جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

چهارمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران
کرمان مردادماه ۱۳۸٤

مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی
International Center For Science & high Technology and Environmental Sciences

The 4th National Biotechnology congress
Islamic Republic of Iran
Kerman august 2005

بسمه تعالی

شناسايي جلبک همزيست زوگسانتله (Zooxanthellae) با گونه‌اي از مرجانهاي آبسنگساز خليج‌فارس *(Acropora clathrata)* به روش مولکولي

قوام مصطفوي پرگل[1]، شاه حسيني محمدحسن[2]، فاطمي سيدمحمدرضا[1] و کاظمي بهرام[3]
۱ـ دانشگاه آزاد اسلامي واحد علوم و تحقيقات fatemi@tavana.net , pargolmostafavi@yahoo.com ۲ـ دانشگاه آزاد اسلامي واحد شهريار/شهر قدس- گروه ميکروب‌شناسي shahhosseiny@yahoo.com
۳- مرکز تحقيقات بيولوژي سلولي و مولکولي - دانشگاه علوم‌پزشکي شهيد بهشتي - دانشکده پزشکي kazemi@sbmu.ac.ir

چکيده

آبسنگ‌هاي مرجاني داراي جوامعي همزيست از جلبکهاي تک‌سلولي تاژکدار از جنس *Symbiodinium* مي‌باشند. اين جلبک های تک سلولی در اصطلاح زوگسانتله نامیده مي‌شوند که از نظر رده‌بندي بسيار متنوع بوده و نقش مهمي در تأمين کربنات کلسيم براي مرجان‌ها و در نتيجه آهکي شدن آن‌ها ايفاء مي‌کنند. تغييرات شديد حرارت , از جمله گرم شدن بيش از حد آب دريا از جمله عواملي است که باعث جدا شدن زوگسانتله از مرجان‌ها شده و باعث پديده سفيدشدگي و در نهايت مرگ مرجان‌ها مي‌گردد. به نظر مي‌رسد که برخي از کلادهاي (Clades) زوگسانتله مقاومت بيشتري نسبت به تغيير شرايط محيطي دارند. امروزه با استفاده از روشهاي مولکولي مي‌توان اين کلادها را شناسايي کرد. تاکنون در مناطق آبسنگي مختلف دنيا تعدادي از اين کلادها شناسايي گرديده و کلادهاي A ، B ، C ، D ، E و F گزارش شده است .

در اين تحقيق مرجان گونه *Acropora clathrata* از عمق حدود ۳/۵ متر جمع‌آوري شده و سپس در بافر نمکي DMSO نگهداري و توده جلبکي زوگسانتله با استفاده از بافر DNAB و دستگاه شستشو با هوا (Air Brush) از مرجان جدا گرديد.

DNA زوگسانتله مورد نظر با استفاده از بافر ستيل تری متيل آمونيوم بروماید(CTAB) و استفاده از کلروفرم استخراج و قطعه مورد نظر به روش PCR (Polymerase Chain Reaction) تکثير گرديد.

با استفاده از روش RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) مي‌توان کلاد مورد نظر را شناسايي کرد. هضم آنزيمي با استفاده از آنزيم Hha I وTaq I صورت گرفت. بر مبنای نتايج حاصله مشخص شد که الگوي برش آنزيمي اين مطالعه با الگوي انجام شده در حاشيه جنوبي خليج‌فارس مقايسه و با هيچ کدام از کلادهاي شناسايي شده در آن ناحيه مطابق نبود. محصول مورد نظر سکانس گرديد و نوع کلاد آن E تشخيص داده شد.

واژه‌هاي کليدي : خليج فارس , *Symbiodinium* ، آبسنگ‌هاي مرجاني، زوگسانتله , PCR ، RFLP و جزيره کيش

Molecular identification of symbiotic dinoflagellate (Zooxanthellae) from *Acropora clathrata* , kish Island, northern Persian Gulf

Abstract

Scleractinian coral species contain communities of multiple symbiont taxa in the genus *Symbiodinium* . *Symbiodinium* is extraordinarily diverse, and consist of as many as six clades A, B, C, D, E and F. Seawater warming disrupted coral symbiosis, resulting in bleaching (loss of symbiotic zooxanthellae and/or a reduction in their per-cell pigment concentrations). Reef-building corals of the Persian Gulf are routinely subject to environmental harsh conditions including high salinity and seasonal temprature fluctuations. *In situ* studies have shown that some symbiont taxa are more resistant to bleaching caused by temperature stress. In this study molecular techniques were used to identify the symbiotic dinoflagellates (zooxanthellae) of reef corals on the basis of clade identification Samples of coral (*Acropora clathrata*) collected from 3-6 meters depth by diving from eastern part of the kish Island in the northen Persian Gulf, Iran, and preserved in saline DMSO buffer. Coral tissue was removed from the underlying skeleton using an airbrush and modified DNAB buffer. DNA then was extracted from the cell using established methods involving CTAB and chloroform. Large subunit (LSU) ribosomal RNA (rRNA) genes were amplified by Polymerase Chain Reaction (PCR). The results show that PCR product is about 670bp and then Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLPs) in PCR product was analyzed using TaqI and HhaI restriction enzymes. *Symbiodinium* types were classified by comparing the results obtained using RFLP by Baker(2003)in south part of the Persian Gulf. Accordingly ,we found a new clade E that was then confirmed by sequencing.

مقدمه :

آبسنگ‌هاي مرجاني خليج‌فارس بعلت شرايط خاص محيطي که شوري بالا و نوسانات شديد دمايي است، همواره تحت استرس مي‌باشند. تشکيل آبسنگ‌هاي مرجاني بعلت همزيستي نوعي تاژکدار تک‌سلولي به نام زوگسانتله (Zooxanthellae) با مرجان‌ها مي‌باشد که متعلق به جنس *Symbiodinium* است. اين جلبک تک‌سلولي تأمين کربنات کلسيم براي مرجان را بر عهده داشته و باعث آهکي شدن آنها و در نتيجه تشکيل آبسنگ‌هاي مرجاني

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مي‌شود(Birkeland,1996). در پديده سفيدشدگي مرجان‌ها كه بعلت گرم شدن يا سرد شدن بيش از حد آب دريا در اثر عوامل مختلف جوى از جمله پديدهء ال‌نينو مي‌باشد، زوگسانتله ها از مرجان جدا شده و باعث سفيد شدن و در صورت ادامه يافتن موجب مرگ مرجان ها مى گردند (Baker, 2003).

شناسايى زوگسانتله ها بر مبناى خصوصيات ظاهرى امكان پذير نبوده, بلكه با استفاده از روشهاي مولكولي مي‌توان كلادهاي مختلف زوگسانتله را شناسايي كرد. امروزه اين كلادها در آبسنگ‌هاي مرجاني نقاط مختلف دنيا , از جمله در ساحل جنوبي خليج‌فارس حاشيه عربستان شناسايي شده است كه شامل كلادهاي A, B, C , D و مي‌باشند (Baker, 2003) .

به نظر مي‌رسد كه برخي از اين كلادها مقاومت بيشتري نسبت به تغيير شرايط محيطي دارند و حضور آنها باعث بقاء مرجان‌ها در شرايط نامساعد مي‌گردد. در ايران تاكنون هيچ مطالعه‌اي در اين زمينه صورت نگرفته و مشخص نيست كه چه كلادهايي بر روي آبسنگ‌هاي مرجاني شمال خليج‌فارس وجود دارند. در اين تحقيق زوگسانتله‌هاي موجود بر روي يک گونه مرجان در حاشيه شرقي جزيرهٔ كيش با استفاده از روش PCR و RFLP مورد بررسي قرار گرفته است.

مواد و روشها

گونه *Acropora clathrata* كه جزء انواع شاخص و غالب مرجان های شاخه ای (Branching) است, از ساحل شرقي جزيره كيش از عمق حدود ۳/۵ متر نمونه‌برداري شـد. نمونه‌ها در بافر نمكي DMSO (250mM EDTA, DMSO 20%) اشباع شده با NaCl) نگهداري و سپس با بافر DNAB (50mM EDTA, 0.4M NaCl) و با استفاده از دستگاه شستشو با هوا شسته شده و توده لزج زوگسانتله از مرجان خارج گرديد. با استفاده از بافر ستيل ترى متيل آمونيوم بروماید CTAB) ، پروتئيناز K و كلروفرم DNA زوگسانتله استخراج و قطعه مورد نظر كه ژن (LSU rRNA) Large Subunit Ribosomal RNA Gene است، با استفاده از پرايمرهاي اختصاصي (Rowan and Power, 1991) به روش PCR تكثير گرديد (Baker, 2003).

اندازه محصول بدست آمده ۶۷۰ جفت باز بوده و بر روي آن هضم آنزيمي با آنزيم Taq I و Hha I صورت گرفت كه نتيجه آن بر روي ژل آگارز ۲% مشاهده شد.

نتایج و بحث

الگوی الکتروفورزی محصول PCR پس از هضم با دو آنزیم Hha I و Taq I مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که کلاد این گونه مرجان از نوع E می باشد. پس از مقايسه اين الگو با الگوي مربوط به نمونه‌هاى مربوط به حاشيه عربستان كه با دو آنزيم فوق برش داده شده‌اند، به نظر مي‌رسد كلادي از زوگسانتله كه بصورت همزيست بر روي اين گونه مرجان در ساحل شرقي جزيره كيش زندگي مي‌كند، با كلاد حاشيه عربستان تفاوت دارد كه فقط شامل كلاد هاى A, B, C, D مى باشند. با انجام سكانس و مقايسه با Gene Bank اين موضوع تأييد شد و كلاد جديد جزء گروه كلاد E مي‌باشد.

در بررسي كلادهاي حاشيه جنوبي خليج‌فارس اينگونه به نظر مي‌رسد كه كلاد D مقاومت بيشتري نسبت به تغيير شرايط محيطي داشته و شرايط نامساعد را بهتر تحمل مي‌كند و گونه‌هايي از مرجان ها كه داراي اين كلاد هستند، در برابر پديده سفيدشدگي مقاومت بيشتري از خود نشان مي‌دهند (Baker,2003).

تشكّر و قدرداني

با تشكّر از پرسنل محترم مركز تحقيقات بيولوژي سلولي و مولكولي دانشگاه علوم‌پزشكي شهيد بهشتي خانم ها بنده‌پور و سيد و همچنين آقاي محمدرضا شكري كه نقش مؤثري در نمونه‌برداري اين تحقيق بر عهده داشته‌اند.

منابع

1. Baker, C.A., Jones IV, S.H., and Lee, S.T. (2003). Symbiont diversity in Arabian corals and its relation to patterns of contemporary and historical environment stress (In press).
2. Birkeland,Ch.,1996.Life and death of coralreef.Chapman and Hall,London,P:536.
3. Rowan, R.and D.A, Power.1991a.A molecular genetic classification of zooxanthellae and evolution of animal-algal symbiosis. Science 251:1348-1351.