

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - مرکز تحقیقات شیلاتی آبهای دور

عنوان:

**بررسی امکان کشت نیمه انبوه ریز جلبک سبز آبی نمک دوست
Cyanothece sp. و تعیین ترکیبات بیوشیمیایی و
فعالیت ضدباکتریایی آن**

مجری:

زهرا امینی خوئی

شماره ثبت

۶۴۲۹۴

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - مرکز تحقیقات شیلاتی آبهای دور

عنوان طرح/پروژه: بررسی امکان کشت نیمه انبوه ریز جلبک سبزآبی نمک دوست *Cyanothece* sp. و تعیین

ترکیبات بیوشیمیایی و فعالیت ضدباکتریایی آن

کد مصوب: ۰۰۰۱۹۹-۰۱۱-۱۲-۲۸-۲

نام و نام خانوادگی نگارنده/نگارندگان: زهرا امینی خوئی

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد): -

نام و نام خانوادگی مجری: زهرا امینی خوئی

نام و نام خانوادگی همکار(ان): الناز عرفانی فر، بیژن آژنگ، منصور کریمی، علیرضا رجب پور، واحد بخش هوت،

احمد محمدی، سعیده طاهر پناه، عبدالرضا جهانبخشی، محمدرضا میرزایی، اشکان اژدری، سلیم جدگال، مهسا

نادری سامانی

نام و نام خانوادگی مشاور(ان): مریم میربخش

نام و نام خانوادگی ناظر(ان): -

محل اجرا: استان سیستان و بلوچستان

تاریخ شروع: ۱۴۰۰/۰۲/۰۱

مدت اجرا: ۲ سال

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۲

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است. نقل مطالب، تصاویر، جداول، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است.

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

طرح/پروژه: بررسی امکان کشت نیمه انبوه ریز جلبک سبزآبی نمک دوست *Cyanothece* sp. و تعیین ترکیبات بیوشیمیایی و فعالیت ضدباکتریایی آن

کد مصوب: ۲-۷۸-۱۲-۰۱۱-۰۰۰۱۹۹

شماره ثبت (فروست): ۶۴۲۹۴ تاریخ: ۱۴۰۲/۷/۲۳

با مسئولیت اجرایی سرکار خانم زهرا امینی خوئی دارای مدرک تحصیلی دکتری تخصصی در رشته بیوتکنولوژی است.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح نژاد و تکثیر و پرورش آبزیان در

تاریخ ۱۴۰۲/۶/۲۶ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد □ پژوهشکده □ مرکز ■ ایستگاه □

با سمت عضو هیئت علمی در مرکز تحقیقات شیلاتی آبهای دور

مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه
چکیده		۱
۱- مقدمه		۲
۱-۱- ضرورت و مزایای تولید و پرورش ریزجلبکها به عنوان منابع غذا و انرژی		۲
۱-۳- فعالیتهای صورت گرفته در ایران		۳
۱-۴- انتخاب گونه مناسب شرط اول موفقیت تولید انبوه ریزجلبکها		۴
۱-۵- انتخاب سیانوباکتری ها برای پرورش		۴
۱-۶- ویژگیهای سیانوباکتریها		۴
۱-۷- سیانوباکتری های نمک دوست، کاندید مناسب تولید انبوه پایدار و دوستدار محیط زیست		۵
۱-۸- ارزش زیست فناوریانه و اقتصادی سیانوباکتری های نمک دوست		۵
۱-۹- مکانیسم های سازگاری در سیانوباکتری های نمک دوست		۶
۱-۱۰- علت انتخاب سویه <i>Cyanothece</i> sp.		۷
۱-۱۱- افزایش مقیاس کشت های ریز جلبکی به مقیاس تجاری		۷
۱-۱۲- فعالیت آنتی بیوتیکی عصاره سیانوباکتریها		۸
۲- مواد و روشها		۱۰
۲-۱- دستگاههای و تجهیزات مورد استفاده در این پژوهش:		۱۰
۲-۲- ابزارآلات و وسایل شیشه ای مورد نیاز:		۱۰
۲-۳- نمونه برداری و تهیه استوک اولیه ریزجلبک <i>Cyanothece</i> sp.		۱۰
۲-۴- خالص سازی ریزجلبک <i>Cyanothece</i> sp.		۱۰
۲-۵- شناسایی ریخت شناسی سویه		۱۱
۲-۶- شناسایی مولکولی سویه		۱۱
۲-۷- کشت روی محیط جامد آگار		۱۲
۲-۸- کشت استوک اولیه در محیط مایع		۱۴
۲-۹- کشت ریزجلبک <i>Cyanothece</i> sp. در تیمارهای آزمایشی محیط کشت		۱۴
۲-۱۰- کشت ریزجلبک <i>Cyanothece</i> sp. در تیمارهای آزمایشی شدت نور		۱۴
۲-۱۱- اندازه گیری روند رشد ریزجلبک <i>Cyanothece</i> sp.		۱۴
۲-۱۲- اندازه گیری غلظت زیتوده		۱۴

۱۵	۲-۱۳- استخراج و اندازه گیری محتوای کلروفیل a، کارتنوئید کل و بتاکاروتن ریزجلبک
۱۵	۲-۱۴- استخراج و اندازه گیری فیکوبیلی پروتئین ها
۱۶	۲-۱۵- بررسی فعالیت ضد باکتریایی
۱۶	۲-۱۶- تجزیه و تحلیل آماری داده ها
۱۷	۳- نتایج
۱۷	۳-۱- بررسی اولیه نمونه ها
۱۷	۳-۲- جداسازی، خالص سازی و شناسایی ریزجلبک <i>Cyanothece</i> sp.
۱۷	۳-۲-۱- جداسازی
۱۸	۳-۳- خالص سازی
۱۸	۳-۴- شناسایی مورفولوژیک
۲۲	۳-۵- بهینه سازی شرایط کشت
۲۲	۳-۵-۱- آزمایش اول: تاثیر شوری
۲۲	۳-۵-۲- میزان زیتوده در پنج سطح شوری (۳۷، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ ppt)
۲۳	۳-۵-۳- میزان رنگدانه ها در پنج سطح شوری (۳۷، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ ppt)
۲۵	۳-۶- تاثیر سه شدت نور و سه محیط کشت استاندارد بر روند رشد و ازدیاد سلولی در ریزجلبک <i>Cyanothece</i> sp.
۳۰	۳-۷- افزایش مقیاس تولید ریزجلبک <i>Cyanothece</i> sp.
۳۰	۳-۷-۱- کشت در فضای بینایی در مقیاس ۳۰ لیتری و در فضای بیرونی در مقیاس ۳۰۰ تا ۱۰۰۰ لیتری
۳۲	۳-۸- ترکیبات بیوشیمیایی ریزجلبک <i>Cyanothece</i> sp.
۳۲	۳-۹- فعالیت ضد باکتریایی عصاره ریزجلبک <i>Cyanothece</i> sp.
۳۳	۴- بحث و نتیجه گیری
۳۳	۴-۱- شناسایی مورفولوژیک و مولکولی جدایه <i>Cyanothece</i> sp.
۳۳	۴-۲- تاثیر شوری بر روند رشد و زیتوده و رنگدانه ها
۳۵	۴-۳- تاثیر شدت نور و محیط کشت بر روند رشد و زیتوده و رنگدانه ها
۳۸	۵- نتیجه گیری نهایی
۳۹	منابع
۴۱	چکیده انگلیسی

چکیده

اکوسیستم های فوق اشباع نمک، زیستگاه میکروارگانیزم ها و به ویژه سیانوباکتری های نمک دوست می باشند که توانایی بالایی در تحمل و غلبه بر استرس های محیطی دارند. با توجه به توان بالای این میکروارگانیزم ها برای تحمل نوسانات شوری، نور و مواد مغذی، انتخاب آنها به عنوان سویه کاندید تولید انبوه می تواند مناسب باشد. هدف از این مطالعه، بررسی پتانسیل زیستی ریزجلبک سبزآبی *Cyanothece sp.* از اکوسیستم ساحلی فوق شوررچابهار بود. در این تحقیق نمونه برداری از آب کشندان پشت سد لپار، چابهار صورت گرفت. سپس فرآیند جداسازی، خالص سازی با روش سریال رقت و شناسایی مورفولوژیکی و مولکولی با استفاده از PCR و تعیین توالی صورت گرفت. در ادامه سطوح مختلف شوری و نور میزان تلقیح مناسب اولیه برای رسیدن به شرایط بهینه رشد مورد بررسی قرار گرفت و پس از استخراج ترکیبات زیست فعالی چون کارتنوئید و فایکوسیانین، فعالیت ضد باکتریایی عصاره گونه بررسی شد. نتایج تعیین توالی نشان داد این جدایه با احتمال ۹۹% *Cyanothece sp.* می باشد. در مرحله بعد، شرایط بهینه رشد سویه در سطوح مختلف شوری (۳۷، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ گرم در لیتر، ppt)، شدت نور (۱۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۵۰۰۰ لوکس) و همچنین محیط های کشت های (BG11 و BBM، F2) مورد آزمون قرار گرفت. همچنین، ترکیبات بیوشیمیایی زیست توده آنالیز شد. علاوه بر آن فعالیت ضد باکتری عصاره آبی سیانوباکتری *Cyanothece sp.* مورد سنجش قرار گرفت. نتایج آنالیز داده ها نشان داد که بالاترین میزان رشد و تولید زیست توده در شوری ۹۰ ppt، شدت نور ۵۰۰۰ لوکس و محیط کشت BG11 قابل دستیابی است. در مرحله افزایش مقیاس از ظرفیت ۳۰ تا ۳۰۰ لیتری سه غلظت تلقیح اولیه شامل (۰/۵، ۰/۴، ۰/۵ OD) برای تعیین کوتاه ترین دوره زمانی رشد و بالاترین زیست توده در مقیاس تانک های ۳۰۰ لیتری مورد آزمون قرار گرفت که نتایج نشان داد میزان مناسب غلظت سلول اولیه برای تلقیح بایستی ۰/۵ OD رعایت گردد. عصاره آبی سیانوباکتری سویه *Cyanothece sp.* فعالیت ضد باکتریایی نشان داد. بر اساس نتایج این تحقیق سیانوباکتری نمک دوست *Cyanothece sp.* کاندید مناسبی برای کشت انبوه در مقیاس تجاری می باشد.

کلمات کلیدی: سیانوباکتری، *Cyanothece sp.*، نمک دوست، تولید نیمه انبوه