Archive of SID

شکوفایی جلبکی در شمال غرب دریاچه ارومیه (ایستگاه باری)

رامین مناف‌فر[۱*] و سمیه قربانی[۲و۱]

[۱] ارومیه، دانشگاه ارومیه، پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه

[۲] ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۲/۲ تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۴

چکیده

دریاچه ارومیه یکی از دریاچه‌های بسیار شور دنیا می‌باشد که در سالهای اخیر دچار بحران خشکسالی شده است. افزایش شوری آب تا حد اشباع، کاهش شدید تراکم جلبکهای تک سلولی و پر سلولی و همچنین آرتمیا از جمله اثرات این بحران می‌باشد. علی‌رغم شرایط بحرانی حاکم بر دریاچه ارومیه، در تابستان سال ۱۳۹۱ شکوفایی شدید جلبکی در شمال غرب دریاچه ارومیه (ایستگاه باری) مشاهده گردید. بررسی فاکتورهای شیمیایی آب آن ناحیه و مطالعه گونه جلبک به روش مورفولوژیکی و مولکولی با نمونه‌برداری آب دریاچه در ناحیه شکوفا شده انجام شد. بررسی مولکولی گونه جلبک با استفاده از نمونه جدا شده از دریاچه با مطالعه ژن 18srDNA و توالی یابی ناحیه ITS صورت گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که جلبک غالب در این ناحیه متعلق به گونه *Dunaliella tertiolecta* می‌باشد که به صورت غالب و با تراکم $۱/۲\times۱۰^{۶}$ در هر میلی لیتر از آب دریاچه در شوری فراتر از حد اپتیمم یافت می‌شود. بالا بودن برخی عناصر معدنی از جمله فسفات، آمونیاک و نیترات در ناحیه تحت مطالعه به همراه استرس شوری به عنوان علل احتمالی شکوفایی جلبکی در این اکوسیستم آبی پیشنهاد گردید.

واژه‌های کلیدی: باری، جلبک تک سلولی، دریاچه ارومیه، *Dunaliella*

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۴۴۳۳۴۴۰۲۹۵، پست الکترونیکی: Raminmanaffar@gmail.com

مقدمه

دریاچه ارومیه یکی از بزرگترین دریاچه های آب شور دنیا، در شمال غرب ایران در مختصات جغرافیایی ۳۷ درجه تا ۳۸/۵ درجه عرض شمالی و ۴۵ تا ۴۶ درجه طول شرقی واقع شده است (۳). شوری آب دریاچه که پیش از این معمولاً کمتر از ۱۵۰ گرم در لیتر بود پس از سالهای ۱۳۸۰ تاکنون به صورت چشم‌گیری افزایش یافته و به بالاتر از ۳۰۰ گرم در لیتر رسیده است (۱۸و۲۲). در چنین شرایطی تراکم آرتمیای دریاچه، به عنوان تنها زئوپلانکتون دریاچه، به شدت کاهش یافته است (۱۸). این کاهش جمعیت آرتمیا به علت شوری بالا و کاهش ذخایر جلبکهای تک سلولی می‌باشد (۲۲). مطالعات مختلف نشان داده است که اغلب جلبکهای تک سلولی آب شور خصوصاً جنس *Dunaliella* نیازمند شوریهای پایین تری برای رشد و بقاء خود هستند (۹). این درحالی است که اخیراً به دلیل افزایش شوری آب دریاچه ارومیه به بالاتر از ۳۰۰ گرم در لیتر، کاهش چشمگیری در تراکم جلبکهای تک سلولی در قسمتهای مختلف دریاچه مشاهده شده است (۲۲).

جلبک سبز *Dunaliella*، یکی از جنسهای تک سلولی مهم متعلق به خانواده Dunaliellaceae، راسته Dunaliellales، رده Chlorophyceae از شاخه Chlorophyta می‌باشد (۱۲). جلبک *Dunaliella*، جلبک یوکاریوت تاژکدار بدون دیواره سلولی است که در تنشهای محیطی مختلف از جمله محدودیت غذایی، شدت نور بالا و غلظتهای بالای

www.SID.ir

Archive of SID

نمک زندگی کرده و مقادیر بالایی از انواع کارتنوئیدها به خصوص بتاکاروتن تولید می‌کند (۷،۱۰،۱۲،۱۳و۲۰). در حقیقت بتاکاروتن همانند یک ماده آنتی استرس عمل نموده و از تولید اکسیژن آزاد و رادیکالهای پروکسی آن ممانعت می‌کند (۲۰). امروزه بتاکاروتن استخراج شده از جلبک *Dunaliella* به عنوان رنگیزه زرد در صنایع غذایی استفاده شده و به علت داشتن خاصیت ضد سرطانی و آنتی اکسیدانی و همچنین به عنوان پیش‌ساز ویتامین A در صنایع دارویی کاربرد فراوانی دارد (۱۵،۱۷و۲۴). این خصوصیت ویژه جلبک *Dunaliella* در تولید و ذخیره بتاکاروتن، به توسعه کشت این جلبک به عنوان منبع طبیعی بتاکاروتن در بیشتر کشورهای جهان منجر شده است (۲۵).

D. tertiolecta یکی از گونه های مهم جنس دونالیلا، به خاطر اهمیت اکولوژیکی و اقتصادی به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است. این گونه جلبکی قابلیت استفاده از مواد مغذی موجود در پسابها را داشته و قادر به تولید بیومس از دی اکسید کربن تحت انرژی خورشید می‌باشد (۹). *D. tertiolecta* به عنوان یکی از تولیدات اولیه دریایی و محیطهای شور اهمیت داشته و در غلظتهای مختلف نمک رشد می‌کند. *D. tertiolecta* در صنعت به عنوان منبع تولید گلیسرول و بتاکاروتن استفاده شده و به عنوان منبع تک سلولی پروتئین و مواد معدنی در تغذیه انواع ماهیهای دریایی و نرم تنان دوکفه ای استفاده می شود. همچنین از این گونه جلبکی برای حذف فلزات سنگین از محیط استفاده می‌شود (۲۷). این گونه جلبکی به راحتی کشت می‌شود و تحت شرایط نرمال کشت، سلول‌ها به صورت تقسیم ساده دوتایی تکثیر می‌شوند.

تحقیقات پیش ازبحران خشکسالی در دریاچه ارومیه نشان داده است که جنسهای مختلفی از رده های Chlorophyceae، Bacillariophyceae و Cyanophyceae در این دریاچه وجود دارد. البته در بین فیتوپلانکتونها، جنس *Dunaliella* به طور غالب دیده شده است (۴، ۵ و ۲۸). اما همان طور که پیشتر نیز اشاره شد تراکم و تنوع اغلب جلبکهای تک سلولی موجود در دریاچه ارومیه در سالهای اخیر و پس از شروع بحران شوری به شدت تحت تأثیر قرار گرفته است (مطالعه در حال اجرا).

بلوم جلبکی یا کشند قرمز (red tide) پدیده افزایش تراکم جلبکها در یک ناحیه آبی می‌باشد که عمدتاً بر اثر ورود فاضلابهای خانگی و کشاورزی و افزایش ناگهانی دمای آب صورت می‌گیرد. این بلوم جلبکی معمولاً با کاهش اکسیژن آب موجب مرگ موجودات دریایی شده و یا با تولید سموم تجمعی باعث مسمومیت جانوران و یا حتی انسانها می‌شود. در سالهای اخیر به کرات بلوم جلبکهای تک سلولی در نواحی مختلف خلیج فارس، چابهار و دریای خزر و حتی دریاچه ارومیه گزارش شده هست. با توجه به مشاهده توده عظیمی از جلبک تک سلولی دونالیلا در بخش کوچکی از دریاچه ارومیه، شناسایی این جمعیت به روش مولکولی در دستور کار این تحقیق قرار گرفت. در این بین سعی شد دلایل احتمالی بروز این شکوفایی جلبکی غیر معمول مورد بررسی و بحث قرار گیرد.

مواد و روشها

نمونه برداری: نمونه برداری از آب دریاچه ارومیه در فصل تابستان سال ۱۳۹۱ از نقطه ساحلی ایستگاه باری (37º/59'/95"N-45º/45'/45"E) در شمال غرب دریاچه ارومیه به عمل آمد (شکل۱). بدین منظور حدود ۱/۵ لیتر از آب ایستگاه مورد نظر که دارای تراکم بالایی از نوعی جلبک تک سلولی بود توسط ظروف پلی اتیلنی برداشت شد. میزان شوری آب توسط دستگاه شوری سنج (Refractometer model ATAGO) در محل نمونه‌برداری تعیین شد. نمونه آب بلافاصله به آزمایشگاه جلبک شناسی پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه انتقال داده شد. بررسی کیفیت آب با نمونه برداری از محیط زیست این جلبک انجام گرفت. بدین منظور یونهای فسفات، آمونیوم، نیتریت و نیترات آب منطقه نمونه برداری

www.SID.ir

Archive of SID

با استفاده از روش کروماتوگرافی یونی اندازه‌گیری شد. در این تکنیک ابتدا آب نمونه برداری شده بالافاصله با آب دیونیزه رقیق‌سازی شده و سپس با فیلتر ۰/۴۵ میکرون فیلتر شد. اندازه‌گیری آنیونها و کاتونها به ترتیب با روشهای استاندارد (Environmental Protection Agency, USA) EPA 300.0 و EPA 300.7 با استفاده از شناسگر Conductivity متعلق به دستگاه یون کروماتوگراف Knauer آلمان انجام پذیرفت.

شکل ۱- عکس هوایی دریاچه ارومیه. A: ایستگاه نمونه برداری- تفرجگاه باری.

کشت و ایزوله سازی: با بررسی نمونه آب این ایستگاه در زیر میکروسکوپ نوری، تراکم بسیار بالایی از این گونه جلبکی به صورت کاملاً غالب مشاهده شد. به همین علت نمونه جلبکی مورد استخراج DNA قرار گرفت. مقداری از نمونه آب نمونه‌برداری شده نیز، پس از جدا کردن اجرام خارجی توسط فیلتر ۱۰۰ میکرونی معمولی، در شوری ۱۰۰ گرم در لیتر در ارلنهای ۲۵۰ میلی لیتری توسط محیط کشت مخصوص جلبک *Dunaliella* با نام محیط کشت Jhansone (۱۰)، تحت جریان ملایم هوادهی (به وسیله پمپ مرکزی هواده) و نور ممتد فلورسنت با شدت نور ۱۰۰ $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$ کشت داده شد (۱۷و۱۹).

برای شناسایی جنس جلبک مشاهده شده از ویژگیهای مورفولوژیکی شامل اندازه سلول، شکل سلول و شکل کلروپلاست استفاده شد (شکل ۲) (۱۱). با توجه به شباهتهای مورفولوژیکی گونه‌های مختلف جنس دونالیلا و تغییر مورفولوژی و رفتار فیزیولوژیکی این گونه‌ها تحت شرایط مختلف محیطی (۲۱و۲۹)، برای شناسایی دقیق گونه جداسازی شده از روشهای مولکولی استفاده شد.

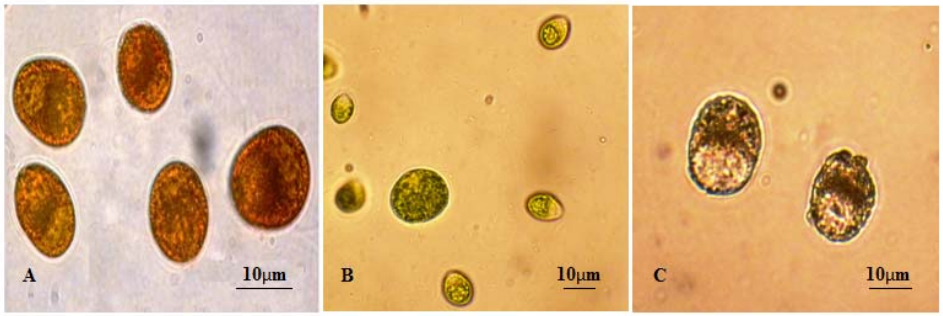
بررسی مولکولی:) استخراج DNA و PCR: استخراج **D**NA نمونه مورد نظر با استفاده از روش CTAB (cetyl trimethyl ammonium bromide) انجام شد (۸ و۲۶). شناسایی مولکولی این گونه دونالیلا با استفاده از ژن 18srDNAو توالی ITS صورت گرفت (۱۴،۱۷و۲۱).

شرایط PCR برای ژن 18srDNA: جهت تکثیر ناحیه 18srDNA، ازجفت آغازگر با نامهای MA1 و MA2 به ترتیب با توالی 5’-cgg-gat-ccg-tag-tca-tat-gct-tgt ctc-3’ و 5’-cgg-aat-tcc-ttc-tgc-agg-ttc-acc-3’ استفاده شد (۲۱). این آغازگرها پیش از این نیز با موفقیت برای شناسایی گونه های مختلف جنس دونالیلا به کار رفته بود.

www.SID.ir

Archive of SID

بر اساس پروتکل برنامه PCR استفاده شده شامل دمای تفکیک کننده اولیه ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه، ۳۳ چرخه شامل دمای واسرشت کننده ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۲ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه، دمای گسترش ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۸۰ ثانیه و در نهایت دمای گسترش نهایی ۷۲°C به مدت ۴ دقیقه بود. محصول PCR بر روی ژل الکتروفورز ۱/۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت (۲۱).



شکل۲- تصاویر تهیه شده توسط میکروسکوپ نوری. A: نمونه مشاهده شده در ایستگاه نمونه برداری، B: نمونه بعد از پرورش در محیط کشت مخصوص، (C) نمونه مشاهده شده در قسمتهای دیگر دریاچه به غیر از ایستگاه مورد مطالعه.

شرایط PCR توالی ITS : جهت تکثیر ناحیه ITS، از جفت آغازگر به نامهای AB1 و AB2 به ترتیب با توالی 5’-aat-cta-tca-ata-acc-aca-ccg-3’ و 5’-ttt-cat-tcg-cca-tta-cta-agg-3’ در یک دستگاه ترموسایکلر (BioRad, USA) استفاده شد. بر اساس پروتکل برنامه PCR استفاده شده شامل دمای تفکیک کننده اولیه ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، ۵۷ درجه سانتی گراد به مدت ۵۰ ثانیه، دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه و در نهایت دمای گسترش نهایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود. در این واکنش از ۱ میکرولیتر بافر PCR، ۰/۸ میکرولیتر dNTP، ۱/۴ میکرولیتر $MgCl_2$، ۰/۲ میکرولیتر از هر آغازگر و ۰/۲ میکرولیتر از آنزیم پلی مراز (متعلق به شرکت سیناکلون-ایران) استفاده شد. محصول PCR بر روی ژل الکتروفورز ۱/۵ (BioRad, USA) درصد مورد بررسی قرار گرفت (۱۳). در مرحله نهایی جهت تعیین توالی و بررسی دقیق تر بخشی از محصول PCR تولید شده از ناحیه ITS جهت تعیین توالی به شرکت سیناکلون-ایران ارسال شد.

نتایج

شاخصهای فیزیکوشیمیایی ایستگاه نمونه برداری: نتایج بررسی برخی از شاخصهای فیزیکوشیمیایی آب محل نمونه برداری نشان داد مقادیر بالایی از یونهای فسفات، آمونیاک، نیتریت و نیترات در آب محل نمونه‌برداری بود. در آنالیز این نمونه آب با اسیدیته ۷/۸ که از عمق ۱۰ سانتیمتری دریاچه با دمای ۲۴ درجه سانتی گراد تهیه شده بود میزان شوری آب ۳۴۰ گرم در لیتر، میزان آمونیاک ۹۰ ppm، نیتریت ۶ ppm، نیترات ۶۸ ppmو فسفات ۷۶۰ ppm ثبت شد.

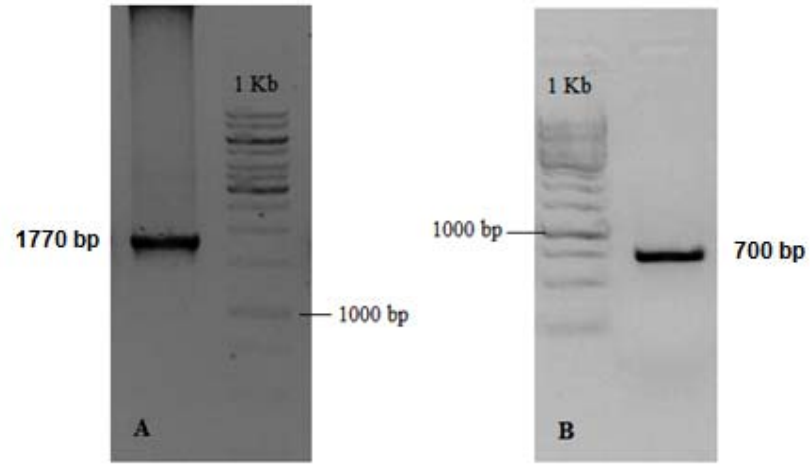
بررسیهای اولیه و دقیق با استفاده از میکروسکوپ نوری، از این نمونه آب که به شدت در اثر بلوم جلبکی نارنجی شده بود، نشان داد که گونه مشاهده شده در این ایستگاه تنها گونه موجود در این رگه ساحلی بود که به صورت کاملاً خالص و غنی از بتاکاروتن حضور داشت. شکل سلول در آب دریاچه با شوری ۳۴۰ گرم در لیتر کروی و سرشار از بتاکاروتن بوده به همین علت به رنگ نارنجی مشاهده شد (شکل۱-A) و تراکم بالای آن در آب منطقه نمونه برداری

www.SID.ir

Archive of SID

(۱/۲×۱۰۶ سلول در هر میلی لیتر) باعث بروز رنگ نارنجی شده بود، در حالی که پس از پرورش در محیط کشت مخصوص با شوری پایین، ۱۰۰ گرم در لیتر، به شکل بیضی و به رنگ سبز مشاهده شد (شکل۲-B). سلولها در حالت نرمال با یک کلروپلاست فنجانی شکل، یک استیگما در قسمت راسی سلول و دو تاژک مساوی قابل تشخیص بودند. بررسی دقیق‌تر برای شناسایی این گونه به روش مولکولی انجام گرفت (۵).

الکتروفورز محصول PCR: تکثیر ناحیه 18srDNA با استفاده از جفت آغازگرهایMA1 و MA2 موجب تولید قطعه ای با وزن تقریبی ۱۷۷۰ جفت نوکلئوتید شد. نتایج PCR ناحیه ITS با استفاده از جفت آغازگرهای AB1 و AB2 باندی با وزن مولکولی ۷۰۰ جفت نوکلئوتید تولید کرد (شکل ۳).



شکل ۳– ژل الکتروفورز محصول PCR در آگارز ۱/۵ درصد. A: با استفاده از جفت آغازگر های MA1 و MA2، B: با استفاده از جفت آغازگر های AB1 و AB2. مارکر مورد استفاده از نوع 1kb می‌باشد.

نتایج تعیین توالی: محصول PCR ناحیه ITS جهت تعیین توالی مورد استفاده قرار گرفت. توالی نوکلئوتیدی ناحیه فوق در شکل ۴ ارائه شده است. به منظور مرتب نمودن توالی از نرم افزار Multiple sequence alignment و جهت بررسی صحت و میزان مطابقت توالی یافت شده با منابع موجود در سایت بانک ژنی (NCBI) از نرم افزار Blast موجود در سایت NCBI استفاده شد.

بحث

جلبکهای تک سلولی جمعیت غالب اکوسیستمهای آبی بوده و با توجه به تنوع گونه و جنسهای موجود کاربردهای فراوانی نیز برای این جلبکها تعریف شده است (۲و۶). تحقیقات انجام یافته بر روی گونه‌های مختلف جنس دونالیلا نشان داده است که تعدادی از گونه های این جنس قادرند در شوریهای بالا به خوبی رشد کرده و مقادیر بالای بتاکاروتن را تولید و در کلروپلاست خود ذخیره کنند (۲۲). لازم به ذکر است با توجه به اهمیت این جنس مطالعات زیادی برای تعیین اپتیمم شوری برای پرورش این جنس انجام یافته است. این مطالعات نشان داده است که گونه *D. tertiolecta* می‌تواند غلظتهای بین ۰/۰۵ تا ۳ مولار نمک را تحمل کند (۱۶). مطالعات بسیاری در ایران در رابطه با بررسی و شناسایی گونه های هالوفیل جنس دونالیلا صورت گرفته است که نشان می دهد گونه های مختلف جنس دونالیلا در ایران از جمله در باتلاق شور گاوخونی (۱۵)، دریاچه مهارلوی شیراز (۲۰) و دریاچه ارومیه (۱۲و۲۲) حضور دارند. دریاچه ارومیه به عنوان یک

www.SID.ir

Archive of SID

دریاچه الیگوتروف دارای تنوع و تراکم کمتری از جلبکهای تک سلولی می باشد که در سالهای اخیر افزایش دما، کاهش بارندگی و در پی آن افزایش شوری آب دریاچه، نقش محدود کننده ای در ادامه حیات این جلبکها بازی کرده است (۱۹).

```
  1  ttggtgcttc ccgggtggca ttaagttgct gcttgggttg ggtccggctg tccattcact
 61  tgggcagtcg ggctggtctt tactaaccaa caacaccaaa tcaaacctaa agccaaagat
121  atgtgctcgg cctagccgtc acatcccaac tgagacaact ctcaacaacg gatatcttgg
181  ctctcgcaac gatgaagaac gcagcgaaat gcgatacgta gtgtgaattg cagaattccg
241  tgaatcatca aatctttgaa cgcaaattgc gcccaatgct tcggctgagg gcatgtttgc
301  ctcagcgtcg ggttaatctc acttcctctc tcccacagtg ttgcgtggag agcaactggc
361  aagtggacct ggctgttcca gagctccagg gtgcttgaat gcgctcgtca agggcgctgg
421  atcagctgaa gaacagaggc tagctcaagg acccgtgaag ggccgcaact gggtaggcag
481  ctcacgcttg ctatttctag ttgttggctt gggaccatgg gctcggccct caaacaggaa
541  ccttcaatat tatttctcga cctgagctca agcaagacca cccgctgaac ttaagcatat
601  caataagcgg aggaaaagaa actaacaagg attcccttag taatg
```

شکل ۴– توالی ناحیه ITS در گونه *D. tertiolecta* جداسازی شده از دریاچه ارومیه.

مطالعات اخیر نشان داده است که تنوع و کمیت جلبکها به شدت در نواحی مختلف دریاچه ارومیه کاهش یافته است (مطالعات چاپ نشده). پیش از شروع خشکسالیهای فوق و طی مطالعاتی که در سالهای ۱۳۷۳، ۱۳۷۵ و ۱۹۹۷ بر روی دریاچه ارومیه صورت گرفت ۶ جنس از ۳ رده Chlorophyceae، Bacillariophyceae و Cyanophyceae مورد شناسایی قرار گرفت. نتایج نشان داد که رده Bacillariophyceae با ۴ جنس بیشترین تنوع و جنس *Dunaliella* از رده Chlorophyceae، بیشترین تراکم را در بین جنسهای شناسایی شده داشتند به طوری که جلبک سبز *Dunaliella* جلبک تک سلولی غالب در دریاچه ارومیه بوده و غلظت آن ۱۰ برابر جنسهای دیگر بود (۴،۵و۲۸).

شناسایی مولکولی گونه جداسازی شده در این تحقیق با استفاده از ژنrDNA 18 و همچنین توالی ITS صورت گرفت. تکثیر ناحیه rDNA 18 توسط جفت آغازگر MA1 و MA2 صورت می‌گیرد. این الیگونوکلئوتیدها از توالی حفاظت شده انتهایی ژن rDNA 18 طراحی شده و اجازه تکثیر تمام طول این ژن را در گونه های مختلف دونالیلا فراهم می کند (۱۷و۲۱). جفت آغازگر AB1 و AB2 بر اساس توالی ITS طراحی شده و اجازه تکثیر این ناحیه شامل ITS1 ، rDNA 5.8 و ITS2 در گونه های *Dunaliella* را فراهم می کند (۱۴). تکثیر ناحیه 18 rDNA نمونه ایزوله شده با استفاده از جفت آغازگر MA1 و MA2 موجب تولید قطعه ای با وزن مولکولی حدود ۱۷۷۰ جفت نوکلئوتید شد. همچنین استفاده از جفت آغازگر AB1 و AB2 برای تکثیر ناحیه ITS در نمونه مورد نظر موجب ایجاد قطعه ای با وزن مولکولی حدود ۷۰۰ جفت نوکلئوتید شد. نتایج تحقیقات پیش از این نشان داده بود که تکثیر ناحیه rDNA 18 و توالی ITS گونه *D. tertiolecta* با استفاده از جفت آغازگر MA1 و MA2 و همچنین AB1 و AB2 باندهایی به ترتیب با وزن مولکولی ۱۷۷۰ و ۷۰۰ جفت نوکلئوتید تولید می‌کند (۵،۱۴،۱۷،۲۱و۲۳). البته لازم به ذکر است که محصول PCR ناحیه ITS تکثیر یافته با جفت آغازگرهای ارائه شده در این تحقیق در تمامی گونه‌های جلبک دونالیلا وزنی بالغ بر حدود ۷۰۰ جفت نوکلئوتید را دارا می‌باشند. لذا در تحقیق حاضر تعیین توالی ناحیه فوق جهت تأیید گونه جلبک *D. tertiolecta* انجام پذیرفت. بررسی همپوشانی توالی نوکلئوتیدی این ناحیه با نمونه های موجود در بانک

www.SID.ir

Archive of SID

ژنی نشان داد که با ۱۰۰ درصد همپوشانی و بیش از ۹۲ درصد تشابه توالی به دست آمده در این تحقیق شباهت زیادی با هر دو گونه *D. salina* و *D. tertiolecta* دارد (به ترتیب با کد های دسترسی EF473744.1 و EF473748.1 بانک ژنی NCBI). در راستای توجیه دلیل این درجه از شباهت ژنتیکی بایستی اشاره نمود که نتایج حاصل از بررسی محصول PCR گونه جلبک بلوم یافته در دریاچه را به صورت کاملاً مشخصی *D. tertiolecta* شناسایی نمود درحالی که پیش از این هیچ گونه گزارشی مبنی بر توانایی این جلبک در رشد و شکوفایی در شوریهای بالای ۳۰۰ گرم در لیتر ارائه نشده بود. در تأیید نتایج بررسیهای مولکولی این تحقیق به نظر می‌رسد که تأثیر طولانی مدت شوری بالا در دریاچه و احتمالاً فعال شدن برخی فاکتورهای ژنتیکی انتخاب جمعیتی یا دریفت ژنتیکی توانسته است موجب تغییر ژنتیکی این گونه جلبکی و یا انتخاب سویه های متفاوت را نموده و موجب شکوفایی این گونه به صورت غالب و با تراکم بالا در دریاچه شود. وجود مقادیر بالایی از یونهای مغذی نیز احتمالاً به عنوان یک فاکتور رشد جلبکی عمل کرده و سبب شکوفایی جلبکی در منطقه نمونه برداری شده است. وجود مقادیر بالایی از فسفات در نمونه آنالیز شده می‌تواند تأییدی بر این گفته باشد. فسفر یک عنصر ضروری برای رشد جلبکهاست با وجود این جلبکها به میزان زیادی فسفر نیاز ندارند و اهمیت فسفر در انتقال انرژی جلبکها مثل سایر ارگانیسم هاست. فسفاتها اولین منبع فسفر برای جلبکها هستند. از آنجایی که فسفاتها در محیط طبیعی محدود هستند، بنابراین میزان فسفر موجود در محیط (خصوصاً در دریاچه‌های فقیر از مواد غذایی یا الیگوتروفیک) می تواند عامل تحریک کننده رشد جلبکها باشد. نیتروژن نیز در طبیعت به عنوان یکی از پارامترهای مؤثر در شکوفایی جلبکی تشخیص داده شد. تحقیقات نشان داده است که *D. tertiolecta* نیتروژن را به صورت نیترات و آمونیاک جذب می کند. البته جذب فسفات توسط *D. tertiolecta* بیشتر از نیترات و آمونیاک صورت گرفته و این عنصر تأثیر گذارتر از نیتروژن قلمداد می‌شود (۹).

بررسی انجام یافته توسط اسمعیلی و همکاران (۱۳۸۶) در خصوص مقادیر فسفات، نیترات و نیتریت دریاچه ارومیه در طول سال ۱۳۸۶ نشان داده هست این مقادیر (فسفات برابر ۰/۲۲ ± ۰/۵۲، نیتریت ۰/۰۲ ± ۰/۰۶ و نیترات ۰/۸ ± ۸ میلی گرم در لیتر) نزدیک به ۶ برابر نسبت به سال ۱۳۷۲، که از جمله سالهای پر آبی دریاچه ارومیه می-باشد، کاهش یافته است (۱). در تحقیق حاضر با توجه به اینکه ایستگاه باری یکی از تفرجگاههای مهم دریاچه ارومیه می‌باشد و دقیقاً در مقابل شهرستان قوشچی و تصفیه خانه فاضلاب این ناحیه قرار دارد لذا احتمال آلودگی آب ناحیه تحت مطالعه با پسابهای شهری-کشاورزی و آلودگی آب این ناحیه با ضایعات آمونیاکی در فسفاتی محتمل به نظر می‌رسد.

تقدیر و تشکر

این پروژه با حمایت مالی و تجهیزاتی پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه-دانشگاه ارومیه به انجام رسید. بدین وسیله از کلیه کارکنان و کارشناسان این پژوهشکده که یاری گر اجرای این پروژه بودند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

۱. اسمعیلی، ل.، اسدپور، ی.، اسماعیلی، ا.، علیزاده، ژ. و گنجی، س. (۱۳۸۶) بررسی تغییرات اکسیژن، نیترات، نیتریت و فسفات آب دریاچه ارومیه در زمان خشکسالی. اولین کنفرانس ملی خشکسالی و تغییر اقلیم ، کرج.

۲. سعادت، ه.، ریاحی، ح. و فخاری، ج. (۱۳۸۹) استفاده از جلبکهای سبز- آبی جدا شده از یک شالیزار در استان گیلان به عنوان کود زیستی در گیاه برنج (Oryza sativa). مجله زیست شناسی ایران. جلد ۲۳، شماره ۶. صفحه ۸۲۴-۸۱۶.

www.SID.ir

Archive of SID

۳. رسولی، ع.ا.، عباسیان، ش. و جهانبخش، س. (۱۳۸۷) پایش نوسانهای سطح آب دریاچه ارومیه با پردازش تصاویر ماهواره‌ای چند سنجیده‌ای و چند زمانه ای. فصلنامه مدرس علوم انسانی. شماره ۲: ۵۳-۷۱.

۴. ریاحی، ح.، سلطانی، ن. و شکوری، ش. (۱۳۷۳) مطالعه فلور جلبکی دریاچه ارومیه. مجله پژوهش و سازندگی ۲۳:۲۵-۲۵.

۵. قربانی، س.، منا ف فر، ر.، طاعی، ا. و ملک زاده، ر. (۱۳۹۲) بررسی تنوع مولکولی گونه های جلبک *Dunaliella* در تعدادی از ایستگاه های دریاچه ارومیه. مجله زیست شناسی گیاهی ایران، سال ۵، شماره ۱۷. صفحه ۸۹-۹۸.

۶. محبی، ف.، محسن پور آذری، ع. و عاصم، ع. (۱۳۹۱) بررسی جمعیت فیتوپلانکتونی و شاخصهای جمعیتی در دریاچه سد ارس. مجله زیست شناسی ایران. جلد ۲۵، شماره ۲. صفحه ۳۲۸-۳۱۶.

7. Abusara, N. F., Emeish, S. and Jaber S. A. K. (2011) The effect of certain environmental factors on growth and β-carotene production by *Dunaliella* sp. isolated from the Dead Sea. Jordan Journal of Biological Sciences 4(1):29-36.

8. Ausubel, F., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, J. G., Smith, J. A. and Struhl, K. (1995) Short Protocols in Molecular Biology. A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology. 3nd Ed, Wiley and Sons.

9. Belle, A. J. (2007). Laboratory evaluation of *Dunaliella tertiolecta* as a candidate algal species tertiary wastewater treatment of nitrogen and phosphorus-laden effluents impacting marine environments, M.S. Thesis, Louisiana State University, Louisiana. p.77.

10. Ben-Amotz, A. and Shaish, A. (1992) β-carotene biosynthesis. In: *Dunaliella*: Physiology, biochemistry and biotechnology. Eds. Avron & Ben-Amotz. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 205-216.

11. Borowitzka, M. A. and Siva, C. J. (2007) The taxonomy of the genus *Dunaliella* (Chlorophyta, Dunaliellales) with emphasis on the marine and halophilic species. Journal of Applied Phycology 19:567-590.

12. Fazeli, M. R., Tofighi, H., Samadi, N. and Jamalifar, H. (2006) Effects of salinity on β-carotene production by *Dunaliella tertiolecta* DCCBC26 isolated from the Urmia salt lake, north of Iran. Bioresource Technology 97:2453-2456.

13. Garcia, F., Freile-Pelegrin, Y. and Robledo, D. (2007) Physiological characterization of *Dunaliella* sp. (Chlorophyta,Volvocales) from Yucatan, Mexico. Bioresource Technology 98:1359-1365.

14. Hejazi, M. A., Barzegari, A., Hosseinzadeh G. N. and Hejazi, M. S. (2010) Introduction of a novel 18S rDNA gene arrangement along with distinct ITS region in the saline water microalga *Dunaliella*. Saline Systems, 6:4-14.

15. Hosseini, T. A. and Shariati, M. (2006) Pilot culture of three strains of *Dunaliella salina* for β-carotene production in open ponds in the central region of Iran. World Journal of Microbiology and Biotechnology 22:1003-1006.

16. Jahnke, L. and White, A. (2003) Long-term hyposaline and hypersaline stresses produce distinct antioxidant responses in the marine alga *Dunaliella tertiolecta*. Journal of Plant Physiology, 160:1193-1202.

17. Jayappriyan, K. R., Rajkumar, R., Sheeja, L., Nagaraj, S., Divya, S., Divya, S. and Rengasamy, R. (2010) Discrimination between the morphological and molecular identification in the genus *Dunaliella*. International Journal of Current Research 8: 73-78.

18. Manaffar, R. (2012) Genetic diversity of *Artemia* populations in Lake Urmia, Iran. PhD thesis, Ghent University, Belgium. P.160.

19. Mishra, A., Mondoli, A. and Jha, B. (2008) Physiological characterization and stress-induced metabolic responses of *Dunaliella salina* isolated from salt pan. Journal Industrial Microbiology and Biotechnology, 35:1093-1101.

20. Nikookar, K., Moradshahi, H. and Kharati, M. (2004) Influence of salinity on the growth pigmentation and ascorbate peroxidase activity of *Dunaliella salina* isolated from Maharlu salt Lake in Shiraz. Iranian Journal of Science and Technology, 28:117-125.

21. Olmos, J., Paniagua, J. and Contreas, R. (2000) Molecular identification of *Dunaliella* sp. utilizing the 18S rDNA gene. Letters in Applied Microbiology, 30:80-4.

22. Rad, F. A., Aksoz, N. and Hejazi, M. A. (2011) Effect of salinity on cell growth and β-carotene production in *Dunaliella* sp. isolates from Urmia Lake in northwest of Iran. African Journal of Biotechnology, Vol. 10(012), pp.2282-2289.

www.SID.ir

Archive of SID

23. Raja, R., Hemaiswarya, S., Balasubramanyam, D. and Rengasamy, R. (2007) PCR-identification of *Dunaliella salina* (Volvocales, Chlorophyta) and its growth characteristics. Microbiological Research, 162(2):168-76.

24. Raja, R., Hemaiswarya, S. and Rengasamy, R. (2007) Exploitation of *Dunaliella* for β-carotene production. Applied Microbiology Biotechnology, 74: 517-523.

25. Ramos, A., A., Polle, J., Tran, D., Cushman, J., C., Jin, E. and Varela, J. C. (2011) The unicellular green alga *Dunaliella salina* Teod. As a model for abiotic stress tolerance: genetic advances and future perspectives. Algae, 26:3-20.

26. Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory. Press, Plainview, NY. 2nd Ed.

27. Song, B. and Ward, B. (2004) Molecular characterization of the assimilatory nitrate reductase gene and ITS expression in the marine green alga *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae). Journal of Phycology, 40:721-731.

28. Sorgeloos, P. (1997) Lake Urmia Cooperation Project, Contract Item A, Report on the Determination and Identification of Biological Characteristics of *Artemia urmiana* for Application in Aquaculture. Laboratory of Aquaculture and *Artemia* Reference Center, Gent University, Belgium, p.6-16.

29. Tempesta, S., Paoletti, M. and Pasqualetti, M. (2010) Morphological and molecular identification of a strain of the unicellular green alga *Dunaliella* sp. Isolated from Tarquinia Salterns. Transitional Waters Bulletin, 4:60-70.

Algal Bloom in Northwest Urmia Lake (Bari Station)

Manaffar R.[1] and Ghorbani S.[1,2]

[1]Urmia Lake Research Institute, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran

[2] Biology Dept., Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran

Abstract

Urmia Lake is one of the hypersaline Lake on world which has been faced with drought crisis recently. Increasing salinity up to saturation, the sharp reduction in the density of unicellular and multi-cellular algae as well as *Artemia* are effects of the crisis. Despite this critical situation on the lake, in summer of 2012 a very strong algal bloom was seen at northwest Urmia Lake (Bari station). Analysis of the chemical compositions of the water and study of the algae species were provided on the obtained samples from that area. Molecular analyses were provided by study of 18srDNA gene and sequencing of ITS region. The results of this study revealed the dominant species of the algae as *Dunaliella tertiolecta* which was found in concentration of 1.2×10^6 cells/ml in salinity above of optimum. Also high levels of certain minerals such as phosphate, ammonia, nitrate, as well as salinity stress in the area was proposed as possible causes of algal bloom.

Key words: Bari, *Dunaliella*, Urmia Lake, Unicellular algae

www.SID.ir