"مقاله پژوهشی"

ارزیابی سه گونه جلبکی جمع‌آوری شده از تالاب میانکاله برای تولید سوخت زیستی و مطالعه کمی سه ژن پاسخ دهنده به شدت نور و غلظت CO_2 در *Chaetomorpha antennina*

مهرداد اسدیان[۱]، براتعلی فاخری[۱]، احمد فرهاد طالبی[۲*]، نفیسه مهدی‌نژاد[۱]، شاهرخ قرنجیک[۳]

۱. گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲. گروه بیوتکنولوژی میکروبی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران
۳. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۴/۱۶

چکیده

جلبک‌ها با مصرف CO_2، نور و ترکیبات مغذی موجود در فاضلاب می‌توانند علاوه بر کاهش آلاینده‌های محیطی، عملکرد بیوماس و تولید ترکیبات با ارزش افزوده نظیر سوخت زیستی را در سلول‌های خود افزایش دهند. از طرفی تکنیک‌های مولکولی نظیر Real-Time PCR می‌تواند به شناسایی مسیرهای پاسخ به شرایط محیطی و تولید لیپید در سلول‌های جلبکی کمک مناسبی نماید. در این مطالعه در ابتدا خواص بیودیزل برای سه گونه جلبکی (*Chaetomorpha antennina*, *Ulva intestinalis* , *Bryopsis pennata*) رشد یافته در شدت‌های نوری مختلف (۸۱۰۰، ۱۲۱۵۰ و ۱۶۲۰۰ لوکس) و غلظت‌های مختلف CO_2 (۳۵۰، ۵۱۹۰ و ۱۰۰۰۰ppm) مورد بررسی قرارگرفت. سپس الگوی بیان دو ژن درگیر در تثبیت CO_2 (*CA* و *CIA5*) و یک ژن مرتبط با دریافت نور (*CAB*) در گونه برتر ارزیابی شد. نتایج نشان داد که شدت نوری ۱۲۱۵۰ لوکس و غلظت CO_2 به میزان ۵۱۹۰ppm به طور معنی‌داری منجر به بالاترین مقدار محتوای لیپید به میزان ۳۰ تا ۳۷ درصد برای هر سه گونه جلبکی می‌شود. همچنین همه گونه‌های ماکروجلبکی مورد استفاده در این مطالعه توانایی مطلوبی جهت تولید سوخت زیستی داشتند. همچنین در این مطالعه مشاهده شد که با افزایش غلظت گاز CO_2 بیان ژن *CA* کاهش می‌یابد، اما در غلظت ۵۱۹۰ppm بیشترین میزان بیان ژن *CIA5* مشاهده شد. بیشترین میزان بیان ژن *CAB* نیز در شدت نوری ۱۲۱۵۰ لوکس مشاهده شد. در مجموع تنظیم بیان ژن های درگیر در پاسخ به تیمارهای مورد مطالعه، در عملکرد تولید لیپید و نهایتاً خصوصیات گازوئیل زیستی بدست آمده اثر معنی‌دار می‌تواند داشته باشد.

کلمات کلیدی: سوخت زیستی، بیان ژن، تثبیت CO_2 ، شدت نور

*عهده دار مکاتبات aftalebi@semnan.ac.ir

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.4.2.3]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.4.1]

مقدمه

افزایش انتشار گازهای گلخانه‌ای (GHGs) منجر به بروز تهدیداتی در زیست‌کره و وقوع پدیده گرمایش جهانی می‌شود. یکی از مهم‌ترین این گازها CO_2 (کربن دی‌اکسید) می‌باشد، که از آن می‌توان به عنوان یک منبع کربن برای بهبود رشد جلبک‌ها استفاده نمود (Asadian *et al*., 2018). جلبک‌ها می‌توانند با مصرف CO_2 و تثبیت آن بیومولکول‌های مختلف (نظیر لیپیدها) و ترکیبات با ارزش افزوده مناسب (سوخت زیستی) را تولید نمایند. ارزیابی بیان ژن می‌تواند به شناسایی ژن‌های درگیر در فرآیندهای سلولی و مسیرهای تولید سوخت زیستی در گونه‌های جلبکی کمک نماید (Talebi *et al*., 2015). برای مثال با استفاده از تکنیک‌های مولکولی ژن‌های درگیر در مکانیسم تغلیظ CO_2 (CCM) و پارامترهای مناسب در آن را شناسایی کرد. جلبک‌ها با استفاده از این مکانیسم قادر به تثبیت CO_2 با راندمان بالا و بهبود فعالیت فتوسنتزی می‌باشند (Giordano *et al*. 2005). این موضوع منجر به تولید زیست توده مناسب می‌شود. فعالیت ژن کربونیک آنهیدراز (CA) می‌تواند به بهبود فرآیند CCM در سلول‌های جلبکی کمک کند. فعالیت این ژن منجر به افزایش غلظت CO_2 در در غشای پلاسمایی به واسطه دهیدراسیون HCO_3^- می‌شود (Emameh *et al*., 2014). یکی دیگر از ژن‌های دخیل در این مکانیسم CIA5 است. این ژن اثر خود را در غیاب کمبود منبع کربن با بهبود فعالیت مکانیسم CCM اعمال می‌کند و باعث تامین غلظت مطلوب CO_2 برای بهبود فعالیت انزیم روبیسکو می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که بیان معنادار این دو ژن می‌تواند منجر به بهبود تولید زیست توده و در جلبک‌ها و به دنبال آن تولید سوخت زیستی با کیفیت می‌شوند (Zhu *et al*., 2017).

علاوه بر CCM، کمپلکس برداشت کننده نور (LHC) و زنجیره انتقال الکترون (ETC) به طور مستقیم بر روی فرآیند فتوسنتز و تولید بیوماس در سلول‌های جلبکی موثر هستند. شدت نور تابیده شده به سلول را نیز می‌توان به عنوان یک فاکتور تعیین کننده برای بهبود این فعالیت در نظر گرفت (خلیل‌پذیر و همکاران، ۱۳۹۶؛ پیربیگی و همکاران، ۱۳۹۶). این موضوع می‌تواند بر روی تجمع پیگمان‌های مختلف نظیر کلروفیل و کارتنوئیدها و به دنبال آن تنظیم متابولیسم و رشد سلول‌های جلبکی نقش مهمی داشته باشد (Walla *et al*. 2014). ژن CAB یک پروتئین پروتئین اتصال کلروفیل a-b را فعال می‌کند که می‌تواند به عنوان یک گیرنده و انتقال دهنده نور جهت پاسخ به شدت‌های مختلف نوری عمل کند. در چندین مطالعه بیان ژن CAB در پاسخ به شدت‌های نوری مورد بررسی قرار گرفته است (Nakano *et al*. 2013; Teramoto *et al*. 2002). در مطالعه قبلی انجام شده توسط ما، تاثیرات شدت نور و غلظت CO_2 را در جذب زیستی نیترات، نیتریت، فسفات و تثبیت CO_2 با استفاده از روش طراحی مرکب مرکزی (CCD) و آنالیز RSM مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که *Chaetomorpha antennina* به طور معناداری در حذف مواد مغذی و تثبیت CO_2 نقش دارد (Asadian *et al*., 2019). لذا در این مطالعه این گونه جلبکی برای ارزیابی بیان ژن‌ها مورد استفاده قرار گرفت. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی پتانسیل سه گونه جلبکی (*Chaetomorpha antennina, Ulva intestinalis and Bryopsis pennata*) برای تولید سوخت زیستی و

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.4.2.3]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.4.1]

مطالعه کمی بیان سه ژن *CA*، *CIA5* و *CAB* در پاسخ به غلظت‌های مختلف CO_2 و شدت‌های مختلف نوری در *Chaetomorpha antennina* می‌باشد. این مطالعه به شناسایی شرایط مطلوب جهت بیان مناسب ژن‌های پاسخ دهنده به آلاینده‌های محیطی و بهبود رشد گونه-های ماکروجلبکی جهت تولید سوخت زیستی می-پردازد. طراحی بهینه محیط پرورش این جلبک‌ها منجر به تولید انبوه بیوماس جهت کاهش آلاینده‌های محیطی در اتمسفر/ هیدروسفر و استفاده مطلوب در تولید سوخت گازوئیل زیستی می‌شود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها و کشت آن‌ها

گونه‌های ماکروجلبکی (*Chaetomorpha antennina, Ulva intestinalis and Bryopsis pennata*) استفاده شده در این مطالعه از تالاب میانکاله واقع در جنوب شرقی دریای خزر جمع‌آوری شده‌اند (Asadian *et al*., 2019). این گونه‌ها در محیط کشت 3N-BBM و در شرایط غلظت‌های مختلف CO_2 (۳۵۰، ۵۱۹۰ و ppm۱۰۰۰) و شدت‌های مختلف نوری (۱۱۳, ۱۷۰ و ۲۲۵ µmol photon m^{-2} s^{-1} یا ۸۱۰۰، ۱۲۱۵۰ و ۱۶۲۰۰ لوکس) رشد داده شدند (Asadian *et al.* 2019). غلظت گاز CO_2 در اتمسفر بین ۳۵۰ تا ۴۰۰ ppm است (Vijayakumar *et al.* 2019). در این مطالعه غلظتppm۳۵۰ به عنوان میزان حداقلی از گاز CO_2 در نظر گرفته شد. در مرحله بعد و مطابق با مطالعات مختلف و با استفاده از نرم‌افزار Design expert میزان حدواسطی و حداکثری نیز انتخاب شد. همچنین شدت نور خورشید در نواحی مختلف بین ۱۰۰ تا ۲۰۰ µmol photon m^{-2} s^{-1} است (Cioc *et al.* 2019). بر این اساس شدت‌های نوری ذکر شده در بالا برای این مطالعه انتخاب شد.

آنالیز اسیدهای چرب با استفاده از آزمون GC جهت تعیین کیفیت آن در تولید سوخت زیستی

برای انجام این کار ۰/۰۲۵ گرم از نمونه جلبکی را (در سه تکرار) در داخل ویال ۲ میلی‌لیتری ریخته و به آن ۵۰۰ میکرولیتر از محلول متانول ۱۰۰ درصد به همراه اسید سولفوریک اضافه شد (شامل ۴۹۰۰ میکرولیتر متانول و ۱۰۰ میکرولیتر اسیدسولفوریک). سپس در ویال‌ها به دقت پوشانده شد تا ازتبخیر متانول جلوگیری شود. سپس ویال‌ها به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شد. سپس نمونه به مدت ۲ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد و دور ۷۵۰rpm در ترمومیکسر قرار داده شد. سپس ویال‌ها به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد تا سرد شوند. در این مرحله محتوای لیپید بر اساس درصد وزن خشک و بهره‌وری لیپید با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

فرمول ۱: $LP= (LC \times BP \times 1000)/ 100$

در این فرمول LC درصد محتوای لیپیدی براساس درصد وزن خشک بیوماس جلبکی، BP میزان بهره-وری بیوماس جلبکی و LP میزان بهره‌وری لیپیدی است.

سپس آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار Design Expert version 7.0 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, USA) صورت گرفت و بهترین تیمار جهت انجام آنالیز سوخت زیستی برای هر سه گونه جلبکی انتخاب شد.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.4.2.3]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.4.1]

در مرحله بعد ۳۰۰ میکرولیتر از محلول ۰/۹ درصد سدیم کلراید (۰/۰۹ گرم سدیم کلراید در ۱۰ میلی‌لیتر آب حلی می‌شود) و ۱۵۰ میکرولیتر هگزان به آن اضافه شد. سپس نمونه به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه و دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. در این مرحله دو فاز ایجاد می‌شود که برای ادامه کار نیاز است تا از فاز رویی به میزان یک میکرولیتر برداشته و به ستون سیلیکایی دستگاه GC ساخت کمپانی Varian مدل ۴۰۰۰ با دتکتور FID تزریق شود. پیک‌های اسیدچرب و وزن مولکولی هر یک با مقایسه با اسیدهای چرب استاندارد به دست می‌آیند.

برای تعیین کیفیت بیودیزل تولیدی توسط این اسیدهای چرب نیز از نرم‌افزار Biodieselanalyzer ver 2.2. (Talebi *et al*., 2014) استفاده شد. برای انجام کار ویژگی‌های مربوط به کیفیت نظیر پایداری اکسیداسیون، نقطه ابریشدن و عدد ستان اندازه‌گیری شد.

استخراج RNA

به منظور بررسی بیان برخی ژن‌های درگیر در مسیر تثبیت CO_2 و شدت نور، استخراج RNA و انجام واکنش Real Time PCR بر روی سه گونه جلبکی و سه ژن کربونیک آنهیدراز (*CA*)، *CIA5* و CAB کاندید شده صورت گرفت. در این پژوهش از کیت استخراج RNA (CinaGen,iran) برای استخراج RNA استفاده شد. استخراج بر طبق دستورالعمل شرکت CinaGen صورت پذیرفت.

ساخت cDNA

برای ساخت cDNA از کیت سنتز cDNA (-Vivantis,Indonesia) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد که مراحل آن به شرح زیر می‌باشد: جهت سنتز اولین رشته cDNA، به نمونه‌های RNA (پنج میکرولیتر) مقدار یک میکرولیتر آغازگر $oligodT_{18}$، یک میکرولیتر مخلوط ۱۰ میلی‌مولار dNTP و سه میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز افزوده شد تا به حجم ۱۰ میکرولیتر برسد. سپس به مدت پنج دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس دو میکرولیتر بافر ساخت cDNA10x و ۱۰۰ واحد آنزیم رونوشت‌بردار معکوس افزوده شد و با آب عاری از نوکلئاز به حجم ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. و مخلوط واکنش به‌مدت ۱ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در این مرحله سنتز اولین رشته cDNA خاتمه می پذیرد.

طراحی آغازگر برای ژن‌های کاندید

برای طراحی آغازگر برای ژن‌های مورد مطالعه در این تحقیق ابتدا توالی این دو ژن در چندین گونه جلبکی از بانک ژن (سایت NCBI) دریافت و سپس بر اساس نواحی حفاظت شده و با استفاده از دو نرم افزار Primer3 و Oligoanalyzer اقدام به طراحی پرایمر شد. پس از طراحی پرایمر سفارش آن به شرکت سینا کلون، ایران (تحت نظر Vivantiscompany,Indonesia) داده شد. توالی دو جفت آغازگر رفت و برگشت طراحی شده به شرح جدول ۱ می باشد:

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.4.2.3]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.4.1]

جدول ۱. مشخصات آغازگرهای طراحی شده برای ژن‌های کاندید

عنوان پرایمر	توالی ('3→5')	میزان کارایی پرایمر (درصد)	دمای اتصال (°C)
CAF (XP_001692291.1, EC 4.2.1.1)	AGGTCCCTTCCGTAGCAAAT'	۹۵	۵۷
CAR (XP_001692291.1, EC 4.2.1.1)	CAGTGGTCGTACCCTGACCT	۹۵	۵۸
CIAF (AF317732, XP_001699846.1)	CACCATGAGCATCCAAACAG	۹۲	۶۰
CIAR (AF317732, XP_001699846.1)	CCCTTGACTTCGTCGTAAGC	۹۲	۶۰
CABF (XP_001699932.1, X54856)	ACGGATGTGCAGTGTAAGGA	۹۸	۵۸
CABR (XP_001699932.1, X54856)	CCATCAATCCAGCTCTGCAC	۹۸	۵۸
18SF	ACTGCTCTGCTCCACCTTCC	۹۹	۵۹
18SR	TATTCAGAGCGTAGGCCTGC	۹۹	۶۰

همچنین جهت ارزیابی کارایی پرایمرها رقت‌های مختلفی از cDNA تهیه شد و سپس واکنش Real Time PCR برای هر پرایمر و رقت‌های مختلف cDNA صورت گرفت. در نهایت با استفاده از CTهای به دست آمده و محاسبه شیب خط منحنی استاندارد کارایی پرایمر (جدول ۱) مطابق فرمول ۲ محاسبه شد.

فرمول ۲: $\text{Efficiency} = 10^{(-1/\text{slope})} - 1$

بر این اساس برای ژن CA کارایی پرایمر ۹۵ درصد، شیب خط ۳/۴۲- و R^2= ۰/۹۸، برای ژن CIA5 کارایی پرایمر ۹۲ درصد، شیب خط ۳/۵۱- و R^2= ۰/۹۸، برای ژن CAB کارایی پرایمر ۹۸ درصد، شیب خط ۳/۳۵- و R^2= ۰/۹۹ و برای ژن 18s کارایی پرایمر ۹۹ درصد، شیب خط ۳/۳۳- و R^2= ۰/۹۹ محاسبه شد.

واکنش Real-Time PCR

در این روش بیان مولکول mRNA در ژن‌های مورد نظر با استفاده ازیک روش کمی و با استفاده از مستر میکس حاوی SyberGreen ساخت شرکت vivantis (مالزی) ارزیابی شد. حجم کل در این واکنش ۲۵ میکرولیتر بود که هر یک در ویال‌های ۰/۲ میلی‌لیتری قرار گرفتند (جدول ۲).

جدول ۲. اجزای واکنش Real Time PCR

اجزای واکنش	حجم (میکرولیتر)
Master Mix Real Time PCR	۱۲/۵
Forward primer	۱/۵
Reverse primer	۱/۵
نمونه cDNA	۵
آب عاری از نوکلئاز	۴/۵

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.4.2.3]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.4.1]

جدول ۳. برنامه واکنش Real-Time PCR

مرحله	دما	زمان	تعداد چرخه
ذوب اولیه	۹۵ درجه سانتی گراد	۵ دقیقه	۱
واسرشت	۹۵ درجه سانتی گراد	۲۰ ثانیه	۴۰
اتصال	۵۸ درجه سانتی گراد	۲۰ ثانیه	
تکثیر	۷۲ درجه سانتی گراد	۳۰ ثانیه	

در انتهای واکنش، منحنی ذوب توسط دستگاه Real-Time PCR (مدل CFX 96 BioRAD) مطابق برنامه تکثیر رسم شد. در نهایت با استفاده از منحنی ذوب می‌توان صحت فعایت هر آغازگر و اختصاصی بودن قطعه تکثیر شده را ارزیابی کرد. همچنین در این مطالعه، از نرم افزار REST برای آنالیز داده‌های به دست آمده استفاده شد. علاوه بر این از ژن ۱۸S ربیوزومی به عنوان ژن کنترل نیز برای بررسی تفاوت بیان ژن‌ها به عنوان ژن کنترل (housekeeping gene) استفاده شد.

نتایج

ارزیابی پروفایل اسید چرب جهت تولید سوخت زیستی

نتایج حاصل از تاثیر تیمار CO_2 و شدت نور در محتوای لیپید و بهره‌وری لیپیدی در سه گونه ماکروجلبکی نشان داد غلظت ppm ۵۱۹۰ گاز CO_2 و شدت نوری ۱۲۱۵۰ لوکس منجر به افزایش محتوای لیپید و بهره‌وری آن می‌شود. در این شرایط محتوای لیپید برابر با ۳۱، ۳۷ و ۳۴ درصد برای سه گونه *B.pennata*، *C.antennina* و *U.intestinalis* به ترتیب محاسبه شد.همچنین بهره‌وری لیپید نیز برابر با ۲/۵۴۳، ۲/۷۱۵ و ۲/۸۷۱ میلی‌گرم بر لیتر در روز (mg L^{-1} day^{-1}) به ترتیب برای سه گونه *B. pennata*، *C. antennina* و *U. intestinalis* به دست آمد. کم‌ترین میزان محتوای لیپید برابر با ۱۰ درصد و بهره‌وری برابر با ۰/۴۱۵ میلی‌گرم بر لیتر در روز در جلبک *B. pennata* و در شرایط ppm ۳۵۰ گاز CO_2 و ۸۱۰۰ لوکس شدت نوری مشاهده شد. آنالیز نتایج برای تمامی تیمارها با استفاده از نرم افزار Design Expert Ver 7.0 نشان از تاثیر معنی دار تیمار ppm۵۱۹۰ + ۱۲۱۵۰ لوکس در سطح ۵ درصد در مقایسه با سایر تیمارها جهت بهبود محتوا و بهره‌وری لیپیدی در سلول-های جلبکی داشت (جدول ۴).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.4.2.3]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.4.1]

جدول ۴. تاثیر تیمارهای مختلف غلظت CO_2 و شدت نور بر روی محتوا و بهره‌وری لیپیدی در سه گونه ماکروجلبکی

تیمار (CO_2 (ppm) + نور (lux))	میانگین محتوای لیپید (بر اساس درصد وزن خشک) برای هر سه گونه ماکروجلبکی	میانگین بهره‌وری لیپید ($mg\ L^{-1}\ day^{-}$[1]) برای هر سه گونه ماکروجلبکی
۸۱۰۰ +۳۵۰	۱۲ ± ۲/۷ e	۰/۵۲۸±۰/۱ f
۱۲۱۵۰ + ۳۵۰	۲۲±۲/۹ bc	۱/۳۸۱±۰/۲ bc
۱۶۲۰۰ +۳۵۰	۱۹±۱/۹ d	۰/۷۳±۰/۱ e
۸۱۰۰ + ۵۱۹۰	۲۱±۱/۵ cd	۰/۷۱± ۰/۰۵ e
۱۲۱۵۰ + ۵۱۹۰	۳۴±۲/۴ a	۲/۶۹±۰/۱ a
۱۶۲۰۰ + ۵۱۹۰	۲۵±۲/۵ b	۱/۴۸±۰/۱ b
۸۱۰۰ +۱۰۰۰۰	۲۱±۱/۶ cd	۱/۰۷±۰/۰۵ d
۱۲۱۵۰ +۱۰۰۰۰	۲۴±۲/۱ b	۱/۳۶±۰/۰۹ bc
۱۶۲۰۰ +۱۰۰۰۰	۲۴±۱/۹ b	۱/۳۴±۰/۱ c

در ادامه پروفایل اسیدچرب برای سه گونه جلبکی استفاده شده در این مطالعه برای بهترین تیمار (ppm ۵۱۹۰ گاز CO_2 + ۱۲۱۵۰ لوکس شدت نوری) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی مورد ارزیابی قرار گرفت.پروفایل اسیدچرب برای سه گونه جلبکی استفاده شده در این مطالعه به طور خلاصه در جدول ۵ آورده شده است. در مطالعه ما C18:2omega6 (لینولئیک اسید) در همه گونه‌های جلبکی مورد مطالعه به میزان بالایی (۴۰ درصد به بالا) مشاهده شد. همچنین برای تعیین کیفیت سوخت زیستی ویژگی‌های مختلف نظیر عدد ابری شدن، میزان APE، BAPE و عدد ستان مورد بررسی قرار گرفت. ویژگی‌های سوخت زیستی برای هر گونه جلبکی نیز در جدول ۶ آورده شده است.

جدول ۵. درصد فراوانی نسبی پروفایل اسیدهای چرب برای سه گونه مورد مطالعه در سه تکرار

اسید چرب / گونه جلبکی	C4	C6	C8	C10	C:13	C14:1	C15:1	C16	C16:1	C17	C17:1	C18:1	C18:2	C18:3	C20
U. intestinalis	۱۱	۹	۴	۰/۷	۴	۰/۷	۰/۲	۱/۴	۶/۸	۰/۵	۰/۳	۲/۹	۴۵	۱/۸	۸/۶
C. antennina	۱۰	۹	۵	۰/۸	۴	۰/۷	۰/۳	۱/۶	۶/۹	۱/۸	۰/۳	۳	۴۳	۰/۸	۹
B. pennata	۱۰	۱۰	۵	۰/۷	۳/۷	۰/۶	-	۰/۳	۹	۰/۳	-	۱/۶	۴۷	۱/۳	۸

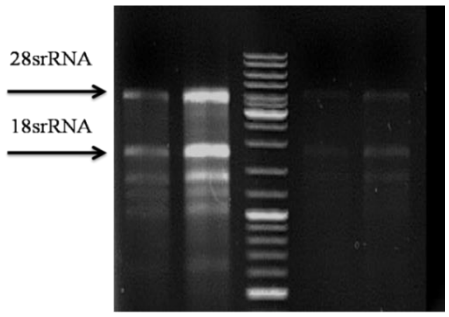
[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.4.2.3]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.4.1]

جدول ۶. ارزیابی تخمینی از ویژگی‌های مرتبط با سوخت زیستی در سه گونه ماکرو جلبکی

گونه جلبکی	CN	CP	APE	BAPE
U. intestinalis	۴۳/۹۱	-۴/۲۲	۹۶/۶۲	۶۵/۹۷
C. antennina	۴۵/۰۱	-۴/۱۴	۹۲/۰۸	۶۴/۳۲
B. pennata	۴۰/۶۸	-۴/۷۹	۱۰۵/۰۸	۷۲/۶۶

تعیین کیفیت RNA

RNA کل از نمونه‌های جلبکی استخراج شد و کیفیت آن بر روی ژل اگارز ۲ درصد مشاهده گردید. وجود باندهای 28srRNA و 18srRNA به صورت مطلوب نشان از کیفیت بالای RNAهای استخراج شده داشت (شکل ۱).



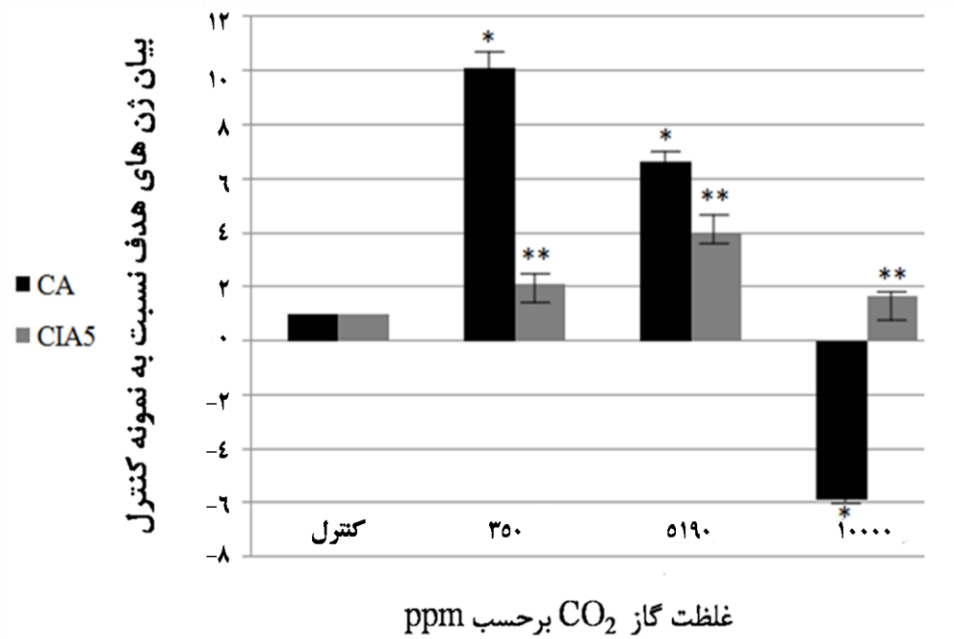
شکل ۱. الکتروفورز نمونه‌هایRNAکل استخراج شده از نمونه‌های جلبکی

تاثیرات گاز CO_2 در بیان ژن‌های *CA* و *CIA5*

میزان تغییر در بیان این دو ژن با نرم‌افزار REST در کنار اطلاعات ژن خانه‌دار مورد ارزیابی قرار گرفت. در این روش میزان بیان ژن در شرایط ۰، ۳۵۰، ۵۱۹۰ و ppm ۱۰۰۰۰ در دو تکرار مورد بررسی قرار گرفت. نقش گاز CO_2 به عنوان یک فاکتور مناسب در تنظیم ژن‌های القا کننده این گاز با بررسی میزان RNA مربوط به دو ژن کربونیک آنهیدراز و *CIA5* صورت گرفت. شکل ۲ میزان بیان این دو ژن را به عنوان تابعی از میزان غلظت گاز CO_2 نشان می‌دهد. نتایج این مطالعه تغییر میزان بیان ژن *CA* را از ۱۰ تا ۶- برابر در مقایسه با نمونه کنترل نشان می‌دهد به طوری که با افزایش غلظت گاز CO_2 سطح بیان این ژن کاهش پیدا می‌کند (شکل ۲). حداکثر بیان این ژن در غلظت ppm ۳۵۰ مشاهده شد. از طرف دیگر فروانی mRNA مربوط به ژن *CIA5* در غلظت‌های ۳۵۰ و ppm ۵۱۹۰ به ترتیب به میزان ۲ تا ۴ برابر در مقایسه با نمونه کنترل افزایش پیدا کرد و مجددا در غلظت بالای گاز CO_2 این میزان به ۱/۸ برابر کاهش پیدا می‌کند.

.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.4.2.3]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.4.1]



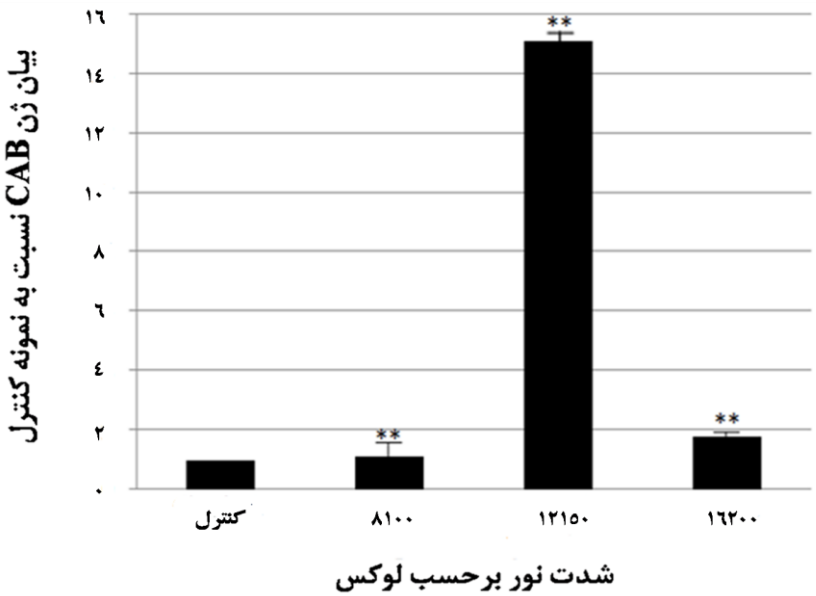
شکل ۲. مقایسه تغییرات وابسته به گازCO_2 در میزان mRNAهای مربوط به دو ژن *CIA5* و *CA*. سطوح رونوشت به عنوان مقدار نسبی رونوشت‌های ارجاع شده به بیان ژن نمونه رشد یافته در غلظت۱۰۰ppm از گاز CO_2 گزارش شده است.

بیان ژن *CAB* در پاسخ به تیمار نوری

میزان تغییر در بیان ژن *CAB* به کمک تکنیک Real Time PCR با نرم‌افزار REST به همراه ژن خانه-دار ریبوزومی مورد ارزیابی قرار گرفت. در این روش میزان بیان ژن در شرایط ۴۵۰۰، ۸۱۰۰، ۱۲۱۵۰ و ۱۶۲۰۰ لوکس در دو تکرار مورد بررسی قرار گرفت. کمی‌سازی ژن *CAB* و تعیین میزان سطوح mRNA پس از کشت در شرایط تیمار نوری و در مقایسه با نمونه کنترل صورت گرفت. شکل ۳ نشان می‌دهد که میزان بیان ژن CAB در شدت نوری حدواسط ۱۲۱۵۰ لوکس تا ۱۵ برابر در مقایسه با نمونه شاهد افزایش پیدا می‌کند و حداکثر میزان بیان ژن در این شرایط نوری مشاهده شد و در غلظت بالاتر (lux ۱۶۲۰۰) این میزان کاهش پیدا می‌کند. البته این نکته قابل توجه است که در شرایط نوری بالا در مقایسه با نمونه شاهد میزان بیان ژن به طور معناداری افزایش پیدا کرده است. اما به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که شدت نور حدواسط در بهبود فعالیت این ژن بسیار موثر است و با افزایش بیش از حد شدت نوری بیان ژن پاسخ‌دهنده سرکوب می-شود

.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.4.2.3]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.4.1]



شکل ۳. واکنش RT-PCR کمی و تعیین میزان بیان ژن *CAB* در پاسخ به شدت نوری مختلف. سطح رونوشت به عنوان مقدار نسبی رونوشت‌های ارجاع شده به بیان ژن نمونه رشد شده در شدت نور lux ۴۵۰۰ گزارش شده است.

بحث

مصرف بیش از حد سوخت‌های فسیلی منجر به انتشار آلاینده‌های محیطی در اتمسفر و هیدروسفر می‌شوند که این موضوع سلامتی انسان و سایر موجودات زنده را به مخاطره می‌اندازد. استفاده از سوخت‌های زیستی به جای سوخت‌های فسیلی می‌تواند این خطرات را تا حد قابل توجهی کاهش دهد. امروزه استفاده از بیوماس جلبکی به جای گیاهان زراعی (نظیر ذرت که برای تولید غذا استفاده می‌شود) جهت تولید سوخت زیستی با کیفیت بالا بسیار قابل توجه است (Asadian *et al*., 2018). سلول‌های جلبکی قادر هستند تا با مصرف نور، کربن و سایر ترکیبات مغذی، فتوسنتز خود و به دنبال آن بیوماس و تولید ترکیبات با ارزش افزوده (نظیر سوخت زیستی) را بهبود ببخشیند (Ngangkham *et al*.,2012). نتایج مطالعه ما نشان داد که غلظت‌های حدواسط CO_2 (۵۱۹۰ ppm) و شدت نور (۱۲۱۵۰ لوکس) محتوای لیپیدی (برای تولید سوخت زیستی) و بهره‌وری لیپیدی را در سلول‌های جلبکی مورد مطالعه افزایش می‌دهد. غلظت پایین (کمتر از نیاز سلول) گاز CO_2 (به عنوان منبع کربن) و شدت کم نور (جهت انجام فرآیند فتوسنتز) منجر به کاهش بیوماس جلبکی و به دنبال آن کاهش محتوای لیپیدی در سلول‌های جلبکی می‌شود (Cuellar-Bermudez *et al*., 2015). همچنین غلظت بالای CO_2 و افزایش بیش از حد شدت نور (بیشتر از نیاز سلول) نیز به دلیل اشباع بیش از حد سلول، وقوع آسیب نوری و تخریب فتوسیستم II در دستگاه فتوسنتز منجر به کاهش محتوای لیپیدی می‌شود. این موارد در مطالعه ما نیز مشاهده شد. در مطالعه انجام شده توسط Varshney و همکاران در سال ۲۰۱۶ مشاهده شد که با افزایش غلظت گاز CO_2 و شدت نور محتوای لیپیدی کاهش می‌یابد. پس تعیین شرایط رشدی که جلبک در آن رشد می‌کند جهت افزایش میزان لیپید و بیوماس بسیار موثر است.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.4.2.3]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.4.1]

نوع اسید چرب موجود در سلول جلبکی نیز در کیفیت سوخت زیستی تولیدی بسیار موثر است. وجود اسیدهای چرب ۱۸ کربنی می‌تواند به تولید سوخت زیستی با کیفیت بالا کمک قابل توجهی کند (Talebi *et al*., 2013 و Griffiths *et al*., 2012). در مطالعه حاضر مشاهده شد که این اسید چرب به طور غالب در جلبک‌های مورد مطالعه وجود دارد (جدول ۴). از دیگر پارامترهایی که در این مطالعه برای ارزیابی کیفیت سوخت زیستی مورد بررسی قرار گرفت می‌توان به عدد ابری شدن،میزان APE، BAPE و عدد ستان اشاره کرد. میزان APE و BAPE پایداری سوخت زیستی را در برابر اکسیداسیون نشان می‌دهد (Talebi *et al*., 2015). بر اساس استاندارد بین‌المللی (ASTM) کیفیت سوخت میزان این دو شاخص اگر به ترتیب بالای ۹۰ و ۶۰ باشد آن اسیدچرب برای تولید سوختی با اکسیداسیونی پایدار مطلوب است. در مطالعه ما هر سه گونه این ویژگی را دارند. عدد ستان نیز نشان دهنده کیفیت احتراق سوخت زیستی می‌باشد. به عبارت دیگر هر چه این عدد بیشتر باشد (بالاتر از ۳۵) نحوه سوختن سوخت در موتور و شروع به کار موتور با کیفیت بهتر اتفاق می‌افتد. در مطالعه ما *C.antennina* بیشترین میزان را نشان می‌دهد. همچنین عدد ابری شدن هم هر چه منفی تر باشد بهتر است چون از ایجاد رسوب در موتور و آسیب رسیدن به آن جلوگیری می‌کند (Talebi *et al*., 2015). در مطالعه ما مشاهده شد که هر سه گونه مورد مطالعه جهت تولید سوخت زیستی بسیار مناسب می‌باشند اما با توجه به مطالعه قبلی انجام شده توسط ما (Asadian *et al*., 2019) و با توجه به اینکه جلبک *C.antennina* کارایی بالاتری در حذف آلاینده‌های محیطی (در مقایسه با دو گونه دیگر) از خود نشان می‌دهد برای مطالعات در سطح وسیع این گونه جلبکی برای تولید سوخت زیستی پیشنهاد می‌شود.

یکی از بخش‌های مهم در مطالعات بیولوژیکی مطالعه بیان ژن‌های مختلف و شناسایی ژن‌های کلیدی در مسیرهای مختلف می‌باشد. در این مطالعه بیان سه ژن پاسخ دهنده به CO_2 و شدت نور (*CA*، *CIA5* و *CAB*) مورد مطالعه قرار گرفت. این سه ژن نقش مهمی در حذف آلاینده‌های محیطی و افزایش بیوماس جلبکی دارند. ژن‌های مختلف در تثبیت CO_2 در جلبک‌ها نقش دارند که یکی از مهم‌ترین آن‌ها ژن کربونیک آنهیدراز (*CA*) می‌باشد. به طور کلی اهمیت ژن *CA* و نقش مهم آن در تثبیت CO_2 در مطالعات مختلفی بیان شده است (Lin *et al*., 2018). این ژن نقش مهمی را در مکانیسم CCM ایفا می‌کند. این مکانیسم منجر به پمپاژ کربن حل شده در محیط سلولی می‌شود. در نتیجه باعث بهبود فعالیت آنزیم روبیسکو و به دنبال آن افزایش فعالیت فتوسنتزی توسط جلبک‌ها خواهد شد. این ژن تبدیل CO_2 به کربونیک اسید (منبع کربنی حلال) را با مصرف CO_2 توسط سلول‌های جلبکی در محیط کاتالیز می‌کند و شرایط pH را برای بهبود فرآیند فتوسنتیک مهیا می‌کند. پس ژن *CA* نقش مهمی را در تثبیت CO_2 داراست (Brueggeman *et al*.,2012; Winck *et al*., 2013). در مطالعه ما مشاهده شد که بیان این ژن در غلظت پایین CO_2 (۳۵۰ ppm) در مقایسه با غلظت‌های دیگر بیشتر است، حتی در غلظت ppm ۱۰۰۰۰ بیان این ژن کم‌تر از حد (down-regulate) مشاهده شد. در مطالعات انجام شده توسط Fang و همکاران در سال ۲۰۱۲ و Winck و همکاران

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.4.2.3]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.4.1]

در سال ۲۰۱۶ نیز کاهش بیان ژن *CA* با افزایش غلظت CO_2 مشاهده شد. دلیل کاهش بیان ژن *CA* در غلظت بالای CO_2 می‌تواند این باشد که عمدتا کارایی این ژن پمپاز منبع کربن در مراحل ابتدایی و تهییج جذب کربنی برای بهبود رشد در موجودات زنده می‌باشد و در شرایطی که سلول از وجود منبع کربنی اشباع می-شود فعالیت آن نیز متوقف می‌گردد.

ژن *CIA5* پروتئینی را کد می‌کند که منجر به انتقال بی‌کربنات در فضای سلولی جلبک‌هامی‌شود. همچنین *CIA5* به عنوان یک فاکتور رونویسی جهت القای ژن‌های مختلف مربوط به CCM عمل می‌کند. در یک مطالعه مشاهده شده که تعداد نسخ این ژن در غلظت ppm ۵۰۰۰ تا ppm ۷۰۰۰ افزایش پیدا می‌کند. افزایش بیان این ژن منجر به بهبود فعالیت مسیر ترانسپورتز Ci جهت ادامه رشد جلبک‌ها در شرایط کمبود منبع کربن می‌شود (Fan *et al.*, 2015). پس به طور کلی این ژن منجر به انتقال بی کربنات در سلول به عنوان منبع ثانویه کربن جهت افزایش بیوماس سلولی می شود. همچنین در مکانیسم CCM و بهبود فتوسنتز سلولی نیز نقش دارد و در شرایط کمبود CO_2 و منبع کربن از آن برای ادامه رشد سلولی استفاده می‌شود. در مطالعه ما مشاهده شد که بیشترین بیان ژن *CIA5* در غلظت ppm ۵۱۹۰ رخ می‌دهد. تفاوت بیانی ژن *CIA5* با ژن *CA* در این است که ژن *CA* در غلظت بالای گازی (ppm ۱۰۰۰۰) Down-Regulate می‌شود اما بیان ژن *CIA5* همچنان Up-Regulate است البته میزان بیان آن در مقایسه با غلظت حد واسط (ppm۵۱۹۰) کاهش پیدا می‌کند.

از جمله ژن‌های کلیدی در پاسخ به شدت‌های مختلف نوری ژن *CAB* می‌باشد. در مطالعه ما مشاهده شد که شدت نوری ۱۲۱۵۰ لوکس تاثیر بسیار بیشتری در بیان ژن *CAB* در مقایسه با سایر تیمارها دارد، اما نکته قابل توجه آن است که در سایر تیمارها (۸۱۰۰ و ۱۶۲۰۰ لوکس) نیز این ژن به میزان مناسبی بیان شده است. در مطالعات انجام شده توسط Teramotoو همکاران در سال ۲۰۰۲ و Nakano و همکاران در سال ۲۰۱۳ مشاهده شد که به مانند مطالعه ما بیان این ژن در شدت‌های مختلف نوری Up- regulate می‌شود اما میزان بیان در این شدت‌ها متفاوت است. پس به طور کلی می‌توان گفت که از آنجا که جلبک‌ها حاوی تعداد زیادی ژن جهت پاسخ به فاکتورهای مختلف (نظیر نور و CO_2) می‌باشند پس هر یک از این ژن‌ها به عنوان مکمل یکدیگر فعالیت می‌کنند و هریک با توجه به نوع متابولیسم و نیاز سلولی بیان می‌شوند. به همین جهت بیان آن‌ها در برخی زمان‌ها اندک و در برخی موارد بیشتر است.

نتیجه‌گیری کلی

مطالعه حاضر جهت ارزیابی تاثیرات شدت نور و گاز CO_2 در تولید سوخت زیستی در سه گونه ماکروجلبکی (*C. antennina, U. intestinalis and B. pennata*) جمع آوری شده از تالاب میانکاله و ارزیابی بیان سه ژن *CA*، *CIA5* و *CAB* در گونه ماکرو جلبکی *C. antennina* انجام شد. در این مطالعه مشاهده شد که شدت نوری ۱۲۱۵۰ لوکس و غلظت ppm ۵۱۹۰ از گاز CO_2 تاثیر مهمی در تولید بیشتر

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.4.2.3]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.4.1]

محتوای لیپید و بهره‌وری آن در سلول‌های جلبکی دارد. با تمرکز بر این موضوع، کیفیت اسیدهای چرب نیز در سه گونه مورد مطالعه مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که هر سه گونه توان تولید سوخت زیستی با کیفیت مطلوب مناسب را دارا می‌باشند. همچنین ارزیابی الگوی بیان ژن نیز نشان داد که بیان هر ژن با توجه به نیاز سلول و در پاسخ به محرک‌های بیرونی تغییر کرده و در حفظ تعادل ساخت و ساز و سلولی اثرگذارند. لذا با توجه به نتایج به دست آمده تولید سوخت زیستی در سطح وسیع به خصوص با استفاده از جلبک *C. antennina* می‌تواند پیشنهاد شود. همچنین غیر فعال کردن هر یک از ژن‌های مورد مطالعه جهت ارزیابی دقیق فعالیت ژن‌ها در سلول‌ها جلبکی و میزان اثرات هر یک با روش‌های نوین ویرایش ژنوم همچون کریسپر برای مطالعات بعدی پیشنهاد می‌شود. این مطالعه به نوبه خود می‌تواند به کاهش اثرات زیست محیطی در اتمسفر و هیدروسفر کمک شایان توجهی نماید.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. پیربیگی، ع.، حسینی، ع.، قربانی، ر.، رضایی، ح.، اردگ، و.، ۱۳۹۶. استفاده از سیستم کشت پیوسته ریزجلبک *Scenedesmus obliquus* جهت تصفیه زیستی فاضلاب شهری، نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۱(۴)، ۱۲-۲۷.

۲. خلیل‌پذیر، م.، اکبرپور، الف.، وهاب نژاد، الف.، ۱۳۹۶. میزان رشد و تراکم ریزجلبک *Tetraselmis chuii* در شدت‌های نوری مختلف، نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۱(۲)، ۳۹-۴۷.

3. Asadian, M., Fakheri, B.A., Mahdinezhad, N., Gharanjik, S., Beardal, J., Talebi, A.F., 2018. Algal Communities: An Answer to Global Climate Change. CLEAN–Soil, Air, Water, 46(10), 1800032.
4. Asadian, M., Fakheri, B.A., Talebi, A.F., Mahdinezhad, N., Gharanjik, S., 2019. Evaluation of three algal strains isolated for bioremediation of environmental pollutants. Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences, 9(4), 104-126.
5. Brueggeman, A.J., Gangadharaiah, D.S., Cserhati, M.F., Casero, D., Weeks, D.P., Ladunga, I., 2012. Activation of the carbon concentrating mechanism by CO_2 deprivation coincides with massive transcriptional restructuring in *Chlamydomonas reinhardtii*. Plant Cell, 111.
6. Cuellar-Bermudez, S. P., Romero-Ogawa, M. A., Vannela, R., Lai, Y. S., Rittmann, B. E., Parra-Saldivar, R., 2015. Effects of light intensity and carbon dioxide on lipids and fatty acids produced by *Synechocystis* sp. PCC6803 during continuous flow. Algal research, 12, 10-16.
7. Cioc, M., Kalisz, A., Zupnik, M., Pawłowska, B., 2019. Different LED Light Intensities and 6-Benzyladenine Concentrations in Relation to Shoot Development, Leaf Architecture, and Photosynthetic Pigments of Gerbera jamesonii Bolus In Vitro. Agronomy, 9(7), 358.
8. Emameh, R.Z., Barker, H., Tolvanen, M.E., Ortutay, C., Parkkila, S., 2014. Bioinformatic analysis of beta carbonic anhydrase sequences from protozoans and metazoans. Parasites vectors, 7(1), 38.
9. Fan, J., Xu, H., Luo, Y., Wan, M., Huang, J., Wang, W., Li, Y., 2015. Impacts of CO_2 concentration on growth, lipid accumulation, and carbon-concentrating-mechanism-related gene expression in

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.4.2.3]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.4.1]

oleaginous *Chlorella*. Appllied microbiol and biotechnology, 99(5), 2451-2462.

10. Fang, W., Si. Y., Douglass, S., Casero, D., Merchant, S.S., Pellegrini, M., Spalding, M.H., 2012. Transcriptome-wide changes in *Chlamydomonas reinhardtii* gene expression regulated by carbon dioxide and the CO_2-concentrating mechanism regulator CIA5/CCM1. Plant Cell, tpc-112.
11. Giordano, M., Beardall, J., Raven, J.A., 2005. CO_2 concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution. Annual Review Plant Biology, 56, 99-131.
12. Griffiths, M.J., van Hille, R.P. and Harrison, S.T., 2012. Lipid productivity, settling potential and fatty acid profile of 11 microalgal species grown under nitrogen replete and limited conditions. Journal of Applied Phycology, 24(5), 989-1001.
13. Lin, W.R., Lai, Y.C., Sung, P.K., Tan, S.I., Chang, C.H., Chen, C.Y., Ng, I.S., 2018. Enhancing carbon capture and lipid accumulation by genetic carbonic anhydrase in microalgae. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 93, 131-141.
14. Nakano, T., Asami, T., Yamagami, A., Shimada, S., Matsui, M., 2013. U.S. Patent No. 8, 569, 580. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
15. Ngangkham, M., Ratha, S.K., Prasanna, R., Saxena, A.K., Dhar, D.W., Sarika, C., Prasad, R.B.N., 2012. Biochemical modulation of growth, lipid quality and productivity in mixotrophic cultures of *Chlorella sorokiniana*. SpringerPlus, 1(1), 33.
16. Talebi, A.F., Tabatabaei, M., Chisti, Y., 2014. BiodieselAnalyzer: a user-friendly software for predicting the properties of prospective biodiesel. Biofuel Research Journal, 1(2), 55-57.
17. Talebi, A.F., Tohidfar, M., Derazmahalleh, M., Mahsa, S., Sulaiman, A., Baharuddin, A.S., Tabatabaei, M., 2015. Biochemical modulation of lipid pathway in microalgae *Dunaliella* sp. for biodiesel production. BioMed Research International, 2015, 597198-597198.
18. Teramoto, H., Nakamori, A., Minagawa, J., Ono, T. A., 2002. Light-intensity-dependent expression of Lhc gene family encoding light-harvesting chlorophyll-a/b proteins of photosystem II in *Chlamydomonasreinhardtii*. Plant Physiology, 130(1), 325-333.
19. Varshney, P., Sohoni, S., Wangikar, P. P., Beardall, J., 2016. Effect of high CO_2 concentrations on the growth and macromolecular composition of a heat-and high-light-tolerant microalga. Journal ofapplied phycology, 28(5), 2631-2640.
20. Vijayakumar, A., Zhao, Y., Wang, C., Wallace, G., 2019. A Gold-Polyaniline Nanocomposites Catalyst with a Posy Bouquet Structure for Efficient Electrocatalytic Reduction of CO_2. In Meeting Abstracts. The Electrochemical Society, 31, 1579.
21. Walla, P. J., Holleboom, C.P., Fleming, G.R., 2014. Electronic carotenoid-chlorophyll interactions regulating photosynthetic light harvesting of higher plants and green algae. In Non-Photochemical Quenching and Energy Dissipation in Plants, Algae and Cyanobacteria, 229-243.
22. Winck, F.V., Arvidsson, S., Riaño-Pachón, D.M., Hempel, S., Koseska, A., Nikoloski, Z., Mueller-Roeber, B., 2013. Genome-wide identification of regulatory elements and reconstruction of gene regulatory networks of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* under carbon deprivation. PLoS One, 8(11), e79909.
23. Winck, F.V., Melo, D.O.P., Riaño-Pachón, D.M., Martins, M., Caldana, C., Barrios, A.F.G., 2016. Analysis of sensitive CO_2 pathways and genes related to carbon uptake and accumulation in *Chlamydomonas reinhardtii* through genomic scale modeling and experimental validation. Frontiers in plant Science, 7, 43.
24. Zhu, B., Chen, G., Cao, .X, Wei, D., 2017. Molecular characterization of CO_2 sequestration and assimilation in microalgae and its biotechnological applications. Bioresarch Technology, 244, 1207-1215.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.4.2.3]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.4.1]