکروسکوپ نوری (Labomed ,X400)، به صورت یک روز در میان (به مدت یک ماه) اسلایدهای نیمه دائمی با استفاده از روش مونت گلیسرین تهیه شده و نوع اجتماعات، سیالیت فیلامنت، بیومتری، وضعیت تریکوم، وضعیت سلولی، تغییرات ساختار شکل کلنی، رنگ، ابعاد سلول های رویشی، شکل سلول های انتهایی و وجود یا عدم وجود غلاف مورد

بررسی قرار گرفتند (۱۴). به منظور بررسی های دقیق تر از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) (مدل VEGA، ساخت کشور جمهوری چک) استفاده گردید.

ج) شناسایی مولکولی: در ابتدا DNA میکروارگانیسم از نمونه تازه با استفاده از کیت استخراج DNA ژنومی شرکت فرمنتاز (K0512) ساخت کشور آمریکا استخراج گردید (۱۵). به منظور تکثیر ژن *16S rRNA*، از دو گروه آغازگر مستقیم PA (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) و معکوس PH (AAGGAGGTGATCCAGCCGCA) استفاده شد.

واکنش PCR در حجم ۵۰ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر بافر PCR (۱۰X)، ۱/۵ میکرولیتر $MgCl_2$ (50 mM)، یک میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq پلی‌مراز، dNTP (10 mM)، ۳ میکرولیتر DNA الگو و ۳۷/۳ میکرولیتر آب مقطر استریل انجام شد.

در ادامه واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf Master cycler Gradient, Germany) با شرایط دمایی ۳ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس و در ادامه ۳۵ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۴۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، اتصال در دمای ۴۸ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۷ دقیقه انجام شد (۱۶).

محصولات PCR به ژل آگاروز ۱٪ منتقل و الکتروفورز گردیدند. به منظور تعیین توالی، محصولات PCR به شرکت ژن فناوران ارسال گردیدند. پس از تعیین توالی ژنی ناحیه مورد نظر، این توالی با انجام عملیات BLAST با توالی ژن های ثبت شده در بانک ژن مقایسه و درصد تشابه ژنی آن با نمونه های موجود در بانک ژن تعیین گردید.

د) آنالیزهای آماری: به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده ها از نرم افزارهای Excel و نسخه نوزدهم SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) و آزمون های آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و طرح Tukey استفاده شد. همچنین آنالیزهای آماری بر اساس ده تکرار در هر آزمون انجام گرفت.

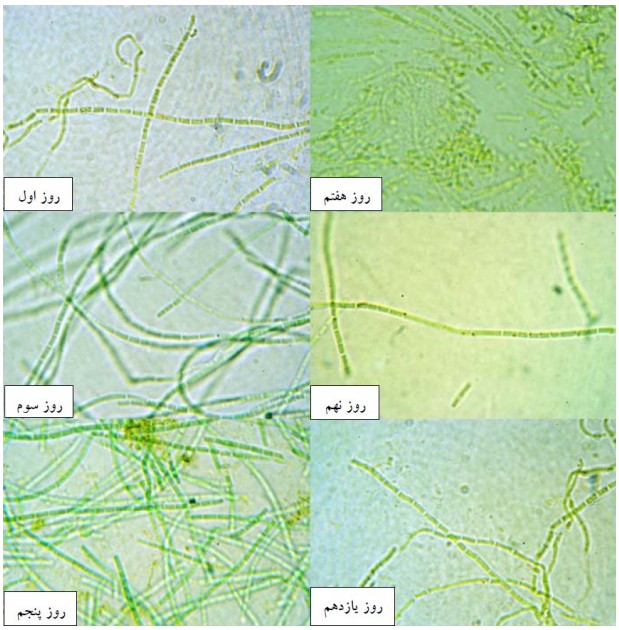
یافته ها

مطالعات ریخت شناسی انجام شده توسط میکروسکوپ نوری در *لپتولینگبیا* اس پی نشان داد که سیانوباکتری مورد نظر دارای اجتماعات پراکنده و سبز رنگ می باشد. ریسه راست، گاهی در انتها خمیده؛ سلول ها مستطیلی تا مستطیلی-بیضی شکل، گرانول ها بسیار مبهم، دیواره دارای فشردگی اندک یا فاقد فشردگی، سلول ها به ابعاد ۳/۰۴ µm و ۱/۵ µm، سلول رأسی گنبدی یا صاف گاهی دارای خمیدگی، غلاف موسیلاژی بسیار نازک و بی شکلی در اطراف سلول ها وجود دارد که به سختی قابل مشاهده است. در صورتی که در اطراف اجتماعات سلولی این غلاف کاملاً مشخص و قابل روئیت می باشد.

بررسی های مولکولی با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ناحیه حفاظت شده *16S rRNA* سیانوباکتری ها نشان داد که در این ناحیه منطقه بسیار متغیری وجود دارد که تشخیص مولکولی جنس را به طور دقیق امکان پذیر می سازد. نتایج حاصل از تعیین توالی ژن *16S rRNA* نشان دهنده صحت نتایج ریخت شناسی جنس مورد آزمایش بود.

مقایسه توالی ژنی نمونه بررسی شده در بانک ژنی NBCI (http://www.nbci.nlm.nih.gov/BLAST) به واسطه انجام عملیات بلاست (BLAST) نشان دهنده وجود تشابه ۹۸ درصدی به *نوستوک* (*Nostoc*) بود. این توالی با شماره JX972170 در بانک ژنی قابل دسترسی است. بررسی های ریخت شناسی سیانوباکتری *لپتولینگبیا* اس پی .Isc25 به کمک میکروسکوپ های نوری و نگاره در شکل های ۱ و ۲ نشان داده شده است.

بررسی های ریخت شناسی انجام شده توسط میکروسکوپ نوری در تیمارهای مختلف حاکی از این است که شکل سلول های رویشی در تیمار نور قرمز با نمونه شاهد یکسان بوده و سلول های رویشی تا روز نهم به طور کامل نسبت به نور قرمز سازش یافته اند. علاوه بر این در روز سوم برخی از

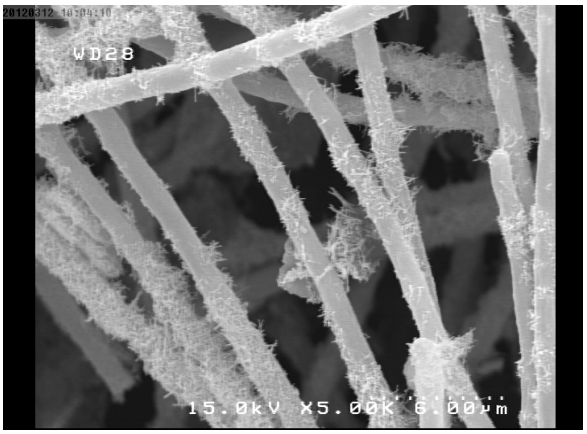


شکل ۱: چرخه زندگی *لپتولینگبیا* اس پی.Isc25 در محیط کشت مایع BG11 (شاهد) توسط میکروسکوپ نوری.

سلول ها دارای دیواره هایی قرمز رنگ بوده و شکل آن ها نیز از دیگر سلول های رویشی قابل تمایز است (شکل ۳ الف). در نور سبز شکل سلول های رویشی مانند نمونه شاهد بوده و سلول ها تا روز نهم بقاء یافته اند. علاوه بر این در نور سبز نیز مانند نور قرمز در روز سوم سلول هایی با دیواره قرمز رنگ وجود دارد (شکل ۳ ب). در روز هفتم ریسه ها آرایشی نسبتاً منظم به خود گرفته اند که این حالت در دیگر تیمارها مشاهده نمی گردد (شکل ۳ ج).

در نور آبی در روزهای اول، سوم و پنجم شکل سلول های رویشی مانند نمونه شاهد بوده و در روز هفتم اندازه سلول های رویشی کوچک تر و رنگ آن ها روشن تر است. همچنین این سلول ها به شدت گرانوله و تقریباً بیضی شکل هستند (شکل ۳ د). در روز نهم سلول های رویشی کاملاً از بین رفته و تنها گرانول های درشت و قهوه ای رنگ بر روی لام قابل مشاهده می باشد (شکل ۳ ه).

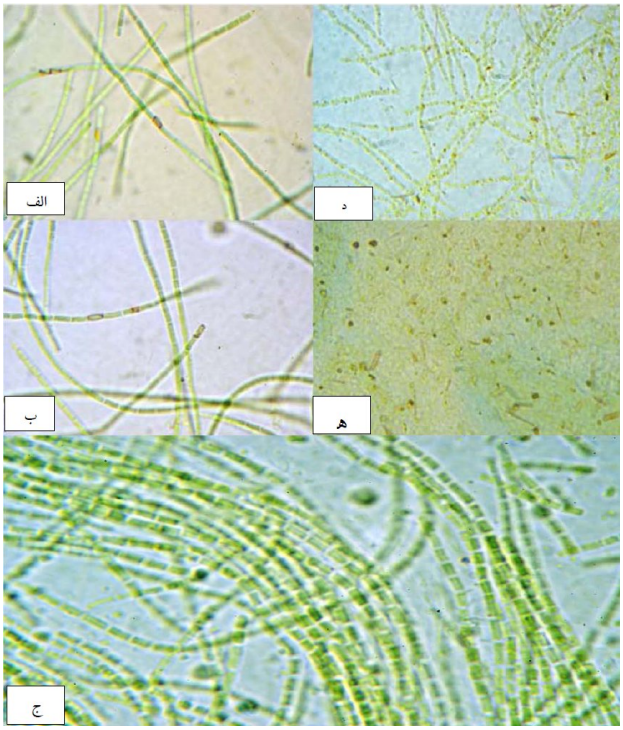
نتایج حاصل از بررسی های ریخت شناسی و بیومتریکی *لپتولینگبیا* اس پی در نمونه شاهد و تیمارهای مورد نظر، در



شکل ۲: تصویر ریسه های نمونه شاهد *لپتولینگبیا* اس پی.Isc25 ، توسط میکروسکوپ نگاره

جدول ۱ قابل مشاهده است. همچنین تغییرات میانگین طول و قطر سلول های رویشی در شاهد و تیمارهای مختلف از روز اول تا نهم در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است.

مقایسه میانگین طول سلول های رویشی حاکی از این است که الگوی تغییرات میانگین طول سلول های رویشی در نمونه شاهد، نور قرمز و نور سبز نسبتاً یکسان است. این پدیده نشان



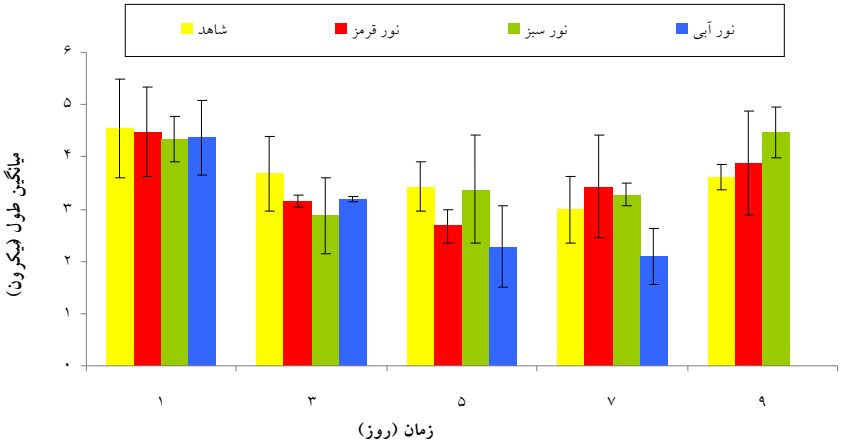
شکل ۳: تصاویر میکروسکوپ نوری *لپتولینگبیا* اس پی.Isc25 در تیمارهای الف) نور قرمز، ب و ج) نور سبز، د و ه) نور آبی

جدول ۱: خصوصیات ریخت شناسی سیانوباکتری *لپتولینگبیا* اس پی.Isc25 تحت تیمارهای مونوکروماتیک

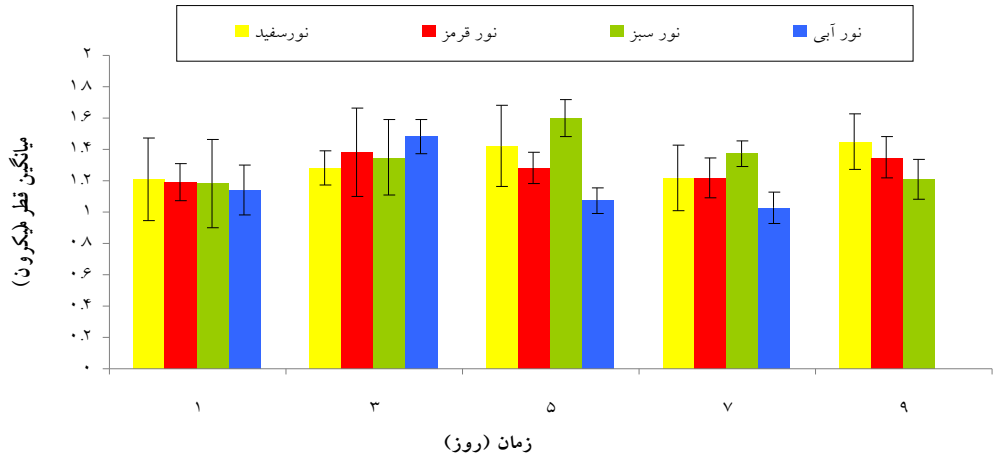
فاکتور / شرایط	روز	میانگین قطر سلول های رویش(µm)	میانگین قطر سلول های رویش(µm)	رنگ اجتماعات	شکل اجتماعات در محیط مایع	شکل سلول انتهایی	وجود وجود گرانول	غلاف موسیلاژی	وجود دیواره عرضی قرمز رنگ
شاهد (نورسفید)	۱	۴/۵۴±۰/۹۴	۱/۲۱±۰/۲۶	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	–	بسیار نازک	–
	۳	۳/۶۷±۰/۷۲	۱/۲۸±۰/۱۱	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	–	بسیار نازک	–
	۵	۳/۴۳±۰/۴۸	۱/۴۲±۰/۲۶	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	–	بسیار نازک	–
	۷	۲/۹۹±۰/۶۴	۱/۲۲±۰/۲۱	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	–	بسیار نازک	–
	۹	۳/۶۱±۰/۲۴	۱/۴۵±۰/۱۸	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	–	بسیار نازک	–
نور قرمز	۱	۴/۴۸±۰/۸۶	۱/۱۹±۰/۱۲	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	–	بسیار نازک	–
	۳	۳/۱۵±۰/۱۲	۱/۳۸±۰/۲۸	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	–	بسیار نازک	+
	۵	۲/۶۷±۰/۳۳	۱/۴۵±۰/۱۰	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	+	بسیار نازک	–
	۷	۳/۴۳±۰/۹۸	۱/۴۴±۰/۱۳	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	–	بسیار نازک	–
	۹	۳/۸۸±۰/۹۹	۱/۵۵±۰/۱۳	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	+	بسیار نازک	–
نور سبز	۱	۴/۳۴±۰/۴۴	۱/۱۸±۰/۲۸	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	–	بسیار نازک	–
	۳	۲/۸۸±۰/۷۳	۱/۳۵±۰/۲۴	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	+	بسیار نازک	–
	۵	۳/۳۸±۱/۰۳	۱/۶۰±۰/۱۲	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	–	بسیار نازک	+
	۷	۳/۲۸±۰/۲۲	۱/۳۷±۰/۰۸	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	–	بسیار نازک	–
	۹	۴/۴۷±۰/۴۹	۱/۲۱±۰/۱۳	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	+	بسیار نازک	–
نور آبی	۱	۴/۳۶±۰/۷۲	۱/۱۴±۰/۱۶	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	–	بسیار نازک	–
	۳	۱۹/۳±۰/۰۶	۱/۴۶±۰/۱۱	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	–	بسیار نازک	+
	۵	۲/۲۸±۰/۷۸	۱/۰۷±۰/۰۸	سبز تیره	پراکنده	گنبدی یا صاف	–	بسیار نازک	–
	۷	۲/۱±۰/۵۴	۱/۰۳±۰/۱۰	سبز روشن	مجتمع	گنبدی یا صاف	+	بسیار نازک	–
	۹	۰/۰۰	۰/۰۰	سبز روشن	مجتمع	–	–	–	–

از عدم اختلاف معنی دار بین شاهد و این تیمارها دارد ($p>0/05$). با این وجود، این الگو در نور سبز در روز پنجم از نمونه شاهد پیروی نمی کند. در مورد نور آبی الگوی تغییرات میانگین طول سلول های رویشی با نمونه شاهد مطابقت نداشت. به طوری که در روز اول تا نهم دارای روند کاهشی بوده و در نهایت به صفر می رسد و با نمونه شاهد دارای اختلاف معنی دار است ($p<0/05$) (نمودار ۱).

میانگین قطر سلول ها در نمونه شاهد، نور سبز و قرمز دارای



نمودار۱: مقایسه میانگین طول سلول های رویشی در پرتوهای مونوکروماتیک



نمودار ۲: مقایسه میانگین قطر سلول های رویشی در پرتوهای مونوکروماتیک

نوساناتی تقریباً هماهنگ بوده و نشان از عدم اختلاف معنی دار دارد ($p>0/05$). در نور آبی آهنگ رشد میانگین قطر سلول ها از روز سوم به بعد با دیکر تیمارها متفاوت است (نمودار ۲). همچنین میانگین قطر سلول های رویشی نسبت به میانگین طول آن ها در روزهای مختلف و حتی تیمارهای متفاوت، از نوسانات کمتری برخوردار است.

بحث

صفات ریخت شناسی برای رده بندی سیانوباکترها صفاتی روشن و شفاف نبوده و این صفات حتی در شرایط ثابت محیطی در طول یک دوره رشد و در طول سن یک جلبک تغییر می کند (۲۵). این در حالی است که طبقه بندی کلاسیک بر پایه خصوصیات ریخت شناسی مانند اندازه سلول، حضور واکوئل های گازی و غلاف موسیلاژی استوار می باشد (۲۶). مطالعه مولکولی در کنار خصوصیات ریخت شناسی ابزاری دقیق برای شناسایی سیانوباکتری ها است.

اگر چه ناحیه ژنی *16S rRNA* برای شناسایی در سطح گونه مناسب نیست اما در این ناحیه منطقه متغیری وجود دارد که تشخیص مولکولی جنس را با دقت نسبتاً بالایی امکان پذیر می سازد (۲۷). از آنجایی که *لپتولینگبیا* اس پی در راسته Oscillatoriale ها که فاقد هتروسیت می باشند قرار می گیرد، *لپتولینگبیا* اس پی نیز فاقد هتروسیت می باشد. بنابراین سلول های متمایز دارای دیواره های قرمز رنگ در تیمارهای نور سبز و قرمز را می توان تشکیلاتی خاص برای تولید مثل جنسی و یا ایجاد هورموگونیوم در نظر گرفت (۲۸). یکی از ویژگی های سیانوباکتری ها سیّالیت مورفولوژیک آن هاست. سیّالیت مورفولوژیک، سیّالیت متابولیک را نیز به همراه دارد (۲).

سیالیت مورفولوژیک و متابولیک سیانوباکترها قادر است به خوبی تغییرات ایجاد شده در شکل، اندازه و محتویات سلول ها را در نورهای سبز، قرمز و آبی توجیه نماید. تاثیر فاکتورهای محیطی بر روی رشد و متابولیسم جلبک ها کاملاً مشخص است. زیرا این فاکتورها در کنترل متابولسیم سلولی و بهینه سازی برخی تولیدات بیوسنتزی شرکت می کنند. برای تمامی میکروارگانیسم های فتوسنتز کننده، نور در رشد، افزایش سلول ها و فیزیولوژی آن ها نقش مهمی را ایفا می نماید (۱۷).

برخی از سیانوباکتر ها توانایی سازگاری نسبت به نورهای مختلف را نداشته و به سرعت از بین می روند. این دسته از سیانوباکترها برای کشت انبوه مناسب نمی باشند (۱۳). در سیانوباکتری ها کلروفیل a رنگدانه اصلی فتوسنتزی بوده و رنگدانه های فرعی شامل آلوفیکوسیانین، فیکوسیانین و فیکواریترین (گروه فیکوبیلیپروتئین ها) می باشند (۱۸). فیکوبیلی پروتئین ها همراه با کلروفیل a سیانوباکتر ها را قادر می سازند که در محیط هایی که تنها نور سبز وجود دارد،

زندگی کنند. سازش در برابر نورهای مختلف در اثر تغییر در میزان سنتز فیکواریترین و فیکوسیانین ایجاد می شود. تنها سیانوباکترهایی که قادر به سنتز فیکواریترین هستند، در شرایط بحرانی پدیده سازش نوری را از خود نشان می دهند (۱۹). مطالعات حاکی از این است که سنتز آلوفیکوسیانین ها در سیانوباکتری ها در شرایط نورهای سفید، سبز و قرمز ثابت بوده و مستقل از کیفیت نور می باشد (۲۰ و ۲۱). این مساله یکسان بودن الگوی تغییرات میانگین طول و عرض سلول ها را در نمونه شاهد (نور سفید)، نور قرمز و سبز به خوبی توجیه می نماید. در شرایط نوری مختلف، برخی از رنگدانه های موجود در فتوسیستم ها ممکن است سنتز شده و یا تجزیه گردند (۲۲). به عنوان مثال در نور قرمز ژن های مولد فیکوسیانین و در نور سبز ژن های مولد فیکواریترین فعال می گردند (۲۳).

تغییرات ایجاد شده در میزان رنگدانه ها و فرآورده های فتوسنتزی می تواند علت نوسانات ایجاد شده در نمودار نور سبز و قرمز را توجیه نماید. علت عدم سازش *لپتولینگبیا* اس پی نسبت به نور آبی را می توان به سنتز ترکیبات سمی در سیانوباکترها در اثر تغییرات ایجاد شده در کیفیت نور نسبت داد. به طوری که این ترکیبات در نهایت می توانند منجر به مرگ سیانوباکترها گردند. وجود این ترکیبات در اثر تغییر در کیفیت نور در سیانوباکتری *سیلندرواسپرموپسیس راسیبورسکی* (*Cylindrospermopsis raciborskii*) گزارش شده است (۲۴).

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان می دهد که سیانوباکتری *لپتولینگبیا* اس پی دارای سیالیت مورفولوژیک بوده و در شرایط نور مونوکروماتیک سازش خوبی از خود نشان داده است. بی تردید گسترش جهانی و بقاء سیانوباکتری ها در طی میلیون ها سال بر روی کره زمین مربوط به وجود ویژگی سیال پذیری مورفولوژیک و متابولیک آن ها می باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران به دلیل همکاری صمیمانه در اجرا این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Li Y, Wang B, Wu N, Lan CQ. Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid production of *Neochloris oleoabundans*. Appl Microbiol Biotechnol. 2008; 81(4): 629-636.
2. Shokravi SH, Soltani N, Baftehchi L. Cyanobacteriology. Islamic Azad University Publication; 2007. [In Persian]
3. Stal LJ. Physiological ecology of Cyanobacteria in microbial mats and other communities. New Phytologist. 1995; 131: 1-32.
4. Perona E, Aboal M, Bonilla I, Pilar M. Cyanobacterial diversity in a Spanish river determined by means of isolation in relation to natural populations. Algological Studies. 2003; 109: 475-486.
5. Safaee, M. Shokravi, S. Olamaei, M. Soltani, N.Survival, Growth and Pigments survey of *Fischerella* sp. (Cyanobacteria) in different salinity conditions. MS.c., Thesis, Islamic Azad University of Gorgan. Iran. 2008. [In Persian]
6. Fogg GE, Stewart OP, Fay P, Walsby AE. The Blue-Green algae. Academic Press. London. 1973; pp: 298-310.

7. Kaushk BD. Laboratory methods for blue-green. Associated publishing company. New Delhi, India.

8. John DM, Whitton BW, Brook AJ. The Freshwater Algal Flora of the British Isles-Cambridge University Press; 2003.

9. Anagnostidis K, Komarek J. Modern approaches to the classification of *Cianobacteria*. Stigonematales. Arch Hydrobiol. 1990; 14(8): 224-286.

10. Prescott GW. Algae of the western great lake area .W.M.C. Brown Company Pub; 1962.

11. Desikachary TV. Cyanophyta. Indian council of agricultural research. Monographs on Algae, New Delhi, India; 1959.

12. Geitler L. Cyanophyceae von Europa Kryptogamen flora Akademiche Verlagsgesellschaft. Leipzig; 1932.

13. Becker EW. Microalgae: Biotechnology and microbiology. Cambridge University Press; 1994.

14. Gugger MF, Hoffmann L. Polyphyly of the true branching Cyanobacteria (Stigonematales). Int J Syst Evol Microbiol. 2004; 54(2): 349-357.

15. Nübel U, Garcia-Pichel F, Clavero E, Muyzer G. Matching molecular diversity and ecophysiology of benthic Cyanobacteria and diatoms in communities along a salinity gradient. Environ Microbiol. 2000; 2: 217-226.

16. Nubel U, Garcia-Pichel F, Muyzer G. PCR Primers to amplify *16S rRNA* genes from Cyanobacteria. Appl Environ Microbiol. 1997; 63(8): 3327-3332.

17. Vijaya V, Narayanaswamy A. Blue light enhance the pigment synthesis in cyanobacterium *Anabaena ambigua* rao (Nostacales). JABS. 2009; 4(3): 36-43.

18. Cohen-Bazire G, Bryant D.A. Phycobilisomes: composition and structure. In: Carr NG, Whitton BA [Eds]. The Biology of Cyanobacteria. Blackwell Scientific Publications, Oxford; 1982.

19. Jodlowska S, Latala A. Mechanisms of photoacclimation on photosynthesis level in Cyanobacteria. Advances in photosynthesis-Fundamental Aspect. 2012; pp: 97-106.

20. Babu TS, Kumar A,Varma AK. Effects of light quality on phycobilisome components of the *Cianobacterium Spirulina platensis*. Plant physiol. 1991; 95: 492-497.

21. Korbee N, Figueroa FL, Aguilera J. Effect of light quality on the accumulation of photosynthetic pigments, proteins and mycosporine – like amino acids in the red alga *Porphyra leucosticts* (Bangiales, Rhodophyta). J Photochem Photobiol B Biol. 2005; 80: 71-78.

22. Torzillo G, Pushparaj B, Masojidek J, Vonshak A. Biological constraints in algal biotechnology. Biotechnol Bioproc Eng. 2003; 8: 338-348.

23. Mazel D, Guglielmi G, Houmard J, Sidler W, Bryant DA, Tandeau de Marsac N. Green light induces transcription of the phycoerythrin operon in the cyanobacterium *Calothrix* 7601. Nucleic Acids Res. 1986; 14: 8279-8290.

24. Carnerio RL, Elisangela Venancio Dos Santos M, Betriz Furlanetto Pacheco A, Feliciano De

oliveria E Azevedo SM. Effects of light intensity and light quality on growth and circadian rhythm of saxitoxins pruduction in *Cylindrospermopsis racibroskii* (Cyanobacteria). J Plankton Res. 2009; 31(5): 481-488.

25. Soltani N, Khavari-Nejad RA, Tabatabaei Yazdi M, Shokravi SH, Valiente F. Screening of soil *Cyanobacteria* for antifungal and antibacterial activity. Pharmaceut Biol. 2005; 43(5): 455-459.

26. Valerio E, Chambel L, Sergio P, Natalia F, Paulo P, Regerio T. Molecular identification, typing and traceability of cyanobacterial from freshwater reservoirs. Microbiol. 2009; 155: 642-656.

27. Soltani N, Dezfoulian M, Shokravi SH, Baftehchi L, Ehsan S. Morphological, molecular isolation and identification of new species of *Cyanobacteria*, Firoozkooh area (Tehran Province) with using various media. Kharazmi University. J Sci. 2008; 8(4): 319-328. [In Persian]

Journal of Microbial World
Volume 7, No. 2, June 2014

Original Article

The analysis of morphological acclimation of cyanobacterium *Leptolyngbya* sp. Isc25 to monochromatic red, green and blue light rays

Ehteram Deylami[1], Taher Nejadsattari[2], Younes Ghasemi[3], Shadman Shokravi[4]

[1] Ph. D. Student, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[2] Associate Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[3] Professor, Department of Pharmaceutical Biotechnology, Shiraz University, Shiraz, Iran.
[4] Associate Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Gorgan, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Due to pleomorphic feature of *Cyanobacteria* in different conditions, confirmation of their identification required several phytochemical, physiologic, molecular and genetic analysis after preliminary morphological analysis. This study is the first report in Iran in which was aimed to identify *Cyanobacteria Leptolyngbya* sp. Isc25 based on molecular approaches and to analyze their morphologic response to monochromatic red, green and blue light rays.

Material & Methods: In order to investigate the morphologic responses of *Leptolyngbya* sp. Isc25, the purified isolate of this Cyanobacterium in BG11 media were exposed first to autotrophic conditions (white light) and then to to monochromatic red, green and blue light rays. The morphological responses, flock production, structural changes, biometry and situation of trichome of *Leptolyngbya* sp. were evaluated using light microscopy and scanning electron microscopy (SEM) at different time periods, daily, weekly and monthly.

Results: Based on the morphologic and biometric analysis of the samples using light and scanning electron microscopy, the morphology and growth factor of this *Cyanobacteria* was affected by different environmental factors, and the best adaptation is obtained in green and red lights in comparison to blue light. *Leptolyngbya* sp. produced special cells with red pigments in their wall in case of exposure to green and red lights, which confirmed the variability of this species.

Conclusion: The results show that *Leptolyngbya* sp. has morphological diversity and response differently in each light condition.

Keywords: Morphological acclimation, Monochromatic light rays, *Leptolyngbya* sp., Biometry.

Correspondence to: Ehteram Deylami

Tel: +989173383754

E-mail: esdeylami@gmai.com

Journal of Microbial World 2014, 7(2): 170-179.