دانشگاه تربیت معلم

دانشکده علوم _گروه زیست شناسی

پایان نامه کارشناسی ارشد علوم گیاهی _ فیزیولوژی گیاهی

بررسی اثرات نفت خام بررشد، فتوسنتز و فعالیت آنزیم نیتروژناز در سیانوباکتری *Anabaena* sp. ISC55

اساتید راهنما

خانم دکتر فرزانه نجفی

خانم دکتر ندا سلطانی

استاد مشاور

آقای دکتر رمضانعلی خاوری نژاد

دانشجو

ثمره بابایی

۱۳۹۰

فهرست

عنوان	صفحه
فصل اول : مقدمه	۱
۱-۱- جلبک ها	۲
۱-۲- رده بندی جلبک ها	۳
۱-۳- پراکنش جلبک ها	۵
۱-٤- رده ی Cyanophycaeae	٦
۱-۵- ویژگی راسته ی Nostocales	۸
۱-٦- ویژگی جنس *Anabaena* sp.	۹
۱-۷- ساختار سیانوباکتری ها	۱۰
۱-۷-۱- دیواره ی سلولی و حرکت کردن سیانوباکتری ها	۱۰
۱-۷-۲- پیلی	۱۱
۱-۷-۳- غلاف	۱۲
۱-۷-٤- ساختار پروتوپلاسمی	۱۲
۱-۷-۵- رنگیزه ها و فتوسنتز	۱۲
۱-۷-٦- آکاینت	۱٤
۱-۷-۷- هتروسیست	۱٦
۱-۷-۷-۱- تثبیت نیتروژن	۱۷

۱-۸- نفت خام ۱۸

۱-۹- آلودگی نفت خام ۱۹

۱-۱۰- سیانوباکتری ها و آلودگی نفتی ۲۰

۱-۱۱- زیست پالایی ۲۳

فصل دوم : مواد و روش ها **۲۸**

۲-۱- دستگاه ها و تجهیزات مورد استفاده ۲۹

۲-۲- مواد شیمیایی مورد استفاده و محیط کشت ۲۹

۲-۳- تهیه نمونه ۳۱

۲-٤- خالص سازی ۳۱

۲-۵- انتقال به محیط مایع ۳۲

۲-٦- گرماگذاری (انکوباسیون) ۳۲

۲-۷- اتاق کشت ۳۳

۲-۸- تیماردهی سیانوباکتری ۳٤

۲-۸-۱- ازدیاد سیانوباکتری ۳٤

۲-۸-۲- تهیه محیط کشت برای اعمال تیمار ۳٤

۲-۸-۳- آماده کردن عامل تیمار ۳٤

۲-۸-٤- آماده سازی تیمارها ۳٤

۲-۸-۵- تلقیح سیانوباکتری *Anabaena* sp. ۳٤

۲-۸-٦- نگهداری از تیمارها ۳٤

۲-۹- سنجش های فیزیولوژیک برای بررسی اثر نفت خام بر سیانوباکتری *Anabaena* sp. ۳۵

۲-۹-۱- اندازه گیری وزن خشک ۳۵

۲-۹-۲- سنجش کلروفیل ۳۵

۲-۹-۳- سنجش بیلی پروتئین ها ۳٦

۲-۹-٤- سنجش فعالیت فتوسنتز ۳۷

۲-۹-۵- سنجش فعالیت آنزیم نیتروژناز ۳۷

۲-۱۰- سنجش توانایی سیانوباکتری*Anabaena* sp. ISC55 در تجزیه ی نفت خام ۳۸

۲-۱۰-۱- تهیه محیط کشت ۳۸

۲-۱۰-۲- آماده سازی تیمارها ۳۸

۲-۱۰-۳- تلقیح سیانو باکتری ها ۳۸

۲-۱۰-٤- نگهداری از تیمارها ۳۹

۲-۱۰-۵- روش گراویمتری ۳۹

۲-۱۰-٦- آنالیز GC ٤۲

۲-۱۰-٦-۱- مراحل آماده سازی نمونه جهت تزریق به دستگاه ٤۲

۲-۱۰-٦-۲- مشخصات دستگاه GC ٤۲

۲-۱۱- آنالیز های آماری ٤۳

فصل سوم : نتایج **٤٤**

۳-۱خالص سازی و کشت سیانو باکتری *Anabaena* sp. ISC55 ٤٥

۳-۲ تاثیر نفت خام بر پاسخ های فیزیولوژیک سیانوباکتری *Anabaena* sp. ISC55 ٤٦

۳-۳- میزان نفت خام تجزیه شده توسط سیانوباکتری *Anabaena* sp. ISC55 ٦٤

فصل چهارم : بحث و نتیجه گیری **٦٨**

پیشنهادات ۷۵

فصل پنجم : منابع **۷٦**

چکیده انگلیسی ۸٤

پیوست

چکیده

افزایش روزافزون آلودگی های نفتی و تاثیرات مخرب آن بر اکوسیستم ها منجر به استفاده از میکروارگانیسم ها از جمله سیانوباکتری ها به منظور تجزیه ی این آلودگی ها شده است. در این پژوهش اثر نفت خام بر پاسخ های فیزیولوژیک سیانوباکتری *Anabaena* sp. ISC55 و توانایی این سیانوباکتری در تجزیه زیستی نفت خام بررسی شده است. به منظور انجام سنجش های فیزیولوژیک، پس از انجام مراحل خالص سازی توسط روش پلیت آگار و ازدیاد سیانوباکتری توسط انتقال آن به محیط کشت مایع $BG11_0$ ، نفت خام در غلظت های، ۰/۵، ۱، ۲/۵، ۵ و ٦٪ به محیط کشت افزوده شد. میزان رشد سیانویاکتری به وسیله ی سنجش میزان وزن خشک بررسی شد. محتوای کلروفیل با اندازگیری جذب نوری عصاره ی متانولی در ٦٦٥ نانومتر به دست آمد. انداز ه گیری فعالیت فتوسنتزی با دستگاه Oxyview انجام شد. میزان فعالیت نیتروژنازی با استفاده از گاز کروماتوگرافی انداز ه گیری شد. میزان رنگیزه های فیکوبیلی پروتئینی با وارد کردن شوک اسمزی به سلول ها و اندازه گیری جذب نوری سوسپانسیون جلبکی بررسی شد. به منظور بررسی توانایی تجزیه ی نفت خام از دو روش وزن سنجی و گازکروماتوگرافی استفاده شد.

نتایج نشان داد وزن خشک این سیانوباکتری با افزایش غلظت نفت خام افزایش یافته است. تغییرات میزان رنگیزه ها روند معکوسی با افزایش غلظت نفت خام نشان داده است. کاهش در فعالیت فتوسنتزی هم با افزایش غلظت نفت خام مشاهده شده است. نتایج گازکروماتوگرافی نشان داد که فعالیت نیتروژنازی این سیانوباکتری متوقف شده است. می توان نتیجه گرفت که نفت خام در غلظت های بالا برای این سیانوباکتری سمی بوده و مانع از انجام فعالیت های فیزیولوژیکی آن شده است. نتایج گراویمتری و GC نشان داد میزان نفت خام در روز ۲۸ کاهش چشمگیری نسبت به نمونه ی شاهد داشته است. بر اساس این داده ها سیانوباکتری *Anabaena* sp. ISC55 قابلیت بالایی در تجزیه ی نفت خام دارد.

کلمات کلیدی : آنالیز GC، رنگیزه های فتوسنتزی، زیست پالایی، سیانوباکتری *آنابنا*، گراویمتری، نیتروژناز.

فصل اول

مقدمه

۱-۱- جلبک ها

نام جلبک فاقد اساس تاکسونومیکی است و به طور کلی برای نشان دادن میکروارگانیسم هایی که پلی فیلتیک (موجودات زنده ای که منشا مشترکی ندارند ولی خطوط تکاملی مستقل و متعددی را دنبال می کنند) و فتوسنتز کننده هستند، استفاده می شود. گیاهان و جلبک ها مواد ذخیره ای یکسانی تولید می کنند، از استراتژی های مشابهی علیه انگل ها استفاده می کنند ، همچنین شباهت های مورفولو ژیکی بسیار زیادی بین گیاهان و جلبک ها وجود دارد ولی با این وجود، تفاوت های میان آن ها بیش از شباهت هایشان است. گیاهان با دارا بودن ریشه، برگ، ساقه و شبکه ی آوندی چوب و آبکش درجات بالایی از تمایز یافتگی را نشان می دهند، همچنین اندام های تولید مثلی آن ها توسط پوششی از سلول های نازا احاطه شده است. گیاهان دارای مرحله ی جنینی چند سلولی دیپلوئید هستند که جنین آنها از لحاظ تغذیه و نمو برای مدت طولانی به گامتوفیت والد خود وابسته می ماند، به همین دلیل است که به گیاهان آمبریوفیت هم گفته می شود. گیاهان در انتهای ریشه و ساقه ی خود دارای مریستم هایی هستند که بافت هایی با اشکال متفاوت را تولید می کنند. به علاوه در چرخه ی زندگی گیاهان یک انتقال بین گامتوفیت هاپلوئید و اسپروفیت دیپلوئید صورت می گیرد. جلبک ها هیچ یک از این ویژگی ها را ندارند، آنها فاقد ریشه، ساقه، برگ و بافت های آوندی تمایز یافته هستند، جلبک ها جنین تشکیل نمی دهند و ساختار تولید مثلی آنها شامل سلول هایی است که پتانسیل بارور شدن دارند ولی فاقد سلول های نازا محافظت کننده هستند. جلبک ها در اشکالی که شباهتی بهم ندارند ایجاد می شوند از قبیل تک سلولی میکروسکوپی، چند سلولی ماکروسکوپی، توده ها، کلنی های منشعب و همچنین می توانند در فرم های پیچیده تری موجود باشند که در تضاد کامل با سیستم آوندی یک شکلی در گیاهان است. فشارهای محیطی مشابه منجر به ایجاد تکامل همسو در گیاهان و جلبک ها شده است. گذار از محیط با ثبات آبی به محیطی سرشار از انفجارات گازی و شرایط جدید فیزیکی ایجاد شده در کره ی زمین باعث تغییرات فیزیولوژیکی و ساختاری شد که این در نهایت منجر به جدایی جلبک ها از گیاهان شده است.

گوناگونی در اندازه ی جلبک ها از فیتوپلانکتون های ۲-۰/۲ میکرومتری تا کلپ های عظیم ۶۰ متری است. اکولوژی محل زندگی، ساختار سلولی، میزان سازمان یافتگی و مورفولوژی، رنگیزه ها و فتوسنتز،

مواد ذخیره ای و پلی ساکارید های ساختاری منشا های متفاوت تکاملی از این موجودات را نشان می دهند که شامل گونه های پروکاریوتی و یوکاریوتی هستند. واژه ی جلبک هم به درشت جلبک ها اشاره دارد و هم به گروه بسیار متنوعی از میکروارگانیسم ها که با نام ریز جلبک شناخته می شوند. شمار گونه های جلبکی بین ۱ تا ۱۰ میلیارد گونه تخمین زده شده است که بیشتر آنها را ریز جل بک ها تشکیل می ده د (Barsanti and Gualtieri , 2006).

۲-۱- رده بندی جلبک ها

در مورد جلبک ها یک سیستم رده بندی که مورد قبول همگان باشد موجود نیست چون تاکسونومی به دلیل یافته های ژنتیکی و فراساختاری جدید به سرعت در حال تغییر است. باید در نظر داشت که طبیعت پلی فیلتیک جلبک ها با گروه بندی تاکسونومیکی سنتی در تضاد است با این حال آن گروه بندی ها هنوز برای تعریف خصوصیات عمومی و درجه ی سازمان یافتگی قابل استفاده هستند. رده بندی ارائه شده در اینجا بر پایه ی رده بندی های Van den Hoek *et al*., 1995 است و با رده بندی های Bold and Wynne ,1978; Margulis *et al*., 1990; Graham and Wilcox ,2000 و South and Whittick ,1987 مقایسه شده است. همانطور که در جدول ۱-۱ قابل مشاهده است اعضای پروکاریوتی این دسته بندی در دو گروه دسته بندی شده اند در حالی که اعضای یوکاریوتی به ۹ گروه دسته بندی شده اند.

جدول ۱-۱- رده بندی گروه های مختلف جلبک ها(Barsanti and Gualtieri , 2006)..

Kingdom	Division	Class
Prokaryote eubacteria	Cyanophyta Prochlorophyta	Cyanophyceae Prochlorophyceae
	Glaucophyta	Glaucophyceae
	Rhodophyta	Bangiophyceae
		Florideophyceae
	Heterokontophyta	Chrysophyceae
		Xanthophyceae
		Eustigmatophyceae
		Bacillariophyceae
		Raphidophyceae
		Dictyochophyceae
		Phaeophyceae
	Haptophyta	Haptophyceae
	Cryptophyta	Cryptophyceae
	Dinophyta	Dinophyceae
	Euglenophyta	Euglenophyceae
	Chlorarachniophyta	Chlorarachniophyceae
	Chlorophyta	Prasinophyceae
		Chlorophyceae
		Ulvophyceae
		Cladophorophyceae
		Bryopsidophyceae
		Zygnematophyceae
		Trentepohliophyceae
		Klebsormidiophyceae
		Charophyceae
		Dasycladophyceae

۳-۱- پراکنش جلبک ها

جلبک ها می توانند در خشکی و در آبها زندگی کنند. جلبک های آبزی تقریبا در تمام انواع آبها از چشمه های آب شیرین تا دریاچه های نمکی یافت می شوند ، که تحمل بالایی به دامنه ی وسیعی از تغییرات pH، دما و غلظت های O_2 و CO_2 دارند. آنها می توانند پلانکتونی باشند مانند اکثر گونه های تک سلولی که در تمام آبها می توانند زندگی کنند ، حتی زیر یخ ها در مناطق قطبی. همچنین جلبک ها می توانند کف زی باشند که با توجه به‌محلی که در آن زندگی و رشد می کنند گروه بندی می شوند: اپی لیتیک جلبک های کف زی متصل به سنگ ها ، اپی پلیک جلبک های کف زی شن و ماسه ، اپی فیتیک جلبک های کف زی متصل به سایر گیاهان و جلبک ها و اپی زوئیک جلبک های متصل به جانوران.

اقیانوس ها که ۷۱٪ از سطح زمین را پوشانده اند ، حاوی بیش از ۵۰۰۰ گونه ریز جلبک پلانکتونی هستند. فیتوپلانکتونها که اساس چرخه های غذایی دریا را تشکیل می دهند در برخی موارد می توانند مرگ آور هم باشند مانند زمانی که جمعیت این جلبک ها در پاسخ به آلودگی ها از قبیل نیتروژن و فسفات افزایش یابد. بلوم جلبکی حاصل شده شفافیت آب را کاهش می دهد و منجر به مرگ سایر ارگانیسم های فتوسنتز کننده می شود. جلبک ها به دلیل تولید سموم مسئول مرگ بسیاری از ماهی ها و پرندگان شناخته شده اند.

جلبک ها می توانند هم زیستی های موثری با سایر موجودات زنده داشته باشند. آنها با قارچ ها زندگی می کنند و گل سنگ ها را شکل می دهند و یا درون سلول های reef-building زندگی می کنند، در هر دو مورد جلبک ها اکسیژن و مواد مغذی پیچیده را برای موجود دیگر تامین می کنند و در عوض محافظت و مواد مغذی ساده را از او دریافت می کنند. به این ترتیب هر دو موجود می توانند در شرایطی که هر یک به تنهایی نمی توانند آن را تحمل کنند، زندگی کنند.

جدول ۱-۲- زیستگاه های گروه های مختلف جلبکی(Barsanti and Gualtieri , 2006)..

Division	Common Name	Habitat			
		Marine	Freshwater	Terrestrial	Symbiotic
Cyanophyta	Blue-green algae	Yes	Yes	Yes	Yes
Prochlorophyta	n.a.	Yes	n.d.	n.d.	Yes
Glaucophyta	n.a.	n.d.	Yes	Yes	Yes
Rhodophyta	Red algae	Yes	Yes	Yes	Yes
Heterokontophyta	Golden algae Yellow-green algae Diatoms Brown algae	Yes	Yes	Yes	Yes
Haptophyta	Coccolithophorids	Yes	Yes	Yes	Yes
Cryptophyta	Cryptomonads	Yes	Yes	n.d.	Yes
Chlorarachniophyta	n.a.	Yes	n.d.	n.d.	Yes
Dinophyta	Dinoflagellates	Yes	Yes	n.d.	Yes
Euglenophyta	Euglenoids	Yes	Yes	Yes	Yes
Chlorophyta	Green algae	Yes	Yes	Yes	Yes

Note: n.a., not available; n.d., not detected.

بسیاری از جلبک ها سلول هایی منفرد هستند که بسته به دارا بودن تاژک می توانند ثابت یا متحرک باشند. سایر جلبک ها به صورت تجمعی از تعداد بی شماری از سلول های منفرد هستند که کنار هم قرار گرفته اند و الگویی منظم و سازمان یافته دارند، به این الگو کلنی گفته می شود . در این مدل از تجمع ، تعداد سلول ها بی شمار است، رشد از طریق تقسیم سلولی و محتویات آن رخ می دهد و هر سلول به تنهایی زندگی می کند.

در طول تاریخ گروه های اصلی جلبک ها به دستجاتی که معادل تاکسون در کد های جانور شناسی است به نام شاخه دسته بندی شده اند. این تقسیم بندی بر پایه ی رنگیزه ها، ماهیت شیمیایی مواد حاصل از فتوسنتز، سازمانبندی غشای فتوسنتزی (تیلاکوئید ها) و سایر ویژگی های کلروپلاست، خصوصیات شیمیایی و ساختار دیواره ی سلولی، تعداد و ترتیب فراساختار تاژک و چرخه ی جنسی صورت گرفته است (Barasanti and Gualtieri ,2006).

۱-٤- رده ی Cyanophycaeae

سیانوفیسه ها یا جلبک های سبز آبی امروزه به سیانوباکتری ها اطلاق می شو ند. عبارت سیانوباکتری نشان می دهد که این جلبک های پروکاریوتی بیشتر ب ه باکتری ها که پروکاریوت هستند شباهت دارند تا بـه

جلبک های یوکاریوتی. گزارشات حاصل از مطالعه ی فسیل ها بیان می کند که عمر سیانوباکتری ها به ۳/۵ میلیارد سال پیش می رسد ولی بر پایه ی سایر گزارشات عمر آنها ۲/۷ میلیارد سال تخمین زده شده است (Buick,1992; Brasier *et al*., 2002 ; Dalton, 2002) .

در سیانوباکتری ها کلروفیل a (در برخی از آنها کلروفیل های b یا d هم وجود دارد) و گلیکوژن به عنوان ماده ی ذخیره ای موجود است و دیواره ی سلولی آنها دارای قند های آمینی و آمینواسیدهاست. زمانی از وجود کلروفیل b در سیانوباکتری برای طبقه بندی آنها و قرار دادن آنها در گروهی جدا با نام Prochlorophyta استفاده می شد. پس از مطالعات انجام شده بر روی توالی نوکلئیک اسید مشخص شد که کلروفیل همراه با سیانوباکتری تکامل یافته است و این نوع گروه بندی منسوخ اعلام شد (Palenik and Haselkorn , 1992; Urback *et al*. ,1992).

مورفولوژی سیانوباکتری ها عبارت است از تک سلولی بودن، آزادزی بودن یا زندگی در کنار هم به همراه یک پوشش موسیلاژی. تکامل موجب شکل گیری ردیفی از سلول ها به نام ریسه در سیانوباکتری ها شد . هنگامی که ریسه توسط غلاف احاطه شود به آن فیلامنت گفته می شود و ممکن است در هر فیلامنت چندین ریسه وجود داشته باشد.

گروهی از خصوصیات راسته های سیانوباکتری ها که توسط Castenholz and Waterbury 1989 مرتب شده اند در جدول ۱-۳ آورده شده است(Whitton and Potts , 2000).

جدول ۱-۳- خصوصیات راسته های سیانوباکتری ها(Whitton and Potts , 2000).

ریسه ای	غیر ریسه ای
Order Oscillatoriales تقسیم دوتایی در یک جهت موجب ایجاد ریسه می شود، ریسه ها معمولا هتروسیست ایجاد نمی کنند، در هیچ موردی در این جلبک ها آکاینت دیده نشده است.	**Order Chroococcales** تک سلولی، سلول ها توسط دیواره ی خارجی یا با ماتریکس ژل مانند کنار هم قرار گرفته اند، تولید مثل از طریق تقسیم دوتایی از یک یا دو یا ۳ جهت بصورت متقارن یا نامتقارن انجام می شود یا از طریق جوانه زنی، آکاینت در این سیانوباکتری ها کمیاب است.
Order Nostocales تقسیم دوتایی در یک جهت موجب ایجاد ریسه می شود، زمانی که غلظت نیتروژن در محیط کم باشد در هر ریسه یک یا دو سلول تمایز می یابند و به هتروسیست تبدیل می شوند، برخی از آنها آکاینت تولید می کنند.	**Order Pleurocapsales** تک سلولی، سلول ها توسط دیواره ی خارجی یا با ماتریکس ژل مانند کنار هم قرار گرفته اند، تکثیر از طریق تقسیم دوتایی درونی با تولید سلول های دختر کوچکتر از سلول های مادر انجام می شود یا از راه ترکیب کردن تقسیم های دوتایی و چندتایی، معمولا آکاینت در آنها دیده نمی شود.
Order Stigonematales تقسیم دوتایی معمولا در بیش از یک جهت رخ می دهد سلول ها رشد می کنند و ریسه ها را ایجاد می کنند. تقریبا همیشه توانایی تولید هتروسیست را دارند، برخی از آنها دارای آکاینت هستند.	

۱-۵- ویژگی راسته ی Nostocales

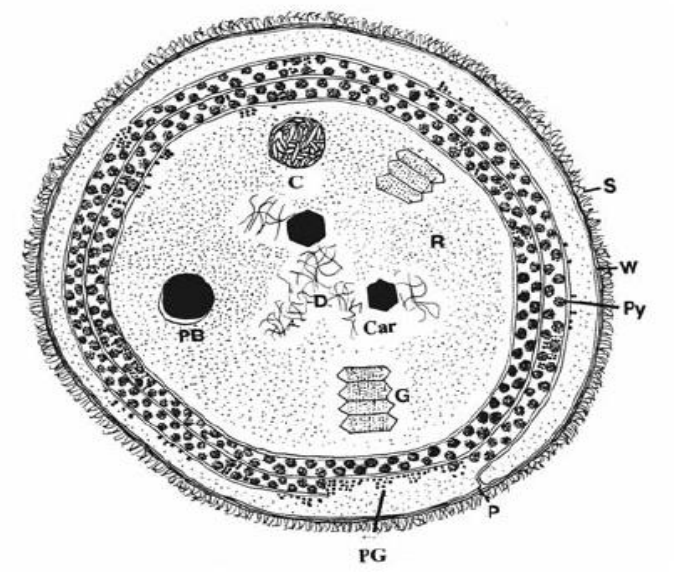
سیانوباکتری هایی که در این راسته قرار دارند از قبیل *Nostoc, Anabaena* و *Aulosira* دارای هتروسیست هستند. متداولترین روش تکثیر آنها از طریق هورموگونیوم است. در برخی از جنس ها قطبیت وجود دارد به این ترتیب که هتروسیست ها و آکاینت ها در پایه و یک تار بی رنگ در را س فیلامنت قرار دارد، این تار منشا ریسه است. قطبیت تالوس تحت شرایط کمبود نیتروژن رخ می دهد زمانی که این جلبک ها در محیط کشت حاوی ترکیبات نیتروژن دار مانند NH_4 یا NO_3^- رشد کنند هتروسیست ها شکل نمی گیرند(Lee, 2008) .

۱-٦- ویژگی جنس *Anabaena* sp.

اعضای این جنس زیر میکروسکوپ به خوبی قابل تشخیص هستند، دارای ریسه های بدون انشعاب هستند و به شکل کلنی های مجتمع دیده می شوند . اغلب دارای هتروسیست های میانی می باشند. در اکثر سویه ها هتروسیست تنها تحت شرایط محدود نیتروژن تشکیل می شوند (John *et al*., 2003).

تصویر۱-۱- تصویر میکروسکوپی سیانوباکتری*Anabaena* sp. ISC55 (تهیه شده در پژوهشکده علوم پایه کاربردی، ۱۳۸۹)

۱-۷- ساختار سیانوباکتری ها



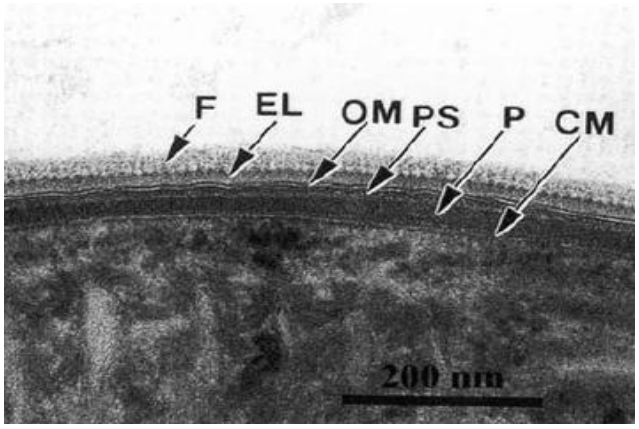
تصویر ۱-۲- طرحی از اجزای ساختاری سلول سیانوباکتری(Lee, 2008).

(C) اجسام سیانوفیسین،(Car) کربوکسیزوم، (D) DNA، (G) واکوئل گازی، (P) پلاسمالم، (PB) اجسام پلی فسفات،(PG) گرانول های پلی گلوکان،(Py) فیکوبیلی زوم،(R) ریبوزوم، (S) صفحات، (W) دیواره.

۱-۷-۱- دیواره ی سلولی و حرکت کردن سیانوباکتری ها

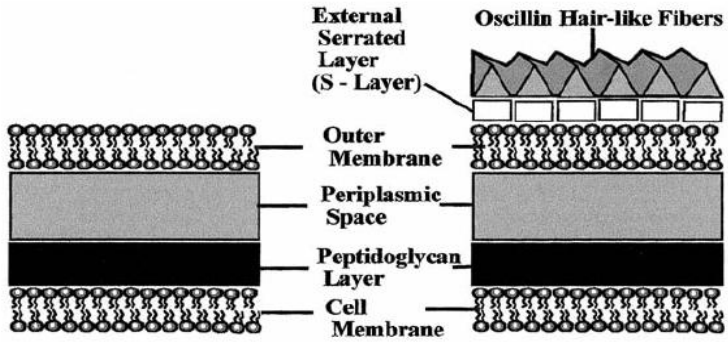
دیواره ی سلولی سیانوباکتری ها اساسا مشابه دیواره ی سلولی باکتری های گرم منفی است. یک لایه ی پپتیدوگلیکانی روی دیواره ی سلولی قرار دارد، پپتیدوگلیکان پلی مری متشکل از دو قند N استیل گلوکزآمین و N استیل مورامیک اسید است. برخی از سیانوباکتری ها قادر به سر خوردن هستند که حرکت فعال یک موجود زنده بر سطح جامد است در حالی که اندام خاصی مسئول این حرکت نیست و تغییر قابل تشخیصی در شکل موجود زنده ایجاد نمی شود. دیواره ی سلولی باکتری هایی که قادر به انجام این نوع حرکت هستند یک لایه ی خارجی افزون بر سایر لایه ها دارند که متشکل از S-layer (Serrated external layer) و فیبر مو مانند است که

در خارجی ترین لایه ی دیواره ی سلولی تشکیل می شوند. فیبر مو مانند از یک نوع گلیکوپروتئین به نام Oscillin ساخته شده است(Hoiczyk , 2000) .



تصویر۱-۳- بخش های گوناگون دیواره ی سلولی سیانوباکتری*Phormidium uncinatum* ، تهیه شده توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره.

دیواره ی سلولی (CW) دارای لایه هایی مشابه با دیواره ی سلولی باکتری های گرم منفی است از قبیل غشای سیتوپلاسمی(CM)، لایه ی پپتیدوگلیکانی (P)، فضای پری پلاسمی (PS) و غشای خارجی ، به علاوه سیانوباکتری ها دارای دو لایه ی خارجی(EL) هستند که مختص سلول های متحرک است و همچنین فیبرهای مو مانند(F) (Hoiczyk and Baumeister, 1995).



تصویر ۱-٤- بخش های دیواره ی سلولی سیانوباکتری ها(Hoiczyk and Baumeister, 1995).

۱-۷-۲- پیلی

سلول سیانوباکتری توسط لایه ی نازکی از پیلی ها با قطر متوسط ۳-٤ نانومتر و به طول ۱ میکرومتر پوشیده می شود، همچنین سلول ها دارای نوع ضخیم تری از پیلی ها هم هستند که قابلیت ارتجاعی دارند و قطرشان

۸-٦ نانومتر و به طول ٥-٤ میکرومتر هستند که اتصالاتی بین سیانوباکتری و سایر سلول ها ایجاد می کنند. هر پیلی از ٥٠٠ تا ١٠٠٠ واحد پلی پپتید پیلین تشکیل شده است، هر واحد پیلین بین ١٤٥ تا ١٧٠ آمینواسید دارد (Bhaya *et al.* , 1999).

١-٧-٣- غلاف

غلاف (کپسول یا ماده ی پلی مری خارج سلولی) از موسیلاژ و مقدار کمی سلولز ساخته شده است و معمولا در سیانوباکتری ها دیده می شود، غلاف سلولی از سیانوباکتری در مقابل خشکی محافظت می کند (Nobles *et al.* , 2001).

١-٧-٤- ساختار پروتوپلاسمی

ساختار پروتوپلاسمی در سیانوباکتری ها وجود دارد. در مرکز پروتوپلاسم DNA حلقوی قرار دارد که به پروتئین های هیستون متصل نیستند . پروتوپلاسم محیطی از تیلاکوئیدها، فیکوبیلی زوم ها و گرانول های گلیکوژن ساخته شده است. ریبوزوم های S ٧٠ در سلول سیانوباکتری پراکنده هستند ولی در منطقه ی مرکزی اطراف نوکلئوپلاسم بیشترین تراکم را دارد (Allen, 1984).

١-٧-٥- رنگیزه ها و فتوسنتز

اجزای غالب فتوسنتز در سیانوباکتری ها کلروفیل *a* واقع در غشای تیلاکوئید و فیکوبیلی پروتئین ها هستند که کروموپروتئین های محلول در آب اند و به ماکرومولکول های فیکوبیلی زوم که روی سطح خارجی غشای تیلاکوئید قرار دارند متصل اند. برخی از سیانوباکتری ها کلروفیل *b* دارند و سیانوباکتری *Acroryochloris* دارای کلروفیل *d* است. طول موجی که کلروفیل *d* جذب می کند طول موج های ناحیه ی زیر قرمز است و این نوع از سیانوباکتری در محیط هایی وجود دارد که این طول موج فراوان باشد.

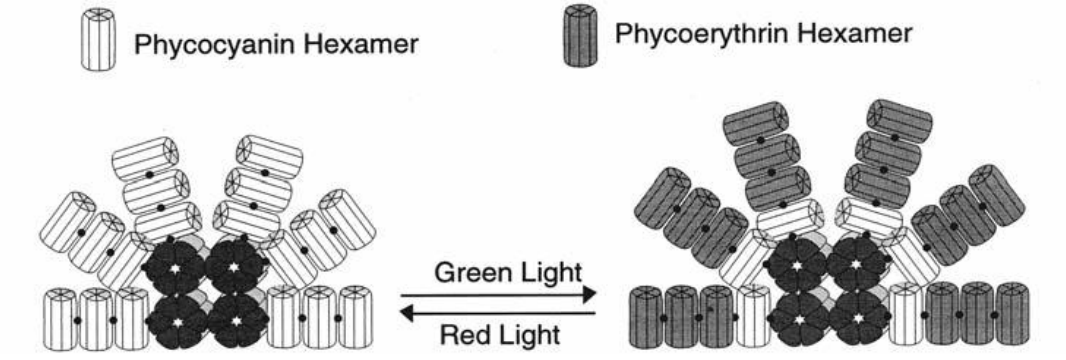
Cyanophceae ها ٤ نوع فیکوبیلی پروتئین دارند: C-Phycocyanin (حداکثر طول موج جذبی ٦٢٠ نانومتر)، C-Allophycocyanin (حداکثر طول موج جذبی ٦٥٠ نانومتر)، C-Phycoerythrin (حداکثر طول موج جذبی ٥٦٥ نانومتر) و C-Phycoerythrocyanin (حداکثر طول موج جذبی ٥٦٨ نانومتر). ٢ نوع اول از فیکوبیلی

پروتئین ها در تمام سیانوباکتری ها موجود اند ولی C-Phycoerythrin و C-Phycoerythrocyanin تنها در برخی از گونه ها مشاهده می شوند.

phycoerythrin ($\lambda_{max} = 565$) or phycoerythrocyanin ($\lambda_{max} = 568$) → phycocyanin ($\lambda_{max} = 620–638$) → allophycocyanin ($\lambda_{max} = 650$) → allophycocyanin B ($\lambda_{max} = 670$) or high-molecular-weight polypeptide ($\lambda_{max} = 665$) → chlorophyll *a*

تصویر ۱-۵- ترتیب رنگیزه های فیکوبیلی پروتئینی از لحاظ طول موج(Lee, 2008).

غلظت فیکوبیلی پروتئین های سیانوباکتری ها در پاسخ به کیفیت نور و شرایط رشد تغییر می کند. سیانوباکتری هایی که فیکواریترین قرمز و فیکوسیانین آبی در نور سفید تولید می کنند سنتز فیکواریترین در نور قرمز و سنتز فیکوسیانین در نور سبز را سرکوب می کنند.



تصویر ۱-٦- تطایق رنگیزه ها در فیکوبیلی زوم سیانوباکتری(Grossman *et al*., 1993).

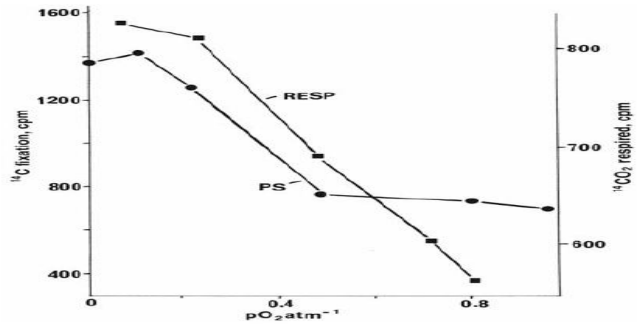
بسیاری از سیانوباکتری ها در شرایط هوازی و بی هوازی قادر به فتوسنتز هستند. در شرایط هوازی الکترونهای فتوسیستم I توسط فتوسیستم Π تامین می شود. در شرایط بی هوازی و در حضور سولفور الکترون ها از اکسیداسیون کاهش سولفور تامین می شوند.

$$CO_2 + 2H_2S \longrightarrow (CH_2O) + H_2O + S$$

این نوع سیانوباکتری ها فتواتوتروف اختیاری بی هوازی هستند و جایگاه اکولوژیکی مهمی در زیستگاه های آبی دارند.

زندگی جلبک های یوکاریوتی محدود به زندگی فتو اتوتروفی هوازی است . در حالی که باکتری های فتوسنتز کننده زندگی فتواتوتروفی بی هوازی هم می توانند داشته باشند. در مکانهایی که دارای تعادلی بین هر دو این شرایط است سیانوباکتری ها که فتوسنتز هوازی انتخابی دارند به طور مشخص دارای امتیاز در انتخاب طبیعی هستند.

فتوسنتز در سیانوباکتری ها با کمبود غلظت اکسیژن تحریک می شود. اکسیژن با دی اکسید کربن برای آنزیم ریبولوز بیس فسفات کربوکسیلاز اکسیژناز رقابت می کند . این پدیده نشانگر سازگاری با عدم حضور اکسیژن آزاد دراتمسفر در دوره ی پره کامبرین است، دوره ای که اولین سیانوباکتری ها در آن بوجود آمدند. پس از تکامل اولین سیانوباکتری ها اکسیژن در اتمسفر ساخته شد. در همان زمان بود که لایه ی محافظتی اوزون ایجاد شد که با از بین بردن اشعه های فرابنفش نور خورشید به ایجاد میکروارگانیسم های حساس به اشعه ها کمک کرد. سیانوباکتری ها به اشعه حساس نیستند چون دارای سیستمی هستند که آسیب های ناشی از اشعه را ترمیم می کند (Lee, 2008).



تصویر ۱-۷- تحریک فتوسنتز و تنفس در غلظت پائین اکسیژن اتمسفری در*Anabaena flos-aqua* (Lee, 2008).

۱-۷-٦- آکاینت

آکاینت ها از طریق اندازه ی بزرگشان که مرتبط با رویشی بودن آنهاست و دارا بودن گرانولهایی که غلظت های بالایی از گلیکوژن و سیانوفیسین را دارند شناسایی می شوند (Meeks *et al*., 2002). اصلی ترین ویژگی آکاینت ها مقاومت بالای آنها به سرما در مقایسه با سلول های رویشی است و به همین دلیل با اندوسپورهای باکتری های گرم مثبت مقایسه می شوند. آکاینت ها فقط در سیانوباکتری های هتروسیست دار موجود هستند.