کشت آزمایشگاهی *Arthrospira platensis* در ایران

منصوره قائنی[۱]، عباس متین فر[۲]، مهدی سلطانی[۳]، محمد ربانی[۴]
۱.مربی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز
۲.استادیار موسسه تحقیقات شیلات
۳.دانشیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
۴.استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

Email: mansoreh.ghaeni@gmail.com

چکیده

در این تحقیق گونه خالص اسپیرولینا از اندونزی به منظور کشت به ایران منتقل شد. پس از بررسی های میکروسکوپی با استفاده از کلید شناسایی طبق شکل ظاهری، قطر و طول سلول، و اندازه تریکومهای جلبک سلول در محیط مایع و نیمه جامد به عنوان *Arthrospira platensis* شناسایی شد. جلبک در محیط آزمایشگاه طی ۴۰ روز کشت داده شد و هر ۲روز یکبار تراکم سلولها محاسبه شد. ابتدا در ظروف ۳۰۰ml و سپس در ظروف ۱/۵ لیتری درشرایط آزمایشگاهی کشت داده شدو سپس با هدف تولید نیمه انبوه در شرایط گلخانه ای به منظور کنترل دما و با استفاده از محیط کشت جردن و نور غیر مستقیم خورشید در وان های ۱۰۰ لیتری اسپیرولینا تولید گردید. هر کدام از تیمار ها ۵ تکرار داشتند.

بیشترین تراکم سلولی در ظروف ۳۰۰ میلی لیتری در یک دوره ۱۸ روزه با ml/l ۲ محیط کشت کانوی، ml/l ۲۰ بذر اسپیرولینا با تراکم اولیه cell/ml ۱۷۵۰۰ در شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با لامپ فلورسانت ۴۰ واتی و ۲۴ ساعت هوادهی توسط لام نئوبار حدود cell/ml۱۲۷۵۰۰ و در ظروف ۱/۵ لیتری با همین شرایط و دوره ۲۹ روزه تراکم سلولی cell/ml ۴۰۰۰۰۰ حاصل گردید.

در وان های ۱۰۰ لیتری کشت نیمه انبوه هنگامی که تراکم سلولی و اندازه اسپیرولینا مناسب بود برداشت بصورت نیمه مداوم صورت گرفت و توده زنده آن خشک گردید و اسپیرولینای پودری تهیه شد.

کلمات کلیدی : اسپیرولینا، کشت آزمایشگاهی، تولید نیمه انبوه، ایران

www.SID.ir

مقدمه

اسپیرولینا سیانوباکتر رشته ای میکروسکوپی می باشد و اسم این جلبک از شکل مارپیچی و رشته ای آن مشتق شده است(شکل ۱). گزارشهای متعددی وجود دارد که ۴۰۰ سال قبل آزتک ها در مکزیک از این جلبک ها به عنوان غذا استفاده می کردند. در حال حاضر در کشور چاد در اطراف دریاچه چاد قبیله کانمبو این جلبک را خشک کرده و به عنوان نان مصرف می کنند و به آن Dihe می گویند(Belay, 2002).

شکل۱: اسپیرولینا

شکل ۲: قرص اسپیرولینا به عنوان مکمل غذایی

در ۲۰ سال اخیر اسپیرولینا بطور تجاری تولید شده است و به عنوان غذا مورد استفاده قرار میگیرد. جلبک های تجاری معمولا در استخرهای بزرگ در محیط بیرون تحت شرایط کنترل شده، تولید می شوند و بعضی از شرکت ها بطور مستقیم از تولید دریاچه استفاده می کنند(Belay, 2002). امروزه میزان تولید اسپیرولینا در جهان نزدیک به ۵۷۰۰۰ تن می رسد (FAO, 2006). فروش گسترده در فروشگاههای مواد غذایی و بهداشتی سلامت اسپیرولینا را تضمین کرده است و انسان قرنهاست که از آن استفاده کرده و در مطالعات بسیار گسترده سم شناسی مورد استفاده قرار میگیرد(Belay, 2002).

از سالها قبل فایده اسپیرولینا به دلیل پروتئین بالا، ویتامین ها، اسیدهای آمینه ضروری و اسیدهای چرب ضروری آن شناخته شده است. ۶۰-۷۰ درصد ماده خشک اسپیرولینا پروتئین دارد و منبع غنی از ویتامین ها مخصوصا B_{12} (که معمولا در بافت های جانوری است) و پیش ساز ویتامین A (بتاکاروتن) و مواد معدنی مخصوصا آهن است. حاوی مقدار کمی اسید گاما لینولنیک (GLA) است و همچنین شامل ترکیبات شیمیایی گیاهی مفید دیگری است که برای سلامتی مفید میباشد. اسپیرولینا در سراسر جهان کشت داده می شود و به عنوان مکمل در رژیم غذایی انسان بصورت قرص(شکل ۲)، پودر یا تکه های ورقه ای و مکمل غذایی در آبزی پروری و صنایع مرغداری بکار میرود (Belay, 2002). ترکیبات ماده خشک اسپیرولینا در جدول۱ آورده شده است.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱)ترکیب مواد مغذی اسپیرولینا

پروتئین	۶۵ درصد
کربوهیدرات	۲۰ درصد
مواد معدنی	۷ درصد
چربی	۵ درصد
رطوبت	۳ درصد

طبق آزمایشات فیلوژنی و زیر واحد rARN 16S (اسید ریبونوکلئیک ریبوزومی) آنها را جزء پروکاریوت ها طبقه بندی کرده اند(Sanchez *et al*., 2002).

دو جنس *Arthrospira, Spirulina* از گونه های مهم خوراکی هستند(Sanchez *et al*., 2002). این دو جنس از نظر ریخت شناسی با هم فرق می کنند. آنها در نوع چرخش، آرایش منافذ در دیواره سلولی، قطر و نوع قطعات تریکوم با هم متفاوتند(Sanchez *et al*., 2002).

اسپیرولینا ماکسیما به عنوان افزودنی در غذا بکار می رود و بدلیل اینکه غنی از اسید فولیک، توکوفرول و بتاکاروتن است ویژگیهای مواد آنتی اکسیدان از خود نشان می دهد و در سیستم های in vitro و in vivo به عنوان مواد آنتی اکسیدان عمل می کند(Miranda *et al*., 1998).

این جلبک برای اولین بار به منظور تولید انبوه و با هدف اصلی استفاده در آبزی پروری و کارهای پژوهشی گیاهان دارویی و بهداشتی آرایشی وارد ایران و در حال تحقیقات تکمیلی می باشد.

اسپیرولینای خشک شده را به عنوان غذای لارو میگو و ماهی بطور انبوه تولید کرده اند(Yunus Aslianti, 1988).

میگو در دو دوره از زندگی خود در دو مرحله لاروی و رسیدگی جنسی مولدین نیاز شدید به غذاهای طبیعی دارد. در مرحله لاروی استفاده از فیتوپلانکتونها و زئوپلانکتون ها به عنوان غذای زنده ضروری بوده و نقش مهمی در رشد و سلامت میگو به عهده دارند(حق نجات،۱۳۸۰). در صنعت پرورش میگو مواد غذایی زیادی مورد آزمایش قرار گرفته اما اسپیرولینا تنها میکروجلبکی است که فواید زیادی برای رشد آن داشته و هزینه تولید را کم کرده و نسبت هزینه به کارایی را بطور قابل توجهی توسعه یافته است(Todd Lorenz, 1998).

Archive of SID

www.SID.ir

در چندین مطالعه از اسپیرولینای خشک شده به عنوان مکمل غذایی برای سخت پوستان استفاده شده است. آرد اسپیرولینا (SPM)[۱] در حال حاضر در مقیاس تجاری قابل استفاده است و میتوان در آبزی پروری بصورت غذا استفاده کرد

(Jaime-Ceballos *et al*., 2006). اسپیرولینا بدلیل میزان قابل توجه اسید لینولنیک(18:3 w3) نقش مهمی در رشد میگو از اواخر مرحله ناپلی تا اوایل پست لاروی دارد (Ingthamjitr, 1989). مکمل اسپیرولینا باعث افزایش کیفیت مولدین میگو (هچ مولدین، تعداد ناپلی به مولد، قابلیت زیستی ناپلی) و شاخصهای کیفی لارو میگو میشود(Regunathan & Wesley, 2006).

برای درمان سندرم PDS [۲] (سندروم نقص رنگدانه) از اسپیرولینا به میزان gr/kg ۳۰ در رژیم غذایی بعد از ظهور علایم PDS استفاده شد و بعد از یک دوره ۴ هفته مشکل بر طرف گردید (Regunathan & Wesley, 2006).

Rahman و همکاران(2006) توانستند درصد مرگ و میر حاصل از ویروس سندروم لکه سفید (WSSV) را در میگوی جوان *Litopeneus vannamei* کاهش داده و ظهور علایم کلینیکی را به مدت ۱۲ ساعت تاخیر انداخت(Rahman *et al*., 2006).

علیرغم کاربرد وسیع جهانی اسپیرولینا، به ویژه در کشورهای پیشرفته، تاکنون هیچگونه بهره برداری و استفاده از این جلبک مفید در ایران نشده است و همچنین اقدام قابل توجهی برای خالص سازی و تولید صنعتی این جلبک و نیز بررسی اثرات آن بر روی انسان، دام و ابزیان در ایران انجام نگردیده است. معرفی این جلبک و بررسی شرایط تولید انبوه آن می تواند زمینه تولید فراورده های قابل استفاده در بخشهای مختلف علوم کشاورزی و پزشکی را فراهم آورد.

مواد و روش ها

شناسایی گونه اسپیرولینا پس از کشت در محیط نیمه جامد و مایع زاروک با استفاده از کلیدهای شناسایی در آزمایشگاه جهاد دانشگاهی شهید بهشتی انجام شد(Prescott & Brown, 1969).

۱- *Spirulina Platensis* Meal
۲- Pigment Deficiency Syndrome

Archive of SID
www.SID.ir

برای کشت آزمایشگاهی از ظروف درب دار ۳۰۰ میلی لیتری و ۱/۵ لیتری شسته شده با مواد شوینده و ضد عفونی کننده استفاده شد. کلیه مراحل کار آزمایشگاهی به طور تجربی کار شده و با استفاده از منبع خاصی نبوده است. شرایط کشت بطور خلاصه در جدول ۲ آورده شده است.

جدول۲: شرایط کشت در محیط آزمایشگاه

دما	۲۵ درجه سانتیگراد
محیط کشت کانویconway	۲ ml/l
pH	۷
مدت نوردهی	۸ ساعت تاریکی ۱۶ ساعت روشنایی
شوری	۱۵ ppt
اسپیرولینا	۲۰ ml/l
تراکم اسپیرولینا اولیه	۱۷۵۰۰ سلول در میلی لیتر
منبع نوری	۲لامپ مهتابی ۴۰ وات (حدود ۱۰۰۰لوکس)

در طی مدت کشت هوادهی بصورت مداوم انجام شد و تراکم سلولی هر دو روز یکبار شمارش گردید همچنین دما و pH بطور روزانه با pH متر دیجیتالی مدل WTW, PH 330i دارای دو سنسور ثبت شد.

کشت انبوه در وان های ۱۰۰ لیتری و در محیط گلخانه ای به منظور کنترل دما انجام شد برای تامین آب شور از نمک دریا به میزان ۱۵ گرم در لیتر و برای غنی سازی از محیط کشت جردن طبق جدول ۳ استفاده شد(Jourdan, 2001).

جدول ۳: محیط کشت جردن برای هر وان ۱۰۰ لیتری(Jourdan, 2001)

بی کربنات سدیم	۱/۶ Kg	سولفات منیزیوم	۱۰گرم
نیترات پتاسیم	۲۰۰گرم	سولفات پتاسیم	۵۰ گرم
فسفات آمونیوم	۱۰گرم	کلسیم کلراید	۱۰گرم
سولفات آهن	۱گرم	سدیم کلراید	۱۰۰گرم
چای سبز	۱۰۰ میلی لیتر		

Archive of SID

www.SID.ir

ابتدا مواد شیمیایی بجز سولفات آهن و چای را با آب حل کرده و برای گرفتن ناخالصی ها آنها را از الک عبور داده و سپس به آب شور در وان ها اضافه شد. وقتی این مواد به آب اضافه و مخلوط گشت، رنگ آب شیری شد. سولفات آهن را بطور جداگانه با آب حل کرده و به محیط کشت اضافه شد و رنگ از شیری به قهوه ای تغییر کرده و در نهایت چای سبز دم شده غلیظ را پس از عبور از الک به وان اضافه کرده و رنگ آب متمایل به بنفش میشود که طبیعی می باشد. چای سبز برای جلوگیری از ته نشینی سولفات آهن اضافه می شود. هوادهی بطور مداوم انجام گرفت و پس از همدما کردن اسپیرولینای اولیه با تراکمcell/ml ۱۷۵۰۰ با دمای آب آنگاه به وان ها افزوده گردید (Jourdan, 2001). کشت زمانی آغاز شد که دمای محیط بیرون ۱۰ درجه سانتیگراد(۸۷/۱۲/۲) بود که با تعبیه بخاری دما به ۳۴ درجه سانتیگراد و دمای آب به ۲۹ درجه سانتیگراد رسید. در بدو کار pH= ۸ در حالیکه مقدار زیادی از بی کربنات سدیم هنوز در آب ته نشین بود و به تدریج با حل شدن آن در روزهای بعدی و رشد اسپیرولینا pH افزایش یافت و در زمان برداشت به ۹/۵ رسید. با چند روز فاصله ۵ وان کشت داده شده و تراکم سلولی هر دو روز یکبار محاسبه شد تا زمان برداشت روند رشد اسپیرولینا بررسی شد. میزان بذر اضافه شده به هر وان یک ظرف ۱/۵ لیتری از محیط کشت آزمایشگاهی بود.

تراکم سلول پس از دوره مشخصی از برداشت با استفاده از لام نئوبار محاسبه شد. ابتدا لامل سنگی را روی لام نئوبار گذاشته سپس با سمپلر ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه را برداشته و در نزدیکی لامل سنگی به آرامی نمونه بین لام و لامل پخش شد و زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ بررسی شدند. بدلیل تراکم کم و اندازه بزرگ سلول هر چهار منطقه لام شمارش شد و میانگین گرفته و سپس در ۱۰۰۰۰ ضرب گردید تا تعداد سلول در میلی لیتر محاسبه شود. برای اندازه گیری دقیق از میکرومتر چشمی استفاده شد برای این کار ابتدا عدسی های چشمی با میکرومتر استاندارد تنظیم شد(هوف و اسنل، ۱۳۸۷).

هنگامی که محیط کشت و میزان مواد مغذی مناسب باشد، جلبک ها به طور غیر جنسی تولید مثل می کنند. اندازه و تراکم سلول ها با گذشت زمان افزایش می یابد که نتیجه آن افزایش زیتوده می باشد. در حقیقت میزان DNA از لحاظ کمیت دو برابر شده و تقسیم سلولی به دنبال تقسیم کامل سلول به دو سلول جدید که ژنوم مساوی داشته و اندازه آنها بزرگتر می شود و جمعیت افزایش یافته و بنابراین رشد جمعیت که به عنوان افزایش تعداد سلولها در محیط است، افزایش می یابد.

Archive of SID

www.SID.ir

برای محاسبه رشد و تکثیر سلولی از فرمول زیر استفاده می شود(Choonawala, 2007).

$K=Ln\ N_1-Ln\ N_0/t$

$N_1=$ تعداد سلولها در زمان t

$N_0=$ تعداد سلولها در زمان 0

t=زمان(روزها)

$$\textbf{تکثیر روزانه} = \frac{K}{Ln2}$$

$$\textbf{زمان تکثیر} = \frac{1}{\text{تکثیر روزانه}}$$

زمانی که رنگ آب در وانها کاملا سبز شد و اندازه سلولها بیش از ۶۰۰ میکرون رسید و قبل از رسیدن به حداکثر تراکم سلولی و تکثیر آنها، محیط کشت از الک هایی با مشهای ۵۰، ۱۵، ۱۰ و ۵ میکرون عبور داده شده و اسپیرولینا روی الک ۱۵ و مقدار کمتری روی الک ۱۰ میکرون باقی ماند. اسپیرولینایی که روی توری مانده بود جمع و توزین شد.

اسپیرولینای جمع شده روی توری را درون سینی هایی که با نایلون پوشیده شده بود، پخش گردید که به این طریق سطح را گسترش داده تا سریعتر خشک شود و در دمای ۳۰ درجه به مدت۲۴ در سایه خشک شد سپس محصول ورقه ای را جمع و وزن خشک آن نیز بدست آمد(Choonawala, 2007).

نتایج

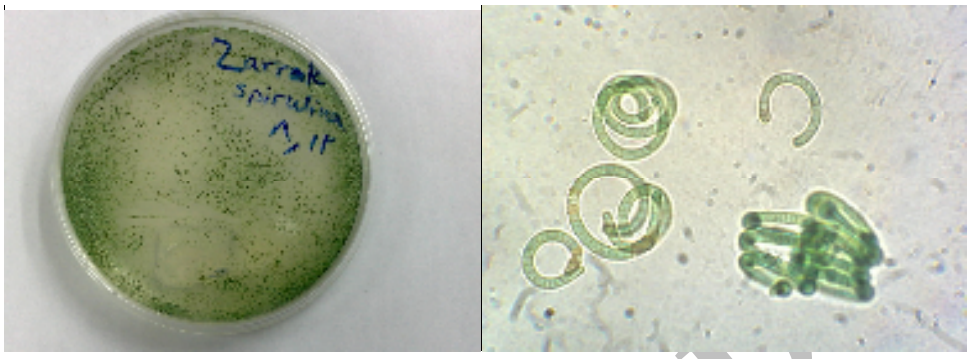
در بررسی های میکروسکوپی از جلبک و استفاده از کلید شناسایی گونه *Arthrospira platensis* شناسایی شد که برای شناسایی در دو محیط مایع و نیمه جامد زاروک Zarouk کشت داده شد. اسپیرولینا در روزهای نخست به شدت گرانول دار بود و سپس گرانول ها تحلیل رفتند. در کشت های اولیه رنگ نمونه به قهوه ای تیره گرایش داشت پیچ ها به مراتب بازتر شده و فشردگی دیواره بیشتر بود. اندازه سلولهای تریکوم از ۵/۸۵ به ۸/۵۸ افزایش یافت و دامنه طول سلول ۳-۱/۸ میکرون بود .

طی دوره های مختلف جلبک زیر میکروسکوپ بررسی شد و حالت پلی مورفیسم به وضوح در آن قابل مشاهده بود که دلیل آن تغییرات فیزیکی (مثل دما، نور و غلظت محیط کشت)در محیط کشت می باشد. نتایج شمارش جلبکی

Archive of SID

www.SID.ir

در جدول ۴و۵ و میزان رشد و تکثیر در جدول ۶ آورده شده است. در جداول دوره منظور زمانی است کـه اسـپیرولینا حداکثر رشد را داشته و پس از آن برداشت شده است.



شکل ۴- اسپیرولینا در محیط کشت زاروک

جدول ۴- تراکم سلولی اسپیرولینا در ظروف کشت ۳۰۰ میلی لیتری

تکرار / تیمار ۳۰۰ میلی لیتری	۱	۲	۳	۴	۵
تراکم (سلول/میلی لیتر)	۲۷۰۰۰	۲۰۰۰۰	۳۵۰۰۰	۱۲۵۰۰۰	۸۰۰۰۰
دوره (روز)	۹	۱۲	۱۵	۱۸	۲۱

جدول ۵-تراکم سلولی اسپیرولینا در ظروف ۱/۵لیتری

تکرار / تیمار ۱/۵ لیتری	۱	۲	۳	۴	۵
تـراکم زمـان برداشـت (سلول/میلی لیتر)	۵۹۰۰۰	۹۷۵۰۰	۴۲۵۰۰	۲۰۵۰۰۰	۴۰۰۰۰۰
دوره (روز)	۲۲	۳۲	۳۸	۴۳	۲۹

جدول ۶:میزان رشد و تکثیر اسپیرولینا در ظروف ۱/۵لیتری

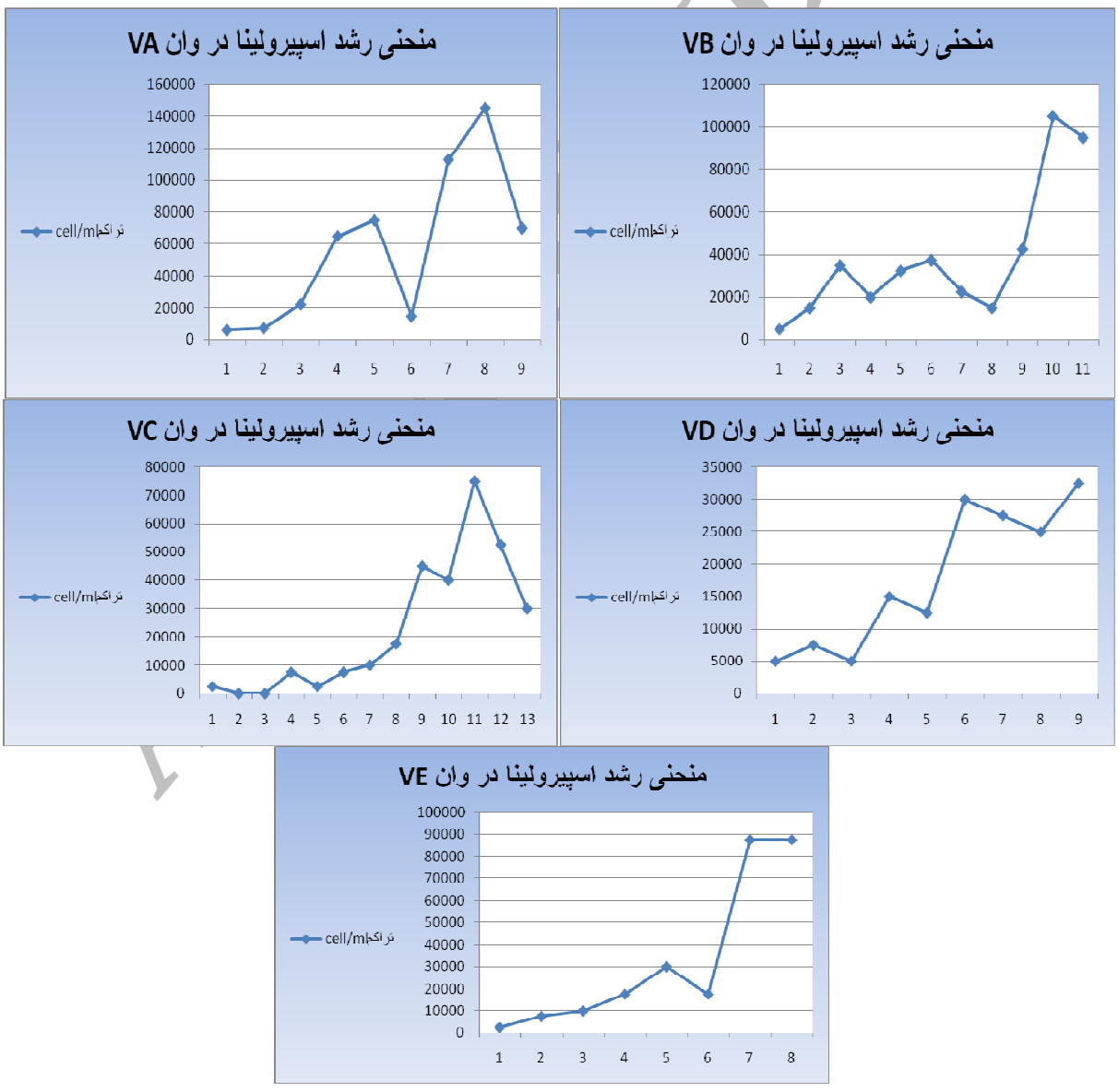
تکرار / تیمار۱/۵ لیتری	۱	۲	۳	۴	۵
t_0	۹۶	۹۶	۹۶	۹۶	۹۶
t_1	۴۳۲	۶۷۲	۸۱۶	۹۶۳	۴۰۸
تراکم در زمان t_0	۲۰۰۰	۲۰۰۰	۲۰۰۰	۲۰۰۰	۲۰۰۰
تراکم در زمان t_1	۵۹۰۰۰	۹۷۵۰۰	۴۲۵۰۰	۲۰۵۰۰۰	۴۰۰۰۰۰
میزان رشد (k)	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۳
تکثیر روزانه	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۴
زمان تکثیر	۲۰	۵۰	۱۰۰	۱۰۰	۲۵

در کشت انبوه اسپیرولینا نتایج شمارش سلولی و میزان تکثیر روزانه جلبک (جدول۶) و نمودار رشد(نمودار۱) و محاسبه شده است.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۶- : میزان رشد و تکثیر اسپیرولینا در وان ۱۰۰لیتری

نام هر تکرار	VA	VB	VC	VD	VE
t. (ساعت)	۹۶	۷۲	۱۶۸	۱۹۲	۴۸
t_1 (ساعت)	۴۰۸	۳۶۰	۶۷۲	۶۹۶	۶۹۶
تراکم در زمان t.	۶۲۵۰	۵۰۰۰	۲۵۰۰	۵۰۰۰	۲۵۰۰
تراکم در زمان t_1	۷۵۰۰۰	۳۵۰۰۰	۷۵۰۰۰	۳۲۵۰۰	۸۷۵۰۰
میزان رشد (k)	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۱
تکثیر روزانه	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۲
زمان تکثیر	۲۰	۲۰	۳۳/۳	۵۰	۵۰
دوره (روز)	۱۷	۱۵	۲۸	۲۹	۴۱



نمودار ۱:رشد تیمار های اسپیرولینا در کشت نیمه انبوه به روش نیمه پیوسته بطور ثبت روزانه تراکم

www.SID.ir

بحث و نتیجه گیری

جنسهای *Spirulina* و *Arthrospira* باید به عنوان دو جنس مجزا در نظر گرفته شود. محققینی که در سراسر جهان روی میکروجلبک ها کار می کنند هر دو را تحت عنوان Spirulina در نظر می گیرند. این نام عمومی در بین دانشمندان و مصرف کنندگان باعث شده که این دو گونه را به سختی از هم تفکیک کنند. میکرو جلبک متعلق به جنس*Arthrospira* از نظر ویژگیها مناسب برای تغذیه است که حتی گاهی آنرا هم spirulina می گویند. اسپیرولینا و آرتروسپیرا از نظر ریخت شناسی توسط نوع چرخش، پراکنش منافذ دیواره سلولی، مشاهده تیغه ها زیر میکروسکوپ نوری، قطر و پیوستگی انواع تریکومها (رشته ها) از همدیگر تفکیک شده اند(Sanchez *et al*., 2002).

Volkmann و همکاران (2008) *Spirulina platensis* را در شرایط کنترل شده آزمایشگاه (دما ۳۰°C، دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی با لامپ فلورسانت و هوادهی ثابت با پمپ هوا) از سه محیط کشت مختلف شامل: ۱- محیط کشت Paoletti ۲- محیط کشتPaoletti به همراه آب شور حاوی ۱gr/l نمک ۳- محیط کشت Paoletti با آب خروجی از دستگاه های نمک زدایی استفاده کردند و میزان رشد، پروتئین و اسیدهای آمینه اسپیرولینا را اندازه گیری کردند که بیشترین میزان پروتئین در تیمار ۳ حاصل شد.

Raoof و همکاران(2006) برای کشت انبوه *Spirulina sp.* مواد مغذی محیط کشت استاندارد زاروک (SM) به همراه مواد شیمیایی موثر دیگر را انتخاب کردند و این محیط کشت فرموله شده را (RM6) نامیدند که شامل سوپر فسفات (۱.۲gr/l)، نیترات سدیم (۲.۵۰gr/l)، موریات پتاس(۰.۹۸gr/l)، سدیم کلراید(۰.۵gr/l)، سولفات منیزیوم (۴.۱۵gr/l)، کلسیم کلراید(۰.۰۴gr/l) و سدیم بی کربنات (۸gr/l) بود. از نظر میزان پروتئین اختلاف معنی داری بین دو محیط کشت وجود نداشت ولی در مقیاس تجاری(RM6) ۵ برابر ارزان تر از محیط کشت زاروک تمام شد.

در حالیکه در این تحقیق برای کشت آزمایشگاهی اسپیرولینا از محیط کشت کانوی استفاده شد. در کشت نیمه انبوه محیط کشت مورد استفاده کودهای شیمیایی صنعتی بود (Jourdan, 2001) زیرا در این مرحله استفاده از محیط کشت کانوی صرفه اقتصادی نداشت.

حدود ۵ روز پس از کشت رنگ آب در وان ها سبز کم رنگ شد و تراکم سلولی قابل اندازه گیری بود با رشد اسپیرولینا و افزایش تراکم سلولی و تکثیر سریع آنها pH محیط کشت به تدریج افزایش یافت. بطوری که در زمان

Archive of SID

www.SID.ir

برداشت به حدود ۱۰ نیز افزایش یافت. طی دوره های مختلف جلبک زیر میکروسکوپ بررسی شد و حالت پلی مورفیسم به وضوح در آن قابل مشاهده بود که دلیل آن تغییرات فیزیکی در محیط کشت می باشد

در هر بار برداشت حدود ۴۰ لیتر آب از الک عبور داده شد و مجددا آب عبوری از الک به وان برگردانده شد تا مواد مغذی و اسپیرولیناهای عبور کرده از الک از دسترس خارج نشوند و هزینه مواد شیمیایی مصرفی و میزان آب مورد استفاده نیز کاهش یابد. از مشکلات این مرحله کار نامشخص بودن زمان دقیق برداشت بود زیرا در بعضی از وان ها بدلیل تکثیر اسپیرولینا اندازه آنها بسیار کوچک شده و از توری عبور می کردند. به این دلیل قبل از هر برداشت حتما از وان ها نمونه گیری شد و به تجربه ثابت شد وان هایی که تراکم سلولی بیش از ۷۵۰۰۰cell/ml و میانگین طولی جلبک ها بیش از ۶۰۰ میکرون بود، قابلیت برداشت داشتند. در صورت تراکم بسیار کم، حتی اگر طول سلول هم بیش از ۶۰۰ میکرون بود نباید برداشت صورت بگیرد زیرا در این صورت فضا برای اسپیرولیناهای باقیمانده در وان بیشتر شده و بجای اینکه سلول ها تکثیر شوند طول اسپیرولینا بسیار زیاد می شود که با هوادهی مداوم هم نمی توان رشته های بلند و مارپیچ را از هم جدا کرد و بصورت کلونی به یکدیگر چسبیده و در سطح وان جمع شده و طی چند روز همگی ته نشین شده و از بین می روند.

در وان هایی که تراکم آنها بسیار زیاد(بیش از ۲۵۰۰۰۰cell/ml) بود، امکان برداشت اصلا وجود نداشت زیرا فضای رشد اسپیرولیناها بسیار کم شده بود و برای اینکه این فضا در اختیار آنها قرار بگیرد نصف حجم وان برداشت و در وان دیگری قرار گرفت و حجم وانها با آب شور به ۱۰۰ لیتر رسانده شد که نتیجه بسیار چشمگیر بود. و برای تامین مواد مغذی مجددا کود شیمیایی به وان ها اضافه گردید.

افزایش دما بیش از ۳۵ درجه سانتیگراد بسیار مضر بود و باعث کلنی شدن رشته های اسپیرولینا و ته نشینی انها به کف وان و در نهایت لخته شدن و کپک زدن آنها می شد.

با انجام این تحقیق مشخص گردید که گونه *Arthrospira platensis* مشروط به اینکه دچار شوک دمایی و شوری نشود، گونه ای مقاوم و سازگار با شرایط آب و هوایی ایران است و کشت صنعتی این گونه در ایران با هزینه نسبتا مناسبی قابل انجام است و با توجه به وسعت کاربرد آن می توان در صنایع مختلف مورد بهره برداری قرار گیرد.

Archive of SID

www.SID.ir

سپاسگزاری

بدینوسیله از زحمات جناب آقای دکتر محمد پیری ریاست محترم وقت و جناب آقای مهندس علی دانش خوش اصل معاونت محترم وقت و کارشناسان محترم آقایان سید محمد صلواتیان، کیوان عباسی رنجبر، جلیل سبک آرا ومصطفی صیاد رحیم و سایر عزیزانی که با در اختیار قرار دادن آزمایشگاه و همکاریهای عملی در انجام هر چه بهتر این تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و سپاسگزاری می شود.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

۱. حق نجات، م.، ۱۳۸۰، تغذیه مرحله زوآ میگوی ببری سبز در مرحله لاروی، دومین سمینار آموزشی تکثیر و پرورش میگوی ببری سبز، معاونت توسعه آبزی پروری اداره کل آموزش و ترویج.۵۳صفحه.
۲. هوف ف.، اسنل ت.، ۱۳۸۷، تکثیر و پرورش غذای زنده، دستوالعمل تکثیر و پرورش پلانکتون ها، ترجمه آذری تاکامی ق.، امینی چرمهینی م.، موسسه انتشارات دانشگاه تهران، ۳۴۲ صفحه.

3. Belay A. 2002. The potential application of *Spirulina* as a nutritional and therapeutic supplement in health Management, The Journal of the American Nutraceutical Association, vol. 5. no. 2, 26-50.
4. Choonawala, B., 2007, Spirulina production in Brine Effluent from Cooling Towers, Durban University of Technology. p 405
5. Fao, 2006. Fishstat software.
6. Ingthamjitr S. 1989. Use of spirulina in the culture of *P. monodon* larvae, AGRIS record, Bankok, Thailand.
7. Jaime- Ceballos B., Hernandez-Llamas A., Garcia-Galano T.,Villarreal H., 2006. Substitution of *Chaetoceros muelleri* by *Litopenaeus schmitti* larvae, Aquaculture 260, 215-220.
8. Jimenez C., Cossio B. R., Labella D., Xavier Niell F., 2003. The feasibility of industrial production of spirulina in southern Spain, Aquaculture 217(2003)179-190.
9. Jourdan P., 2001. Manual of small scale Spirulina culture, Antenna Technologies. p. 15.
10. Miranda M. S., Cintra R. G., Barros S. B.M. and Mancini-Filho J., 1998. antioxidant activity of micro alga *Spirulina maxima*, Brazilian Journal of Medical and Biological Research.
11. Prescott G. W. & Brown M. C, 1969. Algae of the Western Great Lake areas, Company Pub.
12. Rahman M. M., Escobedo-Bonilla C. M., Wille M., Alday Sanz V., Audoorn L., Neyts J., Pensaert M. B.,
13. Sorgeloos P., Nauwynck H. J. 2006. Clinical cidofovir and a diet supplement with *Spirulina platensis* in white spot syndrome virus (WSSV) infected specific pathogen-free *Litopenaeus vannamei* juvenile, Aquaculture 255, 660-605.
14. Raoof B., Kaushik B. D. and R. Prasanna. 2006. Formulation of a low-cost medium for mass production of spirulina, Biomass and Bioenergy Journal, Vol 30, Issue 6. pp:537-542.
15. Regunthan C., Wesley S. G., 2006. Pigment deficiency correction in shrimp broodstock using Spirulina.
16. Regunthan C., Wesley S. G., 2006. Pigment deficiency correction in shrimp broodstock using Spirulina as a carptenoid source, Aquaculture Nutrition, 12; 425-432. Blachwell publishing Ltd.
17. Sanchez M., Bernal-Castillo J., Rozo C., Rodriguez I., 2002. Spirulina: an edible microorganism. A review.
18. Todd Lorenz R., 1998. A review of *Spirulina* as a carotenoid and vitamin source for cultured shrimp, Spirulina Pacifica Technical Bulletin, Cyanotech Corporation.
19. Tri-Panji, Suharyanto, 2001. Optimization media low-cost nutrient sources for growing *Spirulina Platensis* and carotenoid production, Menara Perkebunan. 69(1), 18-28.
20. Volkmann H., Imianovsky U., Oliveira J. L. B., Sant Anna E. S., 2008. Cultivation of *Arthrospira platensis* in desalinator wastewater and salinated synthetic medium: protein content and amino acid profile, Brazilian Journal of Microbiology 39:1-4.
21. Yunus; Asliant T., 1988. Experiment in the mass production of dried *Spirulina* for fish and shrimp larvae food, AGRIS Center, Indonesia.

Archive of SID

www.SID.ir

Experimental culture of *Arthrospira platensis* in Iran

Mansoreh Ghaeni[1], Abbas Matinfar[2], Mehdi Soltani[3], Mohammad Rabbani[4]
1- Islamic Azad University, Ahvaz Branch
2- Department of Aquaculture, Iranian Fisheries Research Institute, Tehran, Iran.
3- Aquatic Disease Department, Veterinary Faculty, University of Tehran, Tehran, Iran
4- Iran Atomic Organization, Tehran, Iran

Email: mansoreh.ghaeni@gmail.com

Abstract

In this research, spirulina was imported form Indonesia to Iran. After microscopic evaluation by identification key according to appearance, diameter, length of cell and trichome in liquid and semi-solid media, species had been known as Arthrospira platensis. This microalga has been cultured in laboratory condition throughout 40 days and concentration of cell was calculated in different periods. At first, it was cultured in 350ml containers after that it has been cultured under green house condition and transferred in 1.5 l containers. The best growth showed in 18 day period in 300 ml container that was prepared with 20ml of Spirulina inoculums with 17500 cell/ml concentration, florescent light (40w) with 16hour light and aeration for 24 hours. In this condition concentration of cell was counted by neobar lam 127500 cell/ml. J treatment among 1.5 l containers had maximum concentration about 400000cell/ml. This microalga has been cultured in outdoor with greenhouse condition and when the size and concentration of spirulina was suitable then biomass was harvested and produced dry product of spirulina.

Key words: cell concentration, Iran, lab culture, mass culture, Spirulina.

www.SID.ir