نشریه فن‌آوری‌های نوین در توسعه آبزی‌پروری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر/ ISSN: 2008-0026 سال چهاردهم، شماره چهارم، زمستان ۹۹/صفحات: ۵۴-۴۶

تأثیر بی‌کربنات سدیم بر رشد میکروجلبک سندسموس (*Scenedesmus* sp.) در محیط کشت TMRL (AG)

علی گنجیان‌خناری[1*]، متین شکوری[2]، مریم قاسم‌نژاد[3]، فاطمه گنجیان‌خناری[3]، معصومه خسروی[4]، محمدوحید فارابی[4]

[1] پژوهشکده اکولوژی دریای خزر و گروه پژوهشی شیلات و آلاینده‌های آبی خزر، ساری، ایران

[2] عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران

[3] گروه پژوهشی شیلات و آلاینده‌های آبی خزر، ساری، ایران

[4] پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۳/۱۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۸/۱

چکیده

منبع کربن یک عامل ضروری برای رشد میکروجلبک‌ها محسوب می‌شود، بنابراین برای افزایش تولید انبوه، تامین کربن یکی از مراحل مهم در رشد و نمو میکروجلبک‌ها می‌باشد. در این مطالعه اثر بی‌کربنات سدیم ($NaHCO_3$) بر رشد میکروجلبک سندسموس در محیط کشت TMRL(AG) مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور از ۴ غلظت بی‌کربنات سدیم $NaHCO_3$ (۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ در میلی‌لیتر) در محیط کشت TMRL(AG) طی ۱۳ روز استفاده گردید. نتایج به‌دست آمده با غلظت‌های مختلف بی‌کربنات سدیم که به محیط کشت TMRL(AG) اضافه شده نشان داد که تیمار سوم با غلظت ۷/۵ میلی‌لیتر، بیشترین رشد را در روز سیزدهم به‌میزان ۲۳۸×۱۰^{۵} تعداد سلول در میلی‌لیتر داشت. محاسبه نرخ رشد و ضریب رشد ویژه نشان داد رشد سریع‌تر میکروجلبک سندسموس در محیط کشت تیمار سوم به‌ترتیب برابر با ۱/۵۶و ۰/۱۱ بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده استفاده از بی‌کربنات سدیم در محیط کشت معمولی و ارزان قیمت TMRL(AG) برای تولید انبوه میکروجلبک سندسموس و به‌عنوان محیط کشت اصلاح شده میکروجلبک سندسموس توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: میکروجلبک سندسموس، بی‌کربنات سدیم، TMRL(AG)، *Scenedesmus* sp.

مقدمه

میکروجلبک‌ها گروه بسیار متنوع از میکروارگانیسم‌ها هستند که بیش‌تر تک‌سلولی، رنگارنگ، فتواتوتروفیک (Photoautotrophic) و به‌عنوان تولیدکننده بزرگ اقیانوسی و آب شیرین هستند (Olaziola، ۲۰۰۳؛ Hoa و همکاران، ۲۰۱۱). جلبک‌ها در دنیای امروز مصارف و کاربردهای فراوانی دارند. در بسیاری از کشورها، جلبک‌ها بخش عمده‌ای از اقتصاد را تشکیل داده و ارقام بزرگی از صادرات آن‌ها به‌وسیله جلبک‌ها تامین می‌شود. 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). تغذیه مناسب و تامین نیازهای غذایی آبزیان نقش اساسی را در دست‌یابی برنامه‌های تولید انبوه بچه‌ماهی و میگو و افزایش بازدهی آن به عهده دارند. میکروجلبک‌ها نه تنها نقش مهمی را در تکثیر و پرورش آبزیان به‌عنوان یک منبع غذایی دارند، بلکه

* مسئول مکاتبه: aganjian2002@yahoo.com

نقش به‌سزایی نیز به همراه باکتری‌ها در تعادل اکسیژن و دی‌اکسیدکربن در محیط تکثیر و پرورش ایفا می‌نمایند. غذای زنده به دلایل مختلف از جمله دارا بودن اسیدهای آمینه آزاد، اسیدهای چرب غیراشباع EPA و DHA، هضم‌پذیری سریع و آسان، نیاز نداشتن به هضم پیشرفته و مقادیر مناسب پروتئین محلول از اهمیت بالایی برخوردار است (Beckerm، ۲۰۰۴؛ Hallmann، ۲۰۰۷). میکروجلبک‌ها علاوه‌بر پروتئین و لیپید، سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع، ویتامین B_6، پیش‌ساز ویتامین B_{12} (متیل‌کوبالامین) و اسپوروپولین (کاهش سمیت نوروتوکسین‌ها و فلزات سنگین) می‌باشد. از مهم‌ترین خواص بالینی جلبک‌ها می‌توان به کاهش کلسترول در خون و کبد، کاهش فشار خون، دیابت، جلوگیری از پوکی استخوان، بهبود یبوست، زخم معده و کم‌خونی اشاره نمود. همچنین عملکرد مفید جلبک‌ها در بهبود و تقویت سیستم ایمنی، کاهش آلرژی، کند شدن روند رشد تومورهای سرطانی و کاهش عملکرد ویروس‌ها به اثبات رسیده است. کلروفیتا یا جلبک‌های سبز به‌علت فراوانی گونه‌ها و پراکندگی آن‌ها یکی از گروه‌های عمده جلبک‌ها می‌باشند (Bold و Micheal، ۱۹۸۵).

جنس سندسموس در زمینه‌های مختلف لیمنولوژی معادل موش‌های رت آزمایشگاهی مطرح بوده و کاربرد فراوانی در علوم تحقیقاتی دارند. این جلبک‌ها معمولاً به‌عنوان میکروارگانیسم‌های استاندارد در بسیاری از پژوهش آبی، تکنولوژی و مدیریت آب‌ها مطرح هستند (Zachleder و همکاران، ۱۹۸۶). این جنس از جلبک‌ها، یکی از پرطرفدارترین منابع غذایی در آزمایش‌ها و کشت زئوپلانکتون‌های گیاه‌خوار هستند (Boersma و Vijverberg، ۱۹۹۵). سندسموس به‌عنوان یک گونه تجاری مهم برای حذف برخی کاتیون‌های سمی مثل کادمیوم از منابع آبی کاربرد دارد (Monteiro و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین، از جلبک‌های تک‌سلولی به‌دلیل داشتن مقادیر بالای اسیدهای چرب، برای تولید سوخت طبیعی و حتی در تغذیه زئوپلانکتون‌هایی مثل روتیفرها و دافنی‌ها استفاده می‌شود. برای مثال؛ اثر *Brachionus quadridentatus* روی تغذیه روتیفر انجام شد، هارمن و مولر (۱۷۸۳) استفاده از انواع جلبک‌های تک‌سلولی به همراه ۳ نوع جلبک را نشان داد که رشد روتیفر تغذیه شده با جلبک *Scenedesmus quadricauda* به‌طور معنی‌داری بهتر از دیگر انواع جلبک‌های تک‌سلولی است (Ajah، ۲۰۱۰). لازم به ذکر است، تاکنون ۱۷۱ گونه از جلبک‌های تک‌سلولی جنس سندسموس شناسایی شدند (عسل‌پیشه، ۱۳۹۱). میکروجلبک‌ها از منابع مختلف، CO_2 مصرفی خود را تامین می‌کنند: CO_2 از اتمسفر، دودکش‌های صنعتی، فرم محلول شده کربنات‌ها ($NaHCO_3$ ،$_3Na_2CO_3$) که می‌توان به‌طور مستقیم برای تغذیه میکروجلبک‌ها استفاده کرد (Wang و همکاران، ۲۰۰۸). بنابراین برای افزایش محصول در تولید انبوه تامین کربن یکی از مراحل مهم در رشد میکروجلبک می‌باشد. تحمل CO_2 در گونه‌های مختلف، متفاوت می‌باشد (جدول ۱). با توجه به کاربرد بسیار وسیع و ارزش اقتصادی، میکروجلبک‌ها و مصارف آن‌ها در صنایع مختلف، بررسی تنوع گونه‌ای میکروجلبک‌های بومی منطقه و ارزیابی کشت و تولید صنعتی، بررسی ارزش غذایی و یافتن کاربرد آن‌ها در صنایع مختلف می‌تواند بنیادی‌ترین پژوهش در آغاز صنعتی شدن کشت و پرورش میکروجلبک‌ها باشد. براساس مطالعات انجام شده منابع آبی داخلی منبع بسیار مهم و سرشار از میکروجلبک‌ها هستند و در دریای خزر بیش از ۳۳۴ گونه از ۸ شاخه فیتوپلانکتون مورد شناسایی قرار گرفته است (Ganjian و همکاران، ۲۰۱۰؛ Ganjian، ۲۰۱۱). محیط کشت (مواد مغذی) فیتوپلانکتون 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، مواد مغذی نقش بسیار مهمی را در کنترل تولیدات اولیه بازی می‌کنند. توجه به هزینه بالای تولید محیط کشت، می‌توان تغییراتی را در نوع محیط کشت مورد استفاده میکروجلبک‌ها ایجاد نمود که علاوه‌بر کم کردن هزینه‌ها، راندمان تولید را نیز افزایش داد. هدف از این پژوهش به‌دست آوردن مناسب‌ترین غلظت بی‌کربنات سدیم برای بالا بردن زی‌توده میکروجلبک سندسموس می‌باشد.

جدول ۱- تحمل CO_2 در گونه‌های مختلف.

گونه	حداکثر غلظت CO_2 (درصد)	منبع
Cyanidium caldanum	۱۰۰	*Seckbach* et al., 1971
Scenedesmus sp.	۸۰	*Hanagta* et al., 1992
Chlorococcus littorale	۶۰	*Kodama* et al., 1993
Chlorococcum elongates	۶۰	Miyairi, 1997
Euglena gracilis	۴۵	*Nakano* et al., 1996
Chlorella sp.	۴۰	Hanagta, 1992
Eudorina sp.	۲۰	Hanagta, 1992
Dunaliella tertiolecta	۱۵	*Nagase* et al., 1998
Nannochloris sp.	۱۵	*Yoshihara* et al., 1996
Chlamydomonas sp.	۱۵	*Miura* et al., 1993
Tetraselmis sp.	۱۴	*Mtsumoto* et al., 1995

Source, Mark E. Huntley (University of Hawaii) and Donald G. Redalje (University of Southern Mississippi). (*Devgoswami* et al., 2012).

مواد و روش‌ها

پس از ساخت محیط کشت TMRL(AG) ($Fecl_3$) (۱ گرم)، NaH_2Po_4 (۵ گرم) و ازت (۵۰ گرم))، ۱۰سی‌سی استوک خالص شده میکروجلبک سبز *Scenedesmus* sp.، به ارلن‌های ۲۵۰ سی‌سی تزریق شد و در یک اتاق کشت استریل با دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و با شدت نور ۳۵۰±۳۵۰۰ لوکس و پریود نوری یا دوره روشنایی (L) و تاریکی (D) توسط تایمر اتوماتیک به‌صورت تناوب (۱۲/۱۲):(L/D) ساعت تنظیم گردید (گنجیان، ۱۳۸۹). هوادهی ارلن ۲۵۰ سی‌سی شامل میکروجلبک موجود در محیط کشت TMRL(AG) در هر میز با استفاده از دستگاه پمپ آکواریوم انجام شد. بعد از رسیدن به تراکم مورد نظر، ۴ تیمار با افزودن غلظت‌های مختلف بی‌کربنات سدیم ($NaHCO_3$) (۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌لیتر) و یک تیمار شاهد مورد آزمایش قرار گرفت (جدول ۲). برای هر تیمار، ۳ تکرار در نظر گرفته شد و شمارش تعداد سلول‌های میکروجلبک‌ها ۵ بار در طی ۱۳ روز با میکروسکوپ نوری و لام نئوبار آینه‌ای انجام گردید.

تعداد واقعی سلول‌های جلبک در هر تیمار و در هر روز با استفاده از رابطه زیر به‌دست آمد (Masoudi-Asil و Ismaili-Fereydoni، ۲۰۰۹):

رقت×۱۰× میلی‌مترمربع/ سلول‌ها= میلی‌مترمکعب/ سلول‌ها

(میلی‌مترمربع) وسعت شمارش شده/ میانگین سلول‌های شمارش شده= میلی‌مترمربع/ سلول‌ها

۱۰۰۰×رقت ×۱۰×۵× میانگین تعداد سلول شمارش شده= ML= یک سی‌سی

ضریب رشد ویژه، سلولی میکروجلبک: برای محاسبه سرعت رشد (ضریب رشد ویژه) (μ) Specific Growth Rate (SGR) در روزهای مختلف از رابطه زیر استفاده شد (Masoudi-Asil و Ismaili-Fereydoni، ۲۰۰۹):

$$\mu = K' = Ln(m_{t_2}/m_{t_1})/t_2 - t_1; t_2 > t_1$$

که در آن، m_1= زی‌توده در آخرین روز و m_1= زی‌توده در اولین روز، t_1= اولین روز و t_2= آخرین روز.

درصد رشد سلولی میکروجلبک: محاسبه درصدی افزایش تعداد سلول‌ها از اولین روز تا آخرین روز با استفاده از رابطه زیر محاسبه می‌شود.

$$k=3.32\times1.t\times(Log\ N_t - Log\ N_o)$$

که در آن، K= نرخ رشد، N_0= تعداد سلول‌های اولیه در زمان شروع آزمایش، t= زمان (روزها)، N_t= تعداد سلول‌ها در زمان t.

جدول ۲- غلظت میزان مصرف $NaHCO_3$ (بی‌کربنات سدیم) در تیمارهای مختلف.

تیمارها	غلظت مصرفی (سی‌سی)
شاهد	بدون کربنات سدیم
T_1	۲/۵
T_2	۵
T_3	۷/۵
T_4	۱۰

شمارش میکروجلبک سندسموس در محیط کشت TMRL(AG) با تیمارهای مختلف: تغییرات میکروجلبک سندسموس در محیط کشت TMRL(AG) با غلظت‌های مختلف بی‌کربنات سدیم طی ۱۳ روز در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. شمارش اولیه انجام شد و بعد از گذشت ۷ روز، شمارش‌های بعدی هر دو روز یک بار و در مجموع ۵ بار شمارش از نمونه‌ها انجام شد. طرح کلی این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی و همه اطلاعات ثبت شده در انتهای آزمایش به‌وسیله آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست چنددامنه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همه عملیات مربوطه به‌وسیله نرم‌افزار SPSS ۱۸ مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج

شمارش روزانه میکروجلبک سندسموس در غلظت‌های مختلف بی‌کربنات سدیم: میانگین و انحراف معیار و ضریب تغییرات میکروجلبک سندسموس طی ۱۳ روز کشت در جدول ۳ و شکل ۱ آورده شده است. غلظت مؤثره بی‌کربنات سدیم در محیط کشت TMRL(AG) بر میکروجلبک سندسموس پس از تست‌های آزمایشگاهی بین ۱۰-۲/۵ میلی‌لیتر در لیتر مشخص شد. پس از شمارش با لام هموسیتومتر، میانگین شمارش تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد طبق جدول ۳ و شکل ۱ بیش‌ترین تعداد سلول (عدد در میلی‌لیتر) در غلظت ۷/۵ میلی‌لیتر در لیتر در روز سیزدهم به ثبت رسید. روند رشد سلولی جلبک سندسموس در شاهد و تیمار یک (۲/۵ میلی‌لیتر بی‌کربنات سدیم) و از شمارش روز نهم به بعد روند کاهشی داشته است، همچنین در تیمار دوم (۵ میلی‌لیتر بی‌کربنات سدیم) از شمارش روز سیزدهم رشد سلولی رو به کاهش بوده است در صورتی‌که روند رشد سلولی در تیمار سوم (۷/۵ میلی‌لیتر بی‌کربنات سدیم) و تیمار چهارم (۱۰ میلی‌لیتر بی‌کربنات سدیم) روند افزایشی داشته و اختلاف آن‌ها معنی‌دار بوده است ($P<0/05$) (جدول ۳). با توجه به شکل ۲ بیش‌ترین میزان فراوانی میانگین کل مربوط به تیمار سوم می‌باشد که بیش‌ترین میزان رشد (۲۵ درصد) میکروجلبک سندسموس در این تیمار مشاهده گردید. در این پژوهش محاسبه نرخ رشد و ضریب رشد ویژه (μ) نشان‌دهنده رشد و افزایش سلول‌های میکروجلبک سندسموس در تیمار سوم به‌ترتیب برابر با ۱/۵۶ و ۰/۱۱ بوده است (جدول ۴).

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار و ضریب تغییرات میکروجلبک سندسموس (تعداد سلول در میلی‌لیتر×10^5) در تیمارهای مختلف.

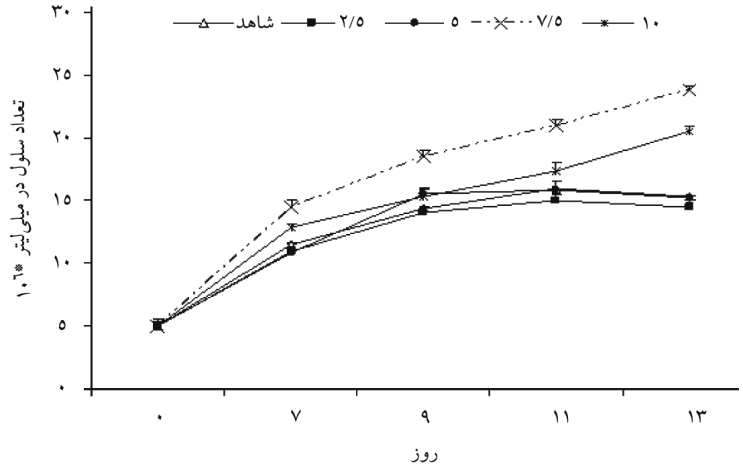
روزهای	ضریب تغییرات (CV%)					انحراف معیار ± میانگین (×10^5)				
شمارش	شاهد	T_1	T_2	T_3	T_4	شاهد	T_1	T_2	T_3	T_4
۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۵۰±۵^a	۵۰±۵^a	۵۰±۵^a	۵۰±۵^a	۵۰±۵^a
۷	۴/۳۴	۴/۵۴	۷/۰۵	۳/۴۴	۲/۲۴	۱۱۵±۵^b	۱۱۰±۵^b	۱۰۸±۷^b	۱۴۵±۵^b	۱۲۸±۳^b
۹	۲/۰۱	۳/۵۷	۳/۲۲	۲/۷۰	۴/۹۸	۱۴۳±۳^c	۱۴۰±۵^c	۱۵۵±۵^c	۱۸۵±۵^c	۱۵۳±۸^c
۱۱	۳/۱۲	۳/۳۳	۴/۸۲	۲/۳۸	۴/۴۰	۱۶۰±۵^d	۱۵۰±۵^d	۱۵۸±۸^c	۲۱۰±۵^d	۱۷۳±۸^d
۱۳	۱/۸۸	۳/۴۴	۱/۷۴	۱/۲۱	۲/۴۳	۱۵۳±۳^d	۱۴۵±۵^{cd}	۱۵۲±۳^c	۲۳۸±۳^e	۲۰۵±۵^e
کل	۳۳/۶۰	۳۲/۵۵	۳۴/۷۳	۴۰/۹۶	۳۸/۳۶	۱۲۴±۴۲	۱۱۹±۳۹	۱۲۴±۴۳	۱۶۵±۶۸	۱۴۲±۵۴

*اعداد در یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

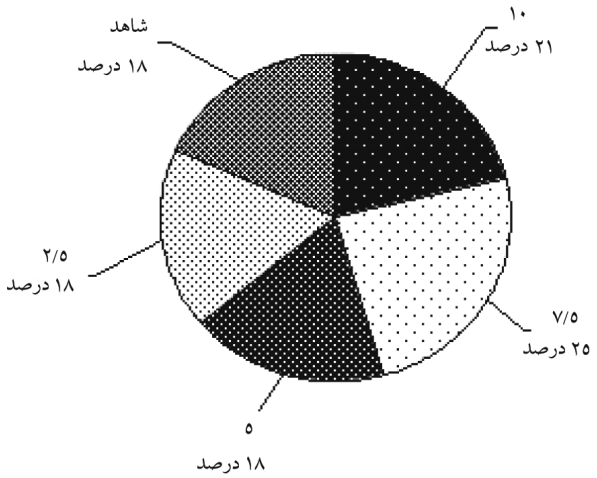
در اولین شمارش، میانگین تعداد سلول‌ها در تیمار شاهد برابر ۵±۱۱۵ تعداد سلول در میلی‌لیتر (×10^5) و در تیمار سوم ۵±۱۴۵ تعداد سلول در میلی‌لیتر (×10^5) بوده است. در شمارش‌های بعدی میزان رشد میکروجلبک سندسموس در تیمار سوم نسبت به شاهد به‌صورت محسوسی بالاتر بوده است. روند رشد تیمار سوم نسبت به شاهد و تیمارهای دیگر افزایش داشته و در روز سیزدهم بیش‌ترین میزان رشد را نشان داده است (P<۰/۰۵). میانگین ضریب تغییرات (C.V) تیمار شاهد در مجموع ۳۳/۶۰ درصد و در تیمار سوم برابر ۴۰/۹۵ درصد به‌دست آمد (جدول ۳ و شکل ۲).

جدول ٤- میزان نرخ رشد و ضریب رشد ویژه میکروجلبک سندسموس در تیمارهای مختلف.

تیمارها	نرخ رشد	ضریب رشد ویژه
شاهد	۱/۱۲	۰/۰۸
T_1	۱/۰۶	۰/۰۷
T_2	۱/۱۳	۰/۰۸
T_3	۱/۵۶	۰/۱۱
T_4	۱/۴۱	۰/۱۰



شکل ۱- تراکم (تعداد سلول در میلی‌لیتر ×10^6) میکروجلبک سندسموس در غلظت‌های مختلف بی‌کربنات سدیم.



شکل ۲- فراونی میکروجلبک سندسموس در تیمارهای مختلف.

بحث

عوامل اصلی زیست‌محیطی و ترکیب شیمیایی مؤثر بر رشد میکروجلبک‌ها شامل نور، مواد غذایی، دما و pH است (Rousch و همکاران، ۲۰۰۳). منبع کربن یک عامل ضروری برای رشد میکروجلبک‌ها (Wen و Chen، ۲۰۰۳) محسوب می‌شود که به‌طور کلی، منبع کربن میکروجلبک‌ها در شرایط کشت CO_2 اتمسفر است که به‌طور طبیعی در این‌حال ۳۰۰ پی‌پی‌ام است (Devgoswami و همکاران، ۲۰۱۲). بهره‌وری سوخت و ساز و در نتیجه ترکیب میکروجلبک‌ها برای استفاده از CO_2 و بی‌کربنات و کربنات به‌عنوان منبع کربن می‌تواند از گونه‌ای به گونه دیگر متفاوت باشد (De Morais و همکاران، ۲۰۰۷). تعدادی از گونه‌های میکروجلبک‌ها با استفاده از کربنات مانند $NaHCO_3$ و Na_2Co_3 رشد سلولی خوبی داشتند (Merrett و همکاران، ۱۹۹۶). در مطالعه دوگوسوامیو و همکاران (۲۰۱۲) تأثیر بی‌کربنات سدیم و CO_2 بر رشد سه جنس از شاخه کلرفیتا: کلرلا، سندسموس و هماتوکوکوس در محیط کشت تغییر یافته BG_{11} کار شده کلرلا با ۷۵ پی‌پی‌ام بی‌کربنات سدیم و ۱۱۹۱ پی‌پی‌ام CO_2 و سندسموس و هماتوکوکوس به‌ترتیب ۳۰ و ۴۵ پی‌پی‌ام بی‌کربنات سدیم و ۴۶۶، ۷۱۴ CO_2 بیش‌ترین رشد را داشته‌اند. در این بررسی افزایش رشد سلول میکروجلبک سندسموس در تیمار سوم با غلظت ۷/۵ سی‌سی بی‌کربنات سدیم بوده است. طبق شکل ۲ و جدول ۳ در این پژوهش با توجه به افزایش بی‌کربنات سدیم در تیمار چهارم نسبت به تیمارهای دیگر افزایش ولی نسبت به تیمار سوم کاهش داشته است و نشان‌دهنده بهترین رشد تعداد سلول میکروجلبک سندسموس با غلظت ۷/۵ می‌باشد، هر چند افزایش غلظت بی‌کربنات سدیم نسبت به تیمار شاهد افزایش داشته ولی از نظر اقتصادی تیمار سوم به صرفه می‌باشد. در پژوهشی که Heidari و همکاران (۲۰۱۱) انجام دادند اثرات مختلف نیترات و آمونیوم را در محیط کشت برای رشد جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* بررسی نمودند. پرورش این گونه در محیط کشت BBM در ۷ تیمار (۲/۹، ۱۵، ۵۰، ۲۵، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار نیترات و آمونیوم) در شرایط آزمایشگاهی انجام گردید. بالاترین تراکم سلول جلبکی $۳۲/۵\times۱۰^{۵}$ تعداد سلول در میلی‌لیتر برای نیترات و $۲۵/۲\times۱۰^{۵}$ تعداد سلول در میلی‌لیتر برای آمونیوم بود و بیش‌ترین میزان رشد ویژه ۰/۰۹ در روز برای نیترات و ۰/۰۸ در روز برای آمونیوم از تیمار ۱۵ میلی‌مولار نیترات و آمونیوم به‌دست آمد.

در این بررسی، بیش‌ترین رشد سندسموس به‌میزان ۲۳۸×۱۰^{۵} تعداد سلول در میلی‌لیتر در تیمار سوم بوده است. همچنین نرخ رشد و ضریب رشد ویژه میکروجلبک سندسموس در تیمار سوم به‌ترتیب ۱/۵۶ و ۰/۱۱ بوده و نسبت به تیمارهای دیگر رشد بیش‌تری داشته است. آزمایشی که توسط Hoa و همکاران (۲۰۱۱) بر روی میکروجلبک‌های سبز از جمله کلرلا و سندسموس برای استخراج مواد مؤثره ضدسرطان انجام گرفت، بیش‌ترین راندمان رشد را در محیط کشت‌های BBM و F/2 نشان داد. افزایش رشد به‌دلیل غنی بودن این دو محیط کشت نسبت به محیط کشت عمومی TMRL(AG) بوده است. در این بررسی محیط کشت عمومی تغییر یافته ($TMRL(AG_1)$) با افزایش بی‌کربنات بیش‌ترین راندمان رشد را داشته است. White و همکاران (۲۰۱۳) بیان نمودند که تأثیر غلظت‌های مختلف بی‌کربنات سدیم بر رشد دو گونه از میکروجلبک‌های دریایی، بیش‌ترین رشد سلولی گونه‌های جلبکی متعلق به محیط کشت F/2 که بی‌کربنات سدیم اضافه شده نسبت به محیط کشت بدون بی‌کربنات بوده است. با توجه به شکل ۲، بیش از ۲۷ درصد رشد میکروجلبک سندسموس در تیمار سوم با غلظت ۷/۵ میلی‌لیتر بی‌کربنات سدیم، اتفاق افتاد که نشان‌دهنده واکنش مطلوب میکروجلبک سندسموس در این غلظت می‌باشد.

از آن‌جایی‌که TMRL(AG) محیط کشت عمومی و ارزان‌قیمت می‌باشد و توانایی رشد سلولی در حجم پایین را دارد بنابراین برای افزایش رشد در حجم بالا و برای تولید انبوه با اضافه کردن این غلظت می‌توان زی‌توده بیش‌تری تولید نمود. نظر به اثرات مثبت بی‌کربنات سدیم بر رشد میکروجلبک سندسموس در محیط کشت تغییر یافته ($TMRL(AG_1)$ که یک محیط کشت عمومی و ارزان‌قیمت می‌باشد برای تولید انبوه میکروجلبک سندسموس توصیه می‌گردد.

منابع

Ajah, P.O., 2010. Mass culture of rotifera (*Brachionus quadridentatus* (Hermann, 1783) using three different algal species. African Journal of Food Science 4 (3), 80-85.

Asalpisheh, Z., Heidari, R., Manafofar, R., 2012. Identification and study of nutritional value of two species of single-celled algae Desmodesmus cuneatus and Scenedesmus obliquus producing fatty acids isolated from Mahabad dam lake, West Azerbaijan. Plant biology fourth year. Issue 11. Spring 2012. 61-72.

Becker, W., 2004. Microalgal in human and animal nutrition. In: Richmond, A. Handbook of Microalgal Culture: biology and applied phycology. London (ed). Blackwell Science. pp. 312-351.

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

Bold, H.C., Michael, L.W., 1985. Introduction to the Algae Structured and Reproduction, Second ed. prentice Hall, INC.

De Morais, M.G., Costa, J.A.V., 2007. Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. And *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three stage serial tubular photobioreactor. Journal of Biotechnology 129, 439-445.

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

Ganjian, A., 2010. Training course and algae cultivation workshop of Caspian Fisheries and Aquatic Pollutants Research Group. 33 pages.

Ganjian, A., 2011. Temporal distribution and composition of phytoplankton in the Southern part

of Caspian Sea in Iranian waters from 1994-2007. Thesis submitted in fulfillment of the requirement for the degree of Doctor of Philosophy. University Sains, Malaysia.

Ganjian, A., Wan Maznah, W.O., Yahya, Kh., Najafpour, Sh., Najafpour, Gh.D., Roohi, A., Fazli, H., 2010. Seasonal succession of phytoplankton community structure in the southern part of Caspian Sea. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences 8 (2), 146-155.

Hallmann, A., 2007. Algal transgenics and biotechnology. Trans. Plant J. 1 (1), 81-98. ©2007 Global Science Books.

Heidari, P., Hadian, A., Mahboubi-Sufiani, N., 2011. Effects of different levels of nitrate and ammonium in culture medium for the growth of green alga Scenedesmus quadricauda. Journal of Fisheries Iranian Journal of Natural Resources. 64 (1), 40-29.

Hoa, L.T.P., Quang, D.N., Ha, N.T.H., Tri, N.H., 2011. Isolating and screening mangrove microalgae for anticancer. Research Journal of Phytochemistry 5 (3), 156-162.

Kianmehr, H., 1371. Fundamentals of Algae Studies. University Jihad of Mashhad University. 258 pages.

Masoudi-Asil, Sh., Ismaili-Fereydoni, A., 2009. The effect of different salinity levels on the growth of nanochloropsin microalgae. Sari Faculty of Agriculture and Natural Resources. 56-52.

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

Monteiro, C.M., Castro, P.M.L., Xavier, F.X., 2009. Use of the microalga *Scenedesmus obliquus* to remove cadmium cations from aqueous solutions. World Journal of Microbiology & Biotechnology 25, 1573-157.

Olaizola, M., 2003. Commerical development of microalgal biotechnology: From the test tube to the marketplace. Biomolecular Engineering 20, 459-466.

Rousch, J.M., Bingham, S.E., Sommaerfeld, M.R., 2003. Change in fatty acid profiles of thermo-intolerant and thermo tolerant marine diatoms during temperature stress. ournal of Experimental Marine Biology and Ecology 295, 145-156.

Wang, B., Li, Y., Wu, N., Lan, C., 2008. CO_2 bio-mitigation using microalgae. Applied Microbiology and Biotechnology 79, 707-718.

Wen, Z.Y., Chen, F., 2003. Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae. Biotechnology Advances 21, 273-294.

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

Zachleder, V., Wittenburg, E., 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.

Journal of Fisheries, Islamic Azad University, Azadshahr Branch
Vol. 14, No. 4, Wintrt 2021

Effect of the various sodium bicarbonate ($NaHCO_3$) concentrations on the growth of micro-algae (*Scenedesmus* sp.) in the TMRL (AG) culture medium

A. Ganjian Khenari[1]*, M. Shakouri[2], M. Ghasemnejad[3], F. Ganjian Khenari[3], M. Khosravi[4], M.V. Farabi[4]

[1] Caspian Sea Ecological Research Center and Caspian Research Group of Fisheries and Water Pollutants, Sari, Iran
[2] Member of Young Researchers Club, Ghaemshahr Branch, Islamic Azad University, Ghaemshahr, Iran
[3] Caspian Research Group of Fisheries and Water Pollutants, Sari, Iran
[4] Caspian Sea Ecological Research Center, Sari, Iran

Abstract

A carbon source for the growth of micro-algae is essential; therefore, to increase the yield production, carbon supply is one of the most important steps in the development of micro-algae. In this study, the effect of sodium bicarbonate ($NaHCO_3$) concentrations on *Scenedesmus* (Chlorophyta) growth was evaluated in TMRL (AG) medium. In this purpose, we studied the effects of the different sodium bicarbonate concentrations (2.5, 5, 7.5 and 10 ml) during 13 days. Results obtained of different concentrations sodium bicarbonate which added to the medium TMRL(AG), showed the maximum growth in the thirteenth day with 238×10^5 cells/ml at the third treatment of 7.5 ml concentration, when the different concentrations of sodium bicarbonate were added to TMRL(AG) medium. In T_3 medium, *Scenedesmus* showed rapid grow as the growth rate and coefficient were calculated which are 1.56 and 0.11, respectively. According to the results, the use of sodium bicarbonate in normal and cheap TMRL (AG) medium modified for mass production of micro algae *Scenedesmus* is recommended.

Keywords: Micro algae *Scenedesmus*; Sodium bicarbonate; TMRL (AG); *Scenedesmus* sp.

* Corresponding authors; aganjian2002@yahoo.com