ارزیابی فعالیت نیتروژنازی، فتوسنتز، رشد و وضعیت رنگیزه‌ای سیانوباکتریوم خاک‌زی فیشرلا امیکوس[1] FS18 تحت تیمارهای مختلف شوری

ندا سلطانی: پژوهشکده علوم پایه کاربردی، جهاد دانشگاهی
رمضانعلی خاوری نژاد: دانشگاه تربیت معلم
شادمان شکروی: دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
ادواردو فرناندز والینته: دانشگاه اتونومای مادرید، اسپانیا

چکیده

با توجه به نقش بسیار مهم سیانوباکتری‌های خاک‌های مزارع در تثبیت و فراهم آوردن نیتروژن مولکولی، در این پروژه سعی بر آن شده است که پاسخ‌های فیزیولوژیک فیشرلا امبیگوا[1] FS18 به تیمارهای مختلف NaCl (۰، ۰/۵ و ۱%) بررسی شود. نتایج نشان می‌دهد که میزان رشد در محیط فاقد شوری (NaCl) بالاتر از سایر تیمارها است. با وجود این، رشد در تمام تیمارها انجام شدده است. این مسئله در مورد فعالیت‌های فیزیولوژیک نیز صدق می‌کند. مقدار کلروفیل روندی کاهشی با افزایش NaCl نشان می‌دهد. مقدار فیکوبیلی پروتئین کل، فیکوسیانین، آلوفیکوسیانین و فیکواریترین، گرچه در شوری ۰/۵% کمترین مقدار را نشان می‌دهد, ولی این تفاوت با دو تیمار دیگر معنی‌دار نیست. میزان اشباع نوری فتوسنتز در تیمار کنترل حداکثر بوده و با افزایش میزان شوری، کاهش می‌یابد. نتایج سنجش فعالیت نیتروژنازی حاکی از آن است که کشت‌هایی که رشد سریع‌تری دارند، سریع‌تر به حداکثر فعالیت خود می‌رسند ضمن آن‌که بیش‌ترین میزان در تیمار کنترل مشاهده شده و بین تیمار ۰/۵ و ۱% تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود.

مقدمه

بسیاری از اکوسیستم‌های کشاورزی تحت تأثیر شوری‌اند بنا بر این برای گیاهان زراعی مناسب نیستند. از جمله این مناطق می‌توان به زمین‌های کشاورزی کمربند ساحلی کشور اشاره کرده که از آب دریا متأثرند و شوری آن‌ها در مقایسه با آب دریا کم‌تر است.

سیانوباکتری‌ها جزء اصلی محیط‌های شور, مانند زمین‌های کشاورزی مجاور دریا، دریاچه‌های شور، چشمه‌های گوگردی فوق شور و شوره زارها را تشکیل می‌دهند. رسوباتی که در این چنین محیط‌هایی در معرض

کلمات کلیدی: رنگیزه‌های فتوسنتزی، سیانوباکتری‌ها، شوری، فتوسنتز، نیتروژناز

۱- *Fischerella ambigua*

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

نور قرار می‌گیرند، اغلب از جمعیت‌های متراکم سیانوباکتری‌های تک سلولی و ریسه‌ای پوشیده شده‌اند که ممکن است عامل تولیدات اولیه این محیط‌ها باشند[۱۱]. سیانوباکتری‌ها به عنوان کودهای بیولوژیک, در بسیاری از کشورهایی که کشت برنج در آن‌ها انجام می‌شود، استفاده می‌شوند[۲۰]. اگرچه نیاز به سدیم برای فعالیت‌های فیزیولوژیکی مانند تثبیت نیتروژن[۱]، رشد، فتوسنتز و تنظیم pH درون سلولی[۹] انتقال کربن و انرژی[٤] و بقای روبیسکو[۳] در سیانوباکتری‌ها نشان داده شده است. افزایش شوری، برخی از پاسخ‌های سازشی را القا می‌کند. این پاسخ‌ها با توجه به نوع سیانوباکتری متفاوت است و می‌تواند در فعالیت‌های فیزیولوژیکی, مانند فتوسنتز، رشد، تثبیت نیتروژن و نیز ترکیبات بیوشیمیایی مانند رنگ‌دانه‌ها مشاهده شود. تحقیقات صورت گرفته در زمینه پاسخ‌های بیوشیمیایی در سیانوباکتری‌ها در تنش شوری زیاد انجام شده است، در حالی که پاسخ‌های فیزیولوژیک کم‌تر مورد توجه قرار گرفته است.

با توجه به این‌که دامنه وسیعی از گونه‌های متعلق به گروه‌های تاکزونومیک، در این مناطق زندگی می‌کنند، در این مقاله، تأثیر شوری اندک روی فعالیت فیزیولوژیک سیانوباکتری فیشرلاامبیگوسFS18 که در این زیستگاه‌های طبیعی زندگی کرده و همچنین به عنوان کود در این خاک‌ها استفاده می‌شوند، بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

جداسازی سیانوباکتریوم

سیانوباکتریوم فیشرلاامبیگوسFS18 از خاک‌های مزارع برنج در استان گیلان جدا شد. جداسازی و خالص سازی با کمک روش‌های متداول انجام شد[۲۱]. پس از حصول کشت خالص، سیانوباکتری در محیط کشت مایع کشت شد.

شرایط کشت

محیط کشت مورد استفاده BG110 بود. دما در ۳۰°C ثابت نگه داشته شد. کشت‌ها با هوا(شدت جریان، ۲۰۰ میلی‌لیتر در دقیقه) تحت شدت نور ۶۰ $\mu mol\ photon\ m^{-2}\ s^{-1}$ که با سه لامپ فلورسانت تأمین می‌گشت، هوادهی می‌شد. سلول‌ها در فاز لگاریتمی رشد از محیط استوک برداشت شده و به عنوان ماده تلقیحی برای آزمایش‌ها استفاده می‌گشت.

شوری مورد استفاده برای تهیه تیمارها ۰، ۰/۵ و ۱% بود. سلول‌های کشت استوک در ۳۰۰ ml از محیط کشت BG110 در ارلن‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری که توسط پنبه مسدود شده بودند، تلقیح گردیدند. محیط کشت توسط HEPES ۲/۵ mM بافری شده و با کمک HCl یا KOH در pH ۸ ثابت گردیدند. هوادهی به صورت مداوم انجام شد و نور در این مرحله با کمک لامپ سفید فلورسانت ۴۰ W تأمین می‌شد.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

روش‌های سنجش

رشد با اندازه‌گیری وزن خشک[۷]، سنجیده شد. به منظور اندازه‌گیری محتوای کلروفیل از روش اسپکتروفتومتری استفاده گردید. بدین منظور سلول‌ها با استفاده از متانول خالص برای ۲٤ ساعت در دمای ٤ °C، استخراج شده و OD سوپرناتانت با اسپکتروفتومتر در ٦٦٥ نانومتر سنجیده شد[۸]. برای اندازه‌گیری فیکوبیلی‌پروتئین‌ها، ابتدا سلول‌ها با کمک گلیسرول تحت شوک اسمزی قرار گرفت. سپس با افزودن استات سدیم جذب فیکوبیلی‌پروتئین‌ها با اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ٥٦٢، ٦١٥ و ٦٥٢ نانومتر خوانده شده و میزان آن‌ها سنجیده شد[۲۲].

فعالیت نیتروژنازی

فعالیت نیتروژنازی با کمک احیای استیلن در ۱۵ ml از سوسپانسیون در ارلن‌های ۲۵ میلی‌لیتری سنجیده شد. قبل از تلقیح، ۱۰% از هوای داخل ارلن با حجم مساوی از استیلن، جانشین گردید. سلول‌ها به مدت یک ساعت، تحت شرایط مشابه با کشت، گرماگذاری شد. بعد از گرماگذاری ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه گاز، برداشت شده و غلظت اتیلن در کروماتوگراف گازی شیمادزو[۱] GC-8 سنجش شد[۱۸].

فتوسنتز

تصاعد اکسیژن با کمک الکترود کلارک تایپ[۲] O_2 اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۲ میلی‌لیتر از سوسپانسیون در کووت ریخته شده و میزان تصاعد سنجیده شد.

روش‌های آماری

اطلاعات مورد استفاده، میانگین و انحراف معیار حداقل چهار تکرار است. تحلیل‌های آماری با کمک تست آنوا[۳] با استفاده از نرم افزار SPSS ver.12 انجام گردید.

نتایج

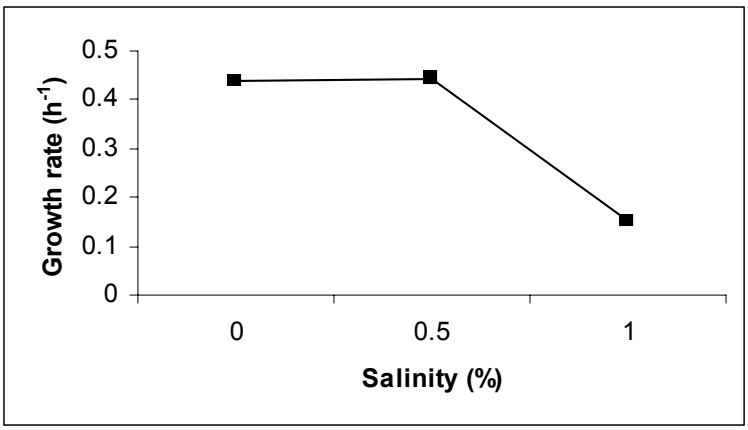
میزان رشد در سوش فیشرلاامبیگوسFS18 با افزایش شوری، سیر نزولی را از خود نشان می‌دهد(شکل۱). مقدار بیومس در شوری ۰/۵% کمی بالاتر از محیط فاقد شوری است ولی این تفاوت معنی‌دار نیست(آنوا[۳], $P<۰/۰۰۱$). اختلاف بین میزان رشد در شوری ۱% با محیط فاقد شوری و نیز شوری ۰/۵% معنی‌دار است.

تأثیر شوری بر روی محتوای کلروفیل در شکل ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل ۲ ملاحظه می‌شود، شوری اثرکاهنده‌ای بر روی میزان کلروفیل در سوش فیشرلاامبیگوسFS18 دارد، به طوری که کم‌ترین

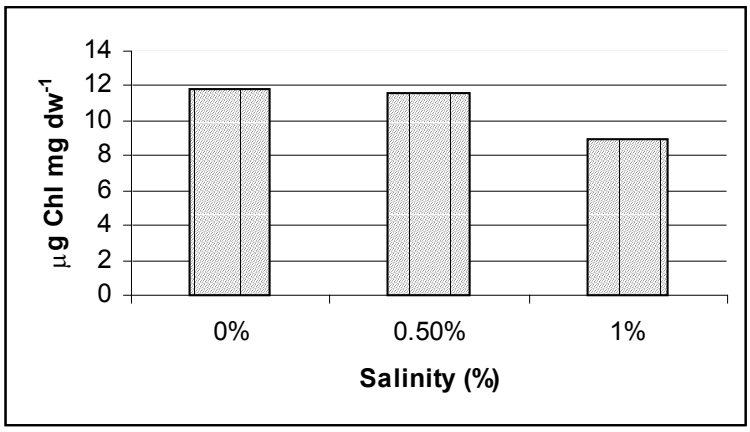
۱-Shimadzu ۲ -Clark-type (Hach Chemical Company) ۳ -ANOVA

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

میزان کلروفیل در شوری ۱% دیده می‌شود. شوری ۰/۵ و ۰% به ترتیب ۱۱/۵۷ و ۱۱/۷۸میکروگرم کلروفیل در میلی‌گرم وزن خشک را نشان می‌دهند.



شکل ۱- میزان رشد در شوری‌های مختلف در فیشرلا امبیگوسFS18



شکل ۲- میزان کلروفیل در شوری‌های مختلف در فیشرلا امبیگوسFS18

محتوی PBP برخلاف آن‌چه در مورد کلروفیل مشاهده شد، در شوری ۱% بیش‌ترین مقدار را نشان می‌دهد (۱۲٤میکروگرم برمیلی‌گرم وزن خشک) ولی این اختلاف معنی‌دار نیست. این مقدار در شوری‌های دیگر سیر نزولی پیدا می‌کند و کمترین مقدار آن در محیط ۰/۵% مشاهده می‌شود.

میزان PC و PE نیز از همین روند پیروی می‌کنند. همان طور که در جدول۱ملاحظه می‌شود, حدود نیمی از فیکوبیلی پروتئین‌های موجود در سوش فیشرلا امبیگوسFS18 فیکوسیانین است. این مقدار در شوری ۱% بیشینه بوده و در محیط فاقد شوری و شوری ۰/۵% به ترتیب سیر نزولی را نشان می‌دهد.

اندازه فیکوبیلی زوم‌ها نیز در تیمارهای مختلف بررسی شد(جدول۲). این میزان در محیط فاقد شوری بیش‌ترین مقداررا نشان داده است و همچنین در شوری۰/۵% به دلیل نبودنAPC قابل اندازه‌گیری نبود. نسبت

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

بین PSII به PSI نیز در شوری ۱% به بیشینه مقدار خود می‌رسد و در ۰/۵% صفر است.

جدول ۱- مقادیر فیکوبیلی پروتئین‌ها در شوری‌های مختلف ($\mu g\ mg\ dw^{-1}$)

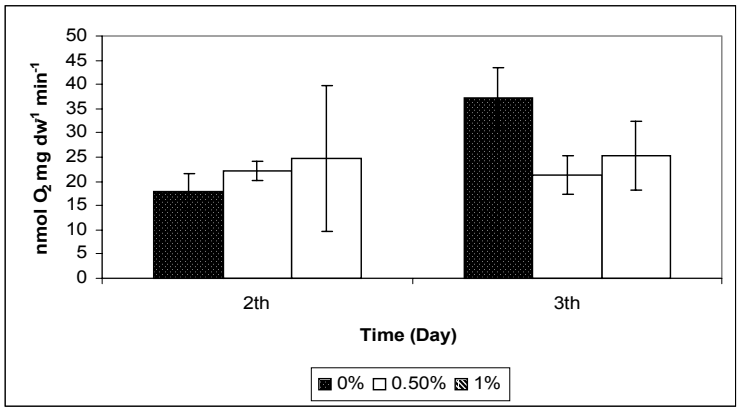
زمان (روز)	۰ (%)	۰/۵ (%)	۱ (%)
APC	۱۸/۵ ± ۶/۰۵	۰	۱۵/۵ ± ۵/۳۷
PC	۵۷/۷۹ ± ۱۷/۵	۴۰/۴ ± ۱۴/۹	۶۰/۲۵ ± ۳۶/۵
PE	۳۲/۳± ۱۱/۹	۳۲/۴۵± ۱۲/۷	۴۸/۲۹ ± ۲۷/۸
PBP	۱۰۸/۶± ۳۳/۸	۷۲/۸۶ ± ۲۷/۵	۱۲۴/۰۲ ± ۷۵/۵۳

جدول ۲- تأثیر مقادیر مختلف شوری بر رویAPC/(PC+PE) و APC کلروفیل از فیشرلا امبیگوس استرین FS18

شوری(%)	APC/Chla	(PC+PE)/APC
۰	۱/٦۰ ± ۰/۵۸	٤/۹٤ ± ۰/۹
۰/۵	۰	-
۱	۳/۸۷ ± ۲/۲	۳/۷۵ ± ۰/۱۹

- غیر قابل اندازه‌گیری

میزان فعالیت فتوسنتزی سلول‌ها نیز به منظور بررسی اهمیت عملی تغییر طرح رنگیزه‌ای بررسی شد. بدین منظور, میزان فعالیت فتوسنتزی به صورت کوتاه مدت و بلند مدت ارزیابی شد. شکل۳ میزان فعالیت فتوسنتزی را در روزهای دوم و سوم پس از تلقیح نشان می‌دهد. همان طور که در این شکل ملاحظه می‌شود، بیشینه میزان فتوسنتز در روز سوم و در محیط فاقد شوری وجود دارد. این میزان با محتوی کلروفیل مطابقت دارد. میزان فتوسنتز در شوری‌های ۰/۵ و ۱% در مراتب پایین تر قرار دارد.

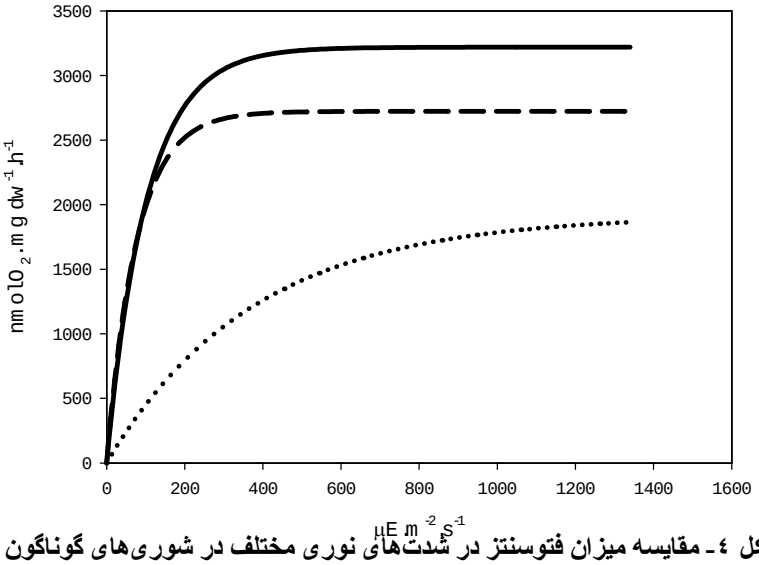


شکل ۳- میزان فتوسنتز در روزهای دوم و سوم پس از تلقیح در فیشرلا امبیگوسFS18

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

در آزمایش‌های کوتاه مدت فتوسنتز، ابتدا سیانوباکتری در تیمارهای مختلف کشت داده شد و در هنگام آزمایش، میزان تصاعد اکسیژن مولکولی در معرض شدت‌های مختلف نوری سنجیده شد(شکل۴) همان طور که در این شکل نشان داده شده است، حداکثر میزان فتوسنتز(P_{max}) در محیط فاقد شوری ملاحظه می‌شود که مؤید نتایج مربوط به آزمایش‌ها کوتاه مدت فتوسنتز است. همچنین کارایی فتوسنتز در شوری ۰/۵% در حداکثر میزان خود ملاحظه می‌شود.

همچنین میزان نوری که فتوسنتز در آن به اشباع می‌رسد(I_k) در محیط فاقد شوری بیش‌تر از سایر تیمارها است. این مقدار در مورد شوری‌های ۰/۵ و ۱% به ترتیب ۰/۸۶ و ۰/۶۷ میکروانشتین بر متر مربع بر ثانیه است.



شکل ٤- مقایسه میزان فتوسنتز در شدت‌های نوری مختلف در شوری‌های گوناگون
____ ۰%، ----- ۰/۵% و ..... ۱%.

تغییرات فعالیت نیتروژنازی در تیمارهای مختلف نیز از دیگر پارامترهایی بود که بررسی شد زیرا میزان فعالیت نیتروژنازی تحت تأثیر شوری قرار می‌گیرد. حداکثر فعالیت نیتروژنازی در هر سه تیمار در روز سوم ملاحظه می‌شود (نتایج نشان داده نشده است). این میزان در محیط فاقد شوری بیش‌ترین مقدار بوده و با افزایش شوری، سیر نزولی نشان می‌دهد. تأثیر شوری بر میزان فعالیت نیتروژنازی دارای اختلاف معنی‌دار است(آنوا, $P<۰/۰۰۱$).

بحث و نتیجه گیری

همان گونه که در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است، میزان رشد با افزایش شوری کاهش پیدا می‌کند, با وجود این ملاحظه می‌شود که رشد همچنان در شوری ۱% ادامه می‌یابد. این نتایج با یافته‌های[۱٦] تطابق

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

دارد که نشان دادند، نوستوک[۱] *sp.* در محیط فاقد نیتروژن رشد کرد ولی با افزایش شوری، رشد آن کاهش می‌یابد. همچنین مویسندر[۲] و همکاران(۲۰۰۰) در تحقیقی نشان داده‌اند که آنابنوپسیس[۳] در دامنه شوری ۲-۲۰ گرم درلیتر NaCl میزان رشد مشابهی از خود نشان می‌دهد. در حالی که آنابنا افانیزومنوید[۴] تا شوری ۱۵گرم در لیتر افزایش رشد داشته است, ولی میزان ۲۰ گرم درلیتر برای رشد آن بازدارنده است. در صورتی که آستانه تحمل شوری درکلیندروس‌پرسپرموپسیس[۵] ٤ گرم در لیتر است[۱۰].

این نتایج همچنان با تغییرات محتوای کلروفیل در مقادیر مختلف شوری مطابقت دارد. در شکل ۲روندی مشابه با آن‌چه در خصوص نرخ رشد ملاحظه گردید، می‌توان یافت. این نتایج با توجه به نقش کلروفیل در رشد سیانوباکتری‌ها و تغییرات آن با عوامل محیطی سازگاری دارد. این یافته‌ها همچنین نشان می‌دهد که این سیانوباکتری در مقابل شوری تا میزان ۱% مقاومت دارد، گرچه رشد آن کاهش می‌یابد. در این رابطه روسالز[۶] وهمکاران(۲۰۰۵) تحقیقی بر روی اثر شوری بر روی سیانوباکتریوم سینه‌کوکوئوس[۷] جدا شده از محیط‌های فوق شور انجام داده‌اند و نشان داده‌اند که بیشینه وزن خشک، کلروفیل a و رنگدانه‌های بتاکاروتن و زئاگزانتین در در ۱۰۰ppt است. این سوش مقاوم به شوری است[۱۵].

تغییرات شوری تأثیر معنی‌داری بر رنگدانه‌های فیکوبیلی پروتئین نگذاشته است و اختلافات نامحسوس است. این بدان معنی است که تغییرات رشد فقط در اثر کاهش کلروفیل در این سیانوباکتری حادث می‌شود و آنتن‌های گیرنده نوری نقش چشمگیری در این میان ندارند. همچنین ملاحظه می‌شود که بیش‌ترین مقدار فیکوبیلی پروتئین‌ها را, در این سیانوباکتری، فیکوسیانین‌ها تشکیل می‌دهد. میزان آلوفیکوسیانین و فیکواریترین مقادیر ناچیزی را شامل می‌شوند، گرچه هنوز تحقیقی بر روی وجود یا عدم فیکواریترین در این سیانوباکتری انجام نگرفته است[۱۷].

اندازه فیکوبیلی زوم‌ها و نسبت PSII به PSI نیز تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد. این فاکتورها بیش‌تر تحت تأثیر نور قرار گرفته است, ولی در تحقیق حاضر تغییرات آن نسبت به شوری سنجیده شده است. اندازه فیکوبیلی زوم‌ها در محیط بدون شوری بیش‌ترین مقدار بوده است, ولی نسبت PSII به PSI در شوری ۱% به بیشینه مقدار خود رسیده است.

حداکثر میزان فتوسنتز(P_{max}) در شوری ۰% ملاحظه می‌شود که مؤید نتایج مربوط به آزمایش‌ها کوتاه مدت فتوسنتز است. این مقدار در شوری ۰/۵ و ۱% سیر نزولی از خود نشان می‌دهد. کارایی فتوسنتز در شوری ۰/۵% در حداکثر میزان خود ملاحظه می‌شود. گرچه این مقدار به میزان چشمگیری نسبت به شوری ۱% افزایش نشان می‌دهد, ولی تفاوت آن با تیمار کنترل بدون معنی است. به طور کلی, این نتایج حاکی از تأثیر معنی‌دارشوری بر

۱-*Nostoc* ۲ - Moisander ۳ - *Anabaenopsis sp.* ٤ - *Anabaena aphanizomenoides*
۵-*Cylinderospermopsis* ٦ - Rosales ۷ -*Synechococcus*

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

روی فتوسنتز است. بدین معنی که شوری بر روی توانایی سیانوباکتری بر روی استفاده از حداقل نور برای انجام فتوسنتز تأثیر منفی می‌گذارد. این سیانوباکتری برای انجام عمل فتوسنتز در محیط شور نیاز به نور بیش‌تری دارد؛ ولی به هر حال فتوسنتز در این شوری متوقف نمی‌شود. این نتایج با نتایج مربوط به رشد نیز تطابق دارد.

سیانوباکتری‌ها قادرند نیتروژن اتمسفری را تثبیت کنند[۱۹] و فراوانی آن‌ها در مزارع برنج اهمیت زیادی در کشورهای آسیایی که کشت برنج در آن‌ها انجام می‌شود، دارد[۲۰],[۱۴]. همان طور که از نتایج می‌توان استنباط کرد، بیشینه میزان تثبیت نیتروژن در روز سوم و در محیط فاقد شوری(۱۸/۵ nmol C_2H_4/mgdw.h) مشاهده می‌شود. این میزان با افزایش شوری روند کاهشی نشان می‌دهد؛ ولی۱% شوری کاهشی۱۶% را در میزان فعالیت نیتروژنازی نشان می‌دهند. ضمن آن که زمان رسیدن به بیشینه فعالیت نیز با تأخیر صورت می‌گیرد. این نتایج با نتایج به دست آمده در تحقیقات[۱۲] و[۵] مطابقت دارد؛ ولی مخالف یافته‌های[۱۶] است. مقایسه این نتایج با نتایج مربوط به فتوسنتز نشان می‌دهد که بیشینه مقدار فعالیت نیتروژنازی با بیشینه میزان فتوسنتز هم‌آهنگی دارد. این بدان معناست که در اثر فتوسنتز اسکلت کربنی مورد نیاز برای انجام فعالیت نیتروژنازی فراهم گشته و انرژی مورد نیاز نیز از همین طریق فراهم می‌شود. به نظر می‌رسد که میزان فعالیت نیتروژناز در سیانوباکتریوم‌های مختلف متفاوت باشد به طوری که در خاک‌های شور، تثبیت نیتروژن در آنابنا بیش‌تر از نوستوک است[۶].

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که سیانوباکتریوم فیشرلاامبیگوسFS18 نسبت به شوری از خود مقاومت نشان می‌دهد، به طوری که رشد آن در شوری ۱% نیز متوقف نمی‌شود, ولی این میزان شوری باعث کاهش روند رشد در این سیانوباکتری می‌شود. این کاهش در سایر فاکتورهای متابولیکی مانند فتوسنتز و تثبیت نیتروژن نیز مشاهده می‌شود. برخی تحقیقات نشان می‌دهد که سیانوباکتری‌های مقاوم به شوری انواع اسمولیت‌ها را برای تعدیل شوک هیپرسالین حاصل از افزایش NaCl در محیط بیرونی می‌سازند[۱۳]. البته « پروتئین‌های تنش شوری» نیز در این امرنقش دارند[۱]. نوع اسمولیتی که تحت تأثیر شوری در این سیانوباکتریوم ساخته می‌شود، می‌تواند موضوع تحقیق آینده باشد.

از بعد کشاورزی اصلاح خاک‌هایی که تحت تأثیر شوری قرار می‌گیرند، با کمک سیانوباکتری‌های مقاوم به شوری به عنوان عوامل اصلاح خاک می‌تواند مفید فایده باشد ولی این راهکار موقتی است؛ زیرا بیش از۹۰% از Na^+ در غلاف موکوپلی ساکاریدی این سیانوباکتریوم به دام می‌افتد و هیچ نشانه‌ای از اتصال Na^+ به بیومولکول‌ها خصوصاً پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها وجود ندارد. بنابراین استفاده از آن‌ها نمی‌تواند راهکار مناسبی برای اصلاح شوری خاک باشد، زیرا با مرگ سیانوباکتری‌ها، Na^+ به خاک بر می‌گردد[۲].

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

منابع

1. S.K. Apte and A.A. Bhagwat, Salinity-stress-induced proteins in two nitrogen-fixing *Anabeana* strains Differently Tolerant to salt, J. Bacteriol. 171 (1989) 909-915.
2. S.K. Apte and J. Thomas, Possible Amelioration of Coastal Soil Salinity using Halotolerant Nitrogen-fixing Cyanobacteria, Plant and soil 189 (1997) 205-211.
3. S. Asami, T. Takabe, T. Akazawa and G.A. Codd, Ribulose 1, 5- bisphosphate carboxylase from the Halophilic Cyanobacterium *Aphanothece Halophytica,* Arch. Biochem. Biophys, 225 (1983) 713-721.
4. I.I. Brown, S.I. Fadeyev, L.M. Gerasimenko, I.I. Kirik, M.Y. Pushenko and I.I. Severina, Sodium ions are necessary for Growth and Energy Transduction in the Marine Cyanobacterium *Oscillatoria brevis,* Arch. Microbiol. 153 (1990) 409-411.
5. H.J. Dicker and D.W. Smith, Effects of Salinity on Acetylene Reduction (Nitrogen fixation) and respiration in a marine *Azetobacter,* Appl. environ. Microb. 42(1981) 740-744.
6. M.A. Hashem, Ecophysiological Studies of Cyanobacteria in Paddy soils. In: Nitrogen fixation with non-legumes. Eds: k.A. Malik et al., Kluwer academic publishers (1998).
7. F. Leganés, E. Sanchez Maeso and E. Fernández-Valiente, Effect of indoleacetic acid on growth and Dinitrogen fixation in Cyanobacteria. Plant Cell Physiol. 28 (1987) 529-533.
8. A.F.H. Marker, The use of Acetone and Methanol in the Estimation of Chlorophyll in the presence of Phaeophytin. Freshwater Biol. 2 (1972) 361-385.
9. A.G. Miller, D.H. Turpin and D.T. Canvin, Na^+ requirement for growth, Photosynthesis, and pH regulation in the Alkalotolerant Cyanobacterium *Synechococcus leopoliensis*. J Bacteriol. 159 (1984) 100-106.
10. P.H. Moisander, E. McClinton and H.W. Pearl, Salinity effects on growth, Photosynthetic parameters, and Nitrogenase activity in Estuarine Planktonic Cyanobacteria. Microb. Ecol. 43 (2002) 432-442.
11. Oren, Salts and brines. In: The Ecology of Cyanobacteria. (eds) B.A. Whitton, and M. Potts. Kluwer Academic Publishers. Netherlands, (2000) 281-306.
12. V. Rai, S.P. Tiwari and A.K. Rai, Effect of NaCl on Nitrogen fixation of unadapted and NaCl-adapted *Azolla pinnata – Anabaena azollae*. Aqua. Bot. 71 (2001) 109-117.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

13. B.R. Reed, L.J. Borowitzka, M.A. Mackay, J.A. Chudek, R. Foster, S.R.C. Warr, D.J. Moore and W.D.P. Stewart, Organic solute Accumulation in Osmotically stressed Cyanobacterium. FEMS Microb. Rev. 39 (1986) 51-56.
14. P.A. Roger and S. A. Kulasooriya, Blue - green algae and rice. Theinter National Rice Research institute . Los Banos Laguna, Philippines (1980).
15. N. Rosales, J. Ortega, R. Mora and E. Morales, Influence of salinity on growth and biochemical composition of the Cyanobacterium *Synechococcus sp.* Ciencias Marinas 31 (2005) 349-355.
16. S. Sekar and S. Subramanian, Influence of low levels of salinity on the primary metabolism of the Fresh Water Cyanobacteria *Phormidium* and *Nostoc*. Revista Brasileira Fisiologia Vegetal 11(1999) 83-89.
17. N. Soltani, R. Khavari-Nejad, M. Tabatabaie, SH. Shokravi and E.F. Valiente, Variation of Nitrogenase Activity, Photosynthesis and Pigmentation of Cyanobacterium *Fischerella ambigua* Strain FS18 under Different Irradiance and pH. World J. Microb. Biotech. (2005) In Press.
18. W.D.P. Stewart, G.P. Fitzgerrald and R.H. Burris, Acetylene reduction by nitrogen-fixing blue-green algae. Arch. Mikrob. 62 (1968) 336-348.
19. WDP. Stewart, Some aspects of structure and function in nitrogen-fixing cyanobacteria. Ann. Rev. Microb. 34 (1980) 497-536.
20. G.S. Venkataraman, blue-green algae for rice production. FAO Soils Bulletin. No. 46 (1981), Rome.
21. Vonshak, Laboratory techniques for the cultivation of microalgae. In: Hand book of microalgal mass culture (ed.) Richmond, A. (1986) 117-147. Florida: CRC Press.
22. M. Wyman and P. Fay, Underwater light climate and the growth and pigmentation of Planktonic blue-green algae (cyanobacteria). I. The influence of light quantity. Proc. R. Soc. Lond. 227 (1986) 367-380.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]