

## میزان رشد و تراکم ریز جلبک *Tetraselmis chuii* در شدت‌های نوری مختلف

محمد خلیل پذیر\*<sup>۱</sup>، الهام اکبرپور<sup>۲</sup>، آرزو وهاب‌نژاد<sup>۳</sup>

۱- پژوهشکده میگوی کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی (AREO)، بوشهر، ایران.

۲- سازمان نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی، بوشهر، ایران.

۳- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی (AREO)، تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۱ اردیبهشت ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۹ آذر ۱۳۹۵

### چکیده

این مطالعه در آزمایشگاه جلبک ایستگاه تحقیقاتی بندرگاه وابسته به پژوهشکده میگوی بوشهر بمنظور تعیین اثرات شدت‌های نوری مختلف بر روی میزان رشد و تراکم ریز جلبک تک سلولی *Tetraselmis chuii* و تعیین شدت نوری مناسب در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. مطالعه حاضر از ۳ تیمار شدت نوری ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۵۰۰۰ لوکس هر کدام با سه تکرار تشکیل شده بود. نتایج حاصل از تیمارهای مختلف مطالعه بعد از گذشت ۱۰ روز حاکی از آن بود که بیش‌ترین میزان رشد و تراکم سلول‌های ریز جلبک *T. chuii* در شدت نوری ۵۰۰۰ لوکس در روز هفتم پرورش با میزان  $1.0^4 \pm 0.36 \times 10^6 / 1.38$  سلول در هر میلی‌لیتر بدست آمد، این در حالی بود که در شدت نوری ۲۰۰۰ لوکس بیش‌ترین میزان تراکم سلول ریز جلبک در روز نهم مطالعه با میزان  $1.0^4 \pm 0.37 \times 10^6 / 1.37$  سلول در هر میلی‌لیتر ایجاد شده بود که این میزان در مقایسه با تیمارهای شدت نوری ۱۰۰۰ و ۵۰۰۰ لوکس به ترتیب بطور معنی‌داری از بیش‌ترین و کم‌ترین میزان برخوردار بود ( $P < 0.05$ ). با این وجود تا روز دهم مطالعه کم‌ترین میزان تراکم سلول‌های ریز جلبک مربوط به تیمار شدت نوری ۱۰۰۰ لوکس با میزان  $1.0^4 \pm 0.39 \times 10^6 / 5.60$  سلول در هر میلی‌لیتر بود. بر اساس نتایج بدست آمده می‌توان عنوان نمود که بمنظور رسیدن به حداکثر میزان رشد و تراکم ریز جلبک *T. chuii* در کوتاه‌ترین زمان ممکن می‌توان با افزایش شدت تابش نور به میزان ۵۰۰۰ لوکس طول دوره پرورش را کاهش داد، در حالیکه در شدت نوری ۲۰۰۰، رسیدن به حداکثر تراکم در مدت زمان طولانی‌تری بطول خواهد انجامید.

**کلمات کلیدی:** ریز جلبک تتراسالمیس چوئی (*Tetraselmis chuii*)، شدت نور، رشد و تراکم.

## مقدمه

ریز جلبک‌های تک سلولی به عنوان مهمترین منبع تأمین کننده انرژی بویژه در مراحل اولیه لاروی آبزیان از جایگاه ویژه‌ای در تغذیه برخوردار هستند. این موجودات (ارگانوسم‌ها) هم بصورت مستقیم برای مراحل اولیه لاروی برخی از سخت پوستان و هم بصورت غیرمستقیم جهت تغذیه برخی از غذاهای زنده شامل ناپلی آرتمیا و روتیفر بمنظور تغذیه لارو آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرند (Duerr *et al.*, 1998).

بمنظور تولید این موجودات تأمین شرایط پرورشی بهینه بسیار ضروری می‌باشد. این شرایط می‌تواند شامل درجه حرارت، شوری، شدت نور، اکسیژن محلول در آب و ترکیبات شیمیایی محیط کشت باشد. هر گونه دستکاری در شرایط فیزیکی محیط پیرامون و شیمیایی محیط کشت ریز جلبک‌های کشت داده شده می‌تواند منجر به تغییر در میزان چربی، پروتئین، کربوهیدرات و سایر ترکیبات شیمیایی درون سلول ریز جلبک شوند (Lourenço, 2006). از میان عوامل ذکر شده تأمین رژیم‌ها و شدت‌های مختلف تابش نور به عنوان یکی از عوامل تأثیر گذار بر روی رشد ریز جلبک‌ها می‌توان نام برد. نور به عنوان تنها منبع تأمین کننده انرژی مورد نیاز برای عمل فتوسنتز در ریز جلبک‌ها جهت تولید مواد مغذی محسوب می‌شود. میزان شدت تابش نور، فاصله تا منبع تأمین کننده نور، طیف‌های نوری و تراکم سلول متغیرهای اولیه از مهمترین عوامل تأثیر گذار بر روی کارایی استفاده از نور می‌باشند (Richmond *et al.*, 1980).

از آنجا که میزان شدت نور، طیف‌های نور، و دوره نوری به عنوان اجزاء تشکیل دهنده رژیم‌های نوری محسوب می‌شوند، امروزه استفاده از نور طبیعی به دلیل

مشکلاتی همچون عدم کنترل دوره نوری و شدت تابش نور و همچنین طول موج‌های ساطع شده از کارایی کمی برخوردار است (Janssen, 2002). از این رو استفاده از نورهای مصنوعی بویژه نور ساطع شده از لامپ‌های فلورسنت با شدت تابش ۲۵۰۰ لوکس به دلیل سهولت در کنترل میزان شدت تابش نور و تنظیم رژیم‌های نوری مختلف بمنظور پرورش ریز جلبک‌های تک سلولی هم در محیط‌های بسته و هم در محیط‌های بیرونی پرورش مرسوم شده است (Fábregas *et al.*, 2001). از سوی دیگر در مطالعه‌ای عنوان شد که استفاده از لامپ‌های فلورسانس تنها با طیف نوری سفید برای تولید در شرایط آزمایشگاهی بسیار کار آمده می‌باشد لیکن برای تولید متراکم ریز جلبک‌های تک سلولی استفاده از ترکیبی از طیف‌های نوری سفید، قرمز و آبی از کارایی بالایی برخوردار می‌باشد (Creswell, 2010).

با توجه به مطالب فوق میزان شدت تابش نور تأثیر بسزایی بر روی میزان رشد و ترکیبات بیوشیمیایی موجود در ریز جلبک‌ها می‌تواند داشته باشند (Borghini *et al.*, 2009). از این رو عنوان شده که میزان شدت تابش مطلوب جهت انجام عمل فتوسنتز در ریز جلبک‌ها ۵۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس (معادل ۵۰۰-۲۵۰ شمع) با حداکثر ۱۰۰۰۰ لوکس نور ساطع شده از لامپ‌های فلورسانس می‌باشد (Akimoto *et al.*, 1997). این در حالی بود که Guillard (۱۹۷۵) عنوان نمود که میزان شدت نوری مورد نیاز برای کشت ریز جلبک تتراسالمیس تحت یک دوره نوری مداوم و ۱۴ ساعت روشنایی به ترتیب ۳۵۰۰ و ۴۵۰۰ لوکس می‌باشد. از دیگر منابع نوری مورد استفاده برای تأمین نور مورد نیاز محیط‌های پرورشی بسیار بزرگ (۱۸۰۰)

کننده هیپوکلرید سدیم به میزان ۲۰ قسمت در میلیون و گذراندن آب از فیلتر میکرونی با چشمه ۱۰ میکرون، با استفاده از آب شیرین از طریق معادله ۱ شوری آب محیط کشت با درجه ۲۷ قسمت در هزار تنظیم شد (فلاحی و صلواتیان، ۱۳۸۵؛ اکبرپور و همکاران، ۱۳۹۳)

$$S_1 V_1 = S_2 V_2$$

معادله ۱: معادله تنظیم شوری آب تیمارهای مختلف ( $S_1$ : شوری اولیه،  $V_1$ : حجم اولیه،  $S_2$ : شوری ثانویه،  $V_2$ : حجم ثانویه)

پس از آنگهی ظروف شیشه‌ای ۲ لیتری مربوط به تیمارهای مختلف مطالعه به میزان ۱۵۰۰ میلی لیتر و استریل نمودن آنها توسط اتوکلاو All American مدل (50X) به مدت ۲۰ دقیقه در درجه حرارت ۱۲۲ درجه سانتیگراد و فشار ۱۲۰ پوند بر اینچ مربع (Serdar *et al.*, 2007; Ghezlbash *et al.*, 2008a,b)، از محیط کشت کانوی جهت پرورش ریز جلبک تتراسالمیس چوئی استفاده شد (Ershad Langroudi *et al.*, 2010; Coêlho *et al.*, 2012).

بمنظور ایجاد شرایط بهینه پرورش، درجه حرارت محیط آزمایشگاه و pH آب به ترتیب بر روی ۲۲ درجه سانتی‌گراد و  $7.9 \pm 0.2$  تنظیم گردید، همچنین از دو دستگاه هواده هایلا مدل (۹۶۰۱) به عنوان منبع تأمین اکسیژن استفاده شد (اکبرپور و همکاران، ۱۳۹۳). شایان ذکر است که از لامپ‌های ۴۰ وات فلورسانس مهتاب الکترونیک با طول ۱۰۰ سانتی‌متر به عنوان منبع تأمین کننده نور سفید استفاده شده که با تنظیم فاصله ظروف کشت ریز جلبک تا منبع تأمین کننده نور، با استفاده از دستگاه نور سنج دیجیتال مدل Lutran LX- 107

لیتر یا بیش‌تر) لامپ‌های متال‌هالید بوده که با شدت نوری ۷۵۰-۱۰۰۰ وات مورد استفاده قرار می‌گیرند، لیکن به دلیل گرمای زیادی تولید شده از این لامپ‌ها توصیه شده که محل قرار گیری آنها می‌بایست در فاصله ۳-۴ متری بالای سطح گلخانه‌های روباز همراه با تهویه مناسب تعبیه گردند.

از آنجای که برداشت ریز جلبک‌ها جهت تغذیه موجودات آبزی بطور معمول در مرحله ثابت نمودار رشد صورت می‌گیرد لیکن رسیدن به این مرحله در کوتاه‌ترین زمان ممکن می‌تواند علاوه بر کاهش هزینه‌های پرورش و نگهداری ریز جلبک می‌تواند در وقت نیز صرفه جویی به عمل آورد. از مهمترین راهکاری کوتاه نمودن طول دوره پرورش افزایش شدت تابش نور می‌باشد. لذا در این مطالعه سعی شد تأثیر شدت‌های تابش نوری مختلف نور مصنوعی بر روی میزان رشد ریز جلبک تتراسالمیس در شرایط آزمایشگاهی کنترل شده مورد بررسی قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

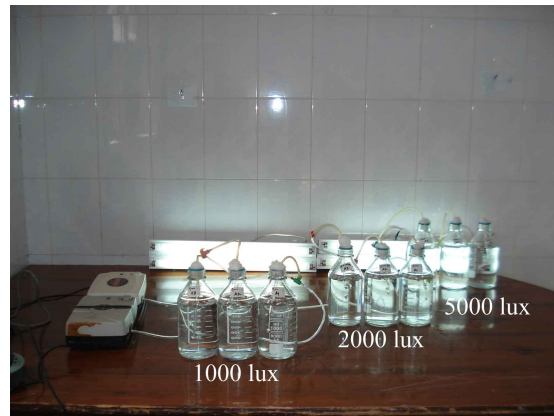
در این مطالعه از ذخیره خالص ریز جلبک *T. chuii* نگهداری شده در محیط کشت Conway آزمایشگاه جلبک ایستگاه تحقیقاتی بندرگاه وابسته به پژوهشکده میگوی کشور- بوشهر استفاده شد. مطالعه از ۳ تیمار هر کدام با ۳ تکرار در شدت‌های مختلف نوری ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۵۰۰۰ لوکس تنظیم شده با دستگاه لوکس متر (نور سنج) مدل Lutran LX- 107 انجام شد (Creswell, 2010).

برای تهیه آب محیط کشت با درجه شوری ۲۷ قسمت در هزار بدین صورت بود که پس از فیلتراسیون و ضد عفونی نمودن آب دریا توسط ماده ضد عفونی

ظروف شیشه‌ای مربوط به تیمارهای مختلف شدت نوری افزوده شد.

طول دوره پرورش ریز جلبک در این مطالعه ۱۰ روز بطول انجامید، لذا در طول این مدت بمنظور تعیین میزان تراکم سلول‌های ریز جلبک *T. chuii* شمارش سلول‌های ریز جلبک در هر میلی لیتر روزانه صورت پذیرفت. بمنظور تعیین تراکم سلول‌های ریز جلبک در هر میلی لیتر بعد از همگن نمودن محیط کشت ریز جلبک و تثبیت ۱ میلی لیتر نمونه ریز جلبک با استفاده از فرمالین ۱۰ درصد توسط لام هموسیتمتر با استفاده از میکروسکوپ نوری مدل ( ECLIPSE 9 TE2000-U, Nikon Corporation, Japan) با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر از طریق معادله ۲ محاسبه شد (اکبرپور و همکاران، ۱۳۹۳) (Ghezlbash et al., 2008a,b).

شدت‌های مختلف نوری تیمارهای مختلف مطالعه تنظیم گردید (شکل ۱).



شکل ۱: تیمارهای مختلف شدت نور ۱۰۰، ۲۰۰۰ و ۵۰۰۰ لوکس ریز جلبک *T. chuii*

در ادامه ۵ میلی لیتر سلول ریز جلبک گونه *T. chuii* از محیط کشت اولیه با تراکم اولیه  $10^4 \times 1/27 \pm 30/6$  سلول در هر میلی لیتر به هر کدام از

$$۴ \times ۱۰ = \frac{\text{تعداد کل جلبک‌های شمارش شده در چهار گوشه لام نتوبار}}{\text{تعداد گوشه‌ها (بلوک)} \times ۴} = \text{تعداد سلول در هر میلی لیتر آب}$$

معادله ۲: معادله تعیین تراکم سلول جلبک

از سوی دیگر بمنظور جلوگیری از نوسان در دیگر فاکتورهای محیطی مقادیر مربوط به فاکتورهای فیزیکیوشیمیایی از قبیل درجه حرارت، اکسیژن محلول در آب، شوری و pH به ترتیب در مقادیر  $26/2 \pm 0/5$  درجه سانتیگراد،  $4/5 \pm 0/05$  میلیگرم در لیتر، ۲۷ قسمت در هزار و  $7/9 \pm 0/7$  ثابت نگه داشته شد. در انتها داده‌های حاصل از مطالعه با استفاده از نرم افزار اکسل ۲۰۱۰ و نرم افزار آماری (SPSS (Version: 18) با استفاده از آزمون آماری ANOVA و آزمون Tukey با

بمنظور تعیین نرخ رشد ویژه در هر کدام از تیمارهای شدت نوری زمانی که تراکم سلول‌ها به حداکثر خود رسید با استفاده از معادله ۳ میزان نرخ رشد ویژه ریز جلبک تتراسالمیس در تیمارهای مختلف شدت نوری محاسبه شد (Choonawala, 2007; Ratti et al., 2011).

$$\text{نرخ رشد ویژه} = \frac{\text{Ln تراکم ثانویه} - \text{Ln تراکم اولیه}}{\text{زمان}}$$

معادله ۳: تعیین نرخ رشد ویژه سلول‌های ریز جلبک

تتراسالمیس چوئی

از شمارش سلول‌های ریز جلبک در روزهای سوم و چهارم همانند نتایج بدست آمده در روز دوم مطالعه بود. این در حالی بود که از روز پنجم مطالعه تراکم سلول‌های ریز جلبک در تیمارهای شدت نوری ۵۰۰۰ و ۲۰۰۰ لوکس بطور معنی‌داری نسبت به ریز جلبک‌های کشت شده در تیمار شدت نوری ۱۰۰۰ لوکس افزایش یافته بود ( $P < 0/05$ ). به گونه‌ای که حداکثر میانگین رشد ریز جلبک تتراسالمیس چوئی در تیمار شدت نوری ۵۰۰۰ لوکس در روز هفتم مطالعه با میزان  $1/38 \times 10^6 \pm 5/36 \times 10^4$  حاصل شد که بطور معنی‌داری بیش‌تر از تراکم شمارش شده در تیمارهای شدت نوری ۲۰۰۰ و ۱۰۰۰ لوکس بود ( $P < 0/05$ ).

اطمینان ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

## نتایج

نتایج حاصل از مطالعه حاکی از عدم مشاهده تفاوت معنی‌دار در میزان تراکم سلول‌های تیمارهای مختلف در روز اول پرورش بود ( $P > 0/05$ )، لیکن از روز دوم مطالعه تراکم سلول‌های ریز جلبک در تیمار شدت نوری ۵۰۰۰ لوکس به طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای شدت نوری ۲۰۰۰ و ۱۰۰۰ لوکس بود ( $P < 0/05$ )، این در حالی بود که علیرغم بیش‌تر بودن تراکم سلول‌ها در تیمار شدت نوری ۲۰۰۰ لوکس نسبت به تیمار شدت نوری ۱۰۰۰ لوکس هیچ گونه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). نتایج حاصل

جدول ۱: تراکم ریز جلبک در تیمارهای ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۵۰۰۰ لوکس در روزهای مختلف پرورش (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) (حروف مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن و حروف غیرمشترک نشان‌دهنده معنی‌دار بودن است)

روز	۱۰۰۰ لوکس	۲۰۰۰ لوکس	۵۰۰۰ لوکس
۱	$2/23 \times 10^4 \pm 1/52 \times 10^3$ <sup>a</sup>	$2/33 \times 10^4 \pm 2/42 \times 10^3$ <sup>a</sup>	$2/24 \times 10^4 \pm 1/98 \times 10^3$ <sup>a</sup>
۲	$3/25 \times 10^4 \pm 1/44 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$3/36 \times 10^4 \pm 2/20 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$4/75 \times 10^4 \pm 1/65 \times 10^3$ <sup>a</sup>
۳	$5/28 \times 10^4 \pm 1/45 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$6/25 \times 10^4 \pm 6/29 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$1/29 \times 10^5 \pm 3/04 \times 10^3$ <sup>a</sup>
۴	$8/25 \times 10^4 \pm 3/81 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$1/81 \times 10^5 \pm 2/31 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$6/21 \times 10^5 \pm 5/67 \times 10^3$ <sup>a</sup>
۵	$1/16 \times 10^5 \pm 1/22 \times 10^3$ <sup>c</sup>	$3/03 \times 10^5 \pm 6/09 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$8/78 \times 10^5 \pm 3/88 \times 10^3$ <sup>a</sup>
۶	$2/07 \times 10^5 \pm 1/28 \times 10^3$ <sup>c</sup>	$3/82 \times 10^5 \pm 5/37 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$1/10 \times 10^5 \pm 2/64 \times 10^3$ <sup>a</sup>
۷	$2/21 \times 10^5 \pm 8/45 \times 10^3$ <sup>c</sup>	$6/25 \times 10^5 \pm 2/02 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$1/38 \times 10^6 \pm 5/36 \times 10^3$ <sup>a</sup>
۸	$2/85 \times 10^5 \pm 1/69 \times 10^3$ <sup>c</sup>	$8/35 \times 10^5 \pm 6/70 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$1/17 \times 10^6 \pm 6/29 \times 10^3$ <sup>a</sup>
۹	$4/68 \times 10^5 \pm 3/76 \times 10^3$ <sup>c</sup>	$1/37 \times 10^5 \pm 3/81 \times 10^3$ <sup>a</sup>	$1/10 \times 10^6 \pm 5/37 \times 10^3$ <sup>b</sup>
۱۰	$5/60 \times 10^5 \pm 4/39 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$1/04 \times 10^6 \pm 2/73 \times 10^3$ <sup>a</sup>	$1/05 \times 10^6 \pm 1/78 \times 10^3$ <sup>a</sup>

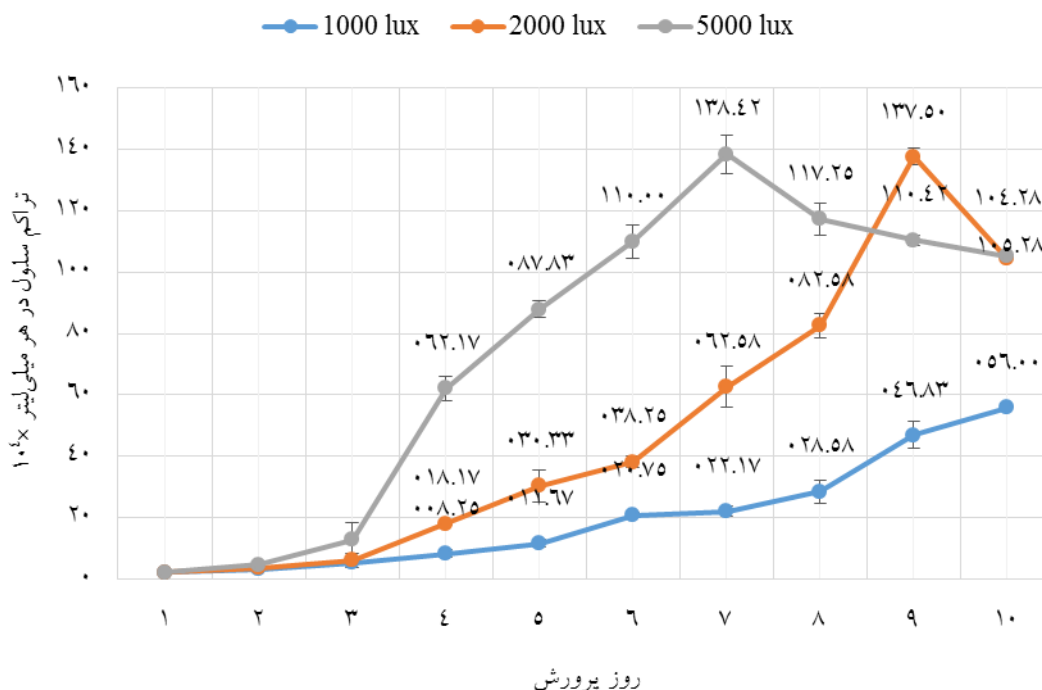
۲۰۰۰ لوکس تراکم سلول‌های ریز جلبک در روز نهم بطور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شدت نوری ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰ لوکس افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). لیکن با ادامه

این در حالی بود که در ادامه با کاهش تراکم سلول‌های ریز جلبک در تیمار شدت نوری ۵۰۰۰ لوکس و افزایش رشد سلول‌های تیمار شدت نوری

تیمارهای شدت نوری ۲۰۰۰ و ۱۰۰۰ لوکس بود (P<۰/۰۵). این در حالی بود که حداکثر میزان تراکم ریزجلبک در تیمار شدت نوری ۲۰۰۰ لوکس در روز نهم مطالعه با میزان  $1.0^4 \pm 3.81 \times 10^5$  سلول در هر میلی‌لیتر حاصل شده بود که این میزان بطور معنی‌داری بیش‌تر از مقادیر شمارش شده در تیمارهای شدت نوری ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰ لوکس بود (P<۰/۰۵)، لیکن در رابطه با تیمار شدت نوری ۱۰۰۰ لوکس مشاهده شد که حداکثر میزان تراکم ریزجلبک تا روز دهم مطالعه  $1.0^3 \pm 43.94 \times 10^4$  سلول در هر میلی‌لیتر رسیده بود. (شکل ۲).

روند پرورش در روز دهم مطالعه علیرغم کاهش تراکم سلول‌های ریزجلبک تراسالمیس چوئی در دو تیمار شدت نوری ۵۰۰۰ و ۲۰۰۰ لوکس و عدم مشاهده تفاوت معنی‌دار در تراکم سلول‌های این دو تیمار (P>۰/۰۵)، مقادیر سلول‌های شمارش شده در آنها بطور معنی‌داری بیش‌تر از تیمار شدت نوری ۱۰۰۰ لوکس بود (P<۰/۰۵).

همچنین بررسی مرحله انفجاری رشد سلول‌های ریزجلبک *T. chuii* حاکی از به حداکثر رسیدن میزان رشد ریزجلبک در تیمار شدت نوری ۵۰۰۰ لوکس با میزان  $1.0^4 \pm 5.36 \times 10^6$  سلول در هر میلی‌لیتر در روز هفتم مطالعه بود که بطور معنی‌داری بیش‌تر از



شکل ۲: روند رشد سلول‌های ریزجلبک *T. chuii* پرورش یافته در شدت‌های نوری مختلف (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

شدت نوری ۲۰۰۰ و ۱۰۰۰ لوکس بود (P $\leq$  ۰/۰۵) (جدول ۲).

نتایج حاصل از بررسی نرخ رشد ویژه تیمارهای مختلف حاکی از افزایش معنی‌دار نرخ رشد ویژه در تیمار شدت نوری ۵۰۰۰ لوکس نسبت به تیمارهای

جدول ۲: نرخ رشد ویژه سلول‌های ریزجلبک *T. chuii* در تیمارهای شدت نوری ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۵۰۰۰ لوکس (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) با ۹۵ درصد اطمینان (حروف مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن و حروف غیرمشترک نشان‌دهنده معنی‌دار بودن است)

تیمار	۱۰۰۰ لوکس	۲۰۰۰ لوکس	۵۰۰۰ لوکس
نرخ رشد ویژه	$28/46 \times 10^{-3} \pm 0/05^c$	$40/27 \times 10^{-3} \pm 0/033^b$	$48/17 \times 10^{-3} \pm 0/011^a$

## بحث

بطور معنی‌داری با افزایش همراه بود. به گونه‌ای که حداکثر میزان تراکم ریزجلبک در تیمار شدت نوری ۵۰۰۰ لوکس در مقایسه با تیمارهای شدت نوری ۲۰۰۰ و ۱۰۰۰ لوکس در روز هفتم مطالعه حاصل شد. این در حالی بود که در تیمار شدت نوری ۲۰۰۰ لوکس به فاصله دو روز بعد در روز نهم تراکم ریزجلبک به حداکثر خود رسیده بود، لیکن با وجود تابش ۲۴ ساعته نور در تیمار شدت نوری ۱۰۰۰ لوکس در مقایسه با تیمارهای ۵۰۰۰ و ۲۰۰۰ لوکس تا روز دهم مطالعه تراکم ریزجلبک از کم‌ترین میزان خود برخوردار بود. در این رابطه نیز Meseck و همکاران (۲۰۰۵) به دنبال پرورش ریزجلبک *T. chuii* در سه شدت نوری مختلف ( $110, 220, 440 \mu\text{Einst. m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) و چهار دوره نوری روشنایی: تاریکی (۲۴:۰۰، ۱۶:۸، ۱۲:۱۲ و ۱۶:۸) عنوان نمودند که افزایش طول روز و شدت نور در مقایسه با کاهش طول روز و شدت نور منجر به افزایش تولید نهایی ریزجلبک و استفاده کامل از نیترات و فسفات در کوتاه‌ترین زمان ممکن می‌شود، به گونه‌ای که ریزجلبک‌هایی که تنها ۸ ساعت در روز نور دریافت نموده بودند از رشد آهسته‌تری برخوردار بودند. براساس یافته‌های بدست آمده مشاهده شد که طول روز و شدت نور مهمترین نقش را در تعیین میزان رشد و دریافت مواد مغذی در جلبک *T. chuii* ایفا می‌نماید، که با توجه به نتایج بدست آمده در مطالعه

ریزجلبک‌ها میکروارگانیزم‌های تک سلولی هستند که قادرند با استفاده از درجه حرارت، نور و مواد مغذی موجود در محیط کشت مواد مورد نیازشان را توسط فرآیند فتوسنتز تولید نمایند (Al-Qasmi *et al.*, 2012). از این رو تا کنون مطالعات بسیاری بر روی اثرات کیفیت نور بر روی فیزیولوژی، رشد و ترکیبات ریزجلبک‌ها صورت گرفته است (Rivkin, 1989; Dubinsky *et al.*, 1995; Mercado *et al.*, 2004). این وجود شدت نور، طول دوره نوری، غلظت مواد مغذی موجود در محیط کشت از مهمترین فاکتورهای مؤثر بر رشد ریزجلبک‌ها بوده (Meseck *et al.*, 2005) که از این طریق آنها را قادر می‌سازد تا از طریق رژیم نوری با انجام فرآیند فتوسنتز در مرحله فتوشیمیایی آدنوزین تری فسفات (ATP) و در رژیم نوری تاریکی با انجام فرآیندهای بیوشیمیایی مولکول‌های ضروری را تولید نمایند (Al-Qasmi *et al.*, 2012). بنابراین در این مطالعه از شدت‌های مختلف نور سفید ساطع شده از لامپ فلورسنت با شدت‌های نوری مختلف در یک دوره نوری ۲۴ ساعته بمنظور کشت ریزجلبک تتراسالمیس چوئی استفاده شد. نتایج بدست آمده نشان داد که میزان رشد ریزجلبک تتراسالمیس چوئی در شدت نوری ۵۰۰۰ لوکس نسبت به شدت‌های نوری ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ لوکس

کشت ممکن است موجب تفاوت در ترکیبات ریز جلبک شود (Pernet et al., 2003).

از این رو می‌توان عنوان نمود که در تیمار شدت نوری ۵۰۰۰ لوکس مصرف مواد مغذی موجود در محیط کشت با سرعت بیش‌تری صورت خواهد گرفت و تراکم ریز جلبک‌ها در مدت زمان کوتاه‌تری به حداکثر خود خواهد رسید که به دلیل مصرف سریع مواد مغذی و کمبود این مواد در محیط کشت، ریز جلبک‌ها به سرعت وارد مرحله اضمحلال و مرگ می‌شوند (Tzovenis et al., 2003). لیکن با وجود طولانی شدن مرحله کشت ریز جلبک در تیمار شدت نوری ۱۰۰۰ لوکس، میزان مصرف مواد مغذی موجود در محیط کشت با سرعت کم‌تری صورت گرفت، به گونه‌ای که حتی بعد از گذشت ۱۰ روز از کشت اولیه، رشد ریز جلبک‌های *T. chuii* هنوز در مرحله رشد انفجاری قرار داشت. این در حالی بود که در تیمار شدت نوری ۲۰۰۰ لوکس از یک سو مصرف مواد مغذی با سرعت کم‌تری نسبت به تیمار ۵۰۰۰ لوکس صورت گرفته بود و از سوی دیگر در مقایسه با تیمار ۱۰۰۰ لوکس در مدت زمان کوتاه‌تری به حداکثر رشد خود رسیده بودند. لذا با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان عنوان نمود که بمنظور رسیدن به حداکثر میزان رشد و تراکم ریز جلبک *T. chuii* در کوتاه‌ترین زمان ممکن، با افزایش شدت تابش نور به میزان ۵۰۰۰ لوکس طول دوره پرورش را به شدت کاهش داد و در مدت زمان کوتاه‌تری به مرحله برداشت رسید. لیکن در شدت نوری ۲۰۰۰ لوکس در مقایسه با شدت نوری ۵۰۰۰ لوکس رسیدن به حداکثر تراکم و برداشت ریز جلبک در مرحله رشد ثابت در مدت زمان طولانی‌تری به طول خواهد انجامید با این وجود میزان

حاضر می‌توان عنوان نمود که با افزایش شدت تابش نور، ریز جلبک *T. chuii* در مدت زمان کوتاه‌تری به حداکثر رشد خود خواهد رسید، لیکن با کاهش شدت نوری این مدت زمان نیز طولانی‌تر خواهد شد به گونه‌ای که رشد ریز جلبک در تیمار شدت نوری ۱۰۰۰ لوکس تا روز ۱۰ پرورش با وجود صعودی بودن از تراکم کم‌تری برخوردار بود.

Yoshioka و همکاران (۲۰۱۲) نیز عنوان نمودند که رشد و تراکم ریز جلبک‌های دریایی ایزو کریسیس گالابانا (*Isochrysis galbana*) پرورش یافته در نور سفید فلورسنت با رژیم نوری ۲۴ ساعته در مقایسه با سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بیش‌تر است. در مطالعه دیگر عنوان شد که نور قرمز زیاد ممکن است بر روی میزان رشد ریز جلبک‌های دریایی مؤثر باشد (Mathies, 1973) این در حالی بود که در مطالعه مذکور از نور سفید فلورسانس جهت پرورش ریز جلبک *T. chuii* استفاده شده بود از این رو del Pilar Sánchez-Saavedra و همکاران (۲۰۰۶) عنوان نمودند که نور فلورسانس موجب افزایش سنتز کاروتنوئید و کلروفیل b در *Dunaliella bardawil* می‌گردد، لیکن مواجهه با درصد پائین (۸٪) نور قرمز ساطع شده از لامپ‌های با طول موج وسیع نمی‌تواند موجب کاهش رشد جلبک *Chaetoceros* sp. شود. از سوی دیگر عنوان شد که نور آبی موجب افزایش سنتز پروتئین در ریز جلبک‌ها می‌گردد (Rivkin, 1989; del Pilar Sánchez-Saavedra and Voltolina, 1996). در واقع این افزایش هم در انتهای فاز رشد و انتهای فاز انفجاری رشد است که احتمالاً موجب تقسیم سریع‌تر سلول می‌شود. از سوی دیگر حجم محیط



- Conway-doi: 10.4025/actascibiolsci. v35i2. 13971. Acta Scientiarum. Biological Sciences, 35, 163-168.
9. Del Pilar Sánchez-Saavedra, M., Voltolina, D., 1996. Effect of blue-green light on growth rate and chemical composition of three diatoms. *Journal of Applied phycology*, 8, 131-137.
  10. Del Pilar Sánchez-Saavedra, M., Voltolina, D., 2006. The growth rate, biomass production and composition of *Chaetoceros* sp. grown with different light sources. *Aquacultural engineering*, 35, 161-165.
  11. Dubinsky, Z., Matsukawa, R., Karube, I., 1995. Photobiological aspects of algal mass culture. *Journal of Marine Biotechnology*, 2, 61-65.
  12. Duerr, E.O., Molnar, A., Sato, V., 1998. Cultured microalgae as aquaculture feeds. *Journal of Marine Biotechnology*, 6, 65-70.
  13. Ershad Langroudi, H.E., Kamali, M., Falahatkar, B., 2010. The independent effects of ferrous and phosphorus on growth and development of *Tetraselmis suecica*; an in vitro study. *Caspian Journal of Environmental Science*, 8, 109-114.
  14. Fábregas, J., Otero, A., Domínguez, A., Patiño, M., 2001. Growth rate of the microalga *Tetraselmis suecica* changes the biochemical composition of *Artemia* species. *Marine biotechnology*, 3, 256-263.
  15. Ghezelbash, F., Farboodnia, T., Heidari, R., Agh, N., 2008a. Biochemical Effects of Different Salinities and Luminance on Green Microalgae *Tetraselmis chuii*. *Research Journal of Biological Sciences*, 3, 217-221.
  16. Ghezelbash, F., Farboodnia, T., Heidari, R., Agh, N., 2008b. Effects of Different Salinities and Luminance on Growth Rate of the Green Microalgae *Tetraselmis chuii*. *Research Journal of Biological Sciences*, 3, 311 - 314.
  17. Guillard, R.R.L., 1975. Culture of phytoplakton for feeding marine invertebrates. In: Smith WL, Chanle MH (eds) Culture invertebrate animals. Plenum, New York, pp. 26-60.
  18. Janssen, M., 2002. Cultivation of microalgae: effect of light/dark cycles on biomass yield. publisher not identified.
  19. Lourenço, S.O., 2006. Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações. RiMa São Carlos.
  20. Mathies, M., Lipps, L., Smith, G.S., Walford, R.L., 1973. Age-related decline in response to phytohemagglutinin and pokeweed mitogen by spleen cells from hamsters and a long-lived mouse strain. *Journal of gerontology*, 28, 425-430.

رشد و تراکم ریزجلبک *T. chuii* در شدت نوری ۱۰۰۰ لوکس در مقایسه با سایر تیمارها از کم‌ترین میزان برخوردار بود از این رو استفاده از این شدت تنها در محیط‌های آزمایشگاهی بمنظور کشت و نگهداری ذخائر ریزجلبک‌ها ممکن است بهره گرفته شود.

## منابع

۱. اکبرپور، ا.، پذیر، م. خ.، زنده بودی، ع. ۱۳۹۳. بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف شوری بر روی میزان رشد و ترکیبات بیوشیمیایی ریزجلبک تک سلولی *Tetraselmis chuii*. مجله علمی شیلات ایران، ۲۳ (۱)، ۹-۲۲.
۲. فلاحی، م.، صلواتیان، س.م.، ۱۳۸۵. بررسی اثر غلظت‌های مختلف عنصر منیزیم بر میزان رشد و بیوماس جلبک سبز کلرولا (*Chlorella vulgaris*). پژوهش و سازندگی، ۷۲ (۳)، ۹-۱۳.
3. Akimoto, M., Yamada, H., Ohtaguchi, K., Koide, K., 1997. Photoautotrophic cultivation of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* as a method for carbon dioxide fixation and  $\alpha$ -linolenic acid production. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74(18), 1-181.
4. Al-Qasbi, M., Raut, N., Talebi, S., Al-Rajhi, S., Al-Barwani, T., 2012. A review of effect of light on microalgae growth, In: Proceedings of the world congress on engineering, 4-6.
5. Borghini, F., Colacevich, A., Bergamino, N., Micarelli, P., Dattilo, A.M., Focardi, S., Focardi, S., Loisel, S.A., 2009. The microalgae *Tetraselmis suecica* in mesocosms under different light regimes. *Chemistry and Ecology*, 25, 345-357.
6. Choonawala, B.B., 2007. *Spirulina* production in brine effluent from cooling towers. Durban University of Technology, 421 p.
7. Creswell, L., 2010. Phytoplankton culture for aquaculture feed. Southern Regional Aquaculture Center.
8. Da Cruz Coêlho, A.A., Barros, M.U.G., Bezerra, J.H.C., da Silva, J.W.A., Moreira, R.L., Farias, W.R.L., 2012. Growth of the microalgae *Tetraselmis tetraele* and nitrate depletion in culture medium Guillard f/2 and

- and the Gesellschaft für Strahlen-und Umweltforschung (GSF), Munich, Germany]; editors, Gedaliah Shelef, Carl J. Soeder.
26. 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. Oldendorf, 55, 291-304.
  27. Serdar, S., Lök, A., Acarli, S., Köse, A., 2007. The Effect of Two Different Culture Media and Five Different Salinities on Growth of *Tetraselmis suecica*. Rapp. Comm. int. Mer Médit, 38, 394-395.
  28. Tzovenis, I., De Pauw, N., Sorgeloos, P., 2003. Optimisation of T-ISO biomass production rich in essential fatty acids: II. Effect of different light regimes on the production of fatty acids. Aquaculture, 216, 223-242.
  29. Yoshioka, M., Yago, T., Yoshie-Stark, Y., Arakawa, H., Morinaga, T., 2012. Effect of high frequency of intermittent light on the growth and fatty acid profile of *Isochrysis galbana*. Aquaculture, 338, 111-117.
  21. Mercado, J.M., Correa-Reyes, J.G., Lubián, L., Montero, O., Figueroa, F.L., 2004. Blue light effect on light absorption characteristics and photosynthesis of five benthic diatom species. Aquat. Bot, 78, 265-277.
  22. Meseck, S.L., Alix, J.H., Wikfors, G.H., 2005. Photoperiod and light intensity effects on growth and utilization of nutrients by the aquaculture feed microalga, *Tetraselmis chui* (PLY429). Aquaculture, 246, 393 - 404.
  23. Pernet, F., Tremblay, R., Demers, E., Roussy, M., 2003. Variation of lipid class and fatty acid composition of *Chaetoceros muelleri* and *Isochrysis* sp. grown in a semicontinuous system. Aquaculture, 221, 393-406.
  24. Ratti, S., Knoll, A.H., Giordano, M., 2011. Did sulfate availability facilitate the evolutionary expansion of chlorophyll a+ c phytoplankton in the oceans? Geobiology, 9, 301-312.
  25. Richmond, A., Vonshak, A., Arad, S.M., 1980. Environmental limitations in outdoor production of algal biomass. Algae biomass: production and use/[sponsored by the National Council for Research and Development, Israel