

# بررسی تأثیر غلظت های مختلف شوری بر روی میزان رشد و ترکیبات بیوشیمیایی

## ریز جلبک تک سلولی تتراسالمیس چوئی (*Tetraselmis chuii*)

الهام اکبرپور<sup>(۱)</sup>، محمد خلیل پذیر<sup>(۲)\*</sup>، عباسعلی زنده بودی<sup>(۲)</sup>

\* dr\_pazir@yahoo.com

۱- سازمان نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر صندوق پستی: ۴۱۶۵-۷۵۱۳۵

۲- پژوهشکده میگوی کشور - بوشهر، صندوق پستی ۱۳۷۴

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۲

### چکیده

در این مطالعه میزان رشد و ترکیبات بیوشیمیایی از قبیل کربوهیدرات، کلروفیل a و b و کاروتنوئید، ریزجلبک تک سلولی تتراسالمیس چوئی (*Tetraselmis chuii*) در غلظت های مختلف شوری ۱۰، ۲۷ و ۴۰ قسمت در هزار، هر کدام با سه تکرار مورد مطالعه قرار گرفت، در ادامه مناسب ترین درجه شوری تعیین شد. نتایج حاصل از تیمارهای فوق حاکی از آن بود که بیشترین میزان تراکم رشد مربوط به تیمار شوری ۱۰ قسمت در هزار با میزان  $2/8 \times 10^6 \pm 0/38 \times 10^5$  سلول در هر میلی لیتر و کمترین مقدار در تیمار شوری ۴۰ قسمت در هزار با میزان  $1/6 \times 10^6 \pm 0/48 \times 10^5$  سلول در هر میلی لیتر می باشد ( $P < 0/05$ ) در حالیکه مقادیر کربوهیدرات، کلروفیل a و b و رنگدانه کاروتنوئید در این تیمار نسبت به تیمارهای شوری ۲۷ و ۴۰ قسمت در هزار بطور معنی داری کمتر بود ( $P < 0/05$ ). از این رو نتایج حاصل از تراکم رشد در شوری ۲۷ قسمت در هزار با میزان  $2/2 \times 10^6 \pm 0/45 \times 10^5$  سلول در هر میلی لیتر و ترکیبات فوق حاکی از آن بود که شوری ۲۷ قسمت در هزار مناسب ترین درجه شوری جهت پرورش ریزجلبک تتراسالمیس چوئی می باشد.

**لغات کلیدی:** شوری، ترکیبات بیوشیمیایی، رشد، ریزجلبک، *Tetraselmis chuii*

\*نویسنده مسئول

## مقدمه

با توجه به جایگاه تغذیه در صنعت آبی پروری، استفاده از غذاهای زنده بویژه ریزجلبک ها از اهمیت ویژه ای برخوردار است. از این رو ریزجلبک های به عنوان تولید کنندگان اولیه با قرار گیری در رنجیره غذایی آبزیان نقش بسزائی در توسعه صنعت آبی پروری ایفاء می کنند، به گونه ای که از آنها جهت تغذیه مستقیم و غیر مستقیم روتیفر، کوپه پودا، دافنی، آرتمیاء، لارو ماهی و سخت پوستان استفاده می شود (اچ هاف و دبلیو اسنل، ۱۳۸۷؛ Renaud *et al.*, 1995; Brown, 1991; Richmond, 2004). لیکن با توجه به پراگندگی ریزجلبک ها ارزش غذایی آنها تحت تأثیر عوامل متعددی از قبیل اندازه، قابلیت هضم و ترکیبات بیوشیمیایی قرار دارد (Davis & Guillard, 1958). لذا تنها برخی از گونه ها همانند تتراسالمیس، کلرولا و ایزوکاریسیس قادرند در رنجیره غذایی آبزیان مورد استفاده قرار گیرند (Webb & Chu, 1983; Brown, 1991). از سوی دیگر ریز جلبک ها منبع سرشار از پروتئین، کربوهیدرات ها، اسیدهای چرب ضروری و رنگدانه ها می باشند به گونه ای که از آنها به عنوان یک منبع جایگزین پروتئین در تغذیه آبزیان می توان استفاده نمود (Bermúdez, 2004; Seyfabadi *et al.*, 2011). شایان ذکر است که این ترکیبات تحت تأثیر عوامل بسیاری از جمله مواد مغذی موجود در محیط، درجه حرارت، pH، شوری، شدت تابش نور و طول دوره نوری می توانند قرار بگیرند (Parsons *et al.*, 1961; Renaud *et al.*, 1995). ریزجلبک تتراسالمیس یکی از ریزجلبک های سبز تاژک دار متحرک با اندازه ۱۴-۱۰ میکرو متر می باشد که امروزه بطور گسترده ای در صنعت آبی پروری مورد استفاده قرار می گیرد (پای گذار و پذیر، ۱۳۹۰؛ کازرونی و همکاران، ۱۳۹۱؛ Serdar *et al.*, 2007). این گونه به دلیل داشتن پروتئین کل، چربی کل، اسیدهای چرب ضروری و استرول ها از اهمیت ویژه ای برخوردار است (Ghezelbash *et al.*, 2008a). به دلیل وجود دو آنتی بیوتیک طبیعی در ساختار ریزجلبک، این گونه قادر است از ایجاد بیماریهای باکتریایی در ماهی سالمون جلوگیری به عمل آورد (Shahin, 2001). با توجه به اینکه نوسانات در فاکتورهای

فیزیکیوشیمیایی همانند شوری اثرات معنی داری بر روی رشد و ترکیبات بیوشیمیایی ریزجلبک های سبز برجا می گذارد (Ghezelbash *et al.*, 2008b)، لیکن سلولهای ریزجلبک به عنوان یک سلول یوکاریوت تک سلولی قادرند با تولید برخی مواد متابولیک و با برقراری تعادل اسمزی از صدمات ناشی از افزایش یا کاهش یون های سدیم وکلر در محیط پیرامون خود جلوگیری به عمل آورند (Norma *et al.*, 2012). Ghezelbash و همکاران (۲۰۰۸b) عنوان نمودند که ریزجلبک سبز دونلیا (*Dunaliella*) قادر است در محیط هایی با شوری و غلظت های بالای نمک زیست نماید، در حالیکه افزایش یا کاهش درجه شوری در محیط پیرامون ریزجلبک تتراسالمیس علاوه بر تغییر در میزان تراکم موجب تغییر در ترکیبات بیوشیمیایی آن نیز می شود (Bolch, 2004; Thompson *et al.*, 1993). از این رو هدف از انجام مطالعه حاضر تطبیق ریزجلبک تتراسالمیس چوئی (*Tetraselmis chuii*) در درجات مختلف شوری ۱۰، ۲۷ و ۴۰ قسمت در هزار همراه با تعیین میزان تراکم رشد، کربوهیدرات، رنگدانه کاروتنوئید، کلروفیل a و b بود.

## مواد و روش کار

این مطالعه در اردیبهشت ماه ۱۳۹۲ بمدت ۳۵ روز بطول انجامید. در این مطالعه از ذخیره خالص ریزجلبک تتراسالمیس گونه چوئی (*T. chuii*) نگهداری شده در محیط کشت کانوی آزمایشگاه جلبک ایستگاه تحقیقاتی بندرگاه وابسته به پژوهشکده میگوی کشور استفاده شد. مطالعه از ۳ تیمار هر کدام با ۳ تکرار در درجات شوری ۱۰، ۲۷ و ۴۰ قسمت در هزار تشکیل شده بود. از این رو بمنظور تهیه آب با درجات شوری مختلف پس از فیلتراسیون و ضد عفونی آب دریا توسط ماده ضدعفونی کننده هیپوکلرید سدیم به میزان ۲۰ قسمت در میلیون و گذراندن از فیلتر میکرونی با چشمه ۱۰ میکرون با استفاده از آب شیرین از طریق معادله ۱ درجات مختلف شوری تنظیم گردید (پای گذار و پذیر، ۱۳۹۰؛ کازرونی و همکاران، ۱۳۹۱).

در ادامه زمانیکه تراکم سلولهای ریزجلبک به حداکثر خود رسید با استفاده از معادله ۲ میزان نرخ رشد ویژه ریزجلبک تتراسالمیس در تیمارهای مختلف شوری محاسبه گردید (Choonawala, 2007).

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

## معادله ۲: تعیین نرخ رشد ویژه سلولهای ریزجلبک تتراسالمیس چوئی

بمنظور اندازه گیری میزان کربوهیدرات در تیمارهای مختلف از روش فنل سولفوریک استفاده شد (Ghezelbash et al., 2008a,b). در این روش جهت خالص سازی سلولهای ریزجلبک تیمارهای مختلف بعد از به حداکثر رسیدن تراکم سلولهای ریزجلبک در فاز ثبات نمودار رشد، با برداشت ۱۰۰۰ میلی لیتر از محلول حاوی ریزجلبک و سانتریفوژ نمودن آن توسط سانتریفوژ اپندورف مدل (۵۸۱۰) با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه، پس از ته نشین شدن سلولهای ریزجلبک و حذف فاز فوقانی، سلولهای ته نشین شده تیمارهای مختلف در دمای ۳۰ - ۲۵ درجه سانتیگراد توسط اون مدل (Memmert countertop oven 373×221 cm) خشک شدند. در ادامه بمنظور خروج محتویات درون سلولهای ریزجلبک تتراسالمیس چوئی، با توزین نمودن ۰/۰۲ گرم پودر ریزجلبک خشک شده توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم مدل (AND) و افزودن ۵ میلی لیتر آب مقطر یکبار تقطیر، با استفاده از هاون چینی دیواره سلولهای ریزجلبک متلاشی شدند، سپس با سانتریفوژ نمودن محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه، پس از حذف دیواره سلولهای ته نشین شده و افزودن یک میلی لیتر فنل ۵ درصد و ۳ میلی لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد به فاز فوقانی تیمارهای مختلف به مدت یکساعت در دمای اتاق قرار داده شدند، که پس از ایجاد تغییر رنگ میزان جذب محلول حاصل در طول موج ۴۸۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر

$$S_1 V_1 = S_2 V_2$$

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

در ادامه پس از آگیری ظروف شیشه ای قابل اتوکلاو 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 دمای ۱۲۲ درجه سانتیگراد (Serdar et al., 2007; Ghezelbash et al., 2008a,b)، از محیط کشت کانوی جهت پرورش ریزجلبک تتراسالمیس چوئی (T.chuui) استفاده نموده شد (Guillard, 1975; Walne, 1996; Ershad Langroudi et al., 2010; Coêlho et al., 2013).

در ادامه ۵ میلی لیتر سلول ریزجلبک گونه تتراسالمیس چوئی از محیط کشت اولیه با تراکم اولیه  $10^4 \times 1/27 \pm 1/30$  سلول در هر میلی لیتر به هر کدام از ظروف شیشه ای مربوط به تیمارهای مختلف افزوده شد. بمنظور تأمین شرایط بهینه پرورش از دو عدد لامپ ۴۰ وات فلورسانس مهتاب الکتریک با طول ۱۰۰ سانتیمتر و دو دستگاه هواده هایلا مدل (۹۶۰۱) به ترتیب به عنوان منبع تأمین کننده نور و اکسیژن استفاده شد. طول دوره پرورش ریزجلبک تتراسالمیس چوئی ۱۱ روز بطول انجامید، به گونه ای که در این مدت طول دوره نوری شامل ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با شدت روشنایی  $2000 \pm 300$  لوکس و درجه حرارت  $22 \pm 2$  درجه سانتیگراد در pH  $7/9 \pm 0/2$  بود (فلاحی و صلواتیان، ۱۳۸۵؛ پای گذار و پذیر، ۱۳۹۰؛ کازرونی و همکاران، ۱۳۹۱). شمارش سلولهای ریزجلبک تتراسالمیس چوئی در هر میلی لیتر بعد از همگن نمودن محیط کشت ریزجلبک و تثبیت ۱ میلی لیتر نمونه ریزجلبک با استفاده از فرمالین ۱۰ درصد بصورت روزانه توسط لام هموسیتومتر با استفاده از میکروسکوپ نوری مدل (ECLIPSE 9 TE2000-U, Nikon Corporation, Japan) با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر صورت گرفت (پای گذار و پذیر، ۱۳۹۰؛ کازرونی و همکاران، ۱۳۹۱) (Alix & Wikfors, 2004; Shannon et al., 2005; Ghezelbash et al., 2008a,b).

استفاده از آزمون آماری ANOVA و آزمون Tukey با اطمینان ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

### نتایج

با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده شد که تراکم سلولی ریزجلبک تتراسالمیس چوئی در تیمار شوری ۱۰ قسمت در هزار در طول دوره پرورش بطور معنی داری بیشتر از تیمارهای ۲۷ و ۴۰ قسمت در هزار بود. در حالیکه تراکم سلولها در شوری تیمار ۴۰ قسمت در هزار بطور معنی داری کمتر از تراکم شمرده شده در تیمار شوری ۲۷ قسمت در هزار بود ( $P<0/05$ ) (جدول ۱).

چنوی مدل (۶۸۰۰) قرائت شد (Dubois et al., 1956; Ghezelbash et al., 2008a). بمنظور اندازه گیری رنگدانه کلروفیل a, b و کاروتنوئید پس از حل نمودن ۱۰۰ گرم پودر ریزجلبک خشک شده در ۱۲ - ۱۰ میلی لیتر استون و فیلتر نمودن آن توسط کاغذ صافی با چشمه ۲/۵ میکرون مقادیر فاکتور های فوق به ترتیب در طول موج های ۶۴۵، ۶۶۲ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر هچ مدل (۲۰۰۰) قرائت شد (Dere et al., 1998; Khuantrairong & Traichaiyaporn, 2012).

در انتها داده های حاصل از مطالعه با استفاده از نرم افزار اکسل ۲۰۰۷ و نرم افزار آماری SPSS 18 بصورت یک طرفه با

جدول ۱: تراکم سلولی ریزجلبک تتراسالمیس چوئی (*T. chuii*) (میانگین  $\pm$  میانگین انحراف معیار) کشت یافته در شوریهایی مختلف با ۹۵ درصد اطمینان (حروف مشترک در هر ردیف نشاندهنده معنی دار نبودن و حروف غیرمشترک نشاندهنده معنی دار بودن است)

| شوری | روز پرورش | ۱۰ قسمت در هزار                               | ۲۷ قسمت در هزار                               | ۴۰ قسمت در هزار                               |
|------|-----------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| ۱    | ۱         | ۱۱/۸۱×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۴۵×۱۰ <sup>۵a</sup>  | ۸/۵۶×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۳۳×۱۰ <sup>۵b</sup>   | ۷/۴۱×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۴۸×۱۰ <sup>۵c</sup>   |
| ۲    | ۲         | ۱۹/۸۷×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۲۰×۱۰ <sup>۵a</sup>  | ۱۲/۷۵×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۳۸×۱۰ <sup>۵b</sup>  | ۱۱/۴۷×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۳۴×۱۰ <sup>۵c</sup>  |
| ۳    | ۳         | ۳۶/۰۷×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۸۱×۱۰ <sup>۵a</sup>  | ۳۷/۸۱×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۲۰×۱۰ <sup>۵b</sup>  | ۳۳/۹۴×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۳۵×۱۰ <sup>۵c</sup>  |
| ۴    | ۴         | ۶۳/۵۵×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۳۶×۱۰ <sup>۵a</sup>  | ۵۳/۵۱×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۴۶×۱۰ <sup>۵b</sup>  | ۴۸/۴۷×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۲۵×۱۰ <sup>۵c</sup>  |
| ۵    | ۵         | ۸۱/۴۵×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۴۷×۱۰ <sup>۵a</sup>  | ۶۴/۷۳×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۴۳×۱۰ <sup>۵b</sup>  | ۴۸/۶۶×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۴۷×۱۰ <sup>۵c</sup>  |
| ۶    | ۶         | ۱۰۱/۶۴×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۳۰×۱۰ <sup>۵a</sup> | ۸۷/۴۵×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۲۹×۱۰ <sup>۵b</sup>  | ۸۲/۶۰×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۳۸×۱۰ <sup>۵c</sup>  |
| ۷    | ۷         | ۲۸۱/۲۷×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۴۳×۱۰ <sup>۵a</sup> | ۲۱۷/۱۵×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۴۴×۱۰ <sup>۵b</sup> | ۱۶۰/۱۳×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۳۷×۱۰ <sup>۵c</sup> |
| ۸    | ۸         | ۲۸۶/۲۳×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۳۸×۱۰ <sup>۵a</sup> | ۲۲۸/۲۵×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۴۵×۱۰ <sup>۵b</sup> | ۱۶۸/۵۸×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۴۸×۱۰ <sup>۵c</sup> |
| ۹    | ۹         | ۲۴۰/۱۶×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۳۸×۱۰ <sup>۵a</sup> | ۱۶۸/۲۵×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۴۵×۱۰ <sup>۵b</sup> | ۱۲۵/۸۶×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۴۷×۱۰ <sup>۵c</sup> |
| ۱۰   | ۱۰        | ۱۷۴/۴۸×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۳۸×۱۰ <sup>۵a</sup> | ۸۸/۳۹×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۵۹×۱۰ <sup>۵b</sup>  | ۷۴/۲۲×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۴۰×۱۰ <sup>۵c</sup>  |
| ۱۱   | ۱۱        | ۱۰/۰۶×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۳۲×۱۰ <sup>۵a</sup>  | ۹۷/۳۲×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۳۸×۱۰ <sup>۵b</sup>  | ۶۳/۶۶×۱۰ <sup>۴</sup> ±۰/۲۳×۱۰ <sup>۵c</sup>  |

حاصل شد. همچنین نتایج حاصل از بررسی نرخ رشد ویژه تیمارهای مختلف حاکی از افزایش معنی دار نرخ رشد ویژه در تیمار شوری ۱۰ قسمت در هزار نسبت به تیمارهای شوری ۲۷ و ۴۰ قسمت در هزار بود ( $P<0/05$ ) (جدول ۲).

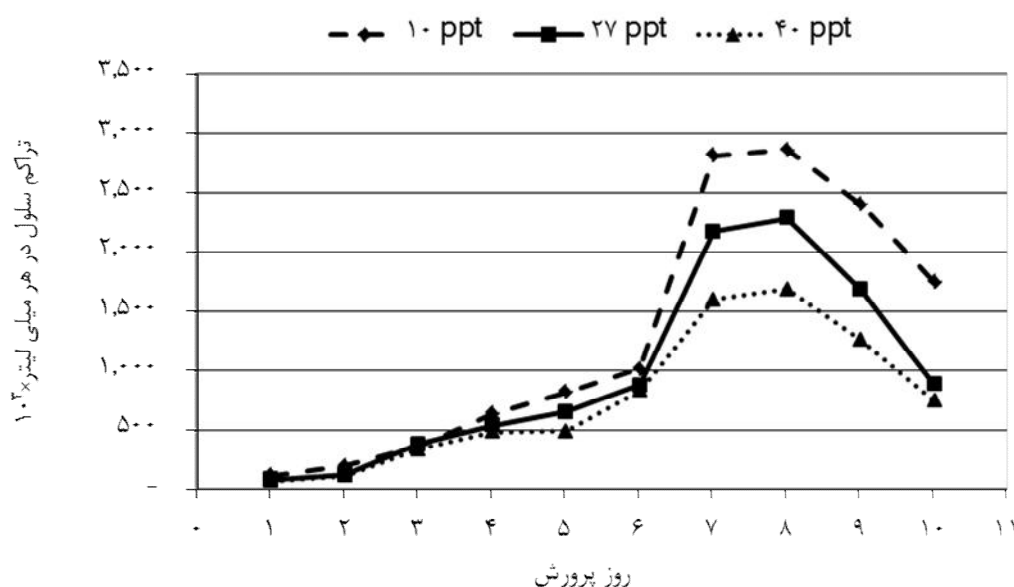
از این رو با توجه به نتایج بدست آمده حداکثر تراکم سلولهای ریزجلبک تتراسالمیس در روز هشتم پرورش به ترتیب با  $۱۰^۳ \pm ۱/۵۸ \times ۱۰^۴$  سلول در هر میلی لیتر در تیمار شوری ۱۰ قسمت در هزار و حداقل تراکم در تیمار شوری ۴۰ قسمت در هزار با تراکم  $۱۰^۳ \pm ۱/۵۸ \times ۱۰^۴$  سلول در هر میلی لیتر

جدول ۲: نرخ رشد ویژه سلول های ریزجلبک تیمارهای شوری ۱۰، ۲۷ و ۴۰ قسمت در هزار (میانگین  $\pm$  میانگین انحراف معیار) با ۹۵ درصد اطمینان (حروف مشترک در هر ردیف نشاندهنده معنی دار نبودن و حروف غیرمشترک نشاندهنده معنی دار بودن است)

| تیمار        | ۱۰ قسمت در هزار     | ۲۷ قسمت در هزار     | ۴۰ قسمت در هزار     |
|--------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| نرخ رشد ویژه | $13/40 \pm 0/005^a$ | $13/17 \pm 0/033^b$ | $12/91 \pm 0/011^c$ |

هزار با شیب بیشتری نسبت به دو تیمار دیگر به حداکثر تراکم رسیدند این در حالی بود که این مرحله در تیمارهای شوری ۲۷ و ۴۰ قسمت در هزار از شیب کمتری برخوردار بود (نمودار ۱).

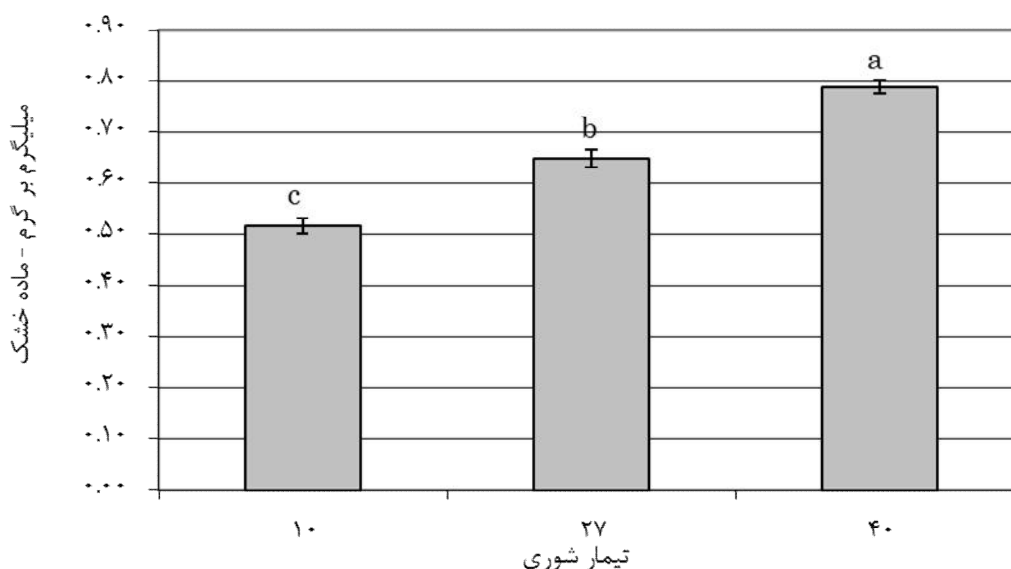
نتایج حاصل از بررسی مرحله انفجاری رشد سلولهای ریزجلبک تتراسالمیس چوئی و رسیدن به مرحله ثبات حاکی از آن بود که سلولهای پرورش داده شده در تیمار شوری ۱۰ قسمت در



نمودار ۱: روند رشد سلولهای ریزجلبک تتراسالمیس چوئی (*T. chuii*) پرورش یافته در شوریهای مختلف (میانگین  $\pm$  میانگین انحراف معیار)

شده در تیمار شوری ۴۰ قسمت در هزار بطور معنی داری بیشتر از تیمارهای شوری ۲۷ و ۱۰ قسمت در هزار بود ( $P < 0.05$ ) از سوی دیگر مقادیر اندازه گیری شده در تیمار شوری ۱۰ قسمت در هزار بطور معنی داری کمتر از تیمار شوری ۲۷ قسمت در هزار بود ( $P < 0.05$ ) (نمودار ۲).

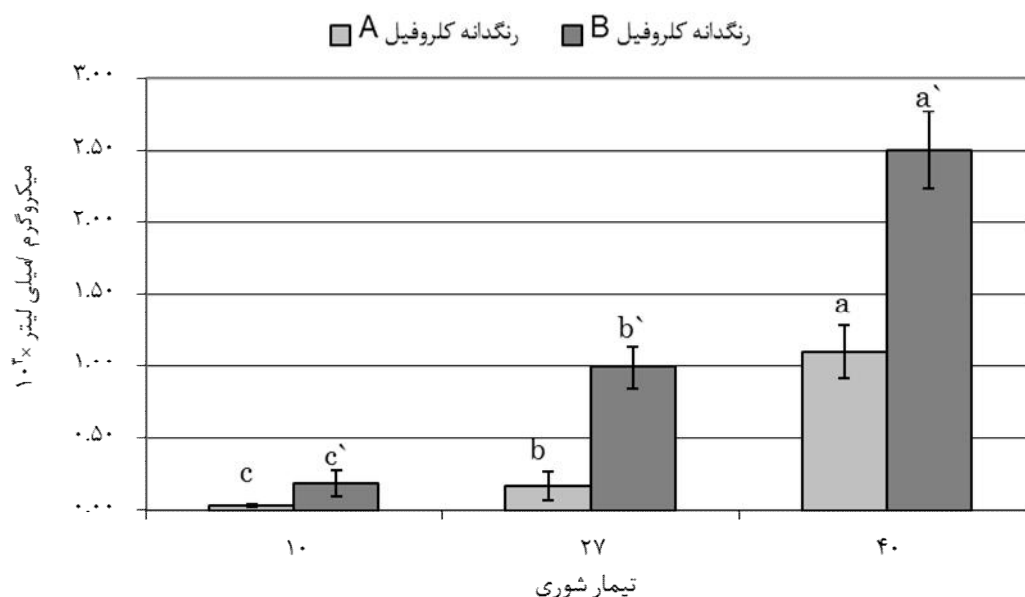
داده‌های حاصل از اندازه گیری میزان کربوهیدرات در تیمارهای مختلف شوری بدین صورت بود که حداکثر میزان کربوهیدرات به ترتیب مربوط به تیمارهای شوری ۴۰ و ۲۷ قسمت در هزار با میزان ۰/۸۱ و ۰/۶۸ میلی گرم بر گرم ماده خشک و حداقل آن در تیمار شوری ۱۰ قسمت در هزار با میزان ۰/۵۴ میلی گرم بر گرم ماده خشک بود. به گونه ای که مقادیر اندازه گیری



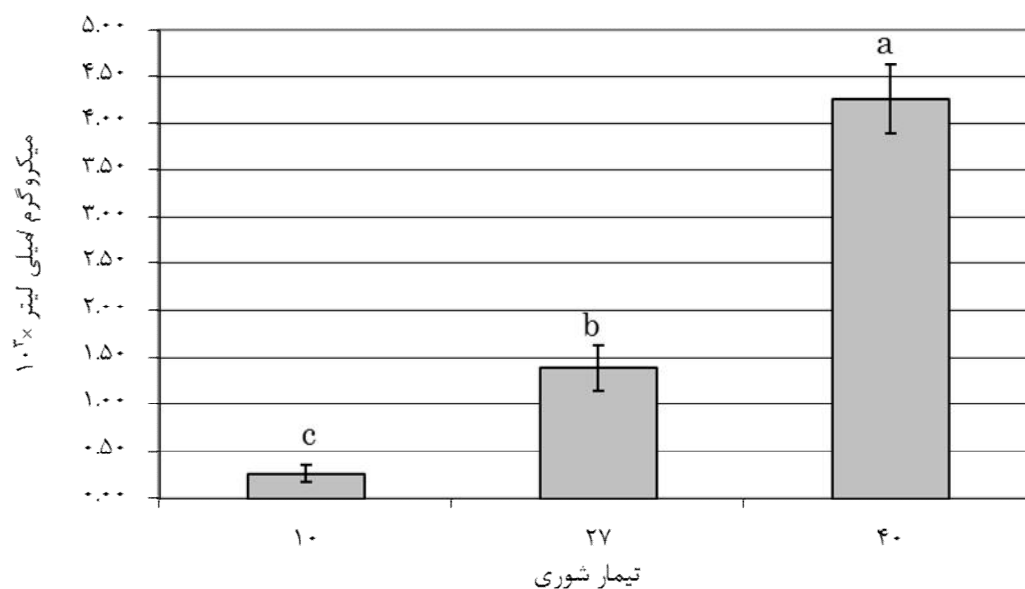
نمودار ۲: مقادیر کربوهیدرات (میانگین  $\pm$  میانگین انحراف معیار) اندازه گیری شده در تیمارهای شوری مختلف با ۹۵ درصد اطمینان (حروف مشترک نشاندهنده معنی دار نبودن و حروف غیر مشترک نشاندهنده معنی دار بودن است).

هزار بطور معنی داری بیشتر از مقادیر فاکتور اندازه گیری شده در تیمارهای شوری ۲۷ و ۱۰ قسمت در هزار بود ( $P < 0.05$ ) به گونه ای که بیشترین میزان کلروفیل کل در تیمار ۴۰ قسمت در هزار با میزان  $42/90 \times 10^2$  میکروگرم بر میلی لیتر بود و کمترین مقدار مربوط به تیمار شوری ۱۰ قسمت در هزار با مقدار  $26/40 \times 10^2$  میکروگرم بر میلی لیتر بود (نمودار ۴). در رابطه با رنگدانه کاروتنوئید کل نتایج حاکی از آن بود که بیشترین میزان این فاکتور به ترتیب در تیمار شوری ۴۰، ۲۷ و ۱۰ قسمت در هزار با مقدار  $17/09 \times 10^4$ ،  $77/072 \times 10^3$  و  $14/752 \times 10^3$  میکروگرم بر میلی لیتر و کمترین میزان به ترتیب در تیمارهای شوری ۱۰، ۲۷ و ۴۰ قسمت در هزار با مقدار  $14/575 \times 10^3$ ،  $76/683 \times 10^3$  و  $16/915 \times 10^4$  میکروگرم بر میلی لیتر بود. از این رو مقایسه آماری میانگین رنگدانه کاروتنوئید کل در تیمارهای مختلف حاکی از این بود که میزان این رنگدانه در ریزجلبک های تیمار شوری ۴۰ قسمت در هزار بطور معنی داری نسبت به تیمارهای شوری ۲۷ و ۱۰ قسمت در هزار افزایش یافته بود (نمودار ۵).

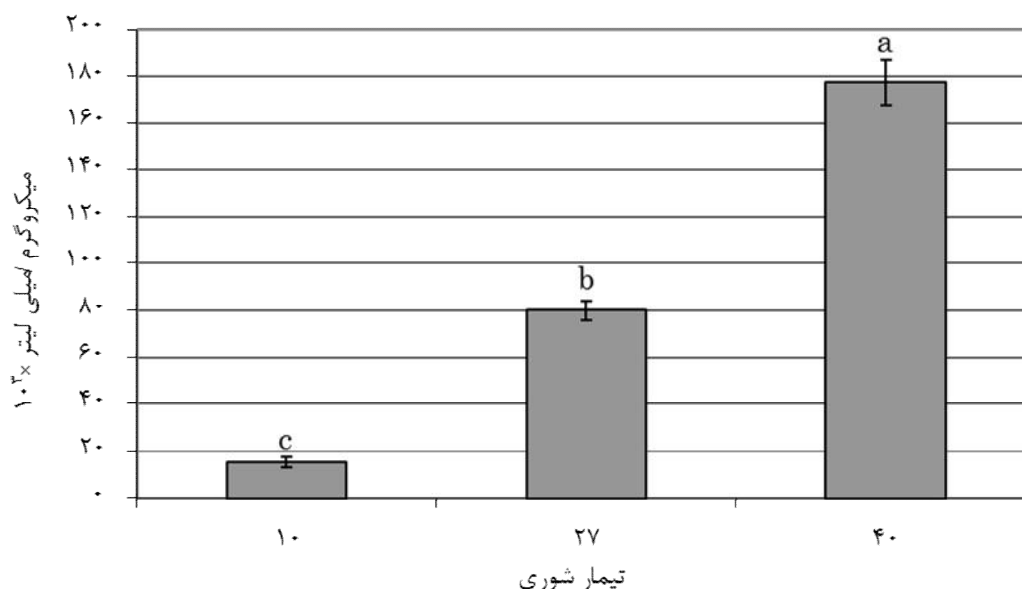
همچنین نتایج حاصل از اندازه گیری رنگدانه کلروفیل a و b سلولهای ریزجلبک تتراسالمیس چوئی کشت داده شده در تیمارهای مختلف نشان داد که حداکثر میزان رنگدانه کلروفیل a در ریزجلبک تتراسالمیس چوئی تیمار شوری ۱۰، ۲۷ و ۴۰ قسمت در هزار به ترتیب  $33/98$ ،  $172/49$ ،  $1133/83$  میکروگرم بر میلی لیتر و حداقل آن  $31/04$ ،  $160/74$  و  $1083/26$  میکروگرم بر میلی لیتر و در رابطه با رنگدانه کلروفیل b نیز حداکثر مقدار به ترتیب  $188/92$ ،  $994/36$ ،  $2512/53$  میکروگرم بر میلی لیتر و حداقل آن  $186/73$ ،  $985/73$  و  $2488/71$  میکروگرم بر میلی لیتر بود. لذا نتایج مطالعات آماری حاصل از مقایسه میانگین های بدست آمده از تیمارهای مختلف نشان داد که مقادیر رنگدانه کلروفیل a و b بطور معنی داری در ریزجلبک های کشت داده شده در شوری ۴۰ قسمت در هزار بیشتر از سایر تیمارهای شوری بود ( $P < 0.05$ ). در حالیکه مقادیر اندازه گیری شده در تیمار شوری ۱۰ قسمت در هزار بطور معنی داری کمتر از تیمار ۴۰ و ۲۷ قسمت در هزار بود ( $P < 0.05$ ) (نمودار ۳). شایان ذکر است که مقادیر مربوط به کلروفیل کل در تیمار شوری ۴۰ قسمت در



نمودار ۳: مقادیر رنگدانه کلروفیل A و B (میانگین  $\pm$  میانگین انحراف معیار) اندازه گیری شده در تیمارهای شوری مختلف با ۹۵ درصد اطمینان (حروف مشترک نشاندهنده معنی دار نبودن و حروف غیرمشترک نشاندهنده معنی دار بودن است).



نمودار ۴: مقادیر رنگدانه کلروفیل کل (میانگین  $\pm$  میانگین انحراف معیار) اندازه گیری شده در تیمارهای شوری مختلف با ۹۵ درصد اطمینان (حروف مشترک نشاندهنده معنی دار نبودن و حروف غیرمشترک نشاندهنده معنی دار بودن است).



نمودار ۵: مقادیر رنگدانه کاروتنوئید کل (میانگین  $\pm$  میانگین انحراف معیار) اندازه گیری شده در تیمارهای شوری مختلف با ۹۵ درصد اطمینان (حروف مشترک نشاندهنده معنی دار نبودن و حروف غیرمشترک نشاندهنده معنی دار بودن است).

## بحث

با توجه به نقش ریزجلبک ها در آبی پروری، فراهم آوردن شرایط بهینه بمنظور رشد آنها از اهمیت ویژه ای برخوردار است (Dubinsky *et al.*, 1995). تاکنون مطالعات عدیده ای در این خصوص صورت گرفته است لیکن فاکتورهایی از قبیل شدت تابش نور، طول دوره نوردهی، غلظت و نوع ترکیبات محیط کشت از عوامل تأثیر گذار بر روی رشد و تغییر در ترکیبات بیوشیمیایی ریزجلبک ها محسوب می شوند (Mercado *et al.*, 2004). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که نوسانات ایجاد شده در غلظت های مختلف شوری اثرات معنی داری بر روی رشد و تراکم سلولهای ریزجلبک تتراسالمیس چوئی می تواند ایجاد نماید. به گونه ای که تراکم سلولهای ریزجلبک در شوری ۱۰ قسمت در هزار در طول دوره پرورش بطور معنی داری بیشتر از تراکم بدست آمده در تیمارهای شوری ۲۷ و ۴۰ قسمت در هزار بود ( $P < 0.05$ ). همچنین با توجه به اینکه در

تراکم سلولهای تلقیح شده در تیمارهای مختلف هیچگونه تفاوت معنی داری وجود نداشت. لذا در مرحله القاء (تأخیری) به دلیل افزایش سطوح آنزیم ها و متابولیسم های درگیر در تقسیم سلولی و همچنین تأخیر در سازش فیزیولوژیکی سلولهای ریزجلبک نسبت به محیط اطراف تراکم سلولهای تیمارهای مختلف تا روز سوم پرورش از افزایش کمتری برخوردار بودند از سوی دیگر عواملی همچون تراکم سلولهای تلقیح شده، درجه شوری و شدت روشنایی از مهمترین عوامل تأثیر گذار بر شیب مرحله تأخیری می باشند (Staal *et al.*, 2007)، با این وجود مشاهده شد که در این مرحله تراکم سلولها در تیمار شوری ۱۰ قسمت در هزار بطور معنی داری بیشتر از تیمارهای شوری ۲۷ و ۴۰ قسمت در هزار بود، به گونه ای که شیب نمودار رشد سلولهای ریزجلبک در تیمار فوق نسبت به سایر تیمارها از شدت بیشتری برخوردار بود. Ghezelbash و همکاران (۲۰۰۸b) عنوان نمودند که مرحله تأخیری رشد ریزجلبک تتراسالمیس سوسیکا (*T. suecica*) در



شدت نوری ۵۰۰ لوکس و تیمار شوری ۴۰ و ۵۰ قسمت در هزار در مقایسه با شدت های نوری ۲۵۰۰، ۴۵۰۰ و ۵۰۰۰ لوکس و تیمارهای شوری ۲۰ و ۳۰ قسمت در هزار طولانی تری می باشد. از سوی دیگر مشاهده شد که از روز سوم پرورش به دنبال شروع مرحله دوم نمودار رشد (فاز انفجاری) (Theroux, 2005) تراکم سلولهای ریزجلبک بصورت لگاریتمی افزایش پیدا نمود، به گونه ای که حداکثر تراکم سلولهای ریزجلبک در تیمارهای مختلف شوری در روز هشت پرورش حاصل شد. این در حالی بود که شیب نمودار رسیدن به حداکثر تراکم در تیمار شوری ۱۰ قسمت در هزار در مقایسه با تیمارهای شوری ۲۷ و ۴۰ قسمت در هزار بیشتر بود، از سوی دیگر شدت این شیب در تیمار شوری ۲۷ قسمت در هزار نیز بیشتر از تیمار شوری ۴۰ قسمت در هزار بود. لذا با توجه به اینکه میزان رشد ریزجلبک ها به عوامل متعددی، از جمله گونه ریزجلبک، شدت تابش نور و درجه حرارت محیط بستگی دارد (Ghezelbash *et al.*, 2008b)، لیکن رشد ریزجلبک ها در محیط نشاندنده سازش یک گونه یا سویه با محیط اطراف خود می باشد (Serdar *et al.*, 2007). همچنین با توجه به اینکه تکثیر سلولهای ریزجلبک تتراسالمیس از طریق تقسیم دوتائی صورت می گیرد می توان اینچنین استنباط نمود که در پی افزایش درجه شوری یون های سدیم و کلر متعاقباً افزایش یافته که در نتیجه این افزایش فشار اسمزی محیط اطراف سلولهای ریزجلبک نیز افزایش خواهد یافت (Mayer *et al.*, 1997). ازاین رو با توجه به اینکه استرس ناشی از افزایش درجه شوری از فاکتورهای اساسی در محدود نمودن رشد و تولید میکروارگانیسم ها می باشد (Meseck *et al.*, 2005)، لذا در پی افزایش درجه شوری علاوه بر کاهش تقسیمات دوتائی، میزان مصرف انرژی در سلول های ریزجلبک بمنظور برقراری تعادل اسمزی با محیط اطراف نیز افزایش خواهد یافت (Norma *et al.*, 2012). لیکن همان گونه که مشاهده شد در تیمار شوری ۴۰ قسمت در هزار میزان تراکم سلولهای ریزجلبک با کاهش معنی داری همراه بود. Hart و همکاران (۱۹۹۱) نشان دادند که کاهش میزان رشد در شوری های بالا به دلیل کاهش میزان فتوسنتز است همچنین کاهش بیومس

بدست آمده در مطالعه صورت گرفته توسط Vazquez-Duhalt و Arredondi-Vega ۱۹۹۱ و Ben-Amotz و همکاران (۱۹۸۵) ممکن است به دلیل عدم سازش ریزجلبک در درجات بالای شوری باشد. Ghezelbash و همکاران (۲۰۰۸b) عنوان نمودند که حداکثر بیومس ریزجلبک تتراسالمیس در میان تیمارهای شوری ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ قسمت در هزار در شوری ۲۰ قسمت در هزار ایجاد شده بود. در مطالعه دیگر عنوان شد که بیشترین تراکم سلولی در شدت نور ۶۵۰۰ لوکس و شوری ۲۵ قسمت در هزار و کمترین تراکم در شدت نوری ۴۵۰۰ لوکس و شوری ۴۰ قسمت در هزار حاصل شده بود، در حالیکه هیچگونه تفاوت معنی داری در میان اسیدهای چرب غیراشباع استخراج شده از تیمارهای مختلف وجود نداشت (کازرونی و همکاران، ۱۳۹۱). لذا با توجه به اینکه در شدت های نوری و درجات شوری بالا فاکتورهای بیوشیمیایی ریزجلبک های افزایش می یابد (Toro, 1989)، در این مطالعه مشاهده شد که مقادیر کربوهیدرات، کلروفیل a و b و کاروتنوئید در ریزجلبک کشت داده شده در تیمار شوری ۴۰ قسمت در هزار بطور معنی داری بیشتر از تیمارهای شوری ۱۰ و ۲۷ قسمت در هزار بود. Ghezelbash و همکاران (۲۰۰۸a) نیز عنوان نمودند که مقادیر کربوهیدرات در شوری ۵۰ قسمت در هزار و شدت نوری ۴۵۰۰ و ۶۵۰۰ لوکس از بیشترین مقدار برخوردار بود، در حالیکه در شوری ۴۰ قسمت در هزار و شدت نوری ۶۵۰۰ لوکس کمترین مقدار حاصل شد. همچنین Vazquez-Duhalt و Arredondi-Vega (۱۹۹۱) گزارش نمودند که در شوری های بالا مقادیر کربوهیدرات در ریزجلبک بوتریوکوکوس برون (Botryococcus braunii) افزایش می یابد. از سوی دیگر بسیاری از مطالعات پیشین نشان دادند که قند های محلول نقش مهمی در تنظیم فشار اسمزی سلولها در طول شرایط تکثیر و استرس زا ایفا خواهند نمود (Gill *et al.*, 2002)، لذا ریزجلبک ها از طریق این مکانیسم در برابر استرس های ناشی از افزایش شوری و تابش نور با محیط اطراف خود سازش پیدا می یابند (Ashraf & Harris, 2004). از این رو از مهمترین دلایل افزایش میزان کربوهیدرات در تیمارهای شوری ۴۰ قسمت در هزار می تواند

استرس ناشی از افزایش شوری باشد، بطوریکه در چنین شرایطی ارتباط فرآیندهای فیزیولوژیک از قبیل متابولیسم کربوهیدرات ها، فتوسنتز، جابجائی و تنفس درون سلولی دچار اختلال می شود. لذا هر گونه تغییر در این فرآیندها با اختلال در متابولیسم کربوهیدرات (قندهای تجمع یافته) در درون سلول همراه خواهد شد (Naeini *et al.*, 2009). از این رو افزایش کربوهیدرات ها در تیمار شوری ۴۰ قسمت در هزار می تواند ناشی از تخریب بازدارندهای سنتز نشاسته و سایر پلی ساکاریدها باشد (Chang *et al.*, 2001)، که در نتیجه با تجمع قندهای محلول در سلول همراه می شوند (Kerepesi & Galba, 2000). همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که مقادیر رنگدانه های کلروفیل a، b و کاروتنوئید در تیمارهای شوری ۱۰ قسمت در هزار بطور معنی داری کمتر از مقادیر اندازه گیری شده در تیمارهای شوری ۲۷ و ۴۰ قسمت در هزار می باشد. Ghezelbash و همکاران (۲۰۰۸) عنوان نمودند که تیمارهای شوری ۴۰ قسمت در هزار و شدت نوری ۶۵۰۰ لوکس از بیشترین مقدار کلروفیل a و b و کاروتنوئید برخوردار بودند در حالیکه در تیمار شوری ۲۰ قسمت در هزار و شدت نوری ۶۵۰۰ لوکس کمترین مقدار اندازه گیری شد. در مطالعه دیگر بیشترین میزان کربوهیدرات، کلروفیل a، b و کاروتنوئید در تیمارهای ریزجلبک کشت داده شده در شدت نوری ۵۰۰۰ لوکس و شوری ۲۷ قسمت در هزار حاصل شد (پای گذار و پذیر، ۱۳۹۰). از این رو زمانیکه سلول های ریزجلبک در معرض شدت نوری و شوری بالا قرار می گیرند به دلیل فعال شدن فرآیندهای بازدارنده، از فتوسنتز درون سلولی جلوگیری بعمل آمده (Toro, 1989)، که به دنبال فعال شدن واکنش های اکسیداسیون نوری در پی افزایش شدت تابش نور و عدم جذب مواد فتوسنتز کننده مقادیر رنگدانه کاروتنوئید، کلروفیل a و b در داخل سلول با افزایش همراه می شود (Barnes & Mann, 1991; Hart *et al.*, 1999). شایان ذکر است که نتایج حاصل از این پروژه مشابه نتایج مطالعه انجام شده توسط Fazeli و همکاران (۲۰۰۵) بود که گزارش نمودن که کاروتنوئید کل در ریزجلبک دونلیا ترتیولکتا (*Dunaliella tertiolecta*) که در معرض درجات شوری بالا قرار می گیرد با افزایش همراه است.

در ادامه در فاز اشباعیت نمودار رشد زمانیکه نوترینت ها، نور، pH، دی اکسید کربن و سایر فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی شروع به محدود شدن نمودند، علاوه بر متعادل شدن رشد سلول ها تراکم آنها نیز ثابت شد. لذا با شروع فاز نزول و کاهش تقسیم سلولی فاز مرگ که در مرحله انتهائی نمودار رشد قرار داشت آغاز شد. در این مرحله به دنبال کاهش کیفیت آب و مواد مغذی تراکم سلولها به سرعت کاهش یافته به گونه ای که از روز ده پرورش سلول ها به تدریج متلاشی شدند. لذا با توجه به تراکم سلولی و ترکیبات بیوشیمیایی بدست آمد در ریزجلبک های کشت شده در تیمار شوری ۲۷ قسمت در هزار می توان چنین عنوان نمود که با وجود اینکه تراکم سلولهای ریزجلبک تتراسالمیس کشت شده در تیمار شوری ۱۰ قسمت در هزار بطور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود، لیکن مقادیر مربوط به کربوهیدرات، کاروتنوئید و کلروفیل a و b داخل سلولی آنها به شدت کاهش یافته بود، لیکن علیرغم افزایش این ترکیبات در سلولهای ریزجلبک تیمار شوری ۴۰ قسمت در هزار، تراکم آنها به دلیل تنش ناشی از افزایش شوری نسبت به دو تیمار دیگر با کاهش همراه بود. از این رو می توان عنوان نمود که مناسبترین درجه شوری بمنظور دستیابی به تراکم و ترکیب بیوشیمیایی بهینه در ریزجلبک تتراسالمیس چوئی درجه شوری ۲۷ قسمت در هزار می باشد.

## تشکر و قدردانی

در پایان از همکاری های ارزشمند پرسنل خدمت ایستگاه تحقیقاتی بندرگاه بالاخص مهندس اسدی و پای گذار به جهت فراهم نمودن زمینه های لازم بمنظور انجام هر چه بهتر مطالعه کمال تشکر و قدردانی را دارم.

## منابع

اچ هاف، ف.، دبلیو اسنل، ت.، ۱۳۸۷. دستورالعمل تکثیر و پرورش پلانکتون ها. ترجمه: قباد آذری تاکامی و محمد امینی چرمهینی. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۴۲ صفحه.  
پای گذار، ا.، پذیر، م. خ. ۱۳۹۰. پایان نامه کارشناسی. بررسی تأثیر شدت نور بر رشد و تراکم جلبک تتراسالمیس

- University of Tasmania, Launceston, Australia, 1-4.
- Brown, M.R., 1991.** The amino-acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 145(1): 79-99.
- Chang, S.C., Cho M.H., Kang, B.G. and Kaufman, P.B., 2001.** Changes in starch content in oat (*Avena sativa*) shoot pulvini during the gravitropic response. Department of Biology, Yonsei University, Seoul 120 749, Korea. *Journal Experimental Botany*, pp. 1029-1040.
- Choonawala, B.B., 2007.** *Spirulina* production in brine effluent from cooling towers. Durban University of Technology, 421 P.
- Coêlho, A.A.da C., Gonçalves, Barros, M.U., Cavalcante Bezerra, J.H., Alves da Silva, J.W., Lafaite Moreira, R. and Lobo Farias, W.R., 2013.** Growth of the microalgae *Tetraselmis tetrahele* and nitrate depletion in culture medium Guillard f/2 and Conway. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 35, 163 - 168.
- Davis, H.C. and Guillard, R.R. 1958.** Relative value of ten genera of microorganisms as foods for oyster and clam larvae. *Fish Bull US*, 58: 293 - 304.
- Dere, S., Gunes, T. and Sivaci, R., 1998.** Spectrophotometric Determination of Chlorophyll - a, b and Total Carotenoid Contents of Some Algae Species Using Different Solvents. *Turkish Journal of Botany*, 22: 13 - 18.
- در شرایط آزمایشگاهی. دانشگاه جامع علمی کاربردی، مرکز آموزش جهاد کشاورزی خلیج فارس. ۶۶ صفحه.
- فلاحی، م. و صلواتیان، س.م. ۱۳۸۵.** بررسی اثر غلظت های مختلف عنصر منیزیم بر میزان رشد و بیوماس جلبک سبز کلرولا (*Chlorella vulgaris*). پژوهش و سازندگی، شماره ۷۲، صفحات ۹ تا ۱۳.
- کازرونی، ن.، محمدی، م.، جواهری بابلی، م. و پذیر، م. خ. ۱۳۹۱.** پایان نامه کارشناسی ارشد. شناسایی بهینه رشد جلبک *Tetraselmis suecica* و ترکیب اسید چرب در دامنه نوری و شوری های مختلف. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات خوزستان. ۸۰ صفحه.
- Alix, J.H. and Wikfors, G.H., 2004.** A flow-cytometric method for counting microalgae and bacterial cells in the same sample. *Journal Shellfish Research*. 23, 631 - 633.
- Ashraf, M. and Harris, P.J.C., 2004.** Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, 166, 3 - 16.
- Barnes, R. and Mann, K., 1999.** *Fundamentals of Aquatic Ecology*. Blackwell Science. Cambridge. UK, 270P.
- Ben-Amotz, A., Tornabene, T.G. and Thomas, W.H., 1985.** Chemical profiles of selected species of microalgae with emphasis on lipids. *Journal Phycology*. 21, 72-81.
- Bermúdez, J., Rosales, N., Loreto, C., Briceño, B. and Morales E., 2004.** Exopolysaccharide, pigment and protein production by the marine microalga *Chroomonas* sp. in semicontinuous cultures. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 20(2), 179-83.
- Bolch, C., 2004.** *Intensive Algal Culture*. Lecture notes: KQA 201 School of Aquaculture.

- Dubinsky, Z., Matzukawa, R. and Karube, I., 1995.** Photobiological aspects of algal mass culture. *J. Mar. Biotechnol.*, 2, 61-65.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilo, J.K., Rebers P.A. and Smith, F., 1956.** Colorimetric method for determination of sugars and related substrates. *Anal. Chem.*, 28, 350 - 356.
- Ershad Langroudi, H., Kamali, M. and Falahatkar, B., 2010.** The independent effects of ferrous and phosphorus on growth and development of *Tetraselmis suecica*; an *in vitro* study. *Caspian J. Env. Sci.* 8, 109 - 114.
- Fazeli, M.R., Towghi, H., Samadi, N., jamalifar, H., 2005.** Effects of salinity on carotene production by *Dunaliella tertiolecta* DCCBC26 isolated from the Urmia salt lake, north of Iran. *Bioresource Technology*, 2, 23 - 28.
- Ghezelbash, F., Farboodnia, T., Heidari, R. and Agh, N., 2008a.** Biochemical Effects of Different Salinities and Luminance on Green Microalgae *Tetraselmis chuii*. *Research Journal of Biological Sciences*, 3: 217-221.
- Ghezelbash, F., Farboodnia, T., Heidari, R. and 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.
- Gill, P.K., Sharma, A.D., Singh, P. and Bhullar, S.S., 2002.** Osmotic stress-induced changes in germination, growth and soluble sugar contents of *Sorghum bicolor* (L.) Moench seeds under various abiotic stresses. *Plant Physiology*, 128: 12 - 25.
- 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.
- Hart, B.T., Bailey, P., Edwards, R., Hortle, K., James, K., Mc Mahon, A., Meredith, C. and Swadling, K., 1991.** A review of the salt sensitivity of the Australian freshwater biota. *Hydrobiologia*, 210, 105-144.
- Kerepesi, I. and Galiba, G., 2000.** Osmotic and Salt Stress-Induced Alteration in Soluble Carbohydrate Content In Wheat Seedlings. *Seed Physiology, Production and Technology. Crop sci*, 40, 482-487.
- Khuantrairong, T. and Traichaiyaporn, S., 2012.** Enhancement of carotenoid and chlorophyll content of an edible freshwater alga (*Kai: Cladophora* sp.) by supplementary inorganic phosphate and investigation of its biomass production. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 6, 1 - 11.
- Mercado, J.M., Correa-Reyes, J.G., Lubián, L., Montero, O. and Figueroa, F.L., 2004.** Blue light effect on light absorption characteristics and photosynthesis of five benthic diatom species. *Aquat. Bot.* 78, 265-277.
- Meseck, S.L., Alix, J.H. and 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.
- Meyer, K.N., Kjeldsen, E., Straub, T., Knudsen, B.R., Hickson, I.D., Kikuchi, A., Kreipe, H. and Boege, F., 1997.** Cell Cycle-coupled

- Relocation of Types I and II Topoisomerases and Modulation of Catalytic Enzyme Activities. *Journal Cell Biological*. 136: 775 - 788.
- Naeini, A., Khosravi, A.R., Chitsaz, M., Shokri, H. and Kamlnejad, M., 2009.** Anti-Candida albicans activity of some Iranian plants used in traditional medicine. *Journal Mycology Medicine*, 19: 168-172.
- Norma, G., José Antonio, L.-E., Anselmo, M., Marcel, M.P., Nolberta, H. and Antonio, G., 2012.** Effect of salinity on growth and chemical composition of the diatom *Thalassiosira weissflogii* at three culture phases *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 40, 435 - 440.
- Parsons, T.R., Stephens, K. and Strickland, J.D.H., 1961.** On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. *Journal Fish Research Board Can.* 18, 1001 - 16.
- Renaud, S.M., Zhou, H.C., Parry, D.L., Thinh, L-V. and Woo, K.C., 1995.** Effect of temperature on the growth, total lipid content and fatty acid composition of recently isolated tropical microalgae *Isochrysis* sp., *Nitzschia closterium*, *Nitzschia paleacea*, and commercial species *Isochrysis* sp. (clone T.ISO). *Journal of Applied Phycology*. 7(6), 595-602.
- Richmond, A., 2004.** Biological principles of mass cultivation. In: Richmond A (ed) *Handbook of microalgal mass culture. Biotechnology and applied phycology*. Blackwell, Oxford. 566P.
- Serdar, S., Lök, A., Acarli, S. and 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.
- Seyfabadi, J., Ramezanpour, Z. and Amini Khoeyi, Z., 2011.** Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. *Journal of Applied Phycology*. 23(4), 721-6.
- Shahin, T., 2001.** Larval Rearing of the Black Sea Turbot, *Scophthalmus maximus* (Linnaeus, 1758), under Laboratory Condition. *Central Fisheries Research Institute. Turk. J. Zool.* 25, 447 - 452.
- Shannon, L.M., Jennifer, H.A. and Gary, H.W., 2005.** Photoperiod and light intensity effects on growth and utilization of nutrients by the aquaculture feed microalga, *Tetraselmis chui* (PLY429). *Aquaculture*, 246, 393-404.
- Staal, M., Thar, R., Kuhl, M., van Loosdrecht, M.C.M., Wolf, G., de Brouwer, J.F.C. and Rijstenbil, J.W., 2007.** Different carbon isotope fractionation patterns during the development of phototrophic freshwater and marine biofilms. *Biogeosciences*. 4, 613 - 626.
- Theroux, S., 2005.** Effects of Nutrient Limitation on the Productivity of *Coccolithophore* algae and the *Paleoclimatic* implications. A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the Degree of Bachelor of Arts with Honors in Geosciences Williams College Massachusetts.
- Thompson, P.A., Guo, M. and Harrison, P.J., 1993.** The influence of irradiance on the biochemical composition of three phytoplankton species and their nutritional value for larvae of

- the Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*). Marine Biology. 117, 259-268.
- Toro, J.E., 1989.** The growth rate of two species of microalgae used in shellfish hatcheries cultured under two light regimes. Aqua Fish Manag. 20, 249 - 254.
- Vazquez-Duhalt, R. and Arredondo-Vega, B.O., 1991.** Haloadaptation of the green alga *Botryococcus braunii* (race A). Phytochemistry, 30, 2919 - 2925.
- Walne, P.R., 1966.** Experiments in the large scale culture of the larvae of *Ostrea edulis*. *Fishery Investigations*. 2(25), 1-53.
- Webb, K.L. and Chu, F.E., 1983.** Phytoplankton as a food source for bivalve larvae. In, Proc. 2nd Int. Conf. Aquaculture Nutrition, edited by G. D. Pruder *et al.*, World Mariculture Soc Spec State University, Louisiana. 2, 272-91.

## The effects of different concentration of salinities on the biochemical components and growth rate of single cell microalgae, *Tetraselmis chuii*

Akbarpour E.<sup>(1)</sup>; Pazir M.K.<sup>(2)\*</sup>; Zendehboudi A.<sup>(2)</sup>

\* dr\_pazir@yahoo.com

1-Bushehr Agriculture and Natural Resource Engineering, P.O.Box: 4165-75135 Bushehr, Iran

2- Iran Shrimp Research Center, P.O.Box: 1374, Bushehr, Iran

**Key words:** salinity, biochemical components, growth, microalgae, *Tetraselmis chuii*

### Abstract

In This study Growth rate and biochemical components including carbohydrate, chlorophyll a and b and carotenoids of microalgae, *Tetraselmis chuii*, was studied in different concentration of salinities. Three levels of salinities (10, 27 and 40) with three replicates were used. The results of the treatments indicated that maximum of growth rate was observed in 10psu salinity with  $2.8 \times 10^6 \pm 0.38 \times 10^5$  cell per milliliters and minimum in 40psu with  $1.6 \times 10^6 \pm 0.48 \times 10^5$  cell per milliliters ( $P < 0.05$ ). The carbohydrate, chlorophyll a and b and carotenoid pigments were lower and significantly difference in 27psu and 40psu of salinities ( $P < 0.05$ ). Obtained results of cell concentration with  $2.2 \times 10^6 \pm 0.45 \times 10^5$  per milliliters and biochemical components showed that the best salinity was 27psu for culture of microalgae, *Tetraselmis chuii*.

---

\*Corresponding author