مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر / ISSN: 2008-0026 سال نهم، شماره سوم، پاییز ۹٤ / صفحات: ۲۰-۱۲

افزایش تراکم سلولی جلبک *Dunaliella tertioletca* در محیط‌های کشت مختلف در شرایط آزمایشگاهی

*معصومه صفری غریب‌وند[۱] و سکینه ولی‌پور[۱]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، واحد علوم تحقیقات خوزستان، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۱٦ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/٦/۲۵

چکیده

بررسی افزایش تراکم سلولی جلبک تک‌سلولی *Dunaliella tertioletca* با استفاده از چهار محیط کشت مختلف Conway، Guillard، Sato و TMRL در شرایط یکسان از نظر میزان نور (۲۰۰۰ تا ۵۰۰۰ لوکس)، دما ۲۲/۵-۲٤ درجه سانتی‌گراد، شوری ۲۵ قسمت در هزار، pH برابر با ۸/۵ و هوادهی، به‌مدت ۱٦ روز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که از بین این چهار محیط کشت، بالاترین میزان افزایش تراکم سلولی در محیط کشت TMRL به‌دست آمده (P<۰/۰۵) و با مقادیر تراکم سلولی به‌دست آمده با محیط‌های کشت Conway و Guillard اختلاف معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵). ولی میزان افزایش تراکم سلولی این جلبک در کشت با محیط کشت Sato نسبت به سایر تیمارهای دیگر کم‌تر بود (P>۰/۰۵). در مجموع می‌توان نتیجه گرفت کرد که هر سه محیط کشت TMRL، Guillard و Conway برای کشت این گونه جلبک در شرایط آزمایشگاهی مناسب می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: افزایش تراکم سلولی، جلبک *Dunaliella tertioletca*، محیط‌های کشت مختلف

مقدمه

گونه‌های مختلفی از جلبک سبز تک‌سلولی .Dunaliella sp به‌عنوان غنی‌ترین منبع بتا کاروتن و اصلی‌ترین ماده غذایی در پرورش سخت‌پوستانی مانند .Artemia sp مورد توجه فراوان پژوهشگران قرار گرفته است (Amotz و همکاران، ۱۹۸۲؛ Lavens و Sorgeloss، ۱۹۹٦). این جلبک آب شور، به راحتی دامنه شوری ۱۰-۱۰۰ قسمت در هزار را تحمل می‌کند (Garrido و Canavate، ۲۰۰۰). امروزه در بسیاری از کشورهای جهان به‌صورت انبوه در تانک‌های پلی‌اتیلنی، استخرهای بتونی و خاکی به‌صورت کاملاً خالص و تجاری کشت داده می‌شود (Lavens و Sorgeloss، ۱۹۹٦).

Dunaleilla tertiolecta یک عضو مقاوم در برابر نور است که آب‌های شور را هم می‌تواند تحمل نماید. این تحمل بالا به‌دلیل وجود گلیسرول از نوع اسموتیکوم غالب بوده که آن را در برابر شوری بالا مقاوم ساخته است (Leoblich، ۱۹٦۹). جلبک دونالیلا دارای اهمیت اقتصادی بالایی می‌باشد زیرا برای تولید تجاری گلیسرول و رنگدانه محافظ در برابر نور B-carotene با حجم بسیار زیاد کشت می‌شود (Leland و Jahnke، ۲۰۰۳). علاوه بر آن، این جلبک اغلب در استخرهای استخراج نمک وجود دارد. ماده‌ای آلی که آزاد می‌کند بر نمک و کیفیت نمک اثر منفی گذاشته و منبع بزرگ تامین نیتروژن و کربن می‌باشد (Leland و Jahnke، ۲۰۰۳). اسکلت‌های کربنی دونالیلا می‌تواند یک عامل بسیار

* مسئول مکاتبه: m57safari@gmail.com

مهم برای آن باشد زیرا این جلبک یک بخش حیاتی از کربنش را در گلیسرول ذخیره می‌کند تا نمکی بودن زیاد محیط استخری خارجی را متعادل کند (Leland و Jahnke ۲۰۰۳).

جلبک دونالیلا به‌دلیل دارا بودن بتاکاروتن طبیعی و خاصیت آنتی‌اکسیدان آن اثر ضدسرطانی دارد. همچنین به‌دلیل وجود باکتری اسید لاستیک در آن دارای خصوصیت پروبیوتیک می‌باشد. این جلبک به‌عنوان رنگ طبیعی در صنایع غذایی و آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از بتاکاروتن برای بهتر کردن ظاهر محصولاتی مثل مارگارین، ماکارانی، روغن‌های نباتی هیدروژنه، پنیر، آب میوه‌ها، غذاهای پخته شده، محصولات کنسرو شده، شیرینی‌ها، ادویه‌ها و به‌صورت موضعی در فرمولاسیون مواد آرایشی استفاده می‌شود. این جلبک به‌عنوان منبع غذایی میگو، ماهی، صدف، خرچنگ و ... به‌کار می‌رود. به‌عنوان مکمل غذایی برای بهتر کردن باروری و سلامتی حیوانات استفاده می‌شود. در این آزمایش از چهار محیط کشت مختلف استفاده شده است. به‌منظور پیدا کردن محیط کشت مناسب برای کشت و پرورش این گونه با چهار نوع محیط کشت استاندارد در دسترس (گیلارد F/2 (که مورد استفاده در بسیاری از مطالعات و پرورش‌های تجاری بود)، SATO، CONWAY و TMRL) (Lavens و Sorgeloos، ۱۹۹۶) استفاده شده است. مناف‌فر و همکاران (۱۳۸٤)، در پژوهشی که در زمینه استفاده از عصاره دانه گیاه *Azadirachta indica* علیه مژکداران تک‌سلولی مهاجم در محیط پرورش متراکم جلبک تک‌سلولی *Dunaliella tertioletca* انجام داده‌اند، مشاهده کردند که عصاره، در دوزهای بالاتر از ٥-٤ میلی‌گرم در لیتر در ٢٤ ساعت توانایی حذف کامل آلودگی و ترمیم توده جلبک آلوده را دارد، در حالی‌که در همین دوز بازماندگی توده جلبکی بیش از ۸۰ درصد می‌باشد. در نهایت بررسی تأثیر طولانی‌مدت عصاره بر روی نمونه آلوده شده نشان داد، که این عصاره در ۷۲ ساعت هیچ تاثیر منفی بر توده جلبکی نداشته است. با توجه به خواص جلبک *Dunaliella tertioletca*، بررسی اثرات افزایش تراکم سلولی جلبک تک‌سلولی *Dunaliella tertioletca* با استفاده از چهار محیط کشت مختلف Conway، Guillard، Sato و TMRL در شرایط یکسان هدف این پژوهش قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمایش: این آزمایش در آزمایشگاه دانشگاه جامع علمی کاربردی اهواز انجام شده است.

محیط کشت و ترکیبات: در این پروژه کشت جلبک *Dunaliella tertioletca* در ٤ محیط کشت کانوی (Conway)، گیلارد (Guillard)، ساتو (Sato) و TMRL مورد آزمایش قرار گرفت که هر یک از این محیط‌ها ترکیبات خاص خود را دارند.

تیماربندی

تیمار A: Conway در ۳ تکرار

تیمار B: Guillard در ۳ تکرار

تیمار C: Sato در ۳ تکرار

تیمار D: TMRL در ۳ تکرار

تهیه استوک جلبک *Dunaliella tertioletca*: با توجه به‌میزان جلبک مصرفی در هر یک از کشت‌ها حداقل ۱۲۰۰ میلی‌لیتر جلبک مادر برای تلقیح لازم بود که برای تهیه این مقدار از ۲ هفته قبل از شروع کار اصلی، مقدار ۲ لیتر جلبک کشت داده شده است.

دستورالعمل آزمایش: بعد از آماده کردن محیط آزمایشگاهی و تنظیم دمای محیط و محیط‌های کشت لازم، اکنون باید آب شور ۲۵ قسمت در هزار آماده گردد. به این منظور ۲۵ گرم نمک دریا را در یک لیتر آب حل کرده و با استفاده از شوری‌سنج از میزان

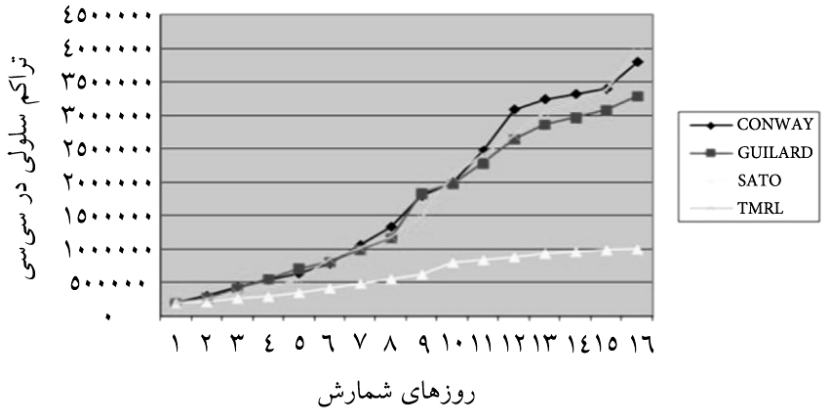
شوری آب مطمئن شده و با استفاده از قیف داخل بطری‌های پلاستیکی شفاف که از قبل آماده شده اضافه گردیدند. برای انجام پژوهش در هر یک از بطری‌های پلاستیکی (در مجموع ۱۲ بطری شفاف پلاستیکی)، آب با شوری ۲۵ قسمت در هزار ریخته شده است. برای تولید آب با شوری ۲۵ قسمت در هزار، در ۱۲ لیتر آب مقطر ۳۰۰ گرم نمک دریا ریخته و کاملاً آن را حل می‌نماییم. از ۹۰۰ سی‌سی آب شور و ۱۰۰ سی‌سی استوک *Dunaleilla tertialecta* پر گردید. بعد شیلنگ‌های هواده متصل به پمپ هواده را داخل بطری‌ها گذاشته (یک شیلنگ در هر بطری) و با استفاده از سیستم هوادهی ۲٤ ساعته و نور دائمی مهتابی و دمای بین ۲۲-۲٤ درجه سانتی‌گراد کشت‌ها نگهداری شده و روزانه شمارش و بررسی انجام گردید (Lavens و Sorgeloos، ۱۹۹٦).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱٦ برای آنالیز داده‌ها استفاده گردید. از تست ANOVA یک‌طرفه و آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ برای بررسی معنی‌دار بودن تفاوت میانگین تیمارها استفاده شده است.

نتایج

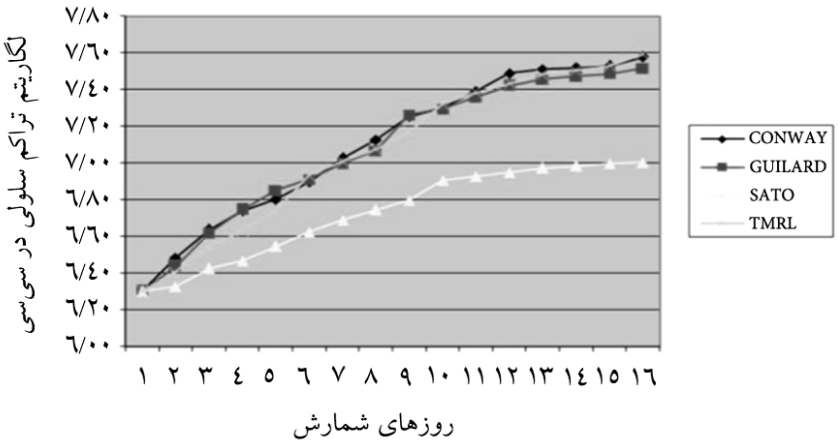
طبق نمودار لگاریتمی افزایش تراکم سلولی جلبک دونالیلا در تیمارهای مختلف جلبک‌های کشت داده شده در محیط کشت TMRL فاز القا را در مدت ۱۲ ساعت اولیه پشت سر گذاشته و به محیط کشت جدید آداپته شده و شروع به سیر صعودی افزایش تراکم سلولی نموده است. مرحله رشد لگاریتمی خود را نیز در مدت ۷ روز اول به سرعت طی نموده و همچنان سیر صعودی افزایش تراکم را داشته و تا روز ۱۲ به حداکثر رشد تراکم سلولی خود رسیده و بعد از این به‌دلیل محدود شدن مواد مغذی- نور- pH، دی اکسید کربن و دیگر فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی رشد سلول‌ها (افزایش تراکم سلولی) کاهش یافته و تقریباً به‌میزان ثابتی از تراکم سلولی رسیدند. البته در روز ١٤ کشت، دوباره شروع به افزایش تراکم سلولی نموده و همچنان بر تراکم سلول‌ها افزوده شده و سلول‌های موجود در محیط کشت کانوی هم دوره‌های رشدی خود را با تفاوت اندکی کم‌تر از سلول‌های موجود در محیط کشت TMRL گذرانده و در روز ١٤ کشت دوباره شروع به افزایش تراکم سلولی کرده است. سلول‌های موجود در محیط کشت گیلارد هم تفاوت معنی‌داری با محیط‌های کشت کانوی و TMRL نداشته و تقریباً محورهای مشابهی را از رشد و تراکم سلولی داشته و دوره‌های تقریباً مشابهی را گذرانده و هر سه محیط کشت از تراکم جلبکی تقریباً یکسانی برخوردار بوده و مرحله کاهش نسبت رشد، در هر سه محیط تفاوت معنی‌داری نداشته است (P>۰/۰۵). هر سه محیط از روز ۱۱ به بعد وارد مرحله سکون یا ایستایی شدند. اما جلبک‌های موجود در محیط کشت SATO از نظر نمودار لگاریتمی اختلاف معنی‌داری (P≤۰/۰۵) با سه محیط کشت قبلی (Guillard f/2 - TMRL - Conway) در تراکم سلولی داشته و مرحله فاز القاء را به کندی گذرانده و رشد صعودی بسیار پایینی نسبت به سه محیط قبلی (Guillard - TMRL - Conway) داشته‌اند. حداکثر رشد و تراکم سلولی جلبک‌های محیط کشت SATO در روز ۱۰ تا ۱۳ بوده و بعد از آن تا روز ١٦ کشت به مرحله ساکن یا ایستا رسیده و تعداد سلول‌ها ثابت مانده و افزایش تراکم در سلول‌های مشاهده نشده است.

نمودار افزایش تراکم سلولی در جلبک دونالیلا در تیمارهای مختلف



شکل ۱- روند افزایش تراکم سلولی در جلبک دونالیلا در تیمارهای مختلف محیط کشت.

نمودار لگاریتمی افزایش تراکم سلولی جلبک دونالیلا در تیمارهای مختلف



شکل ۲- نمودار لگاریتمی افزایش تراکم سلولی جلبک دونالیلا در تیمارهای مختلف محیط کشت.

آنالیز آماری تراکم‌های سلولی در روزهای مختلف کشت

آنالیز روز ششم کشت طبق جدول آنالیز واریانس یک‌طرفه: طبق نتایج به‌دست آمده از آنالیز واریانس یک‌طرفه میانگین‌های تیمارهای مختلف برای روز ششم بالاترین میزان تراکم سلولی جلبک دونالیلا با استفاده از تیمار ٤ (محیط کشت TMRL) به‌دست آمد (۸/۵۳±۲/۱۵ میلیون سلول در سی‌سی). این میزان با مقادیر به‌دست آمده برای تیمار ۱ (محیط کشت *Conway*) (۷/۸۸±۰/۷٤ میلیون سلول در سی‌سی) و تیمار ۲ (محیط کشت f/2 گیلارد) (۸/۱۵±۲/۲۲ میلیون سلول در سی‌سی) اختلاف معنی‌دار آماری نداشت (P>۰/۰۵). ولی با مقدار به‌دست آمده برای تیمار ۳ (محیط کشت Sato) (٤/۲۲±۰/۸٦ میلیون سلول در سی‌سی) اختلاف معنی‌دار داشته (P≤۰/۰۵) است. این در حالی است که تراکم سلولی به‌دست آمده برای محیط کشت ساتو با مقادیر تراکم سلولی در محیط‌های کشت

کانوی و f/2 گیلارد تفاوت معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵). روز ششم کم‌ترین میزان تراکم سلولی را محیط کشت Sato با میزان (۰/۸٦±٤/۲۲ میلیون سلول دونالیلا در سی‌سی) داشته و بیش‌ترین میزان تراکم سلولی را محیط کشت (TMRL) با میزان سلول (۲۱۵±۸/۵۳ میلیون سلول جلبک دونالیلا در سی‌سی) داشته است.

آنالیز روز دوازدهم کشت طبق جدول آنالیز واریانس یک‌طرفه: طبق نتایج به‌دست آمده از آنالیز واریانس یک‌طرفه میانگین‌های تیمارهای مختلف، (محیط کشت ت م ر ل) برای روز دوازدهم بالاترین میزان تراکم سلولی جلبک‌های دونالیلا ترتیولتکا را تیمار ۱ (محیط کشت کانوی) با میزان (۷/۰۹±۳۰/۸۳ میلیون سلول در میلی‌لیتر سی‌سی) که این میزان تراکم سلولی به‌دست آمده با تیمارهای ۲ و ٤ که (محیط کشت تیمار ۲ f/2 گیلارد[1] و (محیط کشت تیمار ٤ (ت م ر ل)[2]) می‌باشد و مقادیر هر کدام به‌ترتیب تیمار ۲ (٤/۹۵±۲٦/٤۳ میلیون سلول در میلی‌لیتر سی‌سی) و تیمار ٤ (٤/۸۲±۲۷/۰۳ میلیون سلول در میلی‌لیتر سی‌سی) بوده اختلاف معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵) ولی با مقایر به‌دست آمده برای تیمار ۳ (محیط کشت ساتو[3]) و میزان (۰/۹۵±۸/۸۷ میلیون سلول در میلی‌لیتر) اختلاف معنی‌داری داشته است (P≤۰/۰۵) و روز دوازدهم کم‌ترین میزان تراکم سلولی را تیمار ۳ (محیط کشت ساتو با مقادیر ۰/۹۵±۸/۸۷ میلیون سلول در میلی‌لیتر) داشته و بیش‌ترین میزان تراکم سلولی را تیمار ۱ (محیط کشت کانوی[4] با مقادیر ۷/۰۹±۳۰/۸ میلیون سلول در میلی‌لیتر سی‌سی) داشته است.

آنالیز روز شانزدهم کشت طبق جدول آنالیز واریانس یک‌طرفه: طبق نتایج به‌دست آمده از آنالیز واریانس یک‌طرفه میانگین تیمارهای مختلف برای روز شانزدهم کشت بالاترین میزان تراکم سلولی جلبک دونالیلا را تیمار ٤ (محیط کشت ت م ر ل) با مقادیر ٤/٦۹±۳۹/٤۰ میلیون سلول در میلی‌لیتر سی‌سی) داشته که این میزان با مقادیر به‌دست آمده برای تیمار ۱ (محیط کشت کانوی[5]) با تراکم سلولی (۱۲/۲۳±۳۷/۹۰ میلیون سلول در میلی‌لیتر) و تیمار ۲ (محیط کشت f/2 گیلارد[6]) با تراکم سلولی (۲/۹٦±۳۲/۸۷ میلیون سلول در میلی‌لیتر) اختلاف معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵) ولی با مقادیر به‌دست آمده برای تیمار ۳ (محیط کشت ساتو) با تراکم سلولی (۲/۹۲±۱۰/۰۳ میلیون سلول در میلی‌لیتر) اختلاف معنی‌دار داشت (P≤۰/۰۵) و در روز شانزدهم به‌طورکلی بالاترین میزان تراکم سلولی جلبک دونالیلا را تیمار ٤ محیط کشت (TMRL) با مقادیر (۵/٦۹±۳۹/٤۰ میلیون سلول در میلی‌لیتر) داشته و کم‌ترین میزان تراکم سلولی جلبک دونالیلا را تیمار ۳ محیط کشت Sato با مقادیر (۲/۹۲±۱۰/۰۳ میلیون سلول در میلی‌لیتر) داشته است که در اواخر این دوره به مرحله crash یا مرگ سلول‌ها رسیده‌اند.

1- *Guillard* f/2
2-*TMRL*
3- Sato
4- Conway
5- Conway
6- Guillard

جدول ۱- آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) میانگین‌های به‌دست آمده در تیمارهای مختلف محیط‌های کشت جلبک دونالیلا.

تیمار	روز ششم	روز دوازدهم	روز شانزدهم
Conway: 1	۷/۸۸±۰/۷٤^{ab}	۳۰/۸۳±۷/۰۹^{a}	۳۷/۹۰±۱۲/۲۳^{a}
Guillard:2	۸/۱۵±٤/۹۵^{ab}	۲٦/٤۳±٤/۹۵^{a}	۳۲/۸۷±۲/۹٦^{a}
Sato:3	٤/۲۲±۰/۸٦^{b}	۸/۸۷±۰/۹۵^{b}	۱۰/۰۳±۲/۹۲^{b}
TMRL:4	۸/۵۳±۲/۱۵^{a}	۲۷/۰۳±٤/۸۲^{a}	۳۹/٤۰±۵/٦۹^{a}

SD ± میانگین: اعداد در یک ستون با حروف متفاوت با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند (P≤۰/۰۵).

بحث

هدف از این پژوهش، یافتن بهترین محیط کشت برای کشت و پرورش جلبک *Dunaliella tertioletca* بود که نتایج نشان‌دهنده این بود که کشت این گونه جلبک حداقل در سه محیط کشت کانوی، گیلارد و TMRL در محیط آزمایشگاهی امکان‌پذیر است. این امر به‌ویژه در مورد محیط کشت TMRL که محیط کشت به‌نسبت ارزان‌قیمتی است و عموماً در محیط‌های بیرون از آزمایشگاه به‌منظور کشت انبوه ریزجلبک‌ها از آن استفاده می‌شود دارای اهمیت است. در محیط کشت TMRL در شرایط بیرون از آزمایشگاه (کشت‌های انبوه بیرونی) از ویتامین استفاده نمی‌شود زیرا در شرایط بیرونی تایش نور خورشید باعث می‌شود که ویتامین مورد نیاز جلبک تامین شود ولی در شرایط آزمایشگاهی به‌منظور ایجاد شرایط یکسان برای همه تیمارها و نبود نور خورشید از ویتامین استفاده شد. نمودار ۱ نشان‌دهنده روند افزایش تراکم سلولی این جلبک در روزهای مختلف پرورش است، همان‌طورکه از نمودار قابل مشاهده است، این گونه جلبک در سه محیط کشت ذکر شده تقریباً در کل دوره روند رشد به‌نسبت مشابه‌ای را داشته است و در اواخر دوره رشد، جلبک دونالیلا در کشت‌های حاوی دو محیط کشت کانوی و TMRL تا حدودی افزایش تراکم سلولی بیش‌تری نسبت به کشتی که در آن از محیط گیلارد استفاده شده بود از خود نشان داد. همان‌طورکه از نمودار مشهود است کشت‌های جلبکی که در آن‌ها از محیط کشت SATO استفاده شده بود در کل دوره کشت به‌طور معناداری (P>۰/۰۵) از تراکم سلولی پایین‌تری نسب به کشت‌های دیگر برخوردار بودند و سیر صعودی قابل‌توجهی نداشته است واز روز هفتم کشت نیز تقریباً به مرحله ایستا رسیده است که این امر نشان‌دهنده این موضوع است که این محیط برای رشد این گونه جلبک مناسب نبوده است و برای رسیدن به حداکثر افزایش تراکم سلولی جلبک *Dunaleilla tertialecta* نمی‌توان محیط کشت ساتو را محیط مناسبی تلقی کرد و به هیچ وجه قابل رقابت با سه محیط کشت دیگر نیست. از آن جهت که در طی این پروژه تفاوت معنی‌داری از نظر افزایش تراکم سلولی جلبک دونالیلا ترتیو لتکا در این محیط کشت (Sato) با سه محیط کشت دیگر (TMRL-Guillard-Conway) مشاهده شد. بقه و

همکاران (۲۰۰۷) دریافتند که بهترین شوری و محیط برای کشت و پرورش جلبک نانوکلروپسیس اوکولاتا، محیط کشت Conway و شوری ۲۰ قسمت در هزار بوده است که بعد از شش روز بالاترین تراکم سلولی را مشاهده کرده‌اند، هر چند این میزان با تراکم‌های سلولی به‌دست آمده برای شوری‌های ۲۵ و ۳۰ قسمت در هزار اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردیده است (P>۰/۰۵). این امر نشان‌دهنده این موضوع بود که برای کشت این گونه جلبک می‌توان از محیط کشت کانوی در شوری‌های ۲۰ تا ۳۰ قسمت در هزار استفاده کرد. با توجه به اختلاف معنی‌داری که در سه محیط کشت کانوی (TMRL) و گیلارد از نظر تراکم سلولی با محیط کشت ساتو مشاهده گردیده است (P≤۰/۰۵)، توجه به این‌که بیش‌ترین مقدار تراکم سلولی جلبک دونالیلا در محیط کشت ساتو مشاهده شده است، این امر نشان می‌دهد که محیط کشت ساتو برای کشت جلبک دونالیلا ترتیولتکا به‌منظور داشتن حداکثر تراکم سلولی جلبک، محیط کشت مناسبی نبوده است و با کشت جلبک در محیط کشت Sato نمی‌توان به‌میزان مناسبی از تراکم سلولی این جلبک رسید. با افزایش تراکم سلولی جلبک دونالیلا در تیمارهای مختلف مشاهده شده که جلبک‌های کشت داده شده در محیط کشت TMRL بالاترین مقدار تراکم سلولی (روز شانزدهم کشت) را داشته است که با محیط کشت کانوی و گیلارد از نظر افزایش تراکم سلولی جلبک اختلاف معنی‌داری نداشته است (P>۰/۰۵) و این امر نشان داد که:

- هر سه محیط کشت کانوی، گیلارد، TMRL برای کشت جلبک *Dunaliella tertiolecta* مناسب بوده است (البته در محیط کشت TMRL در شرایط آزمایشگاهی به‌دلیل نبود نور خورشید در تولید ویتامین و حفظ شرایط یکسان برای کل تیمارها از محلول ویتامین کامل استفاده شده است.
- بالاترین میزان تراکم سلولی جلبک دونالیلا ترتیولتکا در تیمارهای حاوی محیط کشت TMRL با همان میزان ویتامینی که برای باقی کشت‌ها استفاده شده دیده شده است.

منابع

مناف‌فر، ر.، رامین، م.، و آتشبار، ب.آق‌ن.، ۱۳۸٤. استفاده از عصاره دانه گیاه *Azadirachta indica* علیه مژکداران تک‌سلولی مهاجم در محیط پرورش متراکم جلبک تک‌سلولی، مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، شماره ۷۱.

Amotz, A., Katz, A., and Auron, M., 1982. Accumulation of â-carotene in falotolerant Algae: Purification and characterization of â-carotene rich globules from Dunaliella bardawil (chlorophyceae). Israel J. Phycol. 18, 529-557.

Garrido, M., and Canavate, J.P., 2000. Assessing chemical compounds for controlling predator ciliates in outdoor mass cultures of the green algae Dunaliella salina. J. Aqua Cul. Engin. Elsevier Sci. pp. 107-114.

Lavens, P., and Sorgeloss, P., 1996; Manual on the Production and use of live food for Aquaculture. Laboratory of Aquaculture and Artemia Reference Center, University of Ghent Belgium, Published FAO.

Leland, S., and Jahnke, A.L.W. 2003. Long term hyposaline and hypersaline stresses produce distinct antioxidant responses in the marine alga Dunaliella tertiolecta. J. Plant Physiol. 160, 1193-1202.

Leoblich, L.A., 1969. Aplanospores of Dunaliella salina (Chlorophyta). J. Protozool. pp. 22-23.

Pagheh, E., Ghafle Marammazi, J., and Zabayeh Najafabadi, M., 2007. Effect of Salinity and culture media on theconcentration increasment of N. oculata algae. The Arabian seas international conference on science and technology of aquaculture, fisheries and aceanography. 10-13 Feb. 2007.

Journal of Fisheries, Islamic Azad University, Azadshahr Branch
Vol. 9, No. 3, November 2015

Increasing cell density for *Dunaliella tertiolecta* in different cultivation mediums

***M. Safari Gharibvand[1] and S. Valipour[1]**
[1]M.Sc. Student, Dept. of Fisheries, Khoozestan Sciences and Research Branch,
Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

Abstract

In this study, increase of cell density of *Dunaliella tertioletca* was evaluated by four cultivation mediums including Conway, Guillard, Sato and TMRL mediums in the same conditions, including the amount of light 2000 to 5000 lux, temperature at 22.5-24 degrees Celsius, salinity 25 ppt, pH 8.5 and the same 24-hour aeration for 16 days. The results showed that among the four mediums with different chemical components, the highest rate of increase in cell density obtained in TMRL medium ($P<0.05$), although the cell density rates that obtained in Conway and Guillard medium were not different significantly ($P>0.05$), but increase of cell density in algae in Sato medium was less than the other treatments ($P>0.05$). Therefore, we can pull a result that Guillard, TMRL and Conway mediums are suitable for increase of cell density in this algae species in vitro, although TMRL medium usually is used for outdoor algae cultivations.

Keywords: Increasing of cell density; *Dunaliella tertioletca*; Different cultivation mediums

* Corresponding Authors; Email: m57safari@gmail.com