شناسایی مورفولوژیکی-مولکولی و سنجش کلروفیل a و b و کاروتنوئید تام و فعالیت آنتی اکسیدانی جلبکهای *Acutodesmus obliquus* و *Desmodesmus armatus*

طیبه حسن سلطان سولقانی[۱] ،مصطفی نوروزی[۲] ،محمد علی آموزگار[۳]،غلامرضا بخشی خانیکی[۴]،مهشید صدقی[۵*]، ابوالحسن شاهزاده فاضلی[۶]

تاریخ دریافت :۹۵/۹/۲۷
تاریخ تصویب : ۹۶/۳/۳

چکیده

جلبک ها به عنوان اولین زنجیره چرخه غذایی از اهمیت ویژه ای برخوردارند و جداسازی و شناسایی آنها به دلیل دارا بودن ترکیبات آنتی اکسیدان نظیر کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، ویتامین ها و اسیدهای چرب ضروری کاربردهای وسیعی در صنایع غذایی، مکمل های غذایی ، دارویی و آرایشی- بهداشتی یافته است. در این تحقیق نمونه برداری از سواحل بندر ترکمن صورت گرفته و نمونه ها در محیطهای BBM و F۲ کشت داده شدند. به منظورشناسایی گونه های ریز جلبک از روش های مورفولوژیکی و مولکولی ۱۸s rDNA استفاده شد. عصاره گیری متانولی برای اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان کل محتوای کاروتنوئیدها وکلروفیل a و b به روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. بر اساس شواهد ریخت شناسی و توالی ژنهای جدا شده،

۱-کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی، د انشکد ه علوم، د انشگاه پیام نور تهران، ایران
۲-استادیار، گروه بیوتکنولوژی، د انشکد ه علوم زیستی، د انشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران
۳- د انشیار، د انشگاه اکستریموفیل آزمایشگاهی، گروه میکروبیولوژی، د انشکد ه زیست شناسی و قطب علمی تکامل نژادی از موجود ات زند ه د انشکد ه علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۴-استاد ، دانشگاه پیام نور تهران، ایران
۵*-کارشناسی ارشد د انشگاه آزاد کرج
(نویسنده مسئول: sedghi.mahshid@hotmail.com)
۶-د انشیار، د انشگاه علم و فرهنگ تهران

این مقاله مستخرج از پایان نامه طیبه حسن سلطان سولقانی، اساتید راهنما دکتر مصطفی نوروزی و دکتر محمد علی آموزگار می باشد.

سویه های Acutodesmus obliquus و Desmodesmus armatus شناسایی و تایید شدند. بررسی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی بروش DPPH و FRAP نشان داد جلبک سبز Acutodesmus obliquus فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجه بوده و بیشتر از سویه Desmodesmus armatus می باشد. با توجه به یافته های تحقیق می توان گفت جلبک های جدا سازی شده دارای ترکیبات آنتی اکسیدان می باشند که می تواند پس از آزمونهای تکمیلی و اثبات عدم سمیت آنها در صنایع مختلف غذایی و دارویی از آنها بهره جست.

واژه های کلیدی: آنتی اکسیدانی، بندر ترکمن، ریز جلبک، شناسایی مولکولی

مقدمه

جلبکها به عنوان موجودات فتواتوتروف در اکوسیستم های آبی بخش مهمی از زنجیره و مواد غذایی برای موجودات آبزی را تامین می کنند و از طرفی با فتوسنتز و تولید اکسیژن، شرایط مساعدی را برای حیات آبزیان فراهم می کنند. امروزه استفاده از ریز جلبک ها به عنوان مکمل های غذایی و همچنین استفاده از محصولات آنها در داروسازی کاربرد فراوانی پیدا کرده است(Goh et al.,2009). ترکیبات آنتی اکسیدان به عنوان جاروکننده رادیکال های آزاد اهمیت ویژه ای برای حفظ سلولها از آسیب رادیکالهای آزاد دارند (Nickavar, 2008). مشتقات رادیکالی مانند رادیکال سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل و اکسید نیتریک و اکسیژن یگانه[۱] (اکسیژن برانگیخته)، می توانند اتم های هیدروژن را از زنجیره اسید های چرب مولکول چرب جذب و باعث آغاز اکسایش و افت کیفیت آنها شوند (Weltasinghe and Shahidi,1998; Sakanaka,2005). مقادیر بیش از حد اکسیژن فعال ممکن است به علت آسیب سلولی، ایجاد اختلالات متعددی چون سرطان، انفارکتوس میوکاردیال، سکته، دیابت، شوک های عفونی و خونی و بیماری های عصبی مانند پارکینسون و آلزایمر نماید (Chew et al., 2008).

رنگیزه های جلبک ها شامل کلروفیلهای a,b,c,d,e، کاروتنوئیدها (کاروتن وگزانتوفیلها) و فیکو بیلی پروتئین ها (فیکو سیانین و فیکو اریترین) است (فرامرزی و همکاران.،۱۳۸۹). به علاوه دارای انواعی دیگر از رنگدانه ها می باشند که طول موج های مختلفی از نور را جذب کنند. این رنگدانه های علاوه بر بهبود استفاده از انرژی نورانی، توانایی محافظت در برابر اشعه های مضر نور

۱-Singel oxygen

خورشید و خاصیت آنتی اکسیدانی را هم فراهم می کنند. حیوانات و انسان قابلیت سنتز آنها را ندارند و باید از طریق رژیم غذایی دریافت شوند.

جلبک ها یکی از پر طرفدارترین منابع غذایی در آزمایش ها و پرورش زئوپلانکتون هستند(Boersma and Vijverbeg,1995). گونه *Scenedesmus obliqus* یکی از گونه تجاری مهم است که برای حذف برخی کاتیون های سمی مثل کادمیوم از منابع آبی و تولید سوخت طبیعی به علت محتوی بالای اسیدهای چرب، نیز کاربرد دارد(Monteiro,2009). لازم به ذکراست، تا کنون ۱۷۱ گونه از جلبک تک سلولی *Scenedesmus* و ٤٥ گونه از جلبک های تک سلولی *Desmodesmus* شناسایی شده است (عسل پیشه،۱۳۹۰). تحقیق روی جلبک های اپیفیت تالاب امیر کلایه مشخص کرد که رده *Bacillariophyceae* دارای بیشترین تراکم و رده های *Cyanophyceae*، *Cholorophyceae* و *Euglenophyceae* در مراتب بعدی قرار دارند (رمضان زاده، ۱۳۸۲). طی شناسایی فلور جلبکی دریاچه ارومیه (اکوسیستم آب شور) در ساحل بندر گلمانخانه ٦ *Cyanophyceae* و ٤ *Chlorophyceae* و ۲ *Bacillariophyceae* شناسایی شد (سلطانی،۱۳۷۳) در مطالعات نوروزی و همکاران در سال ۲۰۰۹ تعداد ۲٤۱ جلبک از تالاب بوجاق شناسایی و گزارش شد (Noroozi et al,. 2008). تحقیقاتی از این دست در خارج از ایران توجه بیشتری شده است. به طور مثال Orlova و همکاران(۲۰۰۹) با شناسایی میکروجلبک های دریای Amursky در ژاپن (۱۹۹۱-۲۰۰٦)۳۵۷ گونه از میکرو جلبک های پلانکتونی را شناسایی کردند(Orlava et al., 2009).

هر چند در ایران تحقیقات فراوانی در خصوص ترکیبات آنتی اکسیدانی گیاهان صورت گرفته ولی روی جلبک ها کارهای کمی صورت گرفته است. در مطالعه دیگری میزان آستاگزانتین که یکی از قویترین کاروتنوئیدها با خاصیت آنتی اکسیدانی می باشد در ۹ سویه مختلف جلبک هماتوکوکوس بررسی شد(Noroozi, 2012) لذا لازم است در خصوص ارزش گونه های جلبکی آب های ایران تحقیقات وسیعی صورت گیرد. در این تحقیق با توجه به تنوع و پراکندگی جلبک های سواحل دریای خزر، نمونه برداری و شناسایی مورفولوژیکی - مولکولی دو سویه جدا شده از جلبک سبز و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی آنها بررسی شد.

مواد و روش ها

نمونه برداری و کشت

نمونه برداری در اسفند ۹۳ از بندر ترکمن با مشخصات جغرافیایی N:۳٦-۵۳-۵۱,۸ و E:۰۵٤-۰۲-۳۹,۰ دمای ۱۸°C و pH۰۸/۸ صورت گرفت. حدود ۲ لیتر آب از این ایستگاه در ظروف نمونه برداری پلی اتیلنی برداشت شده و به آزمایشگاه مرکز ذخایر زیستی ژنتیکی ایران انتقال یافت. بعد از ٢٤ ساعت سکون، سریال رقت از نمونه ها در محیط کشت BBM و F/۲

تهیه شد و از رقت های مختلف در پلیت ها کشت خطی صورت گرفت. پلیت ها در چمبر رشد ریز جلبک با دمای ۲۲° C و شدت نور ۲۲۰۰ لوکس قرار داده شد و ۱۴-۱۰ روز بعد از رشد کلنی ها ، مطالعات مورفولوژیکی انجام شده و بعد از ۲۸-۱۴روز زیست توده سویه های خالص شده برای شناسایی مولکولی تهیه گردید(Wehr John, 2003).

استخراج DNA و واکنش زنجیره ای پلی مرازی وتعیین ترادف ژن ۱۸s rDNA

با توجه به وجود دیواره سلولزی در جلبکهای سبز از بید شیشه ای جهت شکست دیواره سلولی استفاده شد. برای مشاهده باندهای DNA ژنومیک، µl ۳ از محصول استخراج بدست آمده با ژل آگارز ۱% به مدت ۵۰ دقیقه با ولتاژ ۱۲۰ ولت الکتروفورز شد(Liu et al., 2000).

برای انجام واکنش پلیمرازی و تکثیر قطعه ژنی ۱۸s rDNA از پرایمرهای ITS۱ (internal Transcribed Spacer) با توالی CCTTGTTACGACTTCACCTTCC و پرایمر SSU۱ (The small subunit) با توالی AACCTGGTTGATCCTGCCAGT استفاده شد(Kociolek, 2013).

مراحل واکنش زنجیره ای پلی مرازی شامل مرحله تقلیب اولیه با دمای ۹۴°C و ۳۵ سیکل در دمای تقلیب ثانویه ۹۴°C به مدت ۹۰ ثانیه و اتصال در۵۲° C به مدت ۵۰ ثانیه و دمای سنتز۷۲° C به مدت ۵۰ ثانیه بود. پس از اتمام چرخه ها و به منظور تکمیل نهایی ساختار DNA های تکثیر شده، ویالها به مدت ۷ دقیقه در دمای ۷۲° C نگهداری شدند. تایید نهایی واکنش پلیمرازی به وسیله الکتروفورز انجام شده و محصول تکثیر شده تعیین توالی شد.

تهیه توده زیستی و لیوفیلیزه کردن آن

سوسپانسیون جلبکی با سانتریفیوژ یخچال دار Sigma در دمای ۱۵° C به مدت ۱۰ دقیقه با g ۳۶۱۵ سانتریفیوژ شد و رسوب سلولی با آب مقطر شستشو شده و لیوفیلیزه گردید. برای این منظور نمونه در فریز درایر Christ مدل LSC ۴-ALPHA۲ به مدت ۳۰دقیقه در دمای ۴° C سپس ۲-۴ ساعت در دمای منفی ۲۰° C و یک ساعت در دمای منفی ۸۰° C قرار داده شده و بعد از آن به مدت ۱۸ ساعت طی دو مرحله خشک شدن اولیه و نهایی، پودر خالص جلبکی به دست آمد.

عصاره گیری متانولی

به ازای ۱ گرم سویه جلبکی لیوفلیزه ۵۰ میلی لیتر متانول اضافه شد و برای شکست دیواره سلولی ۰/۴ گرم دانه شیشه ای استریل به هر لوله فالکون افزوده شد. هر لوله فالکون به مدت ۳ ساعت در شیکر انکوباتور یخچال دار در دمای ۱۰-۱۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد. مایع رویی با استفاده از فیلتر سرنگی ۰/۴۵ میکرون فیلتر شده و نمونه صاف شده در دستگاه تبخیر در خلأ Heidolph تغلیظ و حجم نهایی نمونه با استفاده از متانول به ۲ میلی لیتر رسانده شد(Dere,1998).

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی به روشهای DPPH و FRAP

عصاره متانولی جهت بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی با روش DPPH (۲و۲ دی فنیل ۱-پیکریل

هیدرازیل) و روش FRAP، آزمایش شد. محلول ۰/۱ میلی مولار از DPPH شرکت sigma تهیه شد. برای به دست آوردن معادله خط ۳۵۰ ماکرولیتر از DPPH را در حجم های مختلف عصاره ریخته و با متانول به حجم ۲ میلی لیتر رسانده و به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. سپس جذب نمونه ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر اسپکتروفتومتر قرائت شد. با استفاده از فرمول زیر میزان مهار رادیکال آزاد در عصاره به دست آمد و بر حسب IC۵۰ ۵۰درصد خاصیت مهار کنندگی رادیکال آزاد (DPPH محاسبه و گزارش گردید(Gayshree, 2014; Lewis, 2012).

PSR= (Abs of blank - Abs of sample)/Abs of blank *100

PSR: Percent of Scavenging Radical

آزمایش FRAP بر اساس روش Benzie and Strain با اندکی تغییرات انجام گرفت. اساس این روش احیای آهن فریک به فروس ($TPTZ\text{-}^{+}Fe^{3}$ به $TPTZ\text{-}^{2+}Fe$) در حضور آنتی اکسیدان است. در این روش ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره رقیق شده با ۱/٤ میلی لیتر محلول FRAP مخلوط شده و بعد از ۲۰ دقیقه جذب در طول موج ۵۹۳ نانومتر قرائت شد. سپس میزان احیای آهن توسط آنتی اکسیدان موجود در عصاره بر اساس معادله خط منحنی استاندارد $FeSo_4$ محاسبه شد(Thaipong et al., 2006) FRAP محلول شامل بافر استات ۰/۳ مولار (pH ۳/٦) ، محلول TPTZ ۱۰ میلی مولار در HCL ٤۰ میلی مولار و ۲۰ میلی مولار محلول کلرید آهن (III) به ترتیب با نسبتهای ۱:۱:۱۰ می باشد.

سنجش میزان کلروفیل a و bو کاروتنوئید تام

عصاره متانولی، در طول موج های ٦٦٦ و٦٥٣ و٤٧٠ نانومتر اسپکتروفتومترکه حداکثر جذب کلروفیل a وb و توتال کاروتنوئید است قرائت شدند و به کمک فرمول های زیر مقدار کلروفیل a و bو کل محتوای کاروتنوئید محاسبه شد(Dere,1998).

C_a=۱۵,٦۵ A۷,۳٤۰-٦٦٦ A٦۵۳

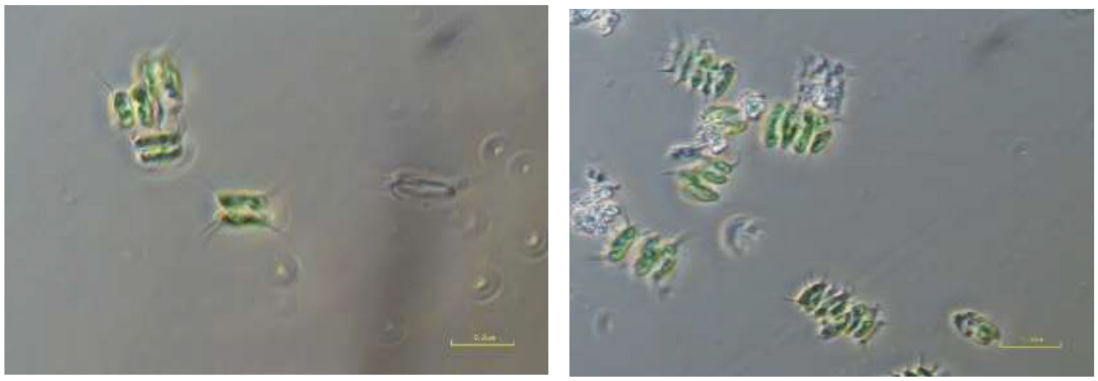
C_b=۲۷,۰۵ A۱۱,۲۱-٦۵۳ A٦٦٦

C_x+c=(۱۰۰۰ A۲,۸٦۰-٤۷۰ C_a۱۲۹,۲- C_b)/۲٤۵

نتایج

در این مطالعه شناسایی مورفولوژیکی- مولکولی دو سویه جلبک سبز جدا سازی شده از بندر ترکمن انجام شد. شکل ۱ مورفولوژی دو جنس مورد آزمایش را نشان می دهد. *Desmodesmus* معمولاً شامل ۲-٤ سلول هستند و سلولها استوانه ای شکل و به صورت خطی پشت سر هم قرار گرفته اند. سلولهای ابتدایی معمولاً از سلول های نزدیک به انتها بلندتر هستند و هر سلول به صورت منفرد، کوچک و خار دار دیده می شود ولی *Acutodesmus* معمولاً شامل چهار سلول هستند و سلول ها به صورت گسترده و مخروطی شکل هستند. سلولهای ابتدایی به صورت منحنی

شکل می باشند، سلولها ممکن است در یک خط مستقیم یا مختلف قرار گیرند سلولها دارای زواید کوچکی در غشا سلول می باشند(John, 2002).



شکل ۱: عکس سویه های جدا سازی شده از بندر ترکمن

برای مقایسه میزان شباهت توالی ژن ۱۸s rDNA جلبک های جدا سازی شده با توالی ژن های موجود در بانک جهانی ژن، عملیات BLAST انجام شد. نتایج درصد شباهت سویه ها تا سه میکروارگانیسم مطابق جدول ۱ می باشد.

جدول ۱: میزان توتال کارتنوئید، فعالیت آنتی اکسیدانی، کلروفیل a و b

نام سویه خالص سازی شده	کلروفیل a	کلروفیل b	فعالیت آنتی اکسیدانی $DPPH$ $IC_{۵۰}$	فعالیت آنتی اکسیدانی $FRAP$	توتال کارتنوئید
Desmodesmus armatus	۴/۵	۳/۴	۸/۷	۲۷/۲	۰/۶
Acutodesmus obliquus	۶/۲	۱/۴	۶/۱۶	۵۶	۱/۴

میزان تام کاروتنوئید و کلروفیل a وb به روش عصاره گیری متانولی بر اساس جذب اسپکتروفتومتری و همچنین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی سویه ها به روش DPPH بر اساس احیا رادیکال آزاد نیتروژن بر حسب IC۵۰ (۵۰ درصد احیا رادیکال آزاد توسط ترکیبات آنتی اکسیدان موجود در عصاره متانولی) و سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی به روش FRAP بر اساس میکرو مول احیا آهن به ازای یک گرم از ترکیبات آنتی اکسیدان موجود در عصاره طبق جدول زیر می باشد.

جدول ۲: میزان کاروتنوئید تام، کلروفیل a و b و فعالیت آنتی اکسیدانی سویه های بدست آمده

نام سویه خالص سازی شده	کلروفیل *a* *Mg/g*	کلروفیل *b* *Mg/g*	فعالیت آنتی اکسیدانی به روش *DPPH* ($IC_{۵۰}$،میلی گرم)	فعالیت آنتی اکسیدانی به روش *FRAP* (Mmol Fe^{+2}/Mg DW)*	توتال کارتنوئید (*mg/g*)
Desmodesmus armatus	۴/۵	۳/۴	۸/۷	۲۷/۲	۰/۶
Acutodesmus obliquus	۶/۲	۱/۴	۶/۱۶	۵۶	۱/۴

*میلی مول $Fe^{+۲}$ برمیلی گرم وزن خشک

طبق جدول ۲- کاروتنوئید تام و کلروفیل a در عصاره متانولی سویه *A. obliquus* بیشتر از سویه *D. armatus* می باشد. زیاد بودن توتال کاروتنوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی نشان دهنده رابطه مستقیم بین این دو عامل در سویه مورد نظر می باشد. میزان کاروتنوئید تام در سویه *A. obliquus* ۱/٤ میلی گرم بر گرم است که بیشتر از سویه *D. armatus* با مقدار ۰/٦ میلی گرم بر گرم می باشد. همچنین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی بین دو سویه جداسازی شده از بندر ترکمن با دو روش DPPH و FRAP با هم متناسب می باشد. بطوریکه میزان فعالیت آنتی اکسیدانی سویه *A. obliquus* با روش FRAP ٥٦ و به روش DPPH ٦/١٦ میلی گرم می باشد. در حالیکه فعالیت آنتی اکسیدانی به روش FRAP در سویه *D. armatus* ۲۷/۲ میلی مول احیا آهن در هر گرم و به روش DPPH ۸/۷ میلی گرم می باشد. در نتیجه در سویه *A. obliquus* میزان کاروتنوئید تام و فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتر از سویه *D. armatus* می باشد.

بحث و نتیجه گیری

با توجه به مطالعات مشابه بسیار نادر، می توان گفت این تحقیق جزء اولین مطالعات مولکولی، ریخت شناسی و بیوشیمیایی جلبک ها در ایران می باشد. در تحقیق حاضر دو سویه جلبک جدا سازی شده از بندر ترکمن مورد شناسایی مورفولوژیکی و مولکولی ژن ۱۸ s rDNA قرار گرفته و توالی این ژن در پایگاه داده ها NCBI مورد ارزیابی قرار گرفت. این دو سویه بومی ایران از لحاظ بیوتکنولوژیکی بسیار ارزشمند می باشند. با توجه به دارا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی کلروفیل ها و کاروتنوئیدها می توانند کاربردهای زیادی در صنایع مختلف غذایی و دارویی داشته باشند. وجود کاروتنوئیدها در جلبک ها و مصرف آن می تواند باعث افزایش قدرت سیستم ایمنی در مواجه با انواع سرطانها و بیماریهای قلبی شود. این مطالعه نشان داد که میزان احیا آهن توسط کاروتنوئیدها در روش FRAP و همچنین احیا رادیکال آزاد نیتروژن توسط در روش DPPH درعصاره متانولی سویه *A. obliquus* بیشتر از سویه *D. armatus* می باشد. ساراینا و همکاران در مطالعه ای مشابه ضمن بررسی و محاسبه میزان توتال کاروتنوئید و توتال فنولیک

و فعالیت آنتی اکسیدانی در گونه های جلبکی *Chlorella salina , Isochrysis galbana* نشان داده اند که بین انواع روش عصاره گیری، عصاره متانولی بهترین نتایج را ارائه می کند و همچنین بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره جلبکی مربوط به ترکیبات فنولی می باشد.(Sarayana, 2014) در مطالعه دیگری ثابت شد در حالیکه اوسیلاتوریا[۱] بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی را دارا است، *Scenedesmus obliqus* دارای بیشترین محتوای کاروتنوئیدی و *Chlorella* بیشترین محتوای ترکیبات فنلیک را دارد (Hamd elsayed, 2014).

در این تحقیق نیز هردو سویه جدا سازی شده از بندر ترکمن توان تولید کاروتنوئید را داشته و فعالیت آنتی اکسیدانی دارند و نشان دهنده توان بالقوه سواحل دریای خزر جهت جداسازی جلبکها و استخراج ترکیبات ارزشمندی نظیر کاروتنوئید وکلروفیل و آنتی اکسیدانها می باشد که پس از آزمونهای تکمیلی می توان آنها را در صنایع مختلف آرایشی بهداشتی و صنایع غذایی بهره برد. از بین دو سویه جدا سازی شده بیشترین میزان محتوای کاروتنوئیدی و فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به سویه *A. Obliqus* می باشد. در تحقیقی در دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار در مورد جلبک سارگاسوم گلاسکنس[۲] و زاناردینی نیزمودینیا[۳] هر دو گونه مناسب برای استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی شناخته شدند (نصرتی،۱۳۹۳). در بررسی جلبک های ماکروسکوپیک خلیج فارس نشان داده شد که بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به جلبک سبز انترومورفا اینتستینالیس[۴] و کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به جلبک قهوه ای سیستوریاسه مایریکا[۵] می باشد(حیدری،۱۳۹۳). در مقایسه ای بین محتوای کلروفیلی و کاروتنوئید تام چند گونه جلبکی حداکثر میزان کلروفیل درگونه کلادوفورا گلومراتا[۶] و حداکثر توتال کاروتنوئید در گونه کلادوستفوس ورتیکیلاتوس[۷] گزارش شده است .(Dere,1998) در مطالعه حاضر میزان کلروفیل a در سویه *A. obliqus* بیشتر از سویه *D. armatus* می باشد، در حالیکه میزان کلروفیل b در سویه *D. armatus* بیشتر از سویه *A. obliqus* است .

موجودات فتوسنتزکننده مکانیسم های متفاوتی را برای سازگاری با نوسانات محیط های ساحلی و برای حفاظت خود در برابر عواملی چون پرتو فرابنفش و نور مرئی به کار می گیرند که شامل تنظیم فعالیتهای آنزیمی و مولکولهای آنتی اکسیدان مانند ویتامینE، کاروتنوئیدها، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز است(Rossa et al., 2002). یکی دیگر از استراتژیهای

۱- *Oscillatoria* sp

۲- *Sargasum glaucescan*

۳-*Zanardini Nizimuddinia*

٤-*Entromorpha intestinulis*

٥-*Cystocerriaceae myrica*

٦-*Cladophora gllomerata*

۷- *Cladostephus verticillatus*

موجودات فتوسنتزکننده دریایی تولید ترکیبات جاذب نور فرابنفش خورشید مانند فلاونوئیدها می باشد. تحقیقات باب و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان داد که کاروتنوئیدها به دلیل ویژگی آنتی اکسیدانی خود در جلوگیری از بیماریهای قلبی موثر هستند (Bub et al., 2002). تحقیقات کهلمیر و همکاران در سال ۱۹۹۷ و سسو و همکاران در سال ۲۰۰٤ بیان کننده رابطه معکوس بین مصرف لیکوپن بعنوان ماده آنتی اکسیدان و میزان سکته های قلبی در کشورهای مختلف است(Sesso et al., 2004). با توجه به این تحقیق و اهمیت ترکیبات زیستی و آنتی اکسیدان موجود در جلبک ها نیز می توان از آنها در صنایع مختلف بهره برد و جهت بالا بردن سیستم ایمنی و جلوگیری از انواع سرطانها و بیماریهای قلبی، از ترکیبات کاروتنوئید و سایر ترکیبات آنتی اکسیدان موجود در عصاره جلبک ها در صنایع مختلف استفاده نمود. با توجه به مطالعات فراوان روی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره جلبکی، شناسایی این توان بالقوه در اقصی نقاط ایران می تواند در تهیه و تولید مواد غذایی و مکملهای غذایی و دارویی کمک نماید. البته در سال های اخیر مطالعات محدودی بر فلور جلبکی تالاب ها و دریاچه های آب های شیرین و لب شور ایران انجام گرفته است که نیازمند توجه بیشتری می باشد.

نتیجه گیری

با توجه به یافته های تحقیق در شناسایی مورفولوژی-مولکولی و بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی دو سویه جدا شده از بندر ترکمن می توان گفت توجه به پتانسیل ناشناخته آبهای ایران لازم است و بررسی های بیشتری در جهت شناسایی و جداسازی جلبک ها برای ارزیابی خواص بیوتکنولوژیکی از جمله قدرت آنتی اکسیدانی آنها ضروری می باشد. بدین ترتیب با انتخاب سویه های توانمند در تولید ترکیبات ارزشمند نظیر اسیدهای چرب ضروری و کاروتنوئیدها و پروتئین ها و همچنین با ایجاد شرایط استرس و مهندسی ژنتیک مقادیر تولید این ترکیبات ارزشمند را افزایش داده و بتوانیم از آنها در صنایع مختلف استفاده کنیم.

سپاسگزاری

این پروژه با حمایت مالی مرکز ذخایر زیستی و ژنتیکی ایران به انجام رسید. بدین وسیله نگارندگان مراتب تشکر و قدر دانی خود را از همکاری مدیر مرکز ذخایر زیستی-ژنتیکی ایران و سایر اعضای هیات علمی و کارشناسان ابراز می دارند.

منابع

نصرتی، ا. (۱۳۹۳) بررسی خواص آنتی اکسیدانی جلبکهای دریایی *Sargasum glaucecns* و *Nizimuddinia zanardini* در خلیج چابهار پایان نامه دانشجویی کارشناسی ارشد- دانشگاه دریا نوردی و علوم چابهار

سلطانی، ن.، ریاحی ح.، شکروی ش. (۱۳۷۳) مطالعه فلور جلبکی دریاچه ارومیه، مجله پژوهش و سازندگی

حیدری، م. (۱۳۹۳) مطالعه تنوع زیستی جلبکهای ماکروسکوپی سواحل استان بوشهر با تاکید بر خواص آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی گونه های غالب، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، پایان نامه دانشجویی

رمضان زاده، ح.، (۱۳۸۲) بررسی جلبک های اپی فیت تالاب امیر کلایه و مقایسه جوامع‌جلبکی روی بستر های مختلف، پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تهران، ایران.

شعاع حسنی، ا. (۱۳۷۵) پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، لاهیجان، ایران.

میرهاشمی‌نسب، ف.، پازوکی ج. (۱۳۸۱) شناسایی انگل های سخت پوست برخی از ماهیان دریاچه سد مخزنی مهاباد، مجله علمی شیلات ایران ۱۱:(٤)-۱٤۸,۱۳۳

عبدل زاده، ا.، رمضان نژاد قادی، ر.، صادقی پور، ح. (۱۳۸۸) مقدمه ای بر جلبک ها،قارچ ها وگلسنگ ها، گرگان، دانشگاه گلستان

عسل پیشه، ز.، حیدری، ر.، مناف فر، ر.، (۱۳۹۰) شناسایی و بررسی ارزش غذایی دو گونه جلبک تک سلولی تولید کننده اسیدهای چرب جداسازی شده از دریاچه سد مهاباد، آذربایجان غربی

فرامرزی، م.، فروتن فر، ح.، شکیبایی، م.، (۱۳۸۹) بیوتکنولوژی ریز جلبک ها تهران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی تهران

قائنی، م.، سید هشرودی، م.، قادری، ف.، رومیانی، ل.، (۱۳۹۱) بررسی کلروفیل a وکاروتنوئیدها در ریز جلبک اسپیرولینا

Hanging, A., Watzl, B., Abrahamse, L., Delincee, H., Adam, S., Wever, J., Muller, H., and Rechkemmer, G. (2002) Moderate intervention with carotenoid-rich vegetable products reduces lipid peroxidation in men. Journal of Nutrition 130:2200-

2206-

Boersma, M. and Vijverberg, J. (1995) Synergistic effects of different food species on life-history traits of Daphnia galeata. Hydrobiologia 307: 109-115

Chew, Y.L., Lim, Y.Y., Omar, M. and Khoo, K.S. (2008) Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. LWT-Food Science and Technology 41(6): 1067-115.

Dere, S. (1998) Spectrophotometric determination of chlorophyll a,b and total carotenoid content of some algae species using different solvent, Turkish Journal of Botany 22 :13-17

Goh, L. P., Loh, S. P., Fatimah, M. Y. and Perumal, K. (2009) Bioaccessibility of Carotenoids and Tocopherols in Marine Microalgae, Nannochloropsis sp. and Chaetoceros sp. 15(1): 77-86. 6072. 51

Gayshree, A. (2014) Anti oxidant potenthial phytochemicals from methanol extract of chlorella vulgaris and chlamydomonasreinhartii. Journal of algal biomass Utilization 5(4): 60-67

Giovannocci, E., Ascherio, A., Rimm, E.B., Stampfer, M.J., Colditz, G.A., and Willet, W.C. (1995) Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer. Journal of the National Cancer Institute 87:1767–1776

Elsayed, A. (2014) Screening of micro algae for Anti-oxidant activities, carotenoids and phenolic content, Applied mechanics and materials, 625, 156-159 (transtech pub. Switzerland)

John, D. M., Whitton, B. A., & Brook, A. J. (2002) The freshwater algal flora of the British Isles: an identification guide to freshwater and terrestrial algae (Vol. 1) Cambridge University Press.

Kociolek, J. P., Stepanek, J. G., Lowe, R. L., Johansen, J. R., & Sherwood, A. R. (2013) Molecular data show the enigmatic cave-dwelling diatom Diprora (Bacillariophyceae) to be a raphid diatom. European Journal of Phycology 48(4) 474-484.

Liu Don (2000) Rapid Mini-Preparation of Fungal DNA for PCR. Journal of Clinical Microbiology p. 471.

lewis, M. (2012) protocol No…15.3b-natural product screening, anti-oxidant screen

for extracts, 5November 2012: Version2

Monteiro, C. M., Castro, P. M. L. and Xavier, F. X. (2009) Use of the microalga Scenedesmus obliquus to remove cadmium cations from aqueous solutions. World Journal of Microbiol Biotechnol 25: 157-3157.

Nickavar, B., Alinaghi, A. and Kamalinejad, M., (2008) Evaluation of the antioxidant properties of five Mentha species. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 7(3): 203-209.

Noroozi, M., Hishamuddin, O., Suhaimi N, Hejazi M.A. and Soon Guan T. (2012) Comparative biodiversity and effect of different media on growth and astaxanthin content of nine geographical strains of *Haematococcus pluvialis*. African Journal of Biotechnology 11(84), 15049-15059.

Noroozi, M., Naqinezhad N., Saeidi mehrvarz. S. (2009) Algal flora in first Iranian marine-land national park: Boujagh. International Journal on Algae. 11(3): 276-288

Orlova, T. Y., Stonik, I. V. and Shevchenko, O. G. (2009) Flora of planktonic microalgae of Amursky Bay, Sea of Japan. Russian Journal of Marine Biology 35(1): 60-78.

Ozen, T. (2010) Antioxidant activity of wild edible plants in the black sea region of Turkey Grasas y Aceites 61(1): 86-94.

Rossa, M. M., Oliveira, M.C., Okamoto,O.K.,lopes, P.F. and e Coleicolo, P.,(2002) Effect of visible light on super oxidase dismutase SOD activity in the red Alga Gracilariopsis tenuifrons (Gracilarials,Rhodophyta). Journal of applied phycology 14:151-157.

Roleda, M.Y., Lutz-Meindl ,U, Wiencke, C. and Lutz, C (2010) Physiological, biological and ultrastructural responses of the green macroalga Urospora pencilliformis from Artic Spitsbergen to UV radation. Protoplasma 243: 105-116

Sarayana, C. (2014) Evaluathion of anti-oxidant properties, total phenolic and carotenoid content of *Chaetoceros calcitrans*, *Chlorella salina* and isochrysis galbana. International journal of current microbiology and applied sciences. 3(8): 365-377.

Sakanaka, S., Tachibana, Y. and Okada, Y. (2005) Preparation and antioxidant proper-

ties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). Food Chemistry 89(4): 569-575.

Sesso, H.D., Buring, J.E., Norkus, E.P. and Gaziano, J.M. (2004) Plasma lycopene, other carotenoids, and retinol and the risk of cardiovascular disease in women. American Journal of Clinical Nutrition Nutr 79:47–53.

Thaipong, k. (2006) comparison of abts, DPPH, FRAP and ORAC assay for estimating anti-oxidant activity from guava fruit extracts, Jornalof food composition and analysis 19: 669-675

Wehr John, D., Sheath, G. (2003) Fresh Water Algae of North Amrica ecology and classification, USA, Academic press

Wettasinghe, M. and Shahidi, F. (1999) Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (*Borago officinalis*) seeds. Food Chemistry 67: 399-414

Yangthong, M., Hutadilok-Towatana, N. and Phromkunthong, W., (2009) Antioxidant activities of four edible seaweeds from the southern coast of Thailand. Plant Food for Human Nutrition 64: 218-233.