بررسی تاثیر شوری های مختلف بر پارامترهای رشد و میزان کلروفیل a ریز جلبک های *Skeletonema* sp. و *Tetraselmis* sp. در شرایط آزمایشگاهی

عصمت ابراهیمی [1]*، رضا قربانی واقعی [2]، فلورا محمدی زاده [1]

Esmatebrahimi82@yahoo.com

۱-دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس، صندوق پستی: ۱۳۱۱-۷۹۱۵۹

۲-پژوهشکده میگوی کشور، بوشهر، صندوق پستی: ۱۳۷۴

تاریخ دریافت: شهریور۱۳۹۳ تاریخ پذیرش:مهر۱۳۹۳

چکیده

به منظور بررسی تراکم سلولی و تعیین محتوی کلروفیلa دو ریز جلبک *Skeletonema* sp. و *Tetraselmis* sp. با استفاده از محیط کشت F/۲ تحت شوری‌های مختلف ۱۵،۲۰،۲۵،۳۰،۳۵قسمت در هزار در ۱۵ جعبه ۱/۵ لیتری پلاستیکی با تراکم ۱۸×۱۰^{۴} سلول در میلی لیتر تحت شرایط دمای ۲±۲۰ درجه سانتی گراد و شدت روشنایی ۵۰۰۰ لوکس و دوره روشنایی ۲۴ ساعته کشت داده شدند.کشت تتراسلمیس به مدت ۱۴ روز و اسکلتونما به مدت ۷روز به طول انجامید. نتایج حاصله نشان داد که، ریز جلبک‌های تتراسلمیس و اسکلتونما مقاومت مناسبی در برابر نوسانات شوری داشته و بخوبی می‌توانند در شوری‌های مختلف رشد نمایند. بیشترین تراکم سلولی ریز جلبک تتراسلمیس در شوری ۳۵ قسمت در هزار و ریز جلبک اسکلتونما نیز در شوری ۲۵ قسمت در هزار بدست آمده است. زمان رسیدن به اوج تراکم رشد این دو ریز جلبک در محیط کشت F/۲ دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p<0.05$). نتایج نشان داد که میزان کلروفیل a در ریز جلبک تتراسلمیس در شوری‌های مختلف دارای اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها بود ($p<0.05$). بیشترین میزان کلروفیل a مربوط به تیمار با شوری ۲۰ قسمت در هزار با مقدار ۳/۳۳ میکروگرم برگرم و کمترین آن نیز در تیمار شوری ۳۵ قسمت در هزار و به میزان ۱/۲۱ میکرو گرم بر گرم بدست آمد. در ریز جلبک اسکلتونما بیشترین میزان کلروفیل a در شوری های۲۰ و ۲۵ قسمت در هزار بدست آمد و بین مقادیر کلروفیل a در شوری های مختلف اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده گردید ($p<0.05$).

کلمات کلیدی: *Skeletonema* sp. ، *Tetraselmis* sp.،تراکم سلول جلبکی ، شوری ،کلروفیلa.

*نویسنده مسئول

۱.مقدمه

با توسعه آبزی پروری در جهان و ضرورت افزایش بقاء حیوانات پرورشی، مطالعات نشان داده‌اند که تولید مواد غذایی برای کشت گونه‌ها از اهمیت بالایی برخوردار هستند (۹). دیاتومه‌ها از نظر تغذیه و زنجیره غذایی نقش بیولوژیک مهمی دارند، بنابراین ض.روری است که برای حفظ عمر مفید ریز جلبک با حفظ قابلیت زنده ماندن سلول‌ها و در نتیجه حفظ محتویات سلولی و انسجام شیمیایی آن‌ها مورد توجه قرار گیرد (۹).

یک همسویی فزاینده در تقاضای میکرو آلگ‌ها برای غذای مراحل لاروی ماهی‌ها و میگوها دیده می‌شود.علاوه بر این گرایش‌هایی برای روش‌های پرورش متراکم‌تر که متکی به جمعیت‌های ریز جلبک در محیط‌های طبیعی نباشد به وجود آمده است (۱۱). امروزه به تولید طبیعی ریز جلبک‌ها نمی‌توان اطمینان کرد ، زیرا جمعیت ریز جلبک‌ها تحت تاثیر تغییرات آب و هوایی و همچنین فصول مختلف که باعث تغییر در کیفیت آب می‌شود قرار داشته و مشکلات دیگری نظیر حضور سموم سیانوباکتری‌ها در محیط‌های شور طبیعی گاهی اوقات به شدت تولید بعضی از گروه‌های جلبکی را کاهش می دهد(۹).ریز جلبک‌های ریز، درتمامی مراحل رشد دوکفه‌ای‌ها، مراحل لاروی بعضی از سخت‌پوستان و ماهیان پرورشی مصرف شده که شکل، اندازه، قابلیت هضم و ترکیبات بیوشیمیایی این ریز جلبک‌ها نیز بر ارزش غذایی آن‌ها تاثیرگذار می‌باشد (۹).
تتراسلمیس یک ریز جلبک سبز متحرک با ۱۰-۹ میکرون عرض و ۱۴-۱۲میکرون طول ، دارای۴ تاژک که از یک شیار در انتهای قدامی سلولی بیرون آمده بوده ،سلول‌ها به سرعت در آب حرکت کرده و به نظر می‌رسد شنا می‌کنند. این ریز جلبک منبع غذایی رایج برای کشت روتیفر،اویستر و نوزاد میگو می-باشد (۱). اسکلتونما یک ریز جلبک زنجیری شکل بوده که سلول‌های تقریباً کروی آن به وسیله رشته‌های سیلیسی طویل به هم متصل شده‌اند.سلول‌های منفرد ۱۰-۶ میکرون عرض و ۲۵-۲۰ میکرون طول و ۲۰-۱۵سلول دارند.این ریز جلبک در آب-های لب شور با شوری کمتر از ۱۰ppt یافت شده و غذای رایج در آبزی پروری است(۱).تعیین مناسب‌ترین شرایط برای کشت ریز جلبک‌های تک‌سلولی، از جنبه‌های مختلف از اهمیت زیادی برخورداراست. بدون استفاده از ریز جلبک‌های تک-سلولی پرورش مراحل لاروی میگوها (۴) و بسیاری ازآبزیان غیرممکن می‌باشد. بعنوان مثال عوامل مختلفی بر کشت مناسب ریز جلبک‌ها تاثیرگذار است. یکی از عوامل مهم و موثر در این بین شوری آب محیط کشت ریز جلبک‌ها می باشد (۱۶).

پارامترهای مهم تنظیم رشد ریز جلبک، کمیت و کیفیت مواد غذایی، نور،pH، شوری و دما است (۱۳). باید توجه داشت که شوری، به طور مستقیم فیزیولوژی دیاتومه را با اعمال تنش اسمزی تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۹). دو محیط کشتی که به طور گسترده و مناسب برای رشد بیشتر ریز جلبک‌ها استفاده می شود، محیط کشت والن(Conway) وگیلارد(F/۲) است (۱۳) . به همین دلیل در این تحقیق تاثیر شوری‌های مختلف بر روی دو ریز جلبک تتراسلمیس و اسکلتونما در محیط کشت F/۲ بر روی رشد، تراکم و تعیین کلروفیلa مورد بررسی قرار گرفته است، تا از این طریق مناسب‌ترین شوری در محیط کشتF/2 جهت بدست آوردن حداکثر تراکم دو ریز جلبک مذکور بدست آید.

۲. مواد و روش‌ها

تحقیق مزبور به مدت دو ماه از آذرماه لغایت دی ماه ۹۱ در پژوهشکده میگوی بوشهر صورت پذیرفت. به همین منظور جلبک های تتراسلمیس و اسکلتونما در محیط کشت F/۲ در ۵ سطح شوری ۳۵ ، ۳۰ ، ۲۵ ، ۲۰ ، ۱۵ قسمت در هزار هر یک با سه تکرار انجام گرفت . جهت تامین آب مورد نیاز کشت بعد از فیلتر نمودن آب دریا با استفاده از فیلترهای شنی و کیسه ای، آب مورد نظر تهیه شده و از آب شرب با شوری صفر قسمت در هزار جهت تنظیم شوری استفاده گردید (۱۳). در ادامه بمنظور ضدعفونی کردن آب، کلر با غلظت۲۰ قسمت در میلیون،به آب افزوده و به مدت ۲۴ ساعت هوادهی گردید. بمنظور جلوگیری از ورود عوامل باکتریایی به محیط کشت قبل از اضافه نمودن محیط کشت به ظروف شیشه‌ای کشت

جلبک کلیه ظروف، پیپت‌ها و لوله‌های شیشه‌ای پس از شستشو به مدت دو ساعت در دمای ۱۶۰ درجه سانتیگراد توسط اون استریل، سپس بعد از تهیه محیط‌های کشت، ظروف حاوی محیط کشت در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد و فشار ۱۵ اتمسفر به مدت ۳۰ دقیقه اتوکلاو گردید.سپس به هر ظرف یک لیتری حاوی محیط کشت، ۱۰ سی سی استوک جلبک تک سلولی مورد آزمایش که از فایکولب ایستگاه تحقیقاتی بندرگاه پژوهشکده میگوی بوشهر تهیه شده بود ، تحت شرایط آزمایشگاهی اضافه شد. پس از شمارش روزانه جلبک‌های تک سلولی در هر تیمار و در مرحله رشد ثابت ریز جلبک‌ها ، نمونه‌برداری از تیمارها جهت بررسی تراکم ریز جلبک‌ها در شوری‌های مختلف صورت گرفت.

به منظور نمونه‌گیری از ریز جلبک، کشت داده شده بعد از همگن نمودن آن‌ها، از یک سی سی از محلول ریز جلبک‌ی با استفاده از پی پت نمونه برداری شد. بمنظور تثبیت نمودن ریز جلبک‌ها از فرمالین ۱۰٪استفاده گردید. شمارش سلول‌های جلبک تک سلولی اسکلتونما و تتراسلمیس در تکرارهای هر تیمار، توسط لام هموسیتومتر (نئوبار) صورت پذیرفت (۴و۲۳). کشت ریز جلبک تتراسلمیس با محیط کشت F/2 ۱۴ روز و برای ریز جلبک اسکلتونما ۵ روز به طول انجامید.در طول دوره کشت ریز جلبک ها، پارامترهای فیزیکی و شیمیایی محیط کشت، هر دو روز یکبار مورد بررسی قرار گرفتند. در طول مدت کشت درجه حرارت ۲۰درجه سانتی گراد،pH(۸/۷-۸/۲)و میزان اکسیژن (۵-۵/۵ میلی گرم در لیتر)، شدت نور ۵۰۰۰ لوکس و دوره نوری ۲۴ ساعت روشنایی بود. همچنین روزانه تراکم ریز جلبک‌ها در فازهای مختلف رشد شامل فاز القاء، فاز افزایش، فاز ثابت، و فاز کاهش مورد شمارش قرار گرفت.

جهت اندازه گیری میزان کلروفیلa، ابتدا۱۰میلی لیتر از ریز جلبک برداشته و تراکم سلولی در هر میلی لیتر بدست آورده شد. ریز جلبک برداشته شده با سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور دقیقه به مدت ۵ دقیقه تغلیظ شد. مایع اضافی خارج و۱۰میلی لیتر محلول استون ۹۰ درصد اشباع به مواد باقیمانده افزوده شد. برای آسیاب کردن سلول‌ها،لوله آزمایش به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه اولتراسوند سونیکت قرار داده شدند. پس از تکرار مرحله۲ ، یک نمونه دارای استون خالص در اسپکتروفتومتر(UV-Visible Varian, Cary 50scan) قرار داده شد و میزان جذب دستگاه برای نمونه شفاف صفر تنظیم گردید (۱۱ و ۲۴). سپس نمونه حاوی کلروفیل را در اسپکتروفتومتر قرار داده و میزان جذب آن در طول موج های ۶۳۰،۶۴۷ و ۶۶۴ نانومتر قرائت شده در خاتمه نیز جهت محاسبه ازفرمول زیر استفاده گردید.

=میزان کلرفیل (میلی گرم در لیتر)

۰/۰۸ (میزان جذب در طول موج ۶۳۰)- ۱/۵۴ (میزان جذب در طول موج ۶۴۷)- ۱۱/۸۵ (میزان جذب در طول موج ۶۶۴)

داده‌ها بعد از اتمام آزمایش با استفاده از نرم افزار spss و با کمک روش آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و جهت مقایسه میانگین‌ها از روش آماریTukeyاستفاده شد. جهت ترسیم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده گردید.

۳.نتایج

در بررسی تاثیر شوری‌های مختلف بر مقادیر کلروفیل a در ریز جلبک تتراسلمیس اختلاف معنی دار آماری بین تیمارها مشاهده شد ($P<0.05$). بیشترین میزان کلروفیل a مربوط به تیمار ۲۰ قسمت در هزار شوری با مقدار ۳/۳۳ میکرو گرم برگرم و کمترین آن نیز مربوط به تیمار ۳۵ قسمت در هزاربا میزان کلروفیل ۱/۲۱ میکرو گرم برگرم بود. با افزایش شوری، مقدار کلروفیل a در هر میلی لیتر کاهش یافته است (جدول ۱).

جدول۱. مقادیر کلروفیل a (انحراف معیار ±میانگین) ریز جلبک تتراسلمیس در شوری های مختلف

میزان شوری	میانگین و انحراف معیار
۱۵	^{a}۳/۲۱±۱/۳
۲۰	^{a}۳/۳۳±۰/۵۴
۲۵	^{a}۲/۱۸±۱/۵۶
۳۰	^{a}۲/۵۴±۰/۸۵
۳۵	^{a}۱/۲۱±۰/۸۹

از نظر تراکم سلولی بین تیمارهای مختلف شوری در سطح معنی داری ۰/۰۵ اختلاف چندانی بین تیمارها در روزهای مختلف نشان داد. بیشترین میانگین تراکم سلولی در طول دوره مربوط به شوری ۳۵ قسمت در هزار برابر با ^{6}۱۰×۳/۰۳سلول در میلی لیتر و کمترین مقدار آن نیز مربوط به شوری ۱۵ قسمت در هزار و برابر با ^{6}۱۰×۲ سلول در میلی لیتر بود ($P<0.05$) .

مقادیر نرخ رشد ویژه در ریز جلبک تتراسلمیس نشان می‌دهد که بیشترین میزان نرخ رشد مربوط به شوری ۳۰ قسمت در هزار بوده و کمترین آن نیز در شوری‌های ۱۵ قسمت در هزار و ۳۵ قسمت در هزار مشاهده شده است. همچنین زمان دو برابر شدن سلول‌ها در شوری‌های ۱۵ و ۳۵ قسمت در هزار به ترتیب ۴/۷۹ و ۳/۹۴ تقسیم در روز بوده و کمترین زمان تقسیم نیز مربوط به شوری ۳۰ قسمت در هزار برابر با ۲/۴۸ تقسیم در روز می‌باشد (جدول۲).

جدول ۲. مقادیر رشد ویژه در ریز جلبک تتراسلمیس تحت شوری‌های مختلف

تیمار شوری (قسمت در هزار)	نرخ رشد ویژه	نرخ رشد
۱۵	^{a}۰/۱۵ ±۰/۰۴	^{b}۴/۷۹ ±۱/۳۳
۲۰	^{abc}۰/۲۲ ±۰/۰۴	^{a}۳/۱۹ ±۰/۶۴
۲۵	^{bc}۰/۲۶ ±۰/۰۶	^{a}۲/۷۹ ±۰/۷
۳۰	^{c}۰/۲۹ ±۰/۰۸	^{a}۲/۴۸ ±۰/۶۷
۳۵	^{ab}۰/۱۸ ±۰/۰۲	^{ab}۳/۹۴ ±۰/۴۶

نتایج بررسی مقادیر کلروفیل a در سطوح مختلف شوری در جلبک اسکلتونما در جدول ۳ نشان می‌دهد که کمترین میانگین کلروفیل مربوط به شوری ۱۵ قسمت در هزار با مقدار ۱/۱ میکروگرم برگرم و بیشترین مقدار نیز مربوط به شوری ۲۰ قسمت در هزار برابر با ۴ میکروگرم بر گرم می‌باشد. مقایسه این مقادیر در سطوح مختلف شوری با استفاده از آنالیز اختلاف واریانس در سطح ۰/۰۵ درصد نشان داد که غلظت‌های ۲۰ و ۲۵ قسمت در هزار با سایر تیمارها اختلاف معنی داری داشته ($P<0.05$) ولی بین مقادیر کلروفیل a در سطوح حداقل شوری یعنی ۱۵ قسمت در هزار و مقادیر حداکثر ۳۰ و ۳۵ قسمت در هزار اختلافی مشاهده نشد ($P<0.05$).

جدول۳. مقادیر کلروفیل a (انحراف معیار± میانگین) ریز جلبک اسکلتونما در شوری های مختلف

میزان شوری	میانگین و انحراف معیار
۱۵	^{a}۱/۱±۰/۵۶
۲۰	^{c}۴±۱/۵۳
۲۵	^{c}۳/۷±۲/۲۶
۳۰	^{ab}۲/۸±۰/۶۷
۳۵	^{ab}۱/۹±۰/۵۱

a,b= حروف نامتجانس نشان دهنده اختلاف

مدت زمان رشد در کشت ریز جلبک اسکلتونما محدود به سه روز بوده بطوریکه در تیمارهای ۳۰ و ۳۵ قسمت در هزار در روزهای ۴ و ۵ به صفر رسید. مقادیر تعداد سلول در هر میلی لیتر در شوری‌های مختلف در ریز جلبک اسکلتونما نشان می‌دهد که بیشترین تعداد سلول در روز اول در تیمارهای مختلف مربوط به شوری ۳۰ قسمت در هزار و برابر با $۰/۵۵\times۱۰^{۶}$سلول در میلی لیتر بود. در روز دوم بیشترین تعداد مربوط به تیمار ۳ بوده و در نهایت در روز اوج تراکم سلولی روز سوم بیشترین تعداد سلول در شوری ۱۵ قسمت در هزار برابر با $۱/۹۴\times۱۰^{۶}$سلول در میلی لیتر بوده و با سایر تیمارها از در سطح معنی داری ۰/۰۵ اختلاف معنی داری داشت($P<0.05$).

با توجه به اینکه مدت زمان رشد ریز جلبکی در این ریز جلبک محدود بوده و به سرعت در روز سوم به حداکثر میزان رشد خود رسید بطوریکه مقادیر رشد ویژه در تمامی تیمارها بیشتر از ۱ بوده و حداکثر آن مربوط به تیمار ۲۵ قسمت در هزار و کمترین مقدار نیز در تیمار ۳۵ قسمت در هزار ثبت گردید. همچنین زمان لازم برای دو برابر شدن در تیمارهای مخلف نشان می‌دهد که تیمار ۲۵ قسمت در هزار با ۰/۴۸۶ تقسیم در روز کمترین زمان دو برابر شدن را بخود اختصاص داده و اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد (جدول ۴).

جدول۴. مقادیر رشد ویژه در ریز جلبک اسکلتونما تحت شوری‌های مختلف

تیمار شوری (قسمت در هزار)	نرخ رشد ویژه	نرخ رشد
۱۵	^{a}۱/۴۳ ±۰/۱۷	^{a}۰/۴۸۷ ±۰/۰۵
۲۰	^{a}۱/۴ ±۰/۲۳	^{a}۰/۵۰۴ ±۰/۰۹
۲۵	^{a}۱/۴۷ ±۰/۳۲	^{a}۰/۴۸۶ ±۰/۱۲
۳۰	^{a}۱/۴۲ ±۰/۱۳	^{a}۰/۴۸۸ ±۰/۰۴۸
۳۵	^{a}۱/۱۹ ±۰/۲	^{a}۰/۵۹۲ ±۰/۰۹۳

۴. بحث و نتیجه گیری

با توجه به مقادیر رشد در ریز جلبک‌های تتراسلمیس و اسکلتونما می‌توان نتیجه گرفت که این دو ریز جلبک مقاومت مناسبی در برابر نوسانات شوری داشته و بخوبی می‌توانند در شوری های مختلف رشد نمایند. ریز جلبک تتراسلمیس قادر است تا شوری‌های ۳۰ و ۳۵ قسمت در هزار بخوبی رشد نماید ولی این در حالیست که در ریز جلبک اسکلتونما بهترین میزان رشد در شوری ۲۵ قسمت در هزار مشاهده می‌شود. با توجه به مقادیر رشد در ریز جلبک‌های اسکلتونما و تتراسلمیس می‌توان دو استراتژی رشد متفاوت مشاهده کرد. یکی با آهنگ رشد سریع و زمان رسیدن به حداکثر رشد و سپس فاز مرگ در ریز جلبک اسکلتونما و دیگری با آهنگ رشد آهسته تر و طی کردن مرحله تصاعدی با سرعت کمتر در ریز جلبک تتراسلمیس که رفتارهای متفاوتی از لحاظ میزان رشد از خود بروز می‌دهند.

بررسی مقادیر کلروفیل a در ریز جلبک اسکلتونما نشان می‌دهد که بیشترین مقدار مربوط به شوری‌های ۲۰ و ۲۵ قسمت در هزار (به ترتیب ۴ و ۳/۷میکرو گرم بر گرم) بوده که با دیگر تیمارها اختلاف معنی داری داشته و در مقادیر حداکثر و حداقل شوری در این مطالعه مقدار کلروفیل a (به ترتیب ۱/۹ و ۱/۱میکروگرم برگرم) کاهش زیادی داشته است. ازآنجایی که بیشتر بودن میزان کلروفیل a نشانگر مطلوبیت شرایط کشت ریز جلبک میباشد لذا میتوان نتیجه گرفت که برای کشت ریز جلبک

اسکلتونما شوری‌های ۲۰ و۲۵ قسمت در هزار بهتر از سایر شوری ها می باشد.

در ریز جلبک تتراسلمیس بیشترین (۰/۵۴±۳/۳۳میکروگرم بر گرم) و کمترین (۰/۸۹±۱/۲۱میکروگرم برگرم) مقادیر کلروفیل a به ترتیب در شوری‌های ۲۰ قسمت در هزار و ۳۵ قسمت در هزار سنجش گردید از نظر مقادیر کلروفیل a، اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف مشاهده شد.

مرادی و اسماعیل (۲۰۰۷) گزارش نموده اند که کاهش محتوای کلروفیل در شوری های بالا به علت کاهش نرخ فتوسنتز می‌باشد. کشت‌های ریز جلبکی با غلظت‌های بالای شوری محتوای کلروفیلی پایینی دارند (۱۴). همچنین گزارش شده است که کلروفیل اولین هدف در سمیت شوری بوده در نتیجه منجر به کاهش فتوسنتز و رشد می‌گردد (۱۷ و ۱۸).

کرولیا و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی تاثیر شوری بر روی ویژگی‌های فیزیولوژیک و بیوشیمی *Scenedesmus quadricauda*به این نتیجه رسیده اند که با افزایش شوری محتوای کلروفیل و بیومس ریز جلبکی کاهش می‌یابد. موارد ذکر شده موید کاهش میزان کلروفیل a با افزایش بیش از حد شوری در ریز جلبک اسکلتونما می‌باشد (۱۲). با توجه به اینکه ریز جلبک اسکلتونما یک ریز جلبک دریایی می باشد کاهش بیش از حد میزان شوری نیز موجب کاهش میزان کلروفیل a شده است. با توجه به مقاومت پایین ریز جلبک اسکلتونما در برابر شوری‌های بالا می‌توان بیان داشت که افزایش شوری احتمالاً سبب استرس اسمزی شوری و استرس سمی یونی شده و در نتیجه مقادیر کلروفیل a به شدت با افزایش شوری کاهش می‌یابد. ونشاک و همکاران (۲۰۱۱)گلد من و مان (۱۹۸۰) از دیگر عوامل تاثیر گذار بر روی مقادیر کلروفیل a به ترکیب شیمیایی ریز جلبک‌ها و نیز دما اشاره نموده اند (۸ و ۲۵). باتایری و دواسی (۲۰۱۱) در بررسی تاثیر شوری بر روی مقادیر کلروفیل a در چند گونه ریز جلبکی به این نتیجه رسیده اند که تغییرات میزان شوری تاثیری بر روی محتوای کلروفیل ریز جلبک تتراسلمیس ندارد (۵). مطالعاتی که بر روی گونه‌های ریز جلبکی دیگر از قبیل*Nitzschia closterium*(۱۵)، *Chaetoceros curvisetum* (۶) و *Skeletonema costatum* (۵) حاکی از آن بود که حداکثر محتوای کلروفیل a در این گونه‌ها در دامنه دمای مطلوب رشد بوده است. با توجه به مقاومت بالای تتراسلمیس در برابر تغییرات دامنه شوری عدم اختلاف محتوای کلروفیل a در این گونه را می‌توان به عدم تغییرات دمایی، تشابه محیط کشت و چرخه نوری یکسان در مطالعه حاضر دانست.

اوژآ درسال ۲۰۰۶ گزارش نموده که رشد خوب ریز جلبک تتراسلمیس در آبهای دریایی با شوری ۳۶-۱۵ قسمت در هزار انجام می گیرد. آنچه در تحقیق حاضر مشخص گردیده این است که کشت ریز جلبک تتراسلمیس درشوری ۱۵ تا ۳۰ قسمت در هزار میسر بوده ولی در شوری ۲۰ و ۱۵ قسمت در هزار بهتر انجام می‌شود (۱۶).

در مطالعه‌ای که توسط سی گاد و آیدار (۱۹۹۳) ارائه گردیده، رابطه‌ای بین مقادیر شوری و دما با میزان کلروفیل a در ریز جلبک تتراسلمیس گزارش نشده است. این محققین بیان داشتند که ریز جلبک تتراسلمیس مقاومت بالایی در برابر تغییرات شوری داشته اند و می‌تواند شوری‌های بین ۴۰-۱۴ قسمت در هزار را تحمل نماید (۲۱).

آذری تاکامی و امینی چرمهینی در سال ۱۳۸۷ شوری مطلوب ریز جلبک اسکلتونما را ۳۰-۱۵ قسمت در هزار گزارش نموده اند (۱). محدوده های ارائه شده توسط سایر محققین ،محدوده وسیعتری را نسبت به تحقیق حاضر شامل می شود. نتایج حاصل در تحقیق حاضر محدوده مناسب شوری را بصورت دقیقتر مشخص ساخته است. با توجه به تغییرات تراکم سلولی ریز جلبک اسکلتونما در سطح مختلف شوری بایستی بیان داشت که

عامل شوری فاکتوری محدود کننده در رشد ریز جلبک بوده و سبب کاهش مقادیر فتوسنتز و افزایش تعداد سلول در شوری‌های نامناسب می‌شود.

در برخی از مطالعات بیشترین میزان رشد و تراکم سلولی در ریز جلبک تتراسلمیس مربوط به دامنه شوری ۳۵-۲۰ قسمت در هزار ذکر شده است (۲۴و۱۰). در تحقیق حاضردر ریز جلبک تتراسلمیس بیشترین (۰/۵۴±۳/۳۳میکروگرم بر گرم) و کمترین (۰/۸۹±۱/۲۱میکروگرم برگرم) مقادیر کلروفیل a به ترتیب در شوری‌های ۲۰ قسمت در هزار و ۳۵ قسمت در هزار ثبت گردیده ولی اختلاف معنی داری در مقادیر کلروفیل a بین تیمارهای مختلف مشاهده نشده است. مقادیر کلروفیل a در ریز جلبک تتراسلمیس نشان می‌دهد که شوری تاثیر چندانی بر این ریز جلبک ندارد و نشان دهنده مقاومت این ریز جلبک در برابر شوری بود.

قزل باش و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی تاثیرات سطوح مختلف شوری و نور بر روی نرخ رشد ریز جلبک *Tetraselmis chuii* به این نتیجه رسیده که حداکثر رشد این ریز ریز جلبک در شوری ۴۰ قسمت در هزار و با شدت نوری ۴۵۰۰ لوکس روی می دهد و حداقل آن مربوط به شوری ۲۰ قسمت در هزار و ۵۰۰ لوکس شدت نور می باشد. در تحقیق حاضر نیز حداکثر تراکم سلولی ریز جلبک تتراسلمیس در شوری ۳۵ قسمت در هزار و با شدت نوری ۵۰۰۰ لوکس رخ داده و همانند تحقیق ذکر شده نشان دهنده دامنه تحمل وسیع شوری این ریز جلبک بود (۷).

تحقیقاتی که توسط سی گاد و آیدار (۱۹۹۳) صورت گرفته نشان می دهد که *Tetraselmis gracilis*گونه‌ای با دامنه وسیع تحمل شوری بوده و در دامنه شوری بین ۴۰- ۴ قسمت در هزار قادر به رشد بوده و ماکزیمم تعداد سلول آن در دامنه ۴۰-۲۵ قسمت در هزار شمارش شده است. در مطالعات زیادی به این موضوع اشاره شده است که تتراسلمیس گونه‌ای مقاوم در برابر نوسانات شوری بوده و در طیف وسیعی از شوری قادر به رشد است (۶ و ۹). در تحقیق حاضر نیز حداکثر تراکم سلولی ریز جلبک تتراسلمیس در شوری های ۲۵و۳۰و ۳۵ قسمت در هزار رخ داده و همانند تحقیق ذکر شده نشان دهنده دامنه تحمل وسیع شوری این ریز جلبک بود.

استریژ و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی پاسخ فیزیولوژیک ریز جلبک *Tetraselmis viridis*به شوری‌های مختلف به این نتیجه رسیدند که زمانیکه این ریز جلبک در محیط‌های با شوری بالا قرار می‌گیرد قادر به سنتز پروتئین‌هایی با وزن مولکولی نزدیک به ۱۰۰kD بوده که قادر است با کمک پمپ Na^+- ATPase در فرآیند انتقال Na^+ دخالت کرده و این امکان را به ریز جلبک می‌دهد که دامنه شوری بالایی را تحمل نماید. لذا بالاتر بودن میزان کلروفیل و تراکم سلولی در شوری های بالا توسط ریز جلبک تتراسلمیس در تحقیق حاضر احتمالا ناشی از این پدیده بود (۲۲).

منابع

۱.آذری تاکامی، ق. و امینی چرمهینی، م. ۱۳۸۷. دستورالعمل تکثیر و پرورش پلانکتون‌ها، دانشگاه تهران، مؤسسه انتشارات. ۴۵۵ ص .

۲.قربانی واقعی، ر. ۱۳۹۰. امکان سنجی تولید غذای مصنوعی جهت تغذیه مراحل پرواتوزوآ تا پست لارو میگوی سفید غربی و مقایسه آن با غذای وارداتی .گزارش نهاءیی پروژه.پژوهشکده میگوی کشور.

۳.کامران حسینی، م.ر. ۱۳۷۷. تولید و کشت جلبک های دریایی. معاونت تکثیر و پرورش آبزیان اداره کل آموزش و ترویج. ۱۶ صفحه.

۴.کیائی ضیابری، ک. ۱۳۷۴. تکثیر و پرورش میگو. ناشر معاونت تکثیر و پرورش آبزیان- اداره کل آموزش و ترویج. ۴۵ ص.

5.Bhattathiri, P. M. A., and Devassy, V. P. 2011. Effect of salinity on pigment concentrations of some tropical phytoplankters. *Indian Journal of Fisheries 22*(1 & 2), 107-112.

6.Furnas, M. 1978. Influence of temperature and cell size on the division rate and chemical content of the diatom *Chaetoceros curvisetum* Oeve.J. expl mar .Biol.Ecol.34:97-109.

7.Ghezelbash, F. Farboodnia, T. Heidari, R. 2008. Biochemical effects of different salinities and luminance on green microalgae Tetraselmis chuii.Research Journal of Biological Sciences 3(2):217-221, 2008 ISSN: 1815-8846.

8.Goldman, J. C. Mann, R. 1980 . Temperatore-influenced variations in speciation and ebemieal composition of marine phytoplankton in outdoor mass cultores. J. expl mar. Biol. Ecol., 46:29-39.

9.Harith ZT, Yusoff F M, Mohamed M S .2009. Effect of different flocculants on the flocculation performance of microalgae, Chaetoceros calcitrans, cells. African Journal of Biotechnology Vol. 8 (21), pp. 5971-5978.

10.Herrero C, Cid A, Fabregas J and Abalde J 1991 Yields in biomass and chemical constituents of four commercially important marine micro algae with different culture media. Aquacult Eng 10: 99-110.

11.Junior A.M, Neto EB, Koening ML, Leça EE. 2007. Chemical Compositon of Three Microalgae Species for Possible Use in Mariculture, Brazilian Archives of Biology and Technology. Vol.50, n. 3: pp.461-467 May 2007. ISSN 1516-8913 Printed in Brazil

12.Kirroliaa, A., Bishnoia, N. R., and Singhb, N. 2011. Salinity as a factor affecting the physiological and biochemical traits of Scenedesmus quadricauda. *J Algal Biomass Utln*, *2*(4), 28-34.

13.Lavens P, Sorgeloos P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture FAO Fisheries Technical Paper. No. 361. Rome, FAO. 1996. 295p.

14.Moradi, M. and Ismail, A.M. 2007. Responses of Photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS –Scavenging systems to salt stress. During seedling and reproductive stages of Rice. Ann. Botany. 99 :

1173-1161. *Comm. int. Mer Médit*, *38*, 394.

15.Morris, I., Glover, H. E. 1974. Questions on the mechanism of temperature adaptation in marine phytoplankton. Mar. Biol., 24:141-154.

16.Ojha, J.S., 2006. Aquaculture Nutrition and Biochemistry. Agrotech Publishing Academy. 184 p.

17.Rai, A. K. 1990. Biochemical characteristics of photosynthetic response to various external salinities in halotolerant and fresh-water cyanobacteria. F.E.M.S. Microbiol. Lett. 69: 177-180.

18.Rai, A.K. and Abraham, G. 1993. Salinity tolerance and growth analysis of the cyanobacterium Anabaena doliolum. Bulletin Environ. Contamin. Toxicol. 51: 724-731.

19.SarosJE, FritzSC. 2000. Changes in the growth rates of saline-lake diatoms in response to variation in salinity, brine type and nitrogen form. Journal of Plankton Research Vol.22 no.6 pp.1071–1083.

20.Serdar, S., Lök, A., Acarli, S., and Köse, A. 2007. The effect of two different culture media and five different salinities on growth of Tetraselmis suecica.*Rapp.Comm. int. Mer Medit*,38,394.

21.Sigaud, T. C. S., Aidar, E. 1993 Salinity and temperature effects on the growth and chlorophyll-a content of some planktonic

aigae. *Brazilian Journal of Oceanography*, *41*(1-2), 95-103.
22.Strizh, I. G., Popova, L. G., Balnokin, Y. V. 2004. Physiological aspects of adaption of the marine microalga Tetraselmis (Platymonas) viridis to various medium salinity. Russian Journal of Plant Physiology. 51:1
23.Sourina, A., 1978. Phytoplankton manual. Unesco.337 p. Goldman, J. C. , Mann, R.1980 .
24.Toyub,MA.,Uddin,mz.,2011.,Growth performance and nutrional analysis of spirulina platensis in different concentration of papaya skin powdr media.research Bangladesh j.sci.ind.res.46(3),333-338.
25.Vonshak, A. N., Bunang K. B., Tanticharoen, M. 1996. Role of right and photosynthesis on the acclimation process of the cyanobacteria *Spirulina platensis* to salinity stress. J. Appl. Phycol. 8: 119-124.

The Effect of Salinity on Algae Cell Density on *Skeletonema* sp and *Tetraselmis* sp in Vitro and Determination of Chlorophyll a

Ebrahimi E. [(1)*], Ghorbani Vagheie R. [(2)], Mohammadizade, F [(1)]

Esmatebrahimi82@yahoo.com

1-Islamic Azad University of Bandar Abbas.

2-Iran Shrimp Research Center. Bushehr.

Received: March 2013 Accepted: May2014

Abstract

In order to examine the cell density and determine the chlorophyll content algas *skeletonema* sp and *Tetraselmis* sp in culture F/2 under different salinity 15, 20, 25, 30, 35 parts per thousand were cultured for 15 days. The results of growing in *Tetraselmis* sp showed that the algas had suitable resistance against vacillations of salinity and they can grow in different salininty. *Tetraselimis* alga can grow in salinity 30 and 35 parts per thousand and while in *Tetraselmis* sp alga the best amount of growing were observed in salininty 25 parts per thousand. Time of reaching to the highest density of growing in culture F/2 were significantly different ($p > 0.05$). alga can grow in salinity 30 and 35 parts per thousand and while in *Tetraselmis* sp alga the best amount of growing were observed in salininty 25 parts per thousand. Time of reaching to the highest density of growing in culture F/2 were significantly different ($p > 0.05$). According to the amount of growing in Tetraselimis with slower growing and go progressive stage with lower speed which show the different behavior of growing amount. In examining the effect of different salininty on amount of chlorophyll alga *Tetraselimis* there weren't any differences between cases ($p > 0.05$). the highest amount of chlorophyll were related to cases with salininty 20 parts per thousand salininty with amount 3/33 Micro gremin liter and the lowest amount were related to cases with salinity 35 parts per thousand with amount 1/21 Micro grem in liter. By increasing salinity we can observe the decrease of chlorophyll a in each Mili liter. According to the amount of growing in *Skeletonmema* is rapid growing and the time of reaching to the highest growing then the death phase. Calculation of effect of salininty on amount of chrollphyll a in *Skeletonmema* alga showed in density 20 parts per thousand and 25 parts per thousand had more chrollphyll regard to other cases and among the amaunt of least salinity that is 15 Mili gram in liter and amount of most 30 and 35 parts per thousand the statistecs significant differences were not oloserved.

Keywords: *Tetraselmis* sp, *Skeletonema* sp, culture F/2, different salininty, chrollophyll.

*Corresponding author