بررسی رشد ویژه و میزان کلروفیل ریزجلبک *Spirulina platensis* در محیط کشت‌های عصاره کودهای آلی

الهام اله‌پناه[۱]، منصوره قائنی[۲]، نگار قطب‌الدینی[۳]

۱) گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات خوزستان، دانشجوی کارشناسی ارشد

Email: e_allahpanah@yahoo.com

۲) گروه شیلات، دانشکده کشاورزی،دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، استادیار گروه شیلات

Email: mansoreh.ghaeni@gmail.com

۳) گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات خوزستان، مدیر گروه شیلات

Email: ghotbeddiny2005@gmail.com

چکیده

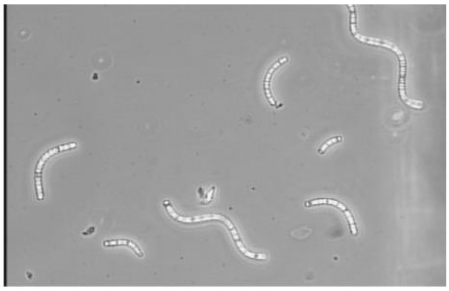
در این تحقیق رشد ویژه و میزان کلروفیل a سیانوباکتر *Spirulina platensis* در محیط کشت‌های مختلف از جمله کانوی (شاهد)، عصاره کود گاوی، عصاره کود مرغی، پوست خشک میوه‌ها هر کدام با سه تکرار در محیط آزمایشگاه در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، شوری ۱۵ گرم بر لیتر، pH=۷ ، با روشنایی ۳۰۰۰ لوکس ودوره‌ی نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و همچنین هوادهی با استفاده از پمپ آکواریوم به صورت شبانه روزی طی مدت ۲۲ روز، مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. روزانه تراکم سلولی، با استفاده از قرائت شدت نور با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٦٢٠ نانومتر و میزان کلروفیل در طول موج‌های ٦٦٤، ٦٤٧ و ٦٣٠ نانومتر اندازه‌گیری شد. نتایج بدست آمده نشان داد که رشد ویژه اسپیرولینا در محیط کشت مرغی بیشترین میزان ۰/۰۷۹۹ تقسیم در روز و در محیط کشت‌های کانوی و گاوی کم ترین میزان و بدون اختلاف معنی داری به میزان ۰/۰۰۲۳ تقسیم در روز را به خود اختصاص داد. همچنین میزان کلروفیل بین چهار محیط کشت مورد بررسی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P < ۰/۰۵$).

کلمات کلیدی

Spirulina platensis، محیط کشت کانوی، کود گاوی، کود مرغی، پوست خشک میوه‌ها، رشد ویژه، کلروفیل a

مقدمه

Spirulina platensis سیانوباکتر رشته‌ای میکروسکوپی است، اسم آن از کلمه لاتین helix یا spiral به معنای چرخش یا پیچش مشتق شده است که به دلیل شکل مارپیچی آن می‌باشد (شکل۱) و به صورت معلق درآب رشد می‌کند (چونوالا، ۲۰۰۷).



شکل ۱:*Spirulina platensis*

Spirulina platensis به عنوان «غذایی برای آینده» یاد شده است، زیرا قابلیت تولید مواد غذایی متراکم با کیفیت بالا را داشته و در مقایسه با سایر جلبک‌ها کارایی بیشتری دارد (چونوالا، ۲۰۰۷). اسپیرولینا از قدیمی‌ترین و ابتدایی ترین موجودات آبزی است که توسط مردم بومی از هزاران سال پیش مورد استفاده قرار گرفته است (پلایز، ۲۰۰۶). اولین گزارش در خصوص استفاده از جلبک اسپیرولینا توسط کاستیلو در سال ۱۵۲۱منتشر گردید. معرفی اسپیرولینا به عنوان مواد غذایی برای مصرف انسان در اواخر ۱۹۷۰و اوایل ۱۹۸۰ با ادعای بسیاری که اسپیرولینا به عنوان یک عامل جادویی عمل می‌کند،وباعث درمان سرطان و فعالیت‌های ضد ویروسی و آنتی بیوتیک می‌شود آغاز گردید. *Spirulina platensis* غیر سمی است و چربی‌های آن بصورت اسید چرب غیر اشباع است که کلسترول ندارد به همین سبب در درمان بیماری‌های تصلب شرائین و چاقی است (چونوالا، ۲۰۰۷). پودر *Spirulina platensis* بدلیل میزان قابل توجه اسید لینولنیک (18:3 w3) نقش مهمی در رشد لارو ماهی اسلینتی (۱۹۸۸) و لارو میگو دارد. (اینجد مجیتر،۱۹۸۹).

۱-۱) اکولوژی و زیستگاه *Spirulina platensis*

Spirulina platensis در همه‌جا از جمله خاک‌های مرطوب، آب شور، لب شور، شیرین و... یافت می‌شود. استخرهای آب شیرین و دریاچه‌هایی که قلیایی‌تر هستند و pH=۸-۱۱ دارند مناسب‌تر از دریاچه‌های با pH معمولی هستند. توانایی *Spirulina platensis* برای رشد در محیط‌های قلیایی و گرم بسیار زیاد است به همین دلیل موجودات آلوده‌کننده نمی‌توانند در این محیط رشد کنند. توانایی سازگاری بالای آن اجازه می‌دهد که ارزش مواد مغذی آن حفظ شود و مثل سایر غذاهای گیاهی که در دمای بالا به سرعت تخریب می‌شوند نیست. مقایسه چند دریاچه از نظر فلور جلبکی نشان داده که در pH شوری و قلیایی بالا گونه غالب *Spirulina platensis* است (چونوالا، ۲۰۰۷).

۱-۲) ترکیبات شیمیایی و مواد مغذی *Spirulina platensis*

به طور کلی جلبک‌های سبز- آبی، خصوصاً *Spirulina platensis* دارای ساختار ابتدایی با سلولهای ذخیره‌ای کشیده و تکثیر غشاء سلول می‌باشند، اما غنی از ریبوزوم است. آرایش اختصاصی ترکیبات سلولی اجازه فتوسنتز سریع و تشکیل پروتئین را می‌دهد. فقدان دیواره‌های سلولی سخت، باعث جذب راحت و سریع پروتئین *Spirulina platensis* در موجودات مصرف‌کننده می‌شود. ترکیبات شیمیایی *Spirulina platensis* نشان می‌دهد، که منبع غذایی مناسبی برای انسان و حیوانات محسوب می‌شود، همچنین باعث جلوگیری از

سوء تغذیه در کشورهای در حال توسعه می‌باشد. *Spirulina platensis* غنی از پروتئین، بتا کاروتن و اسید گامالینولنیک است. ترکیبات شیمیایی و مواد مغذی *Spirulina platensis*، شامل: پروتئین، کربوهیدرات‌ها، چربی، رنگدانه‌های طبیعی، آنزیم‌ها، گلوکولیپیدها و سولفولیپیدها، پلی‌آمین‌ها، مواد معدنی، اسید نوکلئیک می‌باشد.

کاربردهای استفاده از *Spirulina platensis*: محیط زیست، آبزی پروری، جنبه‌های غذایی، پزشکی، محیط زیست می‌توان نام برد که از مهم‌ترین کاربردهای *Spirulina platensis* در آبزی پروری می‌توان به عنوان غذای لارو میگو و ماهی بطور انبوه (قائنی،۱۳۸۸)، همچنین رشد و بازماندگی مرحله لاروی میگوی ببری سبز (قائنی،۱۳۸۸) اشاره نمود. و همچنین نقش مهمی در رشد میگو از اواخر مرحله ناپلی تا اوایل پست لاروی (اینجد مجیتر، ۱۹۸۹؛ قائنی، ۱۳۸۸) دارد، و به عنوان مکمل غذایی برای سخت پوستان استفاده می‌شود و همچنین در پزشکی می‌توان به عنوان تقویت‌کننده‌ی سیستم ایمنی، کنترل کلسترول و آترواسکلروز، تنش پیش از قاعدگی و ورم مفاصل و کاهش وزن (کولا و همکاران، ۲۰۰٤) اشاره نمود. جذب آهن در اسپیرولینا ٦۰ درصد بهتر از سولفات آهن و مکمل‌های دیگر است (پویفولهوکس و همکاران، ۲۰۰۱). اسپیرولینا مؤثر در کاهش قند خون، ایجاد تحمل در برابر کمبود اکسیژن بدلیل کلروفیل موجود در آن می‌باشد و کاربرد آن در محیط زیست استفاده از غذاهای حاوی اسپیرولینا به جای استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها سبب کاهش آلودگی آبها و هزینه‌های درمان و افزایش کارایی سیستم‌های پرورش می‌شود (بهومیک و همکاران، ۲۰۱۰)، کشت اسپیرولینا باعث آلودگی محیط زیست، فرسایش خاک، آلودگی آب و یا ویرانی جنگل نمی‌شود، می‌توان اشاره کرد.

تویوب و همکاران (۲۰۱۱)، عملکرد رشد و تجزیه و تحلیل‌های غذایی *Spirulina platensis* در غلظتهای مختلف پودر پوست پاپایا را مورد مطالعه قرار دادند که این برای اولین باربود که بر روی گیاهان آوندی مطالعه‌ای انجام می‌شد. بر اساس نتایج به دست آمده، در غلظت‌های پایین‌تر *Spirulina platensis* رشد بهتری داشته و همچنین این محیط کشت ارزان قیمت، با صرفه وجایگزین مناسبی برای محیط کشت‌های دیگر می‌باشد.

جین و همکاران (۲۰۱۱) اثر ضایعات زباله‌های کدو را بر روی رشد *Spirulina platensis* را مورد آزمایش قراردادند و در نتیجه ضایعات زباله‌های کدو باعث کم‌شدن هزینه‌ها شد و همچنین برای محیط زیست مفید واقع شد.

هدف کلی بررسی میزان رشدویژه، کلروفیل ریز جلبک اسپیرولینا در محیط کشت‌های آلی می‌باشد.

مواد وروش‌ها

ریز جلبک *Spirulina platensis* در ٤ محیط کشت با ۳ تکرار به مدت ۲۲ روز به میزان ۳۰ سی‌سی از ریز جلبک به همراه ۳ سی سی از محیط کشت شیمیایی کانوی و ۲/۵ :۱ محیط کشت آلی (کود گاوی، کود مرغی، پسماندهای گیاهی) در ظروف کوچک ۱/۵ لیتری تحت شرایط زیستی یکسان (دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، شوری ppt ۱۵ و در pH، ۷ و شدت نوری ۳۰۰۰ لوکس و دوره‌ی نوری ۱۲ ساعت

تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، هوادهی با استفاده از پمپ آکواریوم به صورت شبانه‌روزی در آزمایشگاه علوم تحقیقات خوزستان انجام شد. در این آزمایش شوری با شوری‌سنج ATAGO، دستگاه اسپکتوفتومتر HACH مدل DR-5000، pH سنج مدل ISTKE انجام شد.

محاسبه رشد ویژه Spirulina platensis

بررسی رشد ویژه *Spirulina platensis*، با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ٦٢٠ نانومتر اندازه‌گیری شد (مسیح و همکاران، ۲۰۱۱). و میزان رشد ویژه از فرمول زیر محاسبه شد (تویوب و همکاران، ۲۰۱۱).

$X1$ = غلظت زیست توده در انتهای دوره

$X2$ = غلظت زیست توده در ابتدای دوره

$t_2 - t_1$ = اختلاف زمانی بین روزهای ابتدایی و انتهایی

$$SGR\ (\mu/day) = \ln (X1 - X2)/ t_2 - t_1$$

اندازه‌گیری کلروفیل

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل میزان جذب در طول موج‌های ٦٦٤، ٦٤٧ و ٦٣٠ نانومتر قرائت شد و در فرمول زیر میزان کلروفیل محاسبه شد (تویوب و همکاران، ۲۰۱۱؛ جین و همکاران، ۲۰۱۱).

$$Chlorophyll\ a\ (mg/l) = 11.85(OD\ 664) - 1.54\ (OD\ 647) - 0.08\ (OD\ 630)$$

تجزیه و تحلیل اطلاعات

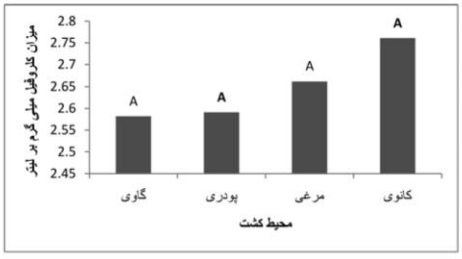
مقایسه‌ی میزان تراکم ریز جلبک، میزان کلروفیل a و رشد ویژه با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون مقایسه‌ی میانگین دانکن با سطح اطمینان ۹۵٪ توسط نرم‌افزار SPSS (VER16) صورت گرفت و تمامی نمودارها توسط نرم‌افزار EXCEL2010 رسم شدند.

نتیجه‌گیری

نتایج میزان رشد ویژه ریزجلبک *Spirulina platensis* که در مدت ۲۲ روز دوره کشت انجام شد (نمودار ۱).

نمودار ۱: مقایسه رشد ویژه ریز جلبک *Spirulina platensis* در ۴ محیط کشت دردوره کشت

نتایج میزان کلروفیل ریز جلبک *Spirulina platensis*، که در مدت ۲۲ روز دوره کشت انجام شد (نمودار ۲).



نمودار ۲: مقایسه کلروفیل ریز جلبک*Spirulina platensis* در ۴ محیط کشت دردوره کشت

در خصوص میزان رشد ویژه ریز جلبک *Spirulina platensis* نتایج حاصله نشان می‌دهد که از لحاظ میزان رشد ویژه، بین دو محیط کشت پودری و مرغی اختلاف معنی داری وجود دارد، و همچنین میان این دو محیط کشت و محیط کشت‌های کانوی وگاوی اختلاف قابل توجهی وجود دارد، در عین حال دو محیط کشت کانوی و گاوی اختلاف معنی‌داری ندارند. در بین محیط کشت‌ها در رتبه‌ی اول مرغی به میزان ۰/۰۷۹۹ میکرو در روز و در رتبه‌ی دوم به پودری میزان ۰/۰۱۲٤ میکرو در روز و محیط کشت‌های کانوی و گاوی به ترتیب به میزان ۰/۰۰۲۳ میکرو در روز و ۰/۰۰۲۳ میکرو در روز در رتبه‌های سوم و چهارم قرار گرفته‌اند.

در خصوص مقدار کلروفیل ریز جلبک *Spirulina platensis* نتایج حاصله نشان می‌دهد که از لحاظ مقدار کلروفیل بین چهار محیط کشت ریز جلبک اختلاف معنی داری وجود ندارد. ($P<0/05$) در بین محیط کشت‌ها در رتبه‌ی اول کانوی به میزان ۲/۷٦۱ میلی‌گرم بر لیتر و در رتبه‌ی دوم مرغی به میزان ۲/٦٦۲ میلی گرم بر لیتر و محیط کشت‌ها پودری وگاوی به ترتیب به میزان ۲/۵۹۱ میلی گرم بر لیتر و ۲/۵۸۲ میلی گرم بر لیتر در رتبه‌های سوم و چهارم قرار گرفته‌اند.

بحث

در تحقیق حاضر میزان کلروفیل بین چهار محیط کشت مورد بررسی اختلاف معنی داری وجود نداشت ($P<0.05$) و رشد ویژه *Spirulina platensis* در محیط کشت مرغی بیشترین میزان می‌باشد. در تحقیقی که توسط توبی و همکاران در سال ۲۰۱۱، بر روی میزان رشد ویژه ریز جلبک *Spirulina platensis* در محیط کشت گیاهی پوست پاپایا انجام گرفت، میزان رشد ویژه حدود ۰/۵ میکرو در روز به دست آمد اما رشد ویژه در تحقیق حاضر در محیط کشت کود مرغی حدود ۰/۰۷ میکرو در روز به دست آمد که بیشترین میزان رشد ویژه را در بین ٤ محیط کشت به خود اختصاص داد.

پس میزان رشد ویژه به دست آمده در این تحقیق نسبت به تحقیق فوق کم‌تر بوده و ممکن است به دلیل مواد مغذی، شرایط فیزیکی و محیط آزمایش و تفاوت در غلظت‌های استفاده شده در محیط کشت تشکیل-شده از پوست پاپایا باشد.

چوهان در سال ۲۰۱۰ میزان کلروفیل تولید شده در ریز جلبک *Spirulina platensis* در محیط کشت زاروک را مورد بررسی قرار داد، بیشترین مقدار کلروفیل به میزان ۱ میلی گرم بر لیتر به دست آمد در حالی که در این تحقیق بیشترین مقدار کلروفیل در محیط کشت کانوی و به میزان ۲/۷ میلی‌گرم بر لیتر حاصل شد.

طبق آزمایش جین درسال ۲۰۱۱ که بر روی کلروفیل ریز جلبک *Spirulina platensis* در محیط کشت زباله‌های تر (ضایعات گیاهی چون ساقه کدو) در ٦ غلظت (غلظت‌های ۱۰-٦۰ درصد) انجام شد نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که بیشترین مقدار کلروفیل ریز جلبک *Spirulina platensis* در غلظت ۳۰ درصد از پوست ساقه کدو به میزان۲۱/۲ میلی گرم بر لیتر به دست آمد که در تحقیق حاضر میزان کلروفیل ریز جلبک *Spirulina platensis* در ٤ محیط کشت اختلاف معنی‌داری نداشته است و بیشترین مقدار

کلروفیل در محیط کشت کانوی به میزان ۲/۷ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد.

نتیجه‌گیری کلی

مطالعه حاضر فقط بخش کوچکی از جهت‌های مختلف که باید در انتخاب ریز جلبک برای آبزی پروری تفسیر شود را نشان می‌دهد با توجه به نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر و مقایسه با سایر مطالعات می‌توان بیان کرد مغایرت بین داده‌ها می‌تواند به دلیل تفاوت در محیط کشت‌های مورد استفاده شده و همچنین غلظت محیط کشت و شرایط فیزیکی محیط باشد. در نهایت با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان بیان کرد که ریز جلبک *Spirulina platensis* در محیط کشت کودهای آلی از جمله کود مرغی و پسماندهای گیاهی و گاوی رشد ویژه بیشتری را داشته و مقدار کلروفیل در ٤ محیط کشت اختلاف معنی‌داری نداشته و جایگزین مناسبی می‌باشند و بهترین محیط کشت‌ها از لحاظ اقتصادی و زیست محیطی برای کشت این ریز جلبک می‌باشد.

منابع

۱. قائنی م.،۱۳۸۸، تأثیر توده زنده *Spirulina platensis* (تازه و خشک) بر برخی شاخص‌های زیستی لارو میگوی ببری سبز *Penaeus semisulcatus*، پایان‌نامه دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران.

2. Bhowmik D. Dubey J and Mehra S, 2010, Evaluating Potential of Spirulina as , Academic Journal of Plant Sciences 3 (4): 161-164

3. Choonawala B. , 2007,Spirulina production in Brine Effluent from Cooling Towers. Durban University of Technology.

4. Colla L. Bertolina T. and Costa J. 2004. Fatty Acids Profile of *Spirulina platensis* Grown Under Different Temperatures and Nitrogen Concentrations Z. Naturforsch. 59c, 55D59.

5. Ingthamjitr S. 1989. Use of Spirulina in the culture of Penaeusmonodon larvae. Asian Inst. of Technology, Thailand.

6. Jain S. Masih S. and Sing S. 2011. Potentiality of Petha (Benincasahispida) Waste for the Growth of Spirulina platensis, Research Journal of Agricultural Sciences, 2(1): 133-135.

7. Kumar M and Kulshreshtha J and G. P. Singh. 2011. Growth and Pigment Profile of Spirulina platensis Isolated from Rajasthan, India , Research Journal of Agricultural Sciences, 2(1): 83-86.

8. Kumar M. Kulshreshtha J. 2011. growth and biopigment accumulation of cyanobacterium spirulina platensis at different light intensities and temperature , Brazilian Journal of Microbiology , 42: 1128-1135 ISSN 1517-8382.

9. Masih S. Sofi M. and G. Singh S. 2011. Growth Performance of Spirulina platensis under Mixotrophic Culture Research Journal of Agricultural Sciences, 2(1): 119-121.

10. Pelaez F, 2006, The historical delivery of antibiotics from microbial natural products_Canhistoryrepeat, Biochem. Pharmacol., 71 (7), p.981.

11. Puyfoulhoux G , Rouanet J.M , Besancon P, Baroux B , Baccou J.C , and Caporiccio B, 2001, Iron availability from iron-fortified Spirulina by an in vitro digestion/Caco-2 cell culture model. J Agric Food Chem. 49: 1625-29.

12. Qing Z ; Zhongmai H ; Jiangjun H ; Limin P ; Yao Ying , 2011, Controlling the organic contamination strength of municipal wastewater with spirulina platensis, Materials for Renewable Energy & Environment (ICMREE), International Conference.

13. Toyub M. Uddina M. Miahb M. and Habibb M. 2011. Growth Performance and Nutritional Analysis of Spirulina platensis in Different Concentrations of Papaya Skin Powder Media, Bangladesh J. Sci. Ind. Res. 46(3), 333-338.

Evaluation of specific growth and chlorophyll of Spirulina platensis in organic manure media extract

Elham allahpanah[1], mansoreh ghaeni[2], negar ghotbeddiny[3]

1. Email: e_allahpanah@yahoo.com
2. Email: mansoreh.ghaeni@gmail.com
3.Email: ghotbeddiny2005@gmail.com

Abstract:

In this research specific growth and chlorophyll of *Spirulina platensis* has been measured in different organic media (fruit died skin, cattle manure and poultry manure) and convey media as control in 15ppt salinity, 25°C temperature, pH=7, 3000 lux light, photoperiod 12h and aeration for 24h by triplicate in laboratory. Cell concentration has been determined by spectrophotometer in 620nm wave length for specific growth and 664,647 and 630nm for chlorophyll amount diurnal. According to results, the highest specific growth rates was 0.0799 division day^{-1} at poultry manure while cattle manure and convey were Lowest 0.0023 division day^{-1} without any significance difference($p<0.05$). Also there isn't any significant different in amount of chlorophyll between different media.

Key words:

Spirulina platensis , fruit died skin, cattle manure and poultry manur*e, specific growth and chlorophyll*