

الرحمة اللطيفة  
الرحمة اللطيفة  
الرحمة اللطيفة



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه ی کارشناسی ارشد رشته ی زیست شناسی-علوم گیاهی

گرایش فیزیولوژی گیاهی

مطالعه پاسخ فلوئورسنس کلروفیل a در جلبک تکسلولی  
*Dunaliella* تحت تنش شوری

استاد راهنما:

دکتر منصور شریعتی

پژوهشگر:

مریم السادات قاسمی کلاچای

تیر ماه ۱۳۹۰

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات،  
ابتکارات و نوآوری های ناشی از تحقیق  
موضوع این پایان نامه متعلق به دانشگاه  
اصفهان است.



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه ی کارشناسی ارشد رشته ی زیست شناسی - علوم گیاهی  
گرایش فیزیولوژی گیاهی خانم مریم السادات قاسمی تحت عنوان

مطالعه پاسخ فلوتورسنس کلروفیل a در جلبک تک سلولی *Dunaliella* تحت تنش  
شوری

در تاریخ ۹۰/۴/۴ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه عالی به تصویب نهایی رسید.

امضا

۱- استاد راهنمای پایان نامه دکتر منصور شریعتی با مرتبه ی علمی استاد

امضا

۲- استاد داور داخل گروه دکتر سید مجید قادریان با مرتبه ی علمی دانشیار

امضا

۳- استاد داور خارج از گروه دکتر مریم مددکار حق جو با مرتبه ی علمی استادیار

امضای مدیر گروه

امضا



## سپاسگذاری

خداوند را شاکرم که این حقیر را رخصت داد تا لبی تر کنم از اقیانوس بیکران علم و دانش که تحت سیطره ازلی و ابدی اوست، به مصداق این آیه شریفه: "ولا یحیطون به شیء من علمه الا به ما شاء" و خیلی زود بدانم که هیچ ندانم.

تقدیر و تشکر می‌کنم از مادر و پدر فداکارم، این معلمان بی‌گج و تخته که وجودشان مرا کفایت می‌کند چه رسد به وجودشان. آنان که بی‌منت و با محنت کلبه امنی ساختند که سایانش همه نور بود و زیرپا فرش غرور. سپاسگذارم از استاد ارجمندم، جناب آقای دکتر منصور شریعتی که راهنمایی پایان‌نامه حاضر را پذیرفتند و با تواضع، بردباری و دلسوزی در امر به پایان رساندن آن، اینجانب را یاری رساندند. از اساتید محترم داور، جناب آقای دکتر سید مجید قادریان و سرکار خانم دکتر مریم مددکار حق‌جو که با ارائه نقطه نظرات خویش موجب افزایش کیفیت پایان‌نامه گردیدند، کمال تشکر و قدردانی را دارم. از سایر اساتید و کارکنان گروه زیست‌شناسی و همچنین همکلاسی‌ها و دوستان خوبم به‌ویژه خانم‌ها پاییزی، ریاحی، زارعی و کمالی نیز تشکر می‌کنم و برای تمام عزیزان سلامتی، موفقیت و طول عمر از درگاه خدا مسئلت دارم.

مریم‌السادات قاسمی - تیر ماه ۱۳۹۰

تقدیم به

پدر و مادر عزیزم.....

## چکیده

تنش در تعریف عبارت است از تغییر در شرایط بهینه زندگی که سبب بروز پاسخ هایی خاص در تمام سطوح فیزیولوژیکی ارگانیسم زنده می شود. بسته به شرایط، این پاسخ ها ممکن است موقت یا دائمی باشد. شوری در آب و خاک خصوصاً در نواحی خشک و نیمه خشک یکی از مهمترین تنش های محیطی محسوب می شود که در سال های اخیر توجه زیادی را به خود جلب کرده است. امروزه کل مساحتی که به عنوان زمینهای شور در نظر گرفته می شود حدود ۹۳۰ میلیون هکتار تخمین زده می شود. در بررسی های مربوط به اثر تنش شوری در گیاهان، دیده شده است که سرعت تنفس و سمیت یونی افزایش می یابد، توزیع مواد معدنی، پایداری و نفوذپذیری غشاء تغییر می کند و در نهایت سرعت رشد و فتوسنتز در گیاهان خصوصاً انواع حساس به شوری کاهش می یابد. اثر استرس شوری در سیستم فتوسنتزی گیاهان عالی با تغییراتی چون توقف فعالیت فتوسیستم II، جلوگیری از تولید پروتئین D<sub>1</sub>، کاهش فعالیت های تعدادی از آنزیم های چرخه کلونین، کاهش تثبیت CO<sub>2</sub> همراه است. با توجه به این که بررسی اثر تنش شوری بر سیستم فتوسنتزی گیاهان خصوصاً فتوسیستم II به دلیل پر سلولی بودن آن ها با مشکلاتی همراه است، می توان از جلبک های تک سلولی مانند کلامیدوموناس و دانالیه لا به عنوان model-system استفاده نمود. جلبک دانالیه لا تک سلولی، فتوسنتز کننده و فاقد دیواره سلولی می باشد و همچنین مقاوم به شوری بوده و می تواند در محلول NaCl از غلظت ۱۷٪. مولار تا حد اشباع (حدود ۵ مولار) رشد کند، در حالیکه غلظت سدیم درون سلولی را در حد پایین نگه می دارد. این جلبک به استرس شوری، با سنتز گلیسرول از طریق فتوسنتز در نور یا تجزیه نشاسته در تاریکی پاسخ می دهد. گزارش شده است که استرس شوری می تواند بر سیستم فتوسنتزی خصوصاً فتوسیستم II جلبک *Dunaliella* موثر باشد. ولی به طور کلی اطلاعات موجود در مورد اثر تنش شوری بر PSII محدود می باشد. برخی مطالعات اولیه نشان داده است که در پاسخ سیستم فتوسنتزی این جلبک به استرس شوری، خصوصیات و میزان فلئوئورسنس کلروفیل a در مرکز واکنش نیز تحت تاثیر قرار می گیرد. لذا بنا نهاده شد که در این تحقیق با استفاده از روش OJIP-test و پارامترهای RC/ABS، Fv/Fo،  $\Phi_{Po}$ ،  $\Psi_o$ ، Area،  $\Phi_{Eo}$ ،  $\Phi_{Ro}$ ،  $\Phi_{Do}$  و PI<sub>ABS</sub>، کینتیک فلئوئورسنس کلروفیل a بررسی گردد و همچنین روند رشد سلولی، میزان کلروفیل کل و فتوسنتز جهت درک بهتر روند تغییرات اندازه گیری شود. نتایج حاصل نشان داد که تحت تنش شوری روند رشد سلول ها و میزان کلروفیل کل نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت. با افزایش در شدت تنش میزان فتوسنتز نیز رو به کاهش نهاد و در شدت های بالایی از تنش به طور کلی متوقف شد. روند تغییرات تنفس نیز مانند فتوسنتز بوده، با این تفاوت که شدت کاهش در تنفس نسبت به فتوسنتز کمتر می باشد. بررسی کینتیک فلئوئورسنس کلروفیل a هم نشان داد که تحت تنش شوری، با افزایش در شدت تنش میزان مراکز واکنش فعال کاهش یافت و در هر مرکز واکنش فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب نیز رو به کاهش نهاد. در ادامه دیده شد که انتقال الکترون به فتوفیتین و QA، اولین پذیرنده های الکترون از کمپلکس تجزیه کننده آب و کمپلکس دریافت کننده نور، کاهش یافته و این امر منجر به کاهش در انتقال الکترون از QA به QB، در زنجیر انتقال الکترون و کاهش در میزان احیای پذیرنده های انتهایی در سمت پذیرنده الکترون PSI گردید. همچنین مقایسه دو گونه در روند رشد سلولی، کلروفیل کل، فتوسنتز و فلئوئورسنس کلروفیل a نشان می دهد که *D. salina* نسبت به *D. bardawil* از توانایی بالاتری در جهت پاسخ به تنش شوری برخوردار می باشد.

کلمات کلیدی: استرس شوری، دونالیه‌لا، فلوئورسنس کلروفیل a، OJIP-test.



## فهرست مطالب

صفحه

عنوان

### فصل اول: مقدمه

- ۱-۱- معرفی جلبک *Dunaliella* ..... ۱
- ۱-۱-۱- تاریخچه طبقه‌بندی جلبک *Dunaliella* ..... ۱
- ۲-۱-۱- مورفولوژی جلبک *Dunaliella* ..... ۲
- ۳-۱-۱- تولیدمثل در جلبک *Dunaliella* ..... ۳
- ۱-۳-۱-۱- تولیدمثل غیر جنسی ..... ۴
- ۲-۳-۱-۱- تولیدمثل جنسی ..... ۵
- ۴-۱-۱- فیزیولوژی جلبک *Dunaliella* ..... ۵
- ۲-۱- تنش ..... ۶
- ۱-۲-۱- تنش شوری ..... ۷
- ۱-۱-۲-۱- اثر تنش شوری بر گیاهان ..... ۷
- ۲-۱-۲-۱- اثر تنش شوری بر جلبک *Dunaliella* ..... ۸
- ۳-۱- اثر تنش شوری بر فرایندهای فیزیولوژیکی جلبک *Dunaliella* ..... ۹
- ۱-۳-۱- فتوسنتز ..... ۹
- ۱-۱-۳-۱- تاریخچه فتوسنتز ..... ۹
- ۲-۱-۳-۱- مراحل کلی فتوسنتز ..... ۱۰
- ۳-۱-۳-۱- ساختار و عملکرد فتوسیستم II ..... ۱۱
- ۴-۱-۳-۱- رنگدانه‌های فتوسنتزی ..... ۱۳

۱-۳-۱-۵- نور و فتوسنتز.....	۱۵
۱-۳-۱-۶- اثر تنش شوری بر فتوسنتز جلبک <i>Dunaliella</i> .....	۱۵
۱-۳-۱-۷- اثر تنش شوری بر آنزیم و پروتئین جلبک <i>Dunaliella</i> .....	۱۶
۱-۳-۱-۸- اثر تنش شوری بر جذب CO <sub>2</sub> فتوسنتزی.....	۱۷
۱-۳-۱-۸-۱- CCM یا DIC.....	۱۸
۱-۳-۱-۹- تولید گلیسرول در پاسخ به تنش شوری در جلبک <i>Dunaliella</i> .....	۱۸
۱-۳-۲- تنفس.....	۲۱
۱-۳-۲-۱- اثر تنش هیپر اسموتیک بر تنفس در جلبک <i>Dunaliella</i> .....	۲۱
۱-۳-۳- تغییرات مورفولوژیکی.....	۲۲
۱-۳-۴- تنظیم غلظت سدیم درون سلولی.....	۲۳
۱-۴- فلوتورسنس کلروفیل a و OJIP-test.....	۲۴
۱-۵- اهداف تحقیق.....	۲۶

### فصل دوم: مواد و روش‌ها

۱-۲- منابع تأمین جلبک <i>Dunaliella</i> .....	۲۷
۲-۲- کشت جلبک.....	۲۷
۱-۲-۱- تهیه محیط کشت جلبکی.....	۲۷
۲-۲-۲- کشت جلبک در محیط جامد.....	۲۸
۳-۲-۲- واکشت جلبک در محیط مایع.....	۲۹

۳-۲- شمارش سلولی.....	۲۹
۴-۲- استخراج و اندازه‌گیری کلروفیل.....	۳۰
۵-۲- اندازه‌گیری فتوسنتز.....	۳۰
۱-۵-۲- دستگاه پلاروگراف.....	۳۰
۲-۵-۲- نحوه ایجاد تنش هیپراسموتیک.....	۳۱
۱-۲-۵-۲- ساخت بافر فسفات.....	۳۱
۲-۲-۵-۲- آماده‌سازی سوسپانسیون جلبکی.....	۳۱
۶-۲- اندازه‌گیری فلئورسنس کلروفیل a (OJIP-test).....	۳۲
۷-۲- طرح آزمایش.....	۳۲
۱-۷-۲- بررسی فتوسنتز تحت تنش شوری (هیپراسموتیک).....	۳۴
۲-۷-۲- طراحی آزمایش جهت بررسی روند رشد، کلروفیل کل و فلئورسنس کلروفیل a در مرکز واکنش PSII در نمونه‌های واقع در فتوپریود معمولی (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی)، تحت تنش‌های شوری متفاوت.....	۳۵
۳-۷-۲- طراحی آزمایش جهت بررسی روند رشد، کلروفیل کل و فلئورسنس کلروفیل a در مرکز واکنش PSII در تنش‌های شوری متفاوت در نمونه‌های سازش یافته به تاریکی.....	۳۵

### فصل سوم: نتایج و بحث

۱-۳- بررسی روند رشد، مقدار کلروفیل کل، فتوسنتز و کینتیک فلئورسنس کلروفیل a، در جلبک‌های *D. salina*، سویه *Utex-200* و *D. bardawil* سویه *Utex-2538* واقع در فتوپریود معمولی (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی)، تحت تنش‌های شوری مختلف.....

۳۷

- ۳-۱-۱-۱-۳ بررسی روند رشد سلول‌های جلبکی تحت تنش‌های شوری (NaCl) متفاوت ..... ۳۷
- ۳-۱-۱-۱-۳ نتایج ..... ۳۷
- ۳-۱-۱-۲-۲ بحث ..... ۴۰
- ۳-۱-۲-۱-۳ بررسی مقدار کلروفیل کل سلول‌های جلبکی، تحت تنش‌های شوری متفاوت ..... ۴۱
- ۳-۱-۲-۱-۳ نتایج ..... ۴۱
- ۳-۱-۲-۲-۱-۳ بحث ..... ۴۲
- ۳-۱-۳-۱-۳ بررسی فتوسنتز و فلئورسنس کلروفیل a در گونه‌های *D. salina* و *D. bardawil* تحت تنش-های شوری متفاوت ..... ۴۵
- ۳-۱-۳-۱-۳ نتایج ..... ۴۶
- ۳-۱-۳-۱-۳-۱-۳ بررسی فتوسنتز خالص، تنفس و فتوسنتز کل در گونه‌های *D. salina* و *D. bardawil* تحت تنش‌های شوری متفاوت ..... ۴۶
- ۳-۱-۳-۱-۲-۱-۳ بررسی پارامترهای فلئورسنس کلروفیل a در مرکز واکنش PSII جلبک‌های *D. salina* و *D. bardawil* در تنش‌های شوری مختلف ..... ۴۹
- ۳-۱-۳-۱-۲-۱-۳-۱-۳ نسبت میزان مراکز واکنش فعال به کلروفیل‌های گیرنده نور در PSII یا کارایی جذب نور در سیستم فتوسنتزی ..... ۴۹
- ۳-۱-۳-۱-۲-۲-۱-۳-۱-۳ میزان فعالیت کمپلکس تجزیه‌کننده آب  $F_v/F_o$  ..... ۵۲
- ۳-۱-۳-۱-۲-۳-۱-۳-۱-۳ میزان انتقال الکترون به فئوفیتین  $\Phi_{P_0}$  و  $Q_A$  ..... ۵۵
- ۳-۱-۳-۱-۲-۴-۱-۳-۱-۳-۱-۳ انتقال الکترون از  $Q_A$  به  $Q_B$ ،  $\psi_0$  ..... ۵۸
- ۳-۱-۳-۱-۲-۵-۱-۳-۱-۳-۱-۳ مقدار منبع پلاستوکوئینون (PQ) Area ..... ۵۸
- ۳-۱-۳-۱-۲-۶-۱-۳-۱-۳-۱-۳ میزان انتقال الکترون در زنجیر انتقال الکترون فتوسنتزی  $\Phi_{E_0}$  ..... ۶۳
- ۳-۱-۳-۱-۲-۷-۱-۳-۱-۳-۱-۳ میزان احیای پذیرنده‌های انتهایی در سمت پذیرنده الکترون PSI  $\Phi_{R_0}$  ..... ۶۶

۶۹	..... میزان اتلاف انرژی، $\Phi_{D0}$ ، ۱-۳-۱-۲-۸-۳-۱-۳-۱-۳
۶۹	..... یا شاخص کارایی سیستم فتوسنتزی $PI_{ABS}$ ، ۱-۳-۱-۲-۹-۳-۱-۳-۱-۳
۷۴	..... بحث ۱-۳-۲-۳-۲-۳-۱-۳
۷۷	..... بررسی کینتیک فلئورسنس کلروفیل a (O-J-I-P) ۱-۳-۴-۱-۳
۷۷	..... نتایج ۱-۳-۴-۱-۳
۸۹	..... بحث ۱-۳-۴-۲-۳-۱-۳
۹۰	..... بررسی روند رشد سلولی، کلروفیل کل و کینتیک فلئورسنس کلروفیل a در نمونه‌های سازش یافته به تاریکی <i>D. salina</i> و <i>D. bardawil</i> ۱-۳-۲-۳-۱-۳
۹۰	..... بررسی روند رشد سلول‌های جلبکی تحت تنش‌های شوری متفاوت در نمونه‌های سازش یافته به تاریکی ۱-۳-۲-۳-۱-۳
۹۱	..... یافته به تاریکی ۱-۳-۲-۳-۲-۳-۱-۳
۹۱	..... یافته به تاریکی ۱-۳-۲-۳-۲-۳-۱-۳
۹۲	..... بررسی پاسخ فلئورسنس کلروفیل a در مرکز واکنش PSII در تنش‌های شوری متفاوت در گونه‌های <i>D. salina</i> و <i>D. bardawil</i> سازش یافته به تاریکی ۱-۳-۲-۳-۳-۱-۳
۹۵	..... بررسی کینتیک فلئورسنس کلروفیل a (O-J-I-P) ۱-۳-۲-۳-۴-۱-۳
۹۸	..... جمع‌بندی نهایی ۱-۳-۲-۳-۵-۱-۳
۱۰۱	..... پیشنهادات ۱-۳-۲-۳-۶-۱-۳
۱۰۲	..... پیوست ۱-۳-۲-۳-۷-۱-۳
۱۳۵	..... منابع و مآخذ ۱-۳-۲-۳-۸-۱-۳

## فهرست شکل‌ها

صفحه	عنوان
۴.....	شکل ۱-۱- میکروگراف الکترونی از <i>D. bardawil</i>
۶.....	شکل ۱-۲- تولیدمثل جنسی و تشکیل زیگوت در جلبک <i>D. salina</i>
۱۲.....	شکل ۱-۳- ترکیبات و مسیر انتقال الکترون غیرچرخه‌ای فتوسنتز
۱۳.....	شکل ۱-۴- مدل فرضی ساختار PSII و نحوه آرایش پروتئین‌های مختلف
۲۱.....	شکل ۱-۵- مسیر فرضی متابولیک تولید گلیسرول در جلبک <i>Dunaliella</i>
۲۴.....	شکل ۱-۶- گذار فلوتورسنس به محض نوردهی به یک نمونه فتوسنتزی سازش‌یافته به تاریکی
۳۸.....	شکل ۳-۱- روند رشد جلبک <i>D. salina</i> تحت تنش شوری
۳۹.....	شکل ۳-۲- روند رشد جلبک <i>D. bardawil</i> تحت تنش شوری
۴۳.....	شکل ۳-۳- روند تغییر کلروفیل کل جلبک <i>D. salina</i> تحت تنش شوری
۴۴.....	شکل ۳-۴- روند تغییر کلروفیل کل جلبک <i>D. bardawil</i> تحت تنش شوری
۴۷.....	شکل ۳-۵- مقدار فتوسنتز خالص، تنفس و فتوسنتز کل در جلبک <i>D. salina</i> تحت تنش شوری
۴۸.....	شکل ۳-۶- مقدار فتوسنتز خالص، تنفس و فتوسنتز کل در جلبک <i>D. bardawil</i> تحت تنش شوری
۵۰.....	شکل ۳-۷- روند تغییر RC/ABS در جلبک <i>D. salina</i> تحت تنش شوری
۵۱.....	شکل ۳-۸- روند تغییر RC/ABS در جلبک <i>D. bardawil</i> تحت تنش شوری
۵۳.....	شکل ۳-۹- روند تغییر Fv/Fo در جلبک <i>D. salina</i> تحت تنش شوری
۵۴.....	شکل ۳-۱۰- روند تغییر Fv/Fo در جلبک <i>D. bardawil</i> تحت تنش شوری
۵۶.....	شکل ۳-۱۱- روند تغییر $\Phi_{P_0}$ در جلبک <i>D. salina</i> تحت تنش شوری
۵۷.....	شکل ۳-۱۲- روند تغییر $\Phi_{P_0}$ در جلبک <i>D. bardawil</i> تحت تنش شوری

- شکل ۳-۱۳- روند تغییر  $\Psi_0$  در جلبک *D. salina* تحت تنش شوری ..... ۵۹
- شکل ۳-۱۴- روند تغییر  $\Psi_0$  در جلبک *D. bardawil* تحت تنش شوری ..... ۶۰
- شکل ۳-۱۵- روند تغییر Area در جلبک *D. salina* تحت تنش شوری ..... ۶۱
- شکل ۳-۱۶- روند تغییر Area در جلبک *D. bardawil* تحت تنش شوری ..... ۶۲
- شکل ۳-۱۷- روند تغییر  $\Phi_{E0}$  در جلبک *D. salina* تحت تنش شوری ..... ۶۴
- شکل ۳-۱۸- روند تغییر  $\Phi_{E0}$  در جلبک *D. bardawil* تحت تنش شوری ..... ۶۵
- شکل ۳-۱۹- روند تغییر  $\Phi_{R0}$  در جلبک *D. salina* تحت تنش شوری ..... ۶۷
- شکل ۳-۲۰- روند تغییر  $\Phi_{R0}$  در جلبک *D. bardawil* تحت تنش شوری ..... ۶۸
- شکل ۳-۲۱- روند تغییر  $\Phi_{D0}$  در جلبک *D. salina* تحت تنش شوری ..... ۷۰
- شکل ۳-۲۲- روند تغییر  $\Phi_{D0}$  در جلبک *D. bardawil* تحت تنش شوری ..... ۷۱
- شکل ۳-۲۳- روند تغییر  $PI_{ABS}$  در جلبک *D. salina* تحت تنش شوری ..... ۷۲
- شکل ۳-۲۴- روند تغییر  $PI_{ABS}$  در جلبک *D. bardawil* تحت تنش شوری ..... ۷۳
- شکل ۳-۲۵- روند تغییر کینتیک فلوئورسنس کلروفیل a در جلبک *D. salina* بلافاصله بعد از اعمال تنش شوری ..... ۷۹
- شکل ۳-۲۶- روند تغییر کینتیک فلوئورسنس کلروفیل a در جلبک *D. salina* ۱ ساعت بعد از اعمال تنش شوری ..... ۸۰
- شکل ۳-۲۷- روند تغییر کینتیک فلوئورسنس کلروفیل a در جلبک *D. salina* ۴ ساعت بعد از اعمال تنش شوری ..... ۸۱
- شکل ۳-۲۸- روند تغییر کینتیک فلوئورسنس کلروفیل a در جلبک *D. salina* ۴۸ ساعت بعد از اعمال تنش شوری ..... ۸۲

- شکل ۳-۲۹- روند تغییر کینتیک فلوئورسنس کلروفیل a در جلبک *D. salina* ۶۰ ساعت بعد از اعمال تنش شوری ..... ۸۳
- شکل ۳-۳۰- روند تغییر کینتیک فلوئورسنس کلروفیل a در جلبک *D. bardawil* بلافاصله بعد از اعمال تنش شوری ..... ۸۴
- شکل ۳-۳۱- روند تغییر کینتیک فلوئورسنس کلروفیل a در جلبک *D. bardawil* ۱ ساعت بعد از اعمال تنش شوری ..... ۸۵
- شکل ۳-۳۲- روند تغییر کینتیک فلوئورسنس کلروفیل a در جلبک *D. bardawil* ۴ ساعت بعد از اعمال تنش شوری ..... ۸۶
- شکل ۳-۳۳- روند تغییر کینتیک فلوئورسنس کلروفیل a در جلبک *D. bardawil* ۴۸ ساعت بعد از اعمال تنش شوری ..... ۸۷
- شکل ۳-۳۴- روند تغییر کینتیک فلوئورسنس کلروفیل a در جلبک *D. bardawil* ۶۰ ساعت بعد از اعمال تنش شوری ..... ۸۸



## فهرست جدول‌ها

صفحه

عنوان

جدول ۱-۲- مواد مورد استفاده جهت تهیه یک لیتر محیط کشت *Dunaliella* ..... ۲۸

جدول ۲-۲- فرمول‌ها و فهرست معانی اصطلاحات استفاده شده در OJIP-test جهت آنالیز فلوئورسنس  
کلروفیل a ..... ۳۳

## فصل اول

### مقدمه

#### ۱-۱. معرفی جلبک *Dunaliella*

##### ۱-۱-۱. تاریخچه‌ی طبقه بندی جلبک *Dunaliella*

در سال ۱۸۳۷، Dunal، وجود جلبک تازکدار *Haematococcus salinus* را عامل رنگ قرمز در آبگیرهای شور سواحل مدیترانه دانست. سپس Teodoresco در سال ۱۹۰۵ اثبات کرد که بین گونه *Haematococcus salinus* و جنس های *Haematococcus* و *Chlamydomonas* اختلاف اساسی وجود دارد و به افتخار Dunl نام *Dunaliella* را برای این جلبک برگزید (Dunal, 1838, به نقل از Oren, 2005) و در ادامه Butcher در سال ۱۹۵۹ با بررسی های تاکسونومیک جنس *Dunaliella* و با تکیه بر صفات مورفولوژیکی، دو گونه دریازی و ده گونه غیر دریازی را برای این جنس معرفی نمود (Butcher, 1959) به نقل از (Oren, 2005).

در سال ۱۹۷۳ Masjuk با ارائه کلید نسبتاً جامعی جهت شناسایی جنس دونالیه لا، این جنس را به دو زیر جنس *Pascheria* (شامل پنج گونه و عمدتاً ساکن آبهای شیرین و دارای واکوئل های انقباضی) و *Dunaliella* (شامل بیست و سه گونه، همگی دریازی و فاقد واکوئل انقباضی) تقسیم کرد (به نقل از

Gonzalez *et al.*, 1999). سرانجام در طبقه‌بندی Lee که در سال ۱۹۸۹ انجام شد جلبک سبز دونالیه لا در شاخه کلروفیتا<sup>۱</sup> و راسته ولوکالز<sup>۲</sup> از تیره کلایمیدوموناداسه<sup>۳</sup> قرار داده شد و تا کنون ۲۸ جنس برای این گونه معرفی شده است (Preisig, 1992).

### ۱-۱-۲. موفولوژی جلبک *Dunaliella*

جنس دونالیه لا دارای یک غشاء سلولی نازک و انعطاف پذیر و فاقد دیواره سلولی متداول در سایر سلول های گیاهی می باشد. این ویژگی صفت بارزی برای تفکیک این جنس از سایر اعضاء شاخه کلروفیتا محسوب می شود. در واقع می توان دونالیه لا را یک پروتوپلاست<sup>۴</sup> واقعی به حساب آورد (Avron & Ben-Amotz, 1992b). به همین دلیل است که شکل سلول در گونه های مختلف این جنس بسیار متنوع است و بسته به شرایط محیطی می تواند بیضوی<sup>۵</sup>، تخم مرغی<sup>۶</sup>، کروی<sup>۷</sup>، هرمی<sup>۸</sup> و دوکی<sup>۹</sup> باشد. مثلاً دیده شده است که در محیط های پیر و درجه حرارت های پایین، سلول ها آمیبی شکل و یا در شوک های اسموتیک سلول ها اغلب کروی شکل (Melkonian *et al.*, 1980).

سلول های دونالیه لا می توانند دارای تقارن شعاعی (*D. tertiolecta*, *D. viridis*)، تقارن دو جانبه یا نامتقارن باشند اگرچه سلول های این جلبک فاقد دیواره سلولی هستند ولی با استفاده از میکروسکوپ نوری دیده شده است که در اطراف غشاء پلاسمایی سلول های پیر یک پوشش موسیلاژی، با ضخامت متغیر و از جنس گلیکوپروتئینی با نام گلیکوکالیکس وجود دارد (Oliveria, *et al.*, 1980; Hatanaka *et al.*, 1998). سلول های این جنس به شدت دارای قطبیت می باشند. دو تازک<sup>۱۰</sup> در بخش قدامی سلول جلبکی واقع شده است (Preisig, 1992) که حرکت شلاقی داشته و هم اندازه اند (Marano, 1992).

<sup>1</sup> Chlorophyta

<sup>2</sup> Volvocales

<sup>3</sup> Chlamydomonadaceae

<sup>4</sup> Protoplast

<sup>5</sup> Ellipsoid

<sup>6</sup> Ovoid

<sup>7</sup> Spherical

<sup>8</sup> Priform

<sup>9</sup> Fussiform

<sup>10</sup> Flagella

در تمام گونه های این جلبک یک کلروپلاست<sup>۱۱</sup> بزرگ دیده می شود که حجم زیادی از فضای درون سلول را اشغال کرده است. این کلروپلاست بسته به گونه می تواند فنجانی<sup>۱۲</sup>، کروی یا زنگوله ای<sup>۱۳</sup> باشد. یک پیرونوئید<sup>۱۴</sup> در بخش تحتانی کلروپلاست واقع شده و معمولاً به وسیله آمیلوسفر احاطه می شود. آمیلوسفر از دانه های نشاسته ساخته شده است (Preisig, 1992). سلول های دونالیه لا دارای لکه چشمی<sup>۱۵</sup> هم می باشند. این لکه چشمی در موقعیت قدامی کلروپلاست واقع شده است. در گونه ی *D. bioculata* دو لکه چشمی وجود دارد. در برخی از گونه ها مانند *D. salina* این لکه چشمی به سختی قابل رویت است. در گونه های کاروتونژنیک از این جنس مانند *D. salina* و *D. parva* امکان ذخیره مقدار زیادی بتا کاروتن<sup>۱۶</sup> در فضای درونی کلروپلاست وجود دارد، بنابراین این سلول های جلبکی بیشتر نارنجی به نظر می رسند تا سبز.

هسته نیز بخش زیادی از قسمت قدامی سلول جلبکی را اشغال کرده است و اغلب با بخش قدامی کلروپلاست احاطه می شود و هم چنین این سلول ها دارای میتوکندری می باشند که در بخش های گوناگون سلول و عمدتاً بین کلروپلاست و هسته و در فضای پروتوپلاسم قرار دارند. ۲ تا ۴ اندامک گلژی که هر یک حاوی ۱۰-۱۵ سیسترون هستند، از دیگر اندامک های موجود در سلول های دونالیه لا می باشند. شبکه آندوپلاسمی نیز در بیشتر بخش های سلول، در زیر غشاء پلاسمایی واقع شده است. یک بخش از شبکه آندوپلاسمی باعث ارتباط بین هسته و تازک می گردد و طی مطالعاتی دیده شده است که تنش های هیپر اسموتیک میزان شبکه آندوپلاسمی را در سلول های دونالیه لا افزایش می دهد (Avron & Ben-Amotz, 1992a).

### ۱-۳-۱. تولیدمثل در جلبک *Dunaliella*

نتایج حاصل از بررسی های مختلف حاکی از آن است که این جلبک دو نوع تولیدمثل دارد: تولیدمثل

غیرجنسی<sup>۱۷</sup> و تولیدمثل جنسی<sup>۱۸</sup>

<sup>11</sup> Chloroplast

<sup>12</sup> Cup-shape

<sup>13</sup> Bell-shape

<sup>14</sup> Pyrenoid

<sup>15</sup> Eye spot

<sup>16</sup> Beta-carotene

<sup>17</sup> Asexual reproduction

<sup>18</sup> Sexual reproduction