نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال پانزدهم، شماره ۵۸، تابستان ۱۳۹۹ / صفحات: ۶۰-۴۸

بررسی اثر پیش تیماری توام کلرور سدیم و زمان بر رشد، وضعیت رنگیزه‌های فتوسنتزی و نسبت‌های فتوسیستمی در سیانوباکتریوم خاکزی *Calothrix* sp. FS 65

حمیده‌سادات امیرلطیفی[1]، شادمان شکروی[1*]، آرین ساطعی[1]، مازیار احمدی گلسفیدی[2]، مهرعلی محمود جانلو[1]

[1]گروه زیست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

[2]گروه شیمی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

تاریخ دریافت:۹۷/۰۹/۲۵ تاریخ پذیرش:۹۸/۰۲/۲۵

چکیده

در این تحقیق امکان تغییر در رشد، توده زنده و رنگیزه‌های فتوسنتزی سیانوباکتری خاکزی *Calothrix* sp. FS 65، از طریق دو عامل پیش تیمار با غلظت‌های مختلف (۱۷، ۸۰ و ۱۶۰ میلی‌مولار) کلرور سدیم و زمان (۲۴ و ۹۶ ساعت) بررسی شد. سیانوباکتری پس از تخلیص به مدت ۲۴ ساعت و ۹۶ ساعت در شوری ۱۷، ۸۰ و ۱۶۰ میلی مولار کلرور سدیم قرار گرفت و سپس به محیط کشت عادی فاقد نمک اضافی منتقل گردید. سنجش‌ها شامل بقا و رشد، سنجش‌های رنگیزه‌ای در زیوه (فیکوسیانین، آلوفیکوسیانین، فیکواریترین، کلروفیل) و مقایسه تاثیر توام زمان و شوری بر نسبت‌های فتوسیستمی نمونه بود. نتایج نشان داد که پیش تیمارهای ۲۴ ساعت، قادر به حذف کامل فاز تاخیری در رشد نمونه بودند. با توجه به نقش فاز تاخیری در خوگیری از طریق ایجاد ساختارهای لازم فعالیت نیتروژنازی و نیز پوشش‌های هوشمند برون سلولی، حذف فاز تاخیری می‌تواند دستاورد قابل توجهی تلقی گردد. محتوای اجزای سازنده فیکوبیلی‌زوم یعنی فیکوسیانین، فیکواریترین و آلوفیکوسیانین تحت تاثیر ۹۶ ساعت در شوری ۱۶۰ میلی مولار تا بیش از ۶۰ درصد افزایش یافت. نسبت فتوسیستم یک به دو در شوری ۱۷ میلی‌مولار و زمان ۲۴ ساعت به بیشینه خود رسید و در شوری ۱۶۰ میلی‌مولار و ۹۶ ساعت کاهش معنی‌دار داشت. در زمان‌ها و تیمارهای بینابینی اختلاف وجود داشت ولی معنی‌دار نبود. روی هم رفته استفاده از پیش تیمارهای ساده شوری و زمان توانست کارایی انتقال انرژی در فتوسیستم‌ها و تولید انرژی و ردکتان را افزایش دهد که برای بیوتکنولوژی کشت‌های انبوه امتیاز بزرگی محسوب می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اکوفیزیولوژی، پیش تیمار، سیانوباکتری، شوری، کالوتریکس

مقدمه

رفتار سیانوباکتری‌های خاکزی در ارتباط با عوامل محیطی، دارای سیالیت می‌باشد (Rai, 2018). درک دقیق و قانع‌کننده‌ای از مفهوم این سیالیت وجود ندارد و تنها آثار آن به صورت رفتارهایی که در بسیاری موارد متناقض و غیرقابل پیش‌بینی به نظر می‌رسند خود را نشان می‌دهد (Amirlatifi et al., 2018). یکی از راه‌های معقول مقابله با این تناقض‌ها، استفاده از نمونه‌های مدل نظیر سویه‌های مختلف *Synechococcus* sp. و *Synechocystis* sp. است که در دانشگاه‌های مختلف دنیا به کار گرفته می‌شود. استفاده از نمونه‌های بررسی نشده و ناشناخته، به دلیل

*نویسنده مسئول: shadmanshokravi@yahoo.com

عدم وجود اطلاعات کافی و نشان ویژه‌سازی شده، ضمن این که کار پژوهشگر را دشوار خواهد کرد، احتمال زیاد دارد که به جای رفع تناقض‌ها بر آن‌ها بیفزاید (Zorz et al., 2015) از سوی دیگر بدون اشراف کافی به وضعیت میکروفلور بومی (حتی تا حد استان) هرگونه طراحی برنامه‌های میان مدت و درازمدت علمی- کاربردی و اقتصادی غیرممکن است (shokravi et al., 2014). بدین‌ترتیب چاره‌ای نمی‌ماند جز اینکه با قبول نقاط ابهام و سیالیت احتمالی، به بررسی این نمونه‌ها پرداخت.

مسئله پیش تیمارها در عالم سیانوباکتریایی بعد از انتشار مقاله Tang و Vincent (۱۹۹۹) آغاز گردید. نتایج بررسی ایشان دو مسئله را روشن ساخت. نخست اینکه بومی بودن سیانوباکتری‌های مناطق قطبی (و احتمالاً دیگر مناطق) به معنی انطباق کامل نیست و احتمال زیاد دارد که سیانوباکتری‌های بومی مناطق قطبی، در صورت قرار گرفتن در شرایط کاملاً متفاوت، رفتارهای کاملاً متفاوت نشان دهند و از جمله بهینه رشد خود را در دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد داشته باشند. دوم اینکه بررسی‌های ایشان روی نمونه‌های اسیلاتوریال نشان داد که اعمال پیش تیمارهای دمایی (با فواصل پنج درجه سانتی‌گراد) می‌تواند رفتارهای سیانوباکتری‌های اسیلاتوریال را به طور کامل تغییر دهد. حتی امکان آن وجود دارد که یک پیش تیمار دمایی، بتواند نرخ‌های رشد را تا بیش از دویست درصد جابجا نماید (Tang and Vincent, 1999). به دنبال این، بررسی‌های مختلفی روی تاثیر پیش تیمارها و خوگیری‌های ابتدایی سیانوباکتری‌ها انجام گرفت (Kumar et al., 2006; Mishra et al., 2009). نتایج نشان داد که در عمده موارد، استفاده از پیش تیمارها می‌تواند انتظار از رفتار آتی یک سیانوباکتری را به‌طور کامل تغییر دهد. نوع پیش تیمار به کار رفته و زمان بکارگیری آن از جمله مهمترین عوامل در این تغییر بنیادین می‌باشند (Amirlatifi et al., 2018).

امروزه با پیشرفت روزافزون زیست‌شناسی مولکولی و گسترش همه جانبه آن، استفاده از روش‌هایی مانند کلونینگ ژن، عمومیت بی‌رویه یافته است. زمانی که می‌توان با یک پیش تیمار ساده، شاهد نتایج کاملاً متفاوت بود و از این نتایج در بیوتکنولوژی استفاده بهینه نمود، چه لزومی به ورود به عرصه زیست‌شناسی مولکولی و انتقال و پیوند ژن است که در دنیای پروکاریوتی با اما و اگرهای مختلف همراه می‌باشد؟ اگر طبیعت به همان شکل که انتقال اطلاعات را در دنیای پروکاریوتی ممانعت کرده و حتی توان تولید مثل جنسی را از این موجودات گرفته، در مقابل انواع امکان سیالیت رفتاری را در رابطه با پیش تیمارها در ایشان امکان‌پذیر کرده است، چرا نمی‌بایست از این قابلیت بهره گرفت؟ برای ورود به این مسیر منطقی، البته از جایی می‌بایست آغاز کرد. سیانوباکتری *Calothrix* sp. FS 65، نمونه مدل ما و غلظت‌های سه گانه و زمان‌های دوگانه، تیمارهای ما بوده‌اند. این نخستین پژوهشی در ایران است که به بررسی اثر پیش تیمارهای شوری و زمان بر روی سیانوباکتری می‌پردازد و نخستین پژوهش بر روی سیانوباکتری مذکور محسوب می‌شود. با توجه به اینکه اطلاعاتی از قبل وجود نداشته است، تیمارها با در نظر گرفتن شرایط و امکانات و نیز وضعیت منطقه و معضل شوری و اهمیت شوری زدایی، در نظرگرفته شد. به‌عنوان گزارش نخست تاثیر این پیش تیمارها (به‌صورت ترکیبی) بر روی رفتارهای رشدی و فتوسنتزی سیانوباکتریوم *Calothrix* sp. FS 65 به‌عنوان هدف در نظر گرفته شد. سیانوباکتری مذکور، به دلیل هتروسیست راسی از اشکال موسوم به دی آزوتروف می‌باشد که توانایی استفاده از نیتروژن مولکولی هوا را دارند (Amirlatifi et al., 2018).

ضمن اینکه ساختار خاص آن (به‌ویژه باریک شدگی تدریجی)، محمل بحث‌های مورفولوژیک و فراساختاری زیاد بوده است.

تاکنون بررسی مشابه با موضوع تاثیر پیش تیماری بر روی سیانوباکتری‌های خاکزی استان گلستان و ایران انجام نگرفته است (www.Irandoc.ac.ir). بررسی‌هایی که به موضوع شوری و سیانوباکتری‌ها اختصاص داشته باشد البته به تعداد محدود وجود دارد از جمله Soltani و همکاران (۲۰۱۱) با هدف بررسی تاثیر شوری بر رشد و فتوسنتز *Fischerella* sp. FS 18، Shokravi و همکاران (۲۰۱٤) با هدف بررسی تاثیر توام شوری و نور محدود افراطی بر رشد و وضعیت رنگیزه‌ای *Anabaena* sp. FS 77 و Chakigar و همکاران (۲۰۱٤)، با هدف تاثیر شوری بر بقا و رشد و وضعیت رنگیزه‌ای *Mirocheate* sp. FS 13 پرداخته‌اند. پژوهش‌هایی هم وجود دارد که البته به‌طور مستقیم و کامل به شوری اختصاص ندارد ولی بخشی از آن به تاثیر شوری بر فیزیولوژی و اکوفیزیولوژی سیانوباکتری‌ها می‌پردازد. از جمله shokravi و Sateei (۱۳۸۲)، Livani Ahmadi و همکاران (۲۰۱۰)، Iranshahi و همکاران (۲۰۱٤) و Amirlatifiو همکاران (۲۰۱۳). در مورد *Calothrix* sp. FS 65 تنها بررسی منتشر شده به مقاله Amirlatifi و همکاران (۲۰۱۸) مربوط است که به تاثیر توام شوری و محدودیت دی اکسیدکربن، بر فیزیولوژی و بیوشیمی نوری (فتوفیزیولوژی و فتوبیوشیمی) پرداخته است. هدف از این بررسی ارزیابی تاثیر پیش تیمار ترکیبی زمان و شوری بر رفتارهای فیزیولوژیک و نسبت‌های فتوسیستمی در سیانوباکتریوم خاکزی *Calothrix* sp. FS 65 بود.

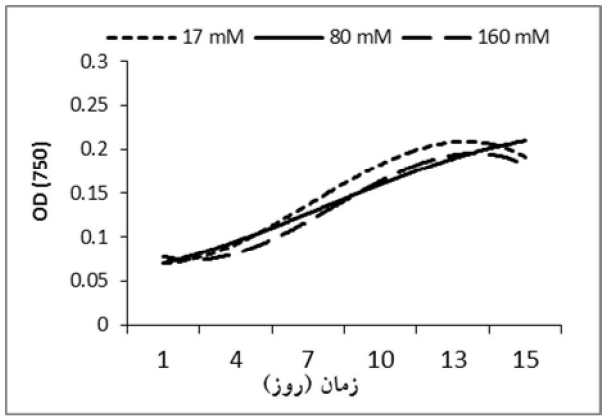
مواد و روش‌ها

نمونه خاک از مناطق نفت خیز جنوب کشور جمع‌آوری شد. اطلاعات مربوط به محل جمع‌آوری و تکنیک‌های جمع‌آوری و کشت، به طور کامل در Soltani و همکاران (۲۰۱۲) آمده است. کشت نمونه‌های خاک مطابق روش کشت سیانوباکتری‌های خاکزی انجام شد (Kaushik, 1987). پس از تشکیل کلونی، جداسازی و کشت‌های بعدی، سیانوباکتری *Calothrix sp.* FS 65 به‌صورت خالص تهیه گردید (Kaushik, 1987). شناسایی با استفاده از Anagnostidis و Komarek (۱۹۹۰)؛ Prescott (۱۹٦۲)؛ Desikachary (۱۹۵۹) و John و همکاران (۲۰۰۳) انجام گرفت. نمونه با کد موزه‌ای *Calothrix sp.* FS 65 کدگذاری و در موزه پژوهشکده علوم پایه کاربردی دانشگاه شهید بهشتی ثبت گردید. کشت ابتدایی در محیط‌های جامد و مایع BG0-11 در شرایط نوری ٦۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع بر ثانیه، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و pH ۷/۸ انجام شد. پس از رشد اولیه نمونه‌های جداسازی شده در شرایط نوری محدود معادل ۲ میکرومول کوانتا بر متر مربع در ثانیه و شوری‌های متفاوت با غلظت‌های مختلف کلریدسدیم از محیط کشت فاقد شوری (جهت معرفی ۰٪) تا شوری ۱٪ با فاصله ۰/۵ از یکدیگر قرار گرفتند. منحنی رشد بر اساس کدورت سنجی و وزن خشک، ترسیم گردید (Leganes et al., 1987). نرخ رشد بر اساس Shokravi و همکاران (۲۰۱۱) در فاز تصاعدی رشد محاسبه گردید. آنالیزهای بیوشیمیایی شامل سنجش کلروفیل، فیکوسیانین، فیکواریترین و آلوفیکوسیانین بود (Ernst et al., 1985). نسبت‌های فتوسیستمی مطابق Soltani و همکاران (۲۰۰۷) بر اساس نسبت‌های کلروفیلی و اجزای فیکوبیلی‌زوم بررسی گردید. پیش تیمارها به مدت ۲٤ تا ۹٦ ساعت در شوری ۱۷، ۸۰ و ۱٦۰ میلی مولار و انتقال آن به شوری ۱۷ میلی مولار انجام گرفت. ارزیابی اولیه تاثیر پیش تیماری با مقایسه طیف‌های جذبی انجام شد

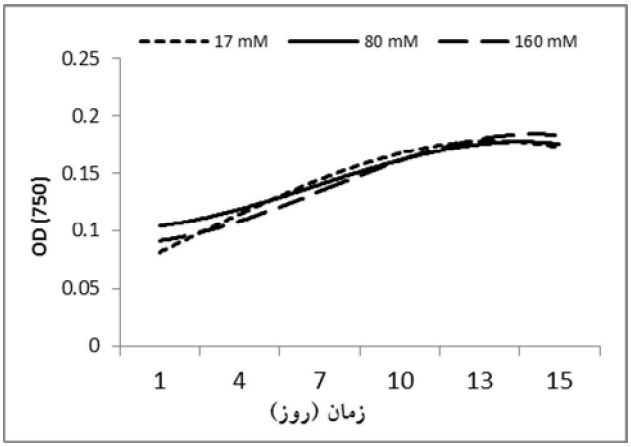
(Amirlatifi et al., 2018). استاندارد سازی نتایج بر اساس Poza-Carion و همکاران (۲۰۰۱) انجام گرفت. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزارهای SPSS(ver. 11)، انجام گرفت.

نتایج

استفاده از ۲٤ ساعت، پیش تیمار شوری در ۱۷ و ۸۰ و ۱٦۰ میلی مولار کلرور سدیم، سبب شد که سیانوباکتری *Calothrix* sp. FS 65 پس از انتقال به محیطی با شوری ۱۷ میلی‌مولار، تغییراتی در خوگیری با شوری از خود نشان دهد. پیش تیمار ۸۰ میلی مولاری به مدت ۲٤ ساعت، سبب حذف کامل فاز تاخیری و ورود مستقیم در فاز تصاعدی رشد گشت که نشان از خوگیری کامل با شرایط داشت. این فاز تاخیری در شوری ۱۷ میلی‌مولار در مدت زمان کوتاه پس از تلقیح (تا روز سوم)، مشاهده شد. ضمن اینکه ورود به فاز تصاعدی در شرایط ۱۷ میلی‌مولار، با نوسان همراه بود در صورتی که پیش تیمار با شوری ۸۰ میلی‌مولار، نرخ رشد بیشینه را به‌طور منظم حفظ کرد (شکل ۱). اگر هدف کاهش فاز تاخیری و ورود در فاز تصاعدی بلافاصله پس از تلقیح باشد، پیش‌تیمار ۲٤ ساعت در شوری ۸۰ میلی‌مولار، توانست در محیط‌هایی با شوری کم (در حد محیط کشت بدون شوری) این فاز تاخیری را از میان ببرد. ضمن اینکه در درازمدت (۱۳ روز پس از تلقیح) کماکان سیانوباکتری را در فاز تصاعدی رشد نگاه داشت (شکل ۱). افزایش زمان پیش تیمار به ۹٦ ساعت، از این تاثیر برخوردار نبود. به نظر می‌رسد که گذشت زمان، سبب گشت که قابلیت‌های کاربردی پیش تیمار ضعیف شود و اثر پیش تیماری در شوری‌های بالا، چندان تاثیری بر زندگی در شوری پایین نداشته باشد (شکل ۲). پیش تیمار ۱٦۰ میلی‌مولار کلرور سدیم، در روزهای آخر پس از تلقیح (روز چهاردهم) نشان از حفظ فاز تصاعدی با شیب ملایم داشت. (شکل ۲). اما برای اینکه مسئله تاثیر پیش تیمار بالای شوری بر حفظ فاز تصاعدی در درازمدت ارزیابی شود، نیازمند ادامه آزمایش در زمان‌های بالاتر بودیم . روی هم رفته به نظر می‌رسد که در مقام مقایسه، استفاده از پیش تیمار کوتاه مدت (۲٤ ساعت) اثر محسوس‌تری بر کاهش فاز تاخیری (در کوتاه مدت) و افزایش فاز تصاعدی (در درازمدت) داشت. تاثیر پیش تیمار ۲٤ ساعت نسبت به ۹٦ ساعت حداقل از نظر منحنی‌های رشد و نوع تولید مثل نمونه، موثرتر بود.



شکل ۱: بررسی مقایسه‌ای تاثیر پیش تیماری ۲٤ ساعته ۱۷، ۸۰ و ۱٦۰ میلی‌مولار NaCl بر رشد سیانوباکتریوم *Calothrix* sp. FS 65



شکل ۲: بررسی مقایسه‌ای تاثیر پیش تیماری ۹۶ ساعته ۱۷، ۸۰ و ۱۶۰میلی‌مولار NaCl بر رشد سیانوباکتریوم *Calothrix* sp. FS 65

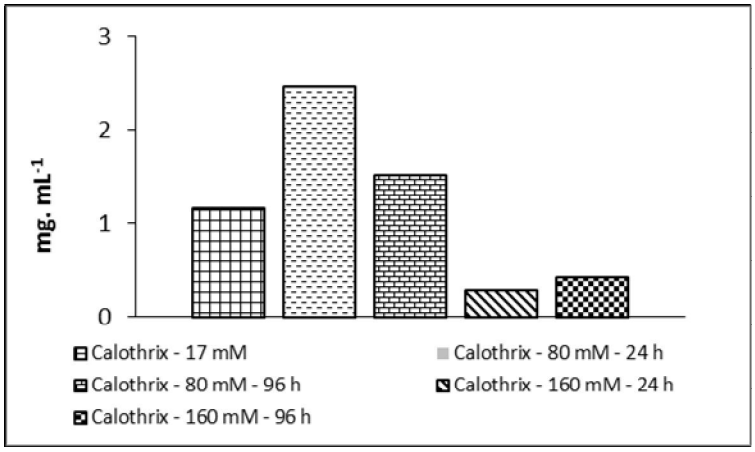
جدول ۱، وضعیت فاز تصاعدی رشد را در شرایط پیش تیماری نشان می‌دهد. مشخص است که استفاده از ۲۴ ساعت پیش تیمار در شوری ۱۶۰ میلی‌مولار، سبب افزایش نزدیک به ۱۰ درصدی تولید ماده زنده گشت که از نظر کاربردی دستاورد قابل توجهی است. ضمن اینکه این تاثیر پیش از آن که تحت تاثیر شوری باشد، تحت تاثیر زمان بود. افزایش زمان پیش تیمار از ۲۴ به ۹۶ ساعت نتیجه را معکوس کرد و شرایط پیش تیماری را از نظر فاز تصاعدی رشد، نه تنها افزایش بلکه کاهش نیز داد (جدول ۱). در این میان وضعیت پیش تیمار با شوری ۸۰ میلی‌مولار، متفاوت بود و به نظر می‌رسد که افزایش زمان در صورتی که با این میزان شوری مواجه باشیم، می‌تواند سرعت ورود در فاز تصاعدی و سرعت تولید مثل را افزایش دهد. تاثیر زمان به‌خصوص بر پیش تیمار با شوری بالا قابل توجه بود. گذشتن از ۲۴ ساعت و رسیدن به ۹۶ ساعت، کاملاً نتیجه را بر عکس کرد و شدت لازم برای فاز تصاعدی را از بیشترین به کمترین بدل کرد . زمان تضاعف (تولید مثل) در این حالت از حدود ۵ به حدود ۱۸ روز رسید که برای یک سیانوباکتری هتروسیست‌دار زمان طولانی محسوب می‌شود (جدول ۱).

جدول ۱: تأثیر پیش تیماری کوتاه مدت و بلند مدت شوری‌های متفاوت بر نرخ رشد و زمان مضاعت شدن در نمونه سیانوباکتریوم *Calothrix* sp. FS 65

زمان مضاعف شدن (G)	نرخ رشد (μ)	زمان (ساعت)	شوری (mM)
۵,۲۸۹	۰,۱۳۱		۱۷
۱۳,۳۳۳	۰,۰۵۱	۲۴	۸۰
۴,۹۴۸	۰,۱۴۰		۱۶۰
۵,۴۲۹	۰,۱۲۷		۱۷
۱۱,۰۰۸	۰,۰۶۲	۹۶	۸۰
۱۸,۰۹۳	۰,۰۳۸		۱۶۰

میزان ماده سازی در شرایط پیش تیماری در شکل ۳ آمده است. ملاحظه می‌شود که تنها ۲۴ ساعت قرار گرفتن سیانوباکتری در شوری ۸۰ میلی‌مولار، سبب افزایش ماده‌سازی آن به میزان بیش از ۷۰ درصد

گشت که رقم به معنی واقعی قابل توجهی است. این افزایش با زمان کاهش یافت و به حدود ۱۰ درصد رسید. به معنی دیگر ترکیب زمان (کوتاه) و شوری ۸۰ میلی‌مولار قادر گشت میزان تولید توده زنده و ماده سازی را تحریک کند و این تحریک از ۱۰ تا ۷۰ درصد را شامل شد. نقش زمان در شوری‌های بالا (۱۶۰ میلی‌مولار) تاثیر گذار نبود و پیش تیمار با این مقدار شوری، سبب کاهش ۵۰ تا ٦۰ درصدی ماده خشک گشت که مقدار قابل توجهی بود. به بیان دیگر با استفاده از ترکیب زمان و شوری، می‌توان بیش از ۵۰ درصد بر تولید سیانوباکتری افزود یا در مقابل به همین میزان از تولید آن کاست، که دستاورد بزرگی از نظر بیوتکنولوژی و تکنولوژی کشت انبوه محسوب می‌شود (شکل ۳).



شکل ۳: بررسی مقایسه‌ای تاثیر پیش تیماری ٢٤ و ٩٦ ساعته ۱۷، ۸۰ و ۱٦۰میلی‌مولار NaCl بر وزن خشک سیانوباکتریوم *Calothrix* sp. FS 65

سیانوباکتریوم *Calothrix* sp. FS 65؛ دارای محتوای فیکواریترینی و آلوفیکوسیانینی قابل توجه می‌باشد. رفتارهای مربوط به تولید این رنگیزه‌ها سیال است و نمی‌توان به جمع بندی مطلقی رسید اما در حد نتایج (جدول ۲)، مشخص است که بر خلاف رفتارهای مربوط به تولید توده زنده، افزایش زمان (٩٦ ساعت)، سبب افزایش تقریبی چهل درصد (٢٤ ساعت) و سی درصد (٩٦ ساعت) در محتوای کلروفیل گشت. به عبارت دیگر در خصوص تولید کلروفیل نقش شوری از زمان تعیین‌کننده‌تر بود. همین رفتار به طور کاملا مشابه در مورد رنگیزه فیکوسیانینی مشاهده گشت. در مورد آلوفیکوسیانین و فیکواریترین نیز چنین نظامی وجود دارد. به نظر می‌رسد که نقش زمان طولانی در تولید رنگیزه‌های تشکیل دهنده فیکوبیلی‌زوم اساسی است و پیش تیمار با شوری بالا (۱٦۰ میلی‌مولار) بخصوص در کوتاه مدت (٢٤ ساعت) می‌تواند سبب تحریک تولید رنگیزه‌های تشکیل دهنده بخش‌های مرکزی (آلو فیکوسیانین) و میله‌ای (فیکوسیانین و فیکواریترین) فیکوبیلی‌زوم گردد (جدول ۲). اگر نحوه تولید کلروفیل را نیز به این مجموعه اضافه کنیم، می توان گفت پیش تیمارهای کوتاه مدت در شوری بالا بر روی رشد رنگیزه‌های مربوط به کمپلکس‌های فتوسیستمی، آنتن‌های جمع‌آوری‌کننده نور و نیز فیکوبیلی‌زوم‌ها تاثیر تحریک کننده داشت و سبب افزایش معنی‌دار غلظت آن‌ها شد. این اثر در مورد تیمارهای بلند مدت (٩٦ ساعت) نیز صدق می‌کند ولی البته میزان آن در مقایسه با زمان کوتاه (٢٤ ساعت) کم تربود.

جدول ۲: تأثیر پیش تیماری کوتاه مدت و بلند مدت شوری‌های متفاوت بر وضعیت رنگیزه‌ای سیانوباکتریوم *Calothrix* sp. FS 65

شوری (mM)	زمان (ساعت)	کلروفیل a (mg .mL^{-1}/DW)	فیکوسیانین (mg .mL^{-1}/DW)	آلوفیکوسیانین (mg .mL^{-1}/DW)	فیکواریترین (mg .mL^{-1}/DW)
۱۷	۲٤	۰,۸٤۲± ۰,۰۰۲	۱,۷٦۲ ± ۰,۰۰۲	۰,۳۹٤ ± ۰,۰۰۱	۰,٦٦۲ ± ۰,۰۰٤
۸۰	۲٤	۰,۳۵۳ ± ۰,۰۰۵	۰,٦۲۵ ± ۰,۰۰۲	۰,۱٤٤٤ ± ۰,۰۰۲	۰,۲۲۲ ± ۰,۰۰۱
	۹٦	۰,۸۳۸ ± ۰,۰۰۵	۱,۵۱۷ ± ۰,۰۰۱	۰,٤۷٦ ± ۰,۰۰۲	۰,۵۳٤ ± ۰,۰۰۳
۱٦۰	۲٤	۳,۷۰۸ ± ۰,۰۰۸	٤,۵۵۰ ± ۰,۰۰۱	۱,۵۳٦ ± ۰,۰۰۲	۱,٦۳٦ ± ۰,۰۰۰۵
	۹٦	۲,۰۰۵ ± ۰,۰۰۲	۳,۵۲۰ ± 0	۱,۰۷۲ ± ۰,۰۰۱	۱,۲۹۷ ± ۰,۰۰۰۵

نسبت‌های فتوسیستمی (جدول ۳)، نشان داد که بیشترین میزان نسبت فتوسیستم I به II، در شرایطی مشاهده شد که سیانوباکتری برای مدت ۲٤ ساعت در محیط فاقد شوری قرار داشته باشد. افزایش زمان و افزایش غلظت نمک، به صورت منظم ، کاهش این نسبت (و برعکس آن افزایش نسبت فتوسیستم دو به یک) را نشان داد. به عبارت دیگر اثر پیش تیماری در شوری و زمان‌های بیشتر به صورت توام سبب افزایش تولید فتوسیستم دو و کاهش تولید فتوسیستم یک شد. برعکس، زمان کوتاه و محیط کشت فاقد شوری، توانست سبب تحریک تولید فتوسیستم یک در سیانوباکتری گردد. در مقایسه با شوری و زمان حداقل (۲٤ ساعت و ۱۷ میلی‌مولار) و حداکثر (۹٦ ساعت و ۱٦۰ میلی‌مولار) این اختلاف معنی‌دار بود. اما اختلاف در شرایط شوری ۱۷ و ۸۰ میلی مولار، در زمان‌های ۲٤ و ۹٦ ساعت معنی‌دار نبود. به عبارت دیگر پیش تیمار کمترین غلظت شوری در کمترین زمان، سبب رفتاری متفاوت از نظر تولید فتوسیستم‌ها با پیش تیمار غلظت شوری بالا در بالاترین زمان گشت. به‌طور طبیعی این تغییر نسبت‌ها با تغییر میزان تبادل انرژی از فتوسیستم دو به یک همراه بود. ضمن اینکه البته پیش تیمار شوری و زمان را می‌توان عاملی برای کنترل نسبت‌های فتوسیستمی در این سیانوباکتری محسوب کرد که خود بر روی فرایندهای فیزیولوژیک و تولید متابولیت‌های اساسی تاثیر خواهند گذاشت. ضمن اینکه تغییر در عملکرد دستگاه فتوسنتزی تنها به فیکوبیلی‌زوم‌ها (اجزای سازنده آن‌ها) محدود نمی‌شود بلکه میزان تولید فتوسیستم‌ها را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهد. به طور طبیعی همانند فیکوبیلی‌زوم‌ها، در خصوص نسبت‌های فتوسنتزی نیز میزان شوری و زمان، دو اهرم کنترل کننده محسوب می‌شوند.

جدول ۳: تأثیر پیش تیماری کوتاه مدت و بلند مدت شوری‌های متفاوت بر نسبت فتوسیستم‌ها در سیانوباکتریوم *Calothrix* sp. FS 65

شوری (mM)	زمان (ساعت)	PSII/PSI	PSI/PSII
۱۷	۲٤	۰,۸۲۷	۱,۸٦
۱۷	۹٦	۰,۷۲۵	۱,۳۸
۱٦۰	۲٤	۰,۷٦۲	۱,۳۱۱
۱٦۰	۹٦	۰,۸٦	۱,۲۵۱

بحث

رفتارهـای سـیانوباکتریوم *Calothrix* sp. FS 65، تحت تاثیر پیش تیمار با دو عامل زمان و شـوری، در مقوله رشـد و تولیـد رنگیـزه، در مرحلـه نخسـت بـه صورت کلی ارزیابی می‌گردد و بعـد جزئیـات مـورد توجه قرار می‌گیرد. با توجه به اینکه نمونه فاقد پیشینه اطلاعات پایه است، شاید هنوز زمان برای نتیجه‌گیری کلـی زود باشـد. مـی‌بایسـت بررسـی‌هـای دقیـق اکوفیزیولوژیک با ابزارهای کارا بر روی آن انجام گیرد تا ابهام‌های موجود را برطرف نماید. امـا پـیش از آن، ذکر این نکته اساسـی اسـت کـه چـه در بررسـی بـا اطلاعات موجـود و چـه در بررسـی‌هـای دقیـق‌تـر و موضعی آینده (با تکیه بر بخش‌های مختلـف سیسـتم فتوسنتزی) به نتیجه برسیم یا نرسیم، مسئله زمـان کـه اساس پیش تیمارها را تشکیل می‌دهد و نحوه تاثیر آن بر ما ناشناخته اسـت. قـرارداد زمـان انسـانی کـه بـه صورت ٢٤ ساعت و ٩٦ ساعت و امثـال ایـن، مـورد توجه ما قرار می‌گیرد ناشی از درک سیستم ذهنی ما از ماهیت موهومی به نام زمان اسـت. کسـی نمـی‌توانـد بگوید که در دنیای پروکاریوتی درک از زمان به همین شکل است. نگرش‌های مبتنی بر علوم در اینجا دچـار تنـاقض، پراکنـدگی وعـدم انسـجام مـی‌شـود و پژوهشگران به ناچار به رویکردهایی نظیر کشـاورزی و بیوتکنولوژی روی مـی‌آورنـد کـه خـود مشـکلات خاص خود را دارد. اتخاذ رویکرد نتیجه‌گرا، نمی‌تواند مکانیسم‌هـا را بـه طـور کامـل و دقیـق توجیـه کنـد. بخصوص اینکه بسیاری از این مکانیسم‌ها برای انسان ناشناخته باشد (Shokravi, 2017).

روشن است که تیمارهای طولانی مـدت شـوری، سبب افزایش ساختارهای تشکیل دهنده فیکوبیلی‌زوم می‌شوند. می‌توان با دو رویکرد به مسئله نگریست. از رویکرد بیوتکنولوژیک، این یک دستاورد بسیار بزرگ اسـت. کـافی اسـت سـیانوباکتری را قبـل از ورود در محیط جدید (حوضچه‌های روبـاز کشـت انبـوه و یـا کشت‌های کوچک‌تر نیمه انبوه)، ابتدا به مـدت چهـار روز (٩٦ ساعت) در شوری بالا (١٦٠ میلی‌مولار) قرار دهـیم. بعـد از ورود بـه محـیط جدیـد، محتـوای فیکوسیانینی، آلوفیکوسیانینی و فیکـواریترینی آن، هـر سه افزایش معنی‌دار و قابل توجه خواهند یافت.

اما از دیدگاه علوم پایه، تناقض‌هـایی میـان میـزان افزایش تولید ساختارهای فیکوبیلی‌زومـی و عملکـرد رشد مشاهده می‌شود. تاثیر پیش تیمارها، در خصوص الگو و نرخ رشد متفـاوت اسـت و بـا نتـایج شـفاف بخش‌های مختلف فیکوبیلی‌زوم سازگار نمی‌باشد. این را نمی‌توان به حساب ایراد در آزمـایش یـا در نتـایج گذاشت. بررسی‌های متعددی وجـود دارد کـه همـین تناقض را در عملکرد فیکوبیلی‌زوم‌هـا و رشـد نشـان می‌دهند (Hifney et al., 2013; Fatma, 2009). بـرای رسیدن به آگاهی قابل اعتنا لازم است عملکرد سیستم فیکوبیلی‌زومی مورد ارزیـابی قـرار گیـرد. اسـتفاده از طیف‌های اسپکتروفلوریمتری بخصـوص تحریـک در محدوده‌های ٣٤٠ و ٣٨٠، ضروری است، طیـف‌هـای تشعشعی می‌توانند نحوه عملکرد فیکـوبیلی‌زوم را در اختیار بگذارند. ضمن اینکـه ارزیـابی محتـوای دقیـق فلورسانسـی در حالـت پایـه و تحریـک شـده، بـرای آگاهی از نحوه انتقال انرژی میـان فیکـوبیلی‌زوم‌هـا و دیگـر بخـش‌هـای تشـکیل دهنـده کمـپلکس‌هـای فتوسیسـتمی ضـروری مـی‌باشـد (Sobiechowska-Sasim et al., 2014). اتلاف انرژی و یا عـدم جفـت شدن انتقال انرژی میان فیکوبیلی‌زوم و فتوسیسـتم دو و یک می‌تواند عامل بسیار مهمـی باشـد کـه نیـاز بـه بررسی دارد (Ueno et al., 2017).

اما نکاتی که بـه روشـنی و بـا تکیـه بـر شـواهد به‌دست آمده، می‌توان روی آن‌ها تاکید داشت (سـوای دسـتاوردهای بیوتکنولوژیـک)، نتـایجی اسـت کـه از منحنی‌ها و آنالیزهای رشد حاصل می‌شود. عـدم فـاز

تاخیری می‌تواند نوعی دستاورد بزرگ کاربردی باشد. اگر پیش تیمار بتواند فاز تاخیری را حذف کند یا زمان آن را کوتاه نماید بدین معنی است که توانسته است از دو طریق، زمینه لازم برای خوگیری را فراهم کند. نخست از طریق تاثیر روی ساختارهای آنزیمی و تجهیزاتی که به‌خصوص برای دی آزوتروفی (فرایند به معنی واقعی پر هزینه از نظر انرژی) لازم هستند (Yamamoto et al., 2005) و دیگر تاثیر روی پوشش‌های اطراف سلول و برون ریزش ترکیبات دیواره ساز. نقش ترکیبات دیواره ساز روشن است. پوشش‌های اطراف سلول که از همین ترکیبات منشا می‌گیرد، نوعی سیستم هوشمند در اطراف سلول ایجاد می‌کند که شرایط بیرونی را تحت کنترل سلول در می‌آورد. به عبارت دیگر یک مکانیسم نظارتی بسیار دقیق در اطراف سلول ایجاد می‌کند که متعادل کننده شرایط بیرونی به نفع سیستم سلول است. این مسئله در مورد بسیاری از تنش‌ها مشاهده شده است (Steele et al., 2014; Shokravi et al., 2012; Soltani et al., 2009). اگر یک پیش تیمار ساده بتواند خوگیری را با کاهش فاز تاخیری افزایش دهد، هم سرعت ساخته شدن تجهیزات داخلی را افزایش داده و هم عوامل لازم برای سیستم هوشمند اطراف سلولی را سازمان‌دهی کرده است. این هردو جهت بقا و خوگیری سیانوباکتری با شرایط لازم است. ضمن اینکه زمینه لازم برای تکثیر و ورود به فاز تصاعدی را فراهم می‌نماید. بنابراین تاثیر پیش تیمارها روی حذف یا کاهش فاز تاخیری را می‌بایست با نهایت دقت مورد توجه قرار داد. طبیعی است که برونده چنین اثری، افزایش کارایی و قابلیت خوگیری سیانوباکتری با شرایط ناهموار احتمالی محیط می‌نماید که از نظر بیوتکنولوژی امتیاز ارزشمندی است.

نسبت‌های فتوسیستمی در سیانوباکتری‌ها از مواردی است که ظرف سال‌های اخیر، توجه جدی به آن معطوف شده است. اگر اینطور تصور کنیم که بر خلاف گیاهان گلدار، در سیانوباکتری‌ها به ازای هر فتوسیستم دو، یک فتوسیستم یک تولید نمی‌شود و بلکه این نسبت کاملا متغیر است، ضمن وقوف به امتیاز تکاملی این موجودات، با فرایندهای جدیدی از نظر انتقال انرژی مواجه هستیم (Fraser et al., 2013; Ho et al., 2017)و افزایش میزان فتوسیستم یک به دو، به طور طبیعی سبب می‌شود که انتقال انرژی از فتوسیستم دو به یک با کارایی به مراتب بیشتر همراه باشد. در صورتی که این نسبت یک به یک باشد، امکان اینکه به دلایل مختلف و از جمله موتاسیون در مرکز واکنش یا پروتیین‌هایی نظیر D1 و PSBU، کارایی عمل کرد فتوسیستم یک کاهش یابد و این کاهش سبب اتلاف انرژی انتقالی در مسیر ساختن انرژی و ردکتان شود، بالا می‌باشد. سیانوباکتری‌ها با اعمال هوشمندی‌های مهندسی و از جمله قرار دادن نسبت‌های بالاتری از فتوسیستم یک، از این اتلاف انرژی جلوگیری کرده‌اند. هرچند در خصوص میکروفلور ایران، بخصوص مناطق کشاورزی و نفت خیز، به دلیل آسیب‌های احتمالی حاصل از مصرف کودهای شیمیایی، علف کش‌ها و آفت کش‌ها و نیز الودگی‌های گسترده نفتی احتمال آسیب دیدگی در کلیه فتوسیستم‌ها بالاست و بررسی‌های ابتدایی با استفاده از اندازه‌گیری فلورسانس این امر را محتمل جلوه می‌دهد (Amirlatifi et al.,2018) این در اصل مسئله تفاوتی ایجاد نمی‌کند. کارایی استفاده از انرژی در سیستم‌های نوری سیانوباکتری‌ها می‌تواند به مراتب بالاتر باشد. استفاده از پیش تیمارها در رابطه با این نسبت تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است. اگر همانند آنچه در سیانوباکتری *Calothrix* sp. FS 65،

مشاهده می‌شود، بتوان از ساده‌ترین پیش تیمارها یعنی شوری و زمان، جهت تغییر نسبت فتوسیستم‌ها استفاده کرد، می‌توان اهرم کنترلی جهت انتقال انرژی را به دست داشت و از این طریق کارایی فتوسنتز را افزایش یا کاهش داد. البته نقش دیگر اجزای سیستم و بخصوص فیکوبیلی‌زوم‌ها در این امر اساسی می‌باشد و ممکن است فواید افزایش یا کاهش نسبت فتوسیستم‌ها توسط عملکرد ضعیف سیستم فیکوبیلی زومی تضعیف شود. اما در صورت سالم بودن سایر بخش‌های فتوسیستمی، استفاده از شوری و زمان، بخصوص شوری اندک و زمان کوتاه (۲٤ ساعت و ۱۷ میلی مولار) می‌تواند نسبت فتوسیستم یک به دو را افزایش معنی‌دار دهد و از این طریق با کاهش فرایندهای فلورسانسی و گرما، ورود جریان الکترونی در واکنش‌های تولید انرژی و ردکتان را افزایش دهد.

چنانکه در مقدمه ذکر گردید، این نخستین پژوهش در کشور است که به بررسی تاثیر عاملی به نام پیش تیمار (در این بررسی، شوری و زمان) بر روی یک سیانوباکتریوم خاکزی می‌پردازد. تاکنون بررسی‌هایی که انجام گرفته، همگی با ورود سیانوباکتری به محیط جدید آغاز شده و از قبل پیش تیماری انجام نگرفته است. البته در بررسی‌های Boshruye و همکاران (۲۰۰۷) و Sasani و همکاران (۲۰۰۹) بر روی سیانوباکتری‌های *Oscillatorial* ، بر هم زدن نظم زمانی با استفاده از شوک‌های دمایی، نوری و شوری وجود داشته است. به همین شکل بر هم زدن نظم تاریکی با استفاده از دوره‌های ۱۰ دقیقه‌ای روشنایی در پژوهش Vakili و همکاران (۲۰۰۵) بر روی سیانوباکتری *Fischerella* sp. FS 18. لحاظ شده است. مسئله استفاده از مقاطع زمانی بسیار کوتاه (شوک) و یا به هم زدن وضعیت نمونه در شرایط خوگیری، در چند بررسی پراکنده انجام شده اما استفاده از پیش تیمارها تا آنجا که کاوش‌های ما نشان می‌دهد بر روی سیانوباکتری‌های ایران انجام نگرفته. اگر هم انجام گرفته باشد بر روی سیانوباکتری‌های اپی دافیک و اندافیک انجام نگرفته است. اگر این هم به احتمال بسیار کم انجام گرفته باشد و ما از آن بی اطلاع باشیم قدر مسلم بر روی گونه‌های کالوتریکس و بخصوص سویه *Calothrix* sp. FS 65 انجام نگرفته است.

نتیجه‌گیری نهایی

استفاده از سیانوباکتریوم هتروسیست‌دار *Calothrix* sp. FS 65 به عنوان نمونه مدل، نشان می‌دهد که استفاده از پیش تیمارها، نه تنها در شکل منحنی‌های رشد و وجود یا عدم فاز تاخیری و زمان فاز تصاعدی تاثیر می‌گذارد، بلکه در سرعت ورود به فاز تصاعدی نیز تاثیرگذار است. این عوامل از مهمترین عوامل در بررسی‌های مربوط به کشت در مقیاس بزرگ محسوب می‌شوند. ضمن اینکه پیش تیمارهای ساده‌ای نظیر شوری و زمان، می‌تواند در نگرش جزیی‌تر، بر تولید رنگیزه‌های مربوط به کمپلکس‌های جمع‌آوری کننده نور و فیکوبیلی‌زوم‌ها تاثیر داشته باشد. هرچند بدون استفاده از تکنیک‌های مناسب، نمی توان به قاطعیت اظهار نظر کرد اما در یک گمانه زنی کلی، می‌توان ادعا کرد که افزایش یا کاهش میزان رنگیزه‌های کلروفیلی، فیکوسیانینی، آلوفیکوسیانینی و فیکواریترینی، می‌تواند به منزله تقویت کارایی آنتن‌های گیرنده و تعدیل کننده نور و نیز میزان انتقال انرژی از فیکوبیلی‌زوم‌ها به فتوسیستم‌ها باشد. تاثیر پیش تیمارها بر نسبت‌های فتوسیستمی، عامل مهمی است که کارایی انرژی انتقالی در سیستم‌های نوری جهت ساخته شدن انرژی، ردکتان و بسیاری متابولیت‌های وابسته به فتوسنتز را کنترل می‌کند. استفاده از پیش تیمارها با تاثیر روی این نسبت می‌تواند توان کلی دستگاه

فتوسنتزی را افزایش دهد و از این طریق در عملکرد نمونه در کشت‌های انبوه و برنامه‌های اقتصادی آتی تاثیرگذار باشد.

سپاسگزاری

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند ضمن تشکر و قدردانی از پروفسور ندا سلطانی، (دانشگاه شهید بهشتی)، سپاسگزاری ویژه خود را از دکتر مهدی عبادی، دکتر داوود بیک‌نژاد، آقای محمد آئینه و خانم ملیحه رسایی (دانشگاه آزاد اسلامی گرگان) به سبب همکاری صمیمانه در طول مدت انجام مطالعات نظری و آزمایشگاهی به عمل آورند.

References

Ahmadi, H., Shokravi, Sh., and Soltani, N. (2010). Studying of viability and growth of the soil cyanobacterium at combination effects of salinity pH and Carbon dioxide availability., Thesis of Plant Science (M.Sc), Islamic Azad University, Gorgan Branch.

Amirlatifi, F., Soltani, N., Saadatmand, S., Shokravi, S., and Dezfulian, M. (2013). Crude Oil-induced Morphological and Physiological Responses in Cyanobacterium *Microchaete tenera* ISC13. International Journal of Environmental Research, 7(4):1007-1014.

Amirlatifi, H.S., Shokravi, Sh., Sateei, A., Golsefidi, M.A., and Mahmoudjanlo, M. (2018). Samples of Cyanobacterium *Calothrix* sp. ISC 65 Collected from Oil Polluted Regions Respond to Combined Effects of Salinity, Extremely Low-Carbon Dioxide Concentration and Irradiance. International Journal on Algae, 20(2): 193–210.

Anagnostidis, K. and Komarek, J. (1990). Modern approaches to the classification of cyanobacteria. Stigonematales. Achieves for Hydrobiology, 4: 224-286.

Boshruye, A., Shokravi, Sh. and Soltani, N. (2007). Studying of physiological responses of agriculture land protected microalgae to extreme temperature conditions resulted from possibly military attacks. Thesis of Plant Science (M.Sc.), Islamic Azad University, Gorgan Branch.

Chakigar, Sh., Shokravi, Sh., and Marvizadeh, S. (2014). Ecophysiological studying of aclimation of the soil cyanobacteria *Microchaete* sp. FS13 to combination effect of salinity and extremely limited irradiance. Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research, 9(33): 216-228.

Desikachary,T.V. (1959). Cyanophyta, Indian council of agricultural research, New Delhi.

Ernst, A., and Boger, P. (1985). Glycogen accumulation and the induction of nitrogenase activity in the heterocyst-forming cyanobacterium Anabaena variabilis. Microbiology, 131(12): 3147-3153.

Fraser, J.M., Tulk, S.E., Jeans, J.A., Campbell, D.A., Bibby, T.S., and Cockshutt, A.M. (2013). Photophysiological and photosynthetic complex changes during iron starvation in *Synechocystis* sp. PCC 6803 and *Synechococcus elongatus* PCC 7942. PLoS One, 8(3): e59861.

Fatma, T. (2009). Screening of cyanobacteria for phycobiliproteins and effect of different environmental stress on its yield. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 83(4): 509.

Hifney, A.F., Issa, A.A., and Fawzy, M.A. (2013). Abiotic stress induced production of β-carotene, allophycocyanin and total lipids in Spirulina sp. Journal of Biology and Earth Sciences, 3(1): 54-64 .

Ho, M.Y., Soulier, N.T., Canniffe, D.P., Shen, G., and Bryant, D.A. (2017). Light regulation of pigment and photosystem biosynthesis in cyanobacteria. Current Opinion in Plant Biology, *37*: 24-33.

Iranshahi, S., Nejadsattari, T., Soltani, N., Shokravi, Sh., and Dezfulian, M. (2014). The effect of salinity on morphological and molecular characters and physiological responses of *Nostoc* sp. ISC 101. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 13(4): 907-917.

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.

Kumar Srivastava, A., Bhargava, P., Mishra, Y., Shukla, B., and Chand Rai, L. (2006). Effect of pretreatment of salt, copper and temperature on ultraviolet-B-induced antioxidants in diazotrophic cyanobacterium Anabaena doliolum. Journal of Basic Microbiology, 46(2): 135-144.

Leganés, F., Sánchez-Maeso, E., and Fernández-Valiente, E. (1987). Effect of indoleacetic acid on growth and dinitrogen fixation in cyanobacteria. Plant and Cell Physiology, 28(3): 529-533.

Mishra, Y., Chaurasia, N., and Rai, L.C. (2009). Heat Pretreatment Alleviates UV-B Toxicity in the Cyanobacterium Anabaena doliolum: A Proteomic Analysis of Cross Tolerance. Photochemistry and Photobiology, *85*(3): 824-833.

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 Publication.

Rai, A.N. (2018). Cyanobacteria in symbiosis. In CRC handbook of symbiotic cyanobacteria (pp. 7-14). CRC Press.

Sasani, Z., Shokravi, Sh. Khalilzadeh, R., and Sateei, A. (2009). Studying of acclimation of microalgae as possible shields in agriculture at extreme Carbon dioxide concentrations included by possibly military attacks. Thesis of Plant Science (M.Sc.), Islamic Azad University, Gorgan Branch.

Shokavi, Sh. (2017). Cyanobacteriology 2 (Necessity of Rethinking): Time, Dimensions and the View of Ouspensky in the Tertium Organum, pp. 73-81. FL: Jahad-Daneshgahi- Shahid Beheshti University Press.

Shokravi, Sh., Amirlatifi, H. S., Pakzad, A., Abbasi, B., and Soltani, N. (2014). Physiological and Morphological Responses of Unexplored Cyanoprokaryota Anabaena sp. FS 77 Collected from Oil Polluted Soils under a Combination of Extreme Conditions. International Journal on Algae, 16(2): 164-180

Shokravi, Sh., and Soltani, N. (2012). The Effect of Ammonium on Viability, Growth and Pigment Composition of *Fischerella* sp. International Journal on Algae, 14(1): 63-71.

Shokravi, Sh., and Soltani, N. (2011). Acclimation of the *Hapalosiphon* sp. FS 56 (*Cyanoprokaryota*) to combination effects of dissolved inorganic carbon and pH at extremely limited irradiance, International Journal on Algae, 13(4): 379–391.

Shokravi, Sh. and Sateei, A. (2004). Morphological Characterization of Certain Potent Strains of Cyanobacteria of Golestan Province., research projects, Islamic Azad University, Gorgan Branch.

Sobiechowska-Sasim, M., Stoń-Egiert, J., and Kosakowska, A. (2014). Quantitative analysis of extracted phycobilin pigments in cyanobacteria—an assessment of spectrophotometric and spectrofluorometric methods. Journal of Applied Phycology, 26(5): 2065-2074.

Soltani, N., Baftechi, L., Dezfulian, M., Shokravi, Sh., and Alnajar, N., (2012). Molecular and morphological characterization of Oil polluted microalgae, International Journal of Environmental Research 6(2): 481–492.

Soltani, N., Siahbalaie, R. and Shokravi, Sh. (2011). Taxonomical characterization of *Fischerella* sp. FS18-A multidisciplinary approach, International Journal on Algae, 1: 48-55.

Soltani, N., Baftechi, L., & Ehsan, S. (2009). Isolation and record of new species of cyanobacteria belonged to *oscillatoriaceae* from Tehran province with use of different culture media. Journal of Plant Environmental Physiology, 4: 2(14).

Soltani, N., Khavarinejad, R.A., TabatabaeiYazdi, M., and Shokravi, Sh. (2007). Growth and metabolic Feature of cyanobacteria *Fischerella* sp. FS18 in different combined nitrogen sources Iranian Journal of Science, 18(2): 123-128.

Steele, D.J., Franklin, D.J., and Underwood, G.J. (2014). Protection of cells from salinity stress by extracellular polymeric substances in diatom biofilms, Biofouling, 30(8): 987-998.

Tang, E.P., and Vincent, W.F. (1999). Strategies of thermal adaptation by high-latitude cyanobacteria. The New Phytologist, 142(2): 315-323

Ueno, Y., Aikawa, S., Niwa, K., Abe, T., Murakami, A., Kondo, A., and Akimoto, S. (2017). Variety in excitation energy transfer processes from phycobilisomes to photosystems I and II. Photosynthesis research, 133(1-3): 235-243.

Vakili, F., Shokravi, Sh., Ghorchibeigi, K., and Soltani, N. (2005). Studying of growth and heterocycst variationsin *Fischerella ambigua*., Thesis of Plant Science (M.Sc), Islamic Azad University, Gorgan Branch.

Yamamoto, Y., and Nakahara, H. (2005). The formation and degradation of cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae*

blooms: The importance of pH, water temperature, and day length. Limnology. 6(1):1-6.

Zorz, J.K., Allanach, J.R., Murphy, C.D., Roodvoets, M.S., Campbell, D.A., and Cockshutt, A.M. (2015). The RUBISCO to photosystem II ratio limits the maximum photosynthetic rate in picocyanobacteria. Life, *5*(1): 403-417.

www.Irandoc.ac.ir