

تأثیر آهن بر تقسیم سلولی و سنتز رنگیزه‌های کلروفیل و بتاکاروتن درون سلولی در جلبک سبز تک‌سلولی *Dunaliella*مریم کمالی سروستانی^۱، منصور شریعتی^{۲*} Ph.D.، مریم مددکار حق جو^۳ Ph.D.

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، اصفهان، ایران

۲- دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، اصفهان، ایران

۳- دانشگاه لرستان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، خرم‌آباد، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: mansour_shariati@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۸/۲۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۲

چکیده

هدف: هدف از این مطالعه بررسی تأثیر آهن بر روی میزان رشد سلولی و مقادیر رنگیزه‌های کلروفیل و بتاکاروتن درون سلولی در جلبک سبز تک‌سلولی *Dunaliella* می‌باشد.

مواد و روش‌ها: غلظت‌های ۴، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میکرومولار آهن بر دو گونه *D. salina* و *D. bardawil* اعمال و سپس میزان بتاکاروتن و کلروفیل کل درون سلولی و همچنین تقسیم سلولی در یک دوره رشدی اندازه‌گیری گردید. جلبک‌ها به اتاقک کشت با دمای شبانه روزی ۲۶±۲ با فتوپریود ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی انتقال داده شدند.

نتایج: در هر دو گونه بیشترین رشد سلولی در غلظت ۴ میکرومولار مشاهده گردید و با افزایش غلظت آهن، رشد سلولی و مقدار کلروفیل کاهش یافت که شدت کاهش در غلظت ۵۱۲ میکرومولار از بقیه تیمارها بیشتر بود. بالاترین میزان بتاکاروتن سلولی نیز در غلظت ۱۲۸ میکرومولار مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج حاکی از آنست که حضور آهن در هر دو گونه جلبکی احتمالاً باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد و سلول‌ها جهت مقابله، میزان کلروفیل سلولی و در نتیجه رادیکال‌های حاصل از آن را کاهش داده و از طرفی جهت مقابله با رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط تنش آهن مقادیر زیادی بتاکاروتن را به‌عنوان آنتی‌اکسیدان تولید می‌نماید. به‌نظر می‌رسد *D. salina* به‌واسطه استفاده از تولید بتاکاروتن در سطح پایین و احتمالاً استفاده از تولید سایر آنتی‌اکسیدان‌ها و کاهش میزان کلروفیل در سطح موثرتری کارایی بهتری در مقاومت در برابر آهن نسبت به *D. bardawil* را دارد.

واژگان کلیدی: آهن، بتاکاروتن، دونالیه لا، کلروفیل، تقسیم سلولی

مقدمه

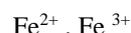
میکرو مول فوتون بر متر مربع بر ثانیه و فتوپریود ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی در دمای 26 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد کشت داده شدند سپس به‌منظور شروع آزمایش‌های اصلی سوسپانسیون‌های جلبکی هر دو گونه به‌طور جداگانه حاوی غلظت‌های به‌ترتیب ۴، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶، ۵۱۲ میکرومولار آهن به همراه EDTA با نسبت ۵ به ۲ به $FeCl_3$ در ۳ تکرار تهیه شدند. تعداد سلول‌های نمونه‌های جلبکی به گونه‌ای تنظیم گردید که در نهایت تعداد سلول‌های سوسپانسیون جلبکی در لحظه شروع آزمایش به‌میزان تقریبی $10^4 \times 24$ سلول در هر میلی‌لیتر برسد این عمل جهت یکسان‌سازی شرایط و ایجاد شباهت در نقطه‌ی اولیه منحنی‌های رشد سلول‌های جلبکی مورد استفاده صورت گرفت. جهت اندازه‌گیری پارامترهای ذکر شده‌ی نمونه برداری در روزهای ۰، ۱، ۵، ۹، ۱۵، ۲۱ و ۲۶ بعد از شروع آزمایش انجام گرفت. تعداد سلول با استفاده از لام توما (هموسایتومتر) توسط میکروسکوپ نوری (OLYMPUS OPTICAL CO, LTD, MODEL CH3ORF2000) شمارش گردید (۱۱ و ۱۲). سنجش میزان رنگیزه‌های کلروفیل و بتاکاروتن نیز با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (SHIMADZU UV-160A) در طول موج‌های ۴۱۲، ۴۳۱، ۴۶۰، ۴۸۰ نانومتر بر حسب پیکوگرم بر سلول محاسبه گردید (۱۳).

نتایج

نمودار ۱ میانگین تعداد سلول‌های جلبکی در گونه‌های *D. salina* (الف، ۱) و *D. bardawil* (ب، ۱) را در غلظت‌های مورد نظر آهن نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌گردد در گونه *D. salina* نزدیک‌ترین میزان تقسیم سلولی نسبت به شاهد (غلظت ۴ مولار) در غلظت ۳۲ میکرومولار دیده شد. با افزایش غلظت آهن نسبت به شاهد، میزان تقسیم سلولی کاهش می‌یابد به‌طوری‌که بیشترین کاهش در غلظت ۵۱۲ میکرومولار آهن مشاهده گردید. نتایج مشابهی در گونه *D. bardawil* نیز دیده شد.

نمودار ۲ مقدار کلروفیل کل سلولی را در گونه *D. salina* (الف، ۲) و *D. bardawil* (ب، ۲) در غلظت‌های متفاوت آهن نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌گردد در گونه *D. salina* با افزایش غلظت آهن مقدار کلروفیل کل سلولی در روز اول

جلبک سبز تک سلولی *Dunaliella* مقاوم به شوری بوده و مدل سیستم گیاهی مناسبی جهت بررسی انواع تنش‌ها می‌باشد (۱). این جلبک قادر است تحت برخی شرایط استرس‌زا نظیر نور شدید، شوری بالا و کمبود مواد غذایی جهت مقابله با رادیکال‌های آزاد، بتاکاروتن را احتمالاً به‌عنوان آنتی‌اکسیدان تولید نماید (۲، ۳ و ۴). آهن یک عنصر کم‌مصرف ضروری برای گیاهان و جلبک‌ها بوده که توسط عناصر دیگر قابل جایگزین شدن نیست و از عوامل محدود کننده‌ی رشد محسوب می‌گردد (۵). این عنصر به‌عنوان دهنده و گیرنده الکترون در واکنش‌ها عمل کرده و در زنجیره‌های انتقال الکترون فتوسنتزی و تنفسی نقش به‌سزایی را ایفا می‌نماید (۶). اگرچه آهن یک ماده غذایی ضروری برای گیاهان و جلبک‌ها محسوب می‌گردد، اما تجمع زیاد آن درون سلول می‌تواند ایجاد سمیت نموده و مانع رشد گردد (۷) آهن آزاد می‌تواند در واکنش فنتون (رابطه ۱) به‌عنوان کاتالیزور تولید رادیکال هیدروکسیل و گونه‌های اکسیژن فعال عمل کند (۸، ۹ و ۱۰).



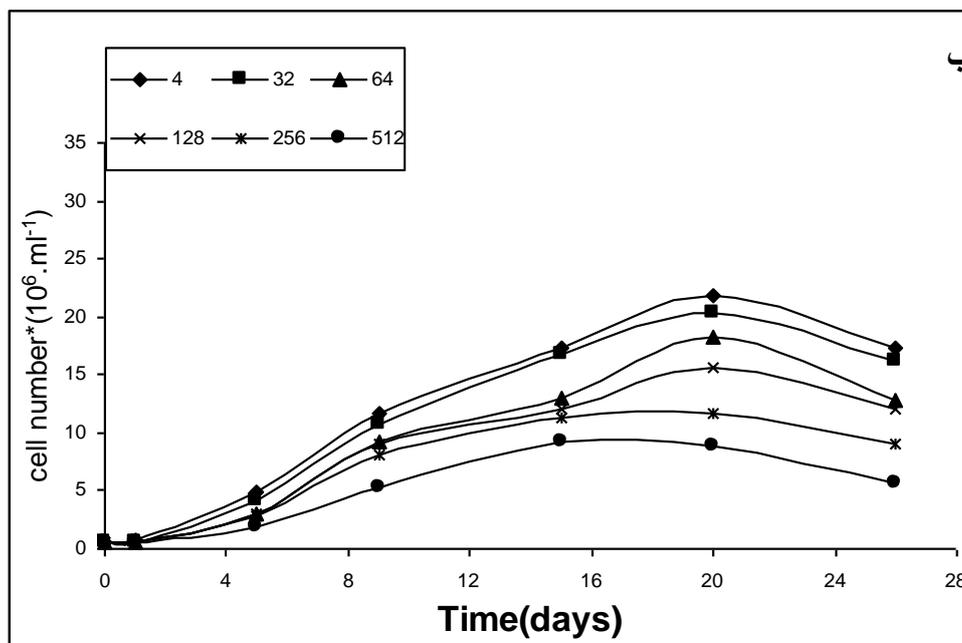
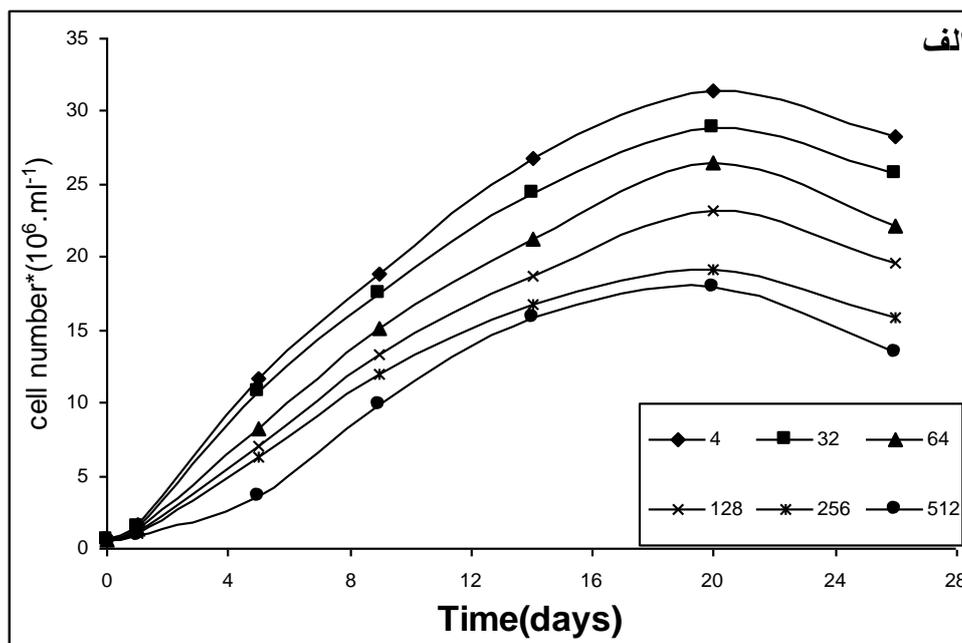
با توجه به اینکه یون آهن در غلظت‌های بالا می‌تواند تولید رادیکال‌های آزاد نماید و از طرفی برخی گونه‌های جلبک *Dunaliella* در پاسخ به تولید رادیکال‌های آزاد ناشی از شرایط استرس‌زا، بتاکاروتن را به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان سنتز می‌نمایند لذا در این تحقیق اثر غلظت‌های بالای آهن بر روی سنتز بتاکاروتن و کلروفیل کل درون سلولی و میزان تقسیم سلولی در دو گونه *D. salina* و *D. bardawil* مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

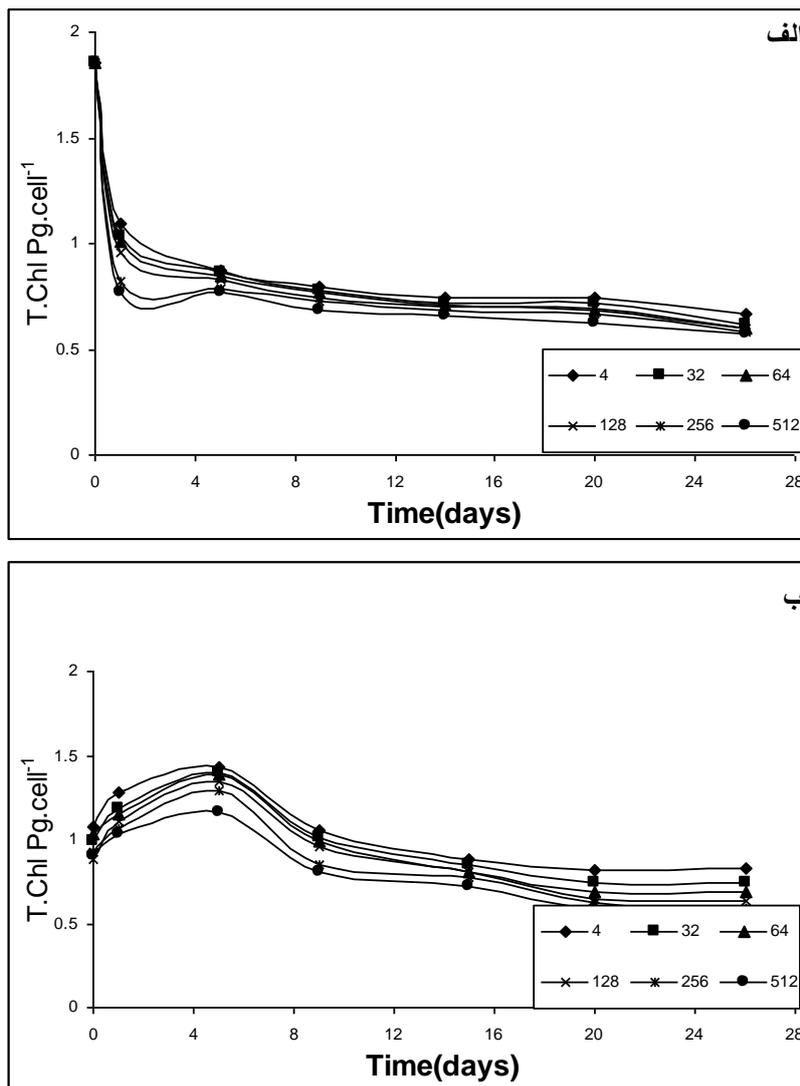
دو گونه جلبکی *Dunaliella salina* سویه UTEX200 و گونه *Dunaliella bardawil* سویه UTEX 2538 از کلکسیون دانشگاه تگزاس آمریکا تهیه گردیده‌اند. در ابتدا جلبک‌ها در شرایط کاملاً استریل در محیط کشت تغییر یافته‌ی جانسون و همکاران توسط Shariati و همکارش (۱) در pH برابر ۷/۵ و در غلظت ۱/۵ مولار نمک NaCl در اتاقک کشت با شدت نور ۱۰۰

می‌یابد به طوری که در روز پنجم به بالاترین مقدار خود رسیده است. شدت افزایش میزان کلروفیل کل سلولی با افزایش غلظت آهن کاهش می‌یابد به طوری که کمترین افزایش در غلظت ۵۱۲ و بعد از آن در غلظت ۲۵۶ میکرومولار آهن ملاحظه می‌گردد. از روز پنجم به بعد میزان کلروفیل کل سلولی کاهش یافته و سپس از روند نسبتاً ثابتی برخوردار می‌گردد.

کاهش می‌یابد که شدت کاهش در طی افزایش غلظت آهن، افزایش می‌یابد به طوری که بیشترین کاهش در غلظت ۵۱۲ و بعد از آن در غلظت ۲۵۶ میکرومولار آهن مشاهده می‌گردد. کاهش مقدار کلروفیل کل سلولی در این گونه تا روز پنجم ادامه یافته و بعد از آن از روند نسبتاً ثابتی برخوردار می‌گردد. با بررسی نمودار ۲- ب ملاحظه می‌گردد در گونه *D. bardawil* مقدار کلروفیل کل در روزهای اولیه با شیب تندی افزایش



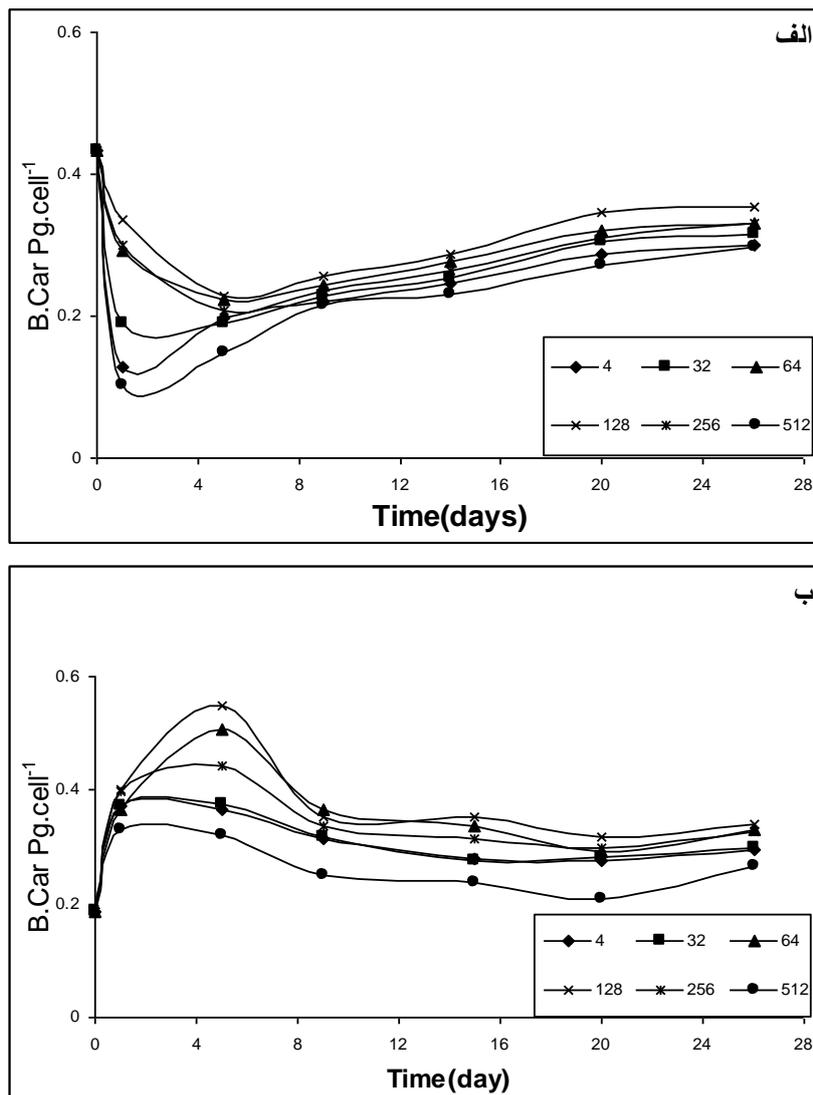
نمودار ۱: اثر غلظت‌های ۴ (شاهد)، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میکرومولار آهن به فرم نمک $FeCl_3$ بر روی تعداد سلول در جلبک الف (*D. salina*) (ب) میزان شوری محیط کشت ۱/۵ مولار $NaCl$ می‌باشد. مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار می‌باشد



نمودار ۲: اثر غلظت‌های ۴ (شاهد)، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میکرومولار آهن به فرم نمک $FeCl_3$ بر روی میزان کلروفیل سلولی در جلبک الف) *D. salina* (ب) *D. bardawil*. میزان شوری محیط کشت ۱/۵ مولار $NaCl$ می‌باشد. مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار می‌باشد

۲۵۶ و در مرتبه بعد در غلظت ۴ و ۳۲ و در آخر کمترین افزایش در غلظت ۵۱۲ میکرومولار مشاهده می‌شود. این روند افزایشی تا روز پنجم در غلظت‌های ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ میکرومولار ملاحظه می‌گردد به طوری که بالاترین افزایش بترتیب در غلظت‌های ۱۲۸، ۶۴ و ۲۵۶ میکرومولار دیده شد اما در غلظت‌های ۴، ۳۲ و ۵۱۲ میزان بتاکاروتن سلولی در روز پنجم روند کاهشی از خود نشان داده است. از روز پنجم به بعد در غلظت‌های ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ نیز میزان بتاکاروتن سلولی کاهش یافته به طوری که در روز نهم بالاترین میزان بتاکاروتن در غلظت ۱۲۸ میکرومولار و کمترین مقدار در غلظت ۵۱۲ میکرومولار دیده شد و از این روز به بعد شیب افزایشی کندی در تمامی تیمارها مشاهده می‌گردد.

نمودار ۳ میزان بتاکاروتن سلولی را در دو گونه *D. salina* (الف) و *D. bardawil* (ب) در غلظت‌های مختلف آهن نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌گردد در گونه *D. salina* در روز اول میزان بتاکاروتن سلولی کاهش یافته که شدت این کاهش در غلظت ۵۱۲ میکرومولار آهن نسبت به سایر تیمارها بالاتر بوده و بعد از آن بیشترین کاهش در غلظت ۴ و ۳۲ میکرومولار ملاحظه گردید و کمترین میزان کاهش در غلظت ۱۲۸ میکرومولار و بعد از آن در غلظت‌های ۶۴ و ۲۵۶ میکرومولار دیده شد. از روز اول تا پنجم این مقادیر با شیب کندی کاهش یافته و از روز پنجم به بعد با شیب کمی افزایش می‌یابد. در گونه *D. bardawil* در روز اول مقدار بتاکاروتن افزایش یافته به طوری که بیشترین افزایش در غلظت ۶۴، ۱۲۸ و



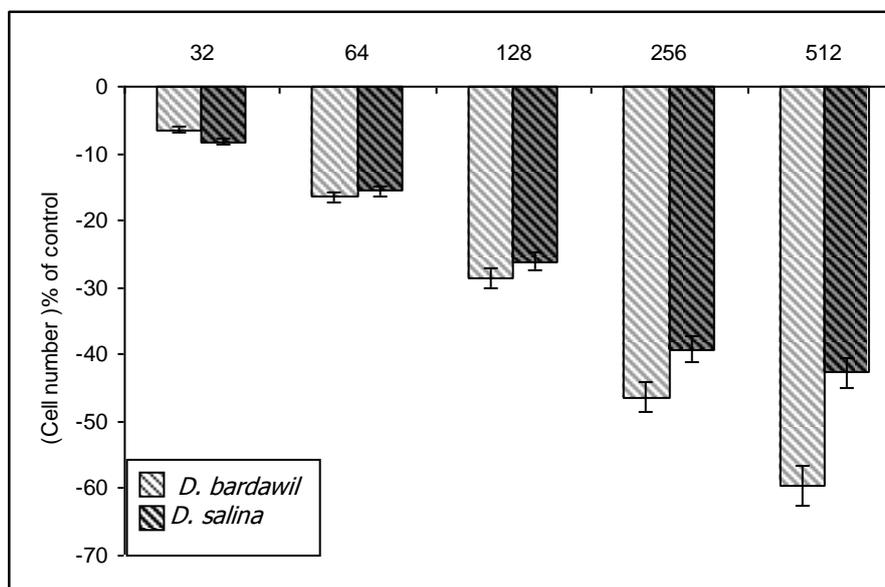
نمودار ۳: اثر غلظت‌های ۴ (شاهد)، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میکرومولار آهن به فرم نمک $FeCl_3$ بر روی میزان بتاکاروتن سلولی در جلبک (الف) *D. salina* (ب) *D. bardawil*. میزان شوری محیط کشت ۱/۵ مولار $NaCl$ می‌باشد. مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار می‌باشد

دو گونه نسبت به شاهد کاهش یافته به طوری که شدت کاهش در گونه *D. bardawil* نسبت به *D. salina* بالاتر بوده و با افزایش غلظت آهن این تفاوت مشهودتر می‌گردد. در نمودار ۶ نیز در صد تغییرات بتاکاروتن سلولی در دو گونه *D. salina* و *D. bardawil* در روز پنجم نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌گردد با افزایش میزان آهن تا غلظت ۱۲۸ میکرومولار یک روند افزایشی در مقدار بتاکاروتن سلولی در هر دو گونه مشاهده می‌شود که شدت افزایش در گونه *D. bardawil* نسبت به *D. salina* بالاتر می‌باشد. در غلظت ۲۵۶ میکرومولار نیز در هر دو گونه مقدار بتاکاروتن نسبت به شاهد افزایش یافته اما این افزایش نسبت به میزان افزایش در

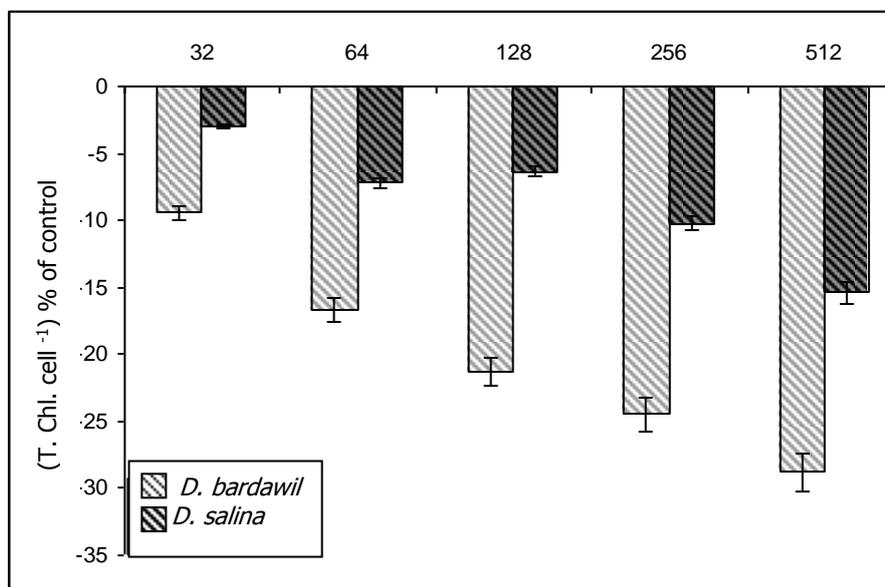
در ادامه جهت بررسی مقاومت دو گونه *D. salina* و *D. bardawil* نسبت به آهن در صد تغییرات نرخ رشد، کلروفیل و بتاکاروتن تیمارها نسبت به شاهد در دو گونه با یکدیگر مقایسه گردید.

در نمودار ۴، درصد تغییرات میزان تقسیم سلولی در غلظت‌های مورد مطالعه آهن نسبت به شاهد در روز بیستم نشان داده شده است. همان طور که ملاحظه می‌گردد درصد کاهش نرخ رشد در گونه *D. salina* نسبت به *D. bardawil* به خصوص در غلظت‌های بالای آهن کمتر است. در نمودار ۵، درصد تغییرات کلروفیل سلولی را نسبت به شاهد در روز پنجم نشان می‌دهد. همان گونه که ملاحظه می‌شود مقادیر کلروفیل سلولی نیز در هر

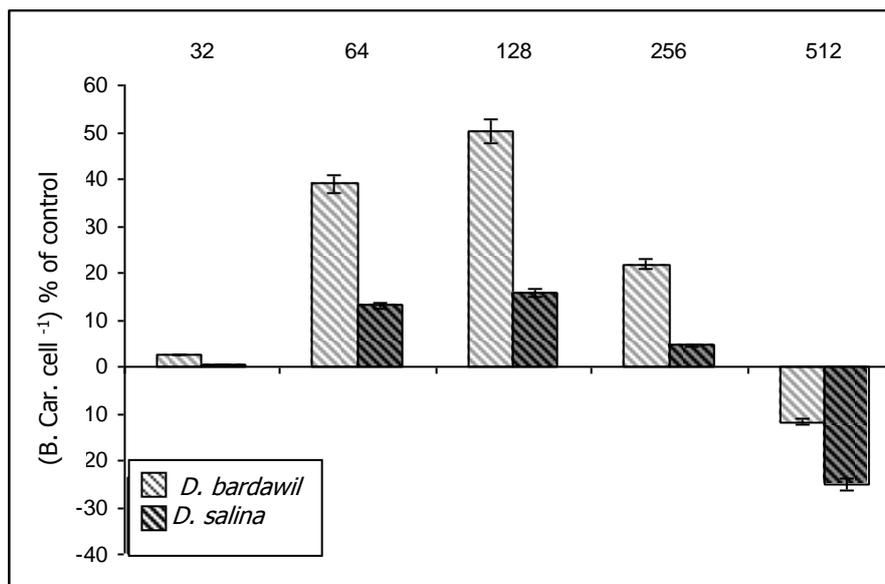
غلظت ۱۲۸ میکرومولار کمتر می‌باشد. در غلظت ۵۱۲ در هر دو گونه مقدار بتاکاروتن سلولی کاهش یافته که این کاهش در گونه *D. bardawil* نسبت به *D. salina* کمتر می‌باشد.



نمودار ۴: درصد تغییرات میزان تقسیم سلولی غلظت‌های ۴، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میکرومولار آهن به‌فرم نمک $FeCl_3$ نسبت به شاهد (۴ میکرومولار آهن) در روز بیستم در دو گونه *D. salina* و *D. bardawil*



نمودار ۵: درصد تغییرات کلروفیل سلولی در غلظت‌های ۴، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میکرومولار آهن به‌فرم نمک $FeCl_3$ نسبت به شاهد (۴ میکرومولار آهن) در روز پنجم در دو گونه *D. salina* و *D. bardawil*



نمودار ۶: درصد تغییرات بتاکاروتن سلولی در غلظت‌های ۴، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میکرومولار آهن به‌فرم نمک $FeCl_3$ نسبت به شاهد (۴ میکرومولار آهن) در روز پنجم در دو گونه *D. salina* و *D. bardawil*.

بحث

در هر دو گونه نیز به‌واسطه‌ی استرس اکسیداتیو و رادیکال هیدروکسیل ناشی از غلظت بالای آهن باشد زیرا یکی از نقش‌های مهم بتاکاروتن، حفاظت از دستگاه فتوسنتزی در برابر استرس‌های محیطی و به‌خصوص استرس اکسیداتیو می‌باشد. همچنین در تایید این نتایج گزارش شده است که جلبک *Dunaliella* تحت تأثیر فلز سنگین مس قادر به افزایش تولید بتاکاروتن می‌باشد (۱۹). از طرفی کاهش میزان بتاکاروتن سلولی در غلظت‌های بالاتر از ۱۲۸ میکرومولار آهن، می‌تواند به این علت باشد که سلول توانایی جاروب نمودن رادیکال‌های آزاد تولیدی بیشتر را نداشته و در اثر رادیکال‌های آزاد خنثی نشده، متابولیسم سلول و مسیرهای سنتز آنتی‌اکسیدانی آسیب دیده و قادر به تولید آنتی‌اکسیدان نمی‌باشد (۲۰). جهت مقایسه میزان مقاومت دو گونه نسبت به آهن، درصد تغییرات تقسیم سلولی، میزان کلروفیل و بتاکاروتن تمامی تیمارها نسبت به شاهد محاسبه گردید. طبق نمودار ۴ به‌نظر می‌رسد که گونه *D. salina* نسبت به *D. bardawil* دارای مقاومت بیشتری به غلظت‌های بالای آهن (۲۵۶ و ۵۱۲ میکرومولار) داشته باشد (۲۱) زیرا میزان شدت کاهش تقسیم در غلظت‌های بالای آهن در *D. salina* کمتر می‌باشد. با توجه به نمودار ۵ و ۶ به‌نظر می‌رسد که در هر دو گونه افزایش سنتز بتاکاروتن و همچنین کاهش میزان کلروفیل به‌منظور کاهش کلروفیل برانگیخته و در نتیجه کاهش میزان تولید رادیکال‌های آزاد در ایجاد مقاومت در

همانگونه که در نمودار ۱ ملاحظه گردید با افزایش مقدار آهن محیط در هر دو گونه میزان تقسیم سلولی کاهش می‌یابد. به‌نظر می‌رسد این کاهش به‌واسطه تولید رادیکال آزاد توسط فلز آهن باشد. در واقع فلز آهن با شرکت در واکنش فنتون باعث تولید رادیکال هیدروکسیل می‌گردد که این رادیکال بسیار فعال و مخرب بوده و موجب تخریب لیپید، پروتئین و DNA و در نهایت مرگ سلول می‌گردد (۱۴). با بررسی نمودار ۲ نیز مشاهده شد که در هر دو گونه با افزایش غلظت آهن میزان کلروفیل سلولی کاهش می‌یابد که این کاهش نیز به‌واسطه اثر مخرب آهن توجیه می‌گردد به‌طوری‌که به‌نظر می‌رسد آهن منجر به تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن شده که این امر نیز به نوبه خود باعث تجزیه و کاهش رنگدانه‌ها می‌شود (۱۵). از طرفی احتمالاً گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده، پراکسیداسیون لیپدهای غشا را تحریک کرده و همچنین باعث افزایش پراکندگی تیلکوئیدها می‌شود (۶، ۱۶، ۱۷ و ۱۸). علاوه بر این می‌توان بیان نمود که کاهش میزان کلروفیل سلولی در هر دو گونه احتمالاً یک استراتژی در جهت کاهش الکترون‌های برانگیخته ناشی از کلروفیل و در نتیجه کاهش تولید رادیکال‌های حاصل از آن می‌باشد. با بررسی نمودار ۳ به‌نظر می‌رسد علت افزایش بتاکاروتن سلولی در غلظت بالای آهن (حدود ۱۲۸ میکرومولار)

2. Ben-Amotz A. New mode of *Dunaliella* biotechnology: two-phase growth for β -carotene production. *Journal of Applied Phycology*. 1995; 7(1): 65-68.
3. Gokpinar S, koray T, Akcicek E, Goksan T, et al. Algae antioxidant. *EU Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2006; 23: 85-89.
4. Gomez-Pinchetti JL, Ramazanov Z, Fontes A, Garcia reina G. photosynthetic characteristic of *Dunaliella salina* (Chlorophyceae, Dunaliellales) in relation to β -carotene content. *Journal of Applied Phycology*. 1992; 4(1): 11-15.
5. Keshtacher-Liebson E, Hadar Y, Chen Y. Fe nutritional demand and utilization by the green alga *Dunaliella bardawil*. *Plant and Soil*. 1999; 215:175-192.
6. Yruela I, Alfonso M, Baron M, Picorel R. Copper effect on the protein composition of photosystem II. *Physiologia Plantarum*. 2000; 110: 551-70.
7. Connolly EL, Guerinot ML. Iron stress in plants. *Genome Biology*. 2002. 3(8): 1-4.
8. Becana M, Aparicio-Tejo PM, Sanchez-Diaz M. Nitrate and hydrogen peroxide metabolism in medicago sativa nodules and possible effect on leghaemoglobin function. *Physiologia Plantarum*. 1988; 72: 755-761.
9. Kobayashi M, Kakizono T, Nagai S. Enhanced carotenoid biosynthesis by oxidative stress in acetate-induced cyst cells of a green unicellular. *Applied and Environmental Microbiology*. 1993; 59(3): 867-873.
10. Yu J, Hu S, Wang J, Wong GKS, et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. indica). *Science Direct*. 2002; 296: 79-92.
11. Schoen, S. Cell counting, In Lobban C, Champan D, Kremer BP, (eds). *Experimental phycology*. Cambridge: Cambridge University Press; 1988.
12. Fujii S. The growth and intracellular ionic composition of *Dunaliella tertiolecta* in magnesium rich media. *Plant Cell Physiology*. 1991; 32: 549-554.
13. Eijkelhoff C, Dekker JP. A routine method to determine the chlorophyll a, pheophytin and β -carotene contents of isolated photosystem II reaction center complexes. *Photosynthesis Research*. 1997; 52: 69-73.
14. Xiaoling Y, Jinyao G. Regulation of Fe growth and material accumulation of *Dunaliella salina*. *Chinese Agricultural Science Bulletin*. 2010; 10: 109.

برابر غلظت‌های بالای آهن موثر است. با توجه به اینکه نتایج نشان می‌دهد که در غلظت‌های بالای آهن مقاومت در گونه *D. salina* نسبت به *D. bardawil* بالاتر است و از طرفی افزایش سنتز بتا کاروتن و همچنین کاهش میزان کلروفیل در این گونه نسبت به *D. bardawil* کمتر می‌باشد به نظر می‌رسد *D. salina* احتمالاً از طریق تولید بیشتر آنتی اکسیدان‌هایی غیر از بتاکاروتن نیز در برابر غلظت‌های بالای آهن مقاومت می‌نماید.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج فوق به‌طور کلی می‌توان بیان کرد که در هر دو گونه با افزایش غلظت آهن تا حدود غلظت ۱۲۸ میکرومولار به‌دلیل افزایش تولید رادیکال‌های آزاد میزان کلروفیل سلولی و رادیکال‌های آزاد ناشی از آن کاهش و همچنین میزان بتاکاروتن احتمالاً به‌عنوان آنتی اکسیدان افزایش می‌یابد ولی در غلظت‌های بالاتر (۵۱۲ میکرو مولار) به‌دلیل ایجاد اختلال در متابولیسم سلولی توسط رادیکال‌های آزاد تولیدی جاروب نشده، تعداد سلول‌ها و همچنین مقدار کلروفیل و بتاکاروتن سلولی در هر دو گونه کاهش می‌یابد. همچنین نتایج نشان داد که مقاومت گونه *D. salina* نسبت به *D. bardawil* در غلظت‌های بالای آهن بالاتر می‌باشد به‌نظر می‌رسد این امر احتمالاً به‌واسطه استفاده *D. salina* از تولید بیشتر آنتی اکسیدان‌هایی غیر از بتاکاروتن جهت جاروب رادیکال‌های آزاد تولیدی نسبت به استفاده بیشتر از بتاکاروتن و کاهش بیشتر میزان کلروفیل در *D. bardawil* باشد.

تشکر و قدردانی

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

منابع

1. Shariati M, Lilley McC. 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*. 1994; 17(12): 1295-1304.

15. Sairam RK, Deshmukh PS, Saxna DC. Role of antioxidant systemes in wheat genotype tolerance to water stress. *Biologia Plantrum*. 1998; 41(3): 387-394.
16. Devi SR, Prasad MNV. Copper toxicity in *Ceratophyllum demersum*L. (Coontail), a free floating macrophyte: response of antioxidantenzymes and antioxidants. *Plant Sciences*.1998; 138: 157-165.
17. Patsikka E, Aro EM, Tyystjarvi E. Mechanism of copper-enhanced photoinhibition in thylakoid membranes. *Plant Physiology*. 2001; 113: 142-50.
18. Vassilev A, Lidon F, Campos PS, Ramalho JC, et al. Cu-induced changes in chloroplast lipids and photosystem II activity in barley plants. *Journal of Plant Physiology*. 2003; 29, 33-43.
19. Shariati M, Yahyaabadi S. The effect of heavy metal copper on betacarotene synthesis in unicellular alga *Dunaliella salina*. *Iranian Journal of Biology*. 2002; 11,37-48. persian.
20. Mojaat M, Pruvost J, Foucault A, Legrand J. Effect of organic carbon sources and Fe²⁺ ions on growth and b-carotene accumulation by *Dunaliella salina*. *Biochemical Engineering Journal*. 2008; 39: 177-194.
21. Vorst P, Baard RL, Mur LR, Korthals H, et al. Effect of growth arrest on carotene accumulation and photosynthesis in *Dunaliella*. *Microbiology*. 1994; 140: 1411-1417.

Effect of Iron on Cell Division, Intracellular Beta-Carotene and Chlorophyll Synthesis in *Dunaliella*; An Unicellular Green Alga

Kamali Sarvestani M, M.Sc.¹, Shariati M, Ph.D.^{2*}, Madadkar Haghjou M, Ph.D.³

1. M.Sc. graduated, Department of Biology, Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

2. Department of Biology, Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

3. Department of Biology Lorestan University, Khorramabad, Iran

* Email corresponding author: mansour_shariati@yahoo.com

Received: 24 Aug. 2013

Accepted: 12 Nov. 2013

Abstract

Aim: the aim of this study was to investigate the effect of iron on cell division, interacellular beta-carotene and chlorophyll synthesis in unicellular green alga *Dunaliella*.

Material and methods: In this study 4, 32, 64, 128, 256 and 512 μ M concentrations of iron was applied on *D.bardawil* and *D.salina*. The culture media were kept in a growth chamber in a light/ dark regime of 16/8 hours at 26 \pm 2 °C. Then beta-carotene, chlorophyll content and cell divisions were determined.

Result: In both species the maximum cell growth was observed in 4 μ M and the amount of chlorophyll as well as cell growth decreased by the increase of iron concentration in the medium. The maximum reduction of the chlorophyll and cell growth was observed in 512 μ M, where as the maximum intracellular beta-carotene content was shown in 128 μ M.

Conclusion: Results showed that probably free radicals contents of both species have been increased in presence of iron. Iron treatment decreased the chlorophyll content to reduce the free radicals produced due to excitation of chlorophyll molecules. Moreover, the cells produced high amount of beta-carotene as an antioxidant against free radicals in presence of Iron. It seems *D.salina* has better performance in presence of high concentration of iron than *D.bardawil* due to less synthesis of beta-carotene and more production of other antioxidants as well as reduction of chlorophyll production.

Key words: *Dunaliella*, Iron, Beta-carotene, Cell division, Chlorophyll