امـروزه ایجاد بانک DNA و بانـک ژن مهمترین راه حفظ گونه های در معرض خطر تهدید در دنیا اسـت که این امر به کمک علم بیوتکنولوژی فراهم شـده اسـت. گونه ارس (Juniperuspolycarpos) با استناد به طبقـه بندی IUCN و Red data book به عنوان یک گونه در معرض خطـر تهدید انقراض مطرح اسـت که امروزه حفاظـت ویژه این گونه با توجـه بـه روند رو به انقراض آن به دلیل تخریب زیسـتگاهها و مصارف متعـدد، حائز اهمیت اسـت. این گیاه یکی از عناصـر رلیک و گونه نادر و ارزشمند فراموش شـده ای است که در ترکیب و تنوع عناصر رویشی جنگل های ارسباران می تواند جایگاه بسیار ویژه ای داشته باشد. بنابراین در مطالعه حاضر جهت ایجاد بانک DNA این گونه ارزشمند، ابتدا نمونه برداری از جمعیت های آن در منطقه حفاظت شـده ارسـباران با ثبت کامل مشخصات و مطابق استاندارد سازمان حفاظت محیط زیست انجام و سـپس نمونه ها جهت استخراج DNA به بانک ژن اداره کل حفاظت محیط زیست آذربایجانشرقی انتقال یافت. استخراج DNA با استفاده از روش بهینه شـده C-TAB همراه بـا ذوب و انجماد مکرر انجام و پس از تعیین کمیت و کیفیت DNA با دو روش اسپکتوفتومتری(پیکودراپ) و الکتروفورز (با استفاده از مارکر ۱ کیلوباز) و ثبت غلظتهای بدست آمده، در دمای ۸۰- درجه در فریزر مخصوص بانک ژن ذخیره گردید. هدف از اجرای این طرح تهیه بانک DNA این گونه جهت انجام مطالعات مولکولی آتی و بررسی های مربوط به تنوع ژنتیکی در راستای حفظ گونه های در معرض تهدید است.

کلمات کلیدی: IUCN- بانک DNA- اسپکتوفتومتری- منطقه حفاظت شده ارسباران- ارس

معرفی اعضای قلمرو آرکی در ایران

■ علی مخدومی کاخکی[۱و۳]، محمد علی آموزگار[۲و۳]
۱. دانشگاه فردوسی مشهد- دانشکده علوم- گروه زیست شناسی
۲. دانشگاه تهران- دانشکده زیست شناسی- آزمایشگاه اکستریموفیل ها
۳. جهاد دانشگاهی، مرکز ملی ذخایر زیستی و ژنتیکی ایران بانک میکروارگانیسم

در اواخـر دهه هفتاد میلادی گروهی از میکروارگانیزم ها به دلیل تفاوت هـای متعدد با هر کـدام از دو قلمرو یوکاریوت ها و باکتری ها به عنوان سـومین قلمرو حیات و با عنوان آرکی ها معرفی شـدند. میکروارگانیزم های نمک دوسـت افراطی که به حداقل ۱/۵ مولار نمک برای رشد نیاز دارند از اعضای شاخص این قلمرو تازه شناخته شده می باشند. به منظور جداسـازی و شناسایی اولین آرکی های متعلق به ایران نمونه برداری از محیط های پرشور انجام و در محیط کشت واجد ۲۳٪ نمک تلقیح گردید. محیط های کشت به مدت حداقل دو ماه در دمای ۴۰°C نگهداری شدند. با انجام کشت های متوالی جدایه های خالص بدست آمدند. جدایه های حساس به ماده ضد میکروبی آنیزومایسین به عنوان سویه های متعلق به قلمرو آرکی شناسایی شدند. مطالعات تکمیلی برای معرفی جایگاه دقیق سیسـتماتیک این سویه ها براساس دیدگاه پلی فازیک شامل روش‌های مولکولی (تعییـن توالی ژن 16S rRNA و تعیین میزان G+C سـویه ها)، روش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی (مصرف منابع کربنی و تولید اسـید، تعیین دامنه تحمل و بهینه رشـد +NaCl، Mg2، دما و pH) و شیموتاکسونمی (تعیین لیپید قطبی) انجام گردید. ژن 16S rRNA سویه ها با اسـتفاده از پرایمرهای جهانشمول ۲۱F و ۱۴۹۲R تکثیر و تعیین توالی گردید. بر این اسـاس سه سویه EB21، EB27 و DC30 به دلیل میزان شـباهت پایین با دیگر آرکی های شناخته شده (<۹۰٪ شباهت) به عنوان نامزدهای تاکسون های جدید انتخاب شدند. درخت فیلوژنتیکی رسم شده این سویه ها با استفاده از نرم افزار MEGA ۵ و همچنین ترکیب لیپید قطبی آنها ارتباط اندک این سویه ها با دیگر آرکی های شناسایی شده تا کنون را تایید کرد. بر این اساس اولین آرکی های متعلق به ایران با نام های Halovenus aranensis,iranensis Haloarchaeobius و Halopenitus persicus در مجله معتبر سیسـتماتیک پروکاریوت ها IJSEM معرفی گردید. این تاکسـون های جدید در مرکز ملی ذخایر ژیستی و ژنتیکی ایران به شماره دسترسی IBRC-M ۱۰۰۱۵، IBRC-M ۱۰۰۱۳ و IBRC-M ۱۰۰۴۱نگهداری می شوند.

کلمـات کلیدی: آرکی، نمک دوست افراطی، سیستماتیک پروکاریوت ها، محیط های پرشور

Molecular methods applied for identification the microbial diversity in a hypersaline environment

■ **Ali Makhdoumi-Kakhki[1,3], Mohammad Ali Amoozegar[2,3]**
1. Department of Biology, School of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, 91775-1436 Mashhad, Iran
2. Extremophiles Lab., Department of Microbiology, Faculty of Biology, College of Science, University of Tehran, Tehran, Iran
3. Microorganism Bank, Iranian Biological Resource Centre (IBRC), ACECR Tehran-Iran

Microbial community represents more than half the biomass on the Earth. A gram of soil, for example, contains millions of microorganisms of difference groups (4000 different ones). However most of the environmental microorganisms are un-culturable (90-99%) and could not be isolated in laboratory conditions. There are huge biotechnological capabilities in these groups of microorganisms since it is necessary to consider this kind of microorganisms in biodiversity studies. Prokaryotic diversity in Aran-Bidgol salt lake, a thalasohaline lake in Iran, was studied by fluorescence in situ hybridization (FISH), denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) of PCR-amplified fragments of 16S rRNA genes and 16S rRNA gene clone library analysis. Total cell abundances in the lake determined by DAPI direct count was 3-4×107 cells/ml. The proportion of Bacteria to Archaea in the community detectable by FISH, applying archaeal and bacterial specific probes was unexpectedly high and ranged between 1:3 and 1:2. Genomic DNA was directly extracted from environments and 16S rRNA of both domains was PCR-amplified. The PCR products of expected size (1500 bp) were gel purified (DNA extraction kit, Roche, Germany) ligated into pGEM-T cloning vector (Promega, USA) and used to transform E.coli DH5α cells. We constructed total of eight clone libraries. Analysis of inserts of 100 clones from these libraries constructed revealed a total of 37 OTUs. A majority (63 %) of these sequences were not related to any previously identified taxa. Within this sampling effort we most frequently retrieved phylotypes related to Halorhabdus (16 % of archaeal sequences obtained) and Salinibacter (36 % of bacterial sequences obtained). Other prokaryotic groups that were abundant included representatives of Haloquadratum, the anaerobic genera Halanaerobium and Halocella, purple sulfur bacteria of the genus Halorhodospira and Cyanobacteria.

Keywords: Molecular methods, Archaea, Bacteria, Halophilic microorganisms, Prokaryotic diversity.

اهمیت تشخیص آلودگی مایکوپلاسما در کشت سلول: تجربیات بانک سلولی مرکز ملی ذخایر ژنتیکی وزیستی

■ (PhD)، سید ابوالحسن شاهزاده فاضلی (PhD)، پروانه فرزانه زهرا مرادمند
مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران - بانک سلول های انسانی و جانوری
تهران، خیابان سهرودی شمالی، خیابان هویزه غربی، شماره ۸۰

مایکوپلاسما یک پروکاریوت است که به عنوان شایع ترین خطر ایجاد آلودگی در کشت های سلولی محسوب می شود. نبود دیواره سلولی در مایکوپلاسما و از طرف دیگر چسبندگی آنها به سطح سلول باعث می شود که از چشم غیر مسلح مخفی بمانند و به دلیل سایز کوچک،آنها می توانند از فیلتر های ۰,۲ میکرومتری که برای جلوگیری از آلودگی های باکتری و قارچی استفاده می شوند، عبور کنندو توانایی بالقوه ای برای گسترش در آزمایشگاه های کشت سلولی دارند. از آن جا که استفاده از سلولهای آلوده تقریباً همه جنبه های فیزیولوژی سلول را به مخاطره می اندازد و اغلب منجر به نتایج نادرست یا از دست رفتن رده های با ارزش می شود، بنابراین ضروری است که سلولهایی که به هر منظور برای آزمایشهای زیستی یا کاربردهای درمانی استفاده می شوند از نظر آلودگی به مایکوپلاسما چک شوند. روش‌های متعددی برای بررسی آلودگی به مایکوپلاسما وجود دارد که سه روش PCR،رنگ آمیزی DNA وکشت مستقیم در بانک های مختلف جهان رایج است.توصیه شده است که بطور همزمان به منظور تأیید نتیجه نهایی حداقل دو روش از سه روش مذکور به موازات همدیگر انجام شود.شایان ذکر است که هر سه روش در مرکز ملی ذخایر ژنتیکی زیستی ایران انجام می شود. نتایج حاصل از بررسی آلودگی های مایکوپلاسمایی نمونه های مختلف ارجاع شده از محققین،بانک های سلولی و مراکز تحقیقاتی و دانشگاهی کشور نشان می دهد که در حدود ۹۰٪نمونه ها به مایکوپلاسما آلوده اند واین اهمیت پایش آلودگی را نشان می دهد.

بررسی نقش گونه وارداتی Eucalyptus regnans در تغییر پوشش گیاهی و زیستی نواحی هم جوار

■ فرهنگ مراقبی[1]، فرناز افدیده[2]، زینب زنگنه[2]
۱. دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرری-گروه زیست شناسی-تهران-ایران
f.moraghebi@yahoo.com and moraghebi@yahoo.com
۲. دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرری-باشگاه پژوهشگران جوان-تهران-ایران