

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

عنوان:

**شناسایی، جداسازی و خالص سازی گونه های مختلف اسپیرولینا
از دریای خزر و بهینه سازی تولید زیست توده در مقیاس آزمایشگاهی**

مجری:

متین شکوری

شماره ثبت

۶۷۴۲۸

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

عنوان طرح/پروژه: شناسایی، جداسازی و خالص سازی گونه های مختلف اسپیرولینا از دریای خزر و بهینه سازی

تولید زیست توده در مقیاس آزمایشگاهی

کد مصوب: ۲-۷۶-۱۲-۰۴۹-۰۱۱۰۹۲

نام و نام خانوادگی نگارنده/نگارندگان: متین شکوری

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

نام و نام خانوادگی مجری: متین شکوری

نام و نام خانوادگی همکار(ان): حسن نصراله زاده ساروی، رضا صفری، محمدعلی افرائی، آسیه مخلوق، فاطمه

سادات تهامی، طاهره باقری، مجید ابراهیم زاده، فرشیده حبیبی، مرضیه رضائی، ایوب داودی، محمد کارددر

رستمی، مریم رضائی، رحیمه رحمتی، صادق اسفندیار

نام و نام خانوادگی مشاور(ان): -

محل اجرا: استان گلستان

تاریخ شروع: ۱۴۰۱/۱۲/۱

مدت اجرا: ۱ سال و ۱۰ ماه

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۴

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: شناسایی، جداسازی و خالص سازی گونه‌های مختلف
اسپیرولینا از دریای خزر و بهینه سازی تولید زیست توده در مقیاس
آزمایشگاهی

کد مصوب: ۰۱۱۰۹۲-۰۴۹-۱۲-۷۶-۲

شماره ثبت (فروست): ۶۷۴۲۸ تاریخ: ۱۴۰۴/۳/۶

با مسئولیت اجرایی سرکار خانم متین شکوری دارای مدرک
تحصیلی دکتری تخصصی در رشته علوم دامی است.

پروژه توسط داوران منتخب بخش زیست فناوری و فراوری آبزیان در

تاریخ ۱۴۰۴/۰۱/۱۷ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد ☐ پژوهشکده ☐ مرکز ☒ ایستگاه ☐

با سمت محقق غیر هیئت علمی در مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان

آبهای داخلی مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه
چکیده		۱
۱-مقدمه		۲
۱-۱ اهمیت جلبک ها در آبی پروری		۲
۱-۲ معرفی ریزجلبک اسپیرولینا		۳
۱-۳ چرخه زندگی اسپیرولینا		۶
۱-۴ گونه های در دسترس اسپیرولینا در دنیا (FAO, 2008)		۷
۱-۵ ترکیبات شیمیایی و مواد مغذی ریز جلبک اسپیرولینا		۸
۱-۶ کاربرد اسپیرولینا در آبی پروری		۱۰
۱-۷ اهمیت تحقیق		۱۱
۱-۸ روش طراحی آزمایش بهینه سازی		۱۲
۱-۹ پژوهش های مرتبط انجام شده در داخل و خارج از کشور		۱۳
۱-۹-۱ سوابق داخل کشور		۱۳
۱-۹-۲ سوابق خارج از کشور		۱۵
۱-۱۰ اهداف تحقیق		۱۷
۲- مواد و روش ها		۱۸
۲-۱ نمونه برداری		۱۸
۲-۲ سنجش خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب منطقه نمونه برداری		۱۸
۲-۳ آماده سازی محیط کشت اختصاصی زاروک و زاروک تغییر یافته		۱۸
۲-۴ خالص سازی ریزجلبک اسپیرولینا با استفاده از محیط کشت مایع و جامد		۱۹
۲-۵ شناسایی مرفولوژیک		۲۰
۲-۶ تهیه کشت اسپیرولینا و بررسی روند رشد		۲۰
۲-۷ تجزیه و تحلیل ترکیبات شیمیایی ریزجلبک خالص سازی شده		۲۱
۲-۸ بررسی مولکولی و تعیین توالی ژنی		۲۱
۲-۸-۱ استخراج DNA با استفاده از روش فنل - کلروفرم		۲۱
۲-۸-۲ ارزیابی کمیت DNA استخراج شده با استفاده از روش اسپکتوفتومتری		۲۲
۲-۸-۳ ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از روش الکتروفورز ژل آگارز		۲۲
۲-۸-۴ آغازگر مورد استفاده		۲۳

۲۳	۲-۸-۵- واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)
۲۴	۲-۸-۶- بهینه‌سازی دستگاه PCR جهت تکثیر آغازگرها
۲۴	۲-۸-۷- الکتروفورز محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز
۲۴	۲-۸-۸- خالص سازی قطعه ژنی از روی ژل با استفاده از کیت
۲۵	۲-۸-۹- تعیین توالی محصول PCR
۲۵	۲-۹- طراحی آزمایش‌های بهینه سازی رشد ریز جلبک اسپیرولینا
۲۷	۲-۱۱- اجرای آزمایش‌های طراحی شده
۲۷	۲-۱۲- اندازه گیری غلظت زیست‌توده
۲۷	۲-۱۳- تجزیه و تحلیل نتایج بهینه‌سازی
۲۸	۳- نتایج
۲۸	۳-۱- مشخصات ایستگاه نمونه‌برداری
۲۸	۳-۲- بررسی اولیه نمونه‌ها
۲۹	۳-۳- جداسازی، خالص‌سازی ریزجلبک <i>Spirulina sp.</i>
۳۰	۳-۴- شناسایی مرفولوژیکی ریز جلبک جداسازی شده
۳۱	۳-۵- انتخاب محیط کشت بهینه
۳۲	۳-۶- تجزیه و تحلیل ترکیبات شیمیایی
۳۲	۳-۷- نتایج بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده
۳۲	۳-۷-۱- ارزیابی کمیت DNA استخراج شده با استفاده از روش اسپکتوفتومتری
۳۲	۳-۷-۲- ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از روش الکتروفورز ژل آگارز
۳۳	۳-۷-۳- تکثیر قطعه مورد نظر به روش واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)
۳۳	۳-۸- تعیین توالی‌های ناحیه تکثیر شده 16SrRNA و مقایسه اولیه با سایر توالی‌های مشابه در نرم‌افزار BLAST
۳۴	۳-۸-۱- تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک توالی‌های 16 SrRNA
۳۴	۳-۹- نتایج حاصل از طراحی آزمایش به روش RSM
۴۲	۳-۱۰- بحث و نتیجه گیری
۴۵	منابع
۵۱	چکیده انگلیسی

چکیده

با توجه به اهمیت استفاده از گونه های تجاری ریزجلبک اسپیرولینا، هدف از انجام پژوهش حاضر، شناسایی گونه بومی اسپیرولینای دریای خزر و بهینه سازی شرایط رشد این ریزجلبک به منظور کاهش هزینه ها و افزایش مزایای تولید آن می باشد. در این تحقیق، نمونه برداری آب از عمق ۵ متر دریای خزر (فرح آباد - مازندران) انجام شد. بعد از مشاهده جنس اسپیرولینا، جداسازی و خالص سازی ریزجلبک با استفاده از روش رقیق سازی سریالی و محیط کشت مایع و جامد (آگار) انجام شد و در نهایت تک کلونی های خالص به دست آمد. شناسایی اولیه با استفاده میکروسکوپ نوری و کلیدهای شناسایی معتبر انجام شد. برای تأیید و صحت آن، از شناسایی مولکولی و توالی یابی 16 SrRNA استفاده شد. نتایج حاصل از ترسیم درخت فیلوژنتیکی نشان داد که گونه مورد مطالعه کمترین فاصله ژنتیکی را با ریزجلبک *Spirulina laxissima* دارد. بعد از شناسایی گونه سیانوباکتری مورد بررسی، تأثیر سه فاکتور فیزیکی دما (۲۹-۲۷ درجه سانتی گراد)، نور (۳۰۰۰-۳۵۰۰ لوکس) و pH (۹-۱۱) بر میزان تولید زیست توده آن با استفاده از روش پاسخ سطح بررسی شد. نتایج به دست آمده از طراحی این آزمایش نشان داد که بعد از گذشت ۷ و ۱۴ روز، بیشترین زیست توده (۰/۸۳۹ گرم) در دمای ۲۹ درجه، نور ۳۲۵۰ لوکس و pH ۱۰ حاصل شد.

کلمات کلیدی: اسپیرولینا، خالص سازی، زیست توده، روش پاسخ سطح