

بررسی اثر تنش دمایی پایین بر عملکرد فتوسیستم II در جلبک *Dunaliella salina* با استفاده ازکینتیک فلوئورسنس کلروفیل *a*مرضیه پائیزی<sup>۱</sup>، منصور شریعتی<sup>۲\*</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

۲- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

\* پست الکترونیک نویسنده مسئول: mansour\_shariati@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۰/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۸/۱

## چکیده

**هدف:** با توجه به اینکه در گیاهان و جلبک‌ها اولین محل تاثیر تنش سرما در فتوسیستم II هنوز بطور کامل مشخص نیست لذا در این تحقیق اثر دمایی پایین (۸ درجه سانتی‌گراد) بر فعالیت بخش‌های مختلف فتوسیستم II گونه *D. salina* به عنوان مدل سیستم گیاهی با استفاده از کینتیک فلوئورسنس کلروفیل *a* بررسی شد.

**مواد و روش‌ها:** در این تحقیق از جلبک سبز تک‌سلولی گونه *D. salina* سویه 200UTEX استفاده گردید. این جلبک در دماهای ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد در غلظت ۱ مولار NaCl در سه تکرار کشت داده شد. سپس پارامترهای مربوط به فلوئورسنس کلروفیل *a* در زمان‌های مختلف پس از تنش سرما اندازه‌گیری شدند.

**نتایج:** نتایج نشان داد که در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد میزان شاخص‌های  $F_V/F_0$ ،  $\Phi_{P_0}$ ،  $\Phi_{E_0}$ ،  $\Psi_0$  و  $\Phi_{R_0}$  در گونه *D. salina* در مقایسه با شاهد (۲۵ درجه سانتی‌گراد) کاهش یافت. درحالی‌که میزان شاخص‌های  $\Phi_{D_0}$  و ABS/RC افزایش نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج به نظر می‌رسد، کاهش کارایی کمپلکس تجزیه آب در اثر کاهش دما، احتمالاً نقش عمده‌ای در کاهش میزان انتقال الکترون به پذیرنده‌های الکترون فتوسیستم II دارد و به ایجاد اختلال در فعالیت زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II منجر می‌شود. تنش سرما با تاثیر بر کمپلکس تجزیه آب باعث کاهش میزان انتقال الکترون به فئوفایتین و  $Q_A$  و پس از آن، انتقال الکترون از  $Q_A$  به  $Q_B$ ، مخزن پلاستوکوئینون و در نهایت احیای پذیرنده‌های نهایی در سمت پذیرنده فتوسیستم I می‌شود. به طور کلی می‌توان گفت، کمپلکس تجزیه آب اولین بخش در فتوسیستم II سلول‌های جلبک *D. salina* است که تحت تاثیر تنش سرما قرار می‌گیرد.

**واژگان کلیدی:** تنش سرما، دونالیه لا، فتوسیستم II، کینتیک فلوئورسنس کلروفیل *a*

## مقدمه

دمای پایین، یک عامل تنش‌زا در محیط پیرامون گیاهان است که می‌تواند سرعت فرآیندهای بیوشیمیایی سلول‌ها را به صورت متفاوتی تحت تاثیر قرار دهد و در نتیجه به ایجاد عدم تعادل در فرآیندهای اصلی مسیرهای متابولیک منجر شود (۱). فتوسنتز جزو اولین فرآیندهایی است که در گیاهان عالی و جلبک‌های سبز تحت تاثیر دمای پایین قرار می‌گیرد (۲). تنش سرما با تاثیر بر بخش‌های مختلف دستگاه فتوسنتز، از جمله تنظیم قطر منافذ روزنه‌ها، سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی، فعالیت فتوسیستم‌های I و II و همچنین فعالیت آنزیم‌های سیکل کالوین، تثبیت CO<sub>2</sub> در فرآیند فتوسنتز را با مشکل مواجه ساخته و فعالیت فرآیند فتوسنتز را کاهش می‌دهد (۱، ۳، ۴ و ۵). اولین بخش در دستگاه فتوسنتزی که به دمای پایین عکس العمل نشان می‌دهد، فتوسیستم II است (۶). تنش سرما با کند کردن سرعت جایگزینی پروتئین D<sub>1</sub> به داخل مرکز واکنش فتوسیستم II روند ترمیم آن را با مشکل مواجه می‌سازد و در نتیجه بازده کوانتومی (Quantum yield) فتوسیستم II کاهش می‌یابد. این عمل می‌تواند از طریق ایجاد تغییراتی در بیان ژن *psbA* که پروتئین D<sub>1</sub> را کد می‌کند و یا از طریق اثر مستقیم دما بر غشاهای تیلاکوئیدی صورت گیرد (۵).

موجودات فتوسنتزکننده با استفاده از مکانیسم‌های سازشی به سیستم‌های فتوشیمیایی و بیوشیمیایی خود اجازه تطبیق با شرایط تنش‌زا را می‌دهند (۷). فتوسیستم II نقش مهمی را در پاسخ‌های فتوسنتزی گیاهان به تنش‌های محیطی ایفا می‌کند. بسیاری از تنش‌های غیر زنده از جمله تنش سرما با تغییر در کینتیک فلوتورسنس کلروفیل *a*، فعالیت فتوسنتزی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. شرایط تنشی می‌تواند سبب تغییر خصوصیات و میزان فلوتورسنس کلروفیل *a* شود. آنالیز تغییرات کینتیک فلوتورسنس کلروفیل *a* اطلاعات مهمی را در مورد ساختار و اعمال دستگاه فتوسنتزی مخصوصاً فتوسیستم II فراهم می‌کند و می‌تواند بیانگر بسیاری از اتفاقات فیزیولوژیک باشد که گیاه در شرایط تنشی با آنها مواجه است (۸، ۹ و ۱۰). اگرچه مشخص شده است که دمای پایین تاثیر منفی بر فتوسیستم II دستگاه فتوسنتزی دارد، اما هنوز توافقی برای اولین محل آسیب دیده در فتوسیستم II تحت تنش سرما وجود ندارد. با توجه به حساسیت بالای این بخش از دستگاه فتوسنتزی به تنش سرما می‌توان با استفاده از روش OJIP-test

شاخص‌های مربوط به کینتیک فلوتورسنس کلروفیل *a* در فتوسیستم II را در زمانی کوتاه بررسی کرد.

با در نظر گرفتن این موضوع که بررسی اثر تنش سرما بر روی فتوسیستم II کلروپلاست گیاهان به دلیل پر سلولی بودن آنها با مشکلاتی مواجه است، می‌توان از جلبک‌های سبز تک سلولی مانند کلامیدوموناس و یا *Dunaliella* به عنوان مدل سیستم گیاهی استفاده کرد (۱۱). جلبک *Dunaliella* به دلیل نداشتن دیواره سلولی در اطراف خود و خصوصیات منحصر به فردی که با تولید فرآورده‌هایی نظیر کاروتنوئیدها و گلیسرول برای تحمل شرایط نامساعد محیطی از خود نشان می‌دهد، به عنوان مدل سیستم گیاهی مطرح بوده و مطالعات بسیاری بر روی این جلبک تحت شرایط تنش‌زای شوری و شدت نور بالا بر فیزیولوژی، سنتز بتاکاروتن و گلیسرول انجام گرفته است (۱۲ و ۱۳). با این وجود مطالعات اندکی بر روی جلبک *Dunaliella* تحت تاثیر تنش سرما صورت گرفته است. برخی مطالعات انجام شده نشان داده است که تحت تاثیر تنش سرما، سرعت فرآیندهای فتوسنتز و تنفس و همچنین محتوای کلروفیل جلبک *Dunaliella* به علت آسیب اکسیداتیو کاهش یافته، در حالی که در اثر کاهش دما، سنتز ترکیبات آنتی‌اکسیدان مانند گلوکاتیون و آسکوربات در این جلبک افزایش می‌یابد (۱۴ و ۱۵). با توجه به این که محل دقیق اثر تنش سرما بر فتوسیستم II جلبک *Dunaliella* مشخص نیست، بررسی اثر تنش سرما بر فعالیت بخش‌های مختلف فتوسیستم II جلبک *Dunaliella* و همچنین مشخص نمودن محل تأثیر تنش سرما در این فتوسیستم با استفاده از شاخص‌های مربوط به فلوتورسنس کلروفیل *a* و روش OJIP-test به عنوان موضوع این تحقیق در نظر گرفته شد تا بتوان از نتایج آن برای مطالعات دقیق‌تر و تعمیم آن به گیاهان در علم کشاورزی استفاده کرد.

## مواد و روش‌ها

تهیه سوسپانسیون جلبکی برای بررسی اثر تنش سرما بر جلبک *D.salina*: گونه *D. salina* سویه UTEX 200 از مجموعه دانشگاه نگراس آمریکا تهیه گردید. تلقیح گونه مورد نظر در ارلن‌های حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت اصلاح شده جانسون (۱۶) با سه تکرار برای هر آزمایش، با غلظت یک مولار NaCl و اسیدیته ۷ تا ۷/۵، به صورتی انجام شد که تعداد سلول‌ها در هر ارلن تقریباً ۱۰<sup>۴</sup> × ۳۰۰ در هر میلی‌لیتر از

محلول نمونه برداری شده به شیشه مخصوص اندازه گیری فلئوئورسنس منتقل شد و سپس شیشه ها به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی و در دمای مربوط به هر نمونه، به منظور جلوگیری از تغییر درجه حرارت نمونه ها در مدت زمان اندازه گیری فلئوئورسنس کلروفیل  $a$ ، نگهداری شدند. انتشار فلئوئورسنس کلروفیل  $a$  با استفاده از دستگاه Handy PEA (Plant Efficiency Analyser, Hansatech, UK) در یک اتاقک کاملا تاریک ثبت گردید. اطلاعات اولیه حاصل از کینتیک فلئوئورسنس (مانند  $F_0$ ,  $F_M$ ,  $F_J$ )، با استفاده از JIP-test به شاخص های بیوفیزیکی (مانند  $PI_{ABS}$  و  $\Phi_{D_0}$ ,  $\Phi_{R_0}$ ,  $\Psi_0$ ,  $\Phi_{E_0}$ ,  $\Phi_{P_0}$ ,  $F_V/F_0$ ,  $ABS/RC$ )، که تعاریف آنها در جدول ۱ ذکر شده است) تبدیل شده و در نهایت با استفاده از نرم افزار Boilyzer HP4، شاخص های ذکر شده برای تعیین محل اثر تنش سرما بر فتوسیستم II بررسی گردید و نمودارهای مربوط به آنها رسم شد. کلیه آزمایش ها در سه تکرار انجام و مقایسه میانگین ها با استفاده از روش Repeated Measurement انجام گردید.

سوسپانسیون جلبکی باشد. سپس برای بررسی اثر تنش سرما بر جلبک *D. salina*، سوسپانسیون های تهیه شده در دمای ۸ درجه سانتی گراد (در اتاقک کشت) و ۲۵ درجه سانتی گراد در اتاق 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.

اندازه گیری کینتیک فلئوئورسنس کلروفیل  $a$ : برای بررسی اثر دمای پایین بر فتوسیستم II جلبک *D. salina* از اطلاعات حاصل از کینتیک فلئوئورسنس کلروفیل  $a$  که از نوردهی نمونه های سازگار شده به تاریکی منتشر می شود، استفاده شد. به این منظور، نمونه برداری از سوسپانسیون های جلبکی بلافاصله پس از انتقال به دماهای ۸ و ۲۵ درجه سانتی گراد به عنوان زمان صفر و پس از آن در زمان های ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۶۰، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از شروع آزمایش در شرایط کاملا استریل و یکسان صورت گرفت. برای اندازه گیری فلئوئورسنس کلروفیل  $a$  در زمان های ذکر شده، یک میلی لیتر از

جدول ۱: خلاصه ای از شاخص های JIP-test، حاصل از اطلاعات اولیه استخراج شده از کینتیک فلئوئورسنس

شاخص های اولیه کینتیک فلئوئورسنس کلروفیل $a$	
$F_0$	نور فلئوئورسنس در $50 \mu s$
$F_{150}$	نور فلئوئورسنس در $150 \mu s$
$F_{300}$	نور فلئوئورسنس در $300 \mu s$
$F_J$	نور فلئوئورسنس در سطح J (در ۲ms)
$F_M$	حداکثر نور فلئوئورسنس

شاخص های بیوفیزیکی حاصل از OJIP-test	
$F_V/F_0$	کارایی کمپلکس تجزیه آب در سمت دهنده فتوسیستم II
$\Phi_{P_0}$	انتقال الکترون به فنوفایتین و $Q_A$ در فتوسیستم II
$\Phi_{E_0}$	میزان انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II
$\Psi_0$	انتقال الکترون از $Q_A$ به $Q_B$ در فتوسیستم II
$\Phi_{R_0}$	میزان احیای پذیرنده های انتهایی در سمت پذیرنده الکترون فتوسیستم I
$\Phi_{D_0}$	میزان اتلاف انرژی به صورت انرژی گرمایی
ABS/RC	میزان کل جذب نور توسط کلروفیل های آنتن نسبت به مراکز واکنش فعال
$PI_{ABS}$	شاخص کارایی

نتایج

بررسی اثر تنش سرما بر انتقال الکترون به فتوفایتین و

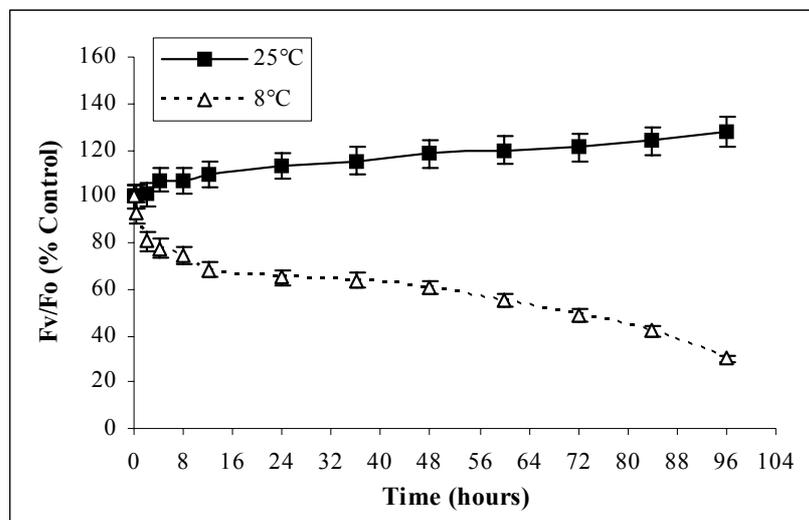
$Q_A$  در فتوسیستم II ( $\phi_{P_0}$ ) جلبک *D.salina*

مقایسه میزان شاخص  $\phi_{P_0}$  (انتقال الکترون به فتوفایتین و  $Q_A$  در فتوسیستم II) در دماهای ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد که با کاهش دما از ۲۵ به ۸ درجه سانتی‌گراد، میزان انتقال الکترون به فتوفایتین و  $Q_A$  در جلبک *D.salina* نیز کاهش می‌یابد. کاهش ایجاد شده در اثر سرما در میزان انتقال الکترون در این بخش از فتوسیستم II جلبک *D.salina* تا پایان آزمایش ادامه دارد (شکل ۲).

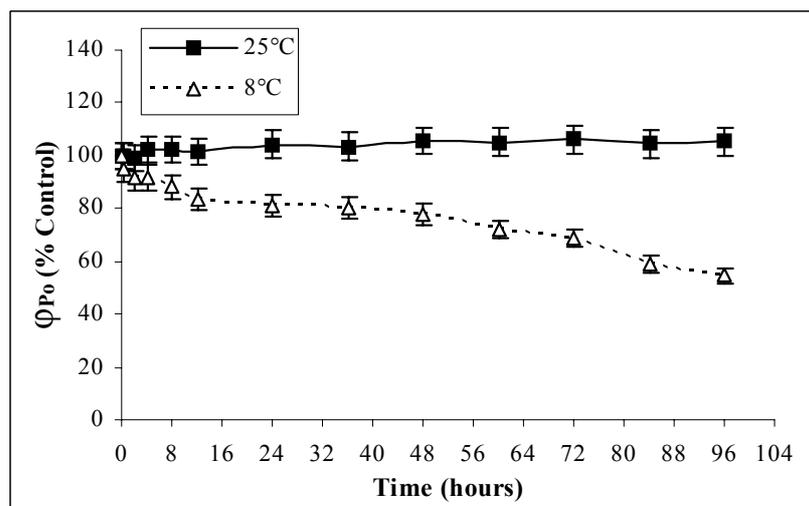
بررسی اثر تنش سرما بر کارایی کمپلکس تجزیه آب در

سمت دهنده فتوسیستم II ( $F_v/F_o$ ) جلبک *D.salina*

مقایسه روند تغییرات شاخص  $F_v/F_o$  (کارایی کمپلکس تجزیه آب در سمت دهنده فتوسیستم II) در دماهای ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد که تیمار سرما باعث کاهش یافتن میزان کارایی کمپلکس تجزیه آب در جلبک *D.salina* می‌شود. کاهش میزان شاخص  $F_v/F_o$  بلافاصله پس از اعمال تیمار سرما آغاز شده و تا پایان آزمایش ادامه دارد (شکل ۱).



شکل ۱: اثر درجه حرارت‌های ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر کارایی کمپلکس تجزیه آب در سمت دهنده فتوسیستم II ( $F_v/F_o$ ) گونه *D.salina* مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm SE$  است.



شکل ۲: اثر درجه حرارت‌های ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر انتقال الکترون به فتوفایتین و  $Q_A$  در فتوسیستم II ( $\phi_{P_0}$ ) گونه *D.salina* مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm SE$  است.

بررسی اثر تنش سرما بر انتقال الکترون از  $Q_A$  به  $Q_B$  در

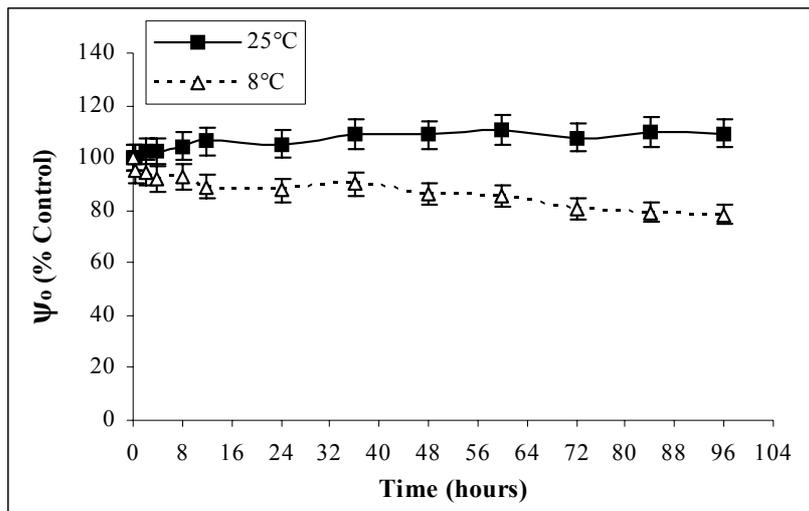
فتوسیستم II ( $\psi_0$ ) جلبک *D. salina*

مقایسه میزان شاخص  $\psi_0$  (انتقال الکترون از  $Q_A$  به  $Q_B$  در فتوسیستم II) در نمونه‌های شاهد (۲۵ درجه سانتی گراد) و نمونه‌های تحت تیمار سرما (۸ درجه سانتی گراد) جلبک *D. salina* نشان می‌دهد که میزان انتقال الکترون از  $Q_A$  به  $Q_B$ ، به خصوص در ساعات پایانی آزمایش، در نمونه‌های تحت تیمار سرما کمتر از میزان آن در نمونه‌های شاهد است (شکل ۳).

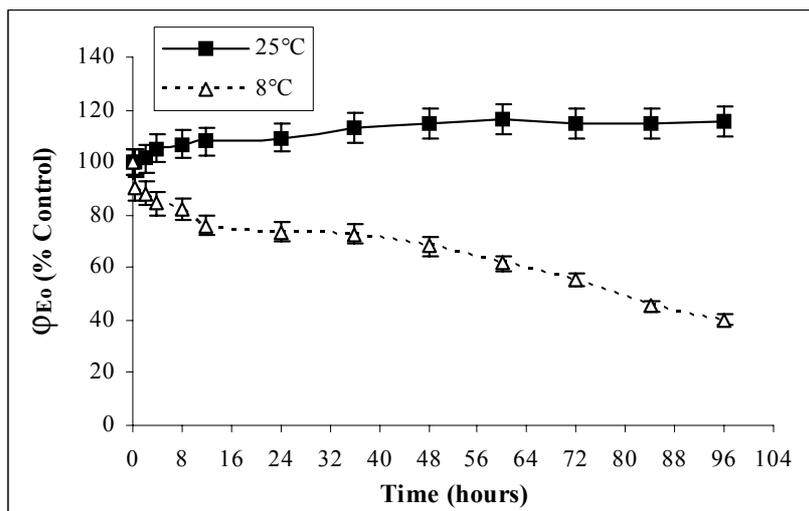
بررسی اثر تنش سرما بر میزان انتقال الکترون در زنجیره

انتقال الکترون فتوسیستم II ( $\phi_{E0}$ ) جلبک *D. salina*

در جلبک *D. salina* با کاهش دما از ۲۵ به ۸ درجه سانتی گراد میزان شاخص  $\phi_{E0}$  (میزان انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II) کاهش می‌یابد. روند کاهش میزان شاخص  $\phi_{E0}$  بلافاصله پس از اعمال تیمار سرما آغاز شده و تا پایان آزمایش ادامه دارد (شکل ۴).



شکل ۳: اثر درجه حرارت‌های ۸ و ۲۵ درجه سانتی گراد بر انتقال الکترون از  $Q_A$  به  $Q_B$  در فتوسیستم II ( $\psi_0$ ) گونه *D. salina*. مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm SE$  است.



شکل ۴: اثر درجه حرارت‌های ۸ و ۲۵ درجه سانتی گراد بر انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II ( $\phi_{E0}$ ) گونه *D. salina*. مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm SE$  است.

بررسی اثر تنش سرما بر میزان احیای پذیرنده‌های انتهایی در سمت پذیرنده الکترون فتوسیستم I ( $\Phi_{Ro}$ )

**جلبک *D. salina***

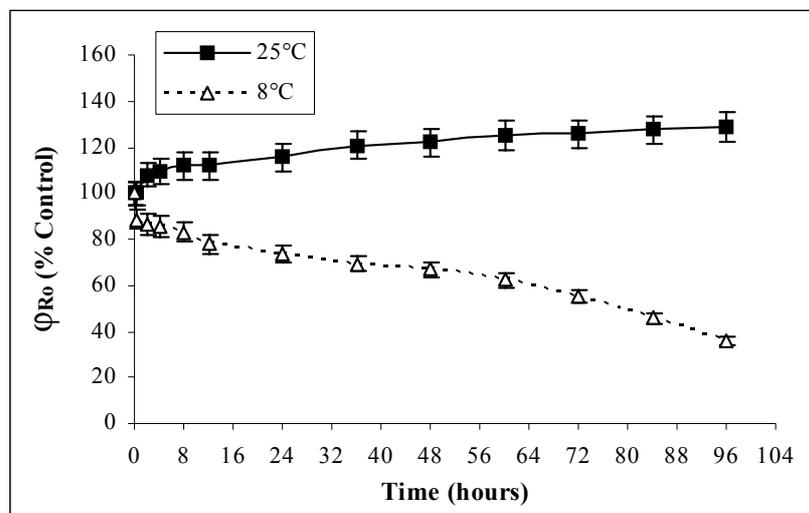
مقایسه روند تغییرات شاخص  $\Phi_{Ro}$  (میزان احیای پذیرنده‌های انتهایی در سمت پذیرنده الکترون فتوسیستم I) جلبک *D. salina* در دماهای ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد که بلافاصله پس از کاهش دما میزان احیای پذیرنده‌های انتهایی در سمت پذیرنده الکترون فتوسیستم I در نمونه‌های تحت تیمار

سرما نسبت به نمونه‌های شاهد کاهش یافته است. روند کاهشی شاخص  $\Phi_{Ro}$  تا ساعات پایانی آزمایش ادامه دارد (شکل ۵).

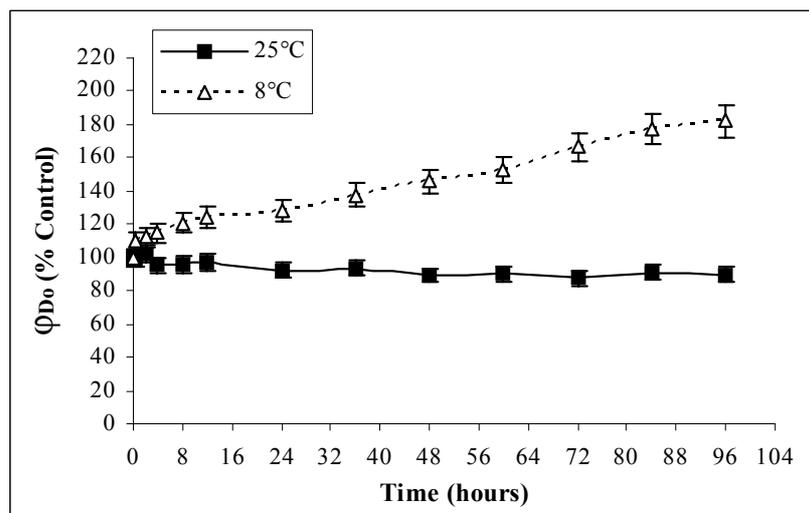
بررسی اثر تنش سرما بر میزان اتلاف انرژی ( $\Phi_{Do}$ ) در

**جلبک *D. salina***

نتایج نشان می‌دهد که در اثر کاهش دما میزان اتلاف انرژی در نمونه‌های تحت تیمار جلبک *D. salina* افزایش می‌یابد، در حالی که تفاوت چندانی در میزان اتلاف انرژی در نمونه‌های شاهد این جلبک مشاهده نمی‌شود (شکل ۶).



شکل ۵: اثر درجه حرارت‌های ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر میزان احیای پذیرنده‌های انتهایی در سمت پذیرنده الکترون فتوسیستم I ( $\Phi_{Ro}$ ) گونه *D. salina*. مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm SE$  است.



شکل ۶: اثر درجه حرارت‌های ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر میزان اتلاف انرژی ( $\Phi_{Do}$ ) گونه *D. salina*. مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm SE$  است.

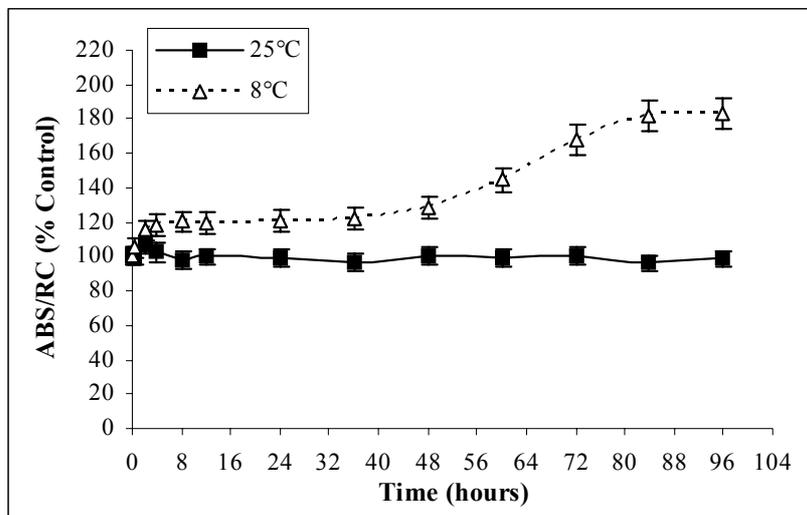
تحت تیمار سرما درمقایسه با نمونه‌های شاهد در ساعات پایانی آزمایش کاملا مشخص است (شکل ۷).

### بررسی اثر تنش سرما بر شاخص کارایی (PI<sub>ABS</sub>) جلبک *D. salina*

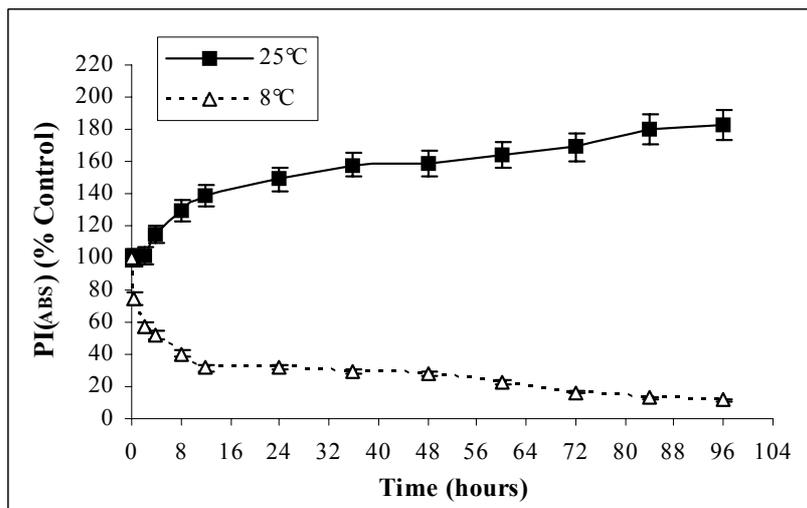
بررسی روند تغییرات شاخص PI<sub>ABS</sub> (شاخص کارایی) در جلبک *D. salina* نشان می‌دهد که بلافاصله پس از کاهش دما، شاخص کارایی در نمونه‌های تحت تیمار سرما کاهش می‌یابد و روند کاهش این شاخص تا لحظه پایان آزمایش ادامه دارد. در حالی که شاخص کارایی در نمونه‌های شاهد این جلبک در طول مدت آزمایش روند افزایشی در پیش می‌گیرد (شکل ۸).

### بررسی اثر تنش سرما بر میزان کل جذب نور توسط کلروفیل‌های آنتن نسبت به مراکز واکنش فعال (ABS/RC) در جلبک *D. salina*

مقایسه روند تغییرات میزان شاخص ABS/RC (جذب نور توسط کلروفیل‌های آنتن نسبت به مراکز واکنش فعال فتوسینتیم II) جلبک *D. salina* در دماهای ۲۵ و ۸ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد که کاهش دما باعث افزایش میزان جذب نور توسط کلروفیل‌های آنتن نسبت به مراکز واکنش فعال نمونه‌های تحت تیمار جلبک *D. salina* نسبت به نمونه‌های شاهد شده است. افزایش میزان شاخص ABS/RC در نمونه‌های



شکل ۷: اثر درجه حرارت‌های ۲۵ و ۸ درجه سانتی‌گراد بر میزان کل جذب نور توسط کلروفیل‌های آنتن نسبت به مراکز واکنش فعال (ABS/RC) گونه *D. salina*. مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm SE$  است.



شکل ۸: اثر درجه حرارت‌های ۲۵ و ۸ درجه سانتی‌گراد بر شاخص کارایی (PI<sub>ABS</sub>) گونه *D. salina*. مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm SE$  است.

## بحث

مرکز واکنش فتوسیستم II از دو پروتئین  $D_1$  و  $D_2$  تشکیل شده که به صورت یک کمپلکس هترودیمر به  $P_{680}$ ، فئوفایتین، دو مولکول کوئینون ( $Q_A$  و  $Q_B$ ) و کمپلکس تجزیه آب متصل است (۱۷). مسیر انتقال الکترون در فتوسیستم II به این صورت است: پس از اینکه مولکول  $P_{680}$  انرژی نورانی را از مولکول‌های آنتن دریافت کرد، به شکل برانگیخته تبدیل شده و با انتقال الکترون به فئوفایتین به سرعت اکسید می‌شود. فئوفایتین نیز الکترون دریافتی را به  $Q_A$  منتقل کرده و پس از آن الکترون به ترتیب از  $Q_A$  به  $Q_B$  و در نهایت به پلاستوکوئینون منتقل می‌شود و پس از احیاء کامل مخزن پلاستوکوئینون، به واسطه کمپلکس سیتوکروم  $b_6f$  و پلاستوسیانین به فتوسیستم I انتقال می‌یابد. جهت ادامه انتقال الکترون در فتوسیستم II، کمبود الکترون در  $P_{680}^+$  از طریق الکترون‌های حاصل از اکسایش آب که توسط کمپلکس تجزیه آب فراهم می‌گردند، جبران می‌شود. با توجه به اینکه کمپلکس تجزیه آب یکی از حساس‌ترین بخش‌ها در زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II محسوب می‌شود، کاهش کارایی این بخش می‌تواند به اختلال در سیستم انتقال الکترون فتوسنتزی منجر گردد (۱۸). بررسی کلی نتایج حاصل از اثر تنش سرما بر کینتیک کلروفیل  $a$  در گونه *D. salina* نشان می‌دهد که کاهش دما از ۲۵ به ۸ درجه سانتی‌گراد منجر به کاهش کارایی کمپلکس تجزیه آب در نمونه‌های تحت تیمار سرما نسبت به نمونه‌های شاهد در این گونه جلبکی شده است (شکل ۱). همچنین میزان انتقال الکترون به فئوفایتین و  $Q_A$  (شکل ۲) و پس از آن، انتقال الکترون از  $Q_A$  به  $Q_B$  (شکل ۳) و در نهایت احیاء پذیرنده‌های نهایی در سمت پذیرنده فتوسیستم I (شکل ۵) تحت تاثیر تنش سرما در جلبک *D. salina* کاهش می‌یابد. با توجه به این نتایج می‌توان گفت، کاهش کارایی کمپلکس تجزیه آب در اثر کاهش دما از ۲۵ به ۸ درجه سانتی‌گراد احتمالاً در کاهش میزان انتقال الکترون به پذیرنده‌های الکترون فتوسیستم II نقش دارد. آسیب پروتئین  $D_1$  در مرکز واکنش فتوسیستم II به دلیل کاهش دما و همچنین کند شدن سرعت جایگزینی پروتئین  $D_1$  به داخل مرکز واکنش فتوسیستم II تحت این شرایط، روند ترمیم فتوسیستم II را با مشکل مواجه ساخته است که این امر می‌تواند در کاهش کارایی کمپلکس تجزیه آب ( $F_v/F_o$ ) و در نتیجه اختلال در فعالیت زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II ( $\Phi_{E_0}$ ) (شکل ۴) دخالت داشته باشد (۵).

با توجه به این که در دمای پایین، جذب نور توسط کلروفیل‌ها تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد و حتی کلروفیل‌های آنتن در مراکز واکنش غیر فعال نیز جذب فوتون‌های نوری را همچنان در دمای پایین ادامه می‌دهند (۱۹ و ۲۰)، افزایش میزان شاخص ABS/RC (جذب توسط کلروفیل‌های آنتن نسبت به مراکز واکنش فعال) در نمونه‌های تحت تیمار جلبک *D. salina* در مقایسه با نمونه‌های شاهد (شکل ۷) می‌تواند به علت تاثیر منفی دمای پایین بر مراکز واکنش فتوسیستم II باشد که باعث افزایش تراکم مراکز واکنش غیر فعال در این فتوسیستم شده است. 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 (۲۱). 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 احیاء پذیرنده‌های الکترون در مسیر زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II به خوبی فراهم نمی‌شود که این امر به نوبه خود به کاهش فعالیت زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II ( $\Phi_{E_0}$ ) منجر 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 صورت انرژی گرمایی را افزایش دهد (۲۲). افزایش میزان شاخص  $\Phi_{D_0}$  (شکل ۶) در نمونه‌های جلبکی *D. salina* که در این تحقیق در اثر کاهش دما از ۲۵ به ۸ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد، می‌تواند موید این امر باشد.

Strasser و همکارانش (۹) شاخصی تحت عنوان شاخص کارایی ( $PI_{ABS}$ ) معرفی کرده‌اند که روند کلی عملکرد فتوسیستم II را نشان می‌دهد و به عنوان شاخص کارایی فتوسیستم II در بسیاری از مطالعات مورد استفاده قرار گرفته است. تاثیر منفی کاهش دما بر مراکز واکنش فعال فتوسیستم II و کارایی کمپلکس تجزیه آب که نقش اصلی را در فراهم کردن انرژی لازم برای فرآیندهای فتوشیمیایی اولیه دارند و همچنین کاهش میزان جریان انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II جلبک *D. salina* که در اثر کاهش دما ایجاد می‌شود می‌تواند دلیلی بر کاهش شاخص کارایی فتوسیستم II این جلبک در دمای پایین باشد. به نظر می‌رسد، کاهش فعالیت فتوسیستم II در دمای پایین می‌تواند بر روند فعالیت دستگاه فتوسنتزی جلبک *D. salina* تأثیر منفی گذاشته و فعالیت فرآیند فتوسنتز را در این شرایط کاهش دهد.

## نتیجه گیری

با توجه به نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد، کاهش کارایی کمپلکس تجزیه آب و همچنین کاهش تراکم مراکز واکنش فعال فتوسیستم II در اثر کاهش دما، احتمالاً نقش عمده‌ای در کاهش میزان انتقال الکترون به پذیرنده‌های الکترون فتوسیستم II دارد و به ایجاد اختلال در فعالیت زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II ( $\Phi_{E0}$ ) منجر می‌شود. تنش سرما با تاثیر بر کمپلکس تجزیه آب باعث کاهش میزان انتقال الکترون به فتوفایتین و  $Q_A$  و پس از آن، انتقال الکترون از  $Q_A$  به  $Q_B$ ، مخزن پلاستوکوئینون و در نهایت احیای پذیرنده‌های نهایی در سمت پذیرنده فتوسیستم I می‌شود. به طور کلی می‌توان گفت، کمپلکس تجزیه آب اولین بخش در فتوسیستم II سلول‌های جلبک *D. salina* است که تحت تاثیر تنش سرما قرار می‌گیرد.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان به خاطر حمایت مالی در انجام این تحقیق قدردانی می‌گردد. همچنین نویسندگان مقاله از قطب تنش های گیاهی در دانشگاه اصفهان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

## منابع

- Mahajan S, Tuteja N. Cold, salinity and drought stresses: An overview. Archives of Biochemistry and Biophysics. 2005; 444: 139-158.
- Krüger GHJ, Tsimilli-Michael M, Strasser RJ. Light stress provokes plastic and elastic modifications in structure and function of photosystem II in camellia leaves. Physiologia Plantarum. 1997; 101: 265-277.
- Strasser R.J, Srivastava A, Tsimili-Michel, M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In Mohanty, M., Yunus, S. and Pather, G. (eds). Probing photosynthesis: Mechanism, regulation and adaption. London: Taylor and Francis; 2000; 443-480.
- Tóth SZ, Schansker G, Strasser RJ. A non-invasive assay of the plastoquinone pool redox state based on the OJIP-transient. Photosynthesis Research. 2007; 93(1-3): 193-203.
- Cowan AK, Rose PD, Horne LG. Dunaliella salina: a model system for studying the response of plant cells to stress. Journal of Experimental Botany. 1992; 43(12): 1535-1547.
- Ben-Amotz A, Shaish A, Avron M. Mode of action of the massively accumulated  $\beta$ -carotene of Dunaliella bardawil in protecting the alga against damage by excess irradiation. Plant Physiology. 1989; 91: 1040-1043.
- Chitlaru E, Pick U. Regulation of glycerol synthesis in response to osmotic changes in Dunaliella. Plant Physiology. 1991; 96: 50-60.
- Madadkar Haghjou M, Shariati M. Photosynthesis and respiration under low temperature stress in two Dunaliella strains. World Applied Sciences Journal. 2007; 2(4): 276-282.
- Madadkar Haghjou M, Shariati M, Smirnov N. 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. 2009; 135: 272-280.
- 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: 1295-1304.
- Zouni A, Witt HT, Kern J, Fromme P, et al. Crystal structure of photosystem II from Synechococcus elongatus at 3.8 Å resolution. Nature. 2001; 409: 739-743.
- Pereira WE, De Siqueira DL, Martínez CA, Puiatti M. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminium stress. Journal of Plant Physiology. 2000; 157: 513-520.
- Tewari AK, Tripathy BC. Temperature-stress-induced impairment of chlorophyll biosynthetic reactions in cucumber and wheat. Plant Physiology. 1998; 117: 851-858.
- Hällgren J.E, Öquist, G. Adaptations to low temperatures. In Alscher, R. G. and Cumming, J.R. (eds). Stress responses in plants: Adaptation and acclimation mechanisms. New York: Wiley-Liss; 1990; 265-293.
- Terashima I, Funayama S, Sonoike K. The site of photoinhibition in leaves of Cucumis sativus L. at low temperatures is photosystem I, not photosystem II. Planta. 1994; 193: 300-306.
- Hutchison RS, Groom Q, Ort DR. Differential effects of chilling-induced photooxidation on the redox regulation of photosynthetic enzymes. Biochemistry. 2000; 39: 6679-6688.
- Allen DJ, Ort DR. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. Trends in Plant Science. 2001; 6: 36-42.
- Terzaghi WB, Fork DC, Berry JA, Field CB. Low and high temperature limits PSII. Plant Physiology. 1989; 91: 1494-1500.

19. Lambers, H, Chapin III, F. S, Pons, T. L. Plant physiological ecology. 2<sup>nd</sup> Ed. New York: Springer; 2008.
20. Mehta P, Allakhverdiev SI, Jajoo A. Characterization of photosystem II heterogeneity in response to high salt stress in wheat leaves (*Triticum aestivum*). *Photosynthesis Research*. 2010; 105: 249-255.
21. Thach LB, Shapcott A, Schmidt S, Critchley C. The OJIP fast fluorescence rise characterizes *Graptophyllum* species and their stress responses. *Photosynthesis Research*. 2007; 94: 423-436.
22. Strasser R. J, Tsimilli-Michael M, Srivastava A. Analysis of the fluorescence transient. In Papageorgiou, G. C. and Govindjee (eds). *Chlorophyll a fluorescence: A signature of photosynthesis*. Rotterdam: Springer; 2004; 321-362.

## Effect of Cold Stress on PSII Efficiency of *Dunaliella* Using Chlorophyll a Fluorescence Kinetics

Paeizi M<sup>1</sup>, Shariati M<sup>2\*</sup>

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

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

\* Email corresponding author: mansour\_shariati@yahoo.com

Received: 23 Oct. 2011

Accepted: 9 Jan. 2012

---

### Abstract

**Aim:** The first location of cold stress effect on PSII in plants and algae is not fully clear. Therefore, the effect of low temperature (8°C) on the activity of different parts of PSII were investigated in *D. salina* as plant model system is investigated using chlorophyll a fluorescence kinetics.

**Material and methods:** In this study unicellular green alga, *D. salina*, 200 UTEX strain was used. The Algae were cultured in the medium containing 1M of NaCl at 8°C or 25°C in triplicates. Then the parameters of Chl-a fluorescence was measured in various interval after cold stress.

**Result:** The results showed that at temperatures 8°C, the rate of parameters  $F_V/F_o$ ,  $\Phi_{Po}$ ,  $\Psi_o$ ,  $\Phi_{Eo}$ ,  $\Phi_{Ro}$  and  $PI_{ABS}$  in the species *D. salina* were decreased in comparison with the control (25°C). Whereas, the rate of parameters  $\phi_{D_o}$  and  $ABS/RC$  were decreased.

**Conclusion:** According to the results, decreasing of efficiency of water-splitting complex under low temperature stress probably has a significant effect on electron transport to the PSII electrons acceptors and creates imbalance in activity of PSII electron transport chain. The effect of cold stress on water-splitting complex, in turn, seems to decrease the rate of electron transport to Pheophytin and  $Q_A$  and from  $Q_A$  to  $Q_B$ , plastoquinone pool and finally reduction of end acceptor at photosystem I electron acceptor side. It could be finalized that the water-splitting complex is the first site that is affected by cold stress in PSII of *D. salina* cells.

**Key words:** Cold stress, *Dunaliella*, Photosystem II, Chlorophyll a fluorescence kinetics

