فصلنامه علمی
دورهٔ ۲، شمارهٔ ۱، بهار۱۳۹۲، صفحه ۱۳ – ۲۳

تأثیر درجه حرارت و شدت نور بر تراکم سلولی و میزان رشد *Dunaliella salina* Teodoresco

معصومه پورافراسیابی[1*]، زهره رمضانپور[2]، جاوید ایمانپور نمین[3] و مرجان صادقی‌راد[4]

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران
۲- استادیار، مؤسسه تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت – سنگر، رشت، ایران
۳- استادیار، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران
۴- مربی پژوهشی، مؤسسه تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت – سنگر، رشت، ایران

دریافت: ۱۳۹۱/۰۶/۱۶ پذیرش : ۱۳۹۱/۱۰/۲۵

* نویسنده مسئول مقاله: تلفن: ۰۲۱۶۶۹۱۰۴۷۴، Email: masomeh_a52@yahoo.com

چکیده:

تراکم سلولی و میزان رشد جلبک *Dunaliella salina* Teodoresco خالص سازی شده از دریاچه ارومیه در شدت نور ۵۰ و ۱۵۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه[1] در دو دمای ۲۵ و ۳۱ درجه سانتیگراد بررسی شد. میزان رشد ویژه[2] با آزمون آنالیز واریانس دوطرفه بین تیمارها مقایسه شد. بیشترین تراکم سلولی در شدت نور ۱۵۰ میکرومول و دمای ۲۵°C، $۱۰^{۶}$ × ۴/۸ سلول در هر میلی‌لیتر بود. کمترین آن ($۱۰^{۶}$ × ۲/۸ سلول در هر میلی‌لیتر) در شدت نور ۵۰ میکرومول در دمای ۳۱°C ثبت شد. میزان رشد ویژه اختلاف معناداری در تیمارهای مختلف داشت ($P < ۰/۰۵$). بیشترین میزان رشد (۰/۳۸ در روز) در شدت نور ۱۵۰ میکرومول در دمای ۲۵°C و حداقل آن (۰/۱۶ در روز) در ۳۱°C و ۵۰ میکرومول ثبت شد. افزایش دما از ۲۵ به ۳۱°C سبب کاهش تراکم سلولی و میزان رشد جلبک گردید، اما افزایش شدت نور از ۵۰ به ۱۵۰ میکرومول در هر دو دما سبب افزایش این دو عامل گردید.

کلید واژگان: میزان رشد، درجه حرارت، شدت نور، *Dunaliella salina*

1. micromol.photons.m-2.s-1 ؛ به اختصار میکرومول
2. Specific Growth Rate

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

جلبک‌ها گروهی از ارگانیزم‌های فتوسنتزکننده‌اند که به دو دسته جلبک‌های میکروسکوپی و ماکروسکوپی تقسیم می‌شوند. جلبک‌های میکروسکوپی عموماً تک سلولی‌اند و ابتدایی‌ترین منبع انرژی به شمار می‌روند. این گروه از ارگانیزم‌ها، منابع تولید ترکیبات بیوشیمیایی با ارزش (رنگدانه، پروتئین، لیپیدها و ...) محسوب می‌شوند (Sukenik et al., 1993). جلبک‌های میکروسکوپی به عنوان منبع پاک و تجدیدپذیر در صنعت بیوتکنولوژی استفاده می‌شوند. ترکیبات بیوشیمیایی حاصل از آن‌ها در صنایع مختلف غذایی، پزشکی، داروسازی و تولید سوخت زیستی[1] کاربرد دارد (Sukenik et al., 1993; Dunstan et al., 1993). امروزه علم بیوتکنولوژی به دنبال یافتن محرک‌های مؤثر برای افزایش میزان رشد در جلبک‌هاست. جلبک‌های میکروسکوپی به دلیل اینکه فتوسنتزکننده می‌باشند به منبع نور، دی‌اکسید کربن، آب و نمک‌های معدنی جهت رشد نیازمندند (Balat, 2010). به منظور افزایش بازدهی و میزان رشد در این ارگانیزم‌ها، امروزه از علوم مهندسی ژنتیک و متابولیک استفاده می‌شود. در مهندسی متابولیک از طریق تغییر شرایط فیزیکی (دوره نور، شدت نور و غیره) و شیمیایی (نیتروژن، شوری، فسفات و غیره) محیط کشت در قالب طرح پایلوت یا آزمایشگاهی، بهترین شرایط مورد نیاز کشت هر گونه از جلبک به صنعت معرفی می‌شود (Liska et al., 2004; Mata, 2010).

در انتخاب نژادهای متنوع جلبک، عوامل مختلف مورد توجه قرار می‌گیرد که برخی از مهمترین این ویژگی‌ها، میزان رشد طبیعی جلبک، میزان تجمع زیتوده در واحد زمان و در واحد حجم، مقاومت در برابر استرس‌های محیطی مانند درجه حرارت، ورودی نور و مواد مغذی، امکان رقابت با گونه‌های دیگر و باکتری‌ها، امکان استفاده از مواد مغذی گوناگون بویژه دی‌اکسید کربن، فسفر و نیتروژن حاصل از زه آب کشاورزی، سهولت برداشت و فرآوری زیتوده، سهولت آنالیز، استخراج و خالص‌سازی ترکیبات بیوشیمیایی می‌باشند (Mata, 2010). به همین دلیل، جلبک‌های سبز به طور گسترده برای کشت استفاده می‌شوند (Mata, 2010).

جلبک میکروسکوپی Teodoresco (۱۹۰۵) *Dunaliella salina* در شاخه Chlorophyta، رده Chlorophyceae، راسته Dunaliellales، خانواده Dunaliellaceae و جنس *Dunaliella* قرار دارد (Borowitzka and Siva, 2007). از ویژگی‌های این جلبک تک‌سلولی، شکل بیضوی و دو تاژک آن است. این جلبک فاقد دیواره ضخیم است، اما در برابر شوری و تغییر شرایط محیط مقاوم می‌باشد (Phadwal and Singh, 2003; Liska, 2004). بخش قابل توجه‌ای از تولیدات اولیه در اکوسیستم‌های آب شور توسط این گونه انجام می‌شود (Oren, 2005). ترکیبات بیوشیمیایی حاصل از این جلبک در صنایع مختلف استفاده می‌شوند. به همین دلیل فراهم کردن شرایط بهینه کشت در این جلبک ضروری است (Mata, 2010).

مطالعات مختلفی در زمینه تأثیر کمیت و کیفیت نور و نیز درجه حرارت بر تراکم سلولی و میزان رشد جلبک‌ها انجام شده است. از جمله آن‌ها می‌توان به معرفی درجه حرارت مناسب در شرایط کشت طبیعی *D. salina* توسط Borowitzka (۱۹۸۱)، مقایسه میزان رشد نژادهای مختلف (نژادهای مربوط به کشور شیلی، چین، استرالیا و مکزیک) *D. salina* در درجه حرارت ۱۵ و ۲۶ °C و

1. Biodiesel

Archive of SID

www.SID.ir

شـدت نـور ۴۰ و ۱۱۰ میکرومـول توسـط Gomez و González (۲۰۰۵)، بررسـی تـأثیر شـدت نـور و میـزان جذب فسفر و نیتروژن در سه گونه از جلبـک آب شـیرین (*Selenastrum* ،*Coelastrum microporum* *minutum* و *Cosmarium subprotumidum*) توسـط Bouterfas و همکـاران (۲۰۰۶)، مقایسـه میـزان رشـد *Spirulina platensis* در فصـل تابسـتان و زمسـتان توسـط Isik (۲۰۰۶)، تحقیقـات AK و همکـاران (۲۰۰۸) روی *Dunaliella viridis* در شـدت نـور ۵۰ و ۷۰ میکرومول، بررسی میزان رشـد *Dunaliella tertiolecta* با سه منبع نور (لامپ دوقطبی سفید، لامپ دوقطبی قرمـز، لامپ فلوئورسنت) با شدت ۱۰۰ میکرومول، دوره تاریکی: روشـنایی ۹ : ۱۵ سـاعت و غلظـت ۴٪ دی‌اکسـید کـربن توسط Tang و همکاران (۲۰۱۰) اشاره کرد.

هدف از مطالعه حاضر، مقایسه تراکم سـلولی و میـزان رشـد *D. salina* Teodoresco در شـدت نـور و درجـه حرارت‌های مختلف، برای انتخاب شرایط بهینـه کشـت در این جلبک است. این جلبک از دریاچـه ارومیـه جداسـازی شده و به عنـوان یکـی از نژادهـای مهـم ایرانـی محسـوب مـی‌شـود. مطالعـه حاضـر بـا هـدف تکمیـل یافتـه‌هـای Borowitzka (۱۹۸۱) و نیـز Gómez و González (۲۰۰۵)، از طریق مطالعه روی یکی از نژادهـای ایرانـی *D. salina* انجام شده است.

مواد و روش‌ها

جلبک آب شـور *D. salina* Teodoresco از دریاچـه ارومیه جداسازی شد. پس از شناسایی توسط پژوهشکده آرتمیای ارومیه، استوک آن بـرای کشـت بـه آزمایشـگاه اکولوژی مؤسسه تحقیقات بین‌المللی ماهیـان خاویـاری دکتر دادمان رشـت منتقـل گردیـد. بـا اسـتفاده از روش کشت خطی جامد و تکرار کشت مایع خالص‌سـازی بـه طور دقیق‌تری انجام شد. سلول‌های ذخیره [1] این جلبک تهیه و در دمای پایین نگهداری شدند. محیط کشت JM (Jaworski's Medium) تهیـه شـد (CCAP, 1988). این محیط کشـت شـامل ۹ محلـول اسـتوک اسـت و از نمـک‌هـای مختلـف ($Ca(NO_3)_2.4H_2O$، KH_2PO_4، $MgSO_4.7H_2O$، $NaHCO_3$، EDTAFeNa، $EDTANa_2$، H_3BO_3، $MnCl_2.4H_2O$، $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$، $NaNO_3$، $Na_2HPO_4.12H_2O$) و محلـول ویتـامین (سیانوکوبالامین، تیامین HCl و بیوتین) تشکیل می‌شود. محیط‌کشت JM بـرای کشـت جلبـک‌هـای آب شـیرین پیشنهاد می‌شود. در این جلبک‌ها، ۱ میلی‌لیتر از هر یک از ۹ محلول استوک به ۱ لیتر آب پایه مقطر اضافه مـی-شود. در این مطالعه به منظور کشت جلبک آب شور *D. salina*، از هر یک از ۹ محلول استوک ۱ میلی‌لیتر به ۱ لیتر آب پایه با شوری ۱/۳ مولار NaCl اضافه شد. پس از تهیه محیط‌کشت (پیش از اتوکلاو و افزودن ویتامین)، میزان اسیدیته آن با استفاده از دسـتگاه pH متـر (مـدل: WTW) و محلول NaOH یا HCl در محـدوده ۷/۵، کالیبره شد. پس از اتوکلاو و سرد شدن محیط‌کشـت، ۱ میلی‌لیتر از محلول ویتامین فیلتـر شـده توسـط دسـتگاه فیلتراسیون (مدل: Millipore)، به آن افزوده شد. قبل از هر مرحله از آزمایش لوله‌های آزمایش، پی‌پـت و غیـره برای جلوگیری از بروز آلودگی با اسـتفاده از تجهیـزات استریل‌سازی مانند آون، دستگاه اتوکلاو استریل شـدند. ۵ میلی‌لیتر از محیط‌کشت، زیـر شـعله بـه هـر یـک از

1. Stock

Archive of SID

www.SID.ir

لوله‌های آزمایش با سه تکرار (n=۱۲) اضافه شد. ۱ میلی‌لیتر از سلول‌های ذخیره *D. salina* (۵۰×۱۰^{۴} سلول در هر میلی‌لیتر) به آن تزریق گردید. لوله‌های آزمایش به اتاق کشت منتقل شدند و در هر اتاقک با یک تیمار نوری خاص، با شدت نور ۵۰ و ۱۵۰ میکرومول و دوره تاریکی: روشنایی ۲۴:۰ ساعت، قرار گرفتند. شدت نور با استفاده از منبع نوری فلوروسنت و دستگاه لوکس متر (مدل : TES-1336A, RS232) به دقت تنظیم شد. به منظور ایجاد شرایط دمای طبیعی، این آزمایش در دو فصل زمستان و تابستان به ترتیب با میانگین درجه حرارت ۰/۵± ۲۵ و ۰/۵± ۳۱ (انحراف معیار± میانگین) درجه سانتیگراد انجام شد. شمارش سلول‌ها، با نمونه‌برداری از ۳ تکرار هر تیمار، به صورت روزانه انجام گرفت و از سه سری داده شمارش شده میانگین گرفته شد. شمارش سلول‌ها با استفاده از لام توما انجام شد. میزان رشد ویژه با استفاده از معادله رشد نمایی $\mu = \ln (N(t) / N_0) (t - t_0)^{-1}$ محاسبه شد که در آن μ: میزان رشد ویژه (در روز)، t_0: زمان شروع فاز نمایی (روز)، N_0: تعداد سلولهای جلبک در شروع فاز نمایی (سلول در میلی‌لیتر) و N تعداد سلولها در پایان (t) است (Guillard, 1973).

از آزمون آنالیز واریانس دوطرفه (Two- way ANOVA) برای تخمین معنادار بودن اختلاف بین تیمارها و از آزمون توکی برای شناسایی اختلاف بین هر سطح از تیمار استفاده شد.

نتایج

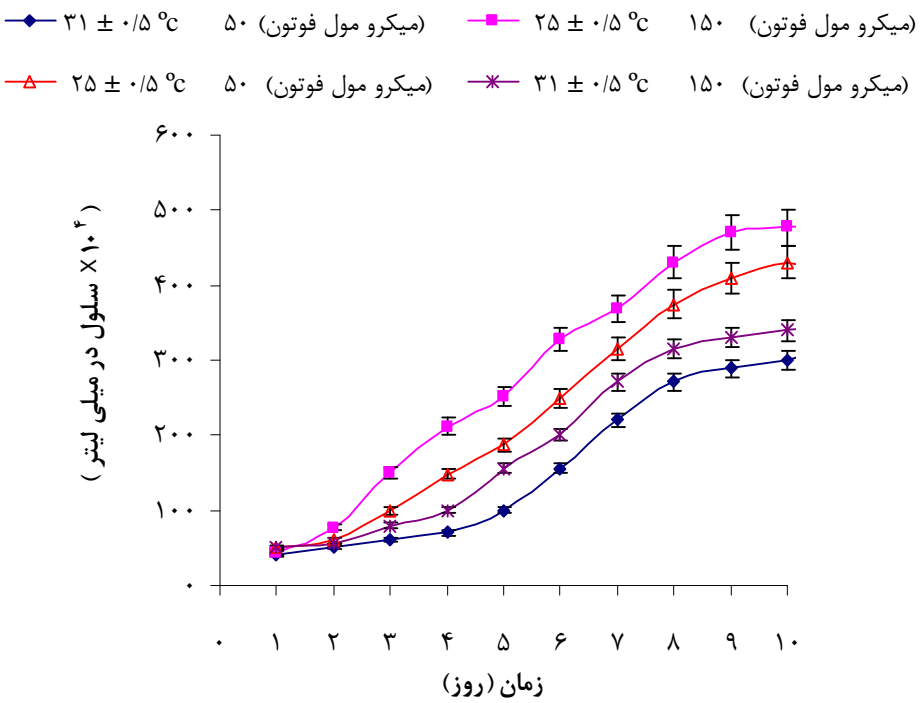
با شمارش سلول‌های *D. salina*، منحنی روند تغییرات جمعیت این جلبک در شدت نور ۵۰ و ۱۵۰ میکرومول و درجه حرارت ۰/۵±۲۵ و ۰/۵±۳۱ درجه سانتیگراد (انحراف معیار ± میانگین)، تحت دوره تاریکی: روشنایی ۲۴:۰ ساعت، به دست آمد (شکل ۱). طولانی‌ترین دوره رشد در بین تیمارها مربوط به شدت نور ۵۰ میکرومول در درجه حرارت ۰/۵± ۲۵ درجه سانتیگراد بود که در آن حداکثر تعداد سلول‌ها در روز دهم به $۴/۲\pm۰/۳ \times ۱۰^{۶}$ سلول در هر میلی‌لیتر رسید. در درجه حرارت ۰/۵± ۲۵ درجه سانتیگراد با افزایش شدت نور به ۱۵۰ میکرومول، دوره رشد کوتاه‌تر شد. در این تیمار حداکثر تراکم سلولی در روز نهم به $۴/۸\pm۰/۶ \times ۱۰^{۶}$ سلول در هر میلی‌لیتر رسید که بیشترین تراکم سلولی در بین تیمارهای مورد مطالعه است. کمترین تراکم سلولی در شدت نور ۵۰ میکرومول و درجه حرارت ۵/ ۰± ۳۱ درجه سانتیگراد مشاهده شد که در آن حداکثر تراکم سلولی (انحراف معیار±میانگین) در روز نهم به $۱۰^{۶} \times$ ۰/۳ ± ۲/۸ سلول در هر میلی‌لیتر رسید. در درجه حرارت ۰/۵ ± ۳۱ درجه سانتیگراد با افزایش شدت نور، تراکم سلولی افزایش یافت. حداکثر تراکم سلولی در روز هشتم به $۳/۲ \pm ۰/۲\times۱۰^{۶}$ سلول در هر میلی‌لیتر رسید که کوتاه‌ترین دوره رشد در بین تیمارها به شمار می‌رود.

میزان رشد ویژه اختلاف معناداری در بین تیمارها داشت ($F= 12.588$ ،$d_f = 3, 35$ ،$P= 0.000$). بیشترین میزان رشد (۰/۳۸ در روز) در شدت نور۱۵۰میکرومول و درجه حرارت ۰/۵ ± ۲۵ (فصل زمستان) درجه سانتیگراد و کمترین آن (۰/۱۶ در روز) در درجه حرارت ۰/۵±۳۱ (فصل تابستان) درجه سانتیگراد و شدت نور ۵۰ میکرومول مشاهده شد (شکل ۲).

Archive of SID

www.SID.ir

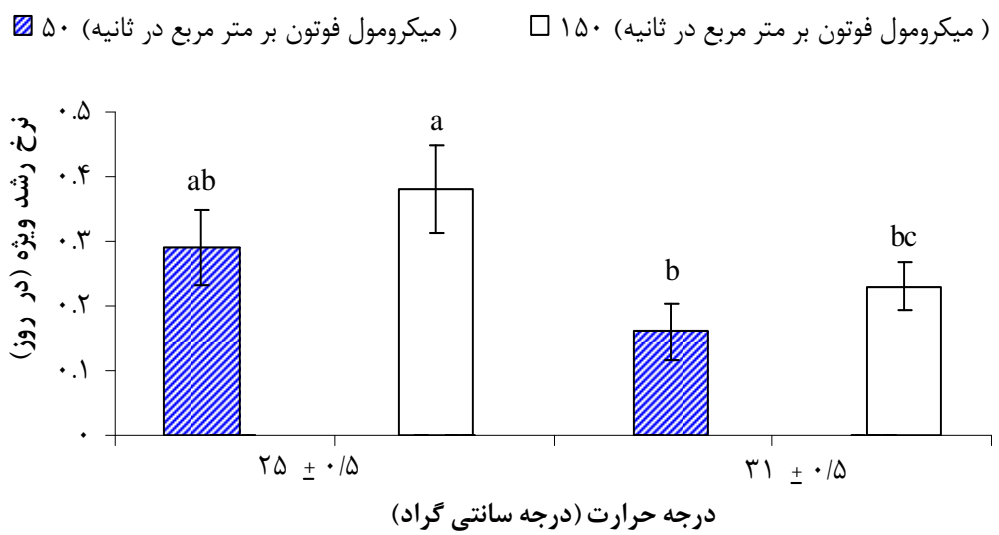
حداکثر میزان رشد ویژه (در روز μ_{max} =۰/۵۵) طی فاز نمایی رشد در درجه حرارت ۲۵ °C و شدت نور ۱۵۰ میکرومول مشاهده شد و کمترین آن (در روز $_{max}$ ۰/۲۴ =μ) در درجه حرارت ۳۱ °C و شدت نور ۵۰ میکرومول بود (جدول ۱).



شکل ۱ منحنی روند تغییرات جمعیت *D. salina* طی دوره کشت در درجه حرارت و شدت نورهای مختلف (انحراف معیار ± میانگین تراکم سلولی)

Archive

www.SID.ir



شکل ۲ مقایسه میانگین میزان رشد ویژه *D. salina* در درجه حرارت و شدت نورهای مختلف طی فاز نمایی رشد

جدول ۱ حداکثر میزان رشد ویژه (μ_{max}) *D. salina* طی فاز نمایی رشد در درجه حرارت و شدت نورهای مختلف

۲۵ درجه سانتیگراد	
شدت نور۵۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه	شدت نور۱۵۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه
۰/۳۶ در روز	۰/۵۵ در روز
۳۱ درجه سانتیگراد	
شدت نور۵۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه	شدت نور۱۵۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه
۰/۲۴ در روز	۰/۲۸ در روز

بحث

رشد جلبک‌ها تحت تأثیر عوامل فیزیکی و شیمیایی محیط مانند درجه حرارت، شدت نور و غیره است (Balat, 2010). کمیت و کیفیت نور و درجه حرارت بر روند رشد و متابولیسم جلبک‌ها تأثیر دارند (Renaud et al., 2002; Richmond, 2004). برای رشد گونه‌های مختلف، شدت نور و درجه حرارت متفاوتی مورد نیاز است (Renaud et al., 2002). نور به عنوان یک عامل محدودکننده رشد باید به طور مناسب تنظیم شود (Sanchez-saavedra and Voltolin, 2002). هرگاه میزان نور دریافتی توسط جلبک کمتر از آستانه مورد نیاز آن باشد، جلبک قادر به کسب انرژی لازم و عمل فتوسنتز نخواهد بود و در شدت نور بالاتر از آستانه تحمل آن، به دلیل آسیب وارده به رنگدانه‌های جمع-کننده نور، فتوسنتز متوقف می‌شود (Rivkin, 1989; Richmond, 2004). بنابراین برای کشت بهینه جلبک‌ها، تنظیم عوامل محیطی ضروری است.

نتایج حاصل از منحنی رشد *D. salina* در دو شدت نور۵۰ و ۱۵۰ میکرومول و درجه حرارت با میانگین ۰/۵± ۲۵ (فصل زمستان) و ۰/۵± ۳۱ (فصل تابستان) درجه سانتیگراد، نشان داد که با افزایش شدت نور از ۵۰ به ۱۵۰، در هر دو درجه حرارت، میانگین تراکم سلول‌ها افزایش

Archive of SID
www.SID.ir

یافت. در این شرایط سلول‌های جلبک در زمان کوتاه‌تری به حداکثر تراکم سلولی خود رسیدند. مطالعات مختلف نشان می‌دهند شدت نور، عامل مؤثری بر تراکم سلولی در جلبک-هاست. افزایش شدت نور، تا آستانه‌ای که خارج از تحمل جلبک نباشد، می‌تواند سبب افزایش تعداد سلول‌ها گردد (Rivkin, 1989; Richmond, 2004). زیرا در این شرایط سرعت جذب مواد مغذی از محیط کشت افزایش می‌یابد (Benamotz, 1995; Ghezelbash et al., 2008). مطالعات مختلف نشان می‌دهد شدت نور مورد نیاز برای گونه‌های مختلف *Dunaliella* sp. متفاوت است (Meseck et al. 2005 ; Ak et al., 2008; Tang et al., 2010). در مطالعه Ak و همکاران (۲۰۰۸) در مورد میزان رشد *D. viridis* در شدت نور ۵۰ و ۷۰ میکرومول، حداکثر رشد و غلظت سلولی در شدت نور ۵۰ به دست آمد. افزایش شدت نور باعث کاهش در تراکم سلولها شد. مطالعه Tang و همکاران (۲۰۱۰) روی میزان رشد *D. tertiolecta* با سه منبع نور مختلف (لامپ دو قطبی سفید، لامپ دو قطبی قرمز، لامپ فلوئورسنت) در شدت نور ۱۰۰ میکرومول، دوره تاریکی: روشنایی ۹: ۱۵ساعت، غلظت ۴٪ دی-اکسیدکربن و دمای ۲۵°C تفاوتی در میزان رشد مشاهده نشد. در این مطالعه، با تعیین سه سطح از شدت نور (۱۰۰، ۳۰۰ و ۲۰۰ میکرومول) با منبع فلوئورسنت بیشترین میزان رشد بین شدت نور۱۰۰ و ۲۰۰ ثبت شد. نتایج این مطالعات نشان می‌دهد در شرایط و گونه‌های مختلف محدوده تحمل جلبک نسبت به شدت نور متفاوت است (Rivkin, 1989; Richmond, 2004). بنابراین، برای فراهم کردن شرایط بهینه کشت لازم است گونه‌های مختلف جلبک مورد مطالعه قرار گیرند.

میزان رشد مهمترین راه برای بیان موفقیت اکولوژیک یا توانایی سازگاری یک گونه نسبت به تغییر شرایط محیط طبیعی یا آزمایشگاهی است (Ghezelbash et al., 2008). لذا در این مطالعه به منظور تعیین بهترین شدت نور و درجه حرارت به مقایسه میزان رشد ویژه بین تیمارهای مختلف پرداخته شد. در درجه حرارت ۰/۵± ۳۱ درجه سانتیگراد، کندترین رشد مربوط به شدت نور ۵۰ میکرومول، با آهنگ رشد ۰/۱۶ در روز بود که کندترین میزان رشد ویژه در بین تیمارها به شمار می‌رود. در ۰/۵± ۲۵ درجه سانتیگراد، با افزایش شدت نور به ۱۵۰ میکرومول، میزان رشد ویژه به ۰/۳۸ در روز افزایش یافت. افزایش شدت نور، در هر دو درجه حرارت سبب افزایش میزان رشد شد. علت این پدیده ممکن است به دلیل افزایش سرعت جذب مواد مغذی از محیط کشت توسط جلبک باشد (Ghezelbash et al., 2008). نتایج تحقیق Bouterfas و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان داد در شدتهای بالاتر نور بیوماس سلولی افزایش می‌یابد و جذب مواد مغذی (مانند نیتروژن و فسفر) از محیط در زمان کوتاه‌تری انجام می‌شود. به این ترتیب کارایی فتوسنتز افزایش یافته و سلول با سرعت بیشتری تکثیر می‌یابد (Renaud et al., 1991).

با افزایش درجه حرارت از ۲۵ به ۳۱°C، میزان رشد ویژه کاهش یافت. دما به عنوان یک عامل محیطی تأثیر ویژه‌ای بر میزان رشد در جلبک‌های میکروسکوپی دارد (Renaud et al., 2002). گونه‌های مختلف جلبک در شرایط متفاوت دمایی واکنش‌های سازگاری متفاوتی نسبت به تنش‌های حرارتی از خود نشان می‌دهند (Renaud et al., 2002). با وجود این، زمانی که دمای محیط‌کشت جلبک خارج از آستانه تحمل آن باشد میزان رشد کاهش می‌یابد. زیرا در این حالت فعالیت آنزیم‌هایی که در عمل

Archive of SID

www.SID.ir

فتوسنتز دخالت دارند مختل می‌گردد (Fabergas et al., 2002; Boterfas et al., 2006). این مسأله ممکن است دلیلی برای کاهش میزان رشد *D. salina* در مطالعه حاضر باشد. Borowitzka در سال ۱۹۸۱، درجه حرارت مناسب برای کشت بهینه *D. salina* در شرایط طبیعی را بیش از ۲۱°C برآورد کرد. در این مطالعه مشخص نشد که افزایش درجه حرارت تا چه محدوده‌ای می‌تواند سبب افزایش میزان رشد در در این جلبک گردد. به علاوه، Gómez و González (۲۰۰۵) تأثیر کاهش دما از ۲۶ به ۱۵°C را روی میزان رشد برخی از نژادهای *D. salina* (از جمله نژادهای مربوط به کشور شیلی، چین، استرالیا و مکزیک) بررسی کردند. این مطالعه در دو شدت نور ۴۰ و ۱۱۰میکرومول انجام گرفت. تمام نژادهای مورد مطالعه میزان رشد بیشتری در درجه حرارت ۲۶ نسبت به ۱۵°C داشتند و تأثیر درجه حرارت بر میزان رشد *D. salina* بیشتر از شدت نور بود. لذا در مطالعه حاضر، تأثیر افزایش دما از ۲۵ (تیمار شاهد) به ۳۱°C روی تراکم سلولی و میزان رشد ویژه در یکی از نژادهای ایرانی *D. salina* بررسی شد. نتایج نشان داد حداکثر میزان رشد ویژه (μ_{max}) در شدت نور ۱۵۰ میکرومول و درجه حرارت ۲۵ °C، ۰/۵۵ در روز بود. در این درجه حرارت کاهش شدت نور به ۵۰ میکرومول سبب کاهش حداکثر میزان رشد ویژه (در روز ۰/۳۶ = μ_{max}) در *D. salina* شد. افزایش درجه حرارت به ۳۱°C سبب کاهش حداکثر میزان رشد ویژه شد. در این دما، حداکثر میزان رشد ویژه در شدت نور ۵۰ میکرومول (۰/۲۱ در روز) نسبت به ۱۵۰ میکرومول (۰/۲۸) کمتر بود. مطالعه Gómez و González (۲۰۰۵) روی نژادهای مختلف *D. salina* (۳ نژاد مربوط به کشور شیلی شامل *D. salina* CONC-001، CONC-006 و CONC-007 و نژادهای چین، استرالیا و مکزیک) نشان داد حداکثر میزان رشد ویژه در درجه حرارت ۲۶ °C و شدت نور ۱۱۰ میکرومول به ترتیب ۰/۶۳، ۰/۴۲ و ۰/۴۹ (در ۳ نژاد شیلی)، ۰/۷۰، ۰/۵۶ و ۰/۶۳ در روز بوده است. در این درجه حرارت کاهش شدت نور به ۴۰ میکرومول، تأثیر معناداری بر میزان رشد نژادهای مختلف *D. salina* نداشت. کاهش درجه حرارت به ۱۵ °C در دو شدت نور ۴۰ و ۱۱۰ میکرومول به طور مشابه سبب کاهش میزان رشد ویژه در نژادهای مختلف *D. salina* (به ترتیب ۰/۲۸، ۰/۱۴، ۰/۲۱، ۰/۲۱، ۰/۲۸، ۰/۲۱ و ۰/۲۱ در روز) شد. نتایج نشان داد که محدودهٔ دمایی ۲۵ °C، درجه حرارت مناسب برای کشت این جلبک است. میزان رشد در جلبک *D. Salina* خالص‌سازی شده از دریاچه ارومیه مشابه نژاد مربوط به کشور شیلی بود. مطالعات مختلف نشان می‌دهند شرایط کشت بهینه جلبک‌ها در طرح‌های صنعتی و آزمایشگاهی در مقایسه با محیط-زیست طبیعی آنها متفاوت است. یک گونه ممکن است در محیط زیست طبیعی خود در محدوده دمایی یا نوری خاصی قادر به ادامه حیات و تکثیر باشد اما در شرایط کشت انبوه به علت تغییر برخی از عوامل فیزیکی، شیمیایی یا زیست محیطی محدوده نیازهای آن تغییر می‌کند (Oren, 2005). این مسأله نشان می‌دهد که پس از جداسازی یک جلبک از محیط طبیعی لازم است شرایط مناسب و بهینه جهت کشت انبوه آن بررسی شود. مطالعات مختلف نشان می‌دهند نیازهای دمایی در جلبک‌های مختلف متفاوت است. مطالعه Boulus و همکاران (۲۰۰۷) بر روی جلبک *Gelidium crinale* نشان داد که نور و دما دو عامل بسیار مهم بر میزان رشد در این جلبک هستند. نور شدیدتر در تابستان باعث افزایش سوخت و ساز جلبک شد اما در زمستان سوخت و ساز سلول کاهش یافت. مقایسه میزان رشد جلبک

Archive of SID

www.SID.ir

Spirulina platensis در دو فصل تابستان با میانگین درجه حرارت ۰/۴± ۳۳/۹ درجه سانتیگراد و شدت نور ۸۴۳ میکرومول و زمستان با میانگین ۰/۵± ۱۸/۶درجه سانتیگراد و شدت نور ۴۸ ± ۵۰۶/۲۶ میکرومول نشان داد که میزان رشد در تابستان بیشتر بوده است (Isik et al., 2006). این مسأله لزوم مطالعه گونه‌ها و نژادهای مختلف جلبکها را تأکید می‌کند.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد عوامل محیطی می‌توانند تأثیر ویژه‌ای بر میزان رشد جلبک‌ها داشته باشند. نور و درجه حرارت دو عامل تأثیرگذار بر رشد جلبک *D. salina* هستند. افزایش درجه حرارت از ۲۵ به ۳۱ °C، سبب کاهش تراکم سلولی و میزان رشد در این جلبک شد. در حالی که افزایش شدت نور از ۵۰ به ۱۵۰ میکرومول در هر دو درجه حرارت سبب افزایش تراکم سلولی و میزان رشد گردید. میزان تأثیر عوامل محیطی بر رشد در جلبک‌های مختلف، متفاوت است و لازم است برای هر گونه از جلبک از طریق مطالعه تعیین شود.

تشکر و قدردانی

با تشکر فراوان از کارکنان محترم مؤسسه ماهیان خاویاری دکتر دادمان، آزمایشگاه بیولوژی آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان و تمام عزیزانی که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند.

منابع

- AK, I., Cirik, S., Goksan, T. 2008. Effect of light intensity, salinity and temperature on growth in Camalti starin of *Dunaliella viridis* Teodoresco from Turkey. *Biological sciences*, 8: 1356-1359.
- Balat, H. 2010. Prospects of biofuel for a sustainable energy future: a critical assessment. *Energy education sciences technology*, 24: 85-111.
- Benamotz, A. 1995. New mode of *Dunaliella* biotechnology-2-phase growth for beta-carotene production. *Applied phycology*, 7: 65-68.
- Borowitzka, L. J. 1981. The micro flora Adaptations to life in extremely saline lakes. *Hydrobiologia*, 81: 33-46.
- Borowitzka, M. A., Siva, C. J. 2007. The taxonomy of the genus *Dunaliella* (Chlorophyta, Dunaliellales) with emphasis on the marine and halophilic species. *Applied phycology*, 19: 567–590.
- Bouterfas, R., Belkoura, M., 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: 647-656.
- Boulus, A., Spaneir, E., Friedlander, M. 2007. Effect of outdoor Condition on growth rate and chemical composition of *Gelidium crinale* in culture. *Applied phycology*, 19: 471-478.
- Culture Collection of Algae and Protozoa (CCAP). 1988. Catalogue of Strains. Dunstaffnage Marine Laboratory. Oban, Argyll, PA37 1QA, UK, (http://www.ccap.ac.uk//).
- Dunstan, G. A., Volkman, J. K., Barrett, S. M., Garland, C. D. 1993. Changes in the lipid composition and maximization of the polyunsaturated fatty acid content of three microalgae grown in mass culture. *Applied phycology*, 5: 71-83.
- F´abregas, j., Maseda, A., Dom´mguez, A., Ferreria, M., Otero, A. 2002. Changes in the cell composition of the marine microalgae, *Nannochloropsis gaditana*, during a light: dark cycle. *Biotechnology letters*, 24: 2491-2500.

Archive of SID

www.SID.ir

- Renaud, S. M., Parry, D. L., luong-Van, T., Kuo, C., Padovan, A., Sammy, N. 1991. Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture. *Applied phycology*, 3: 43-53.
- Renaud, S. M., Thinh, L., Lambrinidis, G., Parry, D. L. 2002. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grow in batch cultures. *Aquaculture*, 211: 195- 214.
- Richmond, A. 2004. Biological principles of mass cultivation. In: Richmond A (ed) Handbook of Microalgae mass culture. Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Publishing Company, Oxford, 566 p.
- Rivkin, R. B. 1989. Influence of irradiance and spectral quality on the carbon metabolism of phytoplankton. I. Photosynthesis, chemical composition and growth. *Marine ecology progress series*, 5: 291-304.
- Sanchez-saavedra, M. P., voltolin, D. 2002. Effect of photon flounce rates of white and blue-green light on efficiency and pigment content of three diatom species in batch culture. *Sciences marinas*, 28: 273-279.
- Sukenik, A., Zmora, O., Carmeli, Y. 1993. Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition: II. *Nannochloropsis* sp. *Aquaculture*, 117: 313–326.
- Tang, H., Abunasser, N., Garcia, M. E. D., Chen, M., Simon-Ng, K. Y., Salley, S. O. 2010. Potential of microalgae oil from *Dunaliella tertiolecta* as a feedstock for biodiesel. *Applied energy*, 1:1-7
- Ghezelbash, F., Farboodnia, T., Heidari, R., Agh, N. 2008. Effects of different salinities and luminance on growth rate of the green microalgae *Tetraselmis chuii*. *Biological sciences*, 3: 311-314.
- Gómez, P. I. and González, M. A. 2005. The effect of temperature and irradiance on the growth and carotenogenic capacity of seven strains of *Dunaliella salina* (Chlorophyta) cultivated under laboratory conditions. *Biological research*, 38: 151-162.
- Guillard, R. L. 1973. Division rates. In: Stein (ed) Handbook of phycological methods. Cambridge University Press, 312 p.
- Isik, O., Hizaric, L., Sayin, S., Durmaz, Y. 2006. The Effect of the Environmental factors on the vitamin C (ascorbic acid), E (Alpha-tocopherol), Beta-caroten contents and the fatty acid composition of *Spirulina platensis*. *Fisheries and aquatic sciences*, 3: 257- 261.
- Liska, A. J., Shevhenko, A., Pick, U., Katz, A. 2004. Enhanced photosynthesis and redox energy production contribute to salinity tolerance in *Dunaliella* as revealed by homology-based proteomics. *Plant physiology*, 136: 2806-2817.
- Mata, T.M. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renew sustainable energy*, 14: 217–232.
- Meseck, S. L., Alix, J. H., Gary, H., Wikfors, G.H. 2005. Photoperiod and light intensity effects on growth and utilization of nutrients by the aquaculture feed microalgae, *Tetraselmis chui* (PLY 429). *Aquaculture*, 246: 393-404.
- Oren, A. 2005. A hundred years of *Dunaliella* research: 1905-2005. *Saline systems*, 1: 1-14.
- Phadwal, K., Singh, P. k. 2003. Isolation and characterization of an indigenous isolate of *Dunaliella* sp. for β-carotene and glycerol production from a hypersaline lake in India. *Basic microbiology*, 43: 423-429.

Archive of SID

www.SID.ir

Effects of temperature and light intensity on cell concentration and growth rate of *Dunaliella salina* Teodoresco

Masoumeh Pourafrasiabi[*1], Zohreh Ramezanpour[2], Javid Imanpoure Namin[3] and Marjan Sadeghie Rad[4]

1- M.Sc. student, Department of Fisheries, Faculty of natural resources, University of Guilan, Rasht, Iran
2- Ph.D, International sturgeon research institute, Rasht, Iran
3- Ph.D, Department of Fisheries, Faculty of natural resources, University of Guilan, Rasht, Iran
4- Master, International sturgeon research institute, Rasht, Iran

Received: 06.09.2012 Accepted: 14.01.2013

*Corresponding author: 02166910474, E-mail: masomeh_a52@yahoo.com

Abstract: Cell concentrations and growth rate of *Dunaliella salina* Teodoresco in light intensities of 50 and 150 µmol. photons.m^{-2}.s^{-1} and temperatures 25 ± 0.5 and 31 ± 0.5 ^{o}C (mean ± SD) were studied. The algae was isolated from the Urumieh Lake and cultured in various treatments (n = 12). Algae cells were counted regularly using Thoma counting chamber in 3 replicates on daily basis. The curve of changes in population was plotted. The highest cell concentration (mean ± SD) of 4.8 ± 0.6 × 10^{6} cell.ml^{-1} was observed in light intensity of 150 µmol. photons.m^{-2}.s^{-1} and temperature 25 ± 0.5 ^{o}C. The minimum cell concentration (2.8 ± 0.3 × 10^{6} cell.ml^{-1}) was observed in light intensity of 50 µmol. photons.m^{-2}.s^{-1} and temperature 31 ± 0.5 ^{o}C. The maximum growth rate (0.38 d^{-1}) was recorded in light intensity of 150 µmol.photon.m^{-2}.s^{-1} and temperature 25 ± 0.5 ^{o}C and the minimum (0.16 d^{-1}) in 50 µmol.photon.m^{-2}.s^{-1} at temperature 31 ± 0.5 ^{o}C Increase in temperature from 25 to 31 ^{o}C was found to be correlated with decrease in cell concentration and growth rate in *D. salina*., but increase in light intensities from 50 to 150 µmol. photons.m^{-2}.s^{-1} resulted in increase of these factors.

Keywords: Growth rate, Temperature, Light intensity, *Dunaliella salina*

Archive of SID

www.SID.ir