

بررسی رابطه بین تجمع بتاکاروتن و مقاومت به تنش سرما با استفاده از کیتیک

فلوئورسنس کلروفیل *a* در جلبک سبز تک سلولی *Dunaliella*

مرضیه پائیزی^۱، علیرضا عینعلی^۲ و منصور شریعتی^{*۱}

^۱ اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

^۲ زاهدان، دانشگاه سیستان و بلوچستان دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۱۲

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۳

چکیده

بتاکاروتن در شرایط نامناسب رشدی از جمله شدت بالای نور، غلظت‌های بالای نمک، دماهای پایین یا بالا و کمبود نیترات در کلروپلاست گیاهان عالی و جلبک‌های سبز ذخیره شده از دستگاه فتوسنتزی، به‌ویژه فتوسیستم II (PSII) محافظت می‌کند. جلبک سبز تک‌سلولی *Dunaliella* به‌ویژه گونه‌های *D. salina* و *D. bardawil* توانایی ذخیره کردن حجم بالایی از بتاکاروتن را در کلروپلاست خود در شرایط نامناسب دارند. در این تحقیق، برای بررسی نقش بتاکاروتن در مقاومت به تنش سرما در جلبک *Dunaliella*، سوسپانسیون‌های جلبکی از گونه‌های *D. salina* و *D. bardawil* در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ مولار NaCl در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در شش تکرار کشت داده شدند و پس از افزایش میزان بتاکاروتن سلولی و اندازه‌گیری میزان آن، پس از ۲ هفته، نمونه‌ها به دمای صفر درجه سانتیگراد منتقل شده، پس از ۸ ساعت دوباره به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد انتقال یافتند. سپس میزان کیتیک فلوئورسنس کلروفیل *a* نمونه‌ها اندازه‌گیری و شاخص‌های مربوط به آن ارزیابی شد. نتایج نشان داد که میزان بتاکاروتن در *D. bardawil* به‌ویژه در غلظت ۳ مولار نمکی بیشتر از *D. salina* است. همچنین پس از انتقال به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد شاخص‌های F_v/F_o (کارایی کمپلکس تجزیه آب در سمت دهنده فتوسیستم II)، Φ_{P_0} (انتقال الکترون به فئوفیتین و Q_A)، Ψ_o (انتقال الکترون از Q_A به Q_B)، Φ_{E_0} (میزان انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II)، Φ_{R_0} (میزان احیای پذیرنده انتهایی زنجیر انتقال الکترون در سمت پذیرنده الکترون فتوسیستم I) و Φ_{D_0} (میزان اتلاف انرژی) در *D. bardawil* تغییرات کمتری نسبت به *D. salina* در محیط ۳ مولار نمکی از خود نشان دادند. با توجه به نتایج به نظر می‌رسد، در محیط‌های حاوی غلظت بالای نمک، *D. bardawil* هنگامی که از دمای صفر درجه سانتیگراد به ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل می‌شود با کارایی بهتری به حالت طبیعی اولیه باز می‌گردد. در چنین شرایطی *D. bardawil* در قیاس با *D. salina* توانایی بیشتری در تجمع بتاکاروتن و در پی آن حفاظت از مراکز واکنش PSII دارد.

واژه‌های کلیدی: بتاکاروتن، تنش سرما، دونالیلا، فتوسیستم II، کیتیک فلوئورسنس کلروفیل *a*

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۱-۳۷۹۳۲۴۷۲، پست الکترونیکی: mansour_shariati@yahoo.com

مقدمه

دمای پایین، به‌عنوان عاملی تنش‌زا در محیط پیرامون گیاهان، می‌تواند سرعت فرایندهای بیوشیمیایی سلول‌ها را به صورت متفاوتی تحت تأثیر قرار دهد و در نتیجه منجر به ایجاد عدم تعادل در فرایندهای اصلی مسیرهای

متابولیک شود (۲۶). فتوستتوز جزو اولین فرایندهایی است که در گیاهان عالی و جلبک‌های سبز تحت تأثیر دمای پایین قرار می‌گیرد (۹). به علت سرعت بیشتر واکنش‌های فتوشیمیایی اولیه در فتوسیستم II و I نسبت به انتقال

تریپلت و حفظ پایداری کمپلکس‌های رنگیزه-پروتئین در غشا تیلاکوئیدها و یا از طریق جذب نور در شدت‌های بالای نور به‌عنوان یک فیلتر نوری از دستگاه فتوسنتزی به‌ویژه PSII محافظت می‌کند (۱۴، ۲۹). جلبک سبز تک سلولی *Dunaliella* به‌ویژه گونه‌های *D. bardawil* و *D. salina* توانایی ذخیره کردن مقدار قابل توجهی از بتاکاروتن در کلروپلاست خود را در شرایط نامناسب محیطی مانند شدت بالای نور، غلظت‌های بالای نمک (۸)، دماهای پایین یا بالا (۴ و ۵)، کمبود مواد غذایی مانند نیترات و سولفات (۱ و ۲) و همچنین غلظت بالای فلزات سنگین نظیر مس و کادمیوم را دارد (۲۲ و ۲۳). توانایی بتاکاروتن در خاموش‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن باعث شده است که کاربرد آن به‌عنوان آنتی‌اکسیدان برای پیشگیری و مقابله با سرطان‌ها بررسی شود (۶). با توجه به خصوصیات منحصر به فرد جلبک *Dunaliella* در تجمع بتاکاروتن، روش‌های بیوتکنولوژی برای افزایش میزان بتاکاروتن در مقیاس صنعتی در این جلبک طراحی شده است (۱۱ و ۱۲). در حال حاضر، از بتاکاروتن جلبک *Dunaliella* به‌طور گسترده‌ای در صنایع غذایی و دارویی استفاده می‌شود.

با توجه به نقش بتاکاروتن به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان در جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن و حفاظت از رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان و جلبک‌های سبز تحت شرایط نامساعد محیطی و همچنین توانایی جلبک *Dunaliella* در تجمع این رنگیزه در شرایط تنش‌زا، بررسی نقش بتاکاروتن در مقاومت یا عدم مقاومت جلبک *Dunaliella* به تنش سرما و تأثیر آن در حفاظت از PSII جلبک *Dunaliella* تحت این شرایط به‌عنوان هدف این تحقیق در نظر گرفته شد.

مواد و روشها

تهیه سوسپانسیون جلبکی از جلبک *Dunaliella* : گونه‌های *D. bardawil* سویه UTEX 2538 و *D. salina*

الکترون و واکنش‌های بیوشیمیایی فتوسنتز، حضور موجودات فتوسنتزکننده در محدوده‌ای از انرژی نورانی که بیش از نیاز فرایند فتوسنتز است، به عدم تعادل انرژی و به طور کلی بازدارندگی نوری (photoinhibition) منجر می‌شود (۱۳). حساسیت واکنش‌های بیوفیزیکی فتوسنتز نسبت به تنش سرما به‌مراتب کمتر از واکنش‌های بیوشیمیایی است. کلروفیل‌ها جذب فوتون‌های نوری را همچنان در دمای پایین ادامه می‌دهند، در حالی که انتقال انرژی از طریق الکترون‌ها به ترکیبات پذیرنده الکترون با سرعت کافی انجام نمی‌شود (۱۵). همچنین، تنش سرما ظرفیت تثبیت CO₂ را کاهش می‌دهد. در نتیجه دمای پایین، شدت نور بهینه را که برای اشباع فتوسنتز (saturation irradiance) مورد نیاز است، کاهش می‌دهد (۱۶). زمانی که انرژی نورانی به دام افتاده از میزان انرژی لازم برای تبدیل به انرژی شیمیایی بیشتر باشد، فتوسیستم PSII II دستگاه فتوسنتزی آسیب می‌بیند. علاوه بر آن، بازدارندگی نوری ایجاد شده در اثر کاهش دما، به تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن، از طریق احیا مولکول O₂ به سوپراکسید (O₂⁻) یا از طریق انتقال انرژی از کلروفیل تحریک شده سه‌تایی (triplet) به مولکول O₂ و تشکیل مولکول اکسیژن یکتایی منجر می‌شود. تولید گونه‌های فعال اکسیژن در این شرایط، می‌تواند باعث آسیب بیشتر دستگاه فتوسنتزی، به‌ویژه زنجیره انتقال الکترون PSII شود (۱۰ و ۱۳).

موجودات فتوسنتزکننده از جمله گیاهان و جلبک‌های سبز با استفاده از مکانیسم‌های سازشی مانند افزایش تولید و عملکرد آنتی‌اکسیدان‌ها (نظیر آسکوربات، گلوتاتیون و آنزیم سوپر اکسید دسموتاز) به سیستم‌های فتوشیمیایی و بیوشیمیایی خود اجازه تطبیق با شرایط تنش‌زا را می‌دهند (۱۷ و ۱۸). یکی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان، رنگیزه آروماتیک بتاکاروتن است که در شرایط نامناسب رشدی در کلروپلاست گیاهان عالی و جلبک‌های سبز ذخیره شده و از طریق خاموش‌سازی مولکول کلروفیل تحریک شده

اندازه‌گیری کیتیک فلئورسنس کلروفیل a : برای بررسی نقش بتاکاروتن در محافظت از PSII جلبک *D. salina* تحت تنش سرما، عملکرد PSII این جلبک با استفاده از اطلاعات حاصل از کیتیک فلئورسنس کلروفیل a که از نرده‌ی نمونه‌های سازگار شده به تاریکی منتشر می‌شود، ارزیابی شد. به این منظور، نمونه‌برداری از سوسپانسیون‌های جلبکی ۴ ساعت پس از انتقال آنها از دمای صفر درجه به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد، در شرایط کاملاً استریل انجام شد. برای اندازه‌گیری فلئورسنس کلروفیل a ، یک میلی‌لیتر از محلول نمونه‌برداری شده به شیشه مخصوص اندازه‌گیری فلئورسنس منتقل شد و بعد شیشه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شدند. انتشار فلئورسنس کلروفیل a با استفاده از دستگاه Handy PEA (Plant Efficiency Analyser, Hansatech, UK) در یک اتاقک کاملاً تاریک ثبت گردید. اطلاعات اولیه حاصل از کیتیک فلئورسنس (مانند F_0 ، F_M ، F_J)، با استفاده از روش OJIP-test به شاخص‌های بیوفیزیکی (مانند F_v/F_0 ، Φ_{P_0} ، Φ_{E_0} ، Ψ_0 و Φ_{D_0} که تعاریف آنها در جدول ۱ ذکر شده است) تبدیل شده و در نهایت با استفاده از نرم‌افزار Boilyzer HP4، شاخص‌های ذکر شده برای بررسی عملکرد فتوسنتز II ارزیابی و نمودارهای مربوط به آنها رسم شد (۲۴ و ۲۵).

جدول ۱- خلاصه‌ای از شاخص‌های OJIP-test، حاصل از

اطلاعات اولیه استخراج شده از کیتیک فلئورسنس

شاخص‌های اولیه کیتیک فلئورسنس کلروفیل a	
F_0	نور فلئورسنس در ۵۰ μ S
F_{150}	نور فلئورسنس در ۱۵۰ μ S
F_{300}	نور فلئورسنس در ۳۰۰ μ S
F_J	نور فلئورسنس در سطح J (در ۲ms)
F_M	حداکثر نور فلئورسنس

سویه UTEX 200 از کلکسیون دانشگاه تگزاس آمریکا تهیه گردید. تلقیح گونه‌های مورد نظر در ارلن‌های حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت اصلاح شده جانسون (۲۱) با ۶ تکرار، در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ مولار NaCl و اسیدیته ۷-۷/۵، به صورتی انجام شد که تعداد سلول‌ها در هر ارلن تقریباً $10^4 \times 24$ در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون جلبکی باشد. سپس سوسپانسیون‌های تهیه شده در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در اتاقک کشت و در شدت نور ۱۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه به مدت ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی بر روی شیکر (Heidolph UNIMAX (2010) با سرعت ۹۶ دور در دقیقه قرار گرفتند.

پس از گذشت ۲ هفته، سوسپانسیون‌های جلبکی به دمای صفر درجه سانتیگراد منتقل و پس از ۸ ساعت دوباره به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد انتقال یافتند.

اندازه‌گیری میزان بتاکاروتن: برای اندازه‌گیری میزان بتاکاروتن سلولی، پس از گذشت ۲ هفته، از سوسپانسیون‌های جلبکی مورد مطالعه نمونه‌برداری انجام شد. یک میلی‌لیتر از محلول نمونه‌برداری شده به میکروفیوژتیوپ منتقل و توسط دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰g سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی به طور کامل خارج و به رسوب باقی مانده در ته میکروفیوژتیوپ، یک میلی‌لیتر استون ۸۰٪ اضافه شد و توسط ورتکس به خوبی با رسوب جلبکی مخلوط گردید. دوباره عمل سانتریفیوژ به مدت ۲ دقیقه تکرار شد. محلول رویی برای اندازه‌گیری میزان بتاکاروتن از میکروفیوژتیوپ استخراج و میزان جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکترومتر (Shimadzu UV-160A) در طول موج‌های ۴۱۲، ۴۳۱، ۴۶۰ و ۴۸۰ نانومتر قرائت شد. در نهایت با استفاده از فرمول‌های مربوطه، میزان بتاکاروتن بر حسب میکروگرم در سلول محاسبه گردید و منحنی آنها بر حسب زمان رسم شد (۷).

۳ مولار نمک نسبت به غلظت‌های ۱ و ۲ مولار NaCl تا حدودی افزایش یافته است. همچنین نتایج نشان می‌دهد که میزان بتاکاروتن در سلول‌های جلبک *D. bardawil* به‌ویژه در غلظت ۳ مولار نمکی بیشتر از میزان آن در سلول‌های جلبک *D. salina* است (شکل ۱).

بررسی اثر تنش سرما بر کارایی کمپلکس تجزیه آب در سمت دهنده فتوسیستم II (F_v/F_o) جلبک *Dunaliella*: مقایسه روند تغییرات شاخص F_v/F_o (کارایی کمپلکس تجزیه آب در سمت دهنده فتوسیستم II) در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ مولار NaCl در دو گونه *D. bardawil* و *D. salina* نشان می‌دهد که انتقال نمونه‌ها به دمای صفر درجه سانتیگراد در هر ۳ غلظت NaCl باعث کاهش کارایی کمپلکس تجزیه آب شده است (شکل ۲). با افزایش میزان نمک، کاهش کارایی کمپلکس تجزیه آب در نمونه‌های جلبک *D. bardawil* که از دمای صفر درجه سانتیگراد به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شده‌اند، نسبت به نمونه‌های شاهد (۲۵ درجه سانتیگراد)، تا حدودی بهبود یافته است؛ به طوری که در غلظت ۳ مولار NaCl کمترین میزان تغییرات در شاخص F_v/F_o در نمونه‌های جلبک *D. bardawil* که به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شده‌اند نسبت به نمونه‌های شاهد مشاهده می‌شود. در حالی که افزایش میزان نمک در محیط کشت جلبک *D. salina* منجر به تأثیر بیشتر تنش سرما بر کارایی کمپلکس تجزیه آب در این جلبک می‌شود؛ به طوری که در غلظت ۳ مولار نمک میزان شاخص F_v/F_o نسبت به غلظت‌های ۱ و ۲ مولار نمک کاهش بیشتری نشان می‌دهد (شکل ۲).

بررسی اثر تنش سرما بر انتقال الکترون به فتوفایتین و Q_A در فتوسیستم II (Φ_{P_0}) جلبک *Dunaliella*: مقایسه روند تغییرات شاخص Φ_{P_0} (میزان انتقال الکترون به فتوفایتین و Q_A در فتوسیستم II) در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ مولار NaCl در دو گونه *D. bardawil* و *D. salina* نشان

شاخص‌های بیوفیزیکی حاصل از OJIP-test	
F_v/F_o	کارایی کمپلکس تجزیه آب در سمت دهنده فتوسیستم II
Φ_{P_0}	انتقال الکترون به فتوفایتین و Q_A در فتوسیستم II
Φ_{E_0}	میزان انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II
Ψ_0	انتقال الکترون از Q_A به Q_B در فتوسیستم II
Φ_{R_0}	میزان احیای پذیرنده‌های انتهایی در سمت پذیرنده الکترون فتوسیستم I
Φ_{D_0}	میزان اتلاف انرژی به صورت انرژی گرمایی

کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار انجام و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون دانکن انجام گردید.

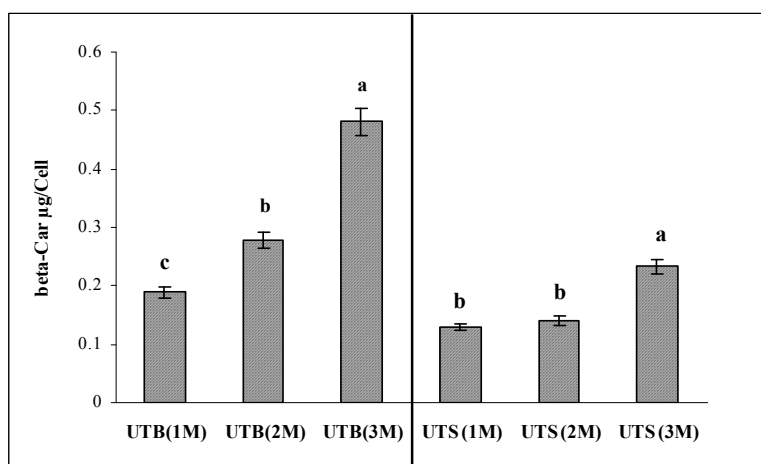
نتایج

برای بررسی بهتر نقش بتاکاروتن در مقاومت یا عدم مقاومت به تنش سرما در جلبک *Dunaliella* آزمایشی طراحی گردید که قبل از تیمار سرما ابتدا میزان بتاکاروتن جلبک‌ها افزایش یافته و بعد تیمار انجام گیرد. بدین منظور، ابتدا سوسپانسیون‌های جلبکی از سویه‌های مورد مطالعه در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ مولار NaCl در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد کشت داده شدند و پس از افزایش میزان بتاکاروتن سلولی و اندازه‌گیری میزان آن، پس از دو هفته نمونه‌ها به دمای صفر درجه سانتیگراد منتقل شده و پس از ۸ ساعت دوباره به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد انتقال یافتند. سپس میزان فلوروسنس کلروفیل *a* نمونه‌ها اندازه‌گیری و اطلاعات حاصل از آن توسط OJIP-test و نرم‌افزار Biolyzer ارزیابی شد.

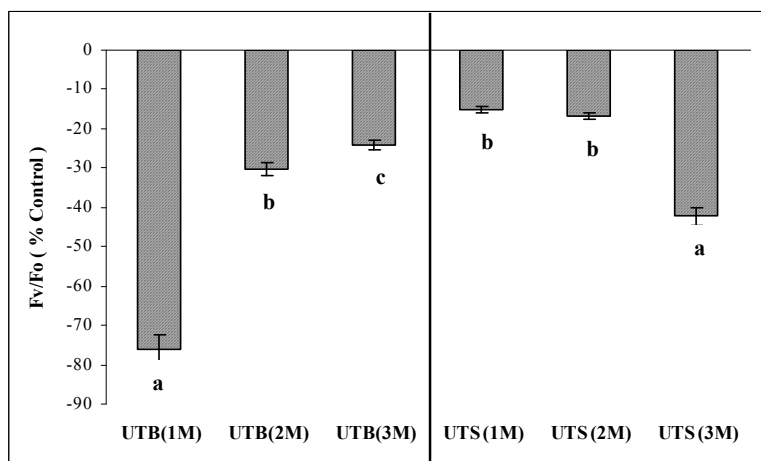
میزان بتاکاروتن در سلول‌های جلبک *D. bardawil* و *D. salina*: مقایسه میزان بتاکاروتن در گونه‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد که میزان بتاکاروتن در جلبک *D. bardawil* با افزایش میزان نمک در محیط کشت، به‌ویژه در غلظت ۳ مولار نمک افزایش یافته است. در حالی که میزان بتاکاروتن در سلول‌های جلبک *D. salina* که در سوسپانسیون‌های جلبکی با غلظت‌های ۱ و ۲ مولار NaCl رشد یافته‌اند تقریباً مشابه بوده و میزان آن در غلظت

در نمونه‌های جلبک *D. bardawil* که به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شده‌اند نسبت به نمونه‌های شاهد مشاهده می‌شود. در حالی که افزایش میزان نمک در محیط کشت جلبک *D. salina* منجر به تأثیر بیشتر تنش سرما بر میزان انتقال الکترون به فتوفایتین و Q_A در این جلبک می‌شود؛ به طوری که در غلظت ۳ مولار نمک میزان شاخص Φ_{PO} نسبت به غلظت‌های ۱ و ۲ مولار نمک کاهش بیشتری نشان می‌دهد (شکل ۳).

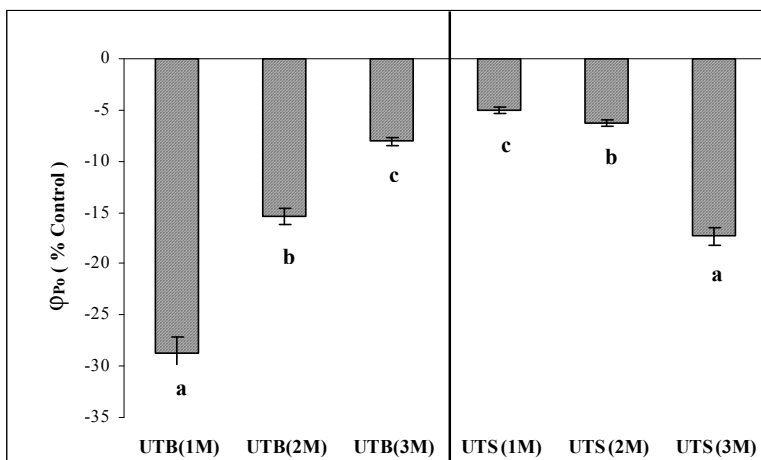
می‌دهد که انتقال نمونه‌ها به دمای صفر درجه سانتیگراد در هر ۳ غلظت NaCl باعث کاهش کارایی انتقال الکترون به فتوفایتین و Q_A شده است (شکل ۳). با افزایش میزان نمک، کاهش میزان انتقال الکترون به فتوفایتین و Q_A در فتوسیستم II در نمونه‌های جلبک *D. bardawil* که از دمای صفر درجه سانتیگراد به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شده‌اند، نسبت به نمونه‌های شاهد (۲۵ درجه سانتیگراد) تا حدودی بهبود یافته است؛ به طوری که در غلظت ۳ مولار NaCl کمترین میزان تغییرات در شاخص



شکل ۱- میزان بتاکاروتن موجود در سلول‌های جلبک *D. bardawil* (UTB) و جلبک *D. salina* (UTS) ۲ هفته پس از تقیح سلول‌های جلبکی در محیط‌هایی با غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ مولار NaCl (مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد و حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) می‌باشد).



شکل ۲- کارایی کمپلکس تجزیه آب در سمت دهنده فتوسیستم II (FV/Fo) گونه‌های *D. bardawil* (UTB) و *D. salina* (UTS)، پس از انتقال نمونه‌ها از دمای صفر درجه سانتیگراد به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ مولار NaCl (مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد و حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) می‌باشد).



شکل ۳- میزان انتقال الکترون به فنوفایتین و Q_A در فتوسیستم II (Φ_{Po}) گونه‌های *D. salina* (UTS) و *D. bardawil* (UTB) پس از انتقال نمونه‌ها از دمای صفر درجه سانتیگراد به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ مولار NaCl (مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد و حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) می‌باشد).

غلظت‌های ۱ و ۲ مولار نمک کاهش بیشتری نشان می‌دهد (شکل ۴).

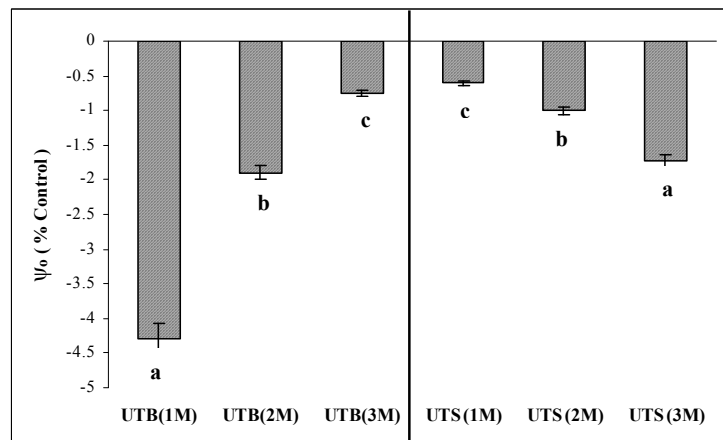
بررسی اثر تنش سرما بر میزان انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II (Φ_{E0}) جلبک *Dunaliella*: مقایسه میزان شاخص Φ_{E0} (میزان انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II) در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ مولار NaCl در دو گونه *D. salina* و *D. bardawil* نشان می‌دهد که انتقال نمونه‌ها به دمای صفر درجه سانتیگراد در هر ۳ غلظت NaCl باعث کاهش کارایی میزان انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II شده است (شکل ۵). با افزایش میزان نمک، کاهش میزان انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II در نمونه‌های جلبک *D. bardawil* که از دمای صفر درجه سانتیگراد به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شده‌اند، نسبت به نمونه‌های شاهد (۲۵ درجه سانتیگراد) تا حدودی بهبود یافته است؛ به طوری که در غلظت ۳ مولار NaCl کمترین میزان تغییرات در شاخص Φ_{E0} در نمونه‌های جلبک *D. bardawil* که به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شده‌اند نسبت به نمونه‌های شاهد مشاهده می‌شود. در حالی که افزایش میزان نمک در محیط کشت جلبک *D. salina* منجر به تأثیر بیشتر تنش سرما بر میزان انتقال

بررسی اثر تنش سرما بر انتقال الکترون از Q_A به Q_B در فتوسیستم II جلبک *Dunaliella*: مقایسه روند تغییرات شاخص Ψ_0 (انتقال الکترون از Q_A به Q_B در فتوسیستم II) در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ مولار NaCl در دو گونه *D. salina* و *D. bardawil* نشان می‌دهد که انتقال نمونه‌ها به دمای صفر درجه سانتیگراد در هر ۳ غلظت NaCl باعث کاهش کارایی انتقال الکترون از Q_A به Q_B در فتوسیستم II شده است (شکل ۴). با افزایش میزان نمک، کاهش میزان انتقال الکترون از Q_A به Q_B در نمونه‌های جلبک *D. bardawil* که از دمای صفر درجه سانتیگراد به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شده‌اند، نسبت به نمونه‌های شاهد (۲۵ درجه سانتیگراد) تا حدودی بهبود یافته است؛ به طوری که در غلظت ۳ مولار NaCl کمترین میزان تغییرات در شاخص Ψ_0 در نمونه‌های جلبک *D. bardawil* که به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شده‌اند نسبت به نمونه‌های شاهد مشاهده می‌شود. در حالی که افزایش میزان نمک در محیط کشت جلبک *D. salina* منجر به تأثیر بیشتر تنش سرما بر میزان انتقال الکترون از Q_A به Q_B در این جلبک می‌شود؛ به طوری که در غلظت ۳ مولار نمک میزان شاخص Ψ_0 نسبت به

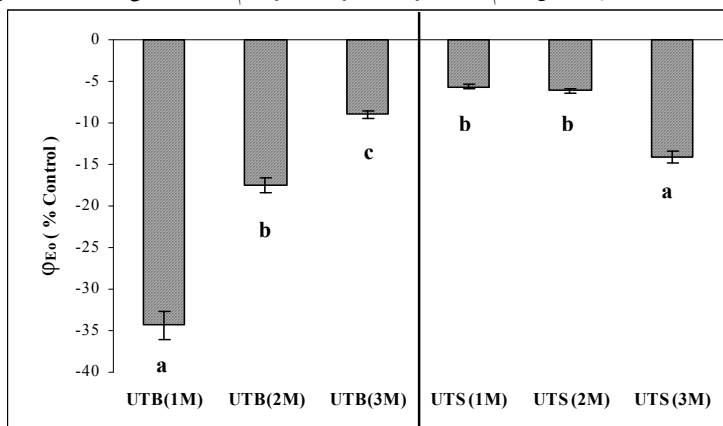
NaCl باعث کاهش میزان احیای پذیرنده‌های انتهایی در سمت پذیرنده الکترون فتوسیستم I شده است (شکل ۶). با افزایش میزان نمک، این کاهش در نمونه‌های جلبک *D. bardawil* که از دمای صفر درجه سانتیگراد به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شده‌اند، نسبت به نمونه‌های شاهد (۲۵ درجه سانتیگراد) تا حدودی بهبود یافته است؛ به طوری که در غلظت ۳ مولار NaCl کمترین میزان تغییرات در شاخص Φ_{Ro} در نمونه‌های جلبک *D. bardawil* که به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شده‌اند نسبت به نمونه‌های شاهد مشاهده می‌شود.

الکترون در زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II در این جلبک می‌شود؛ به طوری که در غلظت ۳ مولار نمک میزان شاخص Φ_{Eo} نسبت به غلظت‌های ۱ و ۲ مولار نمک کاهش بیشتری نشان می‌دهد (شکل ۵).

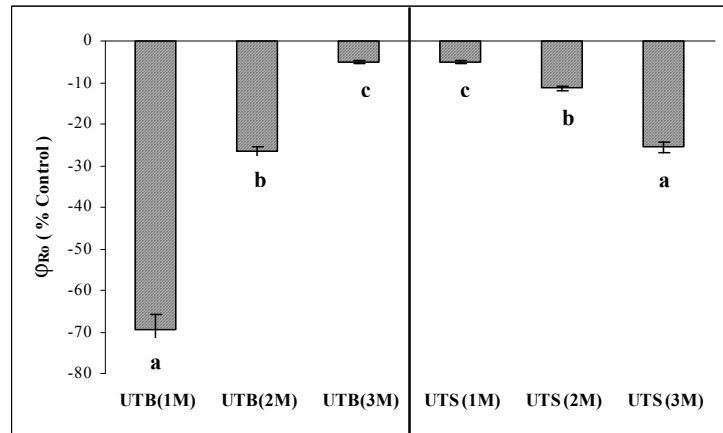
بررسی اثر تنش سرما بر میزان احیای پذیرنده‌های انتهایی در سمت پذیرنده الکترون فتوسیستم I (Φ_{Ro}) جلبک *Dunaliella*: مقایسه میزان شاخص Φ_{Ro} (میزان احیای پذیرنده‌های انتهایی در سمت پذیرنده الکترون فتوسیستم I) در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ مولار NaCl در دو گونه *D. salina* و *D. bardawil* نشان می‌دهد که انتقال نمونه‌ها به دمای صفر درجه سانتیگراد در هر ۳ غلظت



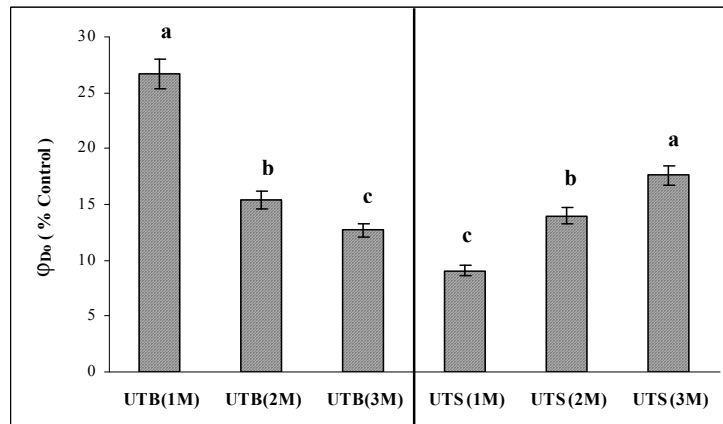
شکل ۴- میزان انتقال الکترون از Q_A به Q_B در فتوسیستم II (Ψ_o) گونه‌های *D. salina* (UTS) و *D. bardawil* (UTB)، پس از انتقال نمونه‌ها از دمای صفر درجه سانتیگراد به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ مولار NaCl (مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است). مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد و حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) می‌باشد.



شکل ۵- میزان انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II (Φ_{Eo}) گونه‌های *D. salina* (UTS) و *D. bardawil* (UTB)، پس از انتقال نمونه‌ها از دمای صفر درجه سانتیگراد به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ مولار NaCl (مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است). مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد و حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) می‌باشد.



شکل ۶- میزان احیای پذیرنده‌های انتهایی در سمت پذیرنده الکترون فتوسیستم I (Φ_{R0}) گونه‌های *D. bardawil* (UTB) و *D. salina* (UTS). پس از انتقال نمونه‌ها از دمای صفر درجه سانتیگراد به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ مولار NaCl (مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد و حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) می‌باشد).



شکل ۷- میزان اتلاف انرژی (Φ_{D0}) گونه‌های *D. bardawil* (UTB) و *D. salina* (UTS). پس از انتقال نمونه‌ها از دمای صفر درجه سانتیگراد به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ مولار NaCl (مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد و حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) می‌باشد).

اتلاف انرژی) در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ مولار NaCl در دو گونه *D. salina* و *D. bardawil* نشان می‌دهد که انتقال نمونه‌ها به دمای صفر درجه سانتیگراد در هر ۳ غلظت NaCl باعث افزایش میزان اتلاف انرژی شده است (شکل ۷). با افزایش میزان نمک، افزایش میزان اتلاف انرژی در نمونه‌های جلبک *D. bardawil* که از دمای صفر درجه سانتیگراد به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شده‌اند، نسبت به نمونه‌های شاهد (۲۵ درجه سانتیگراد) تا حدودی بهبود یافته است؛ به طوری که در غلظت ۳ مولار NaCl

در حالی که افزایش میزان نمک در محیط کشت جلبک *D. salina* منجر به تأثیر بیشتر تنش سرما بر میزان احیای پذیرنده‌های انتهایی در سمت پذیرنده الکترون فتوسیستم I در این جلبک می‌شود؛ به طوری که در غلظت ۳ مولار نمک میزان شاخص Φ_{R0} نسبت به غلظت‌های ۱ و ۲ مولار نمک کاهش بیشتری نشان می‌دهد (شکل ۶).

بررسی اثر تنش سرما بر میزان اتلاف انرژی (Φ_{D0}) در جلبک *Dunaliella*: مقایسه میزان شاخص Φ_{D0} (میزان

باشد. بررسی نتایج حاصل از اثر تنش سرما بر کینتیک کلروفیل a در دو گونه *D. bardawil* و *D. salina* نشان می‌دهد که کاهش دما منجر به کاهش کارایی کمپلکس تجزیه‌کننده آب در نمونه‌های تحت تیمار سرما نسبت به نمونه‌های شاهد شده است (شکل ۲). همچنین میزان انتقال الکترون به فتوفایتین و Q_A (شکل ۳) و پس از آن، انتقال الکترون از Q_A به Q_B (شکل ۴) و در نهایت احیای پذیرنده‌های نهایی در سمت پذیرنده فتوسیستم I (شکل ۵) تحت تأثیر تنش سرما در گونه‌های مورد مطالعه کاهش می‌یابد. با توجه به نتایج و همچنین اهمیت نقش کمپلکس تجزیه‌کننده آب در ادامه جریان انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II می‌توان گفت، کاهش کارایی کمپلکس تجزیه‌کننده آب در اثر کاهش دما احتمالاً در کاهش میزان انتقال الکترون به پذیرنده‌های الکترون فتوسیستم II نقش داشته و اختلال در فعالیت زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II (Φ_{E0}) این دو جلبک در اثر کاهش دما می‌تواند به علت کاهش کارایی کمپلکس تجزیه‌کننده آب تحت تأثیر تنش سرما باشد.

دمای پایین با تأثیر منفی بر مراکز واکنش فتوسیستم II، باعث افزایش تراکم مراکز واکنش غیر فعال در این فتوسیستم می‌شود. هنگامی که تراکم مراکز واکنش فعال کاهش یابد، درصد تبدیل انرژی نوری جذب شده به انرژی برانگیختگی که در اثر برانگیخته شدن کلروفیل a در مراکز واکنش فعال فتوسیستم II به دام می‌افتد نیز کاهش می‌یابد (۲۷). در اثر کاهش میزان انرژی به دام افتاده توسط مراکز واکنش، میزان انرژی که به درون زنجیره انتقال الکترون منتقل می‌شود کاهش یافته و در نتیجه انرژی لازم برای احیای پذیرنده‌های الکترون در مسیر زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II به خوبی فراهم نمی‌شود که این امر به نوبه خود منجر به کاهش فعالیت زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II (Φ_{E0}) می‌شود. از طرفی کاهش میزان انرژی به دام افتاده در اثر غیر فعال شدن مراکز واکنش فتوسیستم II تحت تیمار سرما، می‌تواند میزان اتلاف انرژی به

کمترین میزان تغییرات در شاخص Φ_{D0} در نمونه‌های جلبک *D. bardawil* که به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شده‌اند نسبت به نمونه‌های شاهد مشاهده می‌شود. در حالی که افزایش میزان نمک در محیط کشت جلبک *D. salina* منجر به تأثیر بیشتر تنش سرما بر میزان اتلاف انرژی در این جلبک می‌شود؛ به طوری که در غلظت ۳ مولار نمک میزان شاخص Φ_{D0} نسبت به غلظت‌های ۱ و ۲ مولار نمک افزایش بیشتری نشان می‌دهد (شکل ۷).

بحث

حضور موجودات فتوسنتزکننده در محدوده‌ای از انرژی نورانی که بیش از نیاز فرایند فتوسنتز است، منجر به عدم تعادل انرژی و به طور کلی بازدارندگی نوری می‌شود. تنش سرما با ایجاد اختلال در فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین، ظرفیت تثبیت CO_2 را کاهش داده و باعث کاهش سرعت انتقال انرژی از طریق الکترون‌ها به ترکیبات پذیرنده الکترون می‌شود، در حالی که بر جذب نور توسط کلروفیل‌ها تأثیر چندانی ندارد (۱۵ و ۲۸). زمانی که میزان انرژی نورانی جذب شده بیش از نیاز دستگاه فتوسنتزی باشد، شرایط لازم را برای ایجاد اکسیداسیون نوری و تولید رادیکال‌های آزاد فراهم می‌کند. تولید رادیکال‌های آزاد منجر به آسیب مراکز واکنش فتوسیستم II و به ویژه پروتئین D_1 می‌شود. همچنین تنش سرما با کند کردن سرعت جایگزینی پروتئین D_1 به داخل مرکز واکنش فتوسیستم II، روند ترمیم فتوسیستم II را با مشکل مواجه ساخته، و مانع فعالیت طبیعی مراکز واکنش این فتوسیستم می‌شود. با توجه به اهمیت کارایی کمپلکس تجزیه‌کننده آب در فتوسیستم II (۱۹) و همچنین ارتباط آن با پروتئین‌های D_1 و D_2 در مرکز واکنش این فتوسیستم (۳۰)، آسیب پروتئین D_1 در مرکز واکنش فتوسیستم II به علت کاهش دما و همچنین کند شدن سرعت جایگزینی پروتئین D_1 به داخل مرکز واکنش فتوسیستم II تحت این شرایط، می‌تواند در کاهش کارایی کمپلکس تجزیه‌کننده آب (F_v/F_0) دخالت داشته

بهبتری به حالت طبیعی اولیه باز می‌گردد. زیرا در چنین شرایطی (غلظت بالای نمک) جلبک *D. bardawil* در قیاس با جلبک *D. salina* توانایی بیشتری در تجمع بتاکاروتن دارد. با توجه به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در اثر کاهش یافتن دما (۲۰) و همچنین بازدارندگی نوری القا شده در اثر تنش سرما (۱۳)، علاوه بر کارتنوئیدها، تولید آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند آسکوربات، گلوکاتینون و آنزیم سوپراکسید دسموتاز نیز می‌تواند نقش داشته باشند. با توجه به نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد، تجمع بالای بتاکاروتن در جلبک *D. bardawil* (به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان برای مقابله با رادیکال‌های آزاد و یا به‌عنوان یک فیلتر نوری برای جذب انرژی نورانی مازاد بر نیاز دستگاه فتوسنتزی) به افزایش حفاظت از مراکز واکنش فتوسیستم II در این گونه جلبکی منجر شده، در نتیجه کارایی جلبک *D. bardawil* را در انجام واکنش‌های اولیه فتوسنتز در محیط‌های حاوی غلظت بالای نمک افزایش داده است.

جمع‌بندی

با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان گفت تجمع بتاکاروتن در جلبک *D. bardawil*، در غلظت‌های بالای نمک، پیش از اعمال تنش سرما به حفاظت از فتوسیستم II دستگاه فتوسنتزی این جلبک در برابر شرایط نامساعدی که در اثر تنش سرما ایجاد می‌شود، کمک کرده و باعث افزایش مقاومت جلبک *D. bardawil* در این شرایط می‌شود، به‌طوری‌که پس از انتقال از دمای صفر درجه به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد با کارایی بهتری به حالت طبیعی اولیه باز می‌گردد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مسئولان محترم تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان به دلیل حمایت مالی در انجام این تحقیق قدردانی می‌گردد. همچنین نویسندگان مقاله از قطب تنش‌های گیاهی در دانشگاه اصفهان نیز تشکر و قدردانی می‌نمایند.

صورت انرژی گرمایی را افزایش دهد (۲۵). افزایش میزان شاخص Φ_{D_0} (شکل ۷) در نمونه‌های جلبکی *D. bardawil* و *D. salina* که در این تحقیق در اثر کاهش دما مشاهده شد، می‌تواند مؤید این امر باشد.

تنش شوری یکی از عوامل تنش‌زا در محیط زندگی جلبک *Dunaliella* است که باعث افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در این جلبک می‌شود (۳). یکی از راهکارهای جلبک *Dunaliella* برای مقابله با این شرایط تولید و تجمع کاروتنوئیدها از جمله بتاکاروتن است. گزارش شده است بتاکاروتن ۱۰٪ از وزن خشک جلبک *D. bardawil* را در غلظت‌های بالای نمک تشکیل می‌دهد (۴). به نظر می‌رسد افزایشی که در میزان بتاکاروتن سلول‌های جلبک *D. bardawil* تحت تنش شوری، به‌ویژه غلظت ۳ مولار NaCl، در این تحقیق مشاهده شد، یک پاسخ حفاظتی است و از آنجا که بتاکاروتن دارای نقش آنتی‌اکسیدانی است، احتمالاً سلول با این واکنش، توانایی خود را در برابر اثرات منفی غلظت‌های بالای نمک (از جمله تنش اکسیداتیو القاء شده تحت این شرایط) افزایش می‌دهد.

مقایسه میزان بتاکاروتن در دو گونه جلبکی مورد مطالعه نشان می‌دهد که میزان بتاکاروتن در *D. bardawil* به‌ویژه در غلظت ۳ مولار نمکی بیشتر از *D. salina* است. همچنین پس از انتقال نمونه‌های جلبکی به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد شاخص‌های F_v/F_0 (میزان کارایی کمپلکس تجزیه آب)، Φ_{P_0} (انتقال الکترون به فتوفیتین و Q_A)، Ψ_0 (انتقال الکترون از Q_A به Q_B)، Φ_{E_0} (میزان انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون)، Φ_{R_0} (میزان احیای پذیرنده انتهایی زنجیره انتقال الکترون) و Φ_{D_0} (میزان اتلاف انرژی) در *D. bardawil* تغییرات کمتری نسبت به *D. salina* در محیط ۳ مولار نمکی از خود نشان دادند. با توجه به نتایج به نظر می‌رسد در محیط‌های حاوی غلظت بالای نمک، جلبک *D. bardawil* هنگامی که از دمای صفر درجه سانتیگراد به ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل می‌شود با کارایی

منابع

- ۱- آقایی، پ؛ شریعتی، م. ۱۳۸۶. اثر کمبود سولفور بر رشد سلولی، تولید بتاکاروتن، کلروفیل و فتوسنتز در جلبک *Dunaliella salina* جدا شده از مرداب شور گاوخونی اصفهان. مجله زیست‌شناسی ایران. ۲۰، ۱-۱۱
- ۲- شریعتی، م؛ ذوفن، پ. ۱۳۸۲. بررسی کمبود نیترات بر تقسیم سلولی و سنتز رنگیزه‌های بتاکاروتن و کلروفیل در جلبک سبز تک سلولی *Dunaliella salina* جداسازی شده از مرداب شور گاوخونی اصفهان. مجله پژوهش و سازندگی. ۵۹، ۷-۱۳.
- 3- Abd El-Baky, H. H., El Baz, F. K. and El-Baroty, G. S. 2004. Production of antioxidant by the green alga *Dunaliella salina*. International Journal of Agriculture and Biology. 6: 49-57.
- 4- Ben-Amotz, A. and Avron, M. 1983. On the factors which determine massive β -carotene accumulation in the halotolerant alga *Dunaliella bardawil*. Plant Physiology. 7: 593-597.
- 5- Ben-Amotz, A. 1996. Effect of low temperature on the stereoisomer composition of beta-carotene in the halotolerant alga *Dunaliella bardawil* (Chlorophyta) Journal of Phycology. 32: 272-275.
- 6- Chidambara Murthy, K. N., Vanitha, A., Rajesha, J., Mahadeva Swamy, M., Sowmya, P. R., Ravishankar, G. A. 2005. In vivo antioxidant activity of carotenoids from *Dunaliella salina*. a green microalga. Life Science. 76: 1381-1390.
- 7- Eijkelhoff, C. and Dekker, J. P. 1997. A routine method to determine the chlorophyll a, pheophytin and β -carotene contents of isolated photosystem II reaction center complex. Photosynthesis Research. 52: 63-67.
- 8- Hadi, M. R., Shariati, M. and Afsharzadeh, S. 2008. Microalgal biotechnology: carotenoid and glycerol production by the green algae *Dunaliella* isolated from the Gave-khoni salt marsh, Iran. Biotechnology and Bioprocess Engineering. 13: 540-544.
- 9- Hällgren, J. E. and Öquist, G. 1990. Adaptations to low temperatures. In: Stress responses in plants: Adaptation and acclimation mechanisms. (eds. Alscher, R. G. and Cumming, J.R.). Wiley-Liss, New York. 265-293.
- 10- Heidarvand, L., Malli Ammiri, R., Naghavi, M. R., Farayedi, Y., Sadeghzadeh, B. and Alizadeh, Kh. 2011. Physiological and morphological characteristics of chickpea accessions under low temperature stress. Russian Journal of Plant Physiology. 58: 157-163.
- 11- Hosseini Tafreshi, A and Shariati, M. 2006. Pilot culture of three strains of *Dunaliella salina* for β -carotene production in open ponds in the central region of Iran. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 22: 1003-1006.
- 12- Hosseini Tafreshi, A and Shariati, M. 2009. *Dunaliella* biotechnology: methods and applications. Journal of Applied Microbiology. 107: 14-35.
- 13- Huner, N. P. A., Öquist, G. and Sarhan, F. 1998. Energy balance and acclimation to light and cold. Trends in Plant Science. 3: 224-230.
- 14- Jimenez, C. and Pick, U. 1993. Differential reactivity of β -carotene isomers from *Dunaliella bardawil* toward oxygen radicals. Plant Physiology. 101: 385-390.
- 15- Lambers, H., Chapin III, F. S. and Pons, T. L. 2008. Plant physiological ecology. 2nd Ed, Springer, New York.
- 16- Madadkar Haghjou, M. and Shariati, M. 2007. Photosynthesis and respiration under low temperature stress in two *Dunaliella* strains. World Applied Sciences Journal. 2: 276-282.
- 17- Madadkar Haghjou, M., Shariati, M. and Smirnov, N. 2009. The effect of acute high light and low temperature stresses on the ascorbate-glutathione cycle and superoxide dismutase activity in two *Dunaliella salina* strains. Physiologia Plantarum. 135: 272-280.
- 18- Mahajan, S. and Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. Archives of Biochemistry and Biophysics. 444: 139-158.
- 19- Pereira, W. E., De Siqueira, D. L., Martinez, C. A. and Puiatti, M. 2000. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminium stress. Journal of Plant Physiology. 157: 513-520.
- 20- Prasad, T. K., Anderson, M. D., Martin, B. A. and Stewart, C. R. 1994. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedling and a regulatory role for hydrogen peroxide. Plant Cell. 6: 65-74.
- 21- Shariati, M. and Lilley, McC. 1994. Loss of intracellular glycerol from *Dunaliella* by electroporation at constant osmotic pressure: Subsequent restoration of glycerol content and associated volume changes. Plant Cell and Environment. 17: 1295-1304.

- 22- Shariati, M. and Yahyaabadi, S. 2002. Effect of different concentrations of copper on growth rate, chlorophyll, beta-carotene, Ca^{2+} and Mg^{2+} content of *Dunaliella salina*. Iranian Journal of Biology. 11: 37-46.
- 23- Shariati, M. and Yahyaabadi, S. 2006. The effects of different concentrations of cadmium on the growth rate and beta-carotene synthesis in unicellular green alga *Dunaliella salina*. Iranian Journal of Science and Technology. 30: 57-63.
- 24- Strasser, B. J. and Strasser, R. J. 1995. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP test. In: Photosynthesis: From Light to Biosphere. (ed. Mathis, P.). Kluwer Academic, The Netherlands. 977-980.
- 25- Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M. and Srivastava, A. 2004. Analysis of the fluorescence transient. In: Chlorophyll a fluorescence: A signature of photosynthesis. (eds. Papageorgiou, G. C. and Govindjee). Springer, Rotterdam. 321-362.
- 26- Tewari, A. K. and Tripathy, B. C. 1998. Temperature-stress-induced impairment of chlorophyll biosynthetic reactions in cucumber and wheat. Plant Physiology. 117: 851-858.
- 27- Thach, L. B., Shapcott, A., Schmidt, S. and Critchley, C. 2007. The OJIP fast fluorescence rise characterizes *Graptophyllum* species and their stress responses. Photosynthesis Research. 94: 423-436.
- 28- Wise, R. R. 1995. Chilling-enhanced photooxidation: the production, action and study of reactive oxygen species produced during chilling in the light. Photosynthesis Research. 45: 79-97.
- 29- Young, A and Britton, G. 1990. Carotenoids and stress. Plant Physiology. 12: 87-112.
- 30- Zouni, A., Witt, H. T., Kern, J., Fromme, P., Krauss, N., Saenger, W. and Orth, P. 2001. Crystal structure of photosystem II from *Synechococcus elongatus* at 3.8 Å resolution. Nature. 409: 739-743.

Relationship between β -carotene accumulation and cold stress resistance in unicellular green alga *Dunaliella* using Chl-*a* fluorescence kinetic

Paizi M.¹, Einali A.R.² and Shariati M.¹

¹ Biology Dept., Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan, I.R. of Iran

² Biology Dept., Faculty of Science, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, I.R. of Iran

Abstract

Beta-carotene is stored in the chloroplast of higher plants and green algae under unfavorable growth conditions such as high light intensity, high concentration of NaCl, low and high temperature and nitrate deficiency to protect the photosynthetic apparatus specially PSII. Unicellular green alga *Dunaliella*, specially *Dunaliella bardawil* and *Dunaliella salina*, has capability to accumulate massive beta-carotene in its chloroplasts under unsuitable conditions. In this study to investigate on beta-carotene role in resistance to cold stress, *Dunaliella bardawil* and *Dunaliella salina* were cultured on mediums containing 1M, 2M and 3M of NaCl at 25°C in six replicate. After two weeks, when beta-carotene content was increased and measured, samples were transferred to 0°C and after 8h they were returned to 25°C. Then parameters of Chl-*a* fluorescence was measured and its parameters were evaluated. According to the result, amount of beta-carotene in *D. bardawil* especially in 3M NaCl was higher than *D. salina*. In addition, analysis of fluorescence parameters such as Fv/Fo (activity of the water-splitting complex), ϕ_{P_0} (electron transport to pheophytin and Q_A), ψ_0 (electron transport from Q_A to Q_B), ϕ_{E_0} (electron transport in electron transport chain), ϕ_{R_0} (reduction rate of end acceptor of electron transport chain) and ϕ_{D_0} (rate of energy dissipation) indicated less changes in *D. bardawil* than *D. salina* in 3M NaCl when return to 25°C. According to the result, it seems that in the medium containing high concentration of NaCl, *D. bardawil* has better recovery when transferred from 0°C to 25°C. In such condition, *D. bardawil* is able to accumulate more beta-carotene than *D. salina* and in turn is able to protect PSII reaction centers.

Key words: Beta-carotene, Cold stress, *Dunaliella*, kinetic of fluorescence chlorophyll *a*, Photosystem II