تغییر در رشد و برخی متابولیتهای اولیه در جلبک تک سلولی *Dunaliella salina* توسط شوری

رقیه مخبری[1*]، آیت ا... رضایی[2]، علاءالدین کردناییج[2]

[1*]گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

[2]گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

r.mokhberi2297@yahoo.com

خلاصه

در این مطالعه اثر شوری بر رشد، رنگیزه های فتوسنتزی، مقدار قندهای محلول و پروتئین در جلبک *Dunaliella salina* بررسی گردید. تیمار شوری (NaCl) با غلظت‌های دو و سه مولار، به کشتهای سلولی در روز چهاردهم واکشت در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اعمال شد. پارامترهای مورد اندازه گیری عبارت بودند از: میزان رشد سلولی، مقدار رنگیزه های فتوسنتزی (کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل کل و کاروتنوئید)، قندهای محلول، پروتئین کل و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت شوری رشد سلولی و مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی کاهش یافت. در مقابل مقدار قندهای محلول، پروتئین و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی افزایش نشان داد. بیشترین میزان پروتئین و قندهای محلول در غلظت سه مولار NaCl بدست آمد که به ترتیب ۴۷/۱۶ ng/cell و ۲۵۴/۶۹ pg/cell بود. بنظر میرسد افزایش غلظت شوری، با کاهش تعداد سلولها و رشد، باعث کاهش کلروفیل و کاروتنوئید در سلول ها گردید.

کلمات کلیدی: *Dunaliella salina* ، شوری، رشد، متابولیت اولیه.

مقدمه

استفاده از جلبک‌ها به واسطه داشتن ترکیب های مختلف به‌عنوان غذای انسان و حیوانات و هم‌چنین در پیشگیری و درمان بیماریها، از حدود ۳۰۰۰ سال پیش رایج بوده است. جلبک سبز تک سلولی *Dunaliella* از خانوادهٔ Chlorophyceae می باشد که بزرگترین گروه جلبکهای سبز است و به راستهٔVolvocals تعلق دارند [۱،۲].

شوری از جمله عوامل تنش‌زای محیطی است، که در بسیاری از نقاط جهان خطر جدی برای رشد گیاهان محسوب میشود [۳]. این تنش تقریبا بسیاری از جنبه‌های رشد و گسترش گیاهان را تحت تاثیر قرار داده و سبب سمیت یونی، کمبود مواد غذایی، تنش های اسمتیک و اکسیداتیو می شود [۴]، پاسخ موجودات فتوسنتزی به شرایط نامساعد محیط به توانایی سازگاری دستگاه فتوسنتزی آن ها بستگی دارد [۵]، شوری منجر به کاهش فعالیت فتوسنتزی شده و این امر با کاهش در محتوی کلروفیل و عملکرد فتوسیستمII (PSII) همراه است[۶]. همچنین نشان داده شده است که میزان فعالیت فتوسنتزی در جلبک *Dunaliella* تحت تنش شوری کاهش یافت[۷]. به دلیل پیچیده بودن سیستم های گیاهی، امروزه استفاده ازجلبکهای سبز تک سلولی که از لحاظ ساختمان سلولی شباهت زیادی با گیاهان دارند، با قدرت تکثیر بالا مانند جلبک *D. salina* به عنوان سیستم مدل، مورد توجه محققان بوده و می تواند جهت بررسی و درک بهتر و سریع تر نتایج موثر باشد [۸، ۹]. این جلبک فاقد دیواره سلولی بوده و در آبهای شور زندگی میکند. اما همچون سایر گیاهان اطلاعات جزئی و کامل تردر این زمینه بسیار محدود میباشد. هدف از این تحقیق بررسی اثر شوری بر رشد و تولید برخی از متابولیتهای اولیه *D. salina* ، بمنظور درک مکانیسمهای فیزیولوژیک در ارتباط با تنش شوری بود.

مواد و روشها

شرایط کشت و رشد

مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون سلولی در شرایط استریل به ۱۰۰ میلی لیتر از محیط کشت مایع جانسون استریل، با غلظت نمک دو مولار NaCl و اسیدیته ۷/۵ در ارلن مایرهایی با حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر افزوده شد به طوری که تعداد سلول‌ها در هر ارلن مایر تقریباً ۳۰۰×۱۰^{۳} در هر میلی لیتر از سوسپانسیون جلبکی بود. سوسپانسیون‌های تهیه شده جلبکی در انکوباتور در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و به مدت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بر روی شیکر با سرعت ۹۰ دور در دقیقه تحت تابش نور فلورسنت با شدت ۲۵۰۰ لوکس قرار گرفتند. بعد از گذشت ۲ هفته که کشتهای جلبکی در اواسط مرحلهٔ خطی دورهٔ رشد خود قرار گرفتند، تیمار شوری اعمال شد.

تیمار سلولها

غلظت شوری سه مولار در روز چهاردهم واکشت سلولها به کشتهای سلولی در قالب طرح کاملا تصادفی و در سه تکرار اعمال شد. کشتهای سلولی در انکوباتور در دمای ۰/۵ ±۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و به مدت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بر روی شیکر با سرعت ۹۰ دور در دقیقه تحت تابش نور فلورسنت با شدت ۲۵۰۰ لوکس قرار گرفتند.

اندازه گیری رشد و پارامترهای بیوشیمیایی

رشد

توسط سمپلر از هر نمونهٔ جلبکی مقدار کمی برداشته شد و روی لام مخصوص شمارش (لام نئوبار) ریخته شد و زیرمیکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰ سلولها شمارش گردید. تعداد سلول‌های موجود در ۱۰ مربع از این لام شمارش شده و میانگین آن ثبت گردید. از آنجائیکه سلول‌ها متحرک بودند سلول‌های موجود در نمونه قبلاً توسط بلور ید بی حرکت شدند .

کلروفیل و کاروتنوئید کل

مقدار کلروفیل a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها با استفاده از روش اسپکتروفتومتری اندازه گیری گردید. ۵ میلی لیتر از سوسپانسیون جلبکی به مدت ۱۰ دقیقه با ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول رویی دور ریخته شد. بر روی رسوب سلولی باقی مانده ۵ میلی لیتر استون ۸۵٪ ریخته شد و بعد از هم‌زدن در تاریکی به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد. مخلوط حاصل مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. میزان جذب نور محلول رویی در طول موج‌های 663mm و 644 و 452 نانومتر به کمک اسپکتروفتومتر (PerkinElmer, Lambda 650) خوانده شد. به کمک روابط زیر میزان کلروفیل a و b و کاروتنوئید بر حسب میلی گرم در میلی لیتر بدست آمد[۱۰].

$$C\ chla = 10.3 \times E633 - 0.918 \times E644$$
$$C\ chlb = 19.7 \times E644 - 3.87 \times E633$$
$$C\ car = 4.20 \times E452.5 - 0.0264 \times C\ chl.a - 0.496 \times C\ chl.b$$

پروتئین

مقدار پروتیین بروش برادفورد [۱۱] اندازه گیری گردید. برای تعیین غلظت پروتئین‌های سلول جلبک، ۱ میلی‌لیتر از کشت سلولی نمونه برداری شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲ هزار دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. به رسوب سلولی بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی مولار (pH ۶/۸) اضافه شد. برای متلاشی شدن سلول‌های جلبک و تسهیل در خروج پروتئین‌های داخل سلول‌ها، سوسپانسیون‌های سلولی به مدت ۱۵ دقیقه در معرض امواج US با فرکانس ۴۰ کیلوهرتز قرار داده شد. پس از انجام سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲ هزار دور در دقیقه، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی برداشته شد و به آن ۱ میلی‌لیتر محلول برادفورد اضافه شد. مقدار جذب نمونه ها در طول موج 595

nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (PerkinElmer, Lambda 650) قرائت شد و در انتها با استفاده از نمودار استاندارد آلبومین سرم گاوی غلظت پروتئین نمونه‌ها بدست آمد .

قندهای محلول

یک میلی لیتر از سوسپانسیونهای جلبکی با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع رویی دور ریخته شد و به سلول‌های جلبکی باقی مانده ۰/۵ میلی‌لیتر فنل ۵٪ و ۲/۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۹۸٪ اضافه گردید. نمونه ها به مدت نیم ساعت در معرض امواج US با فرکانس ۴۰ کیلوهرتز قرار گرفته شد. منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های مختلف گلوکز ترسیم گردید. جذب نوری نمونه ها و استانداردها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (PerkinElmer, Lambda 650) در طول موج ۴۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد[۱۲].

تعیین سطح پراکسیداسیون لیپیدهای غشائی

مقدار آسیب به غشاءها با اندازه‌گیری مقدار مالونیل دی آلوئید (MDA) به عنوان فرآورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء تعیین شد. پنج میلی لیتر از سوسپانسیون جلبکی به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ هزار دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی دور ریخته شد و به نمونه‌ها ۳ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰٪ اضافه شد. پس از هم زدن نمونه‌ها آنها به مدت نیم ساعت در معرض امواج فراصوت با قدرت ۱۰۰ و فرکانس ۴۰ کیلوهرتز قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با rpm ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. پس از اتمام سانتریفیوژ ۱ میلی‌لیتر از هر کدام از نمونه‌ها برداشته شده و به آنها ۱ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید ۰/۲۵٪ اضافه شد و سپس به مدت نیم ساعت نمونه‌ها در دمای ^{0}C ۱۰۰ قرار داده شدند. پس از سرد شدن نمونه‌ها، در طول موج های nm ۵۳۲ و nm ۶۰۰ مقدار جذب توسط اسپکتروفتومتر (PerkinElmer, Lambda 650) اندازه‌گیری گردید و مقدار MDA به کمک ضریب خاموشی 155/mM/cm محاسبه گردید [۱۳].

تجزیه و تحلیل داده ها

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار صورت گرفت. تجزیه و تحلیل داده های حاصل از این تحقیق توسط آنالیز واریانس و مقایسه میانگین ها به روش دانکن با استفاده از نرم افزار SAS و Excel 2010 انجام شد.

نتایج و بحث

کشت های سلولی *D. salina* تحت تاثیر شوری (کلرید سدیم) ۲ و ۳ مولار قرار گرفتند که نتایج مربوطه در جداول ۱ و ۲ ارایه گردیده است.

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر شوری بر کشت سلولی *D. salina*

منابع تغییرات	DF	میانگین مربعات			
		تعداد سلول	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
تکرار	2	744656104.2^{ns}	$0/00005633^{ns}$	$0/00000218^{ns}$	$0/00003634^{ns}$
شوری	1	458713500000^{**}	0.074^{**}	0.017^{**}	0.1647^{**}
خطا	3	8934874628	0.0019	0.00025	0.0021
CV		10.099	8.600	13.82	9.56

$^{**, ns}$ به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱٪

ادامه جدول۱. تجزیه واریانس اثر شوری بر کشت سلولی *D. salina*

منابع تغییرات	DF	میانگین مربعات			
		کاروتنوئید	قند محلول	پروتئین	MDA
تکرار	2	0/00000818^{ns}	726.87^{ns}	28.42^{ns}	0.000003^{ns}
شوری	1	0.016260**	38396.91**	1722.91**	0.000931**
خطا	3	0.000512	269.41	3.464	0.000020
CV		9.109	7.64	4.80	9.980849

$^{**, ns}$ به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱٪

رشد

نتایج نشان داد که تیمار سلول‌ها با دو غلظت شوری ۲مولار و۳ مولار، تفاوت معنی داری در رشد سلول‌ها گذاشت (جدول ۱) به این ترتیب که رشد سلول‌ها در غلظت دو مولار شوری ۱/۳ برابر سلولها در شوری ۳ مولار بود. سطوح بالای سدیم و کلر اثرات سمی مستقیمی بر سیستم‌های غشایی و آنزیمی سلول‌ها ایجاد می‌کند. هم چنین شوری ممکن است سبب کمبود عناصر ضروری و عدم تعادل یونی در سلول‌ها شده و از این طریق مانع رشد و تکثیر سلول‌ها گردد. تنش شوری از طریق سمیت ناشی از املاح سدیم و کلر و مداخله با جذب عناصر معدنی خصوصاً پتاسیم مانع از رشد و تکثیر سلول‌ها می‌شود [۱۴]. در شرایط شوری بالا، جذب پتاسیم توسط سلول‌ها در اثر رقابت با سدیم کاهش می‌یابد، به طوری که کاهش K^+ سبب کاهش فعالیت آنزیم‌ها، فتوسنتز، سنتز پروتئین و انتقال مواد می‌شود که این امر ممکن است منجر به آسیب به سلول‌ها شده و رشد کاهش یابد. از طرفی تنش شوری منجربه تولید گونه‌های فعال اکسیژن شده از این طریق تنش وارد شده به سلول‌ها را تشدید می‌کند [۱۵]. این اثرات سبب کاهش فعالیت‌های متابولیکی از جمله فتوسنتز شده و از رشد سلول‌ها در محیط‌هایی با شوری بسیار بالا می‌کاهد [۱۶ , ۱۷] . معین و شریعتی [۱۸] طی تحقیقی اثر همزمان سالیسیک اسید و تنش شوری را بر روی رشد و تقسیم سلولی *Dunailella salina* بررسی کردند و مشخص شد که تنش شوری باعث کاهش تراکم سلولی و تعداد سلول‌ها در این جلبک شد. Jahnke و همکاران [۱۹] سرعت تقسیم سلولی را تحت تأثیر شوریهای مختلف (بین ۰/۰۵ تا ۳ مولار) بر جلبک *D.tertiolecta* مورد بررسی قرار دادند و مشاهده نمودند که با افزایش غلظت شوری از سرعت رشد این جلبک کاسته می‌شود.

جدول۲. اثر شوری بر رشد و تولید متابولیتهای اولیه در کشت سلولی *D. salina*

شوری (M)	تعداد سلول (cell/ml)	کلروفیل a (ng/cell)	کلروفیل (ng/cell) b	کلروفیل کل (ng/cell)
2	1074167^{a}	0.42689^{a}	0.143578^{a}	0.57046^{a}
3	797667^{b}	0.31547^{b}	0.089311^{b}	0.40478^{b}

حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها در سطح ۰/۰۱ ≥ P است.

ادامه جدول۲. اثر شوری بر رشد و تولید متابولیتهای اولیه در کشت سلولی *D. salina*

شوری (M)	پروتیین (ng/cell)	کاروتنوئید (ng/cell)	قندهای محلول (pg/cell)	MDA (pM/cell)
2	30.2233[b]	0.27457[a]	174.701[b]	0.03954[b]
3	47.1689[a]	0.222512[b]	254.698[a]	0.051998[a]

حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها در سطح ۰/۰۱ ≥ P است.

پروتئین

همان طور که در جدول ۲ ملاحظه می‌شود شوری ۳ مولار نسبت به غلظت ۲ مولار باعث افزایش معنی دار در میزان پروتئین تولیدی توسط سلول‌ها شد. بدین صورت که تولید پروتئین در سلول‌هایی که در غلظت ۳ مولار نمک قرار دارند بیشتر شد. تحمل به تنش شوری با تغییر در سطح پروتئینها همراه است. تنش شوری باعث کاهش یا افزایش میزان پروتئینها می‌شود و یا به طور کامل باعث ناپدید شدن و یا ظاهر شدن برخی پروتئینها می‌شود. محتوای پروتئین سلولهای جلبک با افزایش غلظت شوری افزایش یافت که افزایش محتوای پروتئین‌ها می‌تواند به علت القای پروئین‌های متعدد باشد که یا در پاسخ به تنش شوری ممکن است به طور جدیدی ساخته شوند، به طور مثال اسید آمینه متیونین به تنش اکسیداتیو بسیار حساس بوده و اکسایش متیونین به متیونین سولفواکسید (Metso) منجر به تغییر فعالیت آن و تشکیل بسیاری از پروتئین‌ها می‌شود[۲۰]. و یا به طوری نهادین در غلظت‌های پایین وجود داشته و هنگامی که سلولها در معرض شوری قرار می‌گیرند، غلظت آنها افزایش می‌یابد.

کلروفیل

بر طبق نتایج بدست آمده غلظت کلروفیل aوb وکلروفیل کل با افزایش غلظت نمک به طور معناداری کاهش یافت (جدول ۲). ساختمان‌های درونی سلول‌های جلبک *D. salina* به دلیل داشتن کلروفیل و کلروپلاست و انجام فتوسنتز تا حدود زیادی شبیه به ساختمان درونی سلول‌های گیاهان می‌باشد. کاهش در غلظت کلروفیل یک نشانه بارز از تنش اکسیداتیو است[۲۱] که از هم پاشیدگی غشاء و کاهش کلروفیل از پیامدهای آن می‌باشد. کاهش کلروفیل می‌تواند حالتی از خوگیری سلولها به تنش باشد چرا که امکان آسیب بیشتر به دستگاه فتوسنتز را با تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن در شرایط زیادی انرژی کاهش می‌دهد [۲۲]. از طرفی اختلال در فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی نیز باعث کاهش کلروفیل شده. باافزایش میزان شوری میزان کلروفیل کل و همچنین مقدار کلروفیلa و کلروفیلb کاهش یافت. سلمانی نژاد ۱۳۹۱ [۲۳] نشان داد که در *Dunaliella salina* با افزایش شوری و کاهش نور میزان کلروفیل a به کمترین میزان خود رسید. هم چنین نیکوکار و همکاران [۲۴] که تأثیر تنش شوری را بر روند رشد، رنگیزه‌ها و آسکوربات پر اسکیداز جلبک *D. salina* مورد بررسی قرار دادند، به این نتیجه رسیدند که بیشترین میزان کلروفیل a در شوری ۲ مولار مشاهده شد و با افزایش شوری تا سطح ۴ مولار میزان کلروفیل کاهش یافت. مریم معین و منصور شریعتی ۱۳۸۹ [۲۵] در طی تحقیقی اثر همزمان سالیسیک اسید و تنش شوری بر روی رشد، تقسیم سلولی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و مقدار بتا- کاروتن در جلبک *Dunaliella salina* را بررسی کردند و طبق نتایج بدست آمده نشان داده شد که تنش شوری و سالیسیک اسید به علت کاهش در تراکم سلولی، کاهش میزان کلروفیل را در پی داشت. همچنین در ارزیابی ارقامی از سورگوم، علف‌های در شرایط تنش شوری، کاهش میزان کروفیل کل، کروفیل a و b در نمونه‌های آزمایش گزارش شده است [۲۶]. جریان یون سدیم (Na^+) پتانسیل غشاءِ را بهم می‌ریزد و جذب یون (CL) را تسهیل می‌کند. یون کلر موجب کاهش تولید ریبولوزبیس فسفات شده و از این طریق به جذب و تحلیل گاز کربنیک و در نهایت انجام عمل فتوسنتز آسیب می‌رساند و در ضمن Na^+ باعث تولید اشکال فعال اکسیژن می‌شود [۲۷].

کاروتنوئیدها

در این آزمایش با افزایش غلظت شوری از دو مولار به سه مولار میزان کارتنوئید موجود در جلبک *D. salina* به طور معنی داری در سطح احتمال یک درصد کاهش یافت (جدول ۲). کاروتنوئیدها گروه بزرگی از مولکول‌های ایزوپرونوئید هستند که توسط اندام‌های فتوسنتزی ساخته می‌شوند [۲۸]، که یکی از رنگریزه‌های کلیدی و مهم سیستم آنتی اکسیدانی در گیاهان هستند، امّا آنها به تخریب اکسیداتیو بسیار حساس هستند. Nikokar و همکاران [۲۴] تأثیر شوری را بر روند رشد و رنگیزه‌ها و آسکوربات پر اکسیداز در جلبک *D. salina* بررسی کردند. بر طبق نتایج آنها بیشترین مقدار رنگیزه‌ها در روز بیست و هشتم رشد و در شوری ۲ مولار مشاهده شد. امّا با افزایش شوری بر طبق نظر این محققین کاروتنوئید کل به دلیل کاهش فتوسنتز و رشد سلولی که هر دو عامل باعث کاهش بیومس جلبکی می‌شود، افزایش نداشت، امّا میزان بتاکاروتن افزایش داشت. طبق نظر این محققین بتاکاروتن جزئی از کاروتنوئید است که افزایش بتا کاروتن نمی‌تواند باعث افزایش صدرصدی کارتنوئید شود زیرا بر میزان کاروتنوئید عوامل متعددی دیگری نیز تأثیر گزار است. نتایج تحقیق حاضر با مطالعات Nikokar و همکاران ۲۰۰۴ [۲۴] و Rad و همکاران ۲۰۱۱ [۲۹] مطابقت دارد. Orset و Young، ۲۰۰۰ [۳۰] با استفاده از نتایج بدست آمده از تأثیر شوری بر بیوسنتز جلبک *D. salina* بین ۰/۴ تا ۳/۵ مولار ، نشان دادند که مقدار کاروتنوئید تولید شده از رابطهٔ خاصی تبعیت نمی‌کند. Gomez و همکاران ،۲۰۰۳ [۳۱] نیز این نتایج را اذعان کردند.

قندهای محلول

نتایج محاسبه شده در تحقیق حاضر نشان داد که با افزایش شوری از غلظت دو مولار به سه مولار میزان قندهای محلول محاسبه شده در سلولهای جلبک *D. salina* افزایش یافت (جدول ۲)، به این صورت که میزان قندهای محلول موجود در سلول‌های جلبک رشد یافته در محیط کشت ۳ مولار تقریباً ۲ برابر میزان قندهای محلول موجود در سلول‌های جلبک رشد یافته در محیط کشت با غلظت ۲ مولار بود، که با یافته های قبلی محققین همخوانی دارد. تجمع قندهای محلول سلولها در پاسخ به تنش‌های شوری و خشکی گزارش شده است[۳۲ و ۳۳] .تجمع قندهای محلول در تنظیم اسمزی سلول‌ها و تسهیل جذب آب نقش مهمی را بر عهده دارد [۳۴]. هم‌چنین تحت تنش شوری تجمع قندها به همراه محلول‌های سازگار دیگر به پایداری غشاء سلولی و پروتئین‌ها کمک می‌کند [۳۵]. گاهی در تنظیم اسمزی در هنگام بروز تنش شوری مولکول‌های پلیمری به مولکول‌های کوچک شکسته می‌شوند، به عنوان مثال نشاسته به ساکارز و سپس به مولکول‌های کوچک‌تری مانند گلوکز و فروکتوز تبدیل می‌شوند. بنابراین افزایش در غلظت قندهای محلول ممکن است نتیجهٔ تجزیه نشاسته باشد [۳۶].گرچه اثر شوری بر این صفت در جلبک انجام نشده است ولی در گیاهان وجود کلرید سدیم و نمک باعث افزایش قندهای محلول در جو و گوجه فرنگی شده است [۳۷].

نتیجه گیری

در این تحقیق مشاهده شد که با افزایش شوری رشد سلولها و مقدار رنگیزه های فتوسنتزی کاهش و میزان قندهای محلول و پروتئین و همچنین پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی افزایش یافت.

مراجع

1.Del Campo, J.A., García-González, M. and Guerrero A.M.G. (2007), "Outdoor Cultivation of State and Perspectives," Microbiology and Microalgae for Carotenoid Production Current Biotechnology, (74), 1163–1174.
Research," Saline Systems, (25), 1905-2005. 2.Oren, A. (2005), "A hundred years of *Dunaliella*
Evalution od Different Genotypes of 3.Dadashi M.R., Majidi Hervan, I. and Noorinia, A.A. (2007), "
Stress," J Agri Sci, (1), 181-190. [Persian]. Barley to Salinity
Water Stress." Plant Cell Envioron, (25), 4.Munns R. (2002), "Comparative Physiology of Salt and
239-250.
A. (2011), "Response of Photosystem II 5.Allahverdiyev, S. , Atilla, A., Ismail, B.S. and Sahmurova,
Afr J Biotechnol, 10 (4), Pigments to Salt and Baikal EM1 in Tree Seedlings," and Photosynthetic
535-538.
6.Netondo, G.W., Onyango, J.C,. Beck, E. (2004). "Sorghum and Salinity: II. Gas Exchange and Fluorescence of Sorghum Under Salt Stress," Crop Sci, (44), 806-811. Chlorophyll
Salt Stress on the Primary 7.Gilmour, D.J., Hipkins, F. and Boney, A.D. (1982), "The Effect of Photosynthesis in *Dunaliella tertiolecta."* Plant Sci, (26), 325-330. Processes of
and Crop Potential of 8.Glenn, E.P., Brown, J.J. and Blumwald, E. (1999), "Salt Tolerance Plant Sci, (18), 227–255. Halophytes," CRC Crit Rev
Tolerance in *Dunaliella* by Using Some 9.Madadkar Haghjou, M. (2011), "Induction of Paraquat [Persian]. J Plant Biol, 3 (10), 71-86. Pretreatments,"
10.Frank, G. and Wegmann, K. (1979), "Physiology and Biochemistry of Glycerol Biosynthesis In Dunaliella. *Biol." Zbl*, (93), 707-723.
11.Bradford, M.M. (1976), "A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding," Anal Biochem, (72), 248-254.
12.Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, F.A. and Smith, F. (1956), "Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances," Analytical Chemistry, (28),350-356.
13.De Vos, C.H.R. , Schat, H., De Waal, M.A.D., Vooijs, R. and Ernst, W.H.O. (1991), "Increased Resistance to Copper-Induced Damage of the Root Plasma Membrane in Copper Tolerant *Silene cucubalUS*," *Physiol Plant*, (82), 523–528.
14.Tester, M. and Davenport, R. (2003), "Na+ Tolerance Na+ Transport in Higher plants," Annals of Botany, (91), 503 – 527.
15.Orcutt, D.M. and Nilsen, E.T. (2000), "The Physiology of Plants Under Stress, Soil and Biotic Factors," John Wiley and Sons, New York. pp 177-235.
16.Marschner, H., (1995), "Mineral Nutrition of Higher Plants," Academic Press, London.
17.Greenwey, H. and Munns, R. (1980), "Mechanism of Salt Tolerance in Nonhalophytes," Annual Review of Plant Physiology, (31), 149-190.
۱۸.معین.م. و م. شریعتی.،۱۳۸۹. اثر هم زمان سالیسیک اسید و تنش شوری بر روی رشد(تقسیم سلولی)رنگیزههای فتوسنتزی و مقدار بتا کاروتن در جلبک*Dunalilla salina*. مجله زیست شناسی ایران.جلد۲۳، شماره ۵، ص ۶۳۸-۶۴۸.
19.Jahnk, L. S. and White, A. L. (2003), **"**Long-term Hyposaline and Hypersaline Stress Produce Distinct Antioxidant Responses in the Marine Algae *Dunaliella tertiolecta*,"Journa of Plant Physiology.160, (10),1193-202.
20.Davies, M. J. (2005), "The Oxidative Environment and Protein Damage," Biochimicaet Biophysica Acta1, (703), 93-109.
21.Egert, M. and Tevini, M. (2002), "Influence of Drought on Some Physiological Parameters Symptomatic for Oxidative Stress in Leaves of Chives," (*Allium schoenoprasum*). Environmental Experimental Botany, (48), 43-49.
22.Jung, S. (2004), "Variation in Antioxidant Metabolism of Young and Mature Leaves of *Arabidopsis thaliana* Subjected to Drought," Plant Science, (166), 459-466.

۲۳.سلمانی نژاد، م. ۱۳۹۱. اثرات نور و شوری بر کاروتنوئیدهای Dunaliella salina دریاچه ارومیه. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت مدرس. تهران.

24.Nikokar, K., Moradshahi, A. and Kharati, M., (2004), "Infuence of Salinity on Thegrowth, Pigmentation and Ascorbate Peroxidase Activity *Dunaliella salina* isolated from Maharlu Salt Lake in Shiraz," Iranian Journal of Science & Technology, Transaction, A. (28), 117-125.

۲۵.معین.م. و م. شریعتی.،۱۳۸۹. اثر هم زمان سالیسیک اسید و تنش شوری بر روی رشد(تقسیم سلولی)رنگیزههای فتوسنتزی و مقدار بتا کاروتن در جلبک*Dunalilla salina*.مجله زیست شناسی ایران.جلد۲۳، شماره ۵، ص ۶۳۸-۶۴۸

۲۶.یارنیا، م. 1386، ارزیابی تعدادی از شاخصهای فیزیولوژیکی ارقام سورگوم علف های در شرایط تنش شوری، مجله علوم کشاورزی. دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، شماره۱,۳۲-۴۱

27.Mahajan, S. and Tuteja, N. (2005), **"**Cold, Salinity and Drought Stress," An Overview. Archives of Biochemistry and Biophysics, (444), 139-148.

28.Andrew, J. S., H. Moreau, M. Kuntz, G. Pagny, C. Lin, S. Tanksley and J. McCarthy. (2008), "An Investigation of Carotenoid Biosynthesis in Coffea canephora and Coffea Arabica," J. Plant Physiol. (165), 1087-1106.

29.Rad, F. A., Aksoz, N. and Hejazi, M. A. (2011), "Effect of Salinity on Cell Growth and β-carotene Production in Dunaliella SP," Isolates from Urmia Lake in northwest of Iran. African Journal of Biotechnology, 10(12), 2282-2289.

30.Orset, S.C. and Young, A. J. (2000), **"**Exposure to Low irradiances Favors the Synthesis of 9-cis β , β-Carotene in *Dunaliella salina* (Teod)," Plant Physiology. (122), 609-618.

31.Gomez, P.I., Barriga, A., Cifuentes, A.S. and Gonzalez, M.A.(2003). "Effect of Salinity on the Quantity and Quality of Carotenoids Accumulated by Dunaliellasalina accumulated (strain CONC-007) andDunaliellabardawil (ATCC30861) chlorophyta." Biological Research, 36(2), 185-192.

32.Dubey R.S., Singh A.K. (1999). "Salinity Induces Accumulation of Soluble Sugars and Alters the Activity of Sugar Metabolizing Enzymes in Rice Plants**."** *Biol.Plant*. (42), 233-239.

33. Binzel ML, Pana-Hess F, Bressan RA, Hasegawa PM (1989), "Mechanism of Adaptation to Salinity in Cultured Glycophyte Cells." In: Cherry JH (ed) Environmental Stress in Slant (pp.139-153).Springer-Verlag, Berlin.

34. Pessarakli, M. (1999), "Handbook of Plant and Crop Stress". Second Edition. Marcel Dekker, Inc. Plant Science, (164) , 1019-1028.

35.Sanchez F.J., Manzanares M., Andres E.F., Tenorio J.L., Ayerbe L., Andres E.F. (1998), "Turgor Maintenance, Osmotic Adjustment and Soluble Sugar and Proline Accumulation in 49 pea Cultivars in Response to Water Stress ," *Field Crops Res*.(**59)**, 225-235.

36. Fischer C. and Holl W. (1991), "Food reserves in scots Pine" (*Pinus sylvestris* L.)

37.El Tayeb, M. A. (2005), "Response of Barley Grains to The Interactive Effect of Salinity and Salicylic Acid," Plant Growth Regulation, (45), 215-224.