

تأثیر تغییرات غلظت مواد مغذی و شدت نور روی شاخص های رشد و تراکم میکرو جلبک اقتصادی سندسموس *Scenedesmus* sp

*مسعود هدایتی فرد^۱، رضا صفری^۲ و مرضیه رضایی^۳

^۱دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم شهر، ایران،

^۲مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی ایران، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، بخش بیوتکنولوژی، ساری، ایران،

^۳دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم شهر، ایران

تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۱۸

چکیده

اثر عوامل مغذی و نوسان شدت نور در فرمولاسیون مختلف محیط کشت TMRL بر روی رشد و تراکم میکرو جلبک سندسموس به منظور تعیین بالاترین تراکم در کمترین زمان بررسی شد. محیط کشت TMRL با غلظت مختلف از نیتروژن (N: ۳۰، ۵۰ و ۷۰ گرم)، فسفر (P: ۳، ۵ و ۷ گرم) و میزان ثابت آهن (با ۱ گرم $FeCl_3$) تهیه شد. میکرو جلبک ها در این محیط کشت ها در دو لوکس نوری شماره ۱ (3500 ± 350 لوکس) و شماره ۲ (5500 ± 350 لوکس) کشت داده شد. شش تیمار با ۳ تکرار در نظر گرفته شد و شاخص ها ۶ بار طی ۱۲ روز شمارش شدند. تیمارها با تعداد $10^3 \times 1500$ سلول جلبک در میلی لیتر (Cell/ml) و یا $10^7 \times 6$ Log C/ml ذخیره سازی گردیدند. میزان بایوماس سندسموس در محیط کشت ۱ و لوکس نوری ۱ در روزهای دوم و دوازدهم به ترتیب $6/42$ و $7/05$ Log C/ml در محیط کشت ۲ و لوکس نوری ۱ در روزهای دوم و دوازدهم به ترتیب $6/25$ و $7/41$ Log c/ml، در محیط کشت ۳ و لوکس نوری ۱ در روزهای دوم و دوازدهم به ترتیب $6/20$ و $7/44$ Log c/ml برآورد گردید. بایوماس این میکرو جلبک در محیط کشت ۱ و لوکس نوری ۲ در روزهای اول و دوازدهم به ترتیب $5/65$ و $7/04$ Log C/ml، در محیط کشت ۲ و لوکس نوری ۲ در روزهای اول و دوازدهم به ترتیب $6/18$ و $7/35$ Log c/ml و در محیط کشت ۳ و لوکس نوری ۲ نیز در روزهای اول و دوازدهم به ترتیب $6/35$ و $7/43$ Log c/ml مشاهده شد. ارزیابی آماری نتایج نشان داد که میزان رشد سندسموس در محیط کشت سوم (حاوی ۷ گرم فسفر، ۷۰ گرم نیتروژن و ۱ گرم آهن) در شدت نوری ۱ (3500 لوکس) در روز دوازدهم کشت بیشتر از سایر محیط کشت ها بود ($P < 0/05$). بنابراین رشد سندسموس در محیط کشتی که مواد مغذی آن غنی تر بود، رشد بالاتری را نشان داد ($P < 0/05$). نتایج همچنین نشان داد مقادیر براساس وزن خشک، مقادیر پروتئین، چربی، کربوهیدرات و مواد معدنی در میکرو جلبک سندسموس به ترتیب برابر با $32/4$ ، $5/21$ ، $24/12$ و $32/55$ درصد می باشد.

واژه های کلیدی: سندسموس، محیط کشت TMRL، میکرو جلبک، مواد مغذی

مقدمه

گونه های مختلف موجودات دریایی منبع غذایی ضروری می باشند. این ضرورت تغذیه ای به ویژه در تمام مراحل رشد صدف های دوکفه ای، مراحل لاروی بعضی از گونه های سخت پوستان و مراحل رشد بسیاری از ماهیان از اهمیت بالاتری برخوردار است.

زی شناوران گیاهی یا فیتوپلانکتون ها^۱ اساس زنجیره غذایی در دریاها را تشکیل می دهند. به همین دلیل میکرو جلبک ها در پرورش تجاری انواع

* نویسنده مسئول: hedayati.m@qaemshahriau.ac.ir

1- Phytoplankton

همزمان تجاری میکروجلبک سندسموس نیاز دارند (Sorgeloos و Lavens، ۱۹۹۶). از طرفی Brown (۱۹۹۱) ارزش غذایی، غلظت کلروفیل a و وزن خشک ۱۶ گونه معمول پرورشی از میکروجلبک‌ها را اندازه‌گیری نموده است.

امروزه میکروجلبک‌ها مصارف مختلفی دارند که مهم‌ترین آنها شامل کاربرد تغذیه‌ای برای انسان، علوم پزشکی و دارویی، کشاورزی و حتی تصفیه آب می‌باشد (هراتی و همکاران، ۱۳۸۸؛ گنجیان‌خناری و همکاران، ۱۳۹۲؛ کیان‌مهر، ۱۳۷۱). در سال‌های اخیر پژوهش‌های کاربردی پیرامون استفاده از میکروجلبک‌ها برای تغذیه آبزیان گران‌قیمت و با ارزش همانند بهینه‌سازی تفریخگاه^۴ صدف مرواریدساز اویستر^۵ (*Pteria penguin*) (Southgate و همکاران، ۲۰۱۶) و نیز کاربردهای صنعتی پیشرفته (Jacob و همکاران، ۲۰۱۵؛ Birungi و Chirwa، ۲۰۱۵) آغاز شده است. امروزه چشم‌انداز تولید سوخت‌های زیستی گازی از میکروجلبک تولید شده با CO₂ در نیروگاه‌های با سوخت زغال‌سنگ (Jacoba و همکاران، ۲۰۱۵) مورد مطالعه قرار گرفته و پتانسیل جذب و بازیابی فلز تالیوم^۶ (TI) که کاربردهای متنوع پزشکی هسته‌ای، دارویی و صنعتی دارد، با استفاده از میکروجلبک سبز حاصل از منابع یوتروفیک^۷ آب توسط Birungi و Chirwa (۲۰۱۵) با موفقیت انجام شده است.

کشت و پرورش تجاری میکروجلبک‌ها در محیط‌های کشت مختلفی صورت می‌گیرد که یکی از مهم‌ترین آنها محیط کشت TMRL می‌باشد که حاوی مواد مغذی مختلفی همانند کلرید آهن، نیترات پتاسیم، متاسیلیکات سدیم و فسفات هیدرات سدیم می‌باشد (سواری و همکاران، ۱۳۸۳). علاوه بر تکنیک‌های

اکثر جلبک‌ها برای تولید انبوه زئوپلانکتون‌ها (روتیفر^۱، کوپه‌پودا^۲ و...) استفاده می‌شوند که نیاز غذایی مراحل لاروی و نوجوانی سخت‌پوستان و ماهی‌ها را برطرف می‌کنند (Sorgeloos و Lavens، ۱۹۹۶). میکروجلبک‌ها گروه بسیار متنوع از میکروارگانیسم‌ها هستند که بیشتر تک‌سلولی، رنگارنگ، فتواتوتروفیک^۳ و به‌عنوان تولیدکننده بزرگ اقیانوسی و آب شیرین شناخته می‌شوند (Olaizola و همکاران، ۲۰۰۳؛ Hoa و همکاران، ۲۰۱۱).

پرورش و تولید غذای زنده با کیفیت و کمیت مناسب برای تغذیه لاروها به‌خصوص در مراحل ابتدایی پرورش آن‌ها یعنی آغاز تغذیه فعال از اهمیت زیادی برخوردار است (کیان‌مهر، ۱۳۷۱). آن دسته از لارو ماهیانی که پس از مصرف ذخایر کیسه زرده به‌علت ناقص بودن و عدم تکامل سیستم گوارشی توانایی تغذیه از جیره‌های غذایی مصنوعی را ندارند و یا اندازه دهان آنها در مرحله اولیه تغذیه طبیعی موجب ناتوانی آنها در جذب و مصرف غذاهای با اندازه‌های مختلف می‌گردد، نیاز مبرمی به تجویز غذای زنده دارند (De Pauw و Persoone، ۱۹۸۸؛ حسینی و جلالی، ۱۳۸۸). معمولاً نخستین مرحله از تغذیه با غذای زنده با میکروجلبک‌ها شروع می‌شود (Hallmann، ۲۰۰۷). میکروجلبک‌ها علاوه بر پروتئین، چربی و کربوهیدرات قابل‌توجه (Brown، ۱۹۹۱)، سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع، ویتامین B₆، پیش‌ساز ویتامین B₁₂ (کوبالامین) و اسپوروبولین (کاهش سمیت نورتوکسین‌ها و فلزات سنگین) می‌باشد (گنجیان‌خناری و همکاران، ۱۳۹۲؛ Bold و Micheal، ۱۹۸۵). بسیاری از زئوپلانکتون‌ها همانند گونه‌های مختلف روتیفرها به‌ویژه *Brachionus plicatilis* و *B. rubens calyciflorus* به کشت

4- Hatchery
5- Oyster
6- Thallium
7- Eutrophic

1- Rotifera
2- Copepoda
3- Photoautotrophic

میکروجلبک نسبت به دیگر سازه‌های سلول می‌باشد (Lavens و Sorgeloos, ۱۹۹۶).

در بین جلبک‌ها گونه‌های مختلف جنس سندسموس (*Scenedesmus* sp.) در زمینه‌های مختلف علم لیمنولوژی معادل موش‌های رت آزمایشگاهی شناخته شده و کاربرد فراوانی در بخش تحقیقات دارند. سندسموس از خانواده Scenedesmaceae و دارای دو جنس است که مهم‌ترین آن همین *Scenedesmus* می‌باشد. تاکنون ۱۷۱ گونه از این جنس شناسایی شده است این جلبک‌ها معمولاً به‌عنوان میکروارگانیزم‌های استاندارد در بسیاری از پژوهش‌های علوم دریایی و آبی، تکنولوژی و مدیریت آب‌ها مطرح هستند (Zachleder و همکاران، ۱۹۸۶). از سندسموس در کشت انبوه به‌عنوان پروتئین تک‌سلولی استفاده می‌کنند و هراتی و همکاران (۱۳۸۸) و نیز کیان‌مهر (۱۳۷۱) دلیل این امر را حضور مقادیر قابل‌توجه مواد پروتئینی (بین ۴۵ تا ۶۵ درصد) در سندسموس دانسته و در نهایت این میکروجلبک را به‌عنوان منبع پروتئین تک‌سلولی برای استفاده غذایی انسان و سایر جانوران معرفی نموده‌اند. برخی از گونه‌های جلبک سندسموس رشد بسیار سریعی دارند و باتوجه به وفور پروتئین در آن به‌صورت انبوه کشت می‌شوند (هراتی و همکاران، ۱۳۸۸). در حال حاضر در بین جلبک‌های میکروسکوپی گونه اوبلیکوس یا *Sc. obliquus* از لحاظ تولید محصول رتبه نخست را داراست، به‌طوری‌که روزانه ۵۴ گرم بایوماس^۱ یا زی‌توده خشک در هر مترمربع تولید می‌کند (ریاحی، ۱۳۸۱).

سندسموس یک جلبک سبز غیرمتحرک است که در آب‌های غنی از مواد مغذی به خوبی رشد می‌کند و اغلب به‌صورت کلونی‌های چهارسلولی صاف با ۱۲ تا ۱۴ میکرون عرض و ۱۵ تا ۲۰ میکرون طول در

پرورش، برداشت محصول نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، به‌طوری‌که تکنیک‌های کاربردی برداشت میکروجلبک‌ها توسط Fox (۱۹۸۳) و Barnabé (۱۹۹۰) مورد ارزیابی قرار گرفته است. برای تغلیط جلبک‌ها در پرورش متراکم می‌توان علاوه بر تکنیک تجمع انبوه، از تکنیک مبتنی بر گریز از مرکز نیز استفاده نمود.

حضور کافی مواد مغذی در محیط کشت میکروجلبک‌ها و فیتوپلانکتون‌ها با توجه به نوع جلبک و گونه آن در آب شیرین و شور می‌تواند تغییر کند. بعضی از جلبک‌ها در محیط کشت‌های اختصاصی و بعضی در محیط کشت‌های عمومی رشد می‌کنند. در بحث مدیریت منابع آبی گنجیان‌خاری و همکاران (۱۳۹۲) توضیح دادند که مواد مغذی نقش بسیار مهمی را کنترل تولیدات اولیه بازی می‌کنند. توجه به هزینه بالای تولید محیط کشت، می‌تواند تغییراتی را در نوع محیط کشت مورد استفاده میکروجلبک‌ها ایجاد نمود که علاوه بر کم کردن هزینه‌ها، راندمان تولید را نیز افزایش داد.

گونه‌های مختلف ریزجلبک‌ها از نظر ارزش غذایی می‌توانند به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای متنوع باشند و این تنوع ممکن است تحت شرایط مختلف پرورش تغییر نماید. با این وجود، یک ترکیب منتخب دقیق از ریزجلبک‌ها چه به‌صورت مستقیم و چه غیرمستقیم می‌تواند یک بسته غذایی مناسب را برای لارو آبزیان در پی داشته‌باشد. ارزش غذایی هر نوع از جلبک‌ها به اندازه سلول، قابلیت هضم، ترکیبات سمی محصول و ترکیبات بیوشیمیایی یا ارزش غذایی آن بستگی دارد. اگر چه تفاوت‌های اصلی در ترکیبات انواع میکروجلبک‌ها وجود دارد، پروتئین به همراه چربی و کربوهیدرات به‌عنوان ماده اصلی تشکیل‌دهنده محسوب می‌شود. پروتئین موجود در هر سلول به‌عنوان یکی از مهم‌ترین فاکتورهای مشخص‌کننده ارزش غذایی

چربی موجود در سندسموس با ژن‌های چندگانه موجود در مسیرهای بیوسنتز اسیدهای چرب و تری‌آسیل‌گلیسرول^۱ (Sharma و همکاران، ۲۰۱۵) مطالعاتی انجام شده است و همچنین با استفاده از میکروجلبک سندسموس اقدام به تصفیه فاضلاب و تولید بیودیزل به‌طور همزمان گردیده است (Kim و همکاران، ۲۰۱۵) و نکته جالب این‌که در همین پژوهش بیش از ۹۹/۱۹ درصد نیتروژن و ۹۸/۰۱ درصد فسفر پساب حذف شده است، بنابراین کاربرد سندسموس بسیار مؤثر گزارش است.

اما پژوهش پیرامون شرایط تولید و رشد سندسموس سایقه بیش‌تری دارد. به‌طوری‌که در مطالعه Tepe و همکاران (۲۰۰۶) که از منابع نیتروژنی حاصله از گیاه آبی گیاه آبی نیلوفر آبی سفید (*Nymphaea alba*) در محیط کشت سندسموس آکومیناتوس (*Scenedesmus acuminatus*) استفاده شد، دریافتند که نیتروژن معدنی مذکور بیش‌ترین رشد این گونه جلبک را فراهم کرده ولی نیتروژن غیرمعدنی حاصل از لجن‌های رسوبی کم‌ترین رشد را سبب می‌شوند.

Cetin و همکاران (۲۰۱۱) تأثیر غلظت‌های مختلف سم دیازینون را بر روی بازدارندگی میزان رشد سندسموس آکوتوس (*Sc. acutus*) در یک دوره ۴ روزه کشت آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار دادند و عدم وجود این ماده را شرایط بهینه معرفی نمودند. همچنین سواری و همکاران (۱۳۸۲) تأثیر فلز سنگین روی (Zn) بر سه گونه جلبک کلرلا ولگاریس (*Chlorella vulgaris*)، سندسموس اوبلیکوس (*Sc. obliquus*) و آنابنا فلوس آکوتا (*Anabena flos-aquae*) بررسی و آن‌ها را به‌مدت ۹۶ ساعت به‌صورت خالص و انفرادی در شرایط نوری و حرارتی، تحت تأثیر فلز روی قرار دادند و اعلان نمودند که بیش‌ترین مقاومت در میکروجلبک

طبیعت حضور دارد. در این میکروجلبک سلول‌ها بیضی یا نیزه‌ای شکل و برخی دارای خار یا شاخ هستند؛ در سندسموس هنگام تولیدمثل هر سلول یک کلونی چهار سلولی جدید تولید می‌کند (هوف و اسنل، ۱۹۸۸). تولیدمثل در سندسموس از طریق اتوکلی انجام می‌شود، بدین ترتیب که هر سلول مادر کلنی‌های مینیاتور ایجاد می‌کند و سپس از داخل و گاهی از دیواره سلول مادر آزاد می‌شوند (Lavens و Sorgeloos، ۱۹۹۶).

از لحاظ شرایط نوری، تکثیر سندسموس در شرایط ثابت حضور نور است (Boussiba، ۱۹۸۸) و به‌طور کلی حضور یا عدم حضور نور نقش عمده‌ای در بقاء اجتماعات فلور جلبکی دارد (Boussiba، ۱۹۸۸).

در سال‌های اخیر تکنیک‌های پرورش میکروجلبک‌ها در مقیاس‌های بزرگ و تولید انبوه تحت شرایط رشد هتروتروفیک و با استفاده از کاربرد کربن آلی به‌جای نور به‌عنوان منبع انرژی، توسعه یافته است (Coutteau، ۱۹۹۶). اما چرخه تولیدمثل این میکروجلبک در دوره زمانی ۳۰ دقیقه تاریکی و نور مستمر، به‌طور محسوس سرعت می‌گیرد (هراتی و همکاران، ۱۳۸۸). همچنین تولید کلروفیل a در نور مستمر و حداقل ۶۰ دقیقه استمرار حضور نور افزایش می‌یابد (هراتی و همکاران، ۱۳۸۸).

امروزه پژوهش‌های پیشرفته‌ای بر روی استفاده از تکنیک‌های جدید به‌منظور تولید انبوه جلبک سندسموس در تراکم بالا آغاز شده و حتی با استفاده از جذب نور ضعیف سبز (Mattos و همکاران، ۲۰۱۵) نیز اقدام به پرورش انبوه آن گردیده است. از سوی دیگر پژوهش‌های نوین بنیادین به‌منظور افزایش کاربردهای تحقیقاتی و صنعتی میکروجلبک سندسموس رو به افزایش است (Kim و Patnaik، ۲۰۱۵؛ Mallick و همکاران، ۲۰۱۵) و حتی پیرامون ارتباط محتوای

1- Triacylglycerol

لازم به ذکر است که در راستای ارزیابی کارآمدی محیط‌های کشت سندسموس، صیدانلو و همکاران (۱۳۹۱) محیط کشت TMRL را (که با طیف وسیع و به‌عنوان یک ماده غذایی در پرورش فیتوپلانکتون‌ها استفاده می‌شود) در طیف با محیط کشت زایندر یا Z-8+N در شرایط آزمایشگاهی مورد مقایسه قرار دادند و کارآیی Z-8+N را (که برای کشت جلبک‌های سبز-آبی استفاده می‌شود) نیز مورد تأیید قرار دادند.

تاکنون عمده بررسی‌های انجام شده در دنیا روی میکروجلبک‌ها صرفاً بر روی یک عامل بوده است (آقایی و سیاه‌بالایی، ۱۳۹۱)، اما با توجه به اثرات عوام مختلف روری رشد جلبک‌ها، پژوهش‌هایی شامل فاکتورهای متعدد در محیط و شرایط کشت میکروجلبک‌ها اهمیت مضاعف می‌یابد. هدف از این پژوهش تهیه بهترین محیط کشت برای تولید تجاری و اقتصادی میکروجلبک سندسموس *Scenedesmus sp* به‌عنوان غذای زنده در منابع شیلاتی، صنعت پزشکی و دارویی می‌باشد. همچنین بررسی ارزش غذایی، میزان رشد و تراکم میکروجلبک سندسموس در محیط کشت TMRL در دو شدت نور مختلف و در غلظت‌های مختلفی از مواد مغذی فسفر و نیتروژن و در نهایت به‌دست آوردن بالاترین تراکم در کم‌ترین زمان ممکن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش، توده جلبک سبز سندسموس (*Scenedesmus sp*) با نمونه‌برداری از منابع آبی منطقه ساحلی دریای مازندران (مازندران، ساری، ساحل منطقه فرح‌آباد) به‌وسیله تور پلانکتون‌گیر تهیه گردید. نمونه‌ها به آزمایشگاه کشت جلبک پژوهشگاه اکولوژی دریای خزر منتقل شد. جداسازی میکروجلبک سبز سندسموس از مخلوط جلبک‌های موجود در هر واحد کشت به روش جداسازی با پی‌بت پاستور انجام گرفت (اسماعیلی ساری، ۱۳۷۹).

سندسموس دیده شده است در حالی‌که بیش‌ترین اثر منفی این فلز در کلرلا گزارش شد. از طرفی وضعیت رنگیزه‌ای جلبک سندسموس (*Sc. obliquus*) در شرایط تغییرات توام دی‌اکسیدکربن و نور مورد ارزیابی قرار گرفت (آقایی و سیاه‌بالایی، ۱۳۹۱) و افزودن تأثیر بی‌کربنات سدیم بر روی رشد میکروجلبک سندسموس در محیط کشت TMRL (AG) نیز مورد ارزیابی قرار گرفت (گنجیان‌خناری و همکاران، ۱۳۹۲).

حیدری و همکاران (۱۳۹۰) اثرات مختلف نیترات و آمونیوم را در محیط کشت BBM^۱ گونه *Scenedesmus quadricauda* مورد مطالعه قرار دادند. همچنین در مطالعه‌ای تأثیر نور مداوم و دوره‌های کوتاه تاریکی بر بقاء، رشد و وضعیت رنگیزه‌ای جلبک سندسموس مورد بررسی قرار گرفت و اعلان شد که سندسموس هم در شرایط نوری مستمر (با ۲ میکرومول کوانتا بر مترمربع در ثانیه) و هم در دوره‌های تاریکی موقت و غیرمستمر، بقای خود را حفظ می‌کند و به رشد ادامه می‌دهد. همین گزارش تأیید نمود که نرخ ویژه رشد^۲ (SGR) در تناوب‌های نوری یک ساعت تاریکی به بالاترین حد خود رسید. حتی گزارش شده سندسموس به‌عنوان یک گونه تجاری مهم برای حذف برخی کاتیون‌های سمی مثل کادمیوم از منابع آبی کاربرد دارد (Monteiro و همکاران، ۲۰۰۹) و فعالیت بیولوژیکی این جلبک نقش مهمی در غیرسمی کردن فلزهای سنگین در اکوسیستم‌های آبی دارد و توده‌های زیستی جلبکی می‌توانند به‌عنوان جاذب‌های زیستی ایمن و مؤثر برای درمان و حذف آلودگی فلزات سنگین به‌کار روند (Horikoshi و همکاران ۱۹۷۹؛ Bengtsson و همکاران، ۱۹۹۵).

1- Bold Basal Medium
2- Specific Growth Rate

گرفتند. تیمارها با تعداد $10^3 \times 1500$ سلول جلبک در میلی‌لیتر (Cell/ml) و یا $6/17 \text{ Log C/ml}$ ذخیره‌سازی گردیدند. هوادهی با پمپ آکواریموم و قرار دادن شیلنگ هوا در داخل میکرو پی‌پت موجود در درون هر ارلن، صورت گرفت. نمونه‌ها به‌منظور رشد و تکثیر، به‌مدت ۱۲ روز در درجه حرارت 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد و مجاورت نور کنترل شده قرار گرفتند. در این پروژه با استفاده از ۲ تا ۳ لامپ فلئوروسنت ۶۰ وات و با تنظیم فاصله منبع نوری از محیط کشت از دو شدت لوکس نوری استفاده شد که به‌ترتیب شامل $L_1 = 3500 \pm 350 \text{ Lux}$ و $L_2 = 5500 \pm 350 \text{ Lux}$ بود (Piri و Ordog، ۱۹۹۷).

محیط کشت مورد استفاده در این آزمایش TMRL بود. محیط کشت TMRL با ۳ غلظت مختلف تهیه شد که در جدول ۱ آورده شده است. و در مجموع ۶ تیمار و هر کدام با ۳ تکرار برای کشت جلبک سندسموس و به‌شرح جدول ۲ در نظر گرفته شد:

ارزیابی ارزش غذایی نمونه جلبک شامل اندازه‌گیری مقادیر پروتئین کل، چربی کل، رطوبت و مواد معدنی (خاکستر) به روش AOAC (۲۰۰۵) و میزان انرژی حاصله در یک کیلوگرم وزن خشک آن از طریق محاسبه کالری آزاد شده تعیین شد.

از آنجائی‌که آلودگی با باکتری‌ها و پروتوزوآها و گونه‌های دیگر از میکروآلگ‌ها یک مشکل جدی در کشت جلبک می‌باشد، استریل کردن اتاق کشت با استفاده از تابش لامپ UV مورد استفاده قرار گرفت (Lavens و Sorgeloos، ۱۹۹۶). به‌نحوی‌که در ابتدای هر روز کاری به‌مدت ۱۵ دقیقه قبل از شمارش تراکم با استفاده از نور لامپ UV اقدام به از بین بردن میکروارگانیزم‌های موجود در فضای اتاق می‌گردید.

پس از ساخت محیط‌های کشت (جدول ۱) ۱۰ سی‌سی استوک خالص شده میکروجلبک سبز سندسموس به ارلن‌های ۲۵۰ سی‌سی تزریق شد و در اتاق فایکولب کشت استریل مورد پرورش قرار

جدول ۱- ترکیب اجزاء محیط کشت TMRL جهت کشت میکروجلبک سندسموس

محیط کشت	P فسفر	N نیتروژن	Fe آهن
شماره اول (۱)	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 = 3\text{g}$	$\text{N}_2 = 30\text{g}$	$\text{FeCl}_3 = 1\text{g}$
شماره دوم (۲)	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 = 5\text{g}$	$\text{N}_2 = 50\text{g}$	$\text{FeCl}_3 = 1\text{g}$
شماره سوم (۳)	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 = 7\text{g}$	$\text{N}_2 = 70\text{g}$	$\text{FeCl}_3 = 1\text{g}$

جدول ۲- تیمار بندی و ساختار فنی و ترکیبی تیمارها جهت کشت میکروجلبک سندسموس

شماره تیمار	نوع محیط کشت	ویژگی‌های فنی و ترکیب محیط کشت		
		فسفر: NaH_2PO_4	نیتروژن: N_2	آهن: FeCl_3
۱	اول	۳	۳۰	۱
۲	دوم	۵	۵۰	۱
۳	سوم	۷	۷۰	۱
۴	اول	۳	۳۰	۱
۵	دوم	۵	۵۰	۱
۶	سوم	۷	۷۰	۱

نتایج

ارزش غذایی میکروجلبک سندسموس در جدول ۳ نشان داده شده است و مطابق آن این میکروجلبک سبز با ۳۲/۴ درصد پروتئین و ۵/۲۱ درصد چربی از ارزش غذایی و انرژی‌زایی بسیار بالایی برخوردار است. علاوه بر این کربوهیدرات و موارد معدنی آن به ترتیب ۲۴/۱۲ و ۳۲/۲۲ درصد می‌باشد که ارزش بالای تغذیه‌ای آن را نشان می‌دهد. مواد انرژی‌زای سندسموس در مجموع ۵۲/۷۳ درصد از وزن خشک آن را تشکیل می‌دهد که که انرژی حاصله از مصرف یک کیلوگرم آن برابر با ۳۰۱۲ کیلوکالری خواهد بود.

میانگین و انحراف معیار بایوماس میکروجلبک سندسموس بر حسب لگاریتم تعداد سلول در میلی‌لیتر (Log C/ml) طی ۱۲ روز کشت در محیط‌های کشت TMRL با مواد مغذی (نوترینت) و شدت نور مختلف در جدول ۴ آورده شده است. حجم ورودی میکروجلبک سندسموس در هر محیط کشت برابر با ۱۰ سی‌سی بود و در همین روز (ابتدای پرورش) تعداد $10^3 \times 1500$ سلول جلبک در میلی‌لیتر (Cell/ml) و یا $6/17$ Log C/ml در تمام تیمارها ذخیره‌سازی و آغاز گردید.

مدت زمان روشنایی (L) و تاریکی (D) توسط تایمر اتوماتیک با تناوب مساوی (L/D: 12/12) ساعت تنظیم گردید. درجه حرارت اتاق کشت در تمام مدت آزمایش 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد بود (Piri و Ordog، ۱۹۹۷). شمارش تراکم و بایومس میکروجلبک‌ها بر حسب لگاریتم سلول در میلی‌لیتر (Log C/ml) هر دو روز یک بار به کمک لام نئوبار و میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰ انجام گرفت (هوف و اسنل، ۱۹۸۸). تعداد واقعی سلول‌های میکروجلبک در هر تیمار و در هر روز با استفاده از رابطه زیر به دست آمد (Martinez و همکاران، ۱۹۷۵):

$$\text{رقت} \times 10 \times \text{میلی متر مربع} / \text{سلول‌ها} = \text{میلی متر مکعب} / \text{سلول‌ها}$$

$$\text{میلی متر مربع} / \text{وسعت شمارش شده} / \text{میانگین سلول‌های شمارش شده} = \text{میلی متر مربع} / \text{سلول‌ها}$$

$$1000 \times \text{رقت} \times 10 \times 5 \times \text{میانگین تعداد سلول شمارش شده} = \text{ml} = \text{سی‌سی}$$

برای انجام آنالیزهای آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷/۰۵ و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel^{MST} 2003 استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل آماری و تعیین تفاوت‌های بین تیمارها از آزمون جداساز دانکن (Duncan) در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده گردید.

جدول ۳- ترکیبات بیوشیمیایی تشکیل‌دهنده میکروجلبک سندسموس براساس وزن خشک (درصد)

ماده غذایی	میانگین و انحراف معیار
پروتئین	۳۲/۴۰ ± ۳/۱۵
چربی	۵/۲۱ ± ۰/۸۲
کربوهیدرات	۲۴/۱۲ ± ۵/۲۹
مواد معدنی (خاکستر)	۳۲/۵۵ ± ۷/۳۵
انرژی (Kcal/Kg)	۳۰۱۲/۳۰

جدول ۴- میزان بایوماس میکروجلبک سندسموس در شرایط مختلف نوری و محیط کشت‌های مختلف طی ۱۲ روز (Log C/ml)

شماره تیمار	زمان					
	اول ^۱	دوم ^۲	سوم ^۳	چهارم ^۴	پنجم ^۵	ششم ^۶
۲ روز بعد از کشت	۶/۴۲±۰/۰۷	۶/۲۵±۰/۰۹	۶/۲۰±۰/۱۳	۵/۶۵±۰/۱۰	۶/۱۸±۰/۰۸	۶/۳۵±۰/۰۹
۴ روز بعد از کشت	۶/۴۳±۰/۰۹	۶/۶۲±۰/۰۳	۶/۶۷±۰/۰۶	۶/۶۳±۰/۰۴	۶/۸۵±۰/۰۴	۶/۹۵±۰/۰۲
۶ روز بعد از کشت	۶/۶۳±۰/۰۵	۷/۰۴±۰/۰۴	۷/۰۷±۰/۰۲	۶/۷۶±۰/۰۴	۷/۲۱±۰/۰۴	۷/۶۴±۰/۰۵۷
۸ روز بعد از کشت	۶/۷۷±۰/۰۳	۷/۰۸±۰/۰۳	۷/۱۴±۰/۰۲	۶/۹۲±۰/۰۳	۷/۲۴±۰/۰۴	۷/۳۶±۰/۰۴
۱۰ روز بعد از کشت	۶/۸۶±۰/۰۵	۷/۰۹±۰/۰۵	۷/۲۹±۰/۰۴	۷/۰۲±۰/۰۶	۷/۲۷±۰/۰۶	۷/۴۰±۰/۰۳
۱۲ روز بعد از کشت	۷/۰۵±۰/۰۴	۷/۴۱±۰/۰۴	۷/۴۴±۰/۰۴	۷/۰۴±۰/۰۴	۷/۳۵±۰/۰۴	۷/۴۳±۰/۰۴

۱. محیط کشت اول = لوکس نوری ۱ = 350 ± 350 , $N=30$, $P=3$, $Fe=1$
۲. محیط کشت دوم = لوکس نوری ۱ = 350 ± 350 , $N=50$, $P=5$, $Fe=1$
۳. محیط کشت سوم = لوکس نوری ۱ = 350 ± 350 , $N=70$, $P=7$, $Fe=1$
۴. محیط کشت اول = لوکس نوری ۲ = 550 ± 350 , $N=30$, $P=3$, $Fe=1$
۵. محیط کشت دوم = لوکس نوری ۲ = 550 ± 350 , $N=50$, $P=5$, $Fe=1$
۶. محیط کشت سوم = لوکس نوری ۲ = 550 ± 350 , $N=70$, $P=7$, $Fe=1$

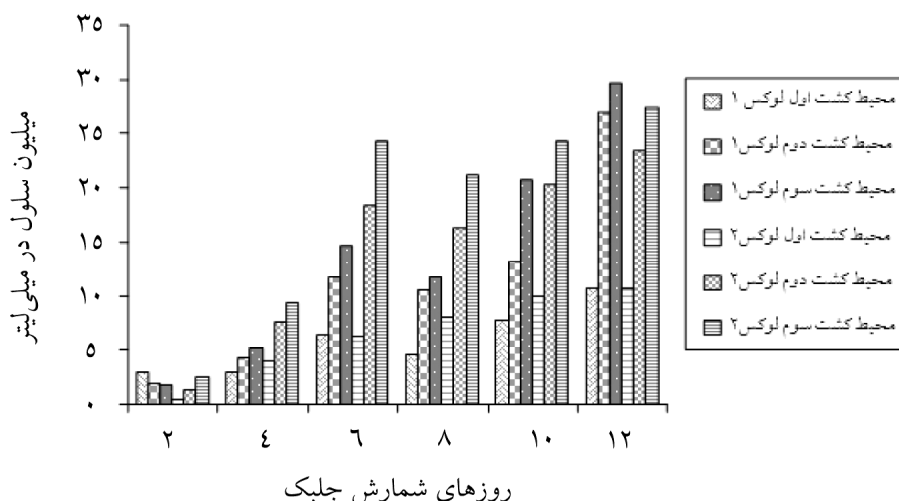
محیط‌های کشت دوم و سوم در همین شرایط نوری به $1/17$ Log C/ml و $1/08$ Log C/ml رسید ($P<0/05$).

نتایج نشان داد که در همه محیط‌ها از روز اول تا آخر افزایش تراکم و تعداد سلول میکروجلبک سندسموس دیده شده است.

نتایج نشان داد در شدت لوکس نوری ۱ در کل دوره پرورش میکروجلبک سندسموس (شکل ۱) بیش‌ترین بایوماس مربوط به محیط کشت ۳ بود که از 1725×10^3 C/ml در نخستین روز پرورش به‌میزان 29625×10^3 C/ml رسیده بود ($P<0/05$).

دو روز بعد از شروع کشت، در محیط کشت اول در شدت لوکس نوری ۱ ($L_1 = 350 \pm 350$ Lux) میزان بایوماس $6/42$ Log C/ml بوده و در روز آخر (دوازدهمین روز کشت) به $7/05$ Log C/ml رسید ($P<0/05$). افزایش بایوماس طی ۱۰ روز کشت معادل $0/63$ Log C/ml بوده است ($P<0/05$). در محیط‌های کشت دوم و سوم در همین شدت نور نیز افزایش بایوماس به‌ترتیب به $1/16$ و $1/24$ Log C/ml رسیده بود ($P<0/05$).

اما افزایش رشد در دوره ۱۲ روزه کشت، در شدت لوکس نوری ۲ ($L_2 = 550 \pm 350$ Lux) در محیط کشت اول $1/39$ Log C/ml بوده و در



شکل ۱- تعداد سلول میکرو جلبک سندسموس در ۳ محیط کشت اول و دو شدت نوری متفاوت طی دوره ۱۲ روزه کشت

آوردند که بیانگر بالا بودن میزان پروتئین در میکرو جلبک‌های سبز است. همچنین Brown (۱۹۹۱) با آنالیز مواد تشکیل دهنده ۱۶ میکرو جلبک پرورشی نتایج جالبی منتشر نموده است؛ به طوری که طبق این گزارش در جلبک ایزوکریسیس *Isochrysis galbana* مقادیر پروتئین، چربی و کربوهیدرات به ترتیب مقادیر ۲۹/۰، ۲۳/۰ و ۰/۹۸ درصد همراه با ۰/۹ mg/ml کلروفیل a برآورد گردید و برای دونالیه‌لا *Dunaliella tertiolecta* به ترتیب ۲۰/۰، ۱۵/۰ و ۱۲/۲ درصد با ۱/۷۳ mg/ml کلروفیل a همراه بوده در حالی که پارامترهای فوق برای میکرو جلبک ارزشمند نانوکروپسیس *Nannochloropsis oculata* به ترتیب ۳۵/۰، ۱۸/۰ و ۷/۸ درصد به همراه ۰/۹۸ mg/ml کلروفیل a بود که بیانگر ارزش بسیار بالای غذایی آن‌ها می‌باشد. مطابق نتایج حاصله از پژوهش کنونی حضور ۳۲/۴ درصد پروتئین در سندسموس بیانگر جایگاه بسیار با اهمیت این میکرو جلبک بین گونه‌های پرورشی و کارایی آن در استفاده به عنوان غذای زنده است.

پرورش میکرو جلبک‌ها به کنترل همه فاکتورهای رشد از قبیل مواد مغذی، pH، درجه حرارت، غلظت

در کل دوره پرورش میکرو جلبک سندسموس در شدت لوکس نوری ۲ ($L_2 = 5500 \pm 350 \text{ Lux}$) بیش‌ترین بایوماس در محیط کشت ۳ و به میزان $27375 \times 10^3 \text{ (C/ml)}$ بوده است (شکل ۱).

در کل دوره پرورش در مقایسه هر دو شدت لوکس نوری نیز بیش‌ترین بایوماس تولید سندسموس مربوط به محیط کشت ۳ (محیط غنی‌تر از فسفر و نیتروژن) و در شدت لوکس نوری ۱ ($L_1 = 3500 \pm 350 \text{ Lux}$) به میزان $29625 \times 10^3 \text{ (C/ml)}$ در روز آخر کشت به دست آمد (شکل ۱).

بحث

مطابق جدول ۳ میکرو جلبک سبز سندسموس با ۳۲/۴ درصد پروتئین، ۵/۲۱ درصد چربی و ۲۴/۱۲ درصد کربوهیدرات از ارزش غذایی بسیار بالایی برخوردار است. علاوه بر این انرژی حاصل از یک کیلوگرم سندسموس در مجموع برابر با ۳۰۱۲ کیلوکالری است که مجدداً ارزش بالای انرژی‌زایی این میکرو جلبک را نشان می‌دهد. در پژوهشی مشابه Pandey و همکاران (۲۰۰۹) میزان پروتئین جلبک اسپیرولینا را ۶۴/۳ درصد از وزن خشک به دست

خود ادامه دهد، ولی در صورت افزایش مواد مغذی به‌خصوص نیتروژن و فسفر، رشد و تکثیر جلبک سبز نیز افزایش می‌یابد.

Bouterfas و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که نور بر میزان رشد جلبک‌های سبز آب شیرین تأثیر زیادی دارد ولی با این وجود فقط در روشنایی قرار گرفتن جلبک‌ها رشد پایداری به آن‌ها نداده، حتی ممکن است باعث کاهش رشد هم گردد. همچنین Nofdianto (۲۰۱۱) نشان داد که رشد کلروفیتا^۱ یا جلبک‌های سبز در دمای کمتر از ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شدت نور $800 \mu\text{mol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$ بیش‌ترین رشد را دارند؛ بنابراین علاوه بر مواد مغذی و درجه حرارت، شدت نور نیز نقش مؤثری در افزایش رشد آن‌ها دارد. در مطالعه Pandey و همکاران (۲۰۱۱) در شرایطی که چنانچه محیط قلیایی باشد، در شدت نور ۵۰۰۰ لوکس بیش‌ترین میزان وزن خشک، پروتئین و کلروفیل a در جلبک اسپیرولینا به‌دست می‌آید.

تغییر در کمیت و کیفیت نور باعث ایجاد پاسخ‌های متنوع در جلبک‌های تک سلولی می‌شود. از مهم‌ترین این پاسخ‌ها می‌توان تغییر در ترکیب رنگدانه‌ها، تغییر در روند فتوسنتز و روند رشد جلبک‌ها را برشمرد (Roesle و Etheridge, ۲۰۰۴). اثر نور بر ترکیبات بیوشیمیایی و فتوسنتز جلبک‌ها با فرآیند سازگاری نوری کنترل می‌شود و در این فرایند، تغییراتی در دینامیک، فیزیولوژی جلبک‌ها اتفاق می‌افتد که آن‌ها را قادر به سازگاری با تغییر شرایط محیطی می‌سازد (Roesle و Etheridge, ۲۰۰۴). گزارش شده است که پرورش جلبک‌های سبز با تراکم بالاتر به نور بیش‌تر دارد (Samuel و همکاران, ۲۰۱۰). مدت نوردی، کمیت و کیفیت نور مهم‌ترین شاخص‌ها در موفقیت ارگانیزم‌های فتوسنتزکننده هستند.

CO_2 و O_2 و شدت نور نیاز دارد. از طرفی ارگانیزم‌های آبی به‌ویژه جلبک‌ها و بنتوزها به‌عنوان ارگانیزم‌های حساس به تغییرات فیزیکی و شیمیایی محیط شناخته شده‌اند.

مطابق نتایج میکروجلبک سندسموس طی دوره پرورش در شدت لوکس نوری ۱ ($L_1 = 350.0 \pm 35.0 \text{ Lux}$) بیش‌ترین رشد را داشته که می‌تواند به‌دلیل غالب بودن سایر فاکتورهای مؤثر بر تولید نسبت به فاکتور نور باشد، به‌طوری‌که توانسته‌اند موجب افزایش رشد سندسموس شوند.

در کل دوره پرورش در اکثر روزها اختلاف معنی‌داری بین میزان تولید سندسموس در دو شدت لوکس نوری در محیط کشت مشابه دیده نشد ($P > 0.05$) و نیز این نتیجه به‌دست آمد که افزایش شدت نور توأم با کاهش مواد مغذی (فسفر و نیتروژن) محیط کشت، موجب کاهش رشد سندسموس گردید. در مطالعه‌ای که توسط Sivonen (۱۹۹۰) انجام شد، این موضوع تأیید شد که افزایش شدت نور و درجه حرارت در محیط تأثیر منفی بر روی رشد جلبک اوسیلاتوریا *Oscillatoria agardhii Strains* و تولید توکسین آن دارد که با پژوهش حاضر همخوانی داشت.

در پژوهش کنونی در میزان رشد جلبک سندسموس بین تیمار ۳ (محیط‌های کشت سوم یا غنی‌ترین محیط در شدت نوری ۱ یا نور کم‌تر) و تیمار ۴ (محیط کشت اول یا فقیرترین محیط در شدت نوری ۲ یا نور بیش‌تر) اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$) و طی آن تعداد سلول سندسموس در تیمار ۳ علی‌رغم نور کم‌تر، بیش‌تر بود (جدول ۳ و شکل ۱)؛ بنابراین اثر محیط غنی‌تر با مواد مغذی بیش‌تر مؤثرتر از شدت نور است. در نتیجه می‌توان گفت چنانچه جلبک حداقل میزان نور را در محیط در اختیار داشته باشد می‌تواند به رشد

قرار دهد؛ به عنوان مثال، رشد میکروجلبک سندسموس در معرض توکسین دیازینون روند معکوسی داشته و هرچه دز توکسین کم تر باشد، نرخ رشد جلبک بالاتر است (Cetin و همکاران، ۲۰۱۱). نتیجه پژوهشگران مذکور می تواند در مورد رشد انواع جلبک های سبز در اکوسیستم های آبی مجاور مزارع کشاورزی نیز صادق باشد، به طوری که با ورود انواع سموم ناشی از دفع آفات کشاورزی به محیط های آبی می تواند موجبات محدود شدن رشد جلبک های سبز را به دنبال داشته باشد.

در پژوهش حاضر پس از روز چهارم پرورش، اختلاف رشد جلبک ها در تیمارهای مختلف تشدید شد و اختلاف رشد سندسموس در محیط کشت سوم که غلظت بیش تری از مواد مغذی را دارا بود، نسبت به محیط کشت اول از شدت بیش تری برخوردار بود ($P < 0/05$).

بنابراین نیاز سندسموس به نیتروژن ضروری است و لازم است میزان این ماده مغذی در محیط کشت TMRL با غلظت بیش تری حضور داشته باشد.

در مطالعه Tep و همکاران (۲۰۰۶) نیتروژن معدنی حاصل از گیاهان آبی بیش ترین رشد جلبک سندسموس را فراهم کرد در حالی که استفاده از نیتروژن غیر معدنی در محیط کشت، رشد کم تری را به دنبال داشت ($P < 0/05$). بنابراین تغییرات مواد حاوی نیتروژن نیز می تواند عامل مؤثری بر روی میزان رشد میکروجلبک سندسموس باشد. در پژوهش حیدری و همکاران (۱۳۹۰) بالاترین تراکم سلولی در غلظت ۱۵ میلی مولار و بیش ترین رشد جلبک در غلظت ۵۰ میلی مولار آمونیوم و نترات گزارش شده و مقادیر بالاتر موجب کاهش یا توقف رشد گردید. بنابراین علی رغم این که جلبک سندسموس یک گونه مقاوم می باشد، با این حال در غلظت های بالای نترات و آمونیوم واکنش منفی نشان می دهد. با مقایسه

در پژوهش کنونی افزایش نور به بیش از ۳۵۰۰ لوکس، تأثیری روی رشد جابک سندسموس نداشت، چرا که حداقل نور لازم برای انجام فرآیندهای حیاتی این میکروجلبک تامین شده بود. با این حال این نکته قابل تامل است که با توجه به این که شدت نور از جمله فاکتورهای فیزیکی است، اما می تواند بر فاکتورهای بیوشیمیایی جلبک ها تأثیر بگذارد.

غالب بودن اثر مواد مغذی نسبت به شدت نور در رشد جلبک می تواند به دلیل ویژگی های ذاتی آن باشد که حاصل سازگاری درازمدت با محیط طبیعی خود است. با توجه به گزارش هراتی و همکاران (۱۳۸۸) تناوب نوری با یک ساعت تاریکی بهترین اثر را روی رشد میکروجلبک سندسموس داشته و این میکروجلبک در دوره های تاریکی کوتاه مدت نسبت به نور حساسیت قابل توجهی را نشان می دهد.

نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر بیانگر آن است که بیش ترین بایوماس جلبک سندسموس در محیط کشت سوم (حاوی $1=Fe$ ، $7=P$ و $70=N$ گرم) که مقادیر ازت و فسفر آن به ترتیب $2/5$ و $1/5$ برابر بیش تر نسبت به محیط کشت های اول و دوم بود، دیده شده است. تعداد سلول های سندسموس در محیط های کشت سوم و اول در شرایط یکسان نوری اختلاف زیادی داشت ($P < 0/05$) که دلیل آن تنها تغییر در ترکیب مواد مغذی بوده است. با این حساب فسفر و نیتروژن جزو عوامل محدود کننده برای رشد و تکثیر میکروجلبک سبز محسوب می شوند.

از آن جایی که محیط کشت TMRL یک محیط کشت عمومی در پرورش جلبک ها محسوب می شود، بنابر نتایج حاصله می توان با تغییر برخی عناصر مغذی آن موجب کنترل و حتی افزایش شدت رشد میکروجلبک ها گردید.

علاوه بر این حضور عوامل خارجی در محیط کشت نیز می تواند میزان رشد جلبک را تحت تأثیر

بیانگر نتایج حاصله از پژوهش کنونی است. همچنین گزارش شده است که میکروجلبک سندسموس نسبت به سایر جلبک‌ها مقاومت بیشتری در مقابل آلودگی به فلز روی، نشان داده است (سواری و همکاران، ۱۳۸۲). بنابراین سندسموس گونه مقاومی است و چنانچه شرایط مواد مغذی به‌ویژه فسفر و نیتروژن کافی در دسترس باشد، علی‌رغم آلوده بودن محیط تا محدوده غیرکشنده، فتوسنتز و در ادامه افزایش رشد خواهد داشت.

جمع‌بندی و نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان اذعان نمود که حداکثر شدت نور برای رشد میکروجلبک سندسموس 350 ± 350 لوکس می‌باشد و افزایش کمیت نوری تأثیری در افزایش رشد ندارد. از طرفی محیط کشت مناسب برای دستیابی به بالاترین میزان بایوماس این میکروجلبک در محیط کشت TMRL افزایش مقادیر فسفر و نیتروژن است به‌طوری‌که با حضور ۷ گرم NaH_2PO_4 و ۷۰ گرم N_2 در شرایط ثابت حضور ۱ گرم آهن با ترکیب FeCl_3 می‌باشد.

پژوهش فوق‌الذکر و نتایج پژوهش کنونی می‌تواند نتیجه گرفت که غلظت به‌کار رفته در محیط کشت سوم (غنی از ازت و نیتروژن) برای سندسموس در محدوده بهینه‌ای بوده که بیش‌ترین رشد را نشان داده است. غلظت‌های بالاتر نیترات موجب کاهش رشد می‌گردد. بازدارندگی رشد ریزجلبک‌ها در سطوح بالای نیترات به مکانسیم جذب نیترات ارتباط دارد؛ به‌عبارت دیگر، افزایش نیترات در محیط کشت می‌تواند باعث تحریک فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و نیتريت رودکتاز در پیرنوئید سلول جلبک گردد که منجر به تولید و تجمع آمونیوم و نیتريت می‌شود که برای سلول سمی بوده و باعث کندی رشد در جلبک‌ها می‌گردند (Jeanfils و همکاران، ۱۹۹۳).

از سوی دیگر در مطالعه Sivonen (۱۹۹۰) نیز افزایش مقادیر نیترات و فسفر به‌عنوان مواد مغذی در دریاچه مورد مطالعه، میزان رشد و تولید سم هپاتوتوکسین در جلبک *Oscillatoria agardhii* Strains را به‌طور مشخصی افزایش داد که خود بیانگر فعالیت بیش‌تر این جلبک است؛ به همین دلیل پژوهشگر مذکور نیز نتیجه گرفت که با افزایش میزان مواد مغذی می‌تواند رشد میکروجلبک را تا حد زیادی افزایش داد که

منابع

- آقایی، پ.، و سیاه‌بالایی، ر.، ۱۳۹۱. بررسی بقاء، رشد و وضعیت رنگیزه‌ای در شرایط تغییرات توام دی‌اکسیدکربن و نور جلبک سبز *Scenedesmus obliquous*، پژوهش‌های علوم گیاهی، (پیاپی ۲۶)، (۲): ۱۸-۲۶.
- اسماعیلی‌ساری، ع.، ۱۳۷۹. باکتری‌ها، جلبک‌ها، قارچ‌ها و بی‌مهرگان آب شیرین، انتشارات مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، مدیریت اطلاعات علمی و روابط بین‌الملل، ۵۳۵ ص.
- حسینی، س.ع.، و جلالی، م.ع.، ۱۳۹۰. کاربرد غذای زنده در پرورش آبزیان، انتشارات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۲۰۸ ص.
- حیدری، ص.، هادیان، ا.، و محبوبی‌صوفیانی، ن.، ۱۳۹۰. اثرات سطوح مختلف نیترات و آمونیوم در محیط کشت برای رشد جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda*. نشریه شیلات مجله منابع طبیعی ایران، ۶۴(۱): ۲۴-۴۹.
- ریاحی، ح.، ۱۳۸۱. جلبک‌شناسی، انتشارات دانشگاه الزهراء، تهران، ۲۵۶ ص.
- سواری، ا.، فلاحی، م.، کوچین، پ.، و ناصر علوی، ق.، ۱۳۸۳. بررسی تأثیر فلز سنگین روی (Zn) بر سه گونه جلبک *Scenedesmus obliquus*، *Chlorella vulgaris* و *Anabaena flos-aquae*، مجله علمی شیلات ایران، ۱۳(۲): ۸۳-۹۰.

صیدانلو، ز.، گنجیان خناری، ع.، قلیچی، ا.، و احمدی، س.ا.، ۱۳۹۱. بررسی رشد میکروجلبک سندسموس (*Scenedesmus* sp) با محیط کشت های TMRL و Z-8+N در شرایط آزمایشگاهی (Indoor)، مجله شیلات، ۶(۳): ۹۹-۱۱۰.

کیان مهر، ه.، ۱۳۷۱. مبانی جلبک شناسی. جهاد دانشگاهی دانشگاه مشهد، ۲۵۸ ص.

گنجیان خناری، ع.، شکوری، م.، قلیچی، ا.، و قاسم نژاد، م.، ۱۳۹۲. بررسی تأثیر بی کرناات سدیم بر رشد میکروجلبک سندسموس (*Scenedesmus* sp) در محیط کشت (AG) TMRL، مجله شیلات، ۷(۴): ۸۵-۹۲.

هراتی، پ.، شکروی، ش.، ساطعی، آ.، و عزیز، پ.، ۱۳۸۸. بررسی تأثیر نور مداوم و دوره های کوتاه تاریکی بر بقاء، رشد و وضعیت رنگیزه های جلبک *Scenedesmus* sp از استان گلستان، فصلنامه پژوهش های علوم گیاهی، پیاپی ۱۵، ۴(۳): ۱۰-۱۷.

هوف، ف.اچ.، و اسنل، ت. دابلو، ۱۹۸۸. تکثیر و پرورش غذای زنده: دستورالعمل تکثیر و پرورش پلانکتون ها، ترجمه: ق. آذری تاکامی، م. امینی چرمهینی، ۱۳۸۷. مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران، ۳۴۶ ص.

- AOAC, 2002. Official Methods of Analysis Association of official Analytical Chemists. Washington, DC, USA.
- Barnabé, G., 1990. Harvesting micro-algae. In: Aquaculture, Volume I. Barnabé, G. (Ed.). Ellis Horwood, New York, pp. 207-212.
- Bengtsson, L., Johansson, B., Hackett, T.J., Mchale, L., and Mchale, A.P., 1995. Studies on the biosorption of uranium by *Talaromyces emersoni* CBS 814.70 biomass. Appl. Microbiol. Biotechnol. 42, 807-811.
- Birungi, Z.S., and Chirwa, E.M.N., 2015. The adsorption potential and recovery of thallium using green micro-algae from eutrophic water sources, J. Hazardous Mater. 299, 67-77.
- Brown, M.R., 1991. The amino acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. Aquaculture, 145, 79-99.
- Bold, H.C., and Michael, L.W., 1985. Introduction to the Algae Structured and Reproduction, Second ed. prentice Hall, INC.
- Boussiba, S., 1988. *Anabaena azollae* as biofertilizer. In: Algal biotechnology, eds. T.J. Stadler, M.C. Millon, Y. Verdus, H.M. Karamanos and D. Christiaen, Elsevier applied science.
- Bouterfas, R., Belkoura, M., and Dauta, A., 2006. The effects of irradiance and photoperiod on the growth rate of three freshwater green algae isolated from a eutrophic lake, Limnetica, 25 (3), 647-656.
- De Pauw, N., and Persoone, G., 1988. Micro-algae for aquaculture. In: Micro-algal Biotechnology. Borowitzka, M.A. and L.J. Borowitzka (Eds.). Cambridge University Press, Cambridge, U.K., pp. 197-221.
- Cetin, K.A., Gur, N., and Firat, Z., 2011. Growth rate of *Scenedesmus acutus* in laboratory cultures exposed to diazinon. Afric. J. Biotechnol. 10 (34), 6540-6543.
- Coutteau, P., 1996. Micro-Algae, In: *Manual on the production and use of live food for aquaculture*, Ed by: P. Lavens and P. Sorgeloos, FAO Fisheries Technical, pp. 7-43.
- Fox, J.M., 1983. Intensive algal culture techniques. In: CRC Handbook of mariculture. Volume 1. Crustacean Aquaculture. McVey J.P. (Ed.). CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA, pp. 43-69.
- Hallmann, A., 2007. Algal transgenics and biotechnology. Trans. Plant J. 1 (1), 81-98. ©2007 Global Science Books.
- 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.
- Horikoshi, T., Nakajima, A., and Sakaguchi, T., 1979. Uptake of uranium by *Chlorella regularis*. Agric. Biol. Chem. 43, 617-623.
- Kim, G.Y., Yun, Y.M., Shin, H.S., Kim, H.S., and Han, J.I., 2015. *Scenedesmus*-based treatment of nitrogen and phosphorus from effluent of anaerobic digester and bio-oil production, Bioresource Technology, 196, 235-240.

- Jacob, A., Xia, A., and Murphy, J.D., 2015. A perspective on gaseous biofuel production from micro-algae generated from CO₂ from a coal-fired power plant, *Applied Energy*, 148, 396-402.
- Jeanfils, J., Canisium, M.F., and Burlion, N., 1993. Effect of nitrate concentrations on growth and nitrate uptake by free-living and immobilized *Chlorella vulgaris* cells. *J. Appl. Phycol.* 5, 369-374.
- Martinez, M.R., Chakroff, C.L., and Pantastico, J.F., 1975. Direct phytoplankton counting techniques using the haemocytometer. *Phil Agri.* 55, 43-50.
- Mattos, E.R., Singh, M., Cabrera, M.L., and Das, K.C., 2015. Enhancement of biomass production in *Scenedesmus bijuga* high-density culture using weakly absorbed green light, *Biomass and Bioenergy*, 81, 473-478.
- Monteiro, C.M., Castro, P.M.L., and Xavier, F.X., 2009. Use of the microalga *Scenedesmus obliquus* to remove cadmium cations from aqueous solutions, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 25, 1573-1577.
- NOFDIANTO, 2011. Growth responses of algal periphyton to light and temperature. Research Center for Limnology, Indonesian Institute of Sciences. *Oceanologi dan Limnologi Di Indonesia.* 37, 155-169.
- Lavens, P., and Sorgeloos, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture, FAO Fisheries Technical Paper, No. 361, 295.
- Olaizola, M., 2003. Commercial development of microalgal biotechnology: From the test tube to the marketplace. *Biomol. Eng.* 20, 459-466.
- Pandey, J.P., Pathak, N., and Tiwari, A., 2009. Standardization of pH and Light Intensity for the Biomass Production of *Spirulina platensis*. *J. Algal Biom. Utiliz.* 1 (2), 93-102.
- Patnaik, R., and Mallick, N., 2015. Utilization of *Scenedesmus obliquus* biomass as feedstock for biodiesel and other industrially important co-products: An integrated paradigm for microalgal biorefinery, *Algal Research*, 12, 328-336.
- Pandey, J.P., Tiwari, A., Singh, S., and Tiwari, D., 2011. Potential of Different Light Intensities on the Productivity of *Spirulina maxima*, *J. Algal Biom. Utiliz.* 2 (3), 9-14.
- Piri, Z.M., and Ordag, V., 1997. Effect of some herbicides commonly used in Iranian agriculture on aquatic food chain. Thesis to the Hungarian academy of Science. pp. 9-30.
- Roesler, C.S., Etheridge, S.M., and Pitcher, G.C. 2004. Application of an ocean color algal taxa detection model to red tides in the Southern Benguela, pp. 303-305. In: Steidinger, K.A., Lansberg, J.H., Tomas, C.R., and Vargo, G.A. [eds.]. *Harmful Algae 2002*. Florida Fish and Wildlife Conservation Commission, Florida Institute of Oceanography and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO.
- Samuel, G.S., Sofi, M.Y., and Masih, S., 2010. Potential of different light intensities on the productivity of *Spirulina platensis* under agra conditions. *Res. J. Agric. Sci.* 1 (4), 468-469.
- Sharma, T., Gour, R.S., Kant, A., and Chauhan, R.S., 2015. Lipid content in *Scenedesmus* species correlates with multiple genes of fatty acid and triacylglycerol biosynthetic pathways, *Algal Research*, 12, 341-349.
- Sivonen, K., 1990. Effects of Light, Temperature, Nitrate, Orthophosphate and Bacteria on Growth and Hepatotoxin Production by *Oscillatoria agardhii* Strains. *Applied and environmental microbiology*, pp. 2658-2666.
- Southgate, P.C., Beer, A.C., and Ngaluafu, P., 2016. Hatchery culture of the winged pearl oyster, *Pteria penguin*, without living micro-algae, *Aquaculture*, 451 (2), 121-124.
- Tepe, Y., Naz, M., and Turkmen, M., 2006. Utilization of different nitrogen sources by cultures of *Scenedesmus acuminatus*. *Turk. J. Fish. Aqua. Sci.* 6, 123-127.
- 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.