Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.118033]
[Downloaded from isfj.ir at 14:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019]

تاثیر شوری بر رشد، غلظت کلروفیل و بتاکاروتن در جلبک *Dunaliella* sp. جداسازی شده از خلیج چابهار

شیروان عنایتی*[۱]، آرش جوانشیر خویی[۲]، غلامرضا رفیعی[۲]، هادی پورباقر[۲]، امیرعلی مرادی نسب[۳]

*enayati.shirvan@gmail.com

۱- گروه منابع طبیعی، اکولوژی آبزیان، سازمان شیلات ایران
۲- گروه شیلات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران
۳- موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۷

چکیده

جلبک *Dunaliella* sp. از شاخه جلبک‌های سبز است که دارای پراکنش جهانی می‌باشد و در آب‌های ساحلی خلیج چابهار نیز به وفور گزارش شده است. از ویژگی‌های منحصربفرد این جلبک، قدرت سازش در شوری و دمای زیاد است. این جلبک در مقابل کمبود نیترات مقاوم است و در پاسخ به تنش‌های محیطی با افزایش غلظت رنگدانه‌ها خصوصاً رنگریزه بتاکاروتن و گلیسرول پاسخ می‌دهد. هدف از این تحقیق، تاثیر فاکتور شوری بر نرخ رشد سلولی، میزان تولید و ذخیره‌سازی کلروفیل و بتاکاروتن در جلبک *Dunaliella* sp. بود. در این پژوهش ضمن جداسازی و خالص‌سازی جلبک *Dunaliella* sp.، تاثیر شوری‌های مختلف (۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۳ و ۴ مولار کلرید سدیم) بر رشد و تکثیر جلبک، میزان تولید کلروفیل a، b و بتاکاروتن طی مدت چهار هفته مورد بررسی قرار گرفت. میزان تولید کلروفیل (a و b) و بتاکاروتن با اسپکتروفتومتری با کمک استون اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که جلبک *Dunaliella* sp. در غلظت‌های ۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۳ و ۴ مولار کلرید سدیم قادر به رشد است؛ ولی بیشترین رشد و تکثیر سلولی و همچنین بیشترین میزان تولید بتاکاروتن این جلبک بین شوری‌های ۱/۵ تا ۲ مولار کلرید سدیم می‌باشد ($p<0/05$). با افزایش رشد و تکثیر جلبک، میزان تولید کلروفیل a و b در تمام شوری‌ها افزایش یافت ولی به علت تولید بتاکاروتن، میزان غلظت این رنگریزه‌ها کاهش نشان داد.

لغات کلیدی: شوری، رشد، کلروفیل، جلبک *Dunaliella* sp.، خلیج چابهار

*نویسنده مسئول

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.118033]
[Downloaded from isfj.ir at 14:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019]

مقدمه

در اکوسیستم‌های آبی جلبک‌ها و فیتوپلانکتون‌ها بخش مهمی از زنجیره غذایی موجودات آبزی و ماهی‌ها را تشکیل می‌دهند. جلبک‌ها موجوداتی فتو اتوتروف و تولید کننده اصلی مواد آلی در محیط‌های آبی هستند. همچنین جلبک‌ها دارای ارزش صنعتی نیز هستند. زیرا ترکیبات مهمی مانند مواد معدنی و رنگدانه‌ها از آنها تولید و جداسازی می‌شود که رنگدانه کاروتنوئید قابل ذکر است (Borowitzka&Borowitzka,1990). *Dunaliella* یک جلبک تاژک‌دار تک سلولی فاقد دیواره سلولی است (Edwards, 1990). این گونه به طور معمول در مناطق با نوسانات شوری بالا زیست می‌کند (عطاران فریمان و همکاران، ۱۳۹۶) و قادر به تحمل شوری‌های بین ۰/۵ تا ۵ مولار کلرید سدیم می‌باشد و این سازگاری را با ثابت نگه داشتن غلظت یون‌های داخلی بدن خود انجام می‌دهد. این ویژگی در کنار نرخ متابولیک بالا و تطبیق‌پذیری فیزیولوژیکی آن سبب شده است که به عنوان یک گونه با قابلیت تولید بالای بتاکاروتن شناخته شود (Raja *et al.*, 2007). همچنین این جلبک قادر به تجمع مقادیر بالایی از بتاکاروتن (تا بیش از ۱۴ درصد وزن خشک) در شرایطی نظیر شدت نور زیاد، دما و شوری بالا و کمبود مواد مغذی است (Ben-Amotz & Shaish, 1992). جلبک تک سلولی *Dunaliella* دارای جنس‌ها و گونه‌های متعددی است که برخی در آب‌های شیرین، برخی در آب-های شور (نظیر آب دریا) و برخی در آب‌های بسیار شور زندگی می‌نمایند. همچنین گونه‌های شورپسند *Dunaliella* حاوی غلظت بالای گلیسرول می‌باشند. گونه *D. salina* برای اولین بار توسط Massyuk به عنوان منبع تجاری بتاکاروتن شناخته شد و بعدا به عنوان منبع گلیسرول معرفی گردید (Massyuk, 1966; Ben-Amotz *et al.*, 1982). بتاکاروتن یک ماده غذایی بسیار ارزشمند محسوب می‌شود که نقش بسیار بسزایی در سلامتی انسان دارد و مکمل‌های زیادی از این ماده تولید و به بازار عرضه می‌شوند (Borowitzka, 1981a). امروزه بتاکاروتن موجود در *Dunaliella* در بسیاری از کشورهای دنیا از جمله استرالیا، آمریکا و فلسطین اشغالی در مقیاس تجاری و در چین، شیلی و کویت در مقیاس نیمه صنعتی تولید می‌شود. در سال‌های اخیر نیز گونه‌هایی دیگری از *Dunaliella* از جمله *D. viridis* به عنوان منبع کاروتنوئید مطرح شده‌اند (Moulton & Burford, 1990). حسینی بلداجی در سال ۱۳۸۲ بهینه‌سازی محیط کشت جلبک سبز *D. salina* با هدف افزایش رشد، تکثیر و تولید بتاکاروتن با استفاده از برخی مواد مغذی را مطالعه نمود. قاسمی در سال ۱۳۸۷ به مطالعه تولید گلیسرول از جلبک دریایی *Dunaliella* پرداخت. مهرابی و همکاران (۱۳۹۷)، به بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف سدیم نیترات و سدیم بی‌کربنات بر میزان رشد و چربی کل ریزجلبک (*Neochlorisoleoabundance*) پرداختند. Marin و همکاران (۱۹۹۸)، به بررسی اثرات غلظت نیترات بر رشد و تولید رنگدانه در *D. salina* پرورش یافته در نورهای کم و شوری‌های مختلف پرداختند. Heidari و همکاران (۲۰۰۰)، اثرات شوری و نور بر تولید رنگدانه‌ها و پروتئین‌ها در جلبک *D. salina*را مورد مطالعه قرار دادند. Fazeli و همکاران (۲۰۰۶)، تجمع کاروتنوئیدها توسط *D. tertiolecta* و *D. salina* را تحت شرایط استرسی مختلف مورد بررسی قرار دادند و از تیمارهای مختلف با شوری‌های مختلف و شدت تابش‌های نوری متفاوت استفاده نمودند. Tafreshi و Shariati در سال ۲۰۰۶ به کشت پایلوت سه نژاد *D. salina* برای تولید بتاکاروتن در استخرهای باز نواحی مرکزی ایران اقدام نمودند و به مقایسه میزان تولید بتاکاروتن و نرخ رشد جلبک در تیمارهای مختلف پرداختند. Garcia و همکاران (۲۰۰۷) خصوصیات فیزیولوژیکی گونه‌های *D. salina* و *D. viridis* در دریاچه‌های مکزیک را بررسی نمودند. باتوجه به ارزش‌های این جلبک (دارویی، تغذیه‌ای و اقتصادی) و اطلاعات کمی که در خصوص تجمع رنگدانه‌ها بخصوص بتاکاروتن در اثر تغییرات شوری وجود دارد، همچنین با توجه به اینکه تاکنون پژوهشی در خصوص جلبک *Dunaliella* sp.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.118033]
Downloaded from isfj.ir at 14:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019

جداسازی شده از خوریات چابهار صورت نگرفته است، در این تحقیق تاثیر فاکتور شوری بر نرخ رشد سلولی، میزان تولید و ذخیره‌سازی کلروفیل و بتاکاروتن در جلبک *Dunaliella* sp. مورد بررسی قرار گرفت تا مناسب‌ترین میزان شوری برای نرخ رشد سلولی و تجمع کلروفیل و بتاکاروتن آن تعیین گردد.

مواد و روش کار

نمونه‌های آب حاوی جلبک *Dunaliella* sp. در تابستان ۱۳۹۳ از خوریات نمکی شرق اطراف چابهار تهیه گردیدند. نمونه‌برداری با استفاده از ظروف شیشه‌ای به صورت تصادفی از نقاط مختلف خور صورت گرفت. سپس نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و تا شروع آزمایش‌ها در اتاق رشد با شدت نوری ۴۰۰۰ لوکس و دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (شکل ۱).

شکل ۱: اتاق رشد جلبک *Dunaliella* sp.

Figure 1: Growing room of *Dunaliella* sp.

و کشت نمونه‌ها از اطلاعات ارائه شده توسط آندرسون انجام گردید.خالص سازی بدین منظور ابتدا در ۱۰ لوله آزمایش به مقدار مساوی از محیط کشت گیلارد شامل مواد غذایی آلی و مواد معدنی مورد نیاز اضافه شد و ۱ سی سی از آب نمونه‌برداری شده به لوله اولی تزریق گردید و با کمک میکسر همگن شد. سپس از لوله آزمایش اولی به مقدار ۱ سی سی نمونه برداشته و به لوله آزمایش دومی تزریق گردید و پس از هم زدن با میکسر ۱ سی سی از این لوله به لوله سومی اضافه گردید و به همین طریق این عمل تا تزریق لوله دهم انجام شد و پس از اطمینان از خالص بودن نمونه، جلبک‌های خالص‌سازی شده در شرایط کاملا استریل به ارلن‌های حاوی محیط کشت گیلارد اضافه شد. برای بررسی تاثیر شوری بر رشد و تکثیر جلبک، تعداد ۲۱ عدد ارلن آماده گردید. سپس به هر یک از ارلن‌ها ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت گیلارد اضافه شد و این ارلن‌ها به همراه محیط کشت در اتوکلاو دمای ۱۲۵ درجه سانتی‌گراد در فشار ۲۰ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه استریل گردید. پس از سرد شدن، در شرایط کاملا استریل یک میلی‌لیتر سوسپانسیون حاوی جلبک به محیط کشت استریل در ارلن‌های مورد نظر (۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۳ و ۴ مولار کلرید سدیم) تزریق گردید و در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد، شدت نور۴۰۰۰ لوکس و هوادهی ثابت رشد و تکثیر شدند. پس از گذشت چهار روز، ۱ سی سی از محیط کشت حاوی جلبک به منظور شمارش افزایش تعداد سلول‌ها، تعیین غلظت کلروفیل a و b و بتاکاروتن نمونه‌برداری شد و هر چهار روز این عمل تکرار گردید (Borowitzka *et al.*, 1990) (شکل ۲).

شکل ۲: جلبک *Dunaliella* sp. در حال رشد

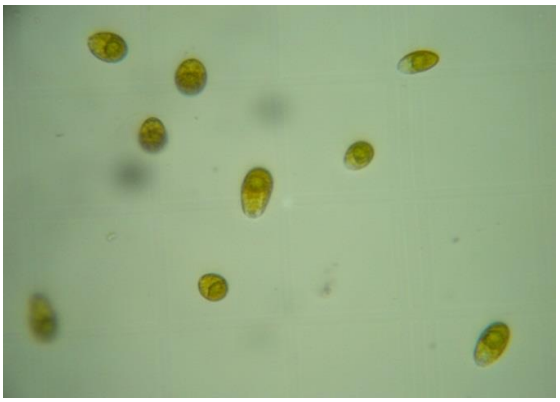
Figure 2: Growing of *Dunaliella* sp.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.118033]
Downloaded from isfj.ir at 14:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019

برای شمارش جلبک‌ها از لام هموسیتومتر استفاده گردید. بدین منظور ابتدا ارلن‌های حاوی جلبک به آرامی حرکت دورانی داده شد تا جلبک‌ها به طور یکنواخت پخش گردند. سپس یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون جلبکی را به یک لوله آزمایش منتقل و ۱۰ میکرولیتر محلول لوگل حاوی ید به آن اضافه گردید تا جلبک‌ها ثابت شوند. آنگاه یک قطره از سوسپانسیون جلبکی روی محفظه مخصوص لام هموسیتومتر ریخته شد و پس از قرار دادن لامل، تعداد سلول‌ها توسط میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰ شمارش و محاسبه گردید (Borowitzka *et al.*, 1990) (شکل ۳).



شکل ۳: جلبک *Dunaliella* sp. با بزرگنمایی ۴۰

Figure 3: *Dunaliella* sp. with magnification 40

در این سری از آزمایش‌ها، از ارلن‌های حاوی غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۳ و ۴ مولار) در فواصل زمانی ۴ روز نمونه‌برداری انجام گرفت. برای استخراج کلروفیل و بتاکاروتن ابتدا تعدادی لوله سانتریفوژ آماده شد و به هر لوله ۲ میلی‌لیتر از سوسپانسیون جلبکی تهیه شده اضافه گردید و جلبک‌ها توسط دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس محلول بالایی به آرامی جدا و به رسوب جلبکی باقیمانده ۲ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد اضافه شد. پس از بهم زدن توسط دستگاه همزن (Vortex)، مجددا عمل سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه تکرار گردید. آن‌گاه محلول فوقانی حاوی رنگیزه‌ها را جدا و جذب نور در طول موج‌های ۴۱۲، ۴۳۱، ۴۶۰ و ۴۸۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر شیمادزو مدل UV-160A اندازه‌گیری گردید و با استفاده از فرمول‌های زیر، میزان غلظت کلروفیل a و b و بتاکاروتن بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر سوسپانسیون جلبکی محاسبه شد (Eijckelhoff & Dekker, 1997):

Chl.a (g/ml)= - 1.709A + 11.970A - 2.993A - 5.708A

Chl.b (g/ml)= - 0.171A - 0.230A + 11.871A - 13.216A

β- carotene (g/ml)= -0.430A + 0.251A - 4.376A + 13.216A

در تمامی مراحل آزمایش هر تیمار داری سه تکرار بود و برای بررسی تاثیر هر تیمار شوری از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده گردید. همچنین در صورت وجود اختلاف معنی‌دار بین سطوح شوری از آزمون توکی استفاده گردید. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 21.0 استفاده شد (Zar, 2010).

نتایج

تعداد سلول‌های جلبک *Dunaliella* sp. در غلظت‌های ۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۳ و ۴ مولار کلرید سدیم در روزهای ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰، ۲۴، ۲۸ و ۳۲ کشت، توسط میکروسکوپ شمارش و بررسی شد که نتایج آن در شکل زیر نشان داده شده است (شکل ۴). مقایسه تعداد سلول‌های تکثیر یافته در تیمارهای مختلف شوری (از ۰/۵ تا ۴ مولار کلرید سدیم) در روزهای مختلف آزمایش نشان داد که در شوری‌های ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ مولار بین تمام روزها (از روز ۴ تا ۳۲) اختلاف معنی‌دار بود ($p<0/05$). در غلظت‌های ۰/۷۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۳ مولار بالاترین میانگین تعداد سلول‌ها در روز ۲۴ مشاهده شد، هر چند که به نظر می‌رسد روز ۲۰ می‌تواند به عنوان نقطه پایان رشد صعودی مدنظر قرار گیرد. آنالیزها نشان داد که در اغلب موارد بین روزهای پایانی (روزهای ۲۰، ۲۴، ۲۸ و ۳۲) تفاوت معنی‌داری از نظر تعداد سلول‌ها وجود نداشت، ولی در اغلب موارد بین این

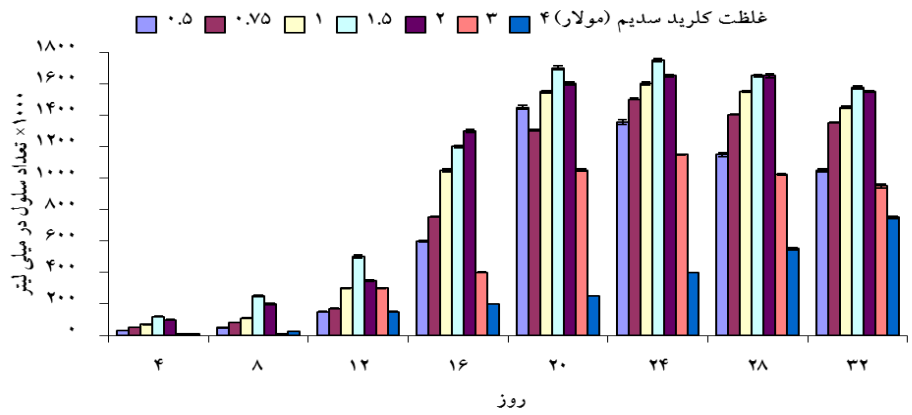
www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.118033]
Downloaded from isfj.ir at 14:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019

روزهای پایانی و روزهایی ابتدایی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). این روند تا اندازه‌ای نیز در روز ۱۶ نسبت به سایر روزها در این شوری مشاهده شده، به گونه‌ای که فقط در مقایسه با روز ۴ دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p<۰/۰۵$). در شوری ۲ مولار هم داده‌ها حاکی از آن بودند که می‌توان روز ۲۰ را به عنوان نقطه پایانی مرحله رشد در نظر گرفت و بعد از آن مرحله رشد ایستایی آغاز گردید. آنالیزهای آماری نشان دادند که در این غلظت، بین تمام روزها از نظر تعداد سلول‌های تکثیر یافته تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p<۰/۰۵$).

در شوری ۳ مولار تا حدی منحنی رشد نسبت به شوری‌های قبلی متفاوت بود، اما باز هم در مجموع می‌توان روز ۲۰ را به عنوان نقطه پایان مرحله رشد تصاعدی در نظر گرفت و از نظر آماری نیز به غیر از روزهای ۴ و ۸، بین تمام روزها تفاوت معنی‌داری از نظر تعداد سلول‌های شمارش شده وجود داشت ($p<۰/۰۵$). در شوری ۴ مولار نیز بین تمام روزهای نمونه‌برداری از نظر تعداد سلول‌های شمارش شده تفاوت آماری معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). اما منحنی رشد آن تا حدود بسیار زیادی با منحنی رشد سایر تیمارها متفاوت بود و تا پایان روز ۳۲، فاز رشد تصاعدی همچنان ادامه داشت و بالاترین تعداد سلول‌ها نیز در روز ۳۲ مشاهده شد. بررسی‌های آماری نشان دادند که در مجموع بالاترین تعداد میانگین سلول‌های تکثیر یافته در تمام روزهای نمونه‌برداری (روز ۴ تا ۳۲) به جز روزهای ۱۶ و ۲۸ در شوری ۱/۵ مولار مشاهده شد و در روزهای ۱۶ و ۲۸ این مقدار بیشینه در شوری ۲ مولار مشاهده گردید. بنابراین می‌توان شوری ۱/۵ تا ۲ را به عنوان شوری بهینه از نظر رشد سلولی برای این جلبک مدنظر قرار داد (شکل ۴).



شکل ۴: میانگین±انحراف معیار تعداد سلول‌های جلبک *Dunaliella* sp. در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم طی روزهای مختلف کشت

Figure 4: The mean±SD number of *Dunaliella* sp. isolated cells in different levels of NaCl during different days.

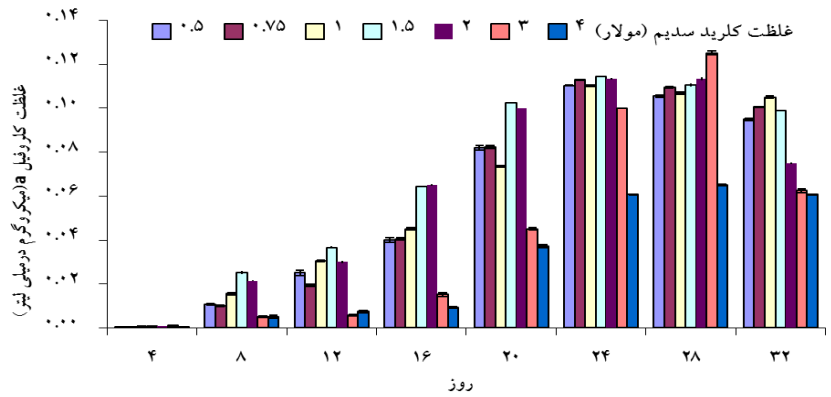
میزان غلظت کلروفیل a جلبک *Dunaliella* sp. در غلظت‌های ۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۳ و ۴ مولار کلرید سدیم در تمام روزهای کشت (از روز ۴ تا ۳۲)، با روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد که نتایج آن در شکل زیر نشان داده شده است (شکل ۵). همان‌طور که مشاهده می‌شود در ۴ روز اول پس از کشت تاثیر غلظت‌های مختلف شوری (۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۳ و ۴ مولار کلرید سدیم) بر میزان کلروفیل a بسیار ناچیز بود. اما پس از آن در تمام تیمارهای شوری غلظت کلروفیل a افزایش نشان داد. میزان غلظت کلروفیل a در شوری ۰/۵ مولار تا روز ۲۴ افزایش نشان داد. اما پس از آن تا پایان دوره کشت میزان کلروفیل a کاهش یافت. میزان غلظت کلروفیل a

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.118033]
Downloaded from isfj.ir at 14:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019

در شوری ۰/۷۵ مولار کلرید سدیم تا روز ۱۶ افزایش و از روز ۱۶ تا ۲۴ این افزایش همچنان با شیب بیشتر ادامه داشت، اما پس از آن رو به کاهش بود. در شوری با غلظت ۱ مولار نیز روند تغییرات میزان غلظت کلروفیل a همانند دو تیمار قبلی تا روز ۲۴ افزایش یافت و بعد از آن با کاهش همراه بود. میزان غلظت کلروفیل a در تیمار با شوری ۱/۵ مولار کلرید سدیم تا روز ۲۴ پس از کشت در مقایسه با سایر تیمارها از همه بیشتر مشاهده شد. میزان کلروفیل a در تیمار با شوری ۲ مولار تقریبا همانند تیمار با غلظت ۱/۵ مولار مشاهده گردید. هر چند تا روز ۱۲ میزان کلرفیل a این دو تیمار اختلاف معنی‌داری نسبت به هم داشت ($p<۰/۰۵$). در تیمار با شوری ۳ مولار کلرید سدیم میزان غلظت کلروفیل a تا روز ۱۶ با شیب ملایمی افزایش یافت، اما این افزایش تا روز ۲۸ با شیب تندتری ادامه داشت و به میزان حداکثر غلظت در این روز رسید. در تیمار با شوری ۴ مولار کلرید سدیم تا روز ۱۶ پس از کشت افزایش اندکی در میزان کلروفیل a مشاهده شد؛ اما از روز ۱۶ تا ۲۸ افزایش نسبتا قابل توجهی نشان داد ولی در هر حال میزان کلروفیل a این تیمار در تمام روزهای کشت از همه تیمارها کمتر بود. بررسی آماری نشان داد که از نظر غلظت کلروفیل a با توجه به شوری‌های مورد استفاده (۰/۵ تا ۴ مولار) بین اغلب روزهای آزمایش (روزهای ۴ تا ۳۲) اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$) و فقط در شوری ۲ مولار بین روزهای ۲۴ با ۲۸، در شوری ۳ مولار بین روزهای ۸ با ۱۲ و در شوری ۴ مولار بین روزهای ۲۴ با ۳۲ اختلاف معنی‌دار نبود. آنالیز داده‌ها و بررسی میانگین‌ها، بالاترین میزان غلظت کلروفیل a در روز ۲۸ نمونه‌برداری در شوری ۳ مولار کلرید سدیم، در روز ۳۲ در شوری ۱، در روز ۱۶ در شوری ۲ و در سایر روزهای نمونه‌برداری (۸، ۱۲، ۲۰ و ۲۴) در شوری ۱/۵ مولار نشان داد که می‌توان با توجه به نتایج حاصل، شوری ۱/۵ را به عنوان شوری بهینه از نظر میزان حداکثر غلظت کلروفیل a معرفی نمود (شکل ۵).



شکل۵ :میانگین±انحراف غلظت کلروفیل a جلبک *Dunaliella* sp. در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم طی روزهای مختلف کشت

Figure 5: The mean±SD density of *Dunaliella* sp. isolated chlorophyll a in different levels of NaCl during different days.

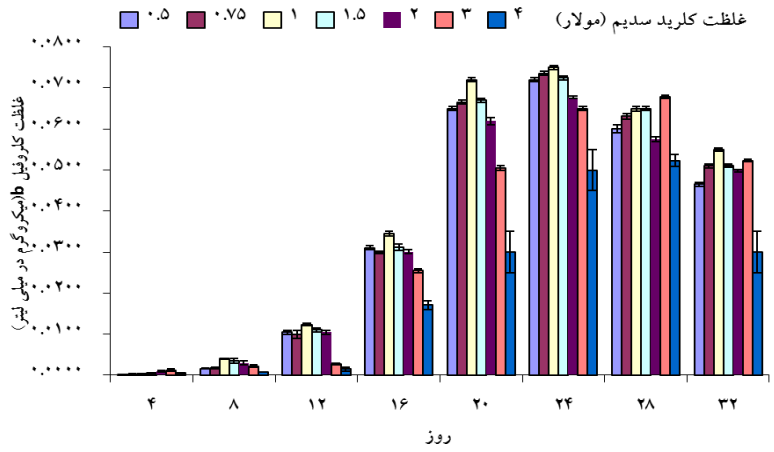
با روش اسپکتروفتومتری میزان غلظت کلروفیل b جلبک *Dunaliella* sp. در غلظت‌های ۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۳ و ۴ مولار کلرید سدیم در تمام روزهای کشت (از روز ۴ تا ۳۲)، اندازه‌گیری گردید که نتایج آن در شکل زیر نشان داده شده است (شکل ۶). همان‌گونه که ملاحظه می‌شود میزان غلظت کلروفیل b در روز ۴ پس از کشت بسیار اندک و ناچیز بود اما پس از آن تا روز ۲۴ در اکثر تیمارها افزایش قابل توجهی در میزان غلظت این رنگریزه مشاهده

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.118033]
Downloaded from isfj.ir at 14:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019

شد و بعد از آن تا روز ۳۲ کاهش داشت. میزان کلروفیل b در غلظت ۰/۵ و ۰/۷۵ مولار کلرید سدیم از روز ۱۲ تا ۲۴ افزایش چشمگیری داشت. البته این افزایش از روز ۲۰ تا روز ۲۴ با شیب ملایم‌تر بود و پس از آن تا پایان دوره کشت کاهش نشان داد. در غلظت ۱ مولار کلریدسدیم همانند دو تیمار قبلی میزان کلروفیل b از روز ۱۲ تا ۲۴ افزایش یافت؛ اما این افزایش بین روزهای ۱۶ تا ۲۰ بسیار چشمگیر بود. اما در دو تیمار با غلظت ۱/۵ و ۲ مولار کلرید سدیم از روز ۸ افزایش قابل توجهی در میزان غلظت کلروفیل b مشاهده گردید. این افزایش تا روز ۲۴ ادامه داشت و پس از آن با شیب بسیار ملایمی تا پایان کشت کاهش یافت. بیشترین میزان غلظت کلروفیل b در روز ۲۸ کشت در تیمار ۳ مولار کلرید سدیم ملاحظه شد. تیمار ۴ مولار دارای کمترین میزان غلظت کلروفیل b در تمام روزهای کشت بود. در بررسی آماری شوری ۰/۵ مولار بین تمام روزهای نمونه‌برداری (روزهای ۴ تا ۳۲) به جز روزهای ۴ و ۸ از نظر میزان کلروفیل b تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$) و بالاترین میزان میانگین کلروفیل b در روز ۲۴ اندازه‌گیری گردید و محدوده بین روزهای ۲۰ تا ۲۴ به عنوان محدوده بیشینه مطرح شد. در شوری ۰/۷۵ مولار تفاوت‌های آماری میزان کلروفیل b بین روزهای مختلف نمونه‌برداری دارای تغییرات خاصی بود و اغلب بین روزهای ابتدایی (روزهای ۴ تا ۱۲) و از سویی دیگر روزهای انتهایی (روزهای ۲۴ تا ۳۲) تفاوت معنی‌دار نبود و بیشتر تفاوت‌های معنی‌دار بین روزهای ۱۲ به بعد و تا روز ۲۰ مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). در شوری‌های ۰/۷۵، ۱، ۱/۵ و ۲ مولار نیز بالاترین میزان میانگین این رنگدانه در روز ۲۴ و در شوری‌های ۳ و ۴ مولار در روز ۲۸ اندازه‌گیری گردید؛ که در شوری‌های ۰/۵ تا ۲ روند صعودی بارز بیشتر تا روز ۲۰ قابل توجه بود. هر چند که محدوده روزهای ۲۰ تا ۲۴ به عنوان محدوده بیشینه مطرح بود، این محدوده برای شوری‌های ۳ و ۴ مولار در روزهای ۲۴ تا ۲۸ قابل مشاهده بود. از نظر بیشینه میزان میانگین کلروفیل b داده‌ها نشان دادند که بالاترین میانگین در روز ۸ تا ۳۲ در شوری ۱ مولار مشاهده شد که می‌تواند گویای آن باشد که شوری بهینه برای دارا بودن حداکثر غلظت کلروفیل b در شوری ۱ مولار است (شکل ۶).



شکل ۶: میانگین±انحراف غلظت کلروفیل b جلبک *Dunaliella* sp. در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم طی روزهای مختلف کشت

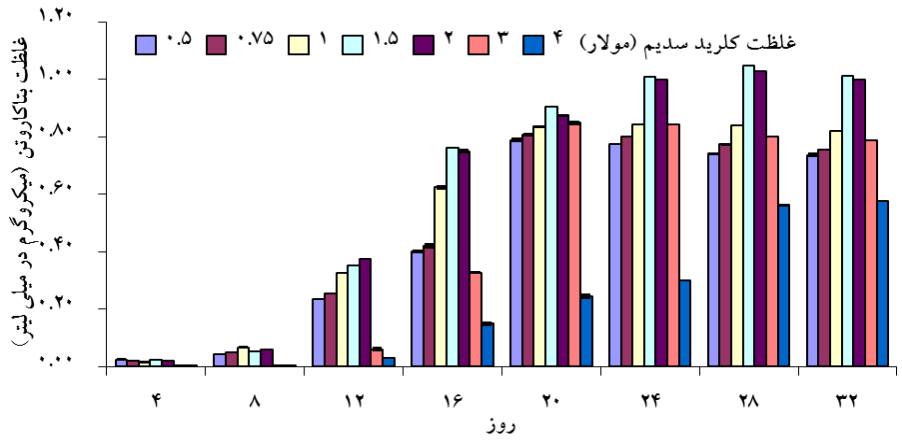
Figure 6: The mean±SD density of *Dunaliella* sp. isolated chlorophyll b in different levels of NaCl during different days.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.118033]
Downloaded from isfj.ir at 14:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019

میزان غلظت بتاکاروتن جلبک *Dunaliella* sp. در غلظت‌های ۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۳ و ۴ مولار کلرید سدیم در تمام روزهای کشت (از روز ۴ تا ۳۲)، با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید که نتایج آن در شکل زیر نشان داده شده است (شکل ۷). همان‌طوری که مشاهده می‌شود در اکثر تیمارهای شوری، میزان غلظت بتاکاروتن در ۴ روز اول کشت بسیار ناچیز بود. اما از روز ۸ و خصوصا از روز ۱۲ میزان بتاکاروتن به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. میزان غلظت بتاکاروتن در غلظت ۰/۵ مولار کلرید سدیم از روز ۴ با شیب ملایم و از روز ۸ با شیب نسبتا تندی تا روز ۲۰ افزایش پیدا کرد و پس از آن تا پایان دوره کشت، کاهش نامحسوسی داشت. در غلظت ۰/۷۵ و ۱ مولار کلرید سدیم نیز همانند تیمار قبلی میزان غلظت بتاکاروتن از روز ۸ تا ۲۰ با شیب نسبتا ملایمی افزایش و پس از آن کاهش یافت. میزان غلظت بتاکاروتن در تیمار ۱/۵ و ۲ مولار از روز ۸ تا ۲۸ با شیب تندی افزایش نشان داد. البته از روز ۲۰ تا ۲۸ این شیب ملایم‌تر شد. همچنین این دو تیمار دارای بیشترین میزان بتاکاروتن از روز ۱۲ تا پایان دوره کشت بودند. در تیمار ۳ مولار کلرید سدیم میزان غلظت بتاکاروتن تا روز ۸ بسیار ناچیز بود اما از روز ۱۲ میزان بتاکاروتن با شیب بسیار تندی افزایش یافت. همچنین میزان بتاکاروتن این تیمار در بسیاری از روزهای کشت از تیمارهای ۰/۵ و ۱ مولار بیشتر مشاهده شد. اما میزان بتاکاروتن در تیمار ۴ مولار در تمام دوره کشت از سایر تیمارها کمتر ملاحظه شد و بیشترین میزان بتاکاروتن در این تیمار در روز ۳۲ پس از کشت بود. همچنین با توجه به مقادیر میانگین بدست آمده بالاترین غلظت میانگین بتاکاروتن در شوری‌های ۰/۵، ۰/۷۵، ۱ و ۳ مولار در روز ۲۰ و در شوری‌های ۱/۵، ۲ و ۴ مولار در روز ۲۸ مشاهده شد. همچنین مقایسه آماری در شوری‌های مورد آزمایش (۰/۵ تا ۴ مولار) در هریک از روزهای آزمایش به عنوان مثال در روز ۴ بین شوری‌های مختلف از نظر میزان بتاکاروتن اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p<0/05$). از سویی دیگر نتایج نشان دادند که بالاترین میانگین غلظت بتاکاروتن در روزهای ۱۶ تا ۳۲ در شوری‌های بین ۱/۵ تا ۲ مولار (اغلب ۱/۵ مولار) مشاهده شد. بنابراین می‌توان این محدوده شوری را به عنوان شوری بهینه از نظر میزان بتاکاروتن برای این جلبک پیشنهاد نمود (شکل ۷).



شکل ۷: میانگین±انحراف غلظت بتاکاروتن جلبک *Dunaliella* sp. در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم طی روزهای مختلف کشت

Figure 7: The mean±SD density of *Dunaliella* sp. isolated β-carotene in different levels of NaCl during different days.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.118033]
[Downloaded from isfj.ir at 14:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019]

بحث

جلبک‌های دریایی از جمله موجودات مهم دریایی هستند که در تولید مواد شیمیایی مختلف و تغذیه انسان نقش دارند. امروزه بهره‌برداری از جلبک‌ها در ابعاد صنعتی، کشاورزی، دارویی و تغذیه‌ای بسیار وسیع است و تکنولوژی بسیار مدرنی برای تولید آن مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ausich,1997). جلبک *Dunaliella* sp. دارای پراکنش جهانی می‌باشد که در کشورهای توسعه یافته، به منظور تولید بتاکاروتن به صورت متراکم و غیر متراکم در مقیاس نیمه صنعتی و صنعتی در سواحل دریاها کشت و پرورش داده می‌شود (قاسمی، ۱۳۸۷). تعداد سلول‌ها در غلظت‌های مختلف (۰/۵ تا ۴ مولار) هر ۴ روز یک بار با میکروسکوب شمارش و مشاهده شدند و منحنی رشد در اکثر غلظت‌ها سیکموئیدی و دارای فاز تاخیر، فاز رشد، فاز ایستایی و فاز مرگ بود. همچنین فاز رشد این جلبک از روز ۴ آغاز و تا روز ۲۰ ادامه داشت و پس از آن وارد فاز ثابت شد که در آن بر تعداد سلول‌ها افزوده نمی‌گردد (شکل ۴).

همان‌طوریکه نتایج شکل ۵ نشان می‌دهد در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم، منحنی رشد دارای شیب‌های متفاوتی بود و با افزایش غلظت نمک، رشد و تکثیر جلبک افزایش یافت. در این منحنی بهترین شیب مربوط به غلظت ۱/۵ و ۲ مولار بود که دارای بیشترین تعداد سلول بود. با توجه به نتایج بدست آمده از منحنی رشد، غلظت مناسب و بهینه برای رشد و تکثیر جلبک *Dunaliella* sp. بین ۱/۵ تا ۲ مولار تعیین شد که با نتایج بدست آمده توسط سایر محققین مطابقت داشت (Van-Auken & Mcnulty, 1973; Borowitzka, 1981b). در تمام موجوداتی که قادر به فتوسنتز هستند کلروفیل a وجود دارد. هر گونه تغییر که در میزان فتوسنتز رخ دهد بر میزان کلروفیل a اثر می‌گذارد. همان‌طور که نتایج شکل ۵ نشان می‌دهد میزان غلظت کلروفیل a در تمام تیمارها با گذشت زمان افزایش یافت. البته باید توجه نمود که به علت بالا بودن سرعت رشد و تکثیر در غلظت‌های ۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵ و ۲ مولار کلرید سدیم میزان غلظت کلروفیل a با کاهش همراه بود. همچنین در این مدت از کشت، کمترین میزان کلروفیل a مربوط به تیمار ۴ مولار بود که احتمالا به دلیل کاهش سرعت رشد و تکثیر در این تیمار ارتباط است. از طرفی هم زمان با افزایش میزان بتاکاروتن از میزان کلروفیل a نیز کاسته شد (شکل ۵) که با نتایج بدست آمده توسط Ben-Amotz و Avron در سال ۱۹۸۳ مطابقت داشت. همان‌طور که در شکل ۶ مشاهده گردید منحنی تغییرات غلظت کلروفیل b تقریبا شبیه منحنی کلروفیل a بوده و سیکموئیدی است. البته باید در نظر گرفت که میزان غلظت آن تا روز ۲۰ کشت، افزایش سپس ثابت و در ادامه کاهش نشان داد که به نظر می‌رسد این کاهش به افزایش بتاکاروتن مرتبط باشد. همچنین با توجه به اینکه تعداد سلول در فاز لگاریتمی رشد در تمام غلظت‌ها کمتر از فاز ایستایی رشد بود، بنابراین در کلیه تیمارها میزان غلظت کلروفیل a در فاز لگاریتمی کمتر از فاز رشد ایستایی دیده شد. در تیمار ۴ مولار به علت پایین بودن رشد و تکثیر سلول کمترین میزان غلظت این رنگریزه مشاهده شد (شکل ۶). همان‌گونه که نتایج شکل ۷ نشان می‌دهد غلظت بتاکاروتن در تیمارهای ۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵ و ۲ مولار شوری به علت افزایش تعداد سلول و رشد و تکثیر بیشتر است. از آن‌جایی که تعداد سلول در فاز لگاریتمی رشد کمتر از فاز ایستایی رشد بود، در تمام تیمارها میزان تولید بتاکاروتن در فاز لگاریتمی کمتر از فازهای دیگر رشد مشاهده شد. اما در هر حال هم در فاز رشد لگاریتمی و هم در فاز رشد ایستایی با افزایش غلظت کلرید سدیم تا ۲ مولار، میزان تولید بتاکاروتن افزایش یافت که این نتیجه با نتایج بدست آمده توسط Avron و Ben-Amotz در سال ۱۹۹۲مطابقت داشت. از ویژگی‌های اصلی *D. salina* توانایی و قابلیت تجمع دادن غلظت‌های بالایی از بتاکاروتن در ساختار خود است و حتی گزارش‌هایی مبنی بر وجود غلظت‌های بسیار بالایی از بتاکاروتن در حدود ۱۴٪ وزن خشک در سلول‌های این جلبک منتشر شده است (Borowitzka *et al.*, 1984). اخیراً گونه‌هایی جدیدی از *Dunaliella* در شیلی جداسازی و شناسایی

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.118033]
[Downloaded from isfj.ir at 14:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019]

شده‌اند که غلظت‌های بالایی از بتاکاروتن را در خود نداشته‌اند، اما غلظت‌های بالایی از آلفا کاروتن (α-carotene) را در خود تجمع داده‌اند. باید توجه نمود که تجمع مقادیر بالای بتاکاروتن نیاز به شوری، دمای بالا و نور زیاد دارد (Ramazanov *et al*., 1988). نور از فاکتورهایی است که برای تولید بتاکاروتن ضروری است(Ben-Amotz & Shaish, 1992). اما بیشترین میزان تولید بتاکاروتن در سلول بستگی به شوری دارد. تشکیل کاروتنوئید بسیار سریع است برای مثال هنگامی که شوری محیط کشت *D. salina* از ۱۵ به ۲۵ درصد نمک افزایش یافت، میزان کاروتنوئید کل به صورت خطی از ۱۰ تا ۲۶۰ میلی‌گرم در طی یک دوره ۴ تا ۶ روزه افزایش یافت و به همین نسبت میزان بتاکاروتن در این دوره از ۵۰ تا ۹۰ درصد افزایش یافت (Borowitzka *et al*., 1990). محدودیت مواد غذایی مورد نیاز در محیط کشت و به خصوص کمبود ازت می‌تواند به طور قابل توجهی میزان تشکیل کاروتنوئید را تحت تاثیر قرار دهد (Ben-Amotz & Shaish, 1992). به طور کلی در زمانی که شرایط رشد و نمو در حد کمتر از حالت بهینه باشد، میزان تولید کاروتن در بیشترین حالت خود قرار دارد و این درست زمانی است که میزان رشد ویژه کم است و این در واقع یک رابطه معکوس جالب است که باید در مدیریت تولید با توجه به هدف تولید نهایی محصول (جلبک و یا میزان کاروتن موجود در آن) به آن توجه خاص نمود و می‌توان نتیجه گرفت که در بسیاری از مواقع افزایش بیوماس جلبک رابطه عکس با میزان کاروتن موجود در سلول‌های جلبکی خواهد داشت (حسینی بلداحی، ۱۳۸۲). بنابراین نتیجه گرفته می‌شود که بیشترین رشد و تکثیر سلولی و بیشترین میزان تولید بتاکاروتن این جلبک بین شوری‌های ۱/۵ تا ۲ مولار کلرید سدیم دیده می‌شود. همچنین با افزایش رشد و تکثیر جلبک، میزان تولید کلروفیل‌های a و b در تمام شوری‌ها افزایش می‌یابد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از تمام کسانی که در این تحقیق با ما همکاری نمودند، تشکر نمایند.

منابع

حسینی بلداحی، ا.، ۱۳۸۲. بهینه‌سازی محیط کشت جلبک سبز *Dunaliella salina* جهت افزایش رشد، تکثیر و تولید بتاکاروتن. پایان‌نامه، دانشگاه شیراز، ۱۲۸ صفحه.

عطاران فریمان، گ.، صادقی، پ.، شیرزایی، ر.، ۱۳۹۶. جداسازی و شناسایی سیست *Dunaliella salina*(Chlorophyceae) از رسوبات ساحلی لیپار (دریای عمان) با استفاده از آنالیز مولکولی، مجله علمی شیلات ایران، سال ۲۶، شماره ۴، ۵۶-۴۷. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.113922

قاسمی، ح.، ۱۳۸۷. تولید گلیسرول از جلبک دریایی *Dunaliella*. پایان‌نامه، دانشگاه تربیت مدرس، ۸۷ صفحه.

مهرابی، ف.، جعفرپور، س.ع.، نعمت زاده، ق.، ۱۳۹۷. بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف سدیم نیترات و سدیم بی‌کربنات بر میزان رشد و چربی کل ریزجلبک (*Neochloris oleoabundance*)، مجله علمی شیلات ایران، سال ۲۷، شماره ۱، ۸۰-۷۱. DOI: 10.22092/ISFJ.2018.116407.

Ausich, R., 1997. Commercial opportunities for carotenoid production by biotechnology. Pure and Applied Chemistry, 69: 2169-2173.

Avron, M. and Ben-Amotz, A., 1992. Dunaliella: Physiology, Biochemistry and Biotechnology. CRC Press, Boca Raton, 220P.

Ben-Amotz, A. and Avron, M., 1983. On the factors which determine the massive B-carotene accumulation in the halotolerant

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.118033]
[Downloaded from isfj.ir at 14:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019]

alga *Dunaliella bardawil*. Plant Physiology, 72(3): 593-597

Ben-Amotz, A., Sussman, I. and Avron, M., 1982. Glycerol production by *Dunaliella*. Experiential, 38: 49-52.

Ben-Amotz, A. and Shaish, A., 1992. β-Carotene biosynthesis. In: Avron, M. and Ben- Amotz, A., (eds).*Dunaliella*: Physiology, Biochemistry and Biotechnology. CRC Press, Boca Raton, pp. 205-216.

Borowitzka, L.J., 1981a. The microflora. Adaptations to life in extremely saline lakes. Hydrobiologia, 81: 33-46. DOI: 10.1007/BF00048704.

Borowitzka, L.J., 1981b. Solute accumulation and regulation of cell water activity. In: Paleg, L.G. and Aspinall, D., (eds). The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants. Academic Press, Sydney, pp: 97-130.

Borowitzka, L.J., Borowitzka, M.A. and Moulton, T., 1984. Mass culture of *Dunaliella*: from laboratory to pilot plant. Hydrobiologia, 116/117: 115-121.

Borowitzka, L.J. and Borowitzka, M.A., 1990. Commercial production of B-carotene by *Dunaliella salina* in open ponds. Bulletin of Marine Science, 47: 244-252.

Borowitzka, L.J. and Brown, A.D., 1974. The salt relations of marine and halophilic species of the unicellular green alga, *Dunaliella*. The role of glycerol as a compatible solute. Archives of Microbiology, 96(1): 37-52.

Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J. and Kessly, D., 1990. Effect of salinity increase on carotenoid accumulation in the green alga *Dunaliella salina*. Journal of Applied Phycollogy, 2(2): 111-119.

Edwards, C.E., 1990. Microbiology of Extreme Environments. Open University Press, Milton Keynes, 128 p.

Eijckelhoff, C. and Dekker, J. P., 1997. A routine method to determine the chlorophyll a, pheophytin α and β-carotenes of isolated photosystem II reaction center complexes. photosyntsis Reserch, 52(1): 69-73. DOI: 10.1023/A:1005834006985.

Garcia, F., Freile Pelegrine, Y.P. and Robledo, D., 2007. Physiological characterization of *Dunaliella* sp. (Chlorophyta, Volvocales) from Yucatan, Mexico. Bioresource Technology, 98(7): 1359-1365. DOI:10.1016/j.biortech.2006.05.051.

Heidari, H., Riahi, H. and Saadatmand, S., 2000. Effects of salt and irradiance stress on photosynthetic pigments and proteins *Dunaliella salina* teodoresco. Journal of Sciences Islamic Republic of Iran, 11(2): 73-77.

Marin, N., Morales, F., Lodeiros, C. and Tamigneaux, E., 1998. Effect of nitrate concentration on growth and pigment synthesis of *Dunaliella salina* cultivated under low illumination and preadapted todifferent salinities. Journal of Applied Phycology, 10(4): 405-411. DOI: 10.1023/a:1008017928651.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.118033]
[Downloaded from isfj.ir at 14:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019]

Massyuk, N.P., 1966. Mass culture of the carotene containing alga *Dunaliella salina* Teod. Ukrayins'kyi Botanichnyi Zhurnal, 23: 12-19.

Moulton, T.P. and Burford, M.A., 1990. The mass culture of *Dunaliella viridis* (Volvocales, Chlorophyta) for oxygenated carotenoid: Laboratory and pilot plant studies. Hydrobiologia, 204(1): 401-408. DOI:10.1007/BF00027649.

Raja, R., Hemaiswarya, S. and Rengasamy, R., 2007. Exploitation of *Dunaliella* for beta-carotene production. Applied Microbiology and Biotechnology, 74(3): 517-523. DOI:10.1007/s00253-006-0777-8.

Ramazanov, Z.M., Klyachko-Gurvich, G.L., Ksenofontov, A.L. and Semenenko, V.E., 1988. Effect of suboptimal temperature on content of β-carotene in the halophilic alga *Dunaliella salina*. Fiziologiya Rastenii, 35: 864-869.

Tafreshi, A.H. and Shariati, M., 2006. Pilot culture of three strains of *Dunaliella salina* for β-carotene production in open ponds in the central region of Iran. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 22(9): 1003-1006. DOI:10.1007/s11274-006-9145-1.

Van-Auken, O.W. and Mcnulty, I.B., 1973. The effect of environmental factors on the growth of a halophylic species of algae. Biological Bulletin, 145(1): 210-222.

Zar, J.H., 2010. Biostatistical analysis. Prentice Hall, New Jersey, USA. 946P.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.118033]
Downloaded from isfj.ir at 14:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019

Effects salinity on growth, chlorophyll and β-carotene concentration in *Dunaliella* sp. isolated from Chabahar Gulf

Enayati Sh.[*1]; Javanshir Khoei A.[2]; Rafiee Gh.[2]; Pourbagher H.[2]; Moradinasab A.[3]

[*]enayati.shirvan@gmail.com

1- Natural Resource-Aquatics Ecology, Iran Fisheries Organization, Tehran, Iran
2-Department of Fisheries, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
3-International Sturgeon Research Institute,Agricultural Research, Education and Extension Organization (Areeo), Rasht, Iran

Abstract

Dunaliella sp. is from division of chlorophyte algae that has a global distribution and is abundantly reported in the coastal waters of Chabahar Bay. This algae is a euryhalin species which may support high temperatures and lack of Nitrogen conditions in the sea. Also as a response to environmental stresses it fluctuates pigment reserves specially the Beta-Carotene. The aim of this study was effects of salinity on growth, chlorophyll and β-carotene concentration in *Dunaliella* sp. In this study in beyond the separation and purification of *Dunaliella* sp. from seawater, the impact of different levels of salinity (0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3 and 4 mol NaCl) on growth, the amount of chlorophyll and β- carotene were measured during a period of 4 weeks. Chlorophyll a, b and β-carotene contents were determined spectrophotometrically from algal pellets using 80% (v/v) acetone/water mixture. Results showed that the *Dunaliella* sp. in treatments of 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3 and 4 mol NaCl could grow, but the maximum growth of this algae and the maximum amount of β-carotene were observed in salinities between 1.5 to 2 mol NaCl ($p<0.05$). Parallel to growth of the algae the production of chlorophyll a and b was increased in all salinities treatments but their production causes a decrease in β- carotene production.

Keywords: salinity, growth, chlorophyll, *Dunaliella* sp, Chabahar Gulf

[*] Corresponding author

www.SID.ir