



## تأثیر شدت نور بر ترکیبات بیوشیمیایی *Scenedesmus brevispina* جلبک سبز

ندا سلطانی

جهاد دانشگاهی شهید بهشتی - صندوق پستی ۱۹۸۳۵/۳۷۱

### چکیده

در این پژوهش تأثیر شدتهای روشنایی ۳۰۰۰ تا ۵۰۰۰ لوکس از نور سفید بر رشد جلبک سبز *Scenedesmus brevispina* مورد بررسی قرار گرفته است. گونه مذکور پس از جمع آوری از آبگیرهای داخلی (تهران و کرج) و تخلیص، تحت تیمارهای نوری (۳۰۰۰ و ۳۵۰۰ و ۴۰۰۰ و ۴۵۰۰ و ۵۰۰۰ لوکس) قرار گرفت. در هر مورد سنجش پروتئین، وزن خشک، کلروفیل، کاروتنوئیدها و قند به عمل آمد.

نتایج بدست آمده نشان داد که از میان تیمارهای روشنایی اعمال شده تیمار نوری با شدت ۴۵۰۰ لوکس بیشترین اثر افزایشی را بر میزان قند، پروتئین، رنگدانه‌ها و وزن خشک در واحد سینوبوم نشان می‌دهد. در مورد سایر تیمارها نظر قطعی نمی‌توان ارائه کرد. به‌عنوان مثال کمترین تأثیر در مورد کلروفیل، پروتئین و قند به تیمار نوری ۳۵۰۰ لوکس و در مورد کاروتنوئیدها به ۳۰۰۰ لوکس تعلق داشت.



## مقدمه

گونه *Scenedesmus brevispina* متعلق به جنس سندسموس *Scenedesmus* تیره *Scenedesmaceae* و راسته *Chlorochocales* از جلبکهای سبز *Chlorophyta* می باشد (Bold & Wyne, 1985).

آزمایشات متعدد انجام گرفته نشان می دهد که طول مدت روشنایی و شدت آن یکی از عوامل مؤثر در رشد و فتوسنتز جلبکهای اتوتروف و از جمله ریز جلبک سبز سندسموس می باشد. آزمایشات مختلف نشان داده است که در روشهای اتوتروف جلبکهای کلروکوکال، تولید مثل هنگامی بوقوع می پیوندد که حداقل انرژی نورانی لازم فراهم گردد. سینوبیومهای تک سلولی *Scenedesmus brevispina* که تحت شرایط نوری بالا ( $20 \text{ w/m}$ ) و پائین ( $5 \text{ w/m}$ ) قرار گرفته اند به ترتیب تمام صفات گیاهان سایه پسند و نور پسند را از خود نشان می دهند. هنگامیکه سلولها به شرایط نوری متفاوت منتقل می شوند. در طول ۶ ساعت سازش می یابند (Hoffman & Senger, 1988). تغییرات شرایط نوری بر فرا ساختمان و یا قدرت فتوسنتزی سندسموس نیز اثر می گذارد. تحقیقات در این زمینه نشان می دهد که هنگامیکه موتانهای اشعه X ( $C-2A$ ,  $C-6D$ )،  $C-6E$  (*Scenedesmus obliquus*) از تاریکی (رشد هتروتروف) به روشنایی ( $1000 \text{ lux}$ ) منتقل می شوند از نظر فرا ساختمان یا قدرت فتوسنتزی تغییراتی می کنند (Wellburn et al., 1980). نتایج حاصل از آزمایشاتی که در آن محدودیت نور و مواد غذایی بر روی رشد *Scenedesmus*, *Fragilaria* بررسی شده است، نشان می دهد که تأثیرات ترکیبی آنها بیش از جمع تأثیرات (به تنهایی) می باشد (Gotham Rhee &, 1981). در این مقاله هدف بررسی تأثیر شدت نور بر ترکیبات بیوشیمیایی جلبک سبز سندسموس می باشد.

## مواد و روشها

نمونه برداری از آبگیرهای تهران و کرج در چند نوبت انجام گرفت. شناسایی براساس کلیدهای مختلف (Hindak, 1990; Hegewald, 1973, 1979, 1980, 1988, 1989; Prescott, 1962) انجام گرفت. جداسازی به روش آگار پلیت و بر روی محیط کشت N8 صورت پذیرفت. پس از چندین بار کشت، کلنی تک جلبکی بدست آمده بدون لوله های شیشه ای محتوی شیب آگار منتقل گردید. پس از حصول کشت خالص، کلنی ها بدون محیط مایع انتقال یافتند. تلقیح جلبکها از محیط استوک



بدرون ارلنها به طریقی انجام گرفت که ۱۰ سینوبیوم در میلی لیتر به محیط جدید انتقال یافتند.

تیمارهای روشنایی از طریق تغییر محل محیط کشت نسبت به منبع روشنایی اعمال گردید. روشنایی بوسیله ۵ عدد لامپ فلورسنت (۴۰ وات) و ۴ لامپ تنگستن (۱۰۰ و ۲۰۰ وات) تامین گردید. تناوب روشنایی اعمال شده ۱۸ ساعت روشنایی و ۶ ساعت تاریکی بود. تیمار روشنایی بکار رفته شدتهای ۵۰۰۰، ۴۵۰۰، ۴۰۰۰، ۳۵۰۰ و ۳۰۰۰ لوکس را شامل می شدند. هر تیمار شامل ۴ تکرار مربوطه بود و دما در  $22 \pm 1$  درجه سانتیگراد و pH در حد ۶/۵ ثابت نگاه داشته شد. نمونه برداری جهت تمام آزمایشات پس از رشد جلبک مذکور و رسیدن به فاز ساکن (روز پنجاه و چهارم بعد از تلقیح اولیه) به طور همزمان انجام گردید. اندازه گیری وزن خشک در دمای ۱۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴ تا ۵ ساعت انجام شد. سنجش کلروفیلها و کاروتنوئیدها به روش (Stauffer et al., 1979) و قندهای محلول و نشاسته به روش فنل - اسید سولفوریک و پروتئین کل به روش (Lowry et al., 1951) انجام گرفت.

## نتایج

متوسط وزن خشک بدست آمده برای تیمارهای روشنایی پنج گانه ۸۹۸/۰ نانوگرم در سینوبیوم می باشد با مقایسه مقادیر وزن خشک مربوط به تیمارهای روشنایی مشخص می گردد که بیشترین وزن خشک در شدت روشنایی ۴۵۰۰ لوکس حاصل گردیده است (جدول ۱). پس از آن شدتهای روشنایی ۵۰۰۰ لوکس ( $0.94 \pm 0.2$  ng/coen)، ۳۰۰۰ لوکس ( $0.8 \pm 0.1$  ng/coen)، ۴۰۰۰ لوکس ( $0.75 \pm 0.2$  ng/coen) قرار داشتند. کمترین میزان وزن خشک به شدت روشنایی ۳۵۰۰ لوکس متعلق بود.

جدول ۱: مقادیر وزن خشک، پروتئین، کلروفیل (a+b) و کاروتنوئیدها در تیماری مختلف نوری

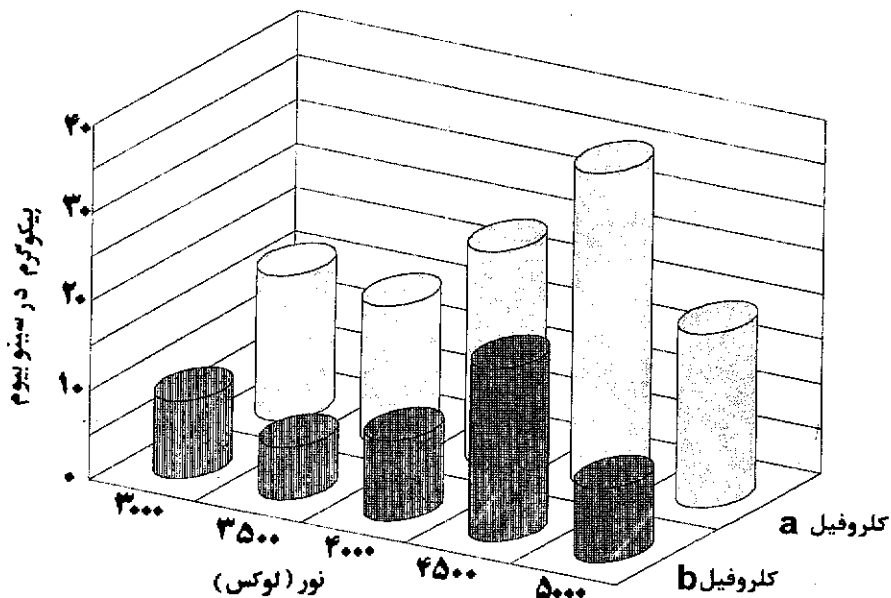
شدتهای نوری LUX	وزن خشک ng/coen	پروتئین pg/coen	قندها pg/coen	کلروفیل (a+b) pg/coen	کاروتنوئیدها pg/coen
۳۰۰۰	$0.8 \pm 0.1$	$14/5 \pm 2/2$	$18/73 \pm 4/3$	$24/87 \pm 4/7$	$5/18 \pm 1/1$
۳۵۰۰	$0.7 \pm 0.3$	$12/97 \pm 1/5$	$18/1 \pm 1/8$	$21/0.2 \pm 3/7$	$7/7 \pm 1/6$
۴۰۰۰	$0.75 \pm 0.2$	$15/7 \pm 1/4$	$26/6 \pm 3/7$	$32/9 \pm 8/6$	$8/4 \pm 2/3$
۴۵۰۰	$1/3 \pm 0.3$	$28/4 \pm 0.4$	$25/5 \pm 4/3$	$55/2 \pm 3/7$	$13/2 \pm 0.9$
۵۰۰۰	$0.94 \pm 0.2$	$19/99 \pm 1/2$	$31/9 \pm 4$	$28/0.2 \pm 5$	$8/7 \pm 5$



در مورد کلروفیلها مشاهده شد که شدت روشنایی ۴۵۰۰ لوکس در این سنجش نیز حداکثر میزان را در واحد سینیومیوم داده است ( $۵۵/۲ \pm ۳/۷$  pg/coen). پس از آن به ترتیب شدتهای روشنایی ۳۰۰۰ لوکس، ۵۰۰۰ و ۳۰۰۰ لوکس سبب تولید غلظتهای پائین کلروفیلها در واحد سینیومیوم جلبک گردیده‌اند.

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود کمینه غلظت کلروفیل ( $۲۱/۰۲ \pm ۳/۷$  pg/coen) در شدت روشنایی ۳۵۰۰ لوکس بدست آمده است.

حداکثر میزان کلروفیل a در تیمار ۴۵۰۰ لوکس بود که مشابه این نتیجه در خصوص کلروفیل b نیز مشاهده شد (شکل ۱).

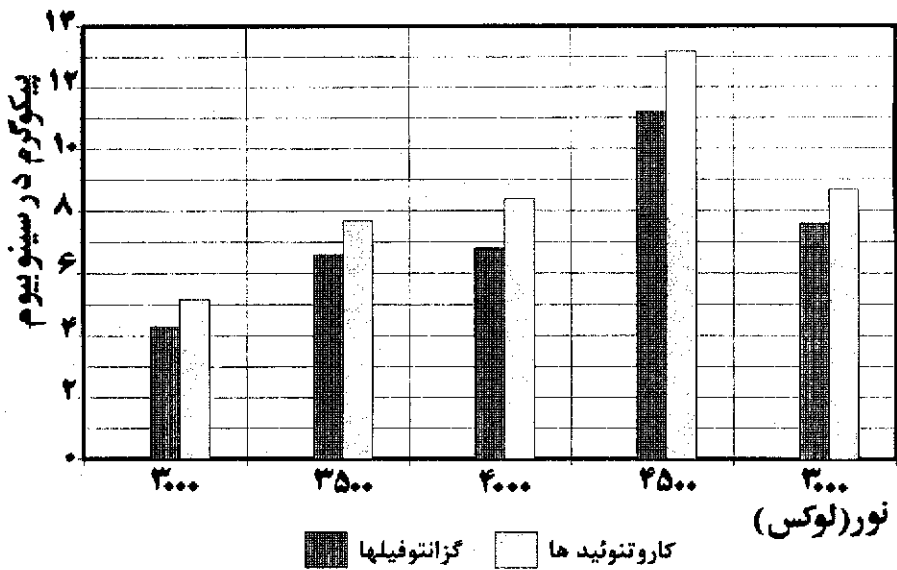


شکل ۱: مقایسه بین مقادیر کلروفیل a و کلروفیل b در تیمارهای نوری مختلف

سنجش پروتئین کل در شدتهای نوری متفاوت نشان داد که پروتئین در شدت روشنایی ۴۵۰۰ لوکس بیشترین مقدار خود را در واحد سینیومیوم دارا می‌باشد ( $۲۸/۴ \pm ۰/۴$  pg/coen). بدنبال آن ۵۰۰۰ لوکس ( $۱۹/۹۹ \pm ۱/۲$  pg/coen)، ۴۰۰۰ لوکس ( $۱۵/۷ \pm ۱/۴$  pg/coen)، ۳۰۰۰ لوکس ( $۱۴/۵ \pm ۲/۲$  pg/coen).

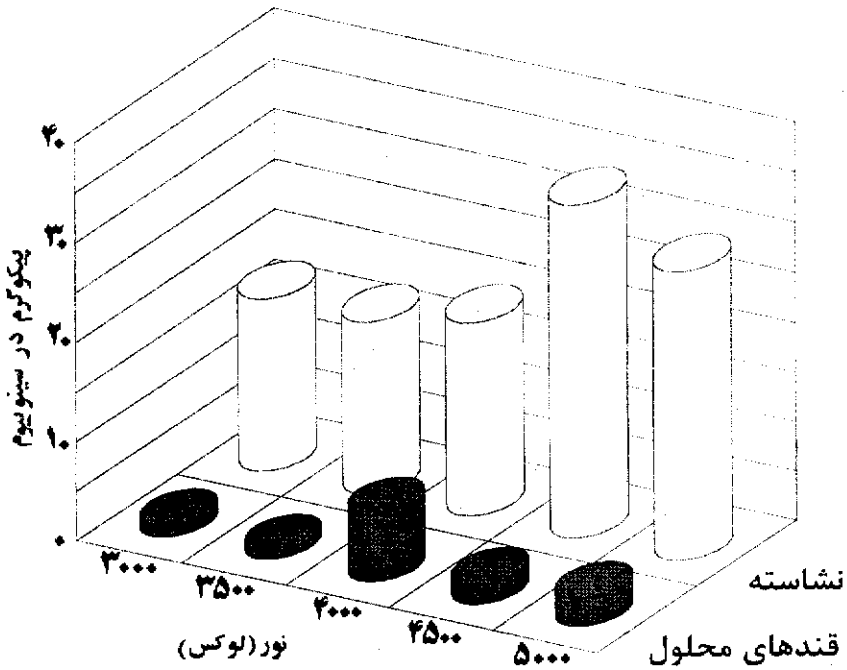


۳۵۰۰ لوکس ( $12/97 \pm 1/5$  pg/coen) تولید مقادیر کمتری پروتئین را به همراه داشتند. در سنجش قندها بیشترین مقدار بدست آمده مربوط به شدت روشنایی ۴۵۰۰ لوکس ( $35/5 \pm 4/3$  pg/coen) و کمترین آن مربوط به شدت روشنایی ۳۵۰۰ لوکس ( $18/12 \pm 1/8$  pg/coen) بود (جدول ۱).  
در مورد کاروتنوئیدها حداکثر میزان بدست آمده مربوط به تیمار ۴۵۰۰ لوکس ( $13/22 \pm 0/9$  pg/coen) می‌شد. مقادیر گزانتوفیل‌های بدست آمده به مراتب از کاروتنها بیشتر بود (شکل ۲).



شکل ۲: مقایسه بین مقادیر گزانتوفیلها و کاروتنها در تیمارهای مختلف نوری

از میان نتایج بدست آمده در این پژوهش می‌توان به مقادیر نشاسته و قندهای محلول و مقایسه بین آنها اشاره کرد. شکل ۳ بخوبی افزایش قابل ملاحظه نشاسته نسبت به قندهای محلول را نشان می‌دهد. با در نظر گرفتن این نکته که بیشترین میزان نشاسته بدست آمده مربوط به تیمار ۴۵۰۰ لوکس بوده و بیشترین میزان قندهای محلول در ۴۰۰۰ لوکس دیده شد.



شکل ۳: مقایسه بین میزان نشاسته و قندهای محلول در تیمارهای نوری مختلف

## بحث

نتایج بدست آمده نشان داد که شدتهای نوری مختلف بر روی میزان کلروفیلها و کارنتنوئیدها تأثیر معنی‌داری داشته که این مورد با تحقیقات فراوانی که در خصوص تأثیر نور بر رشد جلبکها صورت گرفته است، همخوانی دارد (Morris , 1980).

با توجه به نسبت کلروفیل a به کلروفیل b (۲/۲۶) می‌توان دریافت که این یافته‌ها با آنچه که در گیاهان عالی وجود دارد مطابقت داشته و شباهت فوق‌العاده سیستم فتوسنتزی جلبکها و گیاهان عالی را نشان می‌دهد (Rogers & Gallon , 1988).

در خصوص قندها F<sub>۰</sub> بدست آمده معرف معنی‌دار بودن اثر نور بر قندهای محلول، بعنوان یکی از فاکتورهای نشان‌دهنده رشد می‌باشد. در میان تیمارهای روشنایی بیشترین غلظت قندهای محلول (مربوط به تیمار ۴۰۰۰ لوکس) حدود  $4/8 \pm 3$  میکوگرم در سینوبیوم بود. این رقم نسبت به بیشترین غلظت نشاسته ( $33/5 \pm 4$  میکوگرم در سینوبیوم) نشان دهنده میزان قابل ملاحظه نشاسته نسبت به قندهای محلول می‌باشد. این میزان با توجه به سن جلبک در هنگام آزمایش قابل قبول است. زیرا قندهای محلول در طی



رشد جلبک به صورت نشاسته در درون کلروپلاست ذخیره می‌گردند. این مسئله با آنچه که در گیاهان عالی اتفاق می‌افتد مطابقت می‌نماید (Lawlor, D.W., 1987).

نتایج بدست آمده میانگین غلظت کاروتن را  $1/33$  میکوگرم در سینویوم نشان داد. همچنین حداکثر غلظت کاروتن در شدت روشنایی  $4500$  لوکس مشاهده شد. در خصوص گزارتوفیل‌ها هم این شدت روشنایی بیشینه تاثیر را گذارده است.

آزمایشات نشان داد که نور اثر معنی‌داری بر روی مقدار پروتئین کل گذارده است. به نظر می‌رسد که نور از طریق تاثیر در جریان فتوسنتز، بر روی سنتز پروتئین، قندهای محلول و نشاسته اثر می‌گذارد. انرژی نورانی برای احیای نیترات به  $NH_3$  که در سنتز اسیدهای آمینه و پروتئین بکار می‌رود، ضروری است و در جریان جذب فتوسنتزی نیتروژن، اسید دی‌کربوکسیلیک و  $\alpha$  کتو گلو تارات که اسکلت کربنی برای سنتز اسیدهای آمینه است، بوجود می‌آید.

نور همچنین به طور مستقیم بر روی سنتز کلروفیلها و کاروتنوئیدها دخالت می‌کند. لذا به طور طبیعی تغییر در شدت نور می‌تواند میزان تولید فرآورده‌های فتوسنتزی را تغییر دهد.

## تشکر و قدردانی

نگارنده بر خود لازم می‌داند که از آقای دکتر خاوری نژاد بواسطه راهنماییهای فراوانشان و نیز آقای دکتر حسین ریاحی بواسطه مشاوره آزمایشات، آقای شادمان شکروی و خانم فرزانه نجفی برای همکاریهای صمیمانه‌شان تشکر کند. همچنین همکاریهای دانشگاههای تربیت معلم (آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی) و شهید بهشتی (آزمایشگاه جلبک شناسی) قابل تقدیر می‌باشد.

## منابع

- Bold, H.C. & Wynne, M.G. , 1985.** Introduction to the algae. Prentice - Hall Inc.
- Hegewald, E. , 1973.** Algae of laguna yarinacoha, purcallpa, with special refrence *Scenedesmus denticulatus* var. Linearis, Algological studies p.450-481
- Hegewald, E. , 1979.** Comparative studies of herbarium specimens and fresh material of *Scenedesmus*, Arch. Hydrobiol. Suppl. 56, 264-286
- Hegewald, E. , 1980.** New results in the systematics and nomenclature of *Scenedesmus*, Taxonomy of algae, MADRAS



- Hegewald, E. , 1988.** Beitrag zur taxomie der gattung *Scenedesmus* subgenus *Scenedesmus* (Chlorophyceae), Nova Hedwigia 47(3-4), 497-533
- Hegewald, E. , 1989.** The *Scenedesmus* isolates of CHODATI.S.Jovis R.CHOD ; Arch. Hydrobiol. Suppl., 82 (4), 401-407
- Hindak, F. , 1990.** Studies on the Cholorococcal algae (Chlorophyceae). House of the Slovak Academy of Science
- Hoffman, B. & Senger, H. , 1988.** Kinetics of photosynthetic apparatus adaptation in *Scenedesmus obliquus* to change in irradiance and liquor quality, 47 (s), 737-739
- Lawlor, D.W. , 1987.** Photosynthesis, metabolisem, control and physiology. Longman Scientific & Technical
- Lowry, O.H. ; Rosebrough, A.L. ; Farr, R.J. ; Randall, N.J. , 1951.** Protein meserment with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265-275
- Morris, I. , 1980.** The physiolgycal ecology of phytoplankton. Blackwell Scientific Publication
- Prescott, G.W. , 1962.** Algae of the western great lake areas; W.M.C. Brown Company Publication
- Rhee, G.Y & Gotham, G.Y. , 1981.** The effect of environmental factors on phytoplankton growth, light and the interactions of light with nitrate limnitation. Limnol. Oceanogy., 26 (4), 646-649
- Rogers, L.J. ; Gallon, J.R. , 1988.** Biochemistry of the algae and cyanobacteria. Oxford Scientific Publication
- Stauffer, R.E ; Lee, G.F. & Armstrong, D.E. , 1979.** Stimating cholorophyll extraction biasis. J. Fish. Res. Board. Can 36, 152-157
- Wellburn, F.A.M. ; Wellburn, A.R. & Senger, H. , 1980.** Changes in ultra structure and photosythetic capasity whitin *Scenedesmus obliquus* mutan C-2A, C-6D and C-6E on transpher from dark grown to illuminated conditions. Protoplasma, 193, 35-54