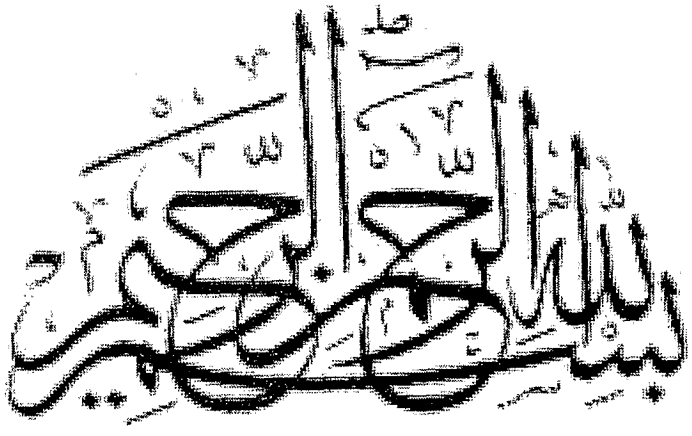


١٠٩٦٢٠

۸۷/۱/۱۰۹۶۲

دانشکده کشاورزی

گروه بیوتکنولوژی

پایان‌نامه

برای دریافت درجه کارشناسی‌ارشد در رشته بیوتکنولوژی

عنوان :

جداسازی وشناسایی مولکولی گونه‌های مختلف جلبک جنس دونالیلا (*Dunaliella*) از دریاچه گاوخونی

اساتید راهنما

دکتر سنبل ناظری

دکتر محمد امین حجازی

۱۳۸۷/۱۰/۱۳

استاد مشاور

دکتر مهرناز کیهان‌فر

پژوهشگر

ناهید حسین‌زاده

زمستان ۱۳۸۶

۱۰۹۶۲۰

همه امتیازهای این پایان‌نامه به دانشگاه بوعلی‌سینا تعلق دارد. در صورت استفاده از تمام یا بخشی از مطالب پایان‌نامه در مجلات، کنفرانس‌ها و یا سخنرانی‌ها، باید نام دانشگاه بوعلی‌سینا (یا استاد یا اساتید راهنمای پایان‌نامه) و نام دانشجو با ذکر مأخذ و ضمن کسب مجوز کتبی از دفتر تحصیلات تکمیلی دانشگاه ثبت شود. در غیر این صورت مورد پیگرد قانونی قرار خواهد گرفت.

دانشگاه بوعلی سینا

دانشکده کشاورزی

با نام و یاری خداوند متعال

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی

خانم ناهید حسین زاده قراجه

تحت عنوان

"جدا سازی و شناسایی مولکولی گونه های جلبک جنس Dunaliella از دریاچه گاوخونی "

به ارزش **۶ واحد** در روز **یکشنبه** مورخ **۸۶/۱۲/۱۹** و در محل دانشکده کشاورزی با حضور جمعی از اساتید و دانشجویان برگزار گردید و با نمره ۱۹/۹۰ و درجه عالی به تصویب کمیته تخصصی زیر رسید.

۱- اساتید راهنما	دکترسنبل ناظری	امضاء
	دکتر محمد امین حجازی	امضاء
۲- استاد مشاور	دکتر مهرناز کیهانفر	امضاء
۳- اساتید داور	دکتر رسول یوسفی مشعوف	امضاء
	دکتر خسرو پیری	امضاء
۴- مدیر گروه	دکتر خسرو پیری	امضاء
۵- سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده	دکتر فرشاد دشتی	امضاء

تقدیم به

مادرم که موهبت وجود صبور و مهربانش، آرامش و عشق را به من هدیه نموده است.

پدرم که وجود زحمتکش و سخت کوشش، الگوی زندگی و مایه دلگرمی و افتخارم است.

من لم یشکر المخلوق لم یشکر الخالق

به ذات اعلم و اقدس پروردگار سپاس آورم که حمد و ستایش را به نعمت‌ها و نعمت‌ها را به شکرگزاری پیوند داد. شکر به درگاه باعظمتش که چون همیشه به لطف و عنایت بی‌کرانش یاریم فرمود و در انجام این تحقیق مرا در مسیر آموزگاران و دوستانی قرار داد که در کنارشان لذت آموختن را چشیدم.

بر خود واجب می‌دانم مراتب سپاس خود را از استاد راهنمای عزیزم خانم دکتر ناظری به جای آورم که در طی این دوران متقبل زحماتم بودند. از استاد راهنمای گرانقدرم جناب آقای دکتر حجازی که به رغم عهده‌دار بودن ریاست پژوهشکده بیوتکنولوژی شمال‌غرب و غرب کشور همواره از درس‌های علمی و اخلاقی ایشان بهره بردم، به منتها درجه سپاسگزارم.

از راهنمایی‌های استاد مشاور گرامی خانم دکتر کیهان‌فر متشکرم.

همچنین لازم است از تمامی اساتید ارجمندی که از رهنمودها و کمک‌های بی‌مضایقه ایشان در طول دوران تحصیلم بهره بردم، تشکر نمایم.

از دوستان و عزیزانی که مرا در این راه کمک و همراهی نمودند: آقای مهندس برزگری، خانم مهندس مظلومی، آقای دکتر دورانی، آقایان مهندس اعتمادی و مهندس خوشروی، خانم مهندس ایرانی، خانم حقایق و آقای ترکمان کمال سپاس را دارم.

از آقای مهندس رزبان، خانم مهندس رادبه و همسر محترمشان آقای دکتر نمازی، آقایان مهندس اسلامی و مهندس بخشی، خانم مهندس جعفریان، نگهبانی محترم و نیز سایر اعضای پژوهشکده بیوتکنولوژی تبریز تشکر می‌نمایم.

از هم‌کلاسی‌های عزیزم خانم جدی، آقایان عابدی، لطفی و خیری که لحظات خوبی را در کنار آنها داشتم متشکرم.

و ...

خالصانه‌ترین قدردانی و سپاس‌ها را با تمام وجود، به رغم ناتوانی در حمد حقیقی نثار عزیزان زندگی: **پدر و مادرم** می‌کنم که با عطوفت و محبت‌های بی‌دریغ و جاودانه‌شان هدایت‌گر راهم بودند و همواره امیدبخش لحظاتم!

از دو برادر بزرگوارم: ناصر و نادر به خاطر حمایت و تشویق‌های همیشگی و خواهر و همدل مهربانم مینا سپاسگزارم.

چکیده

امروزه جلبک دونالیلا به دلیل قابلیت بالای تولید بتاکاروتن، کاربردهای آن در صنایع غذایی، دارویی، آرایشی و کارهای تحقیقاتی نظیر مهندسی ژنتیک، مورد توجه فراوان قرار گرفته است. از این رو شناسایی بیشتر این جنس و گونه‌های پرتولید آن، بسیار سودمند خواهد بود. این پژوهش در مؤسسه تحقیقات بیوتکنولوژی شمال‌غرب و غرب کشور، تبریز، صورت گرفت که در آن تنوع ژنتیکی جلبک دونالیلای موجود در باتلاق گاوخونی براساس ژن ۱۸S rDNA بررسی شد. به این منظور نمونه‌برداری از نقاط مختلف باتلاق انجام گردید. پس ازغنی‌سازی، نمونه‌های جمع‌آوری شده در محیط مایع اصلاح شده جانسون کشت شدند. با تغییر در غلظت نمک و pH در طی واکشت‌های بعدی، آلودگی از کشت دونالیلا حذف گردید. پس از استخراج DNA واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) با استفاده از جفت آغازگرهای حفاظت شده در قطعه ۱۸S rDNA جنس دونالیلا انجام شد. نتایج نشان دادکه نمونه‌های کشت داده شده مخلوطی از گونه‌های متفاوتند. با استفاده از آغازگرهای حفاظت شده جنس و آغازگرهای اختصاصی گونه، شناسایی مولکولی ۴۸ ایزوله بدست آمده انجام گردید. سه گروه مختلف از نظر مولکولی تشخیص داده شد. در گروه اول به کمک آغازگرهای حفاظت شده قطعه ۱۸S rDNA به طول حدود ۱۷۷۰ جفت بازی ایجاد شد، ولی با آغازگرهای اختصاصی قطعه‌ای تکثیر نیافت. برش آنزیمی در قطعه ۱۸S rDNA این گروه، الگوی برشی مشابه با الگوی گونه ثبت شده دونالیلا ترتیولکتا و نیز دونالیلا سالینای CCAP 19/30 را نشان داد. توالی‌یابی انجام شده بدنبال آن نیز این تشابه را مورد تأیید قرار داد. بررسی قابلیت تولید کاروتنوئید برای این گروه، در غلظت ۱، ۲ و ۳ مولار نمک و شدت‌های نور کم (۱۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه) و بالا (۴۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه) نشان داد که تولید کاروتنوئید به إزاء سلول در غلظت ۳ مولار و شدت نور بالا بیشتر بود. با افزودن تنش کمبود منبع غذایی فسفات و نیترات، حداکثر قابلیت تولید کاروتنوئید به إزاء سلول تعیین گردیدکه این مقدار (۱۱/۵۲ پیکوگرم) از مقدار گزارش شده (۰/۳ تا ۲/۴ پیکوگرم) برای گونه دونالیلا ترتیولکتا بیشتر و نزدیک به مقدار تولید گونه دونالیلا سالینای CCAP 19/30 (۱۲ پیکوگرم) بود. اما شناسایی دقیق در این گروه منوط به مطالعات مورفولوژیکی و مولکولی بیشتر است. در گروه دوم با قطعه ۱۸S rDNA به طول حدود ۲۱۷۰ جفت باز، با آغازگرهای اختصاصی شناسایی‌کننده گونه سالینا، پاروا و بارداویل قطعه‌ای ایجاد نشد. تک‌کلنی‌های گروه سوم با قطعه ۱۸S rDNA به طول حدود ۲۵۷۰ جفت باز، با آغازگر اختصاصی شناساگر گونه دونالیلا پاروا تولید باندی در اندازه کوچک‌تر از حد انتظار نمودند. همچنین برش آنزیمی در این دو گروه الگوی متفاوت با گونه‌های شناخته شده دونالیلا را نشان داد. با توجه به نتایج بدست آمده از آزمایشات فوق، بنظر می‌رسد این گونه‌ها متفاوت از انواع ثبت شده باشند. مطالعات تکمیلی جهت شناسایی بیشتر باید صورت گیرد تا این نظریه به طور کامل تأیید گردد.

کلمات کلیدی: دونالیلا، بتاکاروتن، تنوع ژنتیکی، ژن ۱۸S rDNA

فهرست مطالب

صفحه

مقدمه ۱

فصل ۱- بررسی منابع

۱-۱- جلبک‌ها ۳

۱-۱-۱- ارتباط کشاورزی و جلبک‌ها ۳

۱-۱-۲- ارتباط بیوتکنولوژی با جلبک‌ها ۳

۱-۱-۳- واژه شناسی جلبک ٤

۱-۱-۴- جایگاه جلبک‌ها ٤

۱-۱-۵- طبقه‌بندی جلبک‌ها ٥

۱-۲- جایگاه جنس دونالیلا در طبقه‌بندی جلبک‌ها ۷

۱-۳- تاریخچه شناسایی جلبک جنس دونالیلا ۷

۱-۴- مورفولوژی ۱۰

۱-۵- تولیدمثل رویشی ۱۲

۱-۶- تولیدمثل جنسی ۱۳

۱-۷- اکولوژی ۱۴

۱-۸- شرایط فیزیکوشیمیایی رشد دونالیلا ۱۵

۱-۸-۱- pH ۱۵

۱-۸-۲- دما ۱٦

۱-۸-۳- نور ۱٦

۱-۹- اهمیت جلبک دونالیلا ۱۷

۱-۹-۱- تولید بتاکاروتن ۱۷

۱-۹-۲- ارزش تغذیه‌ای ۱۸

۱-۹-۳- کاربرد پزشکی و دارویی ۱۸

۱-۹-۴- استخراج گلیسرول ۱۹

۱-۹-۵- استفاده در مهندسی ژنتیک ۱۹

۱-۱۰- مروری بر مطالعات فیزیولوژیکی انجام شده ۲۰

۱-۱۱- مروری بر مطالعات تاکسونومیکی انجام شده ۲۲

۱-۱۱-۱- مورفولوژی در مطالعات تاکسونومیکی ۲٤

۱-۱۱-۲- ماده ژنتیکی در مطالعات تاکسونومیکی ۲۷

فصل ۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مکان و نحوه نمونه‌برداری ۳۱

۲-۲- مشاهدات میکروسکوپی ۳۱

فهرست مطالب

صفحه

۲-۳- اندازه‌گیری شوری و pH محیط طبیعی ۳۱
۲-۴- آماده‌سازی نمونه‌ها: مرحله غنی‌سازی ۳۲
۲-۵- تهیه محیط کشت مایع جلبک دونالیلا ۳۲
۲-۶- کشت نمونه در محیط کشت مایع ۳۳
۲-۷- واکشت‌های مکرر ۳۴
۲-۸- شناسایی مولکولی نمونه‌های کشت داده شده ۳۴
۲-۸-۱- استخراج DNA ۳٤
۲-۸-۲- تعیین کیفیت DNA ۳٦
۲-۸-۳- آغازگرها ۳۷
۲-۸-۴- بهینه سازی شرایط PCR ۳۸
۲-۸-۵- الکتروفورز محصولات PCR ٤۰
۲-۸-۶- بررسی اولیه نتایج بدست آمده ٤۰
۲-۹- جدا کردن تک‌کلنی‌های مختلف دونالیلا ۴۱
۲-۱۰- شناسایی مولکولی نمونه‌های تک‌کلنی بدست آمده ۴۲
۲-۱۱- برش آنزیمی ۴۳
۲-۱۲- توالی‌یابی محصولات PCR ۴۴
۲-۱۲-۱- مشاهده توالی‌ها و کروماتوگرام‌های مربوط به آنها ٤۵
۲-۱۲-۲- مقایسات توالی‌ها بر اساس توالی ژن ۱۸S rDNA با داده‌های بانک ژنی ٤۵
۲-۱۳- بررسی قابلیت تولید کاروتنوئید در جلبک سبز دونالیلا ۴۵
۲-۱۳-۱- شمارش سلولی ٤٦
۲-۱۳-۲- اندازه‌گیری غلظت کاروتنوئید ٤۷

فصل ۳- نتایج و بحث

۳-۱- مشاهدات ظاهری ۴۹
۳-۲- مشاهدات میکروسکوپی ۵۲
۳-۳- خالص سازی جلبک دونالیلا ۵۳
۳-۴- شناسایی مولکولی اولیه ۵۴
۳-۴-۱- تعیین کیفیت و کمیت DNA استخراج شده از نمونه‌ها ٥٤
۳-۴-۲- بررسی محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ٥٤
۳-۵- شناسایی مولکولی گونه‌های مختلف ۵۵
۳-۵-۱- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با آغازگرهای حفاظت شده و اختصاصی ۵۵
۳-۵-۲- بررسی نتایج واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۵۷
۳-۵-۳- برش آنزیمی ۵۸

فهرست مطالب صفحه

۳-۵-۴- توالی‌یابی ٦١
۳-۵-۵- مقایسه توالی موجود با توالی‌های ثبت شده ٦٤
۳-۶- بررسی قابلیت تولید کاروتنوئید ۶۷
۳-۶-۱- اثر غلظت نمک و شدت نور ٦٧
۳-۶-۲- اثر محیط غیر غنی به همراه تنش شوری و شدت نور بالا ٦٩
نتیجه گیری نهایی ۷۷
پیشنهادها ۷۸
پیوست ۷۹
منابع ۸۱

مقدمه

مقدمه

تولید جلبک و مشتقات آن توانایی بالقوه‌ای برای تبدیل به شاخه بسیار مهم از بخش کشاورزی دارد و باید بطور فعالانه‌ای دنبال گردد. جلبک‌های اتوتروف نیازمندی‌های مواد آلی را از همان مواد پایه‌ای اکسید شده ضروری برای تمام گیاهان سنتز می‌سازند. همچنین جلبک یک واحد تولیدی است که دی اکسیدکربن را از هوا خارج ساخته و بدون رهاسازی هیچ بقایای آلاینده، اکسیژن، محصولات شیمیایی مفید و غذا تولید می‌کند (کاسول و زیلبرمن[1]، ۲۰۰۰). در سال‌های اخیر توسعه علوم داروسازی و حرکت بسوی کاربرد بیوتکنولوژی در صنایع شیمیایی منجر به استفاده وسیع از جلبک‌ها شده است (دشپند[2]، ۲۰۰۵).

ریزجلبک‌ها گروهی از جلبک‌ها هستند که برخی انواع آن برای تولید پروتئین‌ها، آستاگزانتین[3]، بتاکاروتن[4]، گلیسرول، سوخت‌های زیستی، داروهای مختلف و همچنین مواد شیمیایی مطلوب کشت می‌شوند (اسپولور[5] و همکاران، ۲۰۰۶).

در میان این جلبک‌ها، دونالیلا[6] که حدود صد سال از شناخت آن می‌گذرد موضوع مطالعات فراوان فیزیولوژی، بیوشیمی، اکولوژی و کاربردهای تجاری بوده است (آورون و بن‌آموتس[7]، ۱۹۹۲). دونالیلا در سال ۱۹۶۶ توسط ماسیوک[8] برای تولید بتاکاروتن در حد صنعتی معرفی گردید، و بعدها از آن به عنوان منشاء تولید گلسیرول نیز استفاده شد. جلبک دونالیلا، به واسطه تولید فراوان بتاکاروتن و گلیسرول، دارای درجه بالایی از سازگاری در برابر تغییرات اسمزی محیط است. با کشت این جلبک در مقیاس وسیع، از قابلیت تولید بیش از اندازه بتاکاروتن در آن، به خوبی استفاده شده است (بن‌آموتس و آورون، ۱۹۹۰). در حال حاضر کارخانه‌های تولید کاروتن از دونالیلا در فلسطین اشغالی، چین، هند و استرالیا وجود دارند (برویتسکا[9]، ۲۰۰۵). تقاضای جهانی برای مصرف بتاکاروتن طبیعی حدود ۱۰- ۱۰۰ تن به ازای هر سال تخمین زده شده و قیمت آن حدود ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ دلار به ازای هر کیلوگرم است (کاسول و زیلبرمن، ۲۰۰۰).

1- Caswell and Zilberman
2- Deshpande
3- Astaxantin
4- Beta-carotene
5- Spolaore
6- *Dunaliella*
7- Avron and Ben-Amotz
8- Massyuk
9- Borowitzka

استفاده از گلیسرول، محصول دیگر دونالیلا، در صنایع بهداشتی، دارویی و غذایی از نظراقتصادی اهمیت یافته است (کریگ و مک‌لاچلن[1]، ۱۹۶۴). گونه های هالوفیل دونالیلا مقدار زیادی گلیسرول در خود ذخیره می کنند که میزان آن می‌تواند حتی به بیش از ۳۰ درصد وزن خشک برسد (براون[2] و همکاران، ۱۹۸۷).

جلبک شوری پسند دونالیلا می تواند در زمین‌های لم‌یزرع، جایی که حداکثر دسترسی به نور خورشید وجود دارد، رشد یابد و از طرفی این جلبک به علت عدم وجود ضمایم (حتی دیواره سلولی) نتایج فعالیت فتوسنتزی خود را بیشتر برای رشد به کار می‌برد. بنابراین استفاده از دونالیلا بدلیل بازده مناسب در استفاده از فرآیند فتوسنتز و عدم نیاز به مصرف آب شیرین با توجیه‌پذیری اقتصادی همراه است (بکر[3]، ۱۹۹۴).

با توجه به موارد فوق، اهمیت شناسایی و جداسازی گونه‌های این جنس آشکار می گردد تا بتوان بدین طریق به گونه‌هایی که توانایی تولید محصول مهم بیشتری نیز دارند، دست یافت.

تاکسونومی جنس دونالیلا بدین دلیل که این جلبک می‌تواند در دامنه وسیعی از شرایط محیطی (خصوصاً شوری) رشد کند و نیز به دلیل تغییرات مورفولوژیکی ناشی از عدم وجود دیواره سلولی، بررسی‌های بیشتری را می‌طلبد (برویتسکا و سیوا[4]، ۲۰۰۷). بررسی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک جهت شناسایی گونه های این جنس کافی نبوده است. بنابراین از شناسایی مولکولی بعنوان ابزاری قدرتمند برای تشخیص بین و درون گونه‌ای میکروارگانیسم‌های از نظر ظاهری مشابه و در جمعیت‌های مخلوط استفاده می گردد (اولموس[5] و همکاران، ۲۰۰۰).

هدف این تحقیق ، جداسازی و شناسایی مولکولی جلبک دونالیلا از دریاچه گاوخونی بود. شناسایی مولکولی با استفاده از ژن ۱۸S rDNA صورت گرفت. پس از این مرحله، قابلیت تولید بتاکاروتن در شرایط استرس شوری، نور و کمبود مواد غذایی اندازه‌گیری شد.

1- Craigie and Mclachlan
2- Brown
3- Becker
4- Siva
5- Olmos

فصل اول

بررسی منابع

فصل ۱- بررسی منابع

۱-۱- جلبک‌ها

۱-۱-۱- ارتباط کشاورزی و جلبک‌ها

با افزایش تقاضای جهانی مواد غذایی و با در نظرگیری محدودیت‌های محیط طبیعی، کشاورزی سنتی نمی‌تواند پاسخگوی احتیاجات باشد. در سال‌های اخیر سرمایه‌گذاری تحقیقی برای آبزی‌پروری از نظر اقتصادی در خور رشد و ترقی، افزایش یافته است. آبزی‌پروری کشاورزی سنتی را تکمیل نموده و باید بعنوان گامی بزرگ که بخش کشاورزی را تقویت خواهد کرد، مورد پذیرش قرار گیرد. تولید جلبک‌ها و توسعه تولید مشتقات جلبک می‌تواند به بخش مهمی از کشاورزی تبدیل شود (کاسول و زیلبرمن، ۲۰۰۰).

مزیت کشت جلبک بر کشاورزی تولید محصول بیش از مقدار مورد انتظار است و در آن برخلاف کشاورزی مواد زائد انباشته نمی‌گردد. با بهره‌وری‌های حاضر، بازدهی سیستم‌های کشت ریزجلبک چندین برابر بیشتر از کشاورزی است. دیگر مزیت این سیستم‌ها امکان رشد جلبک در مناطق لم‌یزرع و غیرمناسب برای کشاورزی است چون جلبک‌ها قادر به استفاده از آب‌های بدمزه و شور هستند. البته در کشت‌های وسیع و تجاری، باید هزینه‌ها و صرفه‌های اقتصادی تولید ریزجلبک و محصولات آنها به دقت مورد توجه قرار گیرد (بکر، ۱۹۹۴).

۱-۱-۲- ارتباط بیوتکنولوژی با جلبک‌ها

زمینه بیوتکنولوژی به کمک تحقیقات جدید و فن‌آوری‌های روز بسرعت در حال رشد است. در کشاورزی، تقریباً تمام جنس‌های گیاهی و گونه‌های جانوری و نیز میکروارگانیسم‌های غیرفتوسنتزکننده موضوع تحقیقات بیوتکنولوژی هستند و حتی گونه‌های متعددی از جلبک‌های آب شیرین و آب دریا در تحقیقات پایه و کاربردی سهم داشته و باعث توسعه بیوتکنولوژی می‌گردند. جلبک‌ها نقش‌های کلیدی مانند بیوراکتورها در تأمین غذا، مواد دارویی و سوخت دارند. آنها در رشد فن‌آوری انرژی خورشیدی و در برنامه‌های تجزیه زیستی[1] و حذف زیستی آلاینده‌ها[2] اهمیت روزافزونی پیدا می‌کنند و اهمیت آنها را در صنعت رو به توسعه آبزی‌پروری بومی و بین‌المللی نمی‌توان نادیده گرفت (استون و وارم برات[3]، ۱۹۹۲).

1- biodegradation
2- bioremediation
3- Stone and Warmbrodt

۱-۱-۳- واژه شناسی جلبک

اولین ارجاع به جلبک، در نوشتجات قدیمی چینی و با عنوان «تسائو[1]» است. در نوشتجات یونانیان و رومان‌ها کلمه جلبک به ترتیب بصورت «فیکوس[2]» و «فوکوس[3]» بود. واژه یونانی فیکوس به معنی جلبک، علف هرز دریا می باشد. جلبک‌ها برای مدت طولانی توسط ساکنان هاوایی بعنوان غذا مورد استفاده قرار گرفته و بنام «لیمو[4]» خوانده می‌شد (گوپتا[5]، ۱۹۸۱).

جلبک های دریایی را در زبان محاوره روزمره انگلیسی «سی وید[6]» می گویند. در ترکیه نیز جلبک را با نام «یوسون[7]» می شناسند. جلبک احتمالاً کلمه‌ای ترکی با تلفظ «گول بیی» و به معنای آلوده کننده استخر است، و به مرور زمان در زبان فارسی بصورت تلفظ امروزی جلبک در آمده است. در برخی از نقاط کشور به آن «جل‌بق» می گویند که جل به معنی لباس و بق به معنی قورباغه است. در اصطلاح علمی جلبک‌ها را با نام آلگی[8] و علم جلبک شناسی را با نام فایکولوژی[9] (با ریشه فیکوس) می‌شناسیم. در برخی منابع ،جلبک شناسی را آلگالوژی[10] نیز نوشته‌اند (کیان‌مهر، ۱۳۷۷).

۱-۱-۴- جایگاه جلبک‌ها

عبارت جلبک هیچ اعتبار تاکسونومیکی ندارد و عموماً برای اشاره به موجودات مختلف‌الاجداد و اجتماع موجودات بیرون‌دهنده O_2، فتوسنتتیک (با چندین استثناء بی‌رنگ) به کار می‌رود. طبق این تعریف، گیاهان می‌توانند بعنوان تقسیمات جلبکی در نظر گرفته شوند. جلبک‌ها و گیاهان ترکیبات ذخیره‌ای مشترکی تولید می‌کنند، از راهکارهای دفاعی مشابه برعلیه شکارگرها و پارازیت‌ها استفاده می‌کنند، و شباهت عمیق مورفولوژیکی بین برخی جلبک‌ها و گیاهان وجود دارد. اما این شباهت‌ها بسیار کمتر از تفاوت آنهاست. جلبک‌ها تمایز بالایی نشان نمی‌دهند، آنها فاقد ریشه، ساقه، برگ و بافت‌های مشخص آوندی هستند. با این وجود بسیاری از علف‌های دریایی در ظاهر شبیه گیاهان بوده و برخی در سلول‌های رویشی اختصاصی بودن و

1- Tsao
2- Phycos
3- Fucus
4- Limu
5- Gupta
6- sea weed
7- yosun
8- Algae
9- Phycology
10- Algalogy

تمایز را نشان می‌دهند. آنها جنین ایجاد نمی‌کنند، ساختارهای تولیدمثلی شامل سلول‌هایی است که بطور بالقوه بارورند و فاقد سلولهای عقیمی هستند که آنها را پوشانیده یا احاطه می‌کنند. بعلاوه جلبک‌ها از سلول منفرد میکروسکوپی تا توده چندسلولی ماکروسکوپی، کلونی‌های درهم و برهم یا منشعب، یا اشکال تیغه‌ای یا برگی پیچیده‌تر، که بطور آشکاری با گیاهان آوندی در تضاد است، را شامل اند. تکامل در جلبک‌ها و گیاهان به دو طریق عمل کرده است؛ یکی برای شکل‌دهی شباهت‌ها و دیگری شکل‌دهی تفاوت‌ها. همان فشار[1] محیطی منجر به تکمیل موازی و جداگانه ویژگی‌های مشابه در هر دوی گیاهان و جلبک‌ها شده است. حرف آخر اینکه گیاهان گروه جداگانه‌ای بدون هیچ همپوشانی با جامعه جلبکی هستند.

تفاوت‌های عمیق اندازه، اکولوژی و رستنگاه ساکنین، ساختار سلولی، سطوح سازماندهی و مورفولوژی، رنگدانه‌های فتوسنتزی، پلی‌ساکاریدهای ذخیره‌ای و ساختاری، و نوع تاریخچه زندگی منشأهای متفاوت تکاملی این جامعه هتروژن موجودات را، مشتمل بر هر دوی گونه‌های پروکاریوت و یوکاریوت منعکس می‌دارند.

عبارت جلبک به هر دوی ماکروآلگا[2] یا بزرگ‌جلبک‌ها و گروه بسیار متنوعی از ریزموجودات شناخته شده بعنوان مایکروآلگا[3] یا ریزجلبک‌ها اشاره دارد. تخمین زده می‌شود شمار گونه‌های جلبک یک تا ده میلیون بوده که اغلب آنها ریزجلبک هستند (گالتیری و بارسانتی[4]، ۲۰۰۶).

۱-۱-۵- طبقه‌بندی جلبک‌ها

اکنون نظر محققین بر این اصل استوار است که سیستم طبقه‌بندی تعریف‌پذیر و قابل پذیرش همگانی برای جلبک‌ها وجود ندارد چون تاکسونومی تحت بازبینی مداوم و سریع روزانه بدنبال شواهد جدید ژنتیکی و فراساختاری در تمام سطوح است. نباید فراموش کرد که هر چند طبیعت مختلف‌الاجداد گروه جلبک با گروه‌بندی تاکسونومیکی قدیمی در تناقض است اما هنوز برای تعیین ویژگی عمومی و سطح سازمان‌یابی مورد استفاده است. گالتیری و بارسانتی در ۲۰۰۶ شکل موقتی از طبقه‌بندی ارائه داده‌اند. اعضای پروکاریوتی این جامعه در دو شاخه و اعضای یوکاریوتی

1- pressure
2- Macroalgae
3- Microalgae
4- Gualtieri and Barsanti

در نه شاخه گروه‌بندی شده اند (جدول ۱-۱).

جدول۱-۱- شمای طبقه‌بندی گروه‌های مختلف جلبک (گالتیری و بارسانتی، ۲۰۰۶).

سلسله	شاخه	رده
باکتریهای حقیقی پروکاریوت	Cyanophyta	Cyanophyceae
Prokaryota eubacteria	Prochlorophyta	Prochlorophyceae
یوکاریوت‌ها	Glaucophyta	Glaucophyceae
Eukaryota	Rhodophyta	Bangiophyceae
		Florideophyceae
	Heterokontophyta	Chrysophyceae
		Xanthophyceae
		Eustigmatophyceae
		Bacillariophyceae
		Rhaphidophyceae
		Dictyochophyceae
		Phaeophyceae
	Haptophyta	Haptophyceae
	Chryptophyta	Chryptophyceae
	Dinophyta	Dinophyceae
	Euglenophyta	Euglenophyceae
	Chlorarachniophyta	Chlorarachniophyceae
	Chlorophyta*	Prasinophyceae
		Chlorophyceae*
		Ulvophyceae
		Cladophorophyceae
		Bryopsidophyceae
		Zygnematophyceae
		Trentepohliophyceae
		Klebsormidiphyceae
		Charophyceae
		Dasycladophyceae

*جلبک مورد مطالعه دونالیلا در این سطوح گروه‌بندی قرار گرفته است.

۱-۲- جایگاه جنس دونالیلا در طبقه‌بندی جلبک‌ها

جنس دونالیلا از زمان توصیف ابتدایی آن، بصورت متداول در راسته ولوکالز[1] و خانواده پلی بلفاریداسه[2] قرار داشت تا اینکه اتل[3] در سال ۱۹۸۳ جنس دونالیلا را در راسته جدیدی بنام دونالیلالز[4] و خانواده دونالیلاسه طبقه‌بندی کرد. این رده بندی بطور خلاصه به صورت جدول ۱-۲ بیان گردیده است (برونیتسکا و سیوا، ۲۰۰۷).

جدول ۱-۲- رده‌بندی امروزی جلبک دونالیلا (برونیتسکا و سیوا، ۲۰۰۷)

سطوح طبقه‌بندی	نام سطوح
شاخه	Chlorophyta
رده	Chlorophyceae
راسته	Dunaliellales
تیره	Dunaliellaceae
جنس	Dunaliella

۱-۳- تاریخچه شناسایی جلبک جنس دونالیلا

از زمان اولین توصیف جنس دونالیلا تاکنون حدود صد سال گذشته است. جنس دونالیلا، جلبک سبز تک‌سلولی است که مسئول تولید مواد اولیه در محیط‌های فوق اشباع در سرتاسر جهان است.

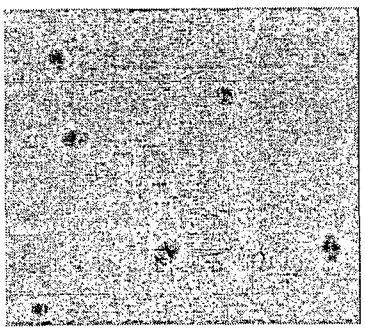
در یک قرنی که از زمان توصیف رسمی آن گذشته است، دونالیلا تبدیل به یک موجود الگوی مناسب برای مطالعهٔ سازگاری به شوری در جلبک‌ها شده است. حصول شناخت کافی از مواد آلی محلول سازگار برای حفظ تعادل اسمزی، بطور عمده‌ای بر پایه مطالعه گونه‌های دونالیلا است. بعلاوه تجمع توده‌ای بتاکاروتن تحت شرایط مناسب توسط برخی نژادها منجر به کاربردهای جالبی در بیوتکنولوژی شده است (اورن[5]، ۲۰۰۵).

توصیف ابتدایی جلبک تک‌سلولی دوتاژکه قرمز رنگ موجود در آب‌های شور در سال ۱۸۳۸

1- Volvocales
2- Polyblepharidaceae
3- Ettl
4- Dunaliellales
5- Oren

توسط دونال ارائه گردید که حضور موجودی را که امروزه بنام دونالیلا سالینا[1] می‌شناسیم، در معادن استخراج نمک مونت‌پلیه[2] در ساحل مدیترانه‌ای فرانسه گزارش نمود. او موجودات مشاهده شده را هماتوکوکوس سالینوس و پروتوکوکوس[3] نامید. کشف این جلبک‌ها در چارچوب یک تحقیق توسط آکادمی علوم[4] در پاریس در مورد علت رنگ قرمز آب‌های شور صورت گرفت. در آن زمان بطور گسترده‌ای تصور می‌شد که پارامترهای شیمیایی و فیزیکی مسئول رنگی بودن این آبها هستند (اورن و دوبینسکی[5]، ۱۹۹۴).

در طی قرن نوزدهم جلبک قرمز تاژکدار دونال (شکل ۱-۱) توسط سایر زیست‌شناسان نیز در دریاچه‌های نمکی و دیگر مناطق فوق اشباع در کریمه[6]، الجزایر، لوراین[7]، فرانسه و رومانی مشاهده شد. اسامی مختلفی توسط هر محقق به این موجود تعلق گرفت (اورن، ۲۰۰۵).



شکل ۱-۱- جلبک تک‌سلولی دونالیلا سالینا مشاهده شده در آب شور کرانه دریای قرمز فلسطین (اورن، ۲۰۰۵)

جنس جلبک سبز دونالیلا ابتدا توسط تئودورسکو (۱۹۰۵) براساس نمونه‌های جمع‌آوری شده از دریاچه شور رومانی با گونه شاخص دونالیلا سالینا شرح داده شد. این جنس به افتخار م.ف.دونال، اولین کسی که تقریباً هفتاد سال پیش آن را دیده بود، نامگذاری گردید. در همان سال کلارا هامبورگر[8] توصیف خود را از این گونه منتشر ساخت. هر دو مؤلف اشکال کاملی را از این موجودات ارائه داده (شکل ۱-۲) و اطلاعات جامعی درباره مورفولوژی، ساختار سلولی، تکثیر، رفتار و اکولوژی آن عرضه داشتند (اورن، ۲۰۰۵).

1- *Dunaliella salina*
2- Montpellier
3- *Haematococcus salinus* and *Protococcus*
4- Académie des Sciences
5- Dubinsky
6- Crimea
7- Lorraine
8- Clara Hamburger