2025, 1(4): 141-150

JAER

Journal of Animal Environmental Reaserch

Journal homepage: http://www.journalaer.com

Research Article

Study on the microalgae diversity with emphasis on molecular identification and commercial value of two genera Haematococcus and Scendesmus in Kelvans Dam (Khoy-Iran)

Sakineh Moradkhani [1], Ramin Manaffar [*2], Vahid Ghasemlou [3], Hediyeh Yazdani [2]

[1] *Department of biology, Payame Noor University, Tehran, Iran*
[2] *Department of fisheries, Faculty of natural resources, Urmia University, Urmia, Iran*
[3] *Department of biology, Faculty of sciences, Urmia branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran*

Key Words

Unicellular algae
Fatty acids
West Azerbaijan
ITS marker
Nutritional value

Abstract

Introduction: Microalgae are considered productive organisms due to their chlorophyll and their richness in fatty acids and various pigments has diversified their use and increased the importance of their investigation from an ecological and biotechnological point of view. This study aimed to investigate water quality, diversity of microalgae, and the possibility of commercializing important microalgae species.

Materials & methods: Sampling was carried out from the Kelvans Dam located in West Azerbaijan at 4 stations. The algae samples were cultured in a Walne medium, and the identification of microalgae was performed using identification keys. Due to the high similarity of some microalgae species, molecular methods were used to accurately identify microalgae at the species level. Two commercially important species belonging to the Haematococcaceae and Scendesmaceae families were isolated among these algae, identified using molecular techniques through ITS sequencing, and their fatty acid profiles were examined.

Results: The initial investigation successfully identified several genera and species including *Scendesmus* sp., *Haematococcus* sp., *Navicula* sp., *Pandorina* sp., *Scendesmus dimorpha*, and *Pediastrum boryanum*. After molecular analysis, the sequences related to *Haematococcus lacustris* and *Scendesmus* sp. were recorded in the NCBI GenBank with codes ON975001.0 and ON955512.1, and these species were precisely identified. The examination of the fatty acid profiles of these two species showed that they have high nutritional value for use in various industries. Additionally, in this study, the use of ITS marker as an accurate and reliable method for identifying microalgae species was suggested.

Conclusion: The physicochemical characteristics of the Kelvans Dam water also showed that the water of the region has the potential to store fish larvae and mass-cultivate microalgae while adhering to environmental principles.

Article info

* Corresponding Author's email: r.manaffar@urmia.ac.ir

Received: 22 November 2023
Reviewed: 24 December 2023
Revised: 23 February 2024
Accepted: 25 March 2024

[Downloaded from journalaer.com on 2026-02-06 09:19]

مقاله علمی - پژوهشی

بررسی تنوع ریزجلبک‌ها با تاکید بر شناسایی مولکولی و ارزش تجاری دو جنس *Haematococcus* و *Scendesmus* در سد کلوانس (خوی-ایران)

سکینه مرادخانی[۱]، رامین مناف‌فر[۲]، وحید قاسملو[۳]، هدیه یزدانی[۲]*

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

[۲] گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[۳] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

کلمات کلیدی

جلبک‌های تک‌سلولی
اسیدهای چرب
آذربایجان‌غربی
نشانگر ITS
ارزش غذایی

چکیده

مقدمه: ریزجلبک‌ها به دلیل داشتن کلروفیل موجودات تولیدکننده به حساب می‌آیند و غنی بودن آن‌ها از اسیدهای چرب و رنگیزه‌های مختلف، به کاربرد آن‌ها تنوع بخشیده و به اهمیت بررسی آن‌ها از دیدگاه اکولوژیک و بیوتکنولوژیک افزوده است. این تحقیق با هدف بررسی کیفیت آب، تنوع ریزجلبک‌ها و امکان تجاری‌سازی گونه‌های مهم ریزجلبک انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، نمونه‌برداری از آب سد کلوانس واقع در آذربایجان‌غربی در ٤ ایستگاه انجام شد. کشت نمونه‌های جلبک در محیط Walne صورت گرفته و شناسایی ریزجلبک‌ها با استفاده از کلیدهای شناسایی صورت پذیرفت. به‌علت شباهت زیاد برخی از گونه‌های ریزجلبک به یکدیگر، استفاده از روش‌های مولکولی به‌منظور شناسایی دقیق ریزجلبک‌ها در سطح گونه، مورد توجه قرار گرفت. دوگونه تجاری متعلق به خانواده *Haematococcaceae* و *Scendesmaceae* از بین این جلبک‌ها ایزوله شده، با تکنیک‌های مولکولی با استفاده از توالی‌یابی ناحیه ITS شناسایی شده و پروفایل اسیدهای چرب آن‌ها مورد بررسی واقع شد.

نتایج: بررسی اولیه موفق به شناسایی چندین جنس و گونه شامل *Scendesmus* sp.، *Haematococcus* sp.، *Navicula* sp.، *Pandorina* sp، *Scendesmus dimorpha* و *Pediastrum boryanum* گردید. پس از تجزیه و تحلیل مولکولی توالی مربوط به گونه‌های *Haematococcus lacustris* و *Scendesmus* sp. در بانک جهانی ژن یا NCBI با کد ON975001.0 و ON955512.1 ثبت شده و این گونه‌ها به‌طور دقیق شناسایی شدند. بررسی پروفایل اسیدهای چرب این دو گونه نشان داد که این جلبک‌ها ارزش غذایی بالایی برای استفاده در صنایع مختلف را دارند. هم‌چنین، در این تحقیق، استفاده از نشانگر ITS به عنوان روشی دقیق و مطمئن در شناسایی گونه‌های ریزجلبک پیشنهاد شد.

بحث و نتیجه‌گیری: بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب سد کلوانس نیز نشان داد که آب منطقه با رعایت اصول زیست محیطی توانایی ذخیره‌سازی لارو آبزیان و پرورش انبوه ریزجلبک‌ها را دارد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
r.manaffar@urmia.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱ آذر ۱٤۰۲
تاریخ داوری: ۳ دی ۱٤۰۲
تاریخ اصلاح: ٤ اسفند ۱٤۰۲
تاریخ پذیرش: ٦ فروردین ۱٤۰۳

[Downloaded from journal.dacr.com on 2026-02-09]

مقدمه

جلبک‌ها ساده‌ترین موجودات دارای کلروفیل‌اند که با انجام عمل فتوسنتز یک گروه مهم از تولیدکنندگان اکوسیستم‌های آبی در نظر گرفته می‌شوند. پراکندگی این موجودات در سراسر جهان به‌طوری است که بیش از یک میلیون گونه در زیستگاه‌های مختلف کره‌زمین متعلق به جلبک‌ها می‌باشد (۷، ۱۴، ۲۸). یکی از ویژگی‌های مهم جلبک‌ها توانایی قابل توجه آن‌ها در تولید مقدار زیادی از زیست‌توده در مدت‌زمان نسبتاً کوتاهی است، به‌طوری‌که زمان رشد نمایی میکرو جلبک‌ها، حدوداً سه ساعت در نظر گرفته شده است (۵). زیست‌توده جلبک‌ها غنی از ترکیباتی مانند چربی‌ها، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها می‌باشند که به نوبه خود از لحاظ غذایی، آن‌ها را حائز اهمیت کرده است (۱، ۲۷). از دیدگاه بیوتکنولوژی از ریزجلبک‌ها به‌منظور تولید آنتی‌بیوتیک، دارو، آنزیم، محرک‌های رشد و تولید انرژی استفاده می‌شود. هم چنین از این موجودات به عنوان ابزاری برای تصفیه فاضلاب، سوخته‌ای زیستی و افزودنی‌های مختلف در تغذیه استفاده می‌شود. بسیاری از گونه‌های ریزجلبک به علت ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، اکولوژیکی و مولکولی منحصر به فرد خود، واجد توانایی رشد و بقا در شرایط نامساعد می‌باشند (۴، ۲۳، ۳۱). مطالعه فیتوپلانکتون‌ها یکی از اهداف محققان در مطالعات زیست‌محیطی بوده است که نتایج ارزشمند حاصل از این تحقیقات در زمینه‌های آبزی‌پروری، اکولوژی و کشت و پرورش جلبک‌ها همواره مورد استفاده قرار گرفته است (۳، ۲۰). طی مطالعاتی که در جزیره هنگام توسط محققان دیگر انجام گرفت ۴۵ گونه از ماکروجلبک‌ها شناسایی شد که در این مطالعه، محققان توانستند ۱۱ گونه از جلبک‌های سبز، ۲۳ گونه از جلبک‌های قرمز و ۱۱ گونه از جلبک‌های قهوه‌ای را از منطقه مورد مطالعه جدا کنند (۱۶). در پژوهش دیگری به‌منظور بررسی پراکنش ریزجلبک‌ها در دریای خزر توسط محققین پیشین ترکیبی از ریز جلبک‌ها شامل ۳۰ درصد باسیلاریوفیتا (Bascillariophyta)، ۱۳ درصد داینوفلاژلا، ۳۳ درصد سیانوفیتا (Cyanophyta)، ۲۱ درصد کلروفیتا (Chlorophyta) و ۳ درصد اوگلنوفیتا و کریپتوفیتا گزارش شد (۲۱). هم چنین، ۲۷ جنس از شاخه باسیلاریوفیتا، ۱۲ جنس از شاخه کلروفیتا و ۱۰ جنس از شاخه سیانوباکتریا بیش‌ترین سهم از تنوع جمعیت ریزجلبک‌های مورد مطالعه در تحقیق Rezvanipour و همکاران داشتند (۲۵). علاوه بر اهمیت بررسی تنوع زیستی میکرو جلبک‌ها، مطالعه آن‌ها به‌منظور حفاظت از سلامت عمومی و مدیریت کیفیت منابع آبی همواره مورد توجه قرار گرفته است، چرا که وجود هرنوع جلبک سمی و یا امکان بلوم جلبکی ممکن است صدمات جبران‌ناپذیری برای محیط‌های آبی و مصرف‌کنندگان آن‌ها به بار آورد. به‌طور مثال در مطالعه‌ای، شکوفایی جلبکی سدهای میندو و نیومبایامونگو واقع در تانزانیا مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج حاصل از تحقیق اخیر، حضور گونه‌های میکروسیستیس که جزو شاخه سیانوباکتری‌ها می‌باشند در منابع آبی دو سد نامبرده منجر به آلودگی اکوسیستم شده بود. با توجه به نتایج این تحقیق، جلبک میکرو سیستیس با تولید نوعی سم تهدیدی برای سلامت و حیات موجودات آبزی این سدها در نظر گرفته شد (۱۳). در مطالعه فلوریستیکی جلبک‌های سد ارس توسط محققان پیشین، ۳۲ جنس متعلق به ۴ شاخه دیاتومه، جلبک‌های سبز، جلبک‌های سبز-آبی و دینوفلاژله‌ها (Dinophyta) مورد شناسایی واقع شدند. بیش‌ترین تراکم از بین جلبک‌های نامبرده متعلق به جنس ناویکولا (*Navicula*) از شاخه دیاتومه‌ها و جنس *Oedogonium* از شاخه جلبک‌های سبز گزارش شد (۱۲). تحقیقی در سال ۲۰۲۰ جداسازی گونه‌هایی از جنس کلرلا، اسپیرولینا، اسیلاتوریا (*Oscillatoria*) و سندسموس را از دریاچه کلارکهار واقع در کشور پاکستان، گزارش داده است (۱۱). ارزیابی پتانسیل پرورش جلبک‌ها و ریزجلبک‌ها در محیط طبیعی و خارج از شرایط آزمایشگاهی نتایج ارزشمندی را تاکنون ارائه کرده است. در بین این تحقیقات، ارزیابی رشد گونه‌های جلبک در شرایط غیرمعمول نظیر پرورش *Dunaliella salina* در آب‌های ژرف و شور جنوب شرقی ایران یک نمونه از این تحقیقات بوده است (۱۶). لازم به تاکید است که اخیراً استفاده از روش‌های مولکولی به‌منظور شناسایی دقیق میکروارگانیسم‌ها در زمینه‌های مختلف کاربرد گسترده‌ای پیدا کرده است. محققین در مطالعات پیشین، با کمک نشانگرهای ژنتیکی اقدام به شناسایی گونه‌های مختلف ریزجلبک کرده‌اند که طی این تحقیق موفق به شناسایی ۱۰ سویه ریز جلبک از شاخه کلروفیتا و سیانوفیتا شدند (۲۳، ۳۲). گونه‌های *Leptolyngbya* sp.، *Coelastrella* sp.، *Scendesmus* sp.، *Pseudanabaena* sp. و *Dunaliella* sp. از جمله مواردی بودند که در این تحقیقات، مورد شناسایی مولکولی واقع شدند (۳۰). استان آذربایجان غربی یکی از مناطق کوهستانی کشور است و از آن جایی که توپوگرافی گسترده و متنوعی دارد، اکوسیستم‌های ویژه‌ای را نیز در خود جای داده است. سد خاکی کلوانس در ۳۶ کیلومتری شهرستان خوی واقع در شمال‌غرب کشور و در استان آذربایجان‌غربی قرار دارد. سد کلوانس از جمله منابع آبی مهم استان بوده و تامین‌کننده آب کشاورزی و شرب روستا می‌باشد. بر اساس مرور پیشینه پژوهش‌های انجام شده در مورد منابع آبی استان، هیچ گونه مطالعه جامعی در خصوص این منبع آبی مهم و پارامترهای فیزیکوشیمیایی آن، تاکنون صورت نگرفته است. هدف از این تحقیق، بررسی کیفیت آب، تنوع ریز جلبک‌ها و بررسی امکان تجارسازی کشت ریزجلبک‌ها محدود به سد می‌باشد. تحقیق حاضر،

[Downloaded from journal.aer.ac.ir on 2026-02-09]

تنوع جلبک‌های تک سلولی موجود در سد خاکی کلوانس با استفاده از روش‌های ریخت‌شناسی و مولکولی و بررسی برخی از پارامترهای فیزیکوشیمیایی که این منطقه به خود اختصاص داده است، مورد مطالعه قرار داده است.

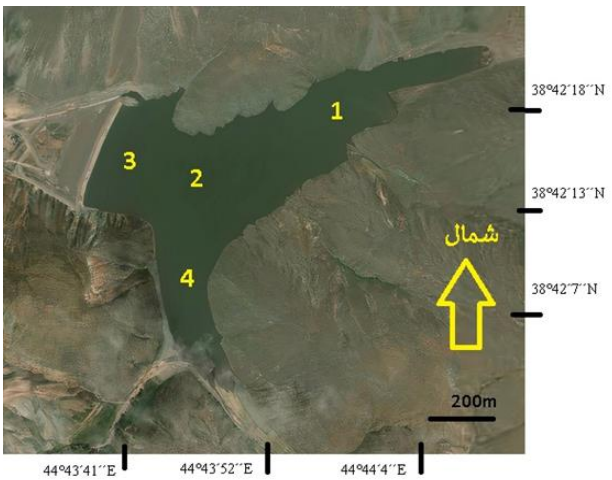
مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: نمونه‌برداری از آب سد کلوانس در آخرین ماه از فصل بهار و از ۴ ایستگاه نمونه‌برداری و در عمق متوسط هر ستون آبی انجام‌شد. نمونه اول از قسمت کم‌عمق سد (ناحیه شمالی) نمونه دوم از قسمت عمیق سد (ناحیه میانی)، نمونه سوم از قسمت دهانه سد (ناحیه شمال‌غربی) و نمونه چهارم از قسمت انتهایی سد (ناحیه شرقی) جمع‌آوری شد (شکل ۱). موقعیت ایستگاه‌های مطالعاتی تحقیق حاضر، در جدول ۱ ارائه شده است. نمونه‌برداری از آب منطقه مورد مطالعه با استفاده از تور پلانکتون‌گیری ویژه مجهز به مخزن نهایی از هر ایستگاه با سه تکرار نجام شد و به‌منظور نمونه‌برداری از ناحیه عمیق سد، با استفاده از روتنر از ناحیه میانی سد و از عمق ۲ تا ۳ متری اقدام به نمونه‌برداری‌شد. (۶، ۲۹) در زمان نمونه‌برداری، دمای آب هر ایستگاه به‌طور جداگانه با دماسنج دیجیتال اندازه‌گیری شد. تمامی نمونه برداری ها در یک روز آفتابی در میانه روز انجام شد زمانی که دمای هوا ۱۷ درجه سانتی گراد بود. بدین ترتیب شرایط اقلیمی در توزیع جلبک ها در سطح آب در ایستگاه های مختلف یکسان فرض شد. به‌علت جلوگیری از کاهش جلبک‌های تک‌سلولی توسط زئوپلانکتون‌ها، اقدام به تصفیه نمونه‌های آب جمع‌آوری شده گردید. نمونه‌های آب در ظروف پلی‌اتیلن ۱/۵ لیتری به آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه پیام‌نور خوی و آزمایشگاه تحقیقاتی شرکت دانش بنیان زیست‌فن‌گستراسپوتا انتقال داده شد. به منظور اندازه‌گیری فراسنجه‌های مواد جامد، از دستگاه مولتی‌متر (Metrohm, Sweden) استفاده شد.

جدول ۱: مشخصات جغرافیایی ایستگاه‌های نمونه‌برداری از سد کلوانس

شماره ایستگاه نمونه‌برداری	ارتفاع از سطح دریا (متر)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
۱	۱۹۳۹	۴۴° ۴۴′ ۱′′	۳۸° ۴۲′ ۱۸′′
۲	۱۹۳۹	۴۴° ۴۳′ ۴۶′′	۳۸° ۴۲′ ۱۳′′
۳	۱۹۳۹	۴۴° ۴۳′ ۴۲′′	۳۸° ۴۲′ ۱۵′′
۴	۱۹۳۸	۴۴° ۴۳′ ۴۶′′	۳۸° ۴۲′ ۵′′

کشت و جداسازی: در این تحقیق، به‌منظور کشت ریزجلبک‌ها از محیط‌کشت Walne استفاده شد (۱۰) به‌منظور تهیه محیط‌کشت والنه مقدار ۲ گرم کلرید منگنز، ۴ گرم کلرید آهن، ۶/۳ گرم اسید بوریک، ۴۵ گرم EDTA، ۲۰ گرم سدیم دی هیدروژن اروتوفسفات و ۱۰۰ گرم نیترات سدیم در ۱ لیتر آب‌مقطر و مقدار ۱/۲ گرم کلریدروی، ۱/۲ گرم کلرید کبالت، ۹ گرم مولیبدات آمونیوم، ۲ گرم سولفات مس و ۱۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. علاوه بر آن، به‌علت غنی‌سازی محیط‌کشت جلبک‌ها و تامین موادغذایی ضروری رشد، مقدار ۲ گرم ویتامین B_1 در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر و مقدار ۱ گرم ویتامین B_{12} در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر حل شد و به محیط‌کشت جلبک‌ها اضافه گردید. محیط کشت بعد از تهیه با استفاده از اتوکلاو استریل شد. ۲۵۰ میلی‌لیتر از هر کدام از نمونه‌های آب جمع‌آوری شده از منطقه مورد مطالعه با ۳ تکرار به همراه ۲۵ میلی‌لیتر از محلول غذایی تهیه شده، در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری قرار داده شد. نمونه‌های کشت داده شده در مقابل نور فلوئورسنت با شدت نور ۲۶۰۰ لوکس و در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد قرار داده‌شد (۳) و با جریان‌آرام هوادهی شد. پس از گذشت ۷ الی ۱۰ روز، با مشاهده شکوفایی جلبکی در نمونه‌های آب، به منظور بررسی با میکروسکوپ نوری معمولی (Olympas BX41TF, Japan) و میکروسکوپ اینورت (IM-3, Italy) ۵ نمونه از هر ارلن برداشته شد. خصوصیات موفومتریک نمونه‌های جلبک با استفاده از عدسی مدرج مورد اندازه‌گیری واقع شد.



شکل ۱: عکس هوایی منطقه مورد مطالعه و ایستگاه‌های نمونه‌برداری

کشت استریک جلبک‌ها بر محیط‌کشت جامد: محیط‌کشت جامد با افزودن مقدار معینی آگار به محلول کشت مایع، تهیه و به وسیله اتوکلاو استریل شد و بعد از خنک‌شدن به پتری‌دیش‌های متعددی انتقال داده شد. مقدار یک میکرولیتر از هر ارلن حاوی نمونه‌های جلبک برداشت شد و بعد از رقیق‌شدن با آب دو بار

[Downloaded from journal.aer.ac.ir on 2026-02-09]

تقطیر در سه تکرار (۱:۱۰، ۱:۲۰ و ۱:۵۰)، روی محیط‌کشت جامد کشت‌داده شد. پلیت‌ها به محیط رشد جلبک‌ها که قبلاً در آنجا قرار داشتند انتقال داده شد.

کشت نیمه‌انبوه در محیط‌کشت مایع: به‌منظور ایزوله‌سازی جلبک‌ها از طریق کشت آن‌ها در محیط مایع، مقدار ۱ میکرولیتر از محلول حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰ میلی‌لیتر ماده غذایی برداشت و به میکروتیوب منتقل شد. از هر پلیت منفرد حاوی نمونه‌های جلبک، یک کلنی جلبک برداشت و به درون میکروتیوب منتقل شد. میکروتیوب‌ها در معرض نور فلوئورسنت قرار داده شدند. بعد از گذشت ۷ الی ۱۰ روز، محلول داخل میکروتیوب‌ها، به ۱۰ لوله آزمایش حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر و ۲ میلی‌لیتر ماده غذایی pH=۶/۵، در مقابل نور فلوئورسنت قرار گرفت. نمونه‌های جلبک جدا شده از منطقه مورد مطالعه با استفاده از کلید شناسایی و با توجه به خصوصیات ریخت‌شناسایی مورد شناسایی واقع شدند (۹، ۱۵).

بررسی مولکولی: جهت دستیابی به یکی از اهداف این تحقیق، شناسایی دو جنس از جلبک‌هایی با ارزش اقتصادی موجود در محیط به‌روش مولکولی انجام پذیرفت. استخراج DNA از نمونه‌های جلبک به‌روش CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) انجام شد. به‌منظور اطمینان از استخراج DNA و کیفیت مناسب آن، مقدار ۵ میکرولیتر از محلول DNA استخراج شده به همراه ۲ میکرولیتر بافر لودینگ بر ژل آگارز ۱ درصد شارژ شد و با استفاده از الکتروفورز، حضور و یا عدم حضور باندها در ژل، قطر آن‌ها و شفافیت ژل آگارز مورد بررسی قرار گرفت. تعیین غلظت DNA از روش اسپکتروفوتومتری (DR2700.Hach,USA) انجام شد. بدین‌منظور، نسبت جذب نور در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر ارزیابی شد. آغازگر مورد نیاز برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)، از مطالعات پیشین مربوط به ناحیه هتروکروماتینی فاصله‌انداز ژنی (ITS) تهیه شد (۳۳). آغازگر رفت با توالی ′5-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3′ و آغازگر برگشت با توالی ′5-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′ به‌منظور تکثیر ناحیه ITS جنس *Scendesmus* و آغازگر رفت با توالی ′5-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3′ و آغازگر برگشت با توالی ′5-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′ به‌منظور تکثیر ناحیه ITS جنس *Haematococcus* مورد استفاده قرار گرفت (۷). غلظت مواد به‌کار رفته در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲: واکنشگرهای واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و غلظت استفاده شده

تکثیر ناحیه ITS در جنس *Scendesmus* (میکرولیتر)		تکثیر ناحیه ITS در جنس *Haematococcus* (میکرولیتر)	
آب دیونیزه	۴/۲	آب دیونیزه	۱۱/۵
بافر	۱	بافر	۱۲/۵
منیزیم‌کلرید	۱/۴	منیزیم‌کلرید	۱/۵ (میلی‌مول در لیتر)
نوکلئوتیدها	۰/۸	نوکلئوتیدها	۱۰ (میلی‌مول در لیتر)
آغازگر رفت	۰/۲	آغازگر رفت	۰/۵ (میلی‌مول در لیتر)
آغازگر برگشت	۰/۲	آغازگر برگشت	۰/۵ (میلی‌مول در لیتر)
DNA پلی‌مراز	۰/۲	DNA پلی‌مراز	۱
DNA	۲	DNA	۱

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (GE4852, China) در ۳۶ چرخه انجام شد. شرایط لازم برای واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، واسرشت سازی نهایی در دمای ۹۵ دجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه، مرحله اتصال آغازگرها در دمای ۴۸ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، مرحله بسط اولیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه و مرحله تکمیل زنجیره‌های ناقص DNA در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه بود. محصول نهایی PCR توسط ژل آگارز ۱ درصد جداسازی و به‌منظور آشکارسازی باندهای تولیدشده حاصل الکتروفورز، از دستگاه ژل‌داکیومنتیشن (UVITECBTS-20-MS.UVitec,UK) استفاده شد. پس از اطمینان از کیفیت قطعه تولید شده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، محصول تولیدشده برای انجام توالی‌یابی به شرکت سیناکلون ارسال گردید.

آنالیز اسیدهای چرب: در این مطالعه، برای تعیین ارزش غذایی اسیدهای چرب موجود در ۲ جنس جداشده، از دستگاه کروماتوگرافی گازی و براساس دستورالعمل Leibovitz انجام شد (۱۸). به این منظور، از اتر برای جداسازی اسیدهای چرب از ساختمان مولکولی تری‌آسیل گلیسرول‌ها و بافت جلبک استفاده شد. به‌منظور متیله‌سازی اسیدهای چرب، به چربی‌های استخراج‌شده به ازای هر یک گرم از چربی مقدار ۱۰ میلی‌لیتر هپتان نرمال و ۰/۱۵ میلی‌لیتر هیدروکسید پتاسیم متانولی افزوده شد. به این ترتیب گلیسرول از اسیدهای چرب جدا شده

[Downloaded from jnairjdaen.iau.ir on 2026-02-06 09:09-18]

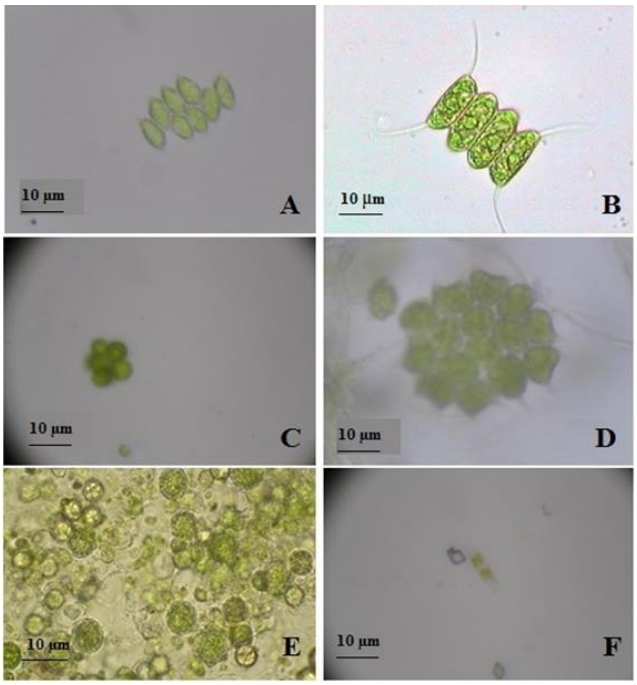
و رسوب داده و اسیدهای چرب متیله شدند. لایه فوقانی حاوی متیل استرهای اسیدچرب محلول در هپتان است. این قسمت با استفاده از سرنگ به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل و تا زمان تزریق به دستگاه گاز کروماتوگرافی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. آنالیز اسیدهای چرب در آزمایشگاه جهاد دانشگاهی ارومیه انجام شد. در مرحله بعد، نمونه‌های اسید چرب متیله‌شده به دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Warian و ستون BPX-70، ۰/۲۵ µM، M ۱۰۰۰، ۰/۲۲ × و گاز حامل هلیوم با شدت جریان ۱ ml/min تزریق شد. بعد از رسم منحنی کروماتوگرام مربوط به هر اسید چرب، نوع و میزان اسید چرب موجود در هر جلبک مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب منطقه مورد مطالعه:

نتایج حاصل از بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های جمع‌آوری شده آب از ایستگاه‌های تحت مطالعه در جدول ۳ ارائه شده‌است. بیش‌ترین میزان دمای آب سد کلوانس در زمان نمونه‌برداری متعلق به ایستگاه ۲ و برابر با ۱۵ درجه سانتی‌گراد بود. کم‌ترین مقدار درجه حرارت آب نیز مربوط به ایستگاه ۳ بود که این دما برابر با ۱۱ درجه سانتی‌گراد به ثبت رسید. میانگین pH آب ۶/۶۲ برآورد شد که دامنه تغییرات آن از حداقل ۵/۹ تا حداکثر ۷/۹ به ترتیب متعلق به ایستگاه‌های ۳ و ۴ بود. کم‌ترین مقدار اکسیژن محلول در آب سد کلوانس در ایستگاه ۳ و برابر با ۴/۸ میلی‌گرم بر لیتر و بیش‌ترین مقدار از این شاخص در ایستگاه ۲ و برابر با ۶ میلی‌گرم بر لیتر اندازه‌گیری شد. دامنه تغییرات هدایت الکتریکی آب در زمان نمونه‌برداری بین ۴۹۰ تا ۱۲۲۸ میکروزیمنس برآورد شد. کم‌ترین مقدار کل مواد جامد محلول در آب سد، در ناحیه کم عمق با ۵۸۰ میلی‌گرم بر لیتر و بیش‌ترین مقدار آن در ناحیه میانی سد با ۱۳۸۷ میلی‌گرم بر لیتر اندازه‌گیری شد. ناحیه انتهایی سد نسبت به دهانه سد از جامدات محلول کم‌تری برخوردار بود که مقدار آن به‌ترتیب ۹۸۱ و ۱۰۳۴ میلی‌گرم بر لیتر به ثبت رسید. بیش‌ترین مقدار نیترات ۱۳۸۷ و کم‌ترین مقدار آن ۵۸۰ بود که به ترتیب در ایستگاه‌های ۲ و ۱ ارزیابی شد.

نتایج مربوط به تنوع جلبک‌ها: تعدادی از جلبک‌های تک سلولی جداشده از سد کلوانس در شکل ۲ آورد شده است. در این تحقیق گونه هایی شامل *Haematococcus sp.*، *Navicula* sp.، *Scendesmus dimorpha*، *Pandorina* sp.، *Scendesmus* sp. و *Pediastrum boryanum* توسط کلیدهای شناسایی ثبت شدند.



شکل ۲: نمای میکروسکوپی از ریزجلبک‌های موجود در منطقه مورد مطالعه

A) *Pediastrum boryanum* B) *Scendesmus* sp. C) *Pandorina* sp. D) *Scendesmus dimorpha* E) *Navicula* sp. F) *Haematococcus* sp.

بررسی مولکولی: در شناسایی ریزجلبک‌های سندسموس و هماتوکوکوس در سطح مولکولی با استفاده از نشانگر ITS، تکثیر و تعیین توالی رشته DNA هدف انجام شد. بعد از آشکارسازی محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، اندازه قطعه تکثیرشده حدود ۷۰۰ جفت باز برآورد شد. بعد از تعیین توالی، هر کدام از نمونه‌های ریزجلبک به‌طور جداگانه در BLAST با سایر توالی‌های موجود در پایگاه داده ژنی انطباق داده شدند. نتایج حاصل از BLAST شباهت ۹۶/۶۱ درصدی توالی نمونه هماتوکوکوس مورد مطالعه در این تحقیق را با نمونه *Haematococcus lacustris* متعلق به هند نشان داد (کد دسترسی: KT285940.0). توالی نمونه سندسموس نیز با استفاده از BLAST با سایر توالی‌ها انطباق داده شد و نتایج چنین نشان داد که ریزجلبک مورد مطالعه بیش‌ترین شباهت را با ۹۹/۴۳ درصد با نمونه *Scendesmus* sp. متعلق به هند دارد (کد دسترسی: JX519261.1). توالی نوکلئوتیدی مورد مطالعه از دو گونه ریزجلبک جداشده از سد کلوانس در مطالعه حاضر، با شماره ON975001.0 برای جلبک هماتوکوکوس و ON955512.1 برای جلبک سندسموس در پایگاه داده NCBI به ثبت رسید.

[Downloaded from journal.aer.ac.ir on 2026-02-09]

جدول ۳: مشخصات فیزیکی و شیمیایی آب منطقه مورد مطالعه

پارامتر	واحد اندازه‌گیری	ایستگاه ۱	ایستگاه ۲	ایستگاه ۳	ایستگاه ۴
دمای آب	درجه سانتی‌گراد	۱۲±	۱۵±	۱۱±	۱۲±
pH	واحد استاندارد	۶±	۶±/۷	۵±/۹	۷±/۹
اکسیژن محلول	میلی‌گرم بر لیتر	۵±/۵	۶±	۴±/۸	۵±/۲
هدایت الکتریکی	میکروزیمنس	۱۲۲۰±	۴۹۰±	۹۹۵±	۱۲۲۸±
کل مواد جامد محلول	میلی‌گرم بر لیتر	۵۸۰±	۱۳۸۷±	۱۰۳۴±	۹۸۱±
کلرور	میلی‌گرم بر لیتر	۸۷±	۱۲۰±	۱۱۰±	۹۱±
نیترات	میلی‌گرم بر لیتر	۱۰±/۱	۱۵±	۹±/۸	۱۳±

بررسی ارزش غذایی نمونه‌های جداسازی‌شده از جلبک‌های تک‌سلولی: نتایج حاصل از بررسی اسیدهای چرب جدا شده از دو گونه ریزجلبک مورد مطالعه در جدول ۴ ارائه شده است.

جدول ۴: درصد اسیدهای چرب بلندزنجیره نسبت به کل اسیدهای چرب در ۲ نمونه جلبک مورد مطالعه

Haematococcus lacustris	*Scendesmus* sp.	General name	
			Saturated
۰/۰۰۲۳ ± ۰/۰۰۸۰	۰/۰۳۴۰ ± ۱/۰۴۸۰	Myristic	C14:0
۰/۸۲۷۰ ± ۶/۹۲۷۱	۱/۱۴۰۲ ± ۱۷/۵۶۸۰	Palmitic	C16:0
۰/۰۵۵۰ ± ۱/۴۷۸۲	۰/۱۳۱۷ ± ۶/۵۶۷۰	Stearic	C18:0
۰/۰۷۹۰ ± ۰/۸۷۳۱	۰/۰۴۱۶ ± ۲/۷۵۶۰	Arachidic	C20:0
۰/۰۲۷۰ ± ۰/۳۸۷	۰/۰۷۱۲ ± ۱/۳۴۹۶	Behenic	C22:0
			Monounsaturated
۰/۰۱۵۰ ± ۲/۱۱۱۹	۰/۰۱۷۰ ± ۱/۴۴۴۰	Myristoleic	C14:1n5
۰/۰۱۸۰ ± ۱/۴۹۸۲	۰/۰۲۶۰ ± ۲/۴۸۵۰	Palmitoleic	C16:1n7
۰/۰۲۹۰ ± ۲/۹۳۷۱	۰/۱۶۸۰ ± ۹/۹۲۸۰	Oleic	C18:1n9
۰/۰۲۲۰ ± ۲/۸۶۷۲	۰/۱۴۸۰ ± ۷/۰۹۳۷	Vaccenic	C18:1n7
			Polyunsaturated
۰/۰۷۴۰ ± ۲/۰۹۲۰	۱/۰۰۹۰ ± ۱۱/۰۶۸۴	Linoleic	C18:2n6
۰/۲۰۵۰ ± ۵/۶۸۵۳	۱/۰۱۷۰ ± ۱۳/۰۸۵۳	α-Linolenic	C18:3n3
۰/۰۱۴۰ ± ۳/۹۸۳۶	۰/۰۰۳۰ ± ۰/۰۶۵۴	γ-linolenic	C18:3n6
۰/۰۲۳۰ ± ۲/۸۴۶۳	۰/۰۱۱۰ ± ۰/۲۳۸۷	Stearidonic	C18:4n3
۰/۰۱۲۰ ± ۱/۳۶۹۵	۰/۰۲۷۰ ± ۰/۳۴۸۷	Arachidonic	C20:4n6
۰/۰۲۴۱ ± ۴/۲۵۷۶	۰/۰۳۷۰ ± ۰/۷۶۵۳	Eicosapentaenoic	C20:5n3
۰/۰۰۳۰ ± ۲/۲۷۹۱	NC	Docosapentaenoic	C22:5n6
۰/۰۲۶۰ ± ۳/۶۷۳۰	۰/۰۰۸۰ ± ۰/۴۳۴۳	Docosahexaenoic	C22:6n3

بحث

امروزه، مطالعه جلبک‌ها اعم از جلبک‌های پرسلولی و تک‌سلولی به علت کاربرد وسیع و ارزش اقتصادی زیاد، اهمیت بیش‌تری پیدا کرده است. نتایج بررسی فلور جلبکی سد کلوانس در تحقیق حاضر، نشان‌دهنده وجود گونه‌های متعلق به جنس‌های ناویکولا، هماتوکوکوس، پاندورینا و سندسموس بود. این بررسی بر خلاف انتظار تنوع نسبتاً کم ریزجلبک‌ها را در این ناحیه نشان داد که با کیفیت بالای آب، فقدان مواد آلی و هیپوتروفی شدید ناحیه مطابق بود. Makhlough و همکاران، بعد از بیان اهمیت مطالعات پایشی در دریای خزر به

[Downloaded from jwatrjdaenr.iau.ir on 2026-02-20 06:09:09-18]

علت بهره‌وری این منبع آبی در راستای شیلاتی، از شکوفایی جلبکی به‌عنوان یکی از عوامل مهم کاهش کیفیت آب یاد کردند. هم‌چنین، آن‌ها افزایش سطح تروفی اکوسیستم را یکی از مشکلات محیط‌زیستی قابل توجه دانستند. در مطالعه ایشان، تعداد ۱۲۵ گونه ریزجلبک متعلق به کلروفیتا و سیاوفیتا مورد شناسایی واقع شد (۲۲). با این حال وجود جلبک‌هایی مهم، با ارزش تجاری بالا، پناسیل منطقه را از دیدگاه‌های بیوتکنولوژیک تائید نمود. به‌طور مثال جنس هماتوکوکوس (*Haematococcus*) شناسایی شده در این مطالعه جلبکی تک‌سلولی و سبزرنگ است و از لحاظ آرایه‌شناسی، متعلق به شاخه کلروفیتا (Chlorophyta)، رده کلروفیسه (Chlorophysae) و راسته کلامیدومونالس (Chlamydomonales) می‌باشد. زیستگاه این جلبک، محیط‌های آب شیرین است (۲۶). جلبک‌های متعلق به خانواده هماتوکوکاسه (Haematococcaceae) از لحاظ ریخت‌شناسی دارای سلول‌های شعاعی شکلند و تاژک موجود در انتهای قدامی، تشخیص آن‌ها را تسهیل می‌کند. این گروه از ریزجلبک‌ها متحرکند و عمدتاً در اکوسیستم‌هایی با آب شیرین یافت می‌شوند (۱۷). ریزجلبک سندسموس (*Scendesmus*) جنسی از جلبک‌های سبز پلانکتونی است که در دریاچه‌ها و رودخانه‌های آب شیرین به‌وفور یافت می‌شوند. ریزجلبک‌ها به لحاظ تولید اسیدهای چرب و ذخیره آن‌ها به مقدار زیاد، حائز اهمیت می‌باشند. میزان تولید و ذخیره اسید چرب در گونه‌های مختلف ریزجلبک با یکدیگر متفاوت است با این حال، اسیدهای چرب اشباع مانند اسید لائوریک (C12:0)، اسید مریستیک (C14:0)، اسید پنتا دسیکلیک (C15:0)، اسید پالمتیک (C16:0) و اسید استئاریک (C18:0) به‌طور مشترک از گونه‌های متفاوت ریزجلبک‌ها جدا شده است. اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه زنجیره بلند از مهم‌ترین اسیدهای چرب استحصال شده از میکروجلبک‌ها هستند. نوع اخیر اسیدهای چرب شامل ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA)، آرشیدونیک اسید (AA) و لینولئیک اسید (LA) می‌باشد (۲۴). در مطالعه حاضر از نشانگر مولکولی فاصله‌گر رونویسی‌شونده (ITS) به منظور تایید گونه‌های شناسایی شده به‌روش ریخت‌شناسی مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به مرور منابع و بررسی تحقیقاتی که پیش از این تاکنون انجام شده است، چنین مشاهده شده است که استفاده از نشانگر ITS نتایج قابل قبولی را برای ایجاد تمایز بین گونه‌های مختلف جنس‌های ریزجلبک ارائه داده است. در مطالعه‌ای که در دریاچه آلماتی قزاقستان انجام شد، مطالعه ریزجلبک‌های جداشده از منطقه مورد مطالعه با استفاده از نشانگر مولکولی ITS، منجر به شناسایی ریزجلبک *Monoraphidium* sp. از رده کلروفیسه شد (۴). در مطالعه دیگری، از نشانگر ITS برای آنالیز مولکولی نمونه‌های جلبکی جدا شده استفاده شد که هدف از این مطالعه، بررسی گونه‌های شبیه به گونه‌های متعلق به جنس سندسموس بود. شش نمونه جلبکی مورد مطالعه در تحقیق اخیر، به لحاظ ریخت‌شناسی به گونه‌های جنس سندسموس تعلق داشتند در حالی که با بررسی ناحیه ITS نمونه‌ها نتایج چنین نشان داد که به گونه‌های *Acutodesmus obliquus*، *Desmodesmus communis*، *D.armatus* و *Pectinodesmus pectinatus* متعلق بودند (۲). به غیر از آستاگزانتین با خواص آنتی اکسیدانی و کاربرد وسیعی که دارد، جلبک‌ها دارای ترکیبات بسیار با ارزش دیگری نظیر اسیدهای چرب نیز می‌باشند. تجزیه و تحلیل اسیدهای چرب موجود در دو گونه *Haematococcus lacustris* و *Scendesmus* sp. نشان داد که میزان اسید چرب موجود در دو گونه نامبرده با یکدیگر متفاوت است. این اختلاف، در برخی از انواع اسیدهای چرب، خصوصاً اسیدهای چرب غیراشباع نظیر لینولنیک و لینولئیک بیش‌تر می‌باشد. عوامل زیادی بر رشد ریزجلبک‌ها تاثیرگذارند. این عوامل نه تنها فتوسنتز این مکروارگانیسم‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند بلکه نقش اساسی در میزان تولید زیست‌توده و ترکیب مواد سلولی و محصولات بیولوژیکی دارند. عوامل محیطی یکی از این فاکتورهای مهم و تاثیرگذار می‌باشند. بدین منظور، در زمان نمونه‌برداری اقدام به بررسی و ثبت متغیرهای محیطی در منطقه مورد مطالعه شد. شاخص دما در منطقه مورد مطالعه، شرایط متفاوتی را بین دهانه سد (ایستگاه ۳) و بخش میانی سد (ایستگاه ۲) نشان داد. میانگین اکسیژن محلول در آب سد کلوانس در ۴ ایستگاه نمونه‌برداری برابر با ۵/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر برآورد شد. استانداردهای ملی ذکر شده از طرف سازمان حفاظت از محیط‌زیست ایران (استاندارد ۱۰۵۳) مقدار مجاز اکسیژن محلول آب برای آشامیدن را ۵ میلی‌گرم بر لیتر تعیین کرده است (۱۹). با توجه به این استاندارد می‌توان چنین بیان کرد که آب سد کلوانس برای مصارف آشامیدنی و کشاورزی در وضعیت مناسبی قرار دارد. میزان اکسیژن محلول در ایستگاه شماره ۴ نمونه‌برداری نسبت به سایر ایستگاه‌ها مقدار بیش‌تری را به خود اختصاص داد که علت این امر را می‌توان به کاهش در انجام فعالیت‌هایی نظیر تنفس و یا تجزیه مواد آلی توسط میکروارگانیسم‌های این قسمت از منطقه مورد مطالعه نسبت داد. در قسمت انتهای سد، مقدار pH زیاد و با افزایش فاصله از این قسمت، مقدار pH کم می‌شود به‌صورتی که تا دهانه سد، این مقدار از ۷/۹ به ۵/۹ می‌رسد. برآورد میزان هدایت الکتریکی آب به عنوان شاخصی که بیانگر مسائل کیفی آب است همواره در بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی یک منبع آبی مورد توجه قرار می‌گیرد. بیش‌ترین مقدار از کل جامدات محلول در آب سد کلوانس، در ناحیه میانی سد برآورد شد. Lorestani و همکاران در تحقیق خود بیان کردند که مقدار هدایت الکتریکی آب در فصل بهار نسبت به سایر فصول سال به دلایل متعددی می‌تواند دچار تغییر شود. یکی از

[Downloaded from journal.aer.ac.ir on 2026-02-09]

مهم‌ترین دلایل بروز نوسان در هدایت الکتریکی در این فصل، سیستم لایه‌بندی آب‌دریاچه بیان‌شده است (۱۹). در تحقیق حاضر، به‌علت نمونه‌برداری از آب در فصل بهار بیش‌ترین میزان هدایت الکتریکی آب ۱۲۲۸ میکروزیمنس و در قسمت انتهایی سد برآورد شد. این امر می‌تواند علاوه بر وجود لایه‌بندی در آب دریاچه سد کلوانس به مقدار آب ورودی به سد از طریق باران و ورود املاح ناشی از شست و شوی خاک موجود در نواحی اطراف سد باشد. با این حال، این مقدار با توجه به مقدار مجاز بیان‌شده در استاندارد WHO (۰/۲۵ دسی‌زیمنس بر متر) در وضعیت مناسبی قرار دارد. مقدار کلرور و نیترات می‌تواند تحت‌نفوذ کودهای مصرفی در بخش کشاورزی و تخلیه فاضلاب صنعتی در آب و درنتیجه، آلودگی آب از این طریق، باشد. در تحقیق حاضر، بیش‌ترین مقدار کلرور و نیترات در ایستگاه شماره ۲ یعنی در بخش میانی و نسبتا عمیق سد برآورد شد. پس از بررسی تنوع جلبکی در منطقه مورد مطالعه در این تحقیق، می‌توان چنین اظهار داشت که چندین گونه شناسایی شده از جنس سندسموس و هماتوکوکوس از جمله فیتوپلانکتون‌های بسیار مهم و اقتصادی هستند که می‌توان آن‌ها را از دیدگاه بیوتکنولوژی مورد توجه قرار داد. هم‌چنین، تحقیق حاضر، برای نخستین بار علاوه بر بررسی تنوع جلبک‌های تک‌سلولی، روش‌های جداسازی و پرورش این گونه‌ها را مورد بازبینی و اجرا قرار داد. با وجود مقدماتی بودن چنین تحقیقاتی در ایران، ضمن تاکید بر استمرار این مطالعات، نوید نتایج ارزشمندتر داده می‌شود.

منابع

1. **Akbari, P. and Gorgij. S., 2018.** Effect of dietary *Colorella vulgaris* supplementation on growth performance feed and body chemical composition of grey mullet *Mugil cephalus* Linnaeus 1758. *Journal of Animal Environment*. 10(3): 153-158. (In Persian)
2. **Akgul, F., Kizilkaya, I.H., Akgul, R. and Erdugan, H., 2017.** Morphological and molecular characterization of Scendesmous-like species from Ergene River Basin (Thrace, Turkey). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 17(3): 609-619. doi: 10.4194/1303-2712-v17_3_17
3. **Bagheri, S. and Masoomizadeh, S.Z., 2017.** Copparative study of the growth of microalgae *Chlorella* sp. In marine water and non-sterile wastewater. *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 26(2): 153-162. doi: 10.22092/ISFJ.2017.113493 (In Persian)
4. **Balouch, H., Demirbag, Z., Zayadan, B.K., Sadvakasaova, A.K., Bolatkhan, K., Gencer, D. and Civelek, D., 2020.** Isolation, Identification, and antimicrobial activity of psychrophilic freshwater microalgae *Monoraphidium* sp. From Almaty region. I nternationan *Journal of Biology and Chemistry*. 13(1): 14-23. doi: 10.26577/ijbch.2020.v13.i1.02
5. **Brennan, L. and Owende, P., 2010.** Biofuels from microalgae. A review of technologies for preduction, processing, and xtractions of biofuels co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14(2): 557-577. doi: 10.1016/j.rser.2009.10.009
6. **Boney, A.D., 1989.** Phytoplankton. Edward Annoid. British Library Cataloging Publication Data. 118 p.
7. **Castellani, C. and Edwards, M., 2017.** Marine plankton: a practical guide to ecology, methodology, and taxonomy. United Kingdom: Oxford University Press. ISBN: 9780199233267
8. **Dawidziuk, A., Popiel, D., Luboinska, M., Grzebyk, M., Wisniewski, M. and Koczyk, G., 2017.** Assessing contamination of microalgal astaxanthin producer Haematococcus cultures with high-resolution melting cure analysis. *Journal of Applied Genetics*. 58(2): 277-285. doi: 10.1007/s13353-016-0378-x
9. **Edmonson, W.T., 1959.** Fresh water biology. New York, London: John Weley and Sons Inc. 1248 p.
10. **Endar, V., Hutabarat, J. and Prayitno, B., 2012.** Effect of using Guillard and Walne technical culture media on growth and fatty acid profiles of microalgae Skeletonema sp. in mass culture. *Journal of Coastal Development*. 16(1): 50-56.
11. **Ghani, N., Shahzadi, N., Sadaf, S., Ullah, I., Ali, E., Iqbal, J., Rafique, T. and Maqbool, M., 2020.** Isolation of several indigenous microalgae from Kallar Kahar Lake, Chakwal Pakistan. *Iranian Journal of Biotechnology*. 18(3): 70-19. doi: 10.30498/IJB.2020. 122025.2214
12. **Ghaffari, S., 2017.** Floristical study on the algae of Aras Rive. University of Tabriz. 148 p. (In Persian)
13. **Gobry, J.J., Bachwenkizi, H.S., Kimambo, O.N., Ngazssapa, F.N. and Kilulya. K.F., 2023.** Occurrence of

[Downloaded from journal.aer.ac.ir on 2026-02-09]

phytoplankton in the costal waters of southern Caspian Sea (2017-2019). *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 30(1): 93-105. doi: 10.22092/ISFJ.2021.123981 (In Persian)

23. **Manaffar, R., Moradkhani, S. and Yazdani, H., 2023.** A study on the diversity of unicellular algae genus in Lake Urmia whith an emphasis on *Dunaliella* species. *Biological Journal of Microorganisism*. 12(47): 39-62. doi: 10.22108/bjm.2023.135417.1502

24. **Muller, J., Paulg, M., Molkent, J., Ostermryer, U., Muilekom, D.R.V., Rebl, A., Golammer, T., Lindemeyer, J., Schultheib, T., Seibel, H. and Schulz, C., 2023.** Microalgae as functional feed for atlantic salmon: effects on growth, health, immunity, muscle fatty acid and pigment deposition. *Frontiers in Marine Science*. 10: 1273614. doi: 10.3389/fmars.2023.1273614

25. **Rezvanipour, V., Shaluei, F., Nikookhah, F. and Zamani, A.M.R., 2022.** The study of distribution and abundance of peripherals of Beheshtabad River in Chaharmahal and Bakhtiari pronince. *Journal of Wetland Ecobiology*. 13(1): 105-122. (In Persian)

26. **Safari, R., Mirbakhsh, M., Ghaffari, H., Reyhani, Poul, S., Rahmati, R. and Ebrahimzadeh, M., 2022.** Effect of temperature, pH and time factors on the stability and antioxidant activity of the extracted astaxantgin from Haematococcus microalgae (*Haematococcus pluvialis*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 31(1): 109-120. doi: 10.22092/ISFJ.2022.127136 (In Persian)

27. **Shah, M., Mahfuzar, R., Liang, Y., Cheng, J.J. and Darouch, M., 2016.** Astaxanthin-producing green microalgae *Haematococcus pluvialis*: from single cell to high value commertial products. *Frontiers in Plant Science*. 7: 531. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00531

28. **Shahri, E., Sayadi, M.H. and Yousefi, E., 2020.** Evaluation of heavy metal pollution of Zinc, Nickel, Chromium, Lead, Cadmium, Copper and Iron in water, surface sediments and algae of the northern shores of Makran Sea in summer 2020. *Journal of Animal Environment.* 12(4): 593-602. (In Persian)

29. **Sorina, A., 1978.** Phytoplankton manual. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization. 337 p.

hurmful blooms in freshwater sources of Mungu and Nyumba ya Mungu Dams, Tanzania. *Journal of Toxicology*. 7: 1-14. doi: 10.1155/2023/5532962

14. **Guiry, M.D., 2012** How many species of algae are there? *Journal of Phycology*. 48(5): 1057-1063. doi: 10.1111/j.1529.8817.2012.01222.x

15. **Jackson, T. and Parker, J., 2024.** Plankton: a worldwide guide. London: Princeton University Press.

16. **Khosravanizadeh, A., Rahdari, A. and Pakzad Toochaei, S., 2022.** Evaluation of growth, biomass, and pigment contents of *Dunaliella salina* cultivated in a deep aquifer well waters of Sistan. Iranian Scientific Fisheries Journal. 30(6): 127-143. (In Persian).

17. **Lee, R. E. 2018.** Phycology. Cambridge: Cambridge University Press. 224 p.

18. **Leibovitz, H.E., Benqrson, D.A., Mouqle, P.D., Simpson, K.L., 1987.** Artemia research and its application. Belgium: University press. 251-277. doi: 10.1007/978-94-017-0791-6_6

19. **Lorestani, B., Merrikhpour, H. and Cheraghi, M., 2020.** Cross-Sectional study of water quality changes in lake of Kalan Malayer dam (case study: 2017-2018). *Journal of Environmental Health Engineering*. 8(1): 99-116. doi: 10.52547/jehe.8.1.99 (In Persian)

20. **Makhlough, A., Nasrollahzadeh Saravi, H., Afraie, M.A., Eslami, F. and Keyhansani, A.R., 2018.** Determination of numerical scale of water quality based on the algal bloom potential in the southern Caspian Sea oharbaran (Mazandaran Province). *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 26(6): 69-79. doi: 10.22092/ISFJ.2018.115691 (In Persian)

21. **Makhlough, A., Nasrollahzadeh Sarvi, H., Afraei, M., Roohi, A., Nasrollahtabar, A. and Matifar, M. 2019.** The case study of *Ceratium hirundinella* as a sign of an environment changes in the center of Iranian coast of Caspian Sea (Farah Abad - 2018*). Iranian Scientific Fisheries Journal*. 28(2): 203-207. doi: 10.22092/ISFJ.2019.118895 (In Persian)

22. **Makhlough, A., Nasrollahzadeh Saravi, H., Roohi, A. Gh., Aghaei-Moghadam, A.A. and Kayhan-Sani, A.R., 2021.** Determination of algal bloom potential and water quality based on chloriphyli-a, abundance and biomass of

[Downloaded from journal.aer.ac.ir on 2026-02-09]

30. **Taherpanah, S., Noroozi, M., Hanachi, P. and Asgharani, E., 2023.** Morphological and molecular identification and antioxidant measurement in cultivated algae from unusual waters os Semnan and Garmsar (Semnan, Iran). *Journal of Phycological Research*. 7(1): 1025-1039.

31. **Tham, P.E., Lim, H.R., Khoo, K.Sh., Chew, K.W., Yp, Y.J., Munawaroh, H.H., Ma, Z., Rajendran, S., Gnanasekarah, L. and Show, P.L., 2023.** Insights of microalgae-based feed: a review on circular bioeconimy and prespectives. *Algae Research*. 74: 103186. doi: 10. 1016/j.algal.2023.103186

32. **Ullah, N., Mumtaz, A.S., Minhas, L.A., Kaleem, M., Waqar, R., Tabeen, A. and Hanif, A., 2023.** Morpho taxonomic identification and seasonal correlation between algal diversity and water physico-chemical parameters in district Bajaur Khyber Pakhtunkhwa. *Pakistan Journal of Agricultural Research*. 36(3): 193-206. doi: 10.17582/ journal.pjar/2023/36.3.193.206

33. **White, T.J., Bruns, T. and Lee, S., 1990.** PCR protocols: a guide to methods and applications. New York: Academic Press INC. 26 p.

[Downloaded from journal.jaerdan.com on 2026-02-09]