بررسی اثر محیط کشت گیلارد در شوری های مختلف بر تراکم ونرخ رشد ریز جلبک (*Chlorella vulgaris*) در شرایط آزمایشگاهی

مینا عماد آبادی[۱]*؛ علیرضا سالار زاده[۲]؛ حجت اله فروغی فرد[۳]

mina_emadi65@yahoo.com

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد تکثیر وپرورش آبزیان ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندر عباس

۲- عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندر عباس

۳- عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور/ پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، بندر عباس، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: تیر۱۳۹۳

چکیده

به منظور بررسی تأثیر محیط کشت گیلارد در شوری های مختلف بر روند رشد ریز جلبک *Chlorella vulgaris* ، از یک طرح کاملا تصادفی با ۴ تیمار شوری (شامل شوری ، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ ppt) و هر تیمار با سه تکرار استفاده شد . این آزمایشات بمدت ۱۲ روز بطول انجامید. بر اساس نتایج بدست آمده ، در روز دهم پرورش ، بیشترین تراکم ریز جلبک *Chlorella vulgaris* در شوری ۲۰ ppt با میانگین $۱۰^{۶}$ cell/ml ×/۴۱± $۱۰^{۶}$ ۱۲۵/۳۰× cell/ml و کمترین تراکم جلبک در شوری ۳۰ppt با میانگین $۱۰^{۶}$ ۱۰۱/۶۲× cell/ml ±۱/۵۴×$۱۰^{۶}$ cell/ml مشاهده شد که اختلاف آنها معنی دار بود(P< ۰/۰۵). همچنین بیشترین نرخ رشد ویژه درفاصله زمانی روز اول تا دوم، با میانگین ۰/۰۸ ± ۹۲ /۱ در شوری ۲۰ppt و کمترین نرخ رشد ویژه در روز هشتم در شوری ۱۵ppt با میانگین ۰/۰۲± ۰/۰۸ مشاهده شد . بر اساس نتایج آزمایشات، محیط کشت گیلارد در شوری ۲۰ppt ، شرایط مناسبتری برای تولید بالاتر و مناسب تر کلرلا در شرایط آزمایشگاه فراهم می کند .

کلمات کلیدی : محیط کشت گیلارد، *Chlorella vulgaris* ، شوری، ریز جلبک، نرخ رشد

*نویسنده مسئول

۱.مقدمه

ریزجلبکها مهمترین تولیدکنندگان مواد آلی در محیط های آبی می باشند و به عنوان اولین حلقه زنجیره غذایی در اکوسیستم های آبی به دلیل داشتن کلروفیل قادر به عمل فتوسنتز می باشند و از طریق فتوسنتز غذا و انرژی تولید و شکلی از انرژی غیر خوراکی را به شکل خوراکی تبدیل می کنند که در واقع آغازگر انرژی هستند. به همین دلیل در اکوسیستمهای آبی ریزجلبکها بخش مهمی از زنجیره غذایی موجودات آبزی را تشکیل می دهند که علاوه بر این نقش مهم، به عنوان تصفیه کنندگان بیولوژیک منابع آبی محسوب می شوند و pH محیط را تعدیل می نمایند (۱). بعضی از گونه های جلبک های میکروسکوپی برای اهداف صنعتی ، به منظور حذف مواد آلی از فاضلاب ها مورد استفاده قرار می گیرند (۱۰) .

چون تنها گیاهان قادر به سنتز اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره هستند پس می توان گفت ریزجلبکها تأمین کننده این ترکیبات حیاتی و منبع اولیه اسیدهای چرب غیراشباع (PUFA) برای تمامی موجوات زنجیره غذایی آبی می باشند(۱۴). ریزجلبکها به دلیل دارا بودن ماکروالمنت ها و میکروالمنت های لازم، در بسیاری از واکنش های آنزیمی نقش کوفاکتور را اعمال می کنند(۱۷).

بسیاری از آنها شاخص های بیولوژیک آب نیز می باشند و نمایانگر وضعیت اکولوژیک محیط هستند. این زی شناوران (ریزجلبکها)در امر آبزی پروری که بر پایه ضروریات نیازمندیهای جمعیت جهانی، در حال توسعه مداوم است نقش کلیدی خود را بر این اساس که پایه زنجیره های غذایی در محیط های آبی می باشند حفظ نموده اند (۱۲).

ریزجلبکها بعنوان منبعی غذایی برای تمامی مراحل پرورش تجاری گونه نرمتنان، مرا ماهیان ضروری و غیر قابل اجتناب می باشند. بعلاوه فیتوپلانکتون ها در تولید مقادیر انبوه زئوپلانکتون ها (روتیفر، کوپه پودا و آرتمیا) که بعنوان غذا برای لارو و مراحل آغازین سخت پوستان و ماهی ها بکار می روند کاربرد دارند و همچنین برای پرورش لارو ماهیان دریایی از طریق تکنیک آب سبز که تکنیکی رایج است نیز کاربری دارد (۱۲).

در صنعت آبزی پروری ،تمام مراحل رشد صدف ها و مراحل لاروی سخت پوستان و ماهی مستقیما به غذای زنده چون ریزجلبکها بستگی دارد. از اینرو تولید ریزجلبکها یکی از فعالیت های مهم در کارگاه های تکثیر و بدنبال آن رشد گونه های مورد پرورش می باشد (۵).

جلبک (*Chlorella vulgaris*) به طور گسترده ای در مطالعات فتوسنتتیک، آزمایشات کشت انبوه و پاکسازی فاضلابهای شهری مورد استفاده قرار می گیرد. این جلبک بطور سریع تکثیر شده و غنی از ویتامینهای گروه B می باشد و به عنوان یک منبع غذایی مهم بشمار می آید، زیرا این گونه زمانی که خشک می شود دارای میزان بالایی پروتئین و دیگر مواد معدنی ضروری می باشد. میزان پروتئین آن ۴۵ درصد، چربی ۲۰ درصد، کربوهیدرات ۲۰ درصد، فیبر ۵ درصد و ۱۰ درصد مواد معدنی و ویتامین می باشد(۴).

در حال حاضر یکی از راهکارهای ممکن به منظور حفظ و افزایش ارزش غذایی ریزجلبکهای موجود، چگونگی روشهای تولید ساده و کاهش مدت زمان تولید ریزجلبک می باشد(۱۴).

هدف اصلی این مطالعه توسعه و ارائه روشهای قابل اطمینان به عنوان محیط کشت و شرایط محیطی مناسب ازجمله شوری گونه‌های ریزجلبکی است که بصورت اختصاصی نیازهای غذایی مراکز تکثیر میگو و ماهی و سایر آبزیان و

Archive of SID

SID.ir

همچنین در دیگر صنایع در ایران تأمین شود و بیشترین تأکید براین است که چگونه روشهای تولید ساده و کم هزینه گردد. اندازه گیری نرخ رشد جلبک های میکروسکوپی یکی از روش های مفید برای تعیین اثر شوری بر رشد یا وضعیت کشت جلبک های میکروسکوپی می باشد.

از طریق شناخت رفتار یک گونه تحت تأثیر یک سری شرایط مشخص از جمله شوری است که کشت انبوه جلبک های قابل تکثیر در تراکم بالا قابل نگهداری هستند(۳).

با توجه به موارد فوق ، لزوم تشخیص محیط کشت مناسب و یا شوری مناسب نقش تعیین کننده ای در بهبود عملیات فایکولب ها و تولید در صنعت آبزی پروری خواهد داشت.

۲. مواد وروش ها

- آماده سازی اولیه لوازم مورد نیاز کشت جلبک *C.vulgaris*

ابتدا کلیه لوازم مورد نیاز جهت کشت ریزجلبک از جمله ظروف شیشه ای با آب و مواد شوینده شستشو داده شدوسپس خشک گردیدند و تمامی ظروف از آب دریا با شوری های مورد نیاز آزمایش پر شده و درب آنها بسته شد ودر اتوکلاو با دمای۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه در فشار ۱/۵ اتمسفر استریل شد.

- تهیه آب با شوری های مختلف

برای تهیه آب شور با شوری های کمتر از آب دریا ، ابتدا آب دریا پس از فیلتر شدن در مخزنی ذخیره شده و از فیلتر های ۲۰، ۵ و ۱ میکرون عبور داده و سپس از سیستم اشعه ماورای بنفش (uv)عبور داده شد تا از هر گونه مواد معلق عاری شود و تقریباً عاری از بار میکروبی شود. سپس شوری آب دریا را اندازه گرفته و ثبت کرده پس از آن بسته به میزان حجم ظرف و میزان شوری که از فرمول $C_1V_1=C_2V_2$ استفاده که اجزاء این فرمول به شرح ذیل است (۸).

C_1 = شوری مورد استفاده برای محیط کشت

V_1 = حجم آب مورد نظر

C_2 = شوری آب دریا

V_2 = حجم مورد نیاز آب دریا

-تهیه ریزجلبک و انجام آزمایشات

ریزجلبک *C. vulgaris* مورد نیاز برای این پژوهش از پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس و دریای عمان بندرعباس تهیه و آزمایشات مربوط به آن در آزمایشگاه کشت ریزجلبک بخش تکثیر و پرورش آبزیان این مرکز انجام گرفت.

- تهیه محیط کشت

در این آزمایش از محیط کشت گیلارد استفاده شد. جهت این کار ابتدا آب مقطر به میزانی که در دستور تهیه محیط کشت موجود بود فراهم و در ظروف ریخته شد و سپس در اتوکلاو استریل گشت. پس از خنک شدن، میزان مواد معدنی مورد نیاز جهت تهیه ساخت محیط کشت به آب اضافه گردید و سپس در ظروف تیره استریل درب دار ریخته شد و در یخچال نگهداری شد .

- کشت ریزجلبک

جهت کشت ریزجلبک کلرلا ابتدا در یک ارلن ۲۰۰۰ سی سی آب دریای استریل شده با شوری ۲۵ به همراه محیط کشت F_2 تغییر یافته و ۱۰ درصد استوک اولیه کلرلا ریخته شد. پس از آن در شرایط آزمایشگاهی استاندارد همراه با هوادهی ملایم کشت داده شد(۹). بعد از گذشت ۱۰ روز از کشت آن زمانیکه تراکم این جلبک به میزان مورد نیاز رسید از آن به عنوان استوک اولیه جهت کشت تمامی تیمارهای آزمایش استفاده گردید.

Archive of SID
www.SID.ir

- انجام آزمایشات

به منظور بررسی تأثیر محیط کشت گیلارد در شوری های مختلف شوری بر روند رشد ریز جلبک *Chlorella vulgaris* ، از یک طرح کاملا تصادفی با ۴ تیمار شوری (شامل، شوری ، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ppt ۳۰) و هر تیمار با سه تکرار استفاده شد و مجموعا از ۱۲ ارلن ۵۰۰ میلی لیتری استفاده شد. این آزمایشات بمدت ۱۲ روز بطول انجامید. پس از اینکه آب دریا با شوری های مختلف تهیه شد استریل گردید به ارلن های ۵۰۰ سی سی منتقل شد و میزان محیط کشت مورد نیاز به هر کدام از تیمارها افزوده گشت پس از آن بر اساس حجم ظرف کلرلا با تراکم اولیه یک میلیون در سی سی به ارلن ها اضافه گردید. سپس تمامی ارلن ها تحت شرایط یکسان در مقابل نور ۵۰۰۰-۳۵۰۰ لوکس با هوادهی ملایم، قلیائیت ۸ و دمای ثابت ۱± ۲۴ °C همچنین دوره نوری۱۲:۱۲ ساعت (روشنایی به تاریکی) به مدت ۱۲ روز قرار داده شد. یک روز در میان ۱ میلی لیتری نمونه از هر ظرف برداشت و با محلول فرمالین ٪۴ تثبیت شد و با استفاده از لام شمارش هموسیتومتر اقدام به شمارش سلولی گردید.

- برآورد تراکم سلول های جلبکی و محاسبه نرخ رشد ویژه

تراکم سلول های جلبک از طریق شمارش سلول های کلرلا با لام هموسیتومتر محاسبه شد. شمارش سلول هادر بزرگ نمایی۱۰۰ انجام شد.جهت تعیین نرخ رشد ، از روز اول کشت یک روز در میان از هر ارلن ۱میلی لیتری نمونه برداشت و با محلول فرمالین ۴ درصد تثبیت شد و با استفاده از لام شمارش هموسیتومتراقدام به شمارش سلولی گردید.روند شمارش به مدت ۱۲ روز ادامه داشت و تمام اطلاعات مربوط به شمارش ثبت گشت. سپس با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۱۳و۱۶):

$$SGR = \frac{(\ln W_t - \ln W_0)}{T}$$

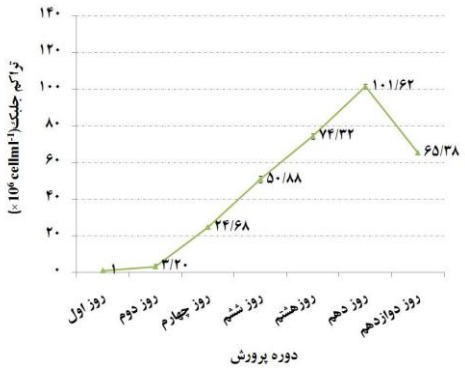
که W_0 و W_1 تعداد سلول فیتوپلانکتونی در زمان‌های بین دو نمونه برداری و شمارش است.

- تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات و داده‌های بدست آمده در نرم‌افزار Excel وارد شد و نتایج توصیفی بصورت جدول و نمودار تهیه گردید. تحلیل آماری نتایج در برنامه SPSS و با بکارگیری آزمون‌های پارامتری (آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون‌های تفریقی Tukye) جهت مقایسه داده‌ها در سطح معنی دار برای داده ها ۰/۰۵ > P انجام گرفت.

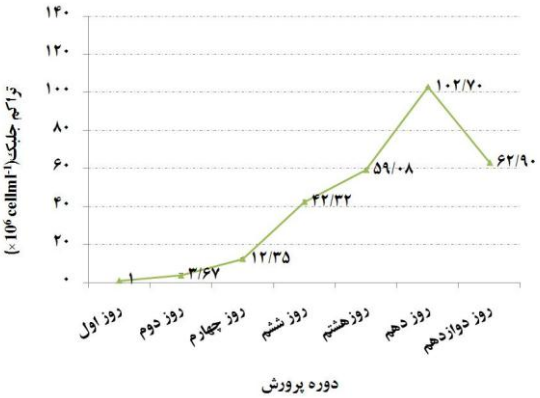
۳.نتایج

نتایج آنالیز واریانس یک طرفه بررسی اثر محیط کشت گیلارد بر روی تراکم جلبک کلرلا در این تحقیق نشان داد در روز دهم پرورش ، بیشترین تراکم ریز جلبک *Chlorella vulgaris* در شوری ppt ۲۰ با میانگین ۱۲۵/۳۰×۱۰^{۶} cell/ml ±./۴۱× ۱۰^{۶} cell/ml و کمترین تراکم جلبک در شوری ppt۳۰ با میانگین cell/ml ۱۰۱/۶۲×۱۰^{۶} cell/ml ±۱/۵۴×۱۰^{۶} مشاهده شد که اختلاف آنها معنی دار بود(P< ۰/۰۵). (شکل های ۱تا ۴).

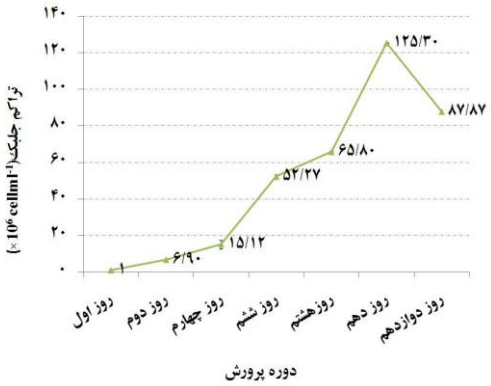


Archive of SID

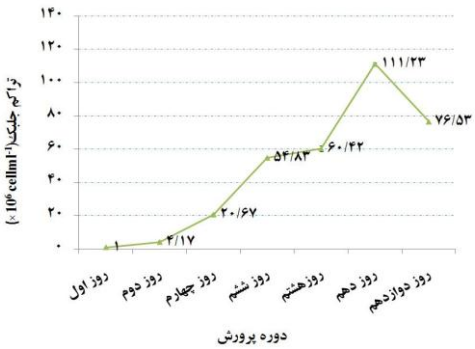
شکل ۱- روند شکوفائی جلبک *Chlorella vulgaris* تحت تاثیر محیط کشت گیلارد و شوری ۳۰ppt (Sd± میانگین) (توضیح : به علت کوچکی میزان Sd ، مقدار آن بر روی نمودار مشخص نیست)



شکل ۲- روند شکوفائی جلبک *Chlorella vulgaris* تحت تاثیر محیط کشت گیلارد و شوری ۲۵ppt (Sd± میانگین) (توضیح : به علت کوچکی میزان Sd ، مقدار آن بر روی نمودار مشخص نیست)

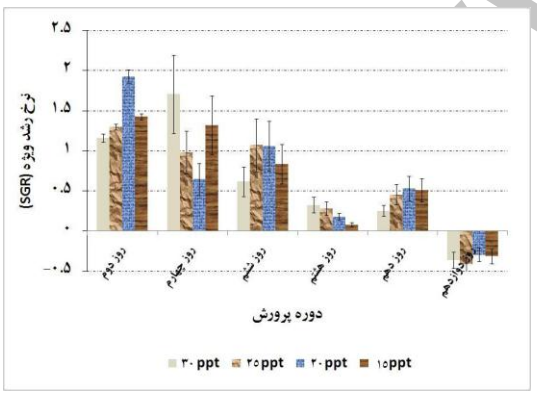


شکل ۳- روند شکوفائی جلبک *Chlorella vulgaris* تحت تاثیر محیط کشت گیلارد و شوری ۲۰ppt (Sd± میانگین)



شکل ۴- روند شکوفائی جلبک*Chlorella vulgaris* تحت تاثیر محیط کشت گیلارد و شوری ۱۵ppt (Sd± میانگین) (توضیح : به علت کوچکی میزان Sd ، مقدار آن بر روی نمودار مشخص نیست)

همچنین بیشترین نرخ رشد ویژه درفاصله زمانی روز اول تا دوم، با میانگین ۰/۰۸ ± ۱/ ۹۲ در شوری ۲۰ppt و کمترین نرخ رشد ویژه در روز هشتم در شوری ۱۵ppt با میانگین ۰/۰۲ ±۸ ۰/۰ مشاهده شد که اختلاف بین آنها معنی دار بود (P< ۰/۰۵) درفاصله بین روزهای دهم تا دوازدهم دوره پرورش نرخ رشد ویژه منفی بود. (شکل ۵) .



شکل ۵: نرخ رشد جلبک *Chlorella vulgaris* تحت تاثیر محیط کشت گیلارد و شوری های مختلف (Sd± میانگین

۴.بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان دادکه بهترین تراکم جلبک با استفاده از محیط کشت گیلارد در روز دهم در

www.SID.ir

شوری ppt ۲۰ بدست می آید و کمترین تراکم در روز دهم در شوری ppt۳۰ مشاهد شد. در تمامی تیمارها بیشترین نرخ رشد در روز دوم و در شوری ppt۲۰ مشاهده شد. (شکل های ۱ تا ۴)

بر اساس مطالعه ای که در سال ۲۰۰۷ توسط چو و همکارانش در خصوص اثرات شوری و دما بر رشد جلبک های میکروسکوپی گونه های *Chlorella ellipsoidea* و *Nannochloropsis oculata* انجام گرفت که طی آن اثرات ۴ سطح دما(۱۵ ، ۲۰، ۲۵و۳۰ درجه سانتیگراد)و ۳ سطح شوری(۱۰ ، ۲۰ و ppt۳۰)مورد بررسی قرار گرفت. بالاترین نرخ رشد ویژه(SGR)برای جلبک *Chlorella ellipsoidea* در دمای C ۲۵˚ و شوری ppt ۱۰ و بیشترین تراکم در دمای C ۵˚ و شوری ۱۰ به دست آمد. برای گونه *N. oculata* بیشترین تراکم در دمای C ۲۵˚ و شوری شوری ppt ۱۰ به دست آمد (۶) که این مطالعه می تواند گویای این مطلب باشد که گونه کلرلا در شوری های پایین تر تراکم بهتری تولید می کند. همچنین نتایج آماری تحقیق کنونی نشان داد که بیشترین نرخ رشد ویژه در محیط کشت گیلارد ، در شوری PPT ۲۰ بدست می آید. این نتایج با مطالعات چو و همکارانش تقریباً در یک راستا بوده و بیانگر مناسب بودن شوری پایین برای نرخ رشد بهتر و تراکم بالاتر این گونه جلبکی نیز می باشد.

در سال ۲۰۱۳ نیز عدنان و همکارانش تأثیرات شوری و دما را بر روی گونه های *Chlorella* sp و *Chaetoceros calcitrans* مورد بررسی قرار دادند تا بهترین شرایط تولید بیومس تحت تأثیر این دو عامل به دست آید. در این بررسی ۳ سطح شوری (۲۰ ، ۲۵ و ppt ۳۰) و ۳ سطح دمایی (۲۰، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتیگراد مورد بررسی قرار گرفت که براساس نتایج آن جلبک *Chaetoceros calcitrans* و *Chlorella* sp. به ترتیب در شوری های ppt ۳۰ و ppt ۲۵ نرخ رشد بالاتری داشته اند (۱) که نشان دهنده رشد بهتر در شوری پایین برای گونه کلرلا نیز می باشد.

در سال ۱۹۸۶ تأثیر محیط کشت های TMRL، PM، Conway وF(گیلارد)بر روی رشد ۳ گونه جلبک میکروسکوپی *Isochrysis galbana*، *Tetraselmis chuii* و *Nitzschia dosteritim* مورد بررسی قرار گرفت براساس نتایج این تحقیق برای جلبک *Isochrysis galbana* بیشترین تراکم جلبک و دوام آنها در محیط کشت Conway مشاهده گردید. درحالیکه برای *Tetraselmis chuii* رشد سریع جلبک تا روز چهارم، تحت تأثیر محیط کشت PM مشاهده شد اما بالاترین میزان تراکم تحت تأثیر محیط کشت TMRL و در روز هفتم به دست آمد. برای گونه *Nitzschia dosteritim* بهترین نتیجه تحت تأثیر محیط کشت PM به دست آمد (۷).

در تحقیق کنونی نتایج بررسی شوری های مختلف نشان داد که روند رشد جلبک کلرلا در شوری های پایین تر در طول دوره ۱۲ روزه مناسبتر بود در بررسی دیگری که در سال ۱۹۸۱ بر روی گونه*Chlorella vulgaris*در شوری های مختلف(۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ مولار[۱۵]) در دمای ثابت ۲±۲۶ درجه سانتیگراد انجام شد. نتایج نشان داد که در شوری های بالا میزان کلرفیل و فتوسنتز کاهش یافت و همچنین کمترین میزان رشد را دارا بودند در این راستا میزان پروتئین اندازه گیری شده در شوری های بالا با کاهش فتوسنتز کاهش یافت ولی بیشترین میزان بتا کاروتن در شوری ۰/۳ مولار نسبت به بقیه شوری ها بود (۱۰). تحقیقی دیگر در سال ۱۹۹۱ به بررسی تأثیر شوری های(۰،

[۱۵] - Molar

Archive of SID
SID.ir

۲/۵ ، ۵ ،۷ ، ۱۱/۵ ،۱۵ ،۲۰، ۲۵، ۳۰ و ppt ۳۵) و دماهای مختلف(۱۵،۱۸ ، ۲۰، ۲۳، ۲۶، ۲۹، ۳۲، ۳۵ و °C ۳۹) بر روی میزان رشد و کلروفیل ۹ گونه جلبکی پرداخت. طی این مطالعه نتایج نشان دادند که استفاده از شوری های بالا و خیلی پایین میزان رشد و کلرفیل را کاهش می دهد همچنین بهترین دامنه دمایی بین ۲۶-۲۰ درجه سانتیگراد مشخص شد. همچنین نتایج بهینه رشد گونه *Chlorella vulgaris* را بین شوری PPT ۳۰- PPT۷/۵ نشان دادند (۱۱). نتایج تحقیق کنونی نیز بیانگر نتایج بدست آمده در مطالعات دیگر می باشد و گویای این مطلب است که جلبک کلرلا در شوری نسبتاً پایین در حد ppt ۱۵ و ppt ۲۰ رشد مناسب را داشته است.در سال ۱۹۹۳ در مطالعه ای نتایج نشان داد که با افزایش شوری از میزان ۳۰ به بالا میزان رشد و فتوسنتز و همچنین میزان کلروفیل کاهش می یابد (۱۵). از نتایج بدست آمده در این تحقیق می توان به این نتیجه رسید که جهت تولید بیومس و تراکم بالای جلبک کلرلا، شوری ppt ۲۰ نسبت به بقیه شوری ها مناسبتر بوده و برا ی استفاده در محیط آزمایشگاهی بسیار مناسب می باشد

سپاسگزاری

بدین وسیله از جناب آقای دکترمرتضوی رئیس محترم و جناب آقای مهندس دهقانی معاون محترم تحقیقاتی پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان که شرایط اجرای این تحقیق را در آن پژوهشکده فراهم نمودند و سرکارخانم مهندس مریم معزی، که در اجرای این تحقیق زحمات زیادی متقبل گردیدند، صمیمانه تشکر می گردد.

منابع

۱-دیار کیان مهر، ه. ۱۳۷۱.مبانی جلبک شناسی .انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۲۵۱ص.

2- Adenan , N.,S. , F. , M. , Yusoff and M.,Shariff , 2013. Effect of salinity and temperature on the growth of diatoms and green algae. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 8.

3-Affan , A. , R. , Karawita ,Y-J., Jeon and J-B., Lee , 2007. Growth characteristics and antioxidant properties of the benthic diatom Navicula incerta (Bacillariophyceae) from Jeju Island, Korea. *Journal of Phycology* 43, 823-832.

4- Belasco, W., 1997. Algae burgers for a hungry world The rise and fall of Chlorella cuisine. *Technology and culture*, 608-634.

5- Cho, J.Y. , H., J., Jin , H., J., Lim , J.,N.,C.,Whyte and Y.,K., Hong , 1999. Growth activation of the microalga *Isochrysis galbana* by the aqueous extract of the seaweed Monostroma nitidum. *Journal of Applied Phycology*, 10, 561–567.

6- Cho , S.,H, S.,C., JI , S.,B., Hur, J., Bae ,I., S., Park and Y., C., Song, 2007. Optimum temperature and salinity conditions for growth of green algae Chlorella ellipsoidea and Nannochloris oculata. *Fisheries Science*, 73, 1050-1056.

7- Gopinathan , C., 1986. Differential growth rates of micro-algae in various culture media. *Indian Journal of Fisheries*, 33, 450-456.

8- Grimes , S., E., 2002. A basic laboratory manual for the small-scale production and testing of I-2 Newcastle disease vaccine. *RAP publication*, 136.
laboratory cultures. *Aquatic Botany 89:9-15*, 89, 9-15.

9- Guillard , R., R, and J., H., Ryther, 1962. Studies Of Marine Planktonic Diatoms: I. Cyclotella Nana Hustedt, And Detonula Confervacea (Cleve) Gran. *Canadian journal of microbiology*, 8, 229-239.

Archive of SID

www.SID.ir

10- Huguenin , R.,L., 1974. The formation of goethite and hydrated clay minerals on Mars. *Journal of Geophysical Research*, 79, 3895-3905.
11-Latala , A., 1991. Effects of salinity, temperature and light on the growth and morphology of green planktonie algae. *Oceanologia,* 31, 119-138.
12- Lavens , P. and P., Sorgeloos , 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture, Food and Agriculture Organization (FAO).
13- Nan , C, H. , Zhang , S. , G., Lin Zhao and L. , Xueying , 2004. Allelopathic effects of Ulva lactuca on species of harmful bloom-forming microalgae in
14- Pulz , O, W., Gross , 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied microbiology and biotechnology*, 65, 635-648.
15- Rai , A., K and G., Abraham , 1993. Salinity tolerance and growth analysis of the cyanobacterium *Anabaena doliolum Bulletin Journal of Environmental Contamination and Toxicology,* , 51, 724 731.
16-Schram E., J., Vander Heul , A., Kamstra and M., Verdegem, 2006. Stocking density-dependent growth of Dover sole (*Solea solea*). Aquaculture, 252, 339-347.
17-Sorina, A ., 1978. *Phytoplankton manual.*, united nations edugational scientific and culture organization.337pp.

Archive of SID

ID.ir