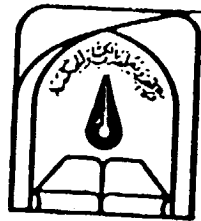
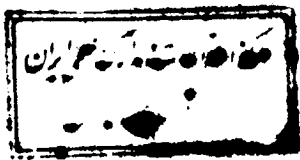


بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

٢٧٩٥٢



۱۳۷۸ / ۱۰ / ۲۷

دانشگاه تربیت مدرس دانشکده علوم دریائی نور

پایان نامه کارشناسی ارشد (M.Sc)

بیولوژی ماهیان دریا

14762

موضوع:

تولید گلیسرول از جلبک دریائی دونالیلا

استاد راهنما:

دکتر مهناز مظاهری اسدی

استاد مشاور:

دکتر مرضیه اکبری

پژوهش و نگارش:

حبیب قاسمی

بهار ۱۳۷۸

۲۷۹۰۶

تأییدیه اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیئت داوران نسخه نهائی پایان نامه خلاصه/ آقای. حبیب قاسمی.....
تحت عنوان. تولید. گلیسرول جلبک دریائی دونا. لیلیا.....
را از نظر فرم و محتوی بررسی نموده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می کنند.

امضاء

رتبه علمی

نام و نام خانوادگی

اعضای هیأت داوران

استادیار

۱- استاد راهنما خانم دکتر مهناز مظاهری اسدی

"

۲- استاد مشاور خانم دکتر مرضیه اکبری

"

۳- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی دکتر محمد جعفری

مربی

۴- استاد ممتحن مهندس مهران کیانی راد

استادیار

۵- استاد ممتحن و مدیر گروه دکتر عیسی شریفپور



شماره:

تاریخ:

سوست:

آیین‌نامه چاپ پایان‌نامه (رساله)‌های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)‌های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس مبین بخشی از فعالیت‌های علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش‌آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱ در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)‌ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به مرکز نشر دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شتابنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

و کتاب حاضر، حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده در رشته بیولوژی ماهیان است

که در سال ۱۳۷۸ در دانشکده علوم دریائی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکار خانم

دکتر مهناز مظاهری و مشاوره سرکار خانم دکتر مرضیه اکبری از آن دفاع شده

است.

ماده ۳ به منظور جبران بخشی از هزینه‌های نشریات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به مرکز نشر دانشگاه اهدا کند دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵ دانشجوی تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتبهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶ اینجانب حبیب قاسمی دانشجوی رشته بیولوژی ماهیان مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق

و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

کلیه حقوق اعم از چاپ و تکثیر، نسخه برداری،
ترجمه، اقتباس و... از پایان نامه کارشناسی
ارشد یا رساله دکتری برای دانشگاه تربیت
مدرس محفوظ است.
نقل مطالب با ذکر مأخذ بلا مانع است.

این پایان نامه با مساعدت‌های علمی و مالی
سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران انجام
گرفته است.

تقدیم به

پدر بزرگوارم

که روح امتداد به نفس را در من زنده کرد و در تمامی
مراحل زندگی برایم معلمی دلسوز بود

و

به مادر گرامیم

که صبر و بردباریش امید بخش زندگیم بود

و

به برادر و خواهرانم

که مشوق راهم بوده‌اند

با تقدیر و تشکر از:

اساتید محترم:

- سرکار خانم دکتر مظاهری که در این پایان نامه مساعدتهای فراوانی را مبذول فرمودند و همیشه مشوق راهم بودند.
- سرکار خانم دکتر اکبری که در اجرا و تهیه و تنظیم این پروژه مساعدتهای فراوانی را مبذول فرمودند
- سرکار خانم دکتر معظمی که فضائی مناسب برای فعالیت‌های علمی در آزمایشگاه ایجاد نموده‌اند.
- جناب آقای مهندس کیانی که راهنمایی‌های فراوانی مبذول داشتند.
- جناب آقای دکتر شریف‌پور که همیشه با دید مثبت در جهت رفع مشکلات اقدام فرمودند.
- جناب آقای دکتر مرجائی که مساعدتهای فراوانی جهت عکسبرداری میکروسکوپی از نمونه‌ها در بیمارستان قاضی طباطبائی تبریز مبذول فرمودند.
- جناب آقای مهندس محبی که برای تهیه عکس از نمونه‌ها همکاری فراوانی مبذول داشتند.

و با تقدیر و تشکر از:

جناب آقای دکتر قاسمی

سرکار خانم دکتر باغچه‌وان

سرکار خانم قاسمی

جناب آقای نور آئین

جناب آقای مهندس جعفری

جناب آقای مهندس ذاکری

جناب آقای کلانترزاده

جناب آقای روشن نژاد

سرکار خانم کریمی

سرکار خانم آذری

و با تقدیر و تشکر از تمامی افرادی که مرا در اجرا و تهیه و تنظیم این پایان نامه یاری فرمودند

چکیده

جلبک دونالیا سالینا یک جلبک تک سلولی، دارای دو تازک هم طول از راسته ولوکالها می باشد و قدرت تحمل شوریهایی بسیار بالایی را دارد. دونالیا شرایط هیپراسموتیک را بوسیله تولید گلیسرول تحمل می نماید. در این تحقیق جهت تولید گلیسرول از دو نمونه دونالیا جدا شده از کوه نمکدان قشم (نوع A) و دیگری از مرکز بیوتکنولوژی دریا در آمریکا (نوع B) استفاده شد. برای همه تیمارها از محیط کشت اصلاح شده جانسون با $pH=7/5$ استفاده گردید. کلیه شرایط مورد نیاز برای تیمارهای مختلف به غیر از غلظت NaCl ثابت نگه داشته شد. گلیسرول برای هر دو نمونه در غلظت های ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳ و ۳/۵ مولار NaCl در روزهای هفتم رشد (فاز لگاریتمی) و روز شانزدهم رشد (اواخر فاز لگاریتمی) و روز بیست و پنجم رشد (فاز سکون) اندازه گیری گردید. برای اندازه گیری گلیسرول از روش شیمیائی بعد از اکسیداسیون آن بوسیله پریدیت و تبدیل آن به دیول استفاده شد. در هر تیمار مقدار گلیسرول خارج سلولی، داخل سلولی و داخل سلولی به ازای یک سلول و کل تولید گلیسرول اندازه گیری گردید.

حداکثر تولید در اواخر فاز لگاریتمی یا اوائل فاز سکون بود. یک رابطه خطی مستقیم بین غلظت NaCl خارج سلولی و گلیسرول داخل سلولی به ازای یک سلول مشاهده شد. حداکثر تولید کل گلیسرول در دونالیای نوع B ۴۵۳/۹ میکروگرم در میلی لیتر و در نوع A ۴۳۱/۷ میکروگرم در میلی لیتر بود. یک انطباق بین غلظت NaCl لازم برای رشد بهینه نوع B و غلظت NaCl لازم برای حداکثر تولید گلیسرول وجود دارد و آن غلظت ۱/۵ مولار NaCl می باشد ولی این انطباق در نوع A مشاهده نمی شود. بین غلظت NaCl لازم برای حداکثر رشد و حداکثر تولید گلیسرول در نوع A به اندازه ۱ مولار اختلاف وجود دارد. این امر نوع B را کاندیدای مناسبتری برای تولید گلیسرول می نماید. گلیسرول داخل سلولی استحصال گردید.

کلمات کلیدی: تولید - گلیسرول - جلبک دونالیا.

عنوان	صفحه
□ فصل اول	
کلیات	
۱-۱ مقدمه	۲
۲-۱ خصوصیات رشد جلبکی در شرایط آزمایشگاهی (حجم محدود):	۳
۳-۱ روشهای کشت جلبکهای میکروسکوپی	۵
۱-۳-۱- کشت متمرکز Batch Culture	۵
۲-۳-۱- کشت نیمه پیوسته (Semicontinuos Culture):	۶
۳-۳-۱- کشت پیوسته (Continuous Culture)	۶
۴-۳-۱- کشتهای همزمان (Synchronised Cultures)	۶
۴-۱ کلیاتی در مورد جلبک سبز دونالیا	۷
۱-۴-۱- تاکسونومی و مورفولوژی جلبک دونالیا	۷
۲-۴-۱- پراکندگی دونالیا	۸
۳-۴-۱- اکولوژی	۹
۴-۴-۱- شرایط فیزیوشیمیائی رشد دونالیا	۱۰
۱-۴-۴-۱- PH	۱۰
۲-۴-۴-۱- دما	۱۰
۳-۴-۴-۱- نور	۱۰
۵-۱ تنظیم اسمزی و تولید گلیسرول:	۱۲
۶-۱ سنتز و تجمع گلیسرول:	۱۲
۷-۱ گلیسرول و متابولیسم نشاسته	۱۳
۸-۱ مصارف اقتصادی جلبک دونالیا:	۱۴
۹-۱ پاسخهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی جلبک دونالیا سالینا	۱۵
۱۰-۱ گلیسرول	۱۸

صفحه	عنوان
۱۸	۱-۱۰-۱- خصوصیات گلیسرول
۱۸	۲-۱۰-۱- سنتز و تولید
۱۹	۳-۱۰-۱- عوامل بهداشتی
۱۹	۴-۱۰-۱- موارد مصرف گلیسرول

□ فصل دوم

۲۱	مروری بر مطالعات انجام شده
----	----------------------------

□ فصل سوم

مواد و روشها

۲۸	۱-۳ مکانهای تهیه نمونه
۲۸	۲-۳ نمونه برداری
۲۹	۳-۳ جداسازی <i>Dunaliella</i>
۳۲	۴-۳ محیط کشت <i>Dunaliella</i>
۳۲	۵-۳ کشت دونالیا (<i>Dunaliella</i>)
۳۳	۶-۳ بهینه سازی محیط کشت <i>Dunaliella</i> و محیط پیرامونی
۳۴	۷-۳ رسم منحنی رشد و شمارش تعداد سلولهای <i>Dunaliella</i>
۳۵	۸-۳ منحنی استاندارد گلیسرول
۳۶	۱-۳ اندازه گیری گلیسرول جلبک دونالیا سالینا
۳۸	۱۰-۳ طرح آزمایش

□ فصل چهارم

نتایج

۴۱	۱-۴ منحنی استاندارد گلیسرول
۴۲	۲-۴ مشاهدات میکروسکوپی
۴۶	۳-۴ منحنی رشد سلولهای دونالیا

فهرست مطالب

- ۴-۴ تولید گلیسرول خارج سلولی در روز هفتم رشد ۴۶
- ۵-۴ تولید گلیسرول خارج سلولی در روز شانزدهم رشد ۵۱
- ۶-۴ تولید گلیسرول خارج سلولی در روز بیست و پنجم ۵۵
- ۷-۴ تولید گلیسرول داخل سلولی در روز هفتم ۵۷
- ۸-۴ تولید گلیسرول داخل سلولی در روز شانزدهم ۶۰
- ۹-۴ تولید گلیسرول داخل سلولی در روز بیست و پنجم رشد ۶۲
- ۱۰-۴ تولید گلیسرول داخل سلولی به ازای هر سلول دونالیا ۶۴
- ۱۱-۴ کل گلیسرول تولیدی در روز هفتم رشد ۶۸
- ۱۲-۴ کل گلیسرول تولیدی در روز شانزدهم رشد ۷۰
- ۱۳-۴ کل گلیسرول تولید شده در روز بیست و پنجم ۷۳

□ فصل پنجم

- ۷۵ بحث و نتیجه گیری و پیشنهادات

عنوان	صفحه
جدول (۱-۳) غلظت‌های گلیسرول تهیه شده برای رسم منحنی استاندارد گلیسرول	۳۵
جدول (۱-۴) مقدار گلیسرول خارج سلولی در روز هفتم برای دونالیلا سالی‌نای A و B در شوریه‌های مختلف (مقدار گلیسرول بر حسب میکروگرم در میلی لیتر می باشد).	۴۶
جدول (۲-۴) تجزیه واریانس طرح کاملاً تصادفی مربوط به تاثیر غلظت NaCl روی مقدار گلیسرول تولیدی خارج سلولی در روز هفتم برای دونالیلا سالی‌نای A	۴۹
جدول (۳-۴) تجزیه واریانس طرح کاملاً تصادفی مربوط به تاثیر غلظت NaCl روی مقدار گلیسرول تولیدی خارج سلولی در روز هفتم برای دونالیلا سالی‌نای B	۴۹
جدول (۴-۴) نتایج مقایسه میانگین گلیسرول خارج سلولی ۷ تیمار با آزمون دانکن در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ برای دونالیلا سالی‌نای A در روز هفتم	۵۰
جدول (۵-۴) نتایج مقایسه میانگین گلیسرول خارج سلولی ۷ تیمار با آزمون دانکن در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ در دونالیلا سالی‌نای B در روز هفتم	۵۱
جدول (۶-۴) تجزیه واریانس طرح کاملاً تصادفی مربوط به تاثیر غلظت NaCl روی مقدار گلیسرول تولیدی خارج سلولی در روز شانزدهم رشد برای دونالیلا سالی‌نای A	۵۲
جدول (۷-۴) تجزیه واریانس طرح کاملاً تصادفی مربوط به تاثیر غلظت NaCl روی مقدار گلیسرول تولیدی خارج سلولی در روز شانزدهم رشد برای دونالیلا سالی‌نای B	۵۲
جدول (۸-۴) نتایج مقایسه میانگین گلیسرول خارج سلولی ۷ تیمار با آزمون دانکن در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ در دونالیلا سالی‌نای A در روز شانزدهم	۵۳
جدول (۹-۴) نتایج مقایسه میانگین گلیسرول خارج سلولی ۷ تیمار با آزمون دانکن در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ در دونالیلا سالی‌نای B در روز شانزدهم	۵۳
جدول (۱۰-۴) تجزیه واریانس طرح کاملاً تصادفی مربوط به تاثیر غلظت NaCl روی مقدار گلیسرول تولیدی خارج سلولی در روز بیست و پنجم رشد در دونالیلا سالی‌نای A	۵۵
جدول (۱۱-۴) تجزیه واریانس طرح کاملاً تصادفی مربوط به تاثیر غلظت NaCl روی مقدار گلیسرول تولیدی خارج سلولی در روز بیست و پنجم رشد در دونالیلا سالی‌نای B	۵۶

عنوان	صفحه
جدول (۴-۱۲) نتایج مقایسه میانگین گلیسرول خارج سلولی ۷ تیمار با آزمون دانکن در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ در دونالیا سالی‌نای A در روز بیست و پنجم.....	۵۶
جدول (۴-۱۳) نتایج مقایسه میانگین گلیسرول خارج سلولی ۷ تیمار با آزمون دانکن در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ در دونالیا سالی‌نای B در روز بیست و پنجم.....	۵۷
جدول (۴-۱۴) تجزیه واریانس طرح کاملاً تصادفی مربوط به تأثیر غلظت NaCl روی تولید گلیسرول داخل سلولی در روز هفتم در دونالیا سالی‌نای A.....	۵۸
جدول (۴-۱۵) تجزیه واریانس طرح کاملاً تصادفی مربوط به تأثیر غلظت NaCl روی تولید گلیسرول داخل سلولی در روز هفتم در دونالیا سالی‌نای B.....	۵۸
جدول (۴-۱۶) نتایج مقایسه میانگین گلیسرول داخل سلولی ۷ تیمار با آزمون دانکن در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ در دونالیا سالی‌نای A در روز هفتم.....	۵۹
جدول (۴-۱۷) نتایج مقایسه میانگین گلیسرول داخل سلولی ۷ تیمار با آزمون دانکن در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ در دونالیا سالی‌نای B در روز هفتم.....	۵۹
جدول (۴-۱۸) تجزیه واریانس طرح کاملاً تصادفی مربوط به تأثیر غلظت NaCl روی تولید گلیسرول داخل سلولی در روز شانزدهم در دونالیا سالی‌نای A.....	۶۰
جدول (۴-۱۹) تجزیه واریانس طرح کاملاً تصادفی مربوط به تأثیر غلظت NaCl روی تولید گلیسرول داخل سلولی در روز شانزدهم در دونالیا سالی‌نای B.....	۶۰
جدول (۴-۲۰) نتایج مقایسه میانگین تولید گلیسرول داخل سلولی در ۷ تیمار با آزمون دانکن در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ در دونالیا سالی‌نای A در روز شانزدهم.....	۶۱
جدول (۴-۲۱) نتایج مقایسه میانگین تولید گلیسرول داخل سلولی در ۷ تیمار با آزمون دانکن در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ در دونالیا سالی‌نای B در روز شانزدهم.....	۶۱
جدول (۴-۲۲) تجزیه واریانس طرح کاملاً تصادفی مربوط به تأثیر غلظت NaCl روی تولید گلیسرول داخل سلولی در روز بیست و پنجم در دونالیا سالی‌نای A.....	۶۲

عنوان	صفحه
جدول (۲۳-۴) تجزیه واریانس طرح کاملاً تصادفی مربوط به تأثیر غلظت NaCl روی تولید گلیسرول داخل سلولی در روز بیست و پنجم در دونالیلا سالیانی B	۶۲
جدول (۲۴-۴) نتایج مقایسه میانگین تولید گلیسرول داخل سلولی در ۷ تیمار با آزمون دانکن در سطوح احتمال ۰.۵٪ و ۰.۱٪ در دونالیلا سالیانی A در روز بیست و پنجم	۶۳
جدول (۲۵-۴) نتایج مقایسه میانگین تولید گلیسرول داخل سلولی در ۷ تیمار با آزمون دانکن در سطوح احتمال ۰.۵٪ و ۰.۱٪ در دونالیلا سالیانی B در روز بیست و پنجم	۶۴
جدول (۲۶-۴) تجزیه واریانس طرح کاملاً تصادفی مربوط به تأثیر غلظت NaCl روی تولید گلیسرول داخل سلولی به ازای هر سلول در روز شانزدهم در دونالیلا سالیانی A	۶۵
جدول (۲۷-۴) تجزیه واریانس طرح کاملاً تصادفی مربوط به تأثیر غلظت NaCl روی تولید گلیسرول داخل سلولی به ازای هر سلول در دونالیلا سالیانی B در روز شانزدهم	۶۵
جدول (۲۸-۴) نتایج مقایسه میانگین تولید گلیسرول داخل سلولی به ازای هر سلول در ۷ تیمار با آزمون دانکن در سطوح احتمال ۰.۵٪ و ۰.۱٪ در دونالیلا سالیانی A در روز شانزدهم	۶۶
جدول (۲۹-۴) نتایج مقایسه میانگین تولید گلیسرول داخل سلولی به ازای هر سلول در ۷ تیمار با آزمون دانکن در سطوح احتمال ۰.۵٪ و ۰.۱٪ در دونالیلا سالیانی B در روز شانزدهم	۶۶
جدول (۳۰-۴) تجزیه واریانس طرح کاملاً تصادفی مربوط به تأثیر غلظت NaCl روی کل تولید گلیسرول در روز هفتم در دونالیلا سالیانی A	۶۸
جدول (۳۱-۴) تجزیه واریانس طرح کاملاً تصادفی مربوط به تأثیر غلظت NaCl روی کل تولید گلیسرول در روز هفتم در دونالیلا سالیانی B	۶۸
جدول (۳۲-۴) نتایج مقایسه میانگین کل گلیسرول تولیدی در ۷ تیمار با آزمون دانکن در سطوح احتمال ۰.۵٪ و ۰.۱٪ در دونالیلا سالیانی A در روز هفتم	۶۹
جدول (۳۳-۴) نتایج مقایسه میانگین کل گلیسرول تولیدی در ۷ تیمار با آزمون دانکن در سطوح احتمال ۰.۵٪ و ۰.۱٪ در دونالیلا سالیانی B در روز هفتم	۶۹