

شکوفایی جلبکی در شمال غرب دریاچه ارومیه (ایستگاه باری)

رامین مناف‌فر^{۱*} و سمیه قربانی^۲

^۱ ارومیه، دانشگاه ارومیه، پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه

^۲ ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

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 $10^6 \times 1/2$ 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 نترات 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 دریاچه‌های 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 (۱۸ و ۲۲). در چنین شرایطی تراکم آرتمیای دریاچه، به عنوان تنها ژئوپلانکتون 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 شوریهایی پایین تری برای رشد و بقا 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 تشهای محیطی مختلف از جمله محدودیت غذایی، شدت نور بالا و غلظتهای بالای

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 کشتند 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 (37°/59°/95°N-45°/45°/45°E) در شمال غرب دریاچه ارومیه به عمل آمد (شکل ۱). 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 نمونه برداری تعیین شد. نمونه آب بلافاصله به آزمایشگاه جلبک شناسی پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبی دانشگاه ارومیه انتقال داده شد. بررسی کیفیت آب با نمونه برداری از محیط زیست این جلبک انجام گرفت. بدین منظور یونهای فسفات، آمونیوم، نیتريت و نترات آب منطقه نمونه برداری

نمک زندگی کرده و مقادیر بالایی از انواع کارتنوئیدها به خصوص بتاکاروتن تولید می‌کند (۷، ۱۰، ۱۲، ۱۳ و ۲۰). 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، ۱۷ و ۲۴). 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 می‌شود. 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 از بحران 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

روش‌های استاندارد (Environmental Protection Agency,) EPA 300.0 و EPA 300.7 (USA) با استفاده از شناسگر Conductivity متعلق به دستگاه یون کروماتوگراف Knauer آلمان انجام پذیرفت.

با استفاده از روش کروماتوگرافی یونی اندازه‌گیری شد. در این تکنیک ابتدا آب نمونه برداری شده بلافاصله با آب دیونیزه رقیق‌سازی شده و سپس با فیلتر ۰/۴۵ میکرون فیلتر شد. اندازه‌گیری آنیونها و کاتونها به ترتیب با



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

تغییر مورفولوژی و رفتار فیزیولوژیکی این گونه‌ها تحت شرایط مختلف محیطی (۲۱ و ۲۹)، برای شناسایی دقیق گونه جداسازی شده از روش‌های مولکولی استفاده شد.

بررسی مولکولی: استخراج DNA و PCR: استخراج DNA نمونه مورد نظر با استفاده از روش CTAB (cetyl trimethyl ammonium bromide) انجام شد (۸ و ۲۶). شناسایی مولکولی این گونه دونالیلا با استفاده از ژن 18srDNA و توالی ITS صورت گرفت (۱۴، ۱۷ و ۲۱).

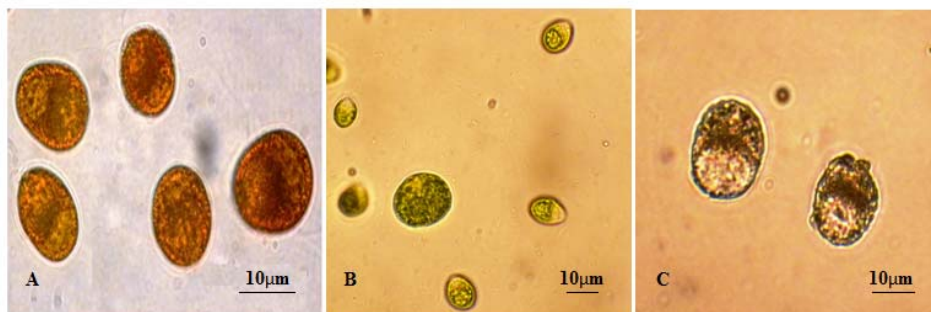
شرایط PCR برای ژن 18srDNA: جهت تکثیر ناحیه 18srDNA، از جفت آغازگر با نامهای MA1 و MA2 به ترتیب با توالی 5'-cgg-gat-ccg-tag-tca-tat-gct-tgt ctc-3' و 3'-cgg-aat-tcc-ttc-tgc-agg-ttc-acc-3' استفاده شد (۲۱). این آغازگرها پیش از این نیز با موفقیت برای شناسایی گونه‌های مختلف جنس دونالیلا به کار رفته بود.

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 نمونه برداری 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 $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ کشت داده شد (۱۷ و ۱۹).

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

به مدت ۶۰ ثانیه، دمای گسترش ۷۲ درجه سانتی‌گراد 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).

بر اساس پروتکل برنامه PCR استفاده شده شامل دمای تفکیک کننده اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه، ۳۳ چرخه شامل دمای واسرشت کننده ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۲ درجه سانتی‌گراد



شکل ۲- 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.

نتایج

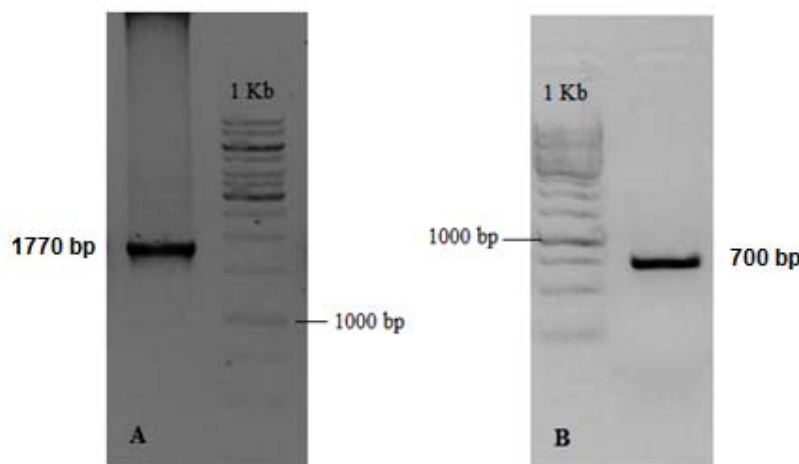
شاخصهای فیزیکوشیمیایی ایستگاه نمونه برداری: نتایج بررسی برخی از شاخصهای فیزیکوشیمیایی آب محل نمونه برداری نشان داد مقادیر بالایی از یونهای فسفات، آمونیاک، نیتريت و نترات در آب محل نمونه برداری بود. در آنالیز این نمونه آب با اسیدیته ۷/۸ که از عمق ۱۰ سانتیمتری دریاچه با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد تهیه شده بود میزان شوری آب ۳۴۰ گرم در لیتر، میزان آمونیاک ۹۰ ppm، نیتريت ۶ ppm، نترات ۶۸ ppm و 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 (شکل ۱- A) و تراکم بالای آن در آب منطقه نمونه برداری

شرایط PCR توالی ITS: جهت تکثیر ناحیه ITS، از جفت آغازگر به نامهای AB1 و AB2 به ترتیب با توالی 5'-ttt-cat-tcg-cca- و 5'-aat-cta-tca-ata-acc-aca-ccg-3' در یک دستگاه ترموسایکلر (BioRad, USA) استفاده شد. بر اساس پروتکل برنامه PCR استفاده شده شامل دمای تفکیک کننده اولیه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۵۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه، دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و در نهایت دمای گسترش نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود. در این واکنش از ۱ میکرولیتر بافر PCR، ۰/۸ میکرولیتر dNTP، ۱/۴ میکرولیتر MgCl₂، ۰/۲ میکرولیتر از هر آغازگر و ۰/۲ میکرولیتر از آنزیم پلی‌مراز (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.

الکتروفورز محصول PCR: تکثیر ناحیه 18srDNA با استفاده از جفت آغازگرهای MA1 و MA2 موجب تولید قطعه‌ای با وزن تقریبی ۱۷۷۰ جفت نوکلئوتید شد. نتایج PCR ناحیه ITS با استفاده از جفت آغازگرهای AB1 و AB2 بانندی با وزن مولکولی ۷۰۰ جفت نوکلئوتید تولید کرد (شکل ۳).

(۱۰۶×۱/۲ سلول در هر میلی‌لیتر) 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 (شکل ۲-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).



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

دونالیلا نشان داده است که تعدادی از گونه‌های این جنس قادرند در شوریه‌های 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 گونه‌های هالوفیل جنس دونالیلا صورت گرفته است که نشان می‌دهد گونه‌های مختلف جنس دونالیلا در ایران از جمله در باتلاق شور گاوخونی (۱۵)، دریاچه مهارلوی شیراز (۲۰) و دریاچه ارومیه (۱۲ و ۲۲) حضور دارند. دریاچه ارومیه به عنوان یک

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 (۲ و ۶). تحقیقات انجام یافته بر روی گونه‌های مختلف جنس

دریاچه، نقش محدود کننده ای در ادامه حیات این جلبکها بازی کرده است (۱۹).

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

```

1   ttgggtgcttc cggggtggca ttaagttgct gcttggggttg ggtccggctg tccattcact
61  tgggagctcg ggctggctct tactaaccaa caacaccaa tcaaacctaa agccaaagat
121 atgtgctcgg cctagccgtc acatcccaac tgagacaact ctcaacaacg gatattcttg
181 ctctcgcaac gatgaagaac gcagcgaaat gcgatacgtg gtgtgaattg cagaattccg
241 tgaatcatca aatctttgaa cgcaaattgc gcccaatgct tcggctgagg gcatgtttgc
301 ctacgctcgg ggttaatctc acttcctctc tcccacagtg ttgctgggag agcaactggc
361 aagtggacct ggctgttcca gagctccagg gtgcttgaat gcgctcgtca agggcgctgg
421 atcagctgaa gaacagaggc tagctcaagg acccgtgaag ggccgcaact gggtaggcag
481 ctacgcttg ctatttctag ttgttggtt 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.

اساس توالی ITS طراحی شده و اجازه تکثیر این ناحیه شامل ITS1، 5.8 srDNA و ITS2 در گونه های *Dunaliella* را فراهم می کند (۱۴). تکثیر ناحیه 18 srDNA 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 18 srDNA 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 می کند (۱۴، ۱۷، ۲۱، ۲۳). البته لازم به ذکر است که محصول PCR ناحیه ITS تکثیر یافته با جفت آغازگرهای ارائه شده در این تحقیق در تمامی گونه های جلبک دونالیلا وزنی بالغ بر حدود ۷۰۰ جفت نوکلئوتید را دارا می باشند. 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

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 (۲۸ و ۵۴).

شناسایی مولکولی گونه جداسازی شده در این تحقیق با استفاده از ژن 18 srDNA و همچنین توالی ITS صورت گرفت. تکثیر ناحیه 18 srDNA توسط جفت آغازگر MA1 و MA2 صورت می گیرد. این الیگونوکلئوتیدها از توالی حفاظت شده انتهایی ژن 18 srDNA طراحی شده و اجازه تکثیر تمام طول این ژن را در گونه های مختلف دونالیلا فراهم می کند (۱۷ و ۲۱). جفت آغازگر AB1 و AB2 بر

دریاچه‌های فقیر از مواد غذایی یا الیگوتروفیک) می‌تواند عامل تحریک‌کننده 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 نترات و آمونیاک جذب می‌کند. البته جذب فسفات توسط *D. tertiolecta* بیشتر از نترات 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، نترات و نیتريت دریاچه ارومیه در طول سال ۱۳۸۶ نشان داده هست این مقادیر (فسفات برابر 0.22 ± 0.52 ، نیتريت 0.02 ± 0.06 و نترات 0.8 ± 8 میلی گرم در لیتر) نزدیک به ۶ برابر نسبت به سال ۱۳۷۲، که از جمله سالهای پر آبی دریاچه ارومیه می‌باشد، 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 یاری‌گر اجرای این پروژه بودند تشکر و قدردانی می‌شود.

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). 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 شوریه‌های 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 دررفت 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 ارگانسیم 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

منابع

۱. اسمعیلی، ل، اسدپور، ی، اسماعیلی، ا، علیزاده، ژ. و گنجی، س. (۱۳۸۶) بررسی تغییرات اکسیژن، نترات، نیتريت 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 زیست‌شناسی ایران. جلد ۲۳، شماره ۶. صفحه ۸۲۴-۸۱۶.

۳. رسولی، ع.ا.، عباسیان، ش. و جهانبخش، س. (۱۳۸۷) پایش نوسانهای سطح آب دریاچه ارومیه با پردازش تصاویر ماهواره‌ای چند سنجیده‌ای و چند زمانه‌ای. 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.، مناف فر، ر.، طاعی، ا. و ملک زاده، ر. (۱۳۹۲) بررسی تنوع مولکولی گونه‌های جلبک *Dunaliella* در تعدادی distinct ITS region in the saline water microalga *Dunaliella*. *Saline Systems*, 6:4-14.
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*. 3rd 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-Pelegri, 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
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.

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}

¹Urmia 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