بررسی تاثیر نور مداوم و تناوب‌های نوری بر رشد و فرکانس هتروسیست سیانوباکتری *Fischerella ambigua* (Nägeli) Gomont از استان گلستان

*فرشته وکیلی[۱]، کیوان قورچی بیگی[۲]، ندا سلطانی[۳]، شادمان شکروی[۱]

۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
۲. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن
۳. گروه زیست‌شناسی، پژوهشکده علوم پایه کاربردی، جهاد دانشگاهی، تهران

چکیده

در این بررسی تاثیر نور مستمر و تناوب نوری بر رشد و فرکانس هتروسیست سیانوباکتری *Fischerella ambigua* مورد بررسی قرار گرفته است. نمونه از شالیزارهای استان گلستان (گرگان) جمع آوری شده، پس از تخلیص، در شرایط نوری ۲ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه، به صورت مستمر و سپس در دوره‌های تاریکی (۲، ٤، ٦ و ۸ ساعت) قرار داده شد. در هر مورد، بقا، رشد و وضعیت هتروسیست نمونه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نمونه در شرایط نوری مستمر و دوره‌های کوتاه مدت تاریکسی (۲ و ٤ ساعت) بقای خود را حفظ می‌کند. ثابت ویژه رشد در تناوب نوری ۲ ساعت، به بالاترین حد خود می‌رسد. فتوپریودهای با ٦ و ۸ ساعت تاریکی، شرایط نسبتاً مشابهی را پدید می‌آورند. ۸ ساعت تاریکی سبب بروز تنش محسوس در نمونه شده، رشد و هتروسیست‌زایی را به‌طور معنی‌دار پایین می‌آورد. ضمن اینکه چرخه تولید مثل در ٦ و ۸ ساعت تاریکی به طور محسوس افزایش می‌یابد. تولید کلروفیل و رفتارهای اجتماعات در محیط کشت محدود با تناوب‌های نوری اعمال شده نوسان نشان می‌دهند و از روند منظمی تبعیت نمی‌کنند. فرکانس هتروسیست در شرایط نوری مداوم به بالاترین و منظم‌ترین حالت خود می‌رسد ولی آهنگ تولید هتروسیست با آهنگ رشد در رابطه با شرایط نوری، یکسان نیست.

واژه‌های کلیدی: تناوب نوری ـ رشد ـ سیانوباکتری ـ شالیزار ـ فرکانس هتروسیست ـ فیشرلا ـ گلستان ـ نور

*. *e.mail: fereshtehvakili 2005@yahoo.com*

مقدمه

سیانوباکتری‌های خاکزی، عموماً سایه‌پسند هستند (Stal, 1995). این بدان معنی نیست که این موجودات قابلیت بقاء و رشد در شرایط نوری بالا را از دست داده‌اند. بازدارندگی نوری در این شاخه جلبکی حتی در شدت‌های نوری بالا، نادر است و قابلیت سازگاری آن‌ها به شدت‌های بالای نور می‌تواند قابل توجه باشد (Stal, 1995). معدود بررسی‌های انجام شده بر روی سیانوباکتری‌های راسته استیگونماتالز، چنین ویژگی را تایید می‌نماید (Soltani et al. 2005). به همین ترتیب وجود ساختارهای فیکوبیلی زوم و قدرت تطبیق نوری آن‌ها، سبب می‌شود که سیانوباکتری‌ها و از جمله سیانوباکتری‌های این راسته، قابلیت سازگاری قابل توجهی به شدت‌های نوری محدود نشان دهند که در سیانوباکتریولوژی کاربردی مورد توجه قرار گیرد (Valiente & Leganes, 1989).

مسئله تناوب نوری و نور مستقیم و تاثیر آنها بر ویژگی‌های رفتاری سیانوباکتری‌های استیگونماتالز، تاکنون مورد توجه چندانی قرار نگرفته است. احتمال آن وجود دارد که به دلیل متابولیسم سیال خاص سیانوباکتری‌ها، این موجودات در شرایط آزمایشگاهی، قابلیت سازگاری با فتوپریودهای نوری را داشته باشند، ولی در پژوهش های انجام گرفته بر گونه‌هایی از *Nostoc* تناوب نوری سبب بروز تنش شدید در نمونه گردیده است (Valiente & Leganes, 1989). در حالی که مطابق یک بررسی انجام شده، فتوپریودهای ۱۲ ساعته در *Fischerella* sp. سبب افزایش رشد گردیده است (بافته‌چی و همکاران، ۱۳۸۰).

Fischerella ambigua به دلیل توانمندی در ابعاد متفاوت، می‌تواند در بیوتکنولوژی کاربردی ریزجلبک‌ها مورد توجه جدی قرار گیرد (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱). توانمندی این موجود از نظر تولید ترکیبات آنتی‌باکتریال، سبب شده است که از نظر بیوتکنولوژی دارویی، به عنوان نمونه‌ای مستعد در نظر گرفته شود (Ghasemi et al. 2003, 2005; Soltani et al. 2004). علاوه بر این، قابلیت بالای دی آزوتروفی و برون ریزش قابل توجه ترکیبات نیتروژنی، این موجود را از نظر بیوتکنولوژی کشاورزی ارزشمند نشان می‌دهد (Soltani et al. 2005). بدین ترتیب نشان ویژه سازی این موجود از جنبه‌های مختلف و من جمله فیزیولوژی و اکوفیزیولوژی می‌تواند راه‌گشای استفاده‌های کاربردی آتی باشد. با توجه به اینکه برنج در غذای روزانه مردم ایران، حائز جایگاهی خاص است و از این نظر این گیاه در کشاورزی ایران به نوعی گیاه زراعی استراتژیک محسوب می‌شود و با عنایت به مسئله ضرورت استفاده از کودهای بیولوژیک در آینده، مسئله بقا و رشد موجود در شرایط نسبتاً مشابه شالیزار می‌تواند برای ابعاد کاربردی مفید باشد (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱).

در ایران تاکنون در رابطه با تاثیر نور محدود بر فیزیولوژی و اکوفیزیولوژی سیانوباکتری‌ها به طور کلی پژوهش‌های قابل توجهی انجام نگرفته است. بافته چی و همکاران (۱۳۸۰)، رشد و وضعیت رنگیزه‌ای *Fischerella* sp. را در تناوب نوری ۱۲ ساعت مورد بررسی قرار داده‌اند. شکروی و همکاران (۱۳۸۲)، قابلیت رشد نمونه در شرایط نوری مداوم را مورد بررسی قرار داده‌اند. بررسی‌هایی بر روی بیوترانسفورماسیون نمونه در حضور ترکیبات استرویدی صورت گرفته (Tabatabaei et al. 2004) و ترکیب جدید پارسی گویین از همان نمونه گزارش شده است (Ghasemi et al. 2004). فعالیت نیتروژنازی یک سویه شناسایی نشده (در حد گونه) در شرایط توام

اسیدیته و شدت‌های نوری مورد بررسی قرار گرفته است (Soltani et al. 2004).

مواد و روش‌ها

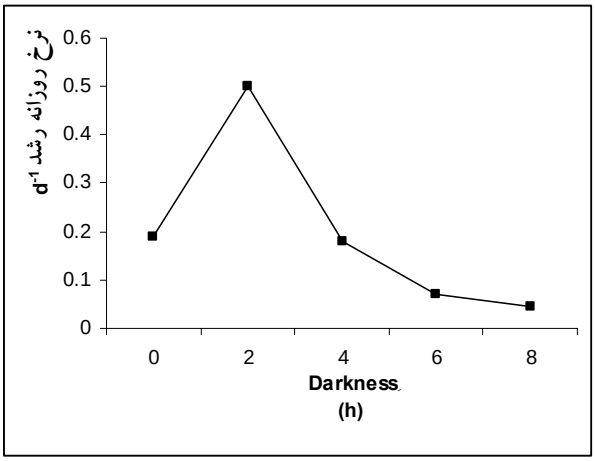
نمونه های خاک از استان گلستان جمع آوری شدند. کشت نمونه‌های خاک، مطابق روش کشت سیانوباکتری‌های خاکزی انجام گرفت (Kaushik, 1987). پس از تشکیل کلنی، جداسازی و کشت‌های بعدی، سیانوباکتری *Fischerella* sp. به صورت خالص تهیه گردید (Kaushik, 1987). شناسایی مقدماتی و شناسایی در حد گونه با استفاده از کلیدهای شناسایی معتبر John et al. (2003), Anagnostidis & Komarek (1990), Prescott (1962), Desikachary (1959), Geitler (1932) انجام گرفت. کشت در محیط جامد BG110 و در شرایط نوری ۲ میکرومول کوانتا بر مترمربع بر ثانیه (که توسط ٤ لامپ فلورسانت تامین می‌گشت)، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و pH ۷/۲ انجام گرفت (Soltani et al. 2005). بررسی‌های فیزیولوژیک در ارلن‌های با حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر محتوی ۳۰۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون انجام شد. کشت‌ها به مدت ۱ ساعت هم زده شده، سپس به محفظه روشنایی منتقل گردیدند. پیش از تلقیح نمونه به مدت ٤٨ ساعت جهت ایجاد سازگاری وارد محیط کشت مایع شد. رشد بر اساس کدورت‌سنجی، با استفاده از اسپکتروفتومتر (OD_{750}) سنجش گردید. سنجش کلروفیل پس از استخراج با متانول با روش Jensen (1978) انجام گرفت. بررسی‌های مورفولوژیک با استفاده از نمونه‌های زنده و نمونه‌های تثبیت شده در مونت گلیسرین، انجام گرفتند (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱). شمارش هتروسیست بر اساس تعداد در ۱۵۰۰ سلول رویشی و اسپور انجام گرفت (Valiente & Leganes, 1989). آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS Ver11 و Sigmaplot انجام شد.

نتایج

نتایج مربوط به رشد نشان می‌دهد که اعمال ۲ ساعت تاریکی در شبانه روز سبب افزایش نرخ رشد ویژه در نمونه می‌گردد. به همین ترتیب تناوب‌های بیش از ۲ ساعت تاریکی به طور محسوس رشد نمونه را کاهش می‌دهند (شکل ۱ و جدول ۱).

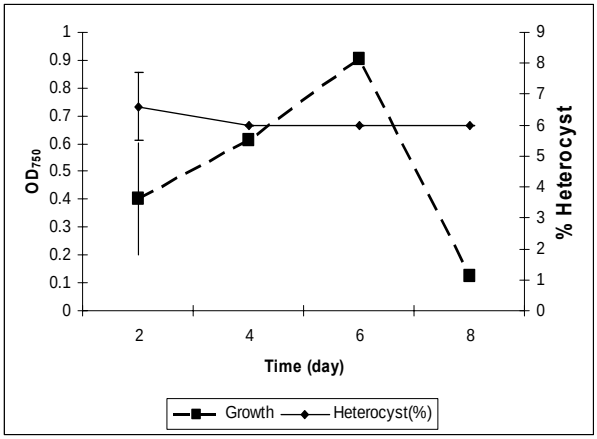
جدول ۱: میزان رشد و زمان مضاعف شدن سیانوباکتری *Fischerella ambigua*

تیمار	زمان مضاعف شدن (G)	ثابت ویژه رشد (μ)
نور مداوم	۳/٦٤	۰/۱۹
۲ ساعت تاریکی	۱/۳۹	۰/۵
٤ ساعت تاریکی	۳/۸۵	۰/۱۸
٦ ساعت تاریکی	۹/۹	۰/۰۷
۸ ساعت تاریکی	۱۷/۳۳	۰/۰٤

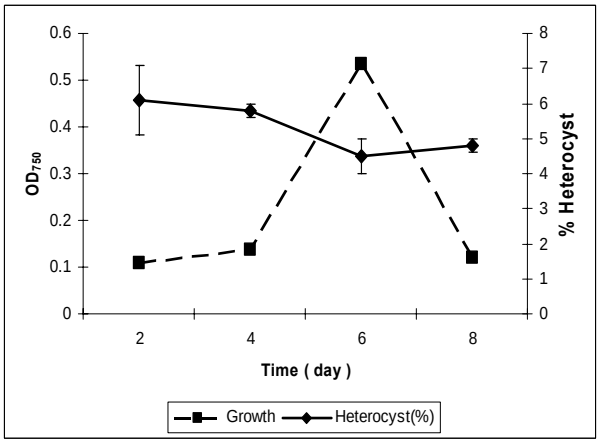


شکل ۱- نرخ رشد ویژه در سیانوباکتری *Fischerella ambigua* در شرایط متفاوت دوره های تاریکی

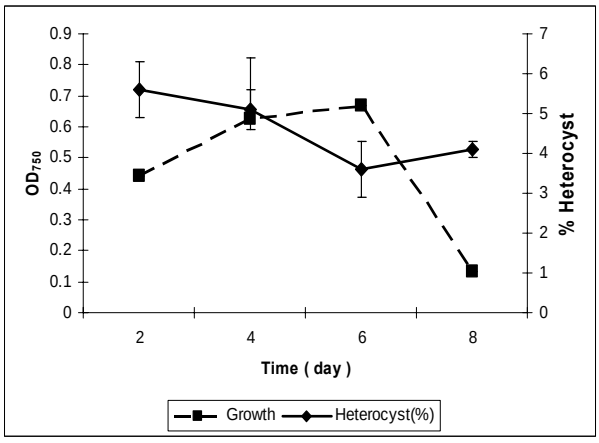
در فتوپریودهای با دوره تاریکی طولانی مدت (٦ و ٨ ساعت) اختلاف میان نرخ رشد ویژه معنی‌دار نمی‌باشد. برخلاف این، زمان تولید مثل به طور معنی‌دار در هنگامی که از دوره‌های نوری با ٨ ساعت تاریکی استفاده می‌کنیم، افزایش نشان می‌دهد (جدول ١). بقای نمونه در دوره‌های تاریکی طولانی مدت (٦ و ٨ ساعت) تضعیف می‌شود (اشکال ٥ و ٦). در دیگر دوره‌های نوری نمونه بقای خود را حفظ می‌کند (اشکال ٢ و٣ و ٤).



شکل ٢- مقایسه منحنی رشد و فرکانس هتروسیست در سیانوباکتری *Fischerella ambigua* در شرایط نور دائم



شکل ٣- مقایسه منحنی رشد و فرکانس هتروسیست در سیانوباکتری *Fischerella ambigua*
در چرخه روشنایی: تاریکی ٢:٢٢



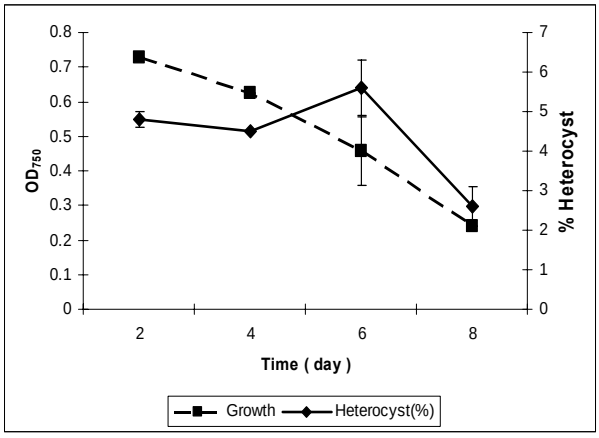
شکل ٤- مقایسه منحنی رشد و فرکانس هتروسیست در سیانوباکتری *Fischerella ambigua*
در چرخه روشنایی: تاریکی ٤:٢٠

توان تولید کلروفیل با رشد نمونه سازگار نیست و به نظر می‌رسد این دو مسیر در دوره‌های نوری متفاوت، روند متفاوتی نشان می‌دهند (جدول ٢). رفتارهای نوری نمونه، به خصوص از نظر تغییر آرایش مورفولوژیک در زمان‌های مختلف و شکل‌گیری مختلف می‌تواند در این زمینه موثر باشد. دقت در نحوه آرایش و شکل‌گیری اجتماعات نشان داد که ـ به عنوان مثال ـ 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 دوره‌های نوری ٢ ساعت و ٤ ساعت تاریکی، نمونه تمایل به اتصال به ظرف پیدا می‌کند و نیز رنگ نمونه به سبز متمایل به زرد و قهوه‌ای کم‌رنگ گرایش می‌یابد که می‌تواند ناشی از تشدید فعالیت تولید رنگیزه‌های فیکوبیلی پروتئینی در آن‌ها باشد (شکروی و همکاران، ١٣٨١).

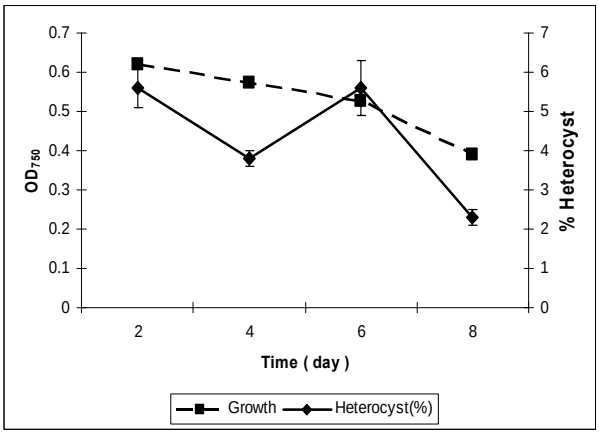
جدول ۲: مقدار کلروفیل (میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) در تیمارهای مختلف نوری در روزهای مختلف در سیانوباکتری *Fischerella ambigua*

نوع تیمار	روز دوم	روز سوم	روز پنجم	روز ششم
نور مداوم	۰/۰٤	۰/۱۲	۰/۱۳	۰/۲۲
۲ ساعت تاریکی	۰/۰۹	۰/۱۳	۰/۰۵	۰/۰۷
٤ ساعت تاریکی	۰/۰۲	۰/۰٦	۰/۰٤	۰/۱۱
٦ ساعت تاریکی	۰/۰۹	۰/۰۵	۱/۱۱	۰/۰۳
۸ ساعت تاریکی	۰/۱۱	۰/۰۲۲	۰/۰۷	۰/۰٦

تغییرات در تشکیل هتروسیست در شرایط تاریکی بلند مدت نوسان بیشتری پیدا می‌کند. به نظر می‌رسد که تاریکی سبب اختلال نسبی تشکیل هتروسیست می‌گردد و هرچه دوره‌های تاریکی کوتاه‌تر شوند آهنگ تشکیل هتروسیست و افزایش آن منظم‌تر می‌شود و شکل ایستا پیدا می‌کند (اشکال ۲ تا ٦). علاوه بر این، تاریکی طولانی و به خصوص بیش از ٦ ساعت تشکیل هتروسیست را به خصوص در دوره‌های آخر زندگی نمونه به شدت کاهش می‌دهد (شکل ٦). این امر می‌تواند ناشی از تضعیف قابلیت بقای نمونه در این شرایط باشد (اشکال ۵ و ٦). همبستگی معنی‌دار میان ثابت ویژه رشد و فرکانس هتروسیست در این شرایط، این فرض را تایید می‌کند (r^2=۰/۹۷) در سایر موارد بین رشد و فرکانس هتروسیست همبستگی معنی‌داری وجود ندارد. این امر حتی در فاز تصاعدی رشد که میزان برون ریزش ترکیبات در حد بالاست و نیز نمونه می‌بایست از توانمندی کافی جهت سنتز اجزای آنزیم نیتروژناز و دی‌آزوتروفی برخوردار باشد صدق می‌کند (Boussiba, 1988).



شکل ۵- مقایسه منحنی رشد و فرکانس هتروسیست درسیانوباکتری *Fischerella ambigua* در چرخه روشنایی:تاریکی ٦:۱۸



شکل ٦- مقایسه منحنی رشد و فرکانس هتروسیست درسیانوباکتری *Fischerella ambigua* در چرخه روشنایی:تاریکی ۸:۱٦

در تاریکی کوتاه مدت (۲ ساعت) و در شرایط نور دائم، هتروسیست در روزهای نخست پس از تلقیح کاهش نشان می‌دهد (اشکال ۲ و ۳) که پس از یک یا دو سیکل تولید مثلی (جدول ۱) جبران می‌شود و نمونه در این شرایط احتمالاً فعالیت نیتروژنازی خود را حفظ می‌نماید. خروج از فاز تصاعدی نمی‌تواند بر این روند تاثیر بگذارد و حالت ایستایی کماکان حفظ می‌شود که تاییدی بر ادعای فوق است (شکروی و همکاران، ۱۳۸۲).

بحث

آنچه از مطالعه نتایج دستاوردهای نشان ویژه سازی سیانوباکتری‌های راسته استیگونماتالز به طور اعم و گونه‌های جنس *Fischerella* به طور اخص در زمینه مطالعات اکولوژیک و یا تاکسونومیک حاصل شده است، عمدتاً مربوط به چشمه‌های آبگرم بوده‌اند (Gugger & Hoffman, 2004). بنابراین نمی‌توان نتایج معدود بدست آمده را به شالیزارها تعمیم داد. بهرحال آنچه از مطالعه منحنی‌های رشد قابل تشخیص است، آن است که نمونه در شرایط نوری محدود معادل ۲ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه، بقای خود را حفظ می‌کند و از این نظر نتایج با دستاوردهای Soltani و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت دارد. دقت در منحنی‌های رشد نشان می‌دهد که این شرایط چه در شرایط نوری مستمر و چه متناوب قابل تعمیم است و از این نظر رفتار نمونه با آنچه در مورد سیانوباکتری‌های راسته نوستوکالز مربوط به شالیزارهای اسپانیا *Nostoc* sp. UAM 206 بدست آمده، به خصوص از نظر رفتار در شرایط محدودیت دی اکسید کربن مطابقت ندارد (Cesar et al. 2001). همانطور که نتایج نشان می‌دهد نمونه رشد خود را تا روز هفتم پس از تلقیح در شرایط نور مداوم حفظ می‌کند. دقت در تغییرات مورفولوژی نشان می‌دهد که شکل ظاهری نمونه در شرایط مذکور حفظ شده، تولید هورموگونیوم با آنچه در پژوهش‌های سلطانی (منتشر نشده) دیده شد، سازگار نیست، اما با بررسی‌های سپهری و همکاران (۱۳۸۳) بر روی *Fischerella musicola* سازگار می‌باشد. بدلیل شباهت محیط جمع‌آوری، این شباهت قابل توجیه است (Adams et al. 1998). ضمن اینکه در بررسی‌های مربوط به تاثیر شرایط نوری مستمر که توسط (Shokravi et al. 2003) انجام گرفته نتیجه مشابه بدست آمده است. هتروسیست‌ها، رفتاری مشابه با رشد نشان نمی‌دهند و بررسی‌های آماری همبستگی معنی‌داری میان رشد و تولید هتروسیست نشان نمی‌دهد. این امر با پژوهش‌های (Shokravi et al. 2003) سازگار است. الگوی تولید هتروسیست با آنچه در سیانوباکتری‌های نوستوکالز، قابل مشاهده است، تفاوت دارد و چنانکه نتایج نشان می‌دهد، تولید هتروسیست در هفته اول آهنگ نزولی را طی می‌کند که با الگوهای معمول برای مهیاشدن تشکیلات آنزیمی نیتروژناز سازگار نیست (Anand et al. 1990). خوگیری نمونه در شرایط نور مداوم در مدت زمان کوتاه مدت (شکل ۲ و ۳) از نظر کاربردی قابل توجه است، ولی این خوگیری در رابطه با وضعیت هتروسیست‌ها، قابل تعمیم نیست. از این نظر، یافته با نتیجه بررسی‌های اکوفیزیولوژیک انجام شده توسط (Soltani et al. 2005) سازگار نیست. دلیل این عدم سازگاری را می‌توان به اختلاف گونه‌ای و البته تاثیر عامل اسیدیته دانست که در پژوهش مذکور ملاک قضاوت قرار گرفته است. تاثیر اسیدیته در بررسی‌های دیگر مورد تایید قرار گرفته است. به عنوان مثال برخی از سیانوباکتری‌های نوستوکالز چنین رفتاری نشان می‌دهند (Cezar et al. 2001).

اعمال تناوب‌های نوری، سبب بروز رفتارهای متفاوت و گاه متناقض در تولید هتروسیست در نمونه می‌گردد. اعمال تاریکی به مدت ٦ ساعت، سبب کاهش معنی‌دار در تولید و به عبارتی فرکانس هتروسیست می‌گردد (Anova, $p<0.01$). این امر در مورد تاریکی ٤ ساعته به خصوص در روزهای آخر هفته نخست پس از تلقیح صادق است. در مقابل اعمال تناوب نوری ٤ ساعته، فرایند تولید و بلوغ هتروسیست را تحریک می‌کند (شکل ٤). هرچند در روزهای نخست پس از تلقیح اختلاف میان تناوب نوری ٤ ساعته و نور مستمر از این نظر معنی‌دار است و به نظر می‌رسد نمونه در این شرایط نوری،

توانایی نوعی تعدیل و بازیابی از نظر توان تولید هتروسیست را دارد (Anova, p<0.01). نکته جالب دیگر اینکه در روزهای نخست (روز سوم) پس از تلقیح، تولید هتروسیست در تمامی تناوب‌های نوری نسبت به تناوب ٤ ساعته اختلاف معنی‌دار نشان می‌دهند، در حالی که نسبت به خود اختلاف معنی‌دار ندارند (Anova, p<0.01).

در دوره‌های تاریکی هشت ساعته، رشد و تولید هتروسیست، در روزهای سوم تا ششم پس از تلقیح، آهنگی مشابه نشان می‌دهند و به نظر می‌رسد این آهنگ به طور نسبی پس از رسیدن به رشد ماکزیمم حفظ می‌گردد (شکل ٦). میزان تولید هتروسیست همراه با رسیدن نمونه به فاز مرگ کاهش می‌یابد، که این امر طبیعی به نظر می‌رسد، ولی این روند از عمومیت برخوردار نیست. در روشنایی مداوم، الگوی رشد و تولید هتروسیست به طور کامل با ضعیف‌ترین رشد، یعنی پریود نوری هشت ساعته متفاوت است (شکل۲). در سایر دوره‌های تاریکی دیگر نیز نتیجه با نور مستمر متفاوت است (اطلاعات نشان داده نشده). بدین ترتیب دوره تاریکی هشت ساعته، از نظر هماهنگی میان رشد و تولید هتروسیست، در میان دوره‌های تاریکی به کار رفته و نور مستمر، استثناء می‌باشد. این یافته با آنچه در پژوهش‌های Shokravi و همکاران (۲۰۰۳) آمده، سازگار می‌باشد. هرچند در پژوهش مذکور از پریودهای نوری ۱۲ ساعته استفاده شده است. همین نتیجه در بافته چی و همکاران (۱۳۸۱) بدست آمده است.

به طور کلی می‌توان ادعا کرد که سیانویاکتری مذکور قابلیت رشد و تولید هتروسیست در شدت نوری محدود و عدم تلقیح دی اکسید کربن را دارد، ولی در شرایط مذکور، رشد به ویژه در فتوپریودهای با تاریکی بیش از دو ساعت کاهش می‌یابد. بنابراین از سویی نیاز به یک دوره تاریکی کوتاه (۲ ساعت) برای رسیدن به بیشینه رشد و تولید هتروسیست وجود دارد و از سوی دیگر اگر این دوره تاریکی از حدی تجاوز کند، سبب ضعف آشکار در خوگیری نمونه به شرایط اعمال شده می‌گردد. از نقطه‌نظر توان حفظ رشد و تولید هتروسیست در شرایط نوری محدود و نیز محدودیت دی اکسید کربن، می‌توان نمونه را واجد ارزش کاربردی دانست. ضمن اینکه نتایج بررسی‌های قبلی (شکروی و همکاران، ۱۳۸۱) از جنبه رشد در شرایط نیمه انبوه توانمندی نمونه را تایید می‌کند. با این حال چون در شرایط طبیعی و یا کشت‌های انبوه احتمال قرار گرفتن نمونه در شرایط نور ضعیف و نیز دوره‌های طولانی مدت تاریکی وجود دارد، می‌بایست بررسی‌های بیشتر را برای نمونه پیشنهاد کرد. بررسی امکان خوگیری در زمان‌های طولانی و نیز بررسی توان فتوسنتزی و فعالیت نیتروژنازی در این شرایط برای نمونه پیشنهاد می‌شود.

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 ملیحه رسایی و سرکار خانم میرکریمی (گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان) به ویژه ضروری است.

منابع

بافته چی، ل.، نژاد ستاری، ط.، ابراهیم زاده معبود، ح. و شکروی، ش. (۱۳۸۰) بررسی شدت های نوری بر رشد و بسامد هتروسیست سیانویاکتری *Fischerella* sp. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم دانشگاه تهران.

سپهری، س. نژاد ستاری، ط. و شکروی، ش. (۱۳۸۳) بررسی سیانوباکتری‌های استان گلستان با تاکید بر استیگونماتالز. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی. و احد علوم و تحقیقات.

سلطانی، ن. خاوری نژاد، ر. طباطبایی یزدی، م. شکروی، ش. و فرناندز والینته، ا. (۱۳۸٤) بررسی خواص آنتی‌میکروبیال و فیزیولوژی سیانوباکتری‌ها در محیط‌های افراطی، پایان‌نامه دکترای تخصصی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم تهران.

شکروی، ش.، سلطانی، ن. و بافته 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. 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. & Duggan, P.S. (1999) Heterocyst and akinete differentiation in cyanobacteria. Tansley Review No 107 New Phytologist 144, 3-33.

Anagnostidis, K. & Komarek, J. (1990) Modern approaches to the classification of cyanobacteria..Stigonematales. Archieves for Hydrobiology sup l4, 224-286.

Anand, N.L., Radha, R.S., Hopper, G.R. & 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.

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.

Ghasemi, Y., Tabatabaei Yazdi, M., Shokravi, S., Soltani, N. & Zarrini, G. (2003) Antifungal and antibacterial activity of paddy – fields from the north of Iran.- Journal of science, Islamic republic of Iran 14(3), 203 – 209.

Ghasemi, Y., Tabatabaie Yazdi, M., Shafiee, A., Amini, M., Shokravi, Sh., Zarrini, G. & Mohseni, F.A. (2004) Parsiguine, a novel antimicrobial substance from *Fischerella ambigua* PTCC 1635. Pharmacutical biology 42(4-5), 318-322.

Gugger, MF. & Hoffmann, L. (2004) Polyphyly of true branching cyanobacteria (Stigonematales). International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 54, 349-357.

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. & 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.

Poza-Carrion, C., Fernandez-Valiente, E., Fernandez Pinas, F. & Leganes, F. (2001) Acclimation of photosynthetic pigments and photosynthesis of the cyanobacterium *Nostoc* sp. Strain UAM 206 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.

Shokravi, S., Tabatabaei Yazdi, M., Ghasemi, Y., Baftechi, L. & Soltani, N. (2003) The effects of light intensities and duration on antibacterial production abilities, morphological variations and ammonium liberations of *Fischerella* sp. collected from Paddy-fields of Iran.- Proceeding of the 11th International symposium on phototrophic prokaryotes August 24-29 Tokyo Japan.

Soltani, N., Khavari-Nejad, R., Tabatabaie, M., Shokravi, SH., Valiente, E.F. (2005) Variation of Nitrogenase Activity, photosynthesis and pigmentation of cyanobacterium *Fischerella ambigua* strain FS18 under different irradiance and pH. World Journal of Microbiology and Biotechnology. In Press.

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

Tabatabaei Yazdi, M., Ghasemi, Y., Ghasemian, A., Shokravi, S., Niknahad, H., Amini, M., Dehshahri, A. & Faramarzi, M.A. (2006) Bioconversion of hydrocortisone by cyanobacterium *Fischerella ambigua*- World Journal of Microbiology and Biotechnology (in press).

Tabatabaei Yazdi, M., Ghasemi, Y., Shokravi, S., Shafiei, A., Amini, M. & Faramarzi, M.A. (2005) Parsiguine, a novell antimicrobial compound from *Fischerella ambigua* collected from paddy-fields of north of Iran.- Pharmaceutical Biology (in press).

Valiente, E.F. & 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.

The effect of continuous illumination and photoperiods on growth and heterocyst frequency of cyanobacterium *Fischerella ambigua* from Golestan province

Vakili, F.[1], Ghorchibeigi, K.[2], Soltani, N.[2], Shokravi, S.[1]

1. Department of Biology, Islamic Azad Univ.-Branch Gorgan, Gorgan, Iran
2. Department of Biology, Islamic Azad Univ.-Branch Tonekabon, Tonekabon, Iran
3. Departemnt of Biology, Faculty of Applied Science, ACECR, Tehran, Iran

Abstract

The effect of limited continuous irradiance and photoperiods on survival, growth and heterocyst frequencies of cyanobacterium *Fischerella ambigua* collected from paddy-fields of Golestan province have been studied at laboratory condition. After soil collection and culture, sample were isolated, purified, and incubated under $2\mu Em^{-2}s^{-1}$ continuous irradiance with no carbon dioxide addition. The photoperiods were 2, 4, 6, 8 hours darkness each day. Survival, growth and heterocyst frequencies were studied in each treatment using optical density and chlorophyll measurements. Results showed that this cyanobacterium can survive under relatively short times of darkness (2 and possibly 4hours). The highest specific growth rate was related to 2hours dankness daily. 6 and 8hours darknesses cause relative similar results. 8hours darkness daily showed the highest degree of stress and cause sharp drop in growth. Chlorophyll production and morphological behaviors of aggregations showed unpredictable irregular fluctuations independent of photoperiods. We saw highest amount of heterocyst frequency and better regular patterns of heterocyst production at continuous irradiance but correlation between growth and heterocyst production differ completely at this condition.

Keywords: Cyanobacterium, *Fischerella ambigua*, Golestan, Growth, Heterocyst, Irradiance, Paddy field, Photoperiod