مقایسه جمعیت کلنی ریزجلبک سندسموس (*Scenedesmus* sp.) در دو محیط کشت TMRL و Z8+N+P در شرایط آزمایشگاهی (Indoor)

زهره صیدانلو*[1]، علی گنجیان خناری[2]، افشین قلیچی[3] و سیدابراهیم احمدی[4]

[1]باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر، آزادشهر، ایران

[2]گروه پژوهشی شیلات و آلاینده‌های آبی خزر، [3]عضو هیات‌علمی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران، [4]دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۳۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱/۳۰

چکیده

ریزجلبک سبز سندسموس (*Scenedesmus* sp.) ابتدا از منابع آبی منطقه فرح آباد به‌وسیله تور پلانکتون‌گیر با چشمه تور ۲۰ میکرون نمونه‌برداری شد و در سیستم فایکولب گروه پژوهشی شیلات و آلاینده‌های آبی خزر به روش پی‌پت پاستور جداسازی و خالص‌سازی انجام گردید. پس از ساخت محیط کشت‌های TMRL و Z8+N+P، استوک ریزجلبک سبز فوق با تراکم کشت اولیه ۷×۱۰^{۶} عدد در میلی‌لیتر تلقیح و در سیستم فایکولب در دمای ۲±۲۵درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۳۵۰±۳۵۰۰ لوکس به‌منظور بررسی رشد قرار داده شد. این آزمایش با ۲ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار در نظر گرفته شد. ریزجلبک‌ها ۵ بار و در طی ۱۰ روز، با استفاده از میکروسکوپ نوری معمولی، با بزرگنمایی عدسی۴۰ و با لام نئوبار مورد شمارش قرار گرفتند. علاوه بر تعداد سلول‌ها، از تعداد کلنی‌ها نیز به‌صورت مجزا شمارش به‌عمل آمد. میانگین شمارش سلول‌های سند سموس محیط کشت‌های TMRL و Z8+N+P در ۵ مرحله به‌ترتیب $۶/۰۶\times۱۰^{۶}\pm۴۷/۱\times۱۰^{۶}$ و $۲۱/۷\times۱۰^{۶}\pm۳۹/۱\times۱۰^{۶}$ عدد سلول در میلی‌لیتر بدست آمد. بیشترین میانگین فراوانی کلنی‌ها در ۱۰ روز شمارش در محیط کشت Z8+N+P، ۳۹/۷ درصد مربوط به کلنی ٤ سلولی و در محیط کشت TMRL، ۵۳/۵ درصد مربوط به کلنی تک سلولی بود. به‌طورکلی نتایج حاصله موید آن است که محیط کشت Z8+N+P در مقایسه با محیط کشت TMRL برای رشد ریز جلبک سندسموس در شرایط آزمایشگاهی کارآمدتر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ریزجلبک سندسموس، کلنی، محیط کشت‌های TMRL، Z8+N+P

مقدمه

کلروفیتا یا جلبک‌های سبز به علت تنوع گونه‌ای و پراکنش بالا به‌عنوان یکی از گروه‌های عمده جلبک‌ها محسوب می‌گردند (Bold و Wynne، ۱۹۸۵) جلبک‌ها یا فیتوپلانکتون‌ها موجودات ساده‌ای هستند که نقش مهمی در اکوسیستم‌های آبی و زنجیره‌های غذایی در آب‌ها دارند. تنوع و تفاوت زیاد گونه‌های جلبکی باعث شده است تا در تمام دریاچه‌ها و آبگیرها حضور داشته باشند (حسینی، ۱۳۸٤). جلبک‌های سبز به انواع مختلف تک سلولی، ریسه‌ای، غشایی، صفحه یا لوله‌ای دیده می‌شوند (Bisalputra، ۱۹۷٤؛ Evans، ۱۹۷٤؛ Dodge، ۱۹۷۲). ریزجلبک‌ها گروه بسیار متنوع از میکروارگانیسم‌ها هستند که بیشتر تک سلولی، رنگارنگ، فتواتوتروف و به‌عنوان تولیدکننده بزرگ اقیانوسی و آب شیرین هستند (Hoa و همکاران، ۲۰۱۱؛ Olaziola، ۲۰۰۳). براساس مطالعات انجام شده منابع آبی داخلی منبع بسیار مهم و سرشار از

*نویسنده مسئول: seydanloozohreh95@gmail.com

ریزجلبکها هستند و در دریای خزر بیش از ۳۳٤ گونه از ۸ شاخه فیتوپلانکتون مورد شناسایی قرار گرفته است (Ganjian، ۲۰۱۰). لازم به ذکر است، تاکنون ۱۷۱ گونه از جلبک‌های تک سلولی جنس سندسموس شناسایی شده‌اند (عسل‌پیشه و همکاران، ۱۳۹۱). جلبک سبز سندسموس عموما در دریاچه‌های آب شیرین وجود دارد و می‌تواند هم تک سلولی و هم به‌صورت کلنی یافت شود (Trainor، ۱۹۹۲). این جنس از جلبک‌ها یکی از پرطرفدارترین منابع غذایی در آزمایش‌ها و کشت زئوپلانکتون‌های گیاه‌خوار هستند (Boersma و Vijverberg، ۱۹۹۵). تولید مثل در *Scenedesmus* از طریق اتو کلنی (Auto colony) انجام می‌شود، بدین ترتیب که هر سلول مادر کلنی‌های مینیاتور (Miniature) ایجاد می‌کند و سپس از داخل و گاهی از دیواره سلول مادر آزاد می‌شوند (Staehelin و Pickett-Heaps، ۱۹۷۵). جنس سندسموس در زمینه‌های مختلف لیمنولوژی معادل موش‌های رت آزمایشگاهی مطرح بوده و کاربرد فراوانی در علوم اجتماعی دارند. این جلبک‌ها معمولا به‌عنوان میکروارگانیسم‌های استاندارد در بسیاری از پژوهش آبی، تکنولوژی و مدیریت آب‌ها مطرح هستند (Zachleder و همکاران، ۱۹۸٦).

جلبک‌ها دارای انواع اسیدهای چرب، آمینواسیدها، پروتئین‌ها، پلی ساکاریدها، مونوساکاریدها، مواد مغذی و ویتامین‌ها هستند (سهندی و همکاران، ۱۳۹۰). کشت جلبک با غنی سازی مواد مغذی که میزان آن‌ها در آب دریا کم است، انجام می‌گیرد. محیط‌های کشت شامل مواد مغذی اصلی مثل نیترات‌ها، فسفات (با نسبت ٦ به ۱) و سیلیکات (مخصوص دیاتومه‌ها) و ریز مغذی‌ها همچون ویتامین B_1، سیانوکوبالامین (B_{12}) و در برخی موارد بیوتین و برخی از مواد معدنی می‌باشند (حافظیه، ۱۳۸۳). نیتروژن ماده‌ای است که به‌طور معمول به‌عنوان ماده مغذی محدود کننده در نظر گرفته شده است اما در بعضی مواقع فسفر، آهن و مواد مغذی دیگر می‌توانند محدود کننده رشد باشند (Craigie و Shacklock، ۱۹۸۹)

عناصرکربن، گوگرد، آهن، اکسیژن، هیدروژن، نیتروژن، فسفر، منیزیوم و پتاسیم عمده ترین عناصر شیمیایی در رشد جلبک کلرلا و سندسموس (*Scenedesmus*) هستند. نیتروژن ممکن است به‌صورت‌های NH_4 و NO_2 و NO_3 و ترکیبات آلی دیگر برای انواع مختلف جلبک به‌کار رود لیکن در بیشتر موارد در NO_3 و NH_4 مورد استفاده قرار می‌گیرند (Archibald و Bold، ۱۹۷۰). افزایش غلظت مواد مغذی آب به‌خصوص نیترات و آمونیوم دارای اثرات مثبت و منفی بر سیستم آبی و زیستمندان آن می‌باشد. از جمله اثرات مثبت آن‌ها می‌توان به افزایش جمعیت فیتوپلانکتون‌ها اشاره کرد (Reynolds، ۱۹۸٤). این موجودات براساس خصوصیاتی همچون اندازه و شکل سلول، قابلیت هضم (ساختار سلولی و ترکیبات آن)، ترکیبات بیوشیمیایی (مواد مغذی، آنزیم‌ها، درصد مواد سمی موجود در آن) تقسیم بندی می‌شوند (آدینه و همکاران، ۱۳۹۰). بعضی از گونه‌های فیتوپلانکتون در آب شیرین از نظر ریخت‌شناسی، مشخصات فیزیولوژیکی، ساختار ژنتیکی و ترکیبات بیوشیمیایی تغییر پذیر هستند (Lynch، ۱۹۸۰؛ Kyony و همکاران، ۲۰۰۱).

از جلبک‌های تک سلولی به دلیل داشتن مقادیر بالای اسیدهای چرب برای تولید سوخت طبیعی و حتی در تغذیه زئوپلانکتون‌هایی مثل روتیفرها و دافنی‌ها استفاده می‌شود (Ajah، ۲۰۱۰). با توجه به کاربرد بسیار وسیع و ارزش اقتصادی، ریزجلبک‌ها و مصارف آنها در صنایع مختلف، بررسی تنوع گونه‌ای ریزجلبک‌های بومی منطقه و ارزیابی کشت و فواید

صنعتی، بررسی ارزش غذایی و یافتن کاربرد آن‌ها در صنایع مختلف می‌تواند بنیادی‌ترین پژوهش در آغاز صنعتی‌شدن کشت و پرورش ریزجلبک‌ها باشد.

از آنجا که در بحث مدیریت منابع آبی، مواد مغذی نقش بسیار مهمی را در کنترل تولیدات اولیه بازی می‌کنند و توجه به هزینه بالای تولید محیط کشت، می‌توان تغییراتی در نوع محیط کشت مورد استفاده ریز جلبک‌ها ایجاد نمود که علاوه بر کم کردن هزینه‌ها، راندمان تولید را نیز افزایش داد (گنجیان و همکاران، ۱۳۹۲). هدف از این مطالعه بررسی روند رشد جمعیت کلنی‌های ریزجلبک (*Scenedesmus* sp.) در دو محیط کشت TMRL و Z8+N+P در شرایط آزمایشگاهی (Indoor) و به‌دست آوردن بالاترین تراکم سلولی در کمترین زمان ممکن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ریزجلبک سبز سندسموس (*Scenedesmus* sp.) ابتدا از منابع آبی منطقه فرح آباد به‌وسیله تور پلانکتون‌گیر با چشمه تور ۲۰ میکرون نمونه‌برداری شد و در سیستم فایکولب گروه پژوهشی شیلات و آلاینده‌های آبی خزر به روش پی‌پت پاستور جداسازی و خالص‌سازی انجام گردید. به این صورت که ۲-۱ قطره از آب حاوی نمونه‌های ریزجلبک به‌وسیله قطره چکان با پی‌پت به وسط پتری دیش استریل شده مستقر روی میکروسکوپ اینورت انتقال داده شد و در اطراف آن ۸-۶ قطره از محیط کشت استریل در فواصل مختلف ریخته شد. پس از بررسی میکروسکوپی و شناسایی، نمونه مورد نظر را انتخاب و به‌وسیله یک پی‌پت پاستور که نوک آن روی شعله با کشیده شدن به‌وسیله پنس به‌صورت موئینه تغییر شکل یافته و به انتهای دیگر آن شیلنگ باریک جهت مکش وصل بود، به یکی از قطرات مجاور انتقال داده شد. جهت جداسازی، با استریل نمودن مجدد پی‌پت موئینه، نمونه‌های ریزجلبک مورد نظر از قطره جدید برداشت نموده و به قطره بعدی انتقال داده شد. در نهایت نمونه خالص به‌وسیله پی‌پت پاستور استریل به لوله آزمایش محتوی سلول کشت انتقال داده شد (فرح‌بخش، ۱۳۷۶).

طرز تهیه محیط کشت Z8+N+P:

برای تهیه محیط کشت Z8+N+P چهار محلول اولیه آماده شد.

محلول اول:

$NaNo_3$ → ٤٦/٧ گرم

$Ca(No_3).4H2o$ → ۵/۹ گرم

$MgSo_4.7H2o$ → ۲/۵ گرم

سپس توسط آب مقطر حجم به ۳۰۰ سی‌سی رسانده شد.

محلول دوم:

K_2HPo_4 → ۹/۳ گرم

Na_2Co_3 → ٦/٣ گرم

سپس توسط آب مقطر حجم به ۳۰۰cc رسانده شد.

محلول سوم :

$FeCl_3.6H_2o$ → ۱/۳۵۱۵ گرم → A

$EDTA \rightarrow C_{10}H_4N_2Na_2O8.2H_2o$ → ۲/۱۹۱۵ گرم → B

سپس توسط آب مقطر حجم به ۱۵۰cc رسانده شد.

سپس ۵ سی‌سی از محلول A را به ۵ سی‌سی از محلول B اضافه نموده و ٤٩٠ سی‌سی آب مقطر به آن افزوده شد.

محلول چهارم:

$Na_2sio_3.9H_2o$ →۲۵ گرم

H_3Bo_3 → ۱۵۵۰ میلی گرم

$Mncl_4.4H_2o$ → ۱۱۱۵ میلی‌گرم

$(NH_4)6Mo_7o_{24}.4H_2o$→٤٤ میلی‌گرم

KBr → ۵۹/۵ میلی‌گرم

KI → ٤١/٥ میلی‌گرم

$Znso_4+7H_2o$ → ۱٤۳/۵ میلی‌گرم

سپس توسط آب مقطر حجم به ۵۰۰ سی‌سی رسانده شد. برای تهیه ۱۰۰۰ سی‌سی از این محیط کشت ۳ میلی‌لیتر از محلول اول، ۱ میلی‌لیتر از محلول دوم، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول سوم و ۰/۰۸ سی‌سی از محلول چهارم برداشته، مخلوط و در ۱۰۰۰ سی‌سی آب مقطر حل شد (فلاحی و همکاران، ۱۳۸۵). مواد شیمیایی محصول شرکت مرک آلمان بوده است.

طرز تهیه محیط کشت TMRL:

NaH_2PO_4 → ۵ گرم

N → ۵۰ گرم

$FeCl_3$ → ۱ گرم

همه مواد در یک لیتر آب استریل حل شد. برای استریل کردن ظروف و وسایل شیشه‌ای آزمایشگاهی از دستگاه اتوکلاو به‌مدت ۱ ساعت و دمای ۱۲۱/٦ درجه سانتی‌گراد استفاده گردید (فلاحی و همکاران، ۱۳۸۵). ریزجلبک سبز سندسموس با تراکم ذخیره سازی اولیه ۷×۱۰^{٦} عدد سلول در میلی‌لیتر در محیط‌های کشت تزریق شد. دمای اطاق کشت در تمام مدت آزمایش ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. منبع تامین نور نیز با شدت ۳۵۰±۳۵۰۰ لوکس قرار داده شد و دوره نوری بوسیله دستگاه تایمر اتوماتیک به‌صورت تناوب (L/D): (۱۲/۱۲) ساعت تنظیم گردید. هوادهی ارلن مایرهای حاوی جلبک سندسموس موجود در محیط کشت‌های Z8+N+P و TMRL در هر میز با استفاده از دستگاه پمپ آکواریوم که به‌وسیله چند رابط به‌هم متصل شده بود، انجام شد. در این آزمایش ۲ تیمار و هر تیمار در ۳ تکرار در نظر گرفته شد و ریزجلبک‌ها ۵ بار طی ۱۰ روز شمارش شدند. شمارش با میکروسکوپ نوری معمولی با بزرگنمایی عدسی ٤۰ و لام نئوبار (شمارش ۵ خانه و ۲ تکرار) انجام شد. عمل رقت‌سازی برای جلوگیری از روی هم قرارگرفتن جلبک‌ها موقع شمارش انجام شد تا خطای ناشی از شمارش کاهش یابد. علاوه بر تعداد سلول‌ها، از تعداد کلنی‌ها نیز به‌صورت مجزا شمارش به‌عمل آمد. تعداد واقعی سلول‌های جلبک در هر تیمار و در هر روز با استفاده از فرمول زیر به‌دست آمد (مسعودی اصیل و اسماعیلی فریدونی، ۱۳۸۸).

رقت × ۱۰ × میلی‌متر مربع/ سلول‌ها=میلی‌مترمکعب/ سلول‌ها

(میلی‌متر مربع) وسعت شمارش شده/ میانگین سلول‌های شمارش شده= میلی‌متر مربع/ سلول‌ها

۱۰۰۰× رقت×۱۰× ۵ × تعداد نمونه شمارش شده= ۱ سی‌سی = ML

برای محاسبه سرعت رشد (ضریب رشدویژه) Specific Growth Rate (SGR) در روزهای مختلف از فرمول زیر استفاده می کنیم:

$$SGR=\frac{\ln W2-\ln W1}{t2-t1}$$

که W2=تعداد آخرین روز- W1=تعداد اولین روز- T1= اولین روز و T2= آخرین روز (مسعودی اصیل و اسماعیلی فریدونی، ۱۳۸۸).

نرخ رشد با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود.

$K=\ln Nt-\ln N0/t$

K= نرخ رشد

N0= تعداد سلول‌های اولیه درزمان شروع آزمایش

t= زمان (روزها)

Nt= تعداد سلول‌ها در زمان t

داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای Excel 2007 و SPSS 18 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. تحلیل‌های تی تست به‌منظور مقایسه میانگین تعداد سلول‌های ریزجلبک سندسموس در محیط کشت‌های TMRL و Z8+N+P استفاده شد. همچنین از آزمون ناپارامتریک کروسکال-والیس و آزمون من- ویتنی اختلاف بین محیط کشت‌های Z8+N+P و TMRL محاسبه شد (خاتمی، ۱۳۸۲).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

نتایج حاصل از تحلیل‌های تست تی به‌منظور مقایسه میانگین تعداد ریزجلبک سندسموس در محیط کشت‌های TMRL و Z8+N+P نشان داد که مقدار P برابر ۰/۰۰۸ می‌باشد و چون مقدار P بسیار کمتر از ۰/۰۵ می‌باشد نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین دو محیط کشت مذکور می‌باشد ($P\leq$ ۰/۰۵). نتایج آزمون من-ویتنی اختلاف معنی‌داری بین دو محیط کشت نشان نمی‌دهد ($P>$۰/۰۶۵). نتایج آزمون کراسکال-والیس اختلاف معنی‌داری را در محیط کشت Z8+N+P نشان داد (P<۰/۰۰۹) و X^2=۱۳/۵۲. همچنین نتایج آزمون کراسکال-والیس اختلاف معنی‌داری را در محیط کشت TMRL نشان داد ($P<$۰/۰۲۷) و X^2=۱۰/۹۴۷. اما با مقایسه دو نتیجه می‌توان درک کرد که سرعت لحظه‌ای رشد در محیط کشت Z8+N+P بسیار بیشتر از TMRL می‌باشد. محیط کشت TMRL نشان‌دهنده افت رشد و ناکارآمد بودن ادامه آزمایش با محیط کشت مذکور می‌باشد در حالی که در این آزمایش محیط کشت Z8+N+P با رشد عددی ثابت در حال تکثیر ریزجلبک سندسموس بوده و انتظار رشد فزاینده در شمارش‌های بعدی دور از انتظار نبود.

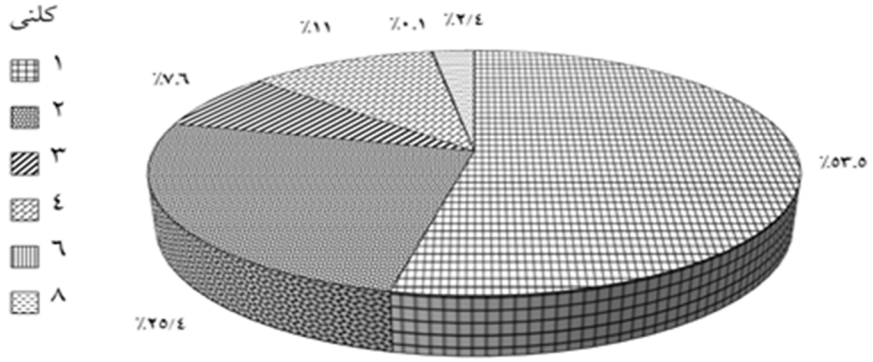
نتایج

تعداد کلنی‌ها، میانگین، حداقل، حداکثر، انحراف معیار و ضریب تغییرات محیط کشت TMRL برای رشد ریز جلبک سند سموس در ۵ دوره نمونه‌برداری در طول ۱۰ روز شمارش به‌صورت کلی، در جدول (۱) آورده شده است.

جدول ۱- میانگین شمارش کلنی ریزجلبک سندسموس (تعداد سلول در میلی‌لیتر×10^4) در محیط کشت TMRL طی ۱۰ روز شمارش

روز	کلنی	انحراف معیار ± میانگین	حداکثر – حداقل	ضریب تغییر(٪)
	۱	۳۲۵۰۰۰ ± ۲۵۰۰۰	۳۰۰۰۰۰-۳۵۰۰۰۰	۷/۷
	۲	۱۰۰۰۰۰ ± ۲۵۰۰۰	۷۵۰۰۰-۱۲۵۰۰۰	۲۵/۰
	۳	۳۳۳۳۳ ± ۱۴۴۳۳	۲۵۰۰۰-۵۰۰۰۰	۴۳/۳
	۴	۷۵۰۰۰ ± ۲۵۰۰۰	۵۰۰۰۰-۱۰۰۰۰۰	۳۳/۳
۲	۵	۰	۰	
	۶	۸۳۳۳ ± ۱۴۴۳۳	۰-۲۵۰۰۰	۱۷۳/۲
	۷	۰	۰	۰/۰
	۸	۱۶۶۶۶ ± ۱۴۴۳۳	۰-۲۵۰۰۰	۸۶/۶
	total	۱۱۰۸۳۳۳ ± ۵۷۷۳۵	۱۰۷۵۰۰۰-۱۱۷۵۰۰۰	۵/۲
	۱	۶۵۸۳۳۳ ± ۳۷۶۱۰۹	۳۰۰۰۰۰ – ۱۰۵۰۰۰۰	۵۷/۱
	۲	۴۱۶۶۶۶ ± ۳۷۸۵۹۳	۱۵۰۰۰۰ – ۸۵۰۰۰۰	۹۰/۹
	۳	۵۸۳۳۳ ± ۲۸۸۶۷	۲۵۰۰۰ – ۷۵۰۰۰	۴۹/۵
	۴	۲۴۱۶۶۶ ± ۱۸۴۲۷۷	۱۰۰۰۰۰ – ۴۵۰۰۰۰	۷۶/۳
۴	۵	۰	۰	۰/۰
	۶	۸۳۳۳ ± ۱۴۴۳۳	۰ – ۲۵۰۰۰	۱۷۳/۲
	۷	۰	۰	۰/۰
	۸	۱۳۳۳۳۳ ± ۷۲۱۶۸	۵۰۰۰۰ – ۱۷۵۰۰۰	۵۴/۱
	total	۳۲۲۵۰۰۰ ± ۱۰۸۱۹۵۴	۲۴۰۰۰۰۰ – ۴۴۵۰۰۰۰	۳۳/۵
	۱	۲۴۱۶۶۶۶ ± ۶۲۹۱۵۲	۱۷۵۰۰۰۰ – ۳۰۰۰۰۰۰	۲۶/۰
	۲	۱۳۳۳۳۳۳ ± ۵۷۷۳۵۰	۱۰۰۰۰۰۰ – ۲۰۰۰۰۰۰	۴۳/۳
	۳	۵۰۰۰۰۰ ± ۲۵۰۰۰۰	۲۵۰۰۰۰ – ۷۵۰۰۰۰	۵۰/۰
۶	۴	۴۱۶۶۶۶ ± ۱۴۴۳۳۷	۲۵۰۰۰۰ – ۵۰۰۰۰۰	۳۴/۶
	۵	۰	۰	۰/۰
	۶	۰	۰	۰/۰
	۷	۰	۰	۰/۰

	۸	۰	۰	۰/۰
	total	۸۶۶۶۶۶ ± ۲۵۰۴۱۶۳	۶۲۵۰۰۰۰ – ۱۱۲۵۰۰۰۰	۲۸/۹
	۱	۲۳۳۳۳۳۳ ± ۸۰۳۶۳۷	۱۷۵۰۰۰۰ – ۳۲۵۰۰۰۰	۳۴/۴
	۲	۱۲۵۰۰۰۰ ± ۴۳۳۰۱۲	۷۵۰۰۰۰ – ۱۵۰۰۰۰۰	۳۴/۶
	۳	۰	۰	۰/۰
	۴	۵۸۳۳۳۳ ± ۴۳۳۰۱۲	۲۵۰۰۰۰ – ۷۵۰۰۰۰	۴۹/۵
۸	۵	۰	۰	۰/۰
	۶	۰	۰	۰/۰
	۷	۰	۰	۰/۰
	۸	۸۳۳۳۳ ± ۱۴۴۳۳۷	۰ – ۲۵۰۰۰۰	۱۷۳/۲
	total	۸۳۳۳۳۳۳ ± ۸۰۳۶۳۷	۷۷۵۰۰۰۰ – ۹۲۵۰۰۰۰	۹/۶
	۱	۳۰۸۳۳۳۳ ± ۲۰۹۶۶۲۴	۱۷۵۰۰۰۰ – ۵۵۰۰۰۰۰	۶۸/۰
	۲	۱۰۸۳۳۳۳ ± ۳۸۱۸۸۱	۷۵۰۰۰۰ – ۱۵۰۰۰۰۰	۳۵/۳
	۳	۶۶۶۶۶۶ ± ۱۴۴۳۳۷	۵۰۰۰۰۰ – ۷۵۰۰۰۰	۲۱/۷
	۴	۵۰۰۰۰۰ ± ۲۵۰۰۰۰	۲۵۰۰۰۰ – ۷۵۰۰۰۰	۵۰/۰
۱۰	۵	۰	۰	۰/۰
	۶	۰	۰	۰/۰
	۷	۰	۰	۰/۰
	۸	۱۶۶۶۶۶ ± ۱۴۴۳۳۷	۰ – ۲۵۰۰۰۰	۸۶/۶
	total	۹۰۸۳۳۳۳ ± ۲۹۲۹۷۳۲	۵۷۵۰۰۰۰ – ۱۱۲۵۰۰۰۰	۳۲/۳



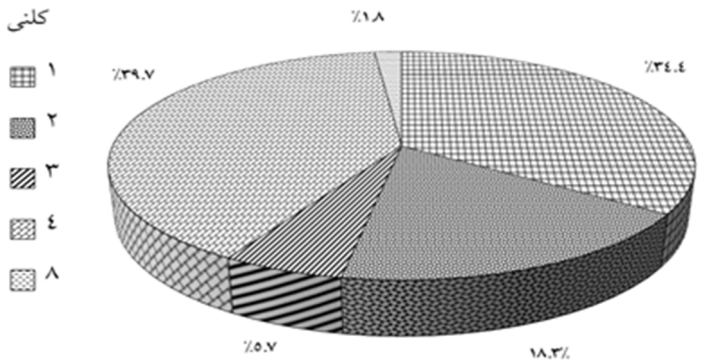
شکل ۱- میانگین فراوانی کلنی‌های میکروجلبک سندسموس در ۱۰ روز شمارش در محیط کشت TMRL

نتایج به‌دست آمده در محیط کشت TMRL: همه کلنی‌ها در همه‌ی شمارش‌ها به‌صورت میانگین در شکل دایره‌ای و به‌صورت درصد در شکل (۱) قابل مشاهده است. همان‌طور که از این شکل پیداست در محیط کشت TMRL تک سلولی‌ها با فراوانی ۵۳/۵ درصد بیشترین سهم را از آن خود کرده‌اند. تعداد کلنی‌ها، میانگین، حداقل، حداکثر، انحراف معیار و ضریب تغییرات محیط کشت Z8+N+P برای رشد ریزجلبک سند سموس در۱۰ روز شمارش به‌صورت کلی، در جدول (۲) آورده شده است

جدول ۲- میانگین شمارش ریزجلبک سندسموس (تعداد سلول در میلی‌لیتر×10^4) در محیط کشت **Z8+N+P** طی ۱۰ روز شمارش

روز	کلنی	انحراف معیار ± میانگین	حداکثر - حداقل	ضریب تغییر (٪)
	۱	۲۰۸۳۳۳ ± ۶۲۹۱۵	۱۵۰۰۰۰ – ۲۷۵۰۰۰	۳۰/۲
	۲	۷۵۰۰۰ ± ۵۰۰۰۰	۲۵۰۰۰ – ۱۲۵۰۰۰	۶۶/۷
	۳	۱۶۶۶۶ ± ۲۸۸۶۷	۰ – ۵۰۰۰۰	۱۷۳/۲
	۴	۶۶۶۶۶ ± ۲۸۸۶۷	۵۰۰۰۰ — ۱۰۰۰۰۰	۴۳/۳
۲	۵	۰	۰	۰/۰
	۶	۰	۰	۰/۰
	۷	۰	۰	۰/۰
	۸	۸۳۳۳ ± ۱۴۴۳۳	۰ – ۲۵۰۰۰	۱۷۳/۲
	total	۷۴۱۶۶۶ ± ۵۲۰۴۱	۷۰۰۰۰۰ – ۸۰۰۰۰۰	۷/۰
	۱	۳۹۱۶۶۶ ± ۲۸۸۶۷	۳۷۵۰۰۰ – ۴۲۵۰۰۰	۷/۴
	۲	۲۲۵۰۰۰ ± ۱۲۹۹۰۳	۷۵۰۰۰ – ۳۰۰۰۰۰	۵۷/۷
	۳	۱۰۰۰۰۰ ± ۷۵۰۰۰	۲۵۰۰۰ – ۱۷۵۰۰۰	۷۵/۰
	۴	۸۷۵۰۰۰ ± ۵۰۰۰۰	۸۲۵۰۰۰ – ۹۲۵۰۰۰	۵/۷
۴	۵	۰	۰	۰/۰
	۶	۰	۰	۰/۰
	۷	۰	۰	۰/۰
	۸	۲۱۶۶۶۶ ± ۸۷۷۹۷	۱۲۵۰۰۰ – ۳۰۰۰۰۰	۴۰/۵
	total	۶۳۷۵۰۰۰ ± ۸۱۲۷۸۸	۵۵۷۵۰۰۰ – ۷۲۰۰۰۰۰	۱۲/۷
	۱	۳۰۸۳۳۳۳ ± ۷۶۳۷۶۲	۲۲۵۰۰۰۰ – ۳۷۵۰۰۰۰	۲۴/۸
	۲	۲۰۸۳۳۳۳ ± ۶۲۹۱۵۲	۱۵۰۰۰۰۰ – ۲۷۵۰۰۰۰	۳۰/۲
	۳	۷۵۰۰۰۰ ± ۵۰۰۰۰۰	۲۵۰۰۰۰ – ۱۲۵۰۰۰۰	۶۶/۷
	۴	۱۰۸۳۳۳۳ ± ۳۸۱۸۸۱	۷۵۰۰۰۰ – ۱۵۰۰۰۰۰	۳۵/۳
۶	۵	۰	۰	۰/۰
	۶	۰	۰	۰/۰
	۷	۰	۰	۰/۰
	۸	۱۶۶۶۶۶ ± ۱۴۴۳۳۷	۰ – ۲۵۰۰۰۰	۸۶/۶
	total	۱۵۱۶۶۶۶۶ ± ۱۱۵۴۷۰۰	۱۴۵۰۰۰۰۰ – ۱۶۵۰۰۰۰	۷/۶
	۱	۴۵۰۰۰۰۰ ± ۲۵۰۰۰۰۰	۲۰۰۰۰۰۰ – ۷۰۰۰۰۰۰	۵۵/۶
	۲	۲۵۰۰۰۰۰ ± ۵۰۰۰۰۰	۲۰۰۰۰۰۰ – ۳۰۰۰۰۰۰	۲۰/۰
	۳	۳۳۳۳۳۳ ± ۵۷۷۳۵۰	۰ – ۱۰۰۰۰۰۰	۱۷۳/۲
	۴	۶۰۰۰۰۰۰ ± ۵۰۰۰۰۰	۵۵۰۰۰۰۰ – ۶۵۰۰۰۰۰	۸/۳
۸	۵	۰	۰	۰/۰
	۶	۰	۰	۰/۰
	۷	۰	۰	۰/۰
	۸	۰	۰	۰/۰
	total	۳۵۵۰۰۰۰۰ ± ۲۲۹۱۲۸۷	۳۳۵۰۰۰۰۰ – ۳۸۰۰۰۰۰	۶/۵
	۱	۶۰۰۰۰۰۰ ± ۳۰۰۰۰۰۰	۳۰۰۰۰۰۰ - ۹۰۰۰۰۰۰	۵۰/۰
	۲	۲۶۶۶۶۶۶ ± ۲۸۸۶۷۵	۲۵۰۰۰۰۰ - ۳۰۰۰۰۰۰	۱۰/۸
	۳	۱۱۶۶۶۶۶ ± ۷۶۳۷۶۲	۵۰۰۰۰۰ - ۲۰۰۰۰۰۰	۶۵/۵
	۴	۸۳۳۳۳۳۳ ± ۱۵۲۷۵۲۵	۷۰۰۰۰۰۰ - ۱۰۰۰۰۰۰۰	۱۸/۳
۱۰	۵	۰	۰	۰/۰
	۶	۰	۰	۰/۰
	۷	۰	۰	۰/۰
	۸	۳۳۳۳۳۳ ± ۵۷۷۳۵۰	۰ - ۱۰۰۰۰۰۰	۱۷۳/۲
	total	۵۰۸۳۳۳۳۳ ± ۲۸۴۳۱۲۰	۴۸۵۰۰۰۰۰ - ۵۴۰۰۰۰۰	۵/۶

نتایج به‌دست آمده در محیط کشت Z8+N+P: همه کلنی‌ها در همه‌ی شمارش‌ها به‌صورت میانگین در شکل دایره‌ای و به‌صورت درصد در شکل (۲) قابل مشاهده است. همان‌طور که از این شکل پیداست در محیط کشت Z8+N+P، ٤ سلولی‌ها با فراوانی ۳۹/۷ درصد بیشترین سهم را از آن خود کرده‌اند.



شکل ۲- میانگین فراوانی کلنی‌های ریزجلبک سندسموس در محیط کشت Z8+N+P طی ۱۰ روز شمارش.

میزان رشد و تراکم سلولی ریزجلبک سبز سندسموس در محیط کشت‌های TMRL و Z8+N+P طی مدت ۱۰ روز در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. هر دو روز یک بار شمارش از دو محیط کشت صورت گرفت و در مجموع ۵ بار شمارش از نمونه‌ها انجام شد. همان‌طور که از نتایج پیداست سرعت رشد ریزجلبک سندسموس در محیط کشت Z8+N+P در آخرین روز شمارش، ۵ برابر محیط کشت TMRL بوده است. میانگین ضریب تغییرات (C.V) محیط کشت TMRL در مجموع ٦١/٢ درصد و در محیط کشت Z8+N+P برابر ٨٩/٦ درصد به‌دست آمد. همچنین میانگین مجموع شمارش‌ها در محیط کشت TMRL برابر $٦/١\times١٠^{٦}$ و در محیط کشت Z8+N+P برابر $٢/٢\times١٠^{٦}$ بود. در نتیجه سرعت رشد ریزجلبک سندسموس در محیط کشت Z8+N+P بسیار بیشتر از محیط کشت TMRL بوده و در صورت ادامه شمارش ریزجلبک در محیط کشت Z8+N+P، رشد به‌میزان بسیار بالاتری می‌رسید. (جدول ۳).

جدول ۳- شمارش کلی ریز جلبک سندسموس (تعداد سلول در میلی‌لیتر) در محیط کشت‌های TMRL و Z8+N+P طی ۱۰ روز شمارش

روز	انحراف معیار ± میانگین (حداکثر – حداقل)		انحراف معیار ± میانگین (حداکثر – حداقل)		ضریب تغییرات (C.V ٪)	
	TMRL		Z8		TMRL	Z8
۲	۱۱۰۸۰۰۰ ± ۵۸۰۰۰ ۱۰۷۵۰۰۰ - ۱۱۷۵۰۰۰		۷۴۲۰۰۰ ± ۵۲۰۰۰ ۷۰۰۰۰۰ - ۸۰۰۰۰۰		۵/۲	۷/۰
۴	۳۲۲۵۰۰۰ ± ۱۰۸۲۰۰۰ ۲۴۰۰۰۰۰ - ۴۴۵۰۰۰۰		۶۳۷۵۰۰۰ ± ۸۱۳۰۰۰ ۵۵۷۵۰۰۰ - ۷۲۰۰۰۰۰		۳۳/۵	۱۲/۷
۶	۸۶۶۷۰۰۰ ± ۲۵۰۴۰۰۰ ۶۲۵۰۰۰۰ - ۱۱۲۵۰۰۰۰		۱۵۱۶۷۰۰۰ ± ۱۱۵۵۰۰۰ ۱۴۵۰۰۰۰۰ - ۱۶۵۰۰۰۰۰		۲۸/۹	۷/۶
۸	۸۳۳۳۰۰۰ ± ۸۰۴۰۰۰ ۷۷۵۰۰۰۰ - ۹۲۵۰۰۰۰		۳۵۵۰۰۰۰۰ ± ۲۲۹۱۰۰۰ ۳۳۵۰۰۰۰۰ - ۳۸۰۰۰۰۰۰		۹/۶	۶/۵
۱۰	۹۰۸۳۰۰۰ ± ۲۹۳۰۰۰۰ ۵۷۵۰۰۰۰ - ۱۱۲۵۰۰۰۰		۵۰۸۳۳۰۰۰ ± ۲۸۴۳۰۰۰ ۴۸۵۰۰۰۰۰ - ۵۴۰۰۰۰۰۰		۳۲/۳	۵/۶
مجموع	۶۰۸۳۰۰۰ ± ۳۷۲۶۰۰۰ ۱۰۷۵۰۰۰ - ۱۱۲۵۰۰۰۰		۲۱۷۲۳۰۰۰± ۱۹۴۵۴۰۰۰ ۷۰۰۰۰۰ - ۵۴۰۰۰۰۰۰		۶۱/۲	۸۹/۶

بحث

پرورش تمام آبزیان به‌خصوص جلبک‌ها مستلزم وجود اطلاعاتی در رابطه با گونه انتخاب شده، تکنولوژی کشت و پرورش، پاسخ گونه‌های انتخاب شده به بعضی از پارامترهای محیطی و مشخص نمودن بهترین محیط کشت و مواد مغذی برای آن‌هاست (گنجیان و همکاران، ۱۳۹۱). عوامل اصلی زیست محیطی و ترکیب شیمیایی موثر بر رشد ریزجلبک‌ها شامل نور، مواد غذایی، دما و pH است (Rousch و همکاران، ۲۰۰۳). کمبود یا مازاد مواد مغذی میتواند نقش بازدارندگی برای رشد جلبک و کارایی آن در جذب مواد مغذی داشته باشد (Kong و همکاران، ۲۰۱۰). جلبک‌ها توانایی جذب مواد مغذی نیتروژن دار و فسفردار را به منظور فتوسنتز، تولید رنگدانه و پروتئین دارند. جلبک‌هایی مانند *Scenedesmus obliquus* به‌دلیل داشتن مقاومت در برابر تغییرات دما، pH، توانایی جذب مواد مغذی حتی در غلظت پایین را دارند و همچنین دارای فناوری ساده و ارزان تولید هستند (Yalcin و همکاران، ۲۰۰۶؛ Voltolina و همکاران، ۲۰۰٤؛ Li و همکاران، ۲۰۱۰).

با استفاده از جلبک سندسموس توانستند مواد نیتراته موجود در پساب را حذف کنند و اعلام کردند که این جلبک توانایی زیستن و جذب مواد را تحت دستکاری و سیستمهای پرورش دارد (ابوالحسنی و همکاران، ۱۳۹٤). در تحقیق حاضر مشاهده شد هر چه تعداد ریزجلبک‌ها در روزهای مختلف افزایش می‌یافت، تغییرات قابل ملاحظه‌ای در رنگ محیط کشت به‌وجود آمده و به رنگ سبز پررنگ نزدیک می‌شد ولی در محیط TMRL وقتی به فاز ساکن رشد رسید، تغییرات قابل مشاهده‌ای در رنگ محیط کشت پدید نیامد. یکی از عناصر بسیار با ارزشی که در محیط Z-8+N باعث رشد سریع ریزجلبک سندسموس شده است عنصر منیزیم است. منیزیم ماده تشکیل دهنده کلروفیل می‌باشد. نیازی که جلبک‌ها به منیزیم دارند بیش از نیاز آن‌ها به کلسیم است، چون فقدان منیزیم مانع تقسیم سلولی می‌شود (Round، ۱۹۷۵). در تحقیق نوروزی و احمدی مقدم (۱۳۸٦)، تغییرات مورفولوژیک دو گونه *Nostoc ellipsosporum* و *Nostoc muscorum* در دو محیط کشت مایع تغییر شکل یافته آلن و بنک، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تغییرات *N.ellipsosporum* در محیط کشت تغییر شکل یافته بنک بیشتر از آلن و تغییرات *N.muscorum* در محیط کشت آلن بیشتر از بنک است. در ضمن توجه به ترکیبات موجود در محیط‌های کشت نشان می‌دهد که محیط آلن هم از نظر مواد مغذی عمده و ریز مغذی‌ها غنی‌تر از محیط کشت بنک می‌باشد. در مطالعه (Devgoswami و همکاران، ۲۰۱۲) تاثیر بی‌کربنات سدیم و CO_2 بر رشد سه جنس از شاخه کلروفیتا: (کلرلا، سندسموس و هماتوکوکوس) در محیط کشت تغییر یافته BG_{11} کار شده کلرلا با ۷۵ پی‌پی‌ام بی‌کربنات سدیم و ۱۱۹۱ پی‌پی ام CO_2 و سندسموس و هماتوکوکوس به‌ترتیب ۳۰ و ٤٥ پی‌پی‌ام بی‌کربنات سدیم و ٤٦٦، ۷۱٤ پی‌پی‌ام CO_2 بیشترین رشد را داشته‌اند. تعدادی از گونه‌های ریزجلبک‌ها با استفاده از کربنات مانند $NaHco_3$ و Na_2CO_3 رشد سلولی خوبی داشتند (Merrett و همکاران، ۱۹۹٦). آزمایشی که توسط (Hoa و همکاران، ۲۰۱۱) بر روی ریزجلبک‌های سبز از جمله کلرلا و سندسموس برای استخراج مواد موثره ضد سرطان انجام گرفت بیشترین راندمان رشد را در محیط کشت‌های BBM و F/2 نشان داد. افزایش رشد به دلیل غنی بودن این دو محیط کشت نسبت به محیط کشت عمومی TMRL (AG) بوده است (White و همکاران، ۲۰۱۳). بیان نمودند که تاثیر غلظت‌های مختلف بی‌کربنات سدیم بر رشد دو گونه از ریزجلبک‌های دریایی، بیشترین رشد سلولی گونه‌های جلبکی متعلق به محیط کشت F/2 که بی‌کربنات سدیم اضافه شده نسبت به محیط کشت

بدون بی‌کربنات سدیم بوده است. در تحقیق گنجیان و همکاران (۱۳۹۲) بیش از ۲۷ درصد رشد ریزجلبک سندسموس در تیمار سوم با غلظت ۷/۵ میلی‌لیتر بی‌کربنات سدیم، اتفاق افتاد که نشان‌دهنده واکنش مطلوب ریزجلبک سندسموس در این غلظت می‌باشد. در تحقیق حاضر ممکن است به‌علت وجود یون آمونیوم در محیط کشت Z8+N+P و این‌که این یون در محیط کشت TMRL وجود ندارد باعث برتری میزان رشد و تراکم سلولی محیط کشت Z8+N+P نسبت به محیط کشت TMRL شده باشد. میزان رشد و نرخ رشد جمعیت نسبت به جمعیت اولیه در محیط Z8+N+P بالاتر است. همچنین این اختلاف می‌تواند ناشی از ترکیبات موجود در محیط کشت Z8+N+P بوده که از نظر مواد مغذی عمده و ریز مغذی‌ها غنی‌تر از محیط کشت TMRL می‌باشد. در مطالعه‌ای که توسط صلواتیان و همکاران (۱۳۸۵) انجام شد رشد زی‌توده جلبک *Nannochloropsis aculata* در محیط کشت‌های مختلف F/2 (شاهد)، Conway، Miquel، Sato و TMRL با تولید انبوه جلبک استفاده شد. نتایج حاصل از بررسی به‌طور واضح کاهش تراکم سلول جلبکی را از روز ششم به بعد خصوصا در محیط کشت Conway نشان داد. این امر می‌تواند به دلیل رقیق شدن املاح محیط کشت یا مواد مغذی نظیر فسفر و نیتروژن کل باشد که این مشکل در ادامه با وارد کردن مجدد مواد مغذی به محیط کشت مرتفع شد. در مقایسه محیط کشت‌های Conway و TMRL میزان یون نیترات در محیط کشت TMRL به مراتب خیلی بیشتر از محیط کشت Conway بود اما از آنجا که یون آمونیوم وجود نداشت از این رو میزان رشد زی‌توده جلبکی در محیط کشت TMRL نسبت به محیط کشت Conway کمتر بوده و در رتبه آخر تولید قرار داشت. Sato و TMRL هر یک کمترین میزان رشد و تراکم سلولی را ایجاد کردند. با بررسی مقایسه نیترات و فسفات در این دو محیط کشت مشخص شد که TMRL هر چند از نظر نیترات برابر با محیط کشت Conway بود اما نقش کمبود فسفات و یون آمونیوم به‌عنوان یک عامل مهم و تاثیرگذار در محدود کردن رشد همراه با نبود سایر عناصر ریزمغذی چشمگیر است. سندسموس جلبک سبز کلنی غیر متحرکی است که تعداد سلول‌های کلنی آن در گونه‌های مختلف آن متفاوت و همواره مضربی از ۲ می‌باشد. ممکن است ۲، ٤، ۸، ١٦ و یا ۳۲ سلول در یک کلنی موجود باشند. اشکال سلول‌های هر کلنی در گونه‌های مختلف متفاوت می‌باشد به‌طوری‌که ممکن است داخل یک کلنی دو شکل سلول موجود باشند. سلول‌ها عمدتا استوانه‌ای شکل، دوکی شکل، هلالی شکل و تخم مرغی شکل هستند. در تمامی گونه‌ها سلول‌های تشکیل‌دهنده یک کلنی به موازات محور طولی، پهلو به پهلو به‌هم پیوسته‌اند. در برخی گونه‌ها سلول‌های حاشیه‌ای یک کلنی دارای زواید خار مانندی می‌باشند(یوسفی، ۱۳۸۵؛ مهدی‌پور، ۱۳۸۹). مطالعه‌ای توسط (Kyong و همکاران، ۲۰۰۱) انجام شد تا نشان دهد مواد انتشار یافته از تغذیه کنندگان (*Daphnia magna* و *Moina macrocopa*)، چه تأثیری بر روی رشد و تغییرات مورفولوژی *Scenedesmus dimorphus* گذاشته است. شمارش هر کلنی سلول‌ها و میانگین گنجایش ذرات در طی ۰، ۲، ٢٤، ٤٨ و ۷۲ ساعت تعیین شده بود. مقدار مختلف ZFW (آب فیلتر شده زئوپلانکتون) نیز ٤، ۸، ١٦ و ۲۵ درصد بود. زمان‌بندی شکل‌گیری کلنی *S. dimorphus* بعد از قرار گرفتن در ZFW برای ١٤ روز سنجیده شد. تعداد کلی سلول‌های هر کلنی *S. dimorphus* در تمام محیط با ZFW در طی ١٤ روز آزمایش، افزایش یافت. در حالی که هیچ تغییری در شاهد (کنترل)، مشاهده نشد. تعداد کلی سلول‌های هر کلنی *S. dimorphus* به‌طور قابل ملاحظه‌ای در هر دو تیمار *Moina* و *Daphnia* ZFW بین ٢٤ و ۷۲ ساعت افزایش یافت. در تیمار ۲۵ درصد *Daphnia* –ZFW، افزایش شکل‌گیری کلنی

در مدت ۲ ساعت اول آهسته بود اما در ۱۲ ساعت باز هم سریع بالا رفت. نتایج نشان داد که انتشار ماده شیمیایی از هر دو *Daphnia magna* و *Moina macrocopa* می‌تواند باعث تغییرات مورفولوژی مشترک در جلبک سبز *S. dimorphus* گردد.

Hessen و همکاران (۱۹۹٤) و Lampert و Van Donk (۱۹۹۳) مشاهده کردند که آرایش و شکل‌گیری کلنی دلیل بر کاهش رشد جمعیت کلنی در *Scenedesmus* نمی‌باشد. همین نتیجه برای *Scenedesmus acutus* هنگامی که تحت حالات متنوع ماده مغذی (با ZFW یا بدونZFW) کشت شد، گزارش گردید (Sterner و همکاران، ۱۹۹۳؛ Sterner و Smith، ۱۹۹۳).

در تحقیق حاضر با توجه به مقایسه دو محیط کشت از نظر تغییرات سلولی، نشان از عدم رشد کلنی ٦ سلولی در محیط کشت Z8 و رشد آن در روز دوم و چهارم با کمترین درصد در محیط کشت TMRL بوده است. به نظر می‌رسد مواد مغذی متفاوت دو محیط کشت شرایط رشد کلنی‌ها را تغییر داده است. در تحقیق (Yokota و Sterner، ۲۰۱۰)، در تمام آزمایش‌ها، بیشترین کلنی‌ها، مربوط به کلنی‌های ٤ یا ۸ سلولی در محیط پرورش یافته با oss (Octyl sodium sulphate)، بودند. در محیط پرورشی کنترل، روی هم رفته ۸٤ درصد کل کلنی‌های *Desmodesmus subspicatus*، تک سلولی بودند. ١٤درصد دیگر کلنی‌ها مربوط به کلنی‌های ۲ تا ٤ سلولی بود. در محیط پرورش یافته باoss، پس از شمارش، فقط ۲ درصد تک سلولی و ٧٦ درصد کلنی‌های ۲ تا ٤ سلولی و ۲۲ درصد کلنی‌های ۵ تا ۸ سلولی، مشاهده گردید. کلنی‌های ٤ سلولی بیشترین مقدار غالب از نظر اندازه کلنی در بیشتر روزها بودند. در این آزمایش کلنی‌های بزرگتر از ۸ سلولی هرگز دیده نشد. در محیط پرورش یافته در کنترل، *Desmodesmus subspicatus*، بین روز دهم و روز پانزدهم به بیشترین اندازه جمعیت رسید و سپس شروع به کم شدن کرد. در پژوهشی که توسط حیدری و همکاران در سال ۱۳۹۰ انجام شد اثرات مختلف نیترات و آمونیوم را در محیط کشت برای رشد جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* بررسی کردند. پرورش این گونه در محیط کشت BBM (Bold Basals Medium) در ۷ تیمار (۲/۹، ۱۵، ۵۰، ۲۵، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار نیترات و آمونیوم) در شرایط آزمایشگاهی انجام گردید. بالاترین تراکم سلول جلبکی $۳۲/۵\times۱۰^{۵}$ عدد سلول در میلی‌لیتر برای نیترات و $۲۵/۲\times۱۰^{۵}$ عدد سلول در میلی‌لیتر برای آمونیوم بود و در مطالعه حاضر بیشترین تراکم سلولی در محیط کشت Z8+N+P و به میزان $۵۰/۸\times۱۰^{٦}$ و در محیط کشت TMRL به میزان $۹/۱\times۱۰^{٦}$ عدد سلول در میلی‌لیتر در دهمین روز شمارش بود. در پژوهش حیدری و همکاران (۱۳۹۰) سادگی پرورش و تشکیل جمعیت جلبکی در فاز رشد با کم‌ترین تغییرات در نیترات و آمونیوم از ویژگی‌های جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* بود. در تحقیق حاضر نیز به‌علت افزایش رشد میکرو جلبک سندسموس در محیط کشت Z8+N+P نسبت به محیط کشت TMRL می‌توان از این محیط کشت در شرایط آزمایشگاهی برای صنعت آبزی پروری مخصوصا جهت حفظ گونه‌های که ارزش اقتصادی دارند استفاده نمود. حیدری و همکاران (۱۳۹۰) همچنین دریافتند علاوه بر تاثیرات منابع نیتروژن‌دار بر رشد و فیزیولوژی جلبک‌ها استفاده از آنها می‌تواند بر مورفولوژی و اندازه جلبک‌ها تاثیرات قابل ملاحظه‌ای داشته باشد. در زمان شمارش تعداد سلول‌های جلبک سندسموس در تیمارهای مختلف از نیترات، درصدی از سلول‌ها در جمعیت (حدود ۱۰-۵ درصد) به‌صورت سلول‌های ٤ تایی و بندرت به‌صورت هشت تایی مشاهده شدند در حالی که در واحدهای آزمایشی تیمار شده با آمونیوم سلول‌های چهارتایی و هشت تایی بسیار کم دیده شدند. در مطالعه حاضر بیشترین

نسبت کلنی در محیط کشت TMRL، ۵۹ درصد و مربوط به کلنی تک سلولی در اولین شمارش بود در این محیط کشت، کلنی‌های تک سلولی، ۲ سلولی، ۳ سلولی، ٤سلولی، ٦ سلولی و ۸ سلولی مشاهده گردید. همچنین در محیط کشت Z8+N+P، بیشترین نسبت کلنی، ٥٦ درصد و مربوط به کلنی تک سلولی در اولین شمارش بود. در این محیط کشت، کلنی‌های تک سلولی، ۲ سلولی، ۳ سلولی، ٤ سلولی و ۸ سلولی مشاهده گردید. روند رشد ریزجلبک سندسموس در محیط کشت Z8+N+P، به‌علت افزایش روزافزون تراکم سلولی نسبت به محیط کشت TMRL از لحاظ هزینه و زمان مرقون به‌صرفه‌تر از می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از مسئول محترم گروه پژوهشی شیلات و آلاینده‌های آبی خزر آقای دکتر علی گنجیان خناری که امکانات لازم جهت اجرای پروژه را فراهم نمودند و همچنین آقای دکتر حسن فتحی و تمامی عزیزانی که کمال همکاری را داشته اند، سپاسگزارم.

منابع

ابوالحسنی، م.ه.، حسینی، س.ع.، قربانی، ر.، وینسه، ا.، ۱۳۹٤. حذف فسفات و نیترات از پساب شهری به‌وسیله کشت جلبک *Scenedesmus obliquus* و تولید زیست توده جلبکی. مجله بوم شناسی آبزیان ۵. صفحات ۳۳ تا ۳۹.

آدینه، ح.، ملک‌زاده، ر.، جعفریان، ح.، و روزبهفر، ر.، ۱۳۹۰. انواع فرآورده‌های جلبکی و کاربرد آنها در تکنولوژی زیستی. دومین همایش ملی علوم شیلاتی و آبزیان ایران. یک صفحه.

حافظیه، م.، ۱۳۸۳. بررسی اثر تغذیه‌ای کلرلا، کیتوسروس بر نرخ رشد و بازماندگی *Artemia urmiana*. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ٦٤. صفحات ٧٦ تا٨٠.

حسینی، ن.، ۱۳۸٤. زیست‌شناسی دریاچه‌ها و آبگیرها. انتشارات نقش مهر.۳٦۷ صفحه.

حیدری، ص.،هادیان، ا.، و محبوبی صوفیانی، ن. ۱۳۹۰. اثرات سطوح مختلف نیترات و آمونیوم در محیط کشت برای رشد جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda*. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، دوره ٦٤، شماره ۱. صفحات ۲۹ تا ٤۰.

خاتمی، ه.، ۱۳۸۲. آزمون‌های آمار در علوم زیست محیطی. سازمان حفاظت محیط زیست. ۱٦۳ صفحه.

سهندی، ج.، شهره، پ.، و باقرزاده لاکانی، ف.، ۱۳۹۰. شناخت و پرورش جلبک دریایی *Skeletonema costatum*. دومین همایش ملی علوم شیلاتی و آبزیان ایران. یک صفحه.

صلواتیان، م.، آذری تاکامی، ق.، کیوان، ا.، وهاب‌زاده رودسری، ح.، و رجبی‌نژاد، ر.، ۱۳۸۵. ارزیابی رشد و بیوماس جلبک *Nanochloropsis aculata* در محیط کشت‌های مختلف. مجله علوم و فنون دریایی ایران. صفحات ٤۳ تا ۵۳.

عسل‌پیشه، ز.، حیدری، ر.، و مناف‌فر، ر.، ۱۳۹۱. شناسایی و بررسی ارزش غذایی دو گونه جلبک تک سلولی *Desmodesmus cuneatus* و *Scenedesmus obliquus* تولیدکننده اسیدهای چرب جدا سازی شده از دریاچه سد مهاباد، آذربایجان غربی. زیست شناسی گیاهی سال چهارم. شماره یازدهم. صفحات ٦۱ تا ۷٦.

فرح بخش، م.، ۱۳۷٦. اثر دوره نوری بر رشد سیانوباکتریوم *Oscillatoria agardhii*. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال پایان نامه کارشناسی ارشد بیولوژی ماهیان دریا. ۷۲ صفحه.

فلاحی، م.، پیری، ح.، رمضانی، ر.، محمدی، س.، صلواتیان، م.، ۱۳۸۵. کشت و پرورش جلبک و بررسی جنبه‌های اقتصادی آن با تاکید بر جلبک‌های سبز و سبز–آبی. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۷۱ صفحه.

فلاحی، م.، عابدیان کناری، ع.، و احمدی‌فرد، ن.، ۱۳۸۷. اثر غلظت‌های مختلف جلبک سبز (*Chlorella* sp.) بر رشد و ترکیب اسیدهای چرب روتیفر آب شیرین *Brachionus calciflorus* تالاب انزلی آلودگی. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۸۱. ۷ صفحه.

گنجیان خناری، ع.، شکوری، م.، قاسم نژاد، م.، گنجیان خناری، ف.، و فارابی، و.، ۱۳۹۱. بررسی تاثیر بیکربنات سدیم بر رشد ریزجلبک کلرلا (*Chlorella* sp.) درمحیط کشت TMRL، مجله توسعه آبزی پروری، سال ششم، شماره دوم، زمستان.

گنجیان‌خناری، ع.، شکوری، م.، قلیچی، ا.، قاسم‌نژاد، م.، گنجیان خناری، ف.، خسروی، م.، و فارابی، م. ۱۳۹۲. بررسی تاثیرات بیکربنات سدیم بر رشد ریزجلبک سندسموس (*Scenedesmus* sp.) در محیط کشت TMRL (AG)، مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر، سال هفتم، زمستان. صفحات ۸۵ تا ۹۲.

مسعودی‌اصیل، ش.، و اسماعیلی فریدونی، ا.، ۱۳۸۸. اثر سطوح مختلف شوری بر رشد میکرو جلبک نانو کلروپسیس. دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی ساری. صفحات ۵۲ تا ٥٦.

مهدی‌پور، ن.، ۱۳۸۹. تأثیر دو گونه جلبک سبز *Scenedesmus obliquus* و sp *Chlorella* غنی شده با ویتامین‌های گروه B بر زنجیره غذایی بچه ماهی سفید *Rutilus frisii kutum*. رساله دکترا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات. ۹۱ صفحه.

نوروزی، ب.، احمدی‌مقدم، ع.، ۱۳۸٦. گزارشی جدید از بررسی تغییرات مورفولوژیک دو گونه *Nostoc ellipsosporum* و *Nostoc muscorum* در دو محیط کشت Allen̓s و Benecks در طی سیکل زندگی. مجله زیست شناسی ایران.جلد ۲۰. شماره ۳. صفحات ۲٤۲ تا ۲۵۲.

یوسفی، م.، ۱۳۸۵. تالوفیت‌ها. انتشارات دانشگاه پیام نور. ۲۷۹ صفحه.

Ajah, P.O., 2010. Mass culture of rotifera *(Brachionus quadridentatus*) (Hermann, 1793) using three different algal species. Afric. J. Food Sci. 4 (3), 80-85.

Archibald, P.A. and Bold, H.C., 1970. Physiological Studies. The genus *Chlorococcum menengini* . Univ. Texas Publ. 7015, 115 pp.

Bisalputra, T., 1974. Plastids in algal physiology and Biochemistry (W.D.P. Stewart, Ed.) University of California prees, Berkeley. Chap. 4. 998 pp.

Boersma, M. and Vijverberg, J., 1995. Synergistic effects of different food species on life-history traits of *Daphnia galeata*. Hydrobiologia. 307, 109-115.

Bold, H.C. and Micheal L Wynne., 1985. Introduction to the Algae Structured and Reproduction, Second ed. Prentice Hall, INC.

Craigie, J.S. and Shacklock, P.P., 1989. Culture of Irish moss. Cold water aquaculture in Atlantic Canada. Boghen, A.D. (ed). pp. 293–274.

Devgoswami, Ch.R., Kalita, M.C., Talukdar, J., Bora, R. and Sharma, P., 2012. Studies on the growth behavior of Chlorella, Haematococcus and *Scenedesmus* sp. in culture media with different concentration of sodium bicarbonate and carbon dioxide gas. Afric. J. Biotechnol. 10 (61), 13128-13138.

Dodge, J.D., 1972. The ultrastucture of the *dinoflagellate* pusule; a unique osmo-regulatory organella protoplasma 75, 285–302.

Evans, L.V., 1974. Cytoplasmic organellesin algal physiology and Biochemistry (W.D.P. Stewart , Ed.) University of California press. Berkeley. Chap. 3. 989 pp.

Ganjian, A., Wan Maznah, W.O., Yahya, Kh., Najafpour, Sh., Najafpour, Gh.D., Roohi, A. and Fazli, H., 2010. Seasonal succession of phytoplankton community structure in the southern part of Caspian Sea. American- Eunrasian J. Agric. Environ. Sci. 8 (2),146-155.

Hessen, D.O., and Van Donk, E., 1993.Morphological changes in Scenedesmus induced by substances released from Daphnia. Archives Hydrobiology 127, 129-140.

Hoa, L.T.P., Quang, D.N., Ha, N.T.H. and Tri, N.H., 2011. Isolating and screening mangrove microalgae for anticancer. Res. J. Phytochem. 5 (3), 156-162.

Kyong, H., Jang, M.H., Joo, G.J. and Takamura, N., 2001. Growth and Morphological Changes in *Scenedesmus dimorphus* Induced by Substances Released from Grazers, Daphnia magna and Moina macrocopa. Korean Journal Limnology 34 (4), 285-291.

Kong, Q.X., Li, L., Martinez, B., Chen, P. and Ruan, R., 2010. Culture of microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* in wastewater for biomass feedstock production. Applied Biochemistry and Biotechnology 160, 9-18.

Lampert, M., Rothhaupt, K.O. and Van Elert, E., 1994. Chemical induction of colony formation in a green alga (*Scenedesmus acutus*) by grazers (Daphnia).Limnology Oceanography 39, 1543-1550.

Li, X., Hu, H.Y. and Yang, J. 2010. Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, *Scenedesmus* sp. LX1, growing in secondary effluent. New Biotechnology 27, 59-63.

Lynch, M., 1980. Aphanizomenon blooms: Alternate control and cultivation by Daphnia pulex. American society limnology Oceanography Specialist Symposium 3, 299-304.

Merrett, M.J., Nimer, N.A. and Dong, L.F., 1996. The utilization of bicarbonate ions by the marine microalga *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd. Plant Cell Environ. 19: 478-484.

Olaizola, M., 2003. Commerical development of micro algal biotechnology: From the test-tube to the marketplace. Biomol. Eng. 20: 459-466.

Pickett–Heaps, J.D. and Stachelin, L.A., 1975. The ultrastructure of Scenedesmus (chlorophyceae) ll. Cell division and colony formation. J. Phycol. 11: pp. 86 – 202.

Reynolds, C.S., 1984. The ecology of freshwater phytoplankton-Cambridge studies in ecology. Cambridge University Press, Cambridge, 396 pp.

Round, F.E., 1975. The biology of the algae. Second edition Edward amold. 216-230 pp.

Rousch, J.M., Bingham, S.E. and Sommaerfeld, M.R., 2003. Change in fatty acid profiles of thermo-intolerant and thermo tolerant marine diatoms during temperature stress. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 295, 145-156.

Sterner, R.W., Hagemeier, D.D., Smith, R.F., and Smith, W.L., 1993. Phytoplankton nutrient limnology. Oceanography 38, 857-871.

Sterner, R.W. and Smith, R.F., 1993. Clearance, ingestion and release of N and P by Daphnia obtusa feeding on *Scenedesmus acutus* of vary quality. Bulletin Marin Science.53: pp. 228-239.

Trainor, F.R., 1992. Cyclomorphosis in *Scenedesmus armatus* (chlorophycea): an ordered sequence of ecomorphos development. Journal Phycology 28, 553-558.

Voltolina, D., Gmez-Villa, H., Correa, G. 2004. Biomass production and nutrient removal in semicontinuous cultures of *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae) in artificial wastewater, under a simulated day-night cycle. Vie Milieu Life and Environment 54, 21-25.

White, D.A., Pagarette, A., Rooks, P. and Ali, S.T., 2013. The effect of sodium bicarbonate supplementation on growth and biochemical composition of marine microalgae cultures. J. Appl. Phycol. 25 (1), 153-165.

Yalcin, T., Naz, M., Turkmen, M. 2006. Utilization of different nitrogen sources by cultures of *Scenedesmus acuminatus*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 6, 123-127.

Yokota, K., and Sterner, R.W., 2010.Trade-offs limiting the evolution of coloniality: ecological displacement rates used to measure small costs. Proceedings of the Royal Society Biological Sciences. pp. 1-6.

Zachleder, V., Wittenburg, E., and Abarzua, S., 1986. Factors controlling the inhibitory effects of 3, 4-benzo (a) pyrene on the chlorococcal alga *Scenedesmus quadricauda*. Algological Studies/ Archiv für Hydrobiologie, Algological Studies/ Archiv für Hydrobiologie, Supplement 43, 281-296.