Rostaniha 20(1): 80–84 (2019) – Short Report
رستنیها ۲۰(۱): ۸۴–۸۰ (۱۳۹۸) - گزارش کوتاه
DOI: 10.22092/botany.2019.126338.1153

نخستین گزارش از ریزجلبک *Amorphochlora amoebiformis* برای ایران

دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۳۰ / پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۰۴

راضیه تقوی‌زاد: استادیار گروه زیست‌شناسی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (ra_taghavizad@yahoo.com)

ریزجلبکی متعلق به تیره *Chlorarachniaceae* از رواناب‌های کم‌عمق در جنوب تهران یافت شد و پس از بررسی‌های ریخت‌شناختی و مطالعه ساختار درون‌سلولی و همچنین تطبیق با کلید شناسایی هیراکاوا و همکاران (Hirakawa *et al.* 2011)، *Amorphochlora amoebiformis* تعیین نام گردید که در این گزارش برای نخستین بار از ایران معرفی می‌شود. این گونه از جلبک‌های سبز اشتقاق و تکامل یافته و از همزیستی درونی ثانویه یک جلبک سبز با یک آمیب تاژه‌دار حاصل شده است. این همزیستی سبب شده تا دو ویژگی فتوسنتزکنندگی و آمیبی توأمان در این گونه پدیدار شود. داشتن شکل مثلثی در حالت عادی با تعداد زیادی پای کاذب نخ مانند و ضربان‌دار در گوشه‌های سلول، تبدیل شکل مثلثی به کشیده به هنگام حرکت، فقدان تاژک، حرکات منسجم و نسبتا تند، رفتار متاستاز گونه، ابعادی دو برابر بزرگتر از نمونه‌های پیشین و سازگاری به زیست در رواناب کم‌عمق، از ویژگی‌های این جلبک محسوب می‌شود. گونه‌های همراه با این گونه از جنس‌های *Cosmarium*، *Chlorella* و *Gleocapsa* بودند.

واژه‌های کلیدی: اندوسیمبیوزیس، اندوسیمبیونت، پلاستیدهای ثانویه، سیانوفیسه، لوتارلّا آموئبیفرمیس

تاکنون هیچ جنسی از تیره *Chlorarachniaceae* در ایران گزارش نشده است. گونه *Amorphochlora amoebiformis* (Ishida & Y. Hara) Ishida, Yabuki & S. Ota از این تیره قبلا به طور محدود از کشورهای ژاپن و عربستان سعودی گزارش شده و اکنون برای نخستین بار از ایران معرفی می‌گردد.

تیره *Chlorarachniaceae* در برگیرنده هشت جنس و ۱۲ گونه است (Ota *et al.* 2009). گونه *Amorphochlora amoebiformis* یکی از گونه‌های معرفی شده از این تیره به شمار می‌آید که پیش از این با عنوان *Lotharella amoebiformis* شناخته می‌شد. با توجه به مطالعات ریخت‌شناختی و فیلوژنتیک صورت گرفته و اختلافات ظاهری و ژنتیکی این آرایه با *Lotharella*، امروزه این جلبک در قالب جنس *Amorphochlora* و با عنوان *Amorphochlora amoebiformis* شناخته می‌شود (Ishida *et al.* 2011).

محققان زیستگاه‌های متفاوتی را برای *Amorphochlora* گزارش کرده‌اند. جلبک مذکور در ژاپن روی ماسه مشاهده شده (Hirakawa *et al.* 2011)، در حالی که در عربستان سعودی روی مناطق رسوبی یافت شده است (Wold 2015). زیستگاه سایر جلبک‌های شاخه *Chlorarachniophyta* توسط وهر و همکاران (Wehr *et al.* 2015)، آب‌های شیرین و براساس کاوالیر-اسمیت (Cavalier-Smith 2018)، آب‌های شور و شیرین گزارش شده است.

چگونگی اشتقاق *Chlorarachniophyta* از جلبک‌های سبز برای زیست‌شناسان علاقمند به منشا و تکامل کلروپلاست‌ها جاذبه زیادی دارد، زیرا بیانگر تکامل گروهی از جلبک‌هاست (Keeling *et al.* 2009). براساس یک نظریه رایج، حدود یک بیلیون سال پیش، یک سیانوباکتر به وسیله یک یوکاریوت هتروتروف بلعیده شد و در نتیجه یک پلاستید ابتدایی به طور مستقیم با جذب این سیانوباکتر به وجود آمد (Gould *et al.* 2008). اجداد جلبکی سبز و قرمز در اندوسیمبیوزیس‌های ثانویه درگیر شدند تا پلاستیدهای ثانویه مرکب به وجود آیند (Baurain *et al.* 2010). در کلراراکنیوفیت‌ها یک آمیب سرکوزا به نام *Rhizaria* یوکاریوت همزیست مافوق است (Archibald 2012). در بیشتر حالات، جلبک اندوسیتوز شده همچنان که احاطه می‌شد ژنوم یوکاریوتیکی خود را از دست داد، اما در دو گروه جلبکی کریپتوفیت‌ها و کلراراکنیوفیت‌ها، پلاستیدهای ثانویه، یک هسته تحلیل رفته و محصولات کد شده را در محفظه پری‌پلاستی حفظ کردند (Hirakawa *et al.* 2010).

رواناب‌های شهری چون در تداخل عملکردی با زندگی انسان هستند و در ترکیب مواد رودخانه‌ای نیز نقش دارند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند و می‌بایست مورد بررسی بیشتر قرار گیرند، ولی متاسفانه اغلب به ترکیبات شیمیایی و عناصر و آلودگی‌های رواناب پرداخته می‌شود و از موجودات زنده تشکیل دهنده آن غفلت می‌شود.

گونه *Amorphochlora amoebiformis* در رواناب‌های کم- عمق جنوب تهران با طول جغرافیایی ″۴۹ ،′۲۱ ،°۵۱ و عرض جغرافیایی ″۳۴ ،′۳۳ ،°۳۵ و ارتفاع ۱۰۳۸ متر از سطح دریا یافت شد. نمونه‌های جلبکی که در اواخر فصل بهار و تابستان سال ۹۶ توسط نگارنده جمع‌آوری شده بود، در محلول فرمالدهید ۴٪ درون ظرف‌های شیشه‌ای مخصوص تثبیت شد و سپس در آزمایشگاه واحد یادگار امام خمینی (ره) دانشگاه آزاد اسلامی ذخیره گردید. مشاهدات میکروسکوپی ریخت‌شناختی، درون- سلولی و بررسی‌های رفتاری با میکروسکوپ نوری انجام و سپس مورد عکس‌برداری قرار گرفت. برای شناسایی گونه‌ها از کلیدها و بررسی‌های Ishida *et al*. (2000, 2011), Ota *et al*. (2009), Hirakawa *et al*. (2011), Ota & Vaulot (2012) و همچنین پایگاه ww.algaebase.org استفاده و نتایج زیر حاصل شد:

Amorphochlora amoebiformis (Ishida & Y. Hara) Ishida, Yabuki & S. Ota (2011) (Fig. 1)

Syn.: *Lotharella amoeboformis* Ishida & Y. Hara (1996)

پراکنش جغرافیایی غیر از ایران: ژاپن (Ishida *et al*. 1996, 2000, 2011) و عربستان سعودی (Wold 2015)

جلبک *Amorphochlora* متعلق به شاخه *Chlorarachniophyta*، رده *Chlorarachniophyceae*، راسته *Chlorarachniales* و تیره *Chlorarachniaceae* است. مشخصات ریخت‌شناختی جنس *Amorphochlora* در پژوهش کنونی نشان می‌دهد که سلول در حالت عادی و بدون حرکت چندگوش یا مثلثی شکل، شبیه به جسم سلولی نورون‌هاست و به ابعاد ۶۰ × ۶۰ میکرومتر می‌رسد و در گوشه‌ها دارای تعداد زیادی زایده‌های نخ مانند است (شکل ۱-A). به دلیل شباهت نسبی *Amorphochlora* با *Lotharella*، اختلافات ریخت- شناختی آشکار گونه *A. amoebiformis* با گونه‌های شناخته شده *Lotharella* در بررسی‌های Ota & Vaulot (2012) و Hirakawa *et al*. (2011) در جدول ۱ آورده شده است.

جلبک‌های همراه *A. amoebiformis* در پژوهش کنونی، جنس‌های *Cosmarium*، *Chlorella* و *Gleocapsa* بودند. همه جلبک‌های همراه یاد شده، مختص آب شیرین هستند و در پژوهش کنونی به همراه گونه مذکور در رواناب یافت شدند (شکل ۱).

جدول ۱- مقایسه گونه *Amorphochlora amoebiformis* با گونه‌های *Lotharella* (Ota & Vaulot 2012, Hirakawa *et al*. 2011)

Table 1. Comparison between *Amorphochlora amoebiformis* with *Lotharella* species (Hirakawa *et al.* 2011, Ota & Vaulot 2012)

Taxon	Features in the life cycle	Habitat
Amorphochlora amoebiformis (Ishida & Y. Hara) Ishida, Yabuki & S. Ota	(Amoeboid cells with large number of filose pseudopodia, rarely spherical and flagellate	Sand
Lotharella globosa (K. Ishida & Y. Hara) K. Ishida & Y. Hara	Has a single flagellum that wraps around the cell while swimming, some strains are amoebic	Coral reef
L. reticulosa S. Ota	Coccoid cells with projecting pyrenoids, bilobed chloroplasts, reticulate pseudopodia, colonization behavior. amoeboid movement	Coast
L. oceanica S. Ota	Coccoid, flagellate and inamoeboid	Ocean
L. vacuolata S. Ota & K.-I. Ishida	Coccoid, flagellate and amoeboid	Swimming pool

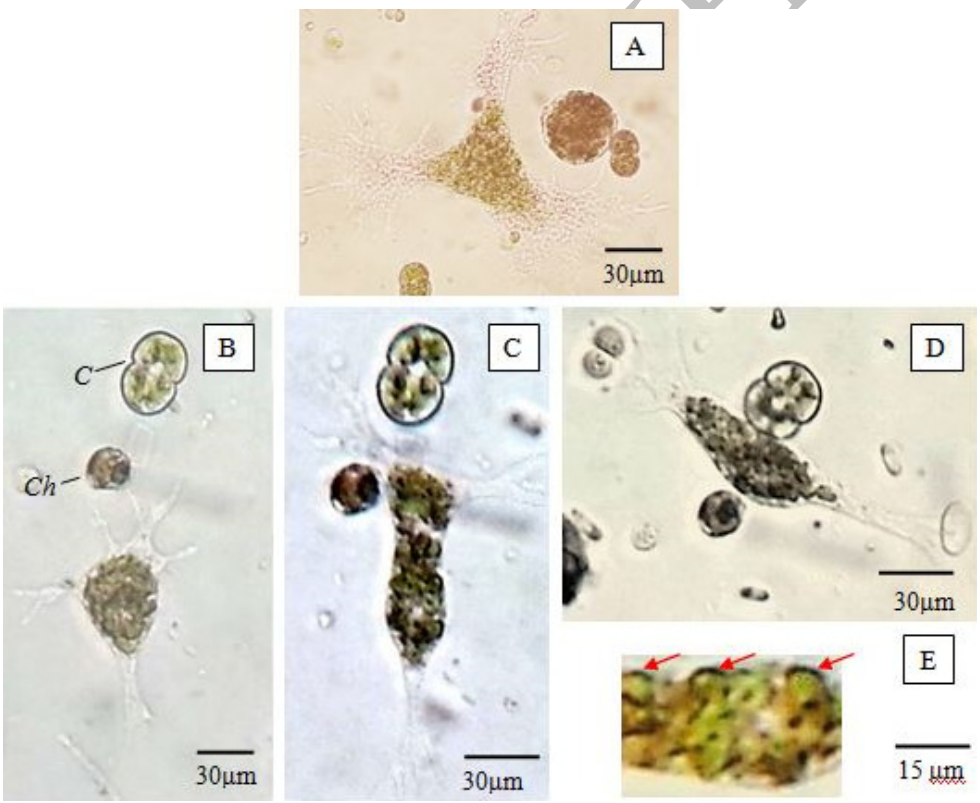
بررسی درون‌سلولی پژوهش کنونی نشان داد که سلول آمورفوکلرا مملو از کلروپلاست و دارای محفظه پری‌پلاستی است. در این فضا نوکلئومورف و پروتئین‌های کد شده ژنوم به صورت لکه‌های سیاه حضور دارند (شکل ۱-E). همچنین، بررسی رفتاری پژوهش کنونی نشان داد، زایده‌های نخی شکل و ضربان‌دار، نقش پاهای کاذب را در جلبک *A. amoebiformis* ایفا می‌کنند. در این مشاهدات، حرکات منسجم و نسبتا تند جلبک از مسیرهای معین دیده می‌شد. به طور مثال، برای عبور از میان دو جلبک *Cosmarium* sp. و *Chlorella* sp. نزدیک به هم با تغییر شکل از حالت مثلثی به حالت کشیده حرکت می‌کرد (شکل ۱- B–D). این حرکات آمیبی خاص، رفتاری شبیه به یک سلول سرطانی در حال متاستاز را تداعی می‌کند، ولی مشاهده کلروپلاست‌های سبز رنگ فراوان که تمام سیتوزول را پر کرده بودند، حکایت از یک سلول جلبکی فتوسنتزکننده را داشت که با

ROSTANIHA

داشتن دو ویژگی فتوسنتزکنندگی و آمیبی، نوعی تکامل یافتگی نسبت به جلبک‌های سبز و آمیب را نشان می‌داد. مشخص بودن نوکلئومورف در جلبک یافت شده با میکروسکوپ نوری و خصوصیات مورفولوژیکِ منحصر به فرد از جمله شکل آمیبی، سبب شد تا تعلق این جلبک به رده *Chlorarachniophyceae* و تیره *Chlorarachniaceae* مسجل شود. همچنین، پاهای کاذب نخ مانند و فقدان تاژک سبب شد تا *Amorphochlora amoebiformis* تنها گونه از این جنس نامیده شود.

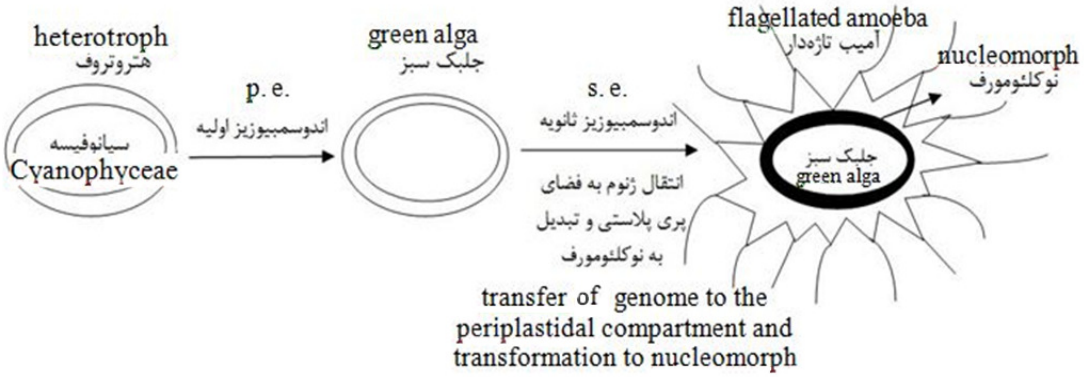
اکثر گیاه‌شناسان (مانند Baurain *et al.* 2010)، جلبک‌های سبز را نیای *Chlorarachniophyta* می‌دانند. این مسئله احتمالا به این دلیل است که در همزیستی دوم، جلبک سبز است که سلول احاطه‌کننده را به عنوان مکانی برای تکثیر خود انتخاب نموده و از ساز و کارهای سلول احاطه کننده به نفع خود استفاده می‌کند (شکل ۲ به طور شماتیک نشان داده شده است)، ولی برخی از جانورشناسان (مانند Cavalier- 2018 Smith)، آمیب‌های تاژه‌دار مانند *Rhizaria* و سلسله *Chromista* را نیای این گروه از جلبک‌ها می‌دانند.

علاوه بر این که شناخت جلبک‌هایی که گویای رویدادهای پیاپی در همزیستی‌های درونی هستند، پژوهشگران را نیز با تکامل یوکاریوت‌های مختلف فتوسنتزی آشنا می‌سازد. شناسایی جلبک معرفی شده برای اکوسیستم‌های ایران از نظر آمادگی برای مقابله با خطرات احتمالی زیست محیطی نیز حایز اهمیت است، زیرا جلبک *A. amoebiformis* دارای رفتار منحصر به فرد، سازگاری زیستی به رواناب کم‌عمق و ابعادی دو برابر بزرگتر از نمونه‌های پیشین است. به علاوه، جلبک فوق بنا به گزارش هیراکاوا (Hirakawa 2008)، در زمره میکروآلگ‌هایی است که با روش‌های مختلف، ترانسفورم ژنتیکی شده است.



شکل ۱- جلبک *Amorphochlora amoebiformis*: A. سلول بی‌حرکت و مثلثی شکل با پاهای کاذب نخ مانند، B–D به ترتیب جا به جایی و عبور جلبک فوق با حرکات آمیبی و تغییر شکل از میان دو جلبک دیگر را نشان می‌دهد، E. بخشی از شکل C بزرگ نمایش داده شده و مجموع نوکلئومورف و پروتئین‌های کد شده (لکه‌های سیاه) در محفظه پری‌پلاستی مشخص شده است (پیکان). *Ch* = *Chlorella* sp.، *C* = *Cosmarium* sp.

Fig. 1. *Amorphochlora amoebiformis*: A. Move-less and triangular cell with filose pseudopodia, B–D. *A. amoebiformis* displacement, passing through two other algae with amoeboid movement and deformation, E. Part of figure C is enlarged for identification of total nucleomorph and coded proteins (black spots) in the periplastidal compartment (arrows). *Ch* = *Chlorella* sp., *C* = *Cosmarium* sp.



شکل ۲- چگونگی دو همزیستی درونی متوالی برای تشکیل کلراراکنیوفیت‌ها به طور شماتیک (طرح از تقوی‌زاد).
.p. e. = primary endosymbiosis ،s. e.= secondary endosymbiosis

Fig. 2. Schematic sketch showing the seriated two endosymbiosis for forming Chlorarachniophytes (designed by Taghavizad). p. e. = primary endosymbiosis, s. e.= secondary endosymbiosis.

First record of microalga *Amorphochlora amoebiformis* from Iran

Received: 20.05.2019 / Accepted: 25.06.2019

Razieh Taghavizad: Assistant Prof., Department of Biology, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (ra_taghavizad@yahoo.com)

Summary

A microalga from *Chlorarachniaceae* was found in the shallow runoffs of south Tehran. Morphological and intracellular structures were studied which in accordance with the identification key (Hirakawa *et al.* 2011), it is found to be a new species for Iran called *Amorphochlora amoebiformis* (Ishida & Y. Hara) Ishida, Yabuki & S. Ota. This alga has been derived and evolved from green algae and has resulted from the secondary endosymbiosis of a green alga with an amoeboflagellate. This symbiosis is result of two photosynthetic and amoebic properties appear simultaneously in this species. Having a triangular shape in normal mode with large number of pulsatile filose pseudopodia in the corners of the cell, changing shape from triangular to longitudinal while moving, lack of flagellum, coherent and relatively fast movements, metastatic behavior, twice larger than previous ones dimensions and adaptation to live in shallow runoff, are the characteristics of this alga. *Cosmarium*, *Chlorella* and *Gleocapsa* were companions of this species.

Keywords: *Cyanophyceae*, endosymbiont, endosymbiosis, *Lotharella amoebiformis*, secondary plastids

References

Archibald, J.M. 2012. The evolution of algae by secondary and tertiary endosymbiosis. Genomic Insights into the Biology of Algae. Pp. 87–118. *In*: Piganeau, G. (ed.). Genomic Insight into the Biology of Algae. 1st Edition (Advances in Botanical Research). Waltham: Academic Press.

Baurain, D., Brinkmann, H., Petersen, J., Rodríguez-Ezpeleta, N., Stechmann, A., Demoulin, V.,

ROSTANIHA

Roger, A.J., Burger, G., Lang, B.F. & Philippe, H. 2010. Phylogenomic evidence for separate acquisition of plastids in cryptophytes, haptophytes and stramenopiles. Molecular Biology and Evolution 27(7): 1698–1709.

Cavalier-Smith, Th. 2018. Kingdom *Chromista* and its eight phyla: a new synthesis emphasizing periplastid protein targeting, cytoskeletal and periplastid evolution, and ancient divergences. Protoplasma 255: 297–357.

Gould, S.B., Waller, R.F. & McFadden, G.I. 2008. Plastid evolution. Annual Review of Plant Biology 59: 491–517.

Hirakawa, Y. 2008. Review of Literature. A. 1 Algae. Table A. 4, p. 28.

Hirakawa, Y., Gile, G.H., Ota, S., Keeling, P.J. & Ishida, K-I. 2010. Characterization of periplastidal compartment-targeting signals in Chlorarachniophytes. Molecular Biology and Evolution 27(7): 1538–1545.

Hirakawa, Y., How, A., James, E.R. & Keeling, P.J. 2011. Morphological diversity between culture strains of a chlorarachniophyte, *Lotharella globosa*. PLoS ONE 6(8): e23193.

Ishida, K., Nakayama, T. & Hara, Y. 1996. Taxonomic studies on the Chlorarachniophyta. II. Generic delimitation of the chlorarachniophytes and description of *Gymnochlora stellata* gen. et sp. nov. and *Lotharella* gen. nov. Phycological Research 44: 37–45. www.marinespecies.org/aphia.php.

Ishida, K., Ishida, N. & Hara, Y. 2000. *Lotharella amoeboformis* sp. nov.: a new species of chlorarachniophytes from Japan. Phycological Research 48(4): 221–230.

Ishida, I., Yabuki, A. & Ota, S. 2011. *Amorphochlora amoebiformis* gen. et comb. nov. (*Chlorarachniophyceae*). Phycological Research 59(1): 52–53.

Keeling, P.J. 2009. Chromalveolates and the evolution of plastids by secondary endosymbiosis. Journal of Eukaryotic Microbiology 56: 1–8.

Ota, S., Silver, T., Archibald, J.M. & Ishida, K-I. 2009. *Lotharella oceanica* sp. nov., a new planktonic chlorarachniophyte studied by light and electron microscopy. Phycologia 48(5): 315–323.

Ota, S. & Vaulot, D. 2012. *Lotharella reticulosa* sp. nov.: A highly reticulated network forming chlorarachniophyte from the Mediterranean Sea. Protist 163: 91–104.

Wehr, J.D., Sheath, R.G. & Kociolek, J.P. 2015. Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification. Chapter 11: Xanthophyte, Eustigmatophyte and Raphidophyte algae. Science Elsevier. 1066 pp.

Wold, A. 2015. Cultured Microalgae from Shallow Water and Intertidal Soft Sediments in the Red Sea, Saudi Arabia. MSc Thesis. Department of Biosciences, Section for Aquatic Biology & Toxicology (Aqua). University of Oslo.

http://www.algaebase.org

ROSTANIHA

****