

افزایش تراکم سلولی جلبک *Dunaliella tertioletca***در محیط‌های کشت مختلف در شرایط آزمایشگاهی*****معصومه صفری غریب‌وند^۱ و سکینه ولی‌پور^۱**^۱دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیلات، واحد علوم تحقیقات خوزستان، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۲۵

چکیده

بررسی افزایش تراکم سلولی جلبک تک‌سلولی *Dunaliella tertioletca* با استفاده از چهار محیط کشت مختلف Sato، Guillard، Conway و TMRL در شرایط یکسان از نظر میزان نور (۲۰۰۰ تا ۵۰۰۰ لوکس)، دما (۲۲/۵-۲۴ درجه سانتی‌گراد، شوری ۲۵ قسمت در هزار، pH برابر با ۸/۵ و هوادهی، به مدت ۱۶ روز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که از بین این چهار محیط کشت، بالاترین میزان افزایش تراکم سلولی در محیط کشت TMRL به دست آمده ($P < 0/05$) و با مقادیر تراکم سلولی به دست آمده با محیط‌های کشت Conway و Guillard اختلاف معنی‌دار نداشت ($P > 0/05$). ولی میزان افزایش تراکم سلولی این جلبک در کشت با محیط کشت Sato نسبت به سایر تیمارهای دیگر کم‌تر بود ($P > 0/05$). در مجموع می‌توان نتیجه گرفت که هر سه محیط کشت TMRL، Conway و Guillard 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.* به عنوان 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، ۱۹۹۶). این جلبک آب شور، به راحتی دامنه شوری ۱۰-۱۰۰ قسمت در هزار را تحمل می‌کند (Canavate و Garrido، ۲۰۰۰). امروزه در بسیاری از کشورهای جهان به صورت انبوه در تانک‌های پلی‌اتیلنی، استخرهای بتونی و خاکی به صورت کاملاً خالص و تجاری کشت داده می‌شود (Lavens و Sorgeloss، ۱۹۹۶).

Dunaliella tertiolecta یک عضو مقاوم در برابر نور است که آب‌های شور را هم می‌تواند تحمل نماید. این تحمل بالا به دلیل وجود گلیسرول از نوع اسموتیکوم غالب بوده که آن را در برابر شوری بالا مقاوم ساخته است (Leoblich، ۱۹۶۹). 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

نهایت بررسی تأثیر طولانی مدت عصاره بر روی نمونه آلوده شده نشان داد، که این عصاره در ۷۲ ساعت هیچ تأثیر منفی بر توده جلبکی نداشته است. با توجه به خواص جلبک *Dunaliella tertioletca*، بررسی اثرات افزایش تراکم سلولی جلبک تک سلولی *Dunaliella tertioletca* با استفاده از چهار محیط کشت مختلف Sato, Guillard, Conway 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 ۴ 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.

تیمار بندی

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 به میزان جلبک مصرفی در هر یک از کشت‌ها حداقل ۱۲۰۰ میلی لیتر 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

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

جلبک دونالیلا به دلیل دارا بودن بتاکاروتن طبیعی و خاصیت آنتی اکسیدان آن اثر ضدسرطانی دارد. همچنین به دلیل وجود باکتری اسید لاستیک در آن دارای خصوصیت پروبیوتیک می باشد. این جلبک به عنوان رنگ طبیعی در صنایع غذایی و آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار می گیرد. از بتاکاروتن برای بهتر کردن ظاهر محصولات مثل مارگارین، ماکارانی، روغن‌های نباتی هیدروژنه، پنیر، آب میوه‌ها، غذاهای پخته شده، محصولات کنسرو شده، شیرینی‌ها، ادویه‌ها و به صورت موضعی در فرمولاسیون مواد آرایشی استفاده می شود. این جلبک به عنوان منبع غذایی میگو، ماهی، صدف، خرچنگ و ... به کار می رود. به عنوان مکمل غذایی برای بهتر کردن باروری و سلامتی حیوانات استفاده می شود. در این آزمایش از چهار محیط کشت مختلف استفاده شده است. به منظور 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)، CONWAY, SATO، و TMRL (Lavens و Sorgeloos, ۱۹۹۶) استفاده شده است. منافذ و همکاران (۱۳۸۴)، در پژوهشی که در زمینه استفاده از عصاره دانه گیاه *Azadirachta indica* علیه مژکداران تک سلولی مهاجم در محیط پرورش متراکم جلبک تک سلولی *Dunaliella tertioletca* انجام داده‌اند، مشاهده کردند که عصاره، در دوزهای بالاتر از ۵-۴ میلی گرم در لیتر در ۲۴ ساعت توانایی حذف کامل آلودگی و ترمیم توده جلبک آلوده را دارد، در حالی که در همین دوز بازماندگی توده جلبکی بیش از ۸۰ درصد می باشد. در

آب حل کرده و با استفاده از شوری‌سنج از میزان شوری آب مطمئن شده و با استفاده از کیف 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 ۲۴ ساعته و نور دائمی مهتابی و دمای بین ۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد کشت‌ها نگهداری شده و روزانه شمارش و بررسی انجام گردید (Lavens و Sorgeloos, ۱۹۹۶).

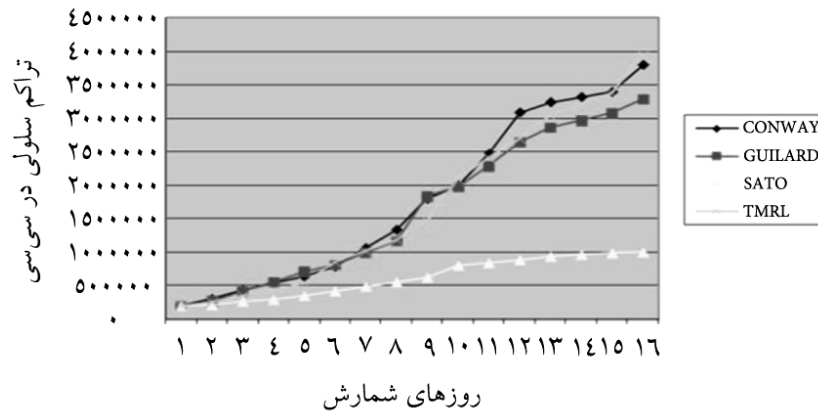
تجزیه و تحلیل داده‌ها: از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ برای آنالیز داده‌ها استفاده گردید. از تست ANOVA یک‌طرفه و آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ برای بررسی معنی‌دار بودن تفاوت میانگین تیمارها استفاده شده است.

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

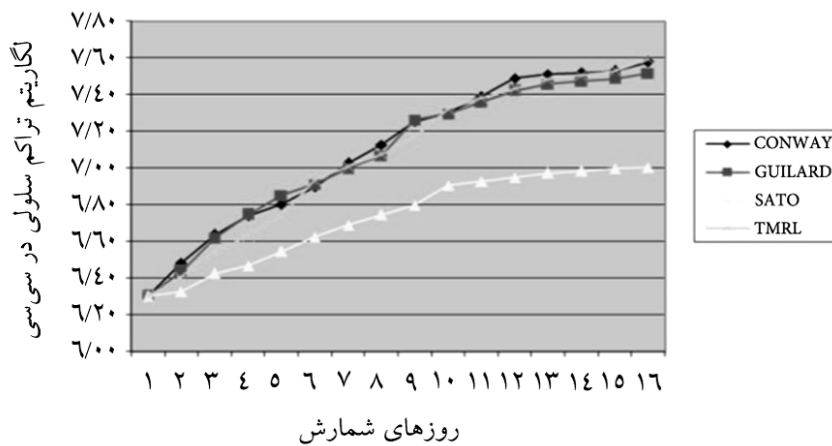
این به دلیل محدود شدن مواد مغذی- نور- pH، دی اکسید کربن و دیگر فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی رشد سلول‌ها (افزایش تراکم سلولی) کاهش یافته و تقریباً به میزان ثابتی از تراکم سلولی رسیدند. البته در روز ۱۴ کشت، دوباره شروع به افزایش تراکم سلولی نموده و همچنان بر تراکم سلول‌ها افزوده شده و سلول‌های موجود در محیط کشت کانوی هم دوره‌های رشدی خود را با تفاوت اندکی کم‌تر از سلول‌های موجود در محیط کشت TMRL گذرانده و در روز ۱۴ 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 ($P > 0/05$). 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 ($P \leq 0/05$) 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 ۱۶ 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.

کشت Conway ($7/88 \pm 0/74$) میلیون سلول در سی سی) و تیمار ۲ (محیط کشت f/2 گیلارد) ($8/15 \pm 2/22$) میلیون سلول در سی سی) اختلاف معنی دار آماری نداشت ($P > 0/05$). ولی با مقدار به دست آمده برای تیمار ۳ (محیط کشت Sato) ($4/22 \pm 0/86$) میلیون سلول در سی سی) اختلاف معنی دار داشته ($P \leq 0/05$) است. این در حالی است که تراکم سلولی به دست آمده برای محیط کشت ساتو با مقادیر تراکم سلولی در محیط‌های کشت

آنالیز آماری تراکم‌های سلولی در روزهای مختلف کشت آنالیز روز ششم کشت طبق جدول آنالیز واریانس یک طرفه: طبق نتایج به دست آمده از آنالیز واریانس یک طرفه میانگین‌های تیمارهای مختلف برای روز ششم بالاترین میزان تراکم سلولی جلبک دونالیلا با استفاده از تیمار ۴ (محیط کشت TMRL) به دست آمد ($8/53 \pm 2/15$) میلیون سلول در سی سی). این میزان با مقادیر به دست آمده برای تیمار ۱ (محیط

آنالیز روز شانزدهم کشت طبق جدول آنالیز واریانس یک طرفه: طبق نتایج به دست آمده از آنالیز واریانس یک طرفه میانگین تیمارهای مختلف برای روز شانزدهم کشت بالاترین میزان تراکم سلولی جلبک دونالیلا را تیمار ۴ (محیط کشت ت م ر ل) با مقادیر $39/40 \pm 4/69$ میلیون سلول در میلی لیتر سی سی) داشته که این میزان با مقادیر به دست آمده برای تیمار ۱ (محیط کشت کانوی^۵) با تراکم سلولی $37/90 \pm 12/23$ (میلیون سلول در میلی لیتر) و تیمار ۲ (محیط کشت f/2 گیلارد^۶) با تراکم سلولی $32/87 \pm 2/96$ (میلیون سلول در میلی لیتر) اختلاف معنی دار نداشت ($P > 0/05$) ولی با مقادیر به دست آمده برای تیمار ۳ (محیط کشت ساتو) با تراکم سلولی $10/03 \pm 2/92$ (میلیون سلول در میلی لیتر) اختلاف معنی دار داشت ($P \leq 0/05$) و در روز شانزدهم به طور کلی بالاترین میزان تراکم سلولی جلبک دونالیلا را تیمار ۴ محیط کشت (TMRL) با مقادیر $39/40 \pm 5/69$ میلیون سلول در میلی لیتر) داشته و کمترین میزان تراکم سلولی جلبک دونالیلا را تیمار ۳ محیط کشت Sato با مقادیر $10/03 \pm 2/92$ میلیون سلول در میلی لیتر) داشته است که در اواخر این دوره به مرحله crash یا مرگ سلولها رسیده اند.

کانوی و f/2 گیلارد تفاوت معنی دار نداشت ($P > 0/05$). روز ششم کمترین میزان تراکم سلولی را محیط کشت Sato با میزان $4/22 \pm 0/86$ میلیون سلول دونالیلا در سی سی) داشته و بیشترین میزان تراکم سلولی را محیط کشت (TMRL) با میزان سلول $8/53 \pm 215$ میلیون سلول جلبک دونالیلا در سی سی) داشته است.

آنالیز روز دوازدهم کشت طبق جدول آنالیز واریانس یک طرفه: طبق نتایج به دست آمده از آنالیز واریانس یک طرفه 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 $30/83 \pm 7/09$ میلیون سلول در میلی لیتر سی سی) که این میزان تراکم سلولی به دست آمده با تیمارهای ۲ و ۴ که (محیط کشت تیمار ۲ f/2 گیلارد^۱ و (محیط کشت تیمار ۴ (ت م ر ل)^۲ می باشد و مقادیر هر کدام به ترتیب تیمار ۲ $26/43 \pm 4/95$ میلیون سلول در میلی لیتر سی سی) و تیمار ۴ $27/03 \pm 4/82$ میلیون سلول در میلی لیتر سی سی) بوده اختلاف معنی دار نداشت ($P > 0/05$) ولی با مقادیر به دست آمده برای تیمار ۳ (محیط کشت ساتو^۳) و میزان $8/87 \pm 0/95$ میلیون سلول در میلی لیتر) اختلاف معنی داری داشته است ($P \leq 0/05$) و روز دوازدهم کمترین میزان تراکم سلولی را تیمار ۳ (محیط کشت ساتو با مقادیر $8/87 \pm 0/95$ میلیون سلول در میلی لیتر) داشته و بیشترین میزان تراکم سلولی را تیمار ۱ (محیط کشت کانوی^۴) با مقادیر $30/83 \pm 7/09$ میلیون سلول در میلی لیتر سی سی) داشته است.

1- Guillard f/2

2-TMRL

3- Sato

4- Conway

5- Conway

6- Guillard

جدول ۱- آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) میانگین‌های به دست آمده در تیمارهای مختلف محیط‌های کشت جلبک دونالیا.

تیمار	روز ششم	روز دوازدهم	روز شانزدهم
Conway: 1	۷/۸۸±۰/۷۴ ^{ab}	۳۰/۸۳±۷/۰۹ ^a	۳۷/۹۰±۱۲/۲۳ ^a
Guillard:2	۸/۱۵±۴/۹۵ ^{ab}	۲۶/۴۳±۴/۹۵ ^a	۳۲/۸۷±۲/۹۶ ^a
Sato:3	۴/۲۲±۰/۸۶ ^b	۸/۸۷±۰/۹۵ ^b	۱۰/۰۳±۲/۹۲ ^b
TMRL:4	۸/۵۳±۲/۱۵ ^a	۲۷/۰۳±۴/۸۲ ^a	۳۹/۴۰±۵/۶۹ ^a

SD ± میانگین: اعداد در یک ستون با حروف متفاوت با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند ($P \leq 0/05$).

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، همان‌طور که 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 دونالیا 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. همان‌طور که از نمودار مشهود است کشت‌های جلبکی که در آن‌ها از محیط کشت SATO استفاده شده بود در کل دوره کشت به‌طور معناداری ($P > 0/05$) از تراکم سلولی پایین‌تری نسبت به کشت‌های دیگر برخوردار بودند و سیر صعودی قابل توجهی نداشته است و از 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 *Dunaliella tertiolecta* 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 دونالیا ترتیو لتکا در این محیط کشت (Sato) با سه محیط کشت دیگر (TMRL-Guillard-Conway) مشاهده شد. پقه و

جلبک در محیط کشت Sato نمی توان به میزان مناسبی از تراکم سلولی این جلبک رسید. با افزایش تراکم سلولی جلبک دونالیلا در تیمارهای مختلف مشاهده شده که جلبک های 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 معنی داری نداشته است ($P > 0/05$) 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 به دلیل 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 کشت ها استفاده شده دیده شده است.

همکاران (۲۰۰۷) دریافتند که بهترین شوری و محیط برای کشت و پرورش جلبک نانوکلوپسیس اوکولاتا، محیط کشت Conway و شوری ۲۰ قسمت در هزار بوده است که بعد از شش روز بالاترین تراکم سلولی را مشاهده کرده اند، هر چند این میزان با تراکم های سلولی به دست آمده برای شوری های ۲۵ و ۳۰ قسمت در هزار اختلاف معنی دار مشاهده نگردیده است ($P > 0/05$). این امر نشان دهنده این موضوع بود که برای کشت این گونه جلبک می توان از محیط کشت کانوی در شوری های ۲۰ تا ۳۰ قسمت در هزار استفاده کرد. با توجه به اختلاف معنی داری که در سه محیط کشت کانوی (TMRL) و گیلارد از نظر تراکم سلولی با محیط کشت ساتو مشاهده گردیده است ($P \leq 0/05$)، توجه به این که بیشترین مقدار تراکم سلولی جلبک دونالیلا در محیط کشت ساتو مشاهده شده است، این امر نشان می دهد که محیط کشت ساتو برای کشت جلبک دونالیلا ترتیولتکا به منظور داشتن حداکثر تراکم سلولی جلبک، محیط کشت مناسبی نبوده است و با کشت

منابع

- مناف فر، ر.، رامین، م.، و آتشبار، ب. آق. ن.، ۱۳۸۴. استفاده از عصاره دانه گیاه *Azadirachta indica* علیه مژکداران تک سلولی مهاجم در محیط پرورش متراکم جلبک تک سلولی، مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، شماره ۷۱.
- Amotz, A., Katz, A., and Auron, M., 1982. Accumulation of β -carotene in falotolerant Algae: Purification and characterization of β -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 Zabayah Najafabadi, M., 2007. Effect of Salinity and culture media on the concentration increasment of *N. oculata* algae. The Arabian seas international conference on science and technology of aquaculture, fisheries and aceanography. 10-13 Feb. 2007.

Archive of SID