بررسی تاثیر نانو ذرات آهن در روند رشد میکرو جلبک دونالیلا سالینا *Dunaliella Salina* تحت شرایط آزمایشگاهی

آرزو معصومی احمدسرایی[۱]*، شهرام شرفی[۱]، علی گنجیان خناری [۲]، هومن شجیی [۱]

۱* – دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دانشکده میکرو بیولوژِی

۲- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

*نویسنده مسئول مقاله: biomasoumi@yahoo.com

تاریخ ارسال : ۱۳۹۶/۰۷/۰۳

تاریخ پذیرش : ۱۳۹۶/۱۰/۰۳

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

چکیده

جلبک‌ها در دنیای امروز مصارف و کاربردهای فراوانی دارند. در بسیاری از کشورها، جلبک‌ها بخش عمده‌ای از اقتصاد را تشکیل داده و ارقام بزرگی از صادرات آن‌ها به وسیله‌ی جلبک‌ها تامین می‌شود. میکروجلبک سبز دونالیلا *Dunaliella* و انواع گونه های آن در تحقیقات بیوتکنولوزیکی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. در مطالعه حاضر، اثر نانو ذرات آهن (با غلظت ۰/۱ گرم درلیتر) در سه تیمار با حجم های ۰/۷۵ ، ۷/۵ و ۷۵ میلی‌لیتر (هر یک با سه تکرار) بر روند رشد میکرو جلبک دونالیلا در یک دوره رشد مورد بررسی قرار گرفت. شمارش نمونه‌ها، طی ۱۲ روز و هر دو روز یکبار، صورت گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین رشد سلولی دونالیلا سالینا در تیمار سوم (دارای ۷۵ میلی لیتر از محلول نانو ذرات آهن) به میزان ($۲۵/۰ \times ۱۰^{۵}$ تعداد سلول در میلی لیتر) و کمترین رشد سلولی در شاهد به میزان($۱۰/۸ \times ۱۰^{۵}$ تعداد سلول در میلی لیتر) بوده است. میانگین تراکم سلول‌های میکروجلبک دونالیلا سالینا در تیمار دو با شاهد در روز های ششم و هشتم اختلاف معنی داری نداشت ($P>0/05$)، اما در روز های دیگر اختلاف معنی داری وجود داشته است ($P<0/05$). در تیمارهای یک وسه در دوازده روز شمارش، بین تعداد سلول میکروجلبک دونالیلا سالینا در روزهای مختلف اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد وجود داشت ($P<0/05$). همچنین نرخ رشد و ضریب رشد ویژه نشان دهنده رشد بیشتر دونالیلا سالینا در تیمار سه بود و تیمارهای دیگر نسبت به شاهد رشد بیشتری داشتند.

کلمات کلیدی: میکرو جلبک، دونالیلا سالینا، نانوذرات آهن، شمارش سلولی، نرخ رشد

مقدمه

جلبک‌ها در دنیای امروز مصارف و کاربردهای فراوانی دارند. در بسیاری از کشورها، جلبک‌ها بخش عمده‌ای از اقتصاد را تشکیل داده و ارقام بزرگی از صادرات آن‌ها به وسیله‌ی جلبک‌ها تامین می‌شود. پرورش و تولید غذای زنده با کیفیت وکمیت مناسب جهت تغذیه لاروها به‌خصوص در مراحل ابتدایی پرورش آن‌ها یعنی آغاز تغذیه فعال از اهمیت زیادی برخوردار است. (دیارکیان مهر، ۱۳۷۱). تغذیه مناسب و تامین نیازهای غذایی آبزیان نقش اساسی در دست‌یابی به برنامه‌های تولید انبوه بچه ماهی و میگو و افزایش بازدهی آن به‌عهده دارند. میکروجلبک‌ها علاوه بر نقش مهمی که در تکثیر و پرورش آبزیان به عنوان یک منبع غذایی دارند، نقش به‌سزایی نیز به همراه باکتری‌ها در تعادل اکسیژن و دی اکسید کربن در محیط تکثیر و پرورش ایفا می-نمایند. غذای زنده به دلایل مختلف از جمله دارا بودن اسیدهای آمینه آزاد، اسیدهای چرب غیراشباع EPA وDHA، هضم پذیری سریع و آسان، عدم نیاز به هضم پیشرفته و مقادیر مناسب پروتئین محلول از اهمیت بالایی برخوردار است(Becker, 2004 , گنجیان و همکاران ۱۳۹۲). میکرو جلبک ها علاوه برپروتئین و لیپید، سرشار از اسیدهای چرب غیر اشباع، ویتامین B6، پیش ساز ویتامین B12 (متیل کوبالامین) و اسپوروپولین (کاهش سمیت نوروتوکسین ها و فلزات سنگین) می باشد. از مهم ترین خواص بالینی جلبک ها می توان به کاهش کلسترول در خون و کبد، کاهش فشار خون، دیابت، جلوگیری از پوکی استخوان، بهبود یبوست، زخم معده و کم خونی اشاره نمود. همچنین عملکرد مفید جلبک ها در بهبود و تقویت سیستم ایمنی، کاهش آلرژی، کند شدن روند رشد تومورهای سرطانی و کاهش عملکرد ویروس ها به اثبات رسیده است. از اهداف عمده پرورش این نوع از جلبک ها می‌توان به استحصال رنگیزه‌هایی از جمله انواع کارتنوئیدها مانند بتاکارتن (Grung *et al* 1992)و اسیدهای چرب آلی و تولید غذای زنده برای آبزیان اشاره نمود (Lavens and Sorgeloos,1996). همچنین، این جلبکها در صنایع دارویی،غذایی و ساخت لوازم آرایشی (Ben Amotz *et al.*, 1982)، منبع سوخت حیاتی(Biofuel) و منبع تولید و استخراج انواع آنتی بیوتیک ها کاربردهای فراوانی یافته‌اند (Mutanda *et al.*, 2011). تحقیقات در زمینه بررسی ارزش غذایی، خصوصاً اسیدهای چرب، در این جلبک ها هنوزهم ناقص است (Brown *et al.*, 1997; Chomrung, 2000). منبع اصلی میکروجلبک ها منابع آبی طبیعی است که تحقیقات متنوعی برای شناسایی تنوع آنها انجام گرفته است .بررسی تنوع گونه ای جلبک های(تک سلولی) بومی منطقه و ارزیابی پتانسیل پرورش انبوه، ارزش غذایی و یافتن کاربرد آنها می تواند بنیادی ترین تحقیق در آغاز صنعتی سازی پرورش و استفاده از جلبک ها باشد. کلروفیتا یا جلبک‌های سبز به‌علت فراوانی گونه‌ها و پراکندگی آن‌ها یکی از گروه‌های عمده جلبک‌ها می‌باشند (Bold and Wynne, 1985). از میان انواع جلبک های تک سلولی گزارش شده در آب های منطقه، جلبک های تک سلولی رده کلروفیسه (*Chlorophyceae*) با دارا بودن تنوع نسبی بالا، اهمیت و جایگاه خاصی درصنعت آبزی پروری دارند.

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

مگنتیت (Magnetite) یکی از متداول ترین کانی های اهن در پوسته زمین بوده و نانو ذرات مگنتیت متداول‌ترین نانوذرات اکسید اهن مورد استفاده در علم نانو تکنولوژی می باشند. مگنتیت در حقیقت یک ترکیب یونی دو گانه است که از اتم های فلزی اهن و نافلز اکسیژن به واسطه پیوند های شیمیایی اکسید اهن II با اکسید اهن III شکل می گیرد. به همین دلیل به نام های دیگری از جمله اکسید اهن (II و III) با اکسید فروس-فریک نیز مشهور می باشد اما نام IUPAC ان Iron(II) di-iron (III) oxide است که با فرمول شیمیایی FeO·Fe2O3 (Fe3O4) نشان داده میشود. (ابراهیمی نژاد و همکاران ،۱۳۹۳).

با توجه به اهمیت تکثیر و پرورش میکروجلبک در صنایع آبزی پروری و صنایع مختلف از جمله تغذیه انسانی، دام و طیور(حذف آنتی بیوتیک، بالا بردن ارزش غذایی لاشه، بالا بردن سیستم ایمنی و..) ، داروسازی، بیودیزل (سوخت سبز)، کود سبز و کمبود اطلاعات جامع و کاربردی در زمینه محیط کشت اختصاصی و مناسب جهت افزایش زی‌توده و ریز مغذی میکرو جلبک، نیاز به تحقیق بیشتر در زمینه شرایط مختلف رشد می‌باشد. هدف از این تحقیق بررسی تاثیر نانو ذرات اهن در رشد سلولی میکرو جلبک دونالیلا سالینا تحت شرایط آزمایشگاهی می باشد.

مواد و روش کار

شرایط کشت میکرو جلبک دونالیلا سالینا

پس از استریل نمودن اطاق کشت، از محیط کشت جانسون به‌مقدار۲۰۰ سی‌سی در ارلن ۲۵۰ سی‌سی تحت شرایط استریل تزریق شد. مجموعا سه تیمار و شاهد (با سه تکرار) در نظر گرفته شد. مقدار 5 سی‌سی از سوسپانسیون ایزوله محیط کشت مادر حاوی میکروجلبک دونالیلا سالینا و حجم معینی از محلول نانو ذرات آهن به هر یک از ۱۲ ارلن .افزوده شد. جهت ساخت نانوذرات آهن مقدار ۰/۱ گرم آن را در یک لیتر آب مقطر حل نموده و میزان ۰/۷۵ میلی لیتر برای تیمار یک و ۷/۵ میلی لیتر برای تیمار دوم و ۷۵ میلی لیتر برای تیمار سه تزریق شدند. پس از این مرحله به‌منظور تکثیر، کلیه کشت ها به مدت۱۲روز در مجاورت دما۲ ±۲۵ (سانتی‌گراد)، نور (پریود ۱۲- ۱۲ و ۳۵۰± ۳۵۰۰ لوکس) و هوادهی ثابت قرار گرفتند. برای تامین نور سفید از لامپ‌های فلورسنت استفاده شد و میزان نور دهی از دستگاه فوتون متر (نور سنج) مدل Hansatech QSPAR-U.K. اندازه گیری گردید و هوادهی توسط پمپ آکواریوم مرکزی صورت گرفت تا محیط کشت رسوب نکند واختلاط منظم داشته باشد (Ordog, 1982 ، گنجیان ،۱۳۸۹ ، گنجیان و همکاران، ۱۳۹۲).

جهت بررسی روند رشد میکرو جلبک دونالیلا در تیمارهای مختلف ، شمارش سلولی هر دو روز یکبار با استفاده از میکروسکوب اینورت (با یزرگنمایی40x) و لام نئوبار (هموسیتومتر) انجام شد و نتایج بر حسب تعداد سلول در میلی لیتر ثبت شد..

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

میانگین، انحراف معیار، اشتباه معیار، حداقل وحداکثر داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای Excell2007 و SPSS18 استخراج شدند و مورد آنالیز آماری قرارگرفتند. برای تجزیه وتحلیل داده‌ها از (ANOVA) و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۹۵ درصد استفاده گردید (Zar,1984).

نتایج و بحث

شمارش روزانه میکروجلبک دونالیلا سالینا در تیمار های مختلف

شمارش میانگین، انحراف معیار، ضریب تغییرات، حداقل و حدکثر میکروجلبک دونالیلا سالینا در طی ۱۲ روز و شش بار شمارش در جدول ۱ آورده شده‌است. بررسی روند رشد سلولی میکرو جلبک دونالیلا سالینا نشان داد که در اولین شمارش (روز دوم)، بشترین تعداد سلول دونالیلا سالینا (۳/۵×۱۰۵ سلول در میلی‌لیتر) در تیمار ۳ و کمترین رشد (۲/۱×۱۰۵ سلول در میلی‌لیتر) در تیمار یک به ثبت رسید. این روند رشد در دومین شمارش (در روز چهارم) ادامه داشته بطوریکه تیمار سوم بیشترین تراکم سلولی را داشت.

در سومین شمارش (روز ششم) تمام تیمار ها در مرحله رشد تصاعدی، قرار گرفته و نسبت به روز اول رشد سلولی میکروجلبک دونالیلا سالینا شش برابر شد. بطوری‌که بیشترین و کمترین رشد سلولی را بترتیب تیمار سوم و تیمار اول نشان دادند. میانگین شمارش تیمار سوم در ششمین روز ($۱۰/۷×۱۰^{۵}$ سلول در میلی‌لیتر) با شاهد ($۶/۹×۱۰^{۵}$ سلول در میلی‌لیتر) اختلاف زیاد نشان داد.

در هشتمین روز (چهارمین شمارش سلولی) دونالیلا سالینا بیشترین رشد سلولی را در تیمار سوم و کمترین رشد سلولی را در تیمار یک داشته است، بطوریکه رشد سلولی تیمار یک تقریبا نزدیک به شاهد بوده است.

در شمارش سلولی پنجم (روز دهم) روند رشد سلولی میکروجلبک دونالیلا سالینا در تیمارهای مختلف افزایش داشت بطوریکه تیمار دو که قبل از روز دهم رشد سلولی کمی را داشت، در این مرحله رشد سلولی آن از شاهد بیشتر بود. در دهمین روز، بیشترین رشد سلولی میکروجلبک دونالیلا سالینا در تیمار ۳ به میزان($۱۴/۰×۱۰^{۵}$ سلول در میلی‌لیتر) بود و کمترین رشد سلولی در شاهد به میزان ($۱۰/۵×۱۰^{۵}$ سلول در میلی لیتر) به ثبت رسید.

آخرین مرحله از شمارش سلولی یعنی مرحله شش (دوازدهمین روز) بیشترین رشد سلولی در تیمار سوم به میزان ($۱۰^{۵}$× ۲۵/۰ سلول در میلی لیتر) و کمترین رشد سلولی شاهد به میزان ($۱۰^{۵}$ × ۱۰/۸ سلول در میلی‌لیتر) بوده است. بین میانگین تراکم سلول‌های میکروجلبک دونالیلا سالینا در تیمار دو و شاهد در روز های ششم و هشتم اختلاف معنی داری وجود نداشت ($P>0/05$)، اما در روز های دیگر اختلاف معنی داری نشان داد ($P<0/05$). شمارش در تیمارهای یک و سه، در دوازده روز

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

(جدول ۱ و شکل ۱).نشان داد که بین تعداد سلول میکروجلبک دونالیلا سالینا در روزهای مختلف اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد وجود داشت (P<0/05).

در این آزمایش محاسبه نرخ رشد و ضریب رشد ویژه نشان دهنده رشد بیشتر میکروجلبک دونالیلا سالینا در تیمار سه بوده است و تیمارهای دیگر نسبت به شاهد رشد بیشتری داشته اند (جدول ۲).

جدول ۱- مقادیر میانگین (± انحراف معیار) و حداقل، حداکثر تعداد میکرو جلبک دونالیلا سالینا (سلول در میلی لیتر×$۱۰^{۵}$) در تیمار های مختلف

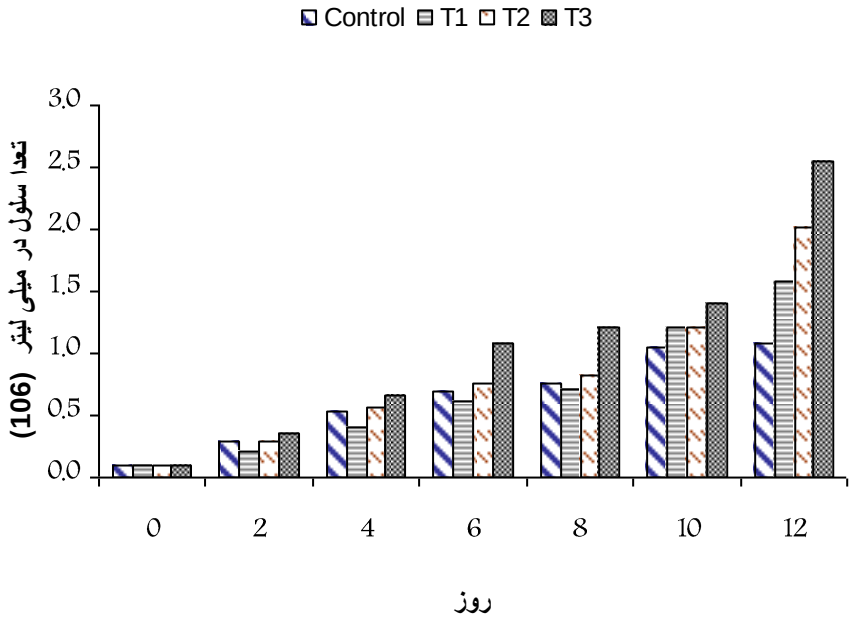
روز	میانگین ± انحراف معیار حداکثر – حداقل			
	شاهد	تیمار۱	تیمار۲	تیمار۳
۰	۱/۰±۰/۰a (۱-۱)	۱/۰±۰/a (۱-۱)	۱/۰±۰/a (۱-۱)	۱/۰±۰/a (۱-۱)
۲	۲/۹±۰/۸b (۲/۰-۳/۶)	۲/۱±۰/۶b (۱/۶-۲/۷)	۲/۹±۰/ ۳ b (۲/۵-۳/۱)	۳/۵±۰/ ۷b (۲/۸-۴/۱)
۴	۵/۳±۱/۰c (۴/۲-۶/۰)	۴/۰±۰/۵c (۳/۶-۴/۵)	۵/۷±۰/۸c (۵/۰-۶/۵)	۶/۶±۰/ ۸ c (۵/۹-۷/۴)
۶	۶/۹±۰/۹d (۵/۸-۷/۵)	۶/۱±۰/۳d (۵/۸-۶/۴)	۷/۶±۰/۴d (۷/۳-۸/۱)	۱۰/۷±۰/۶d (۱۰/۲-۱۱/۴)
۸	۷/۶±۰/۹d (۶/۶-۸/۴)	۷/۱±۰/۲e (۶/۹-۷/۲)	۸/۲±۰/۶d (۷/۷-۸/۸)	۱۲/۱±۰/۵e (۱۱/۶-۱۲/۵)
۱۰	۱۰/۵±۰/۶e (۱۰/۰-۱۱/۱)	۱۲/۱±۰/۹f (۱۱/۲-۱۳/۰)	۱۲/۰±۰/۶e (۱۱/۴-۱۲/۶)	۱۴/۰±۰/۶f (۱۲/۲-۱۵/۰)
۱۲	۱۰/۸±۰/۶e (۱۰/۲-۱۱/۲)	۱۵/۹±۰/۶g (۱۵/۵-۱۶/۶)	۲۰/۱±۰/۶f (۱/۰-۲۰/۶)	۲۵/۵±۰/۳g (۲۵/۲-۲۵/۷)

اعداد در یک سطر با حروف متفاوت با یکدیگر دارای اختلاف معنی‌داری می باشند (P<0.05)

جدول ۲- میزان نرخ رشد و ضریب رشد ویژه در روز(µ/d) میکروجلبک دونالیلا سالینا دز تیمارهای مختلف

تیمارها	نرخ رشد	ضریب رشدویژه
شاهد	۰/۲۰	۰/۲۲
تیمار۱	۰/۲۳	۰/۲۵
تیمار۲	۰/۲۵	۰/۲۷
تیمار۳	۰/۲۷	۰/۲۹

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)



شکل۱ - تغییرات روزانه تعداد سلول (میلی‌لیتر ×۱۰^۶) میکروجلبک دونالیلا سالینا در تیمار های مختلف

Control = شاهد، T1= تیمار۱ ، T2 = تیمار۲، T3 = تیمار ۳

درطی سال های اخیر تحقیقات گسترده ای برای استخراج ترکیب های طبیعی از میکروجلبک دونالیلا به عنوان غذا و دارو صورت گرفته است. از گونه های مختلف آن آنزیم های با ارزش، ویتامین ها و مواد دارویی زیادی استخراج گردیده که از نظر اقتصادی نیز حائز اهمیت می باشند .بخش عمده این ترکیب ها دارای خاصیت ضداکسیدانی و ضدسرطانی می باشند (مقدسی و همکاران ۱۳۹۰).

نانوذرات اکسید آهن در غلظت های اندک می‌توانند به عنوان منبع تامین یون آهن مورد نیاز میکروارگانیسم ها عمل کرده و در نتیجه حذف گردند . اما غلظت‌های بالای این نانوذرات در سلول های میکروبی می توانند با ایجاد تنش وآسیب سلولی موجب کاهش رشد سلولی گردند. از سوی دیگر نانوذرات اکسید آهن قادرند از طریق نیروهای الکترواستاتیک و یا هیدروفوبیک به دیواره سلول های میکروبی اتصال یافته و به عوامل چسبنده سطحی متصل گردند (ابراهیمی نژاد و همکاران، ۱۳۹۳). در این تحقیق نانو ذرات آهن در رشد سلولی میکرو جلبک سبز دونالیلا تاثیر بسزایی داشته بطوریکه با افزایش غلظت نانو ذرات آهن رشد سلولی بیشتری داشته است .

در مطالعه بهشتی فر و شریعتی(۱۳۹۴) اثر تیتانیم بر رشد و تولید فتوسنتزی جلبک تک سلولی دونالیلا انجام گردید. نتایج نشان داد که در غلظت های مختلف تیتانیم هیچ تغییری از نظر رشد سلولی، میزان کلروفیل و بتاکاروتن نسبت به شاهد نداشت، اما در حضورEDTA منجر به افزایش تعداد سلول، میزان کلرفیل و بتاکاروتن تیمارها نسبت به شاهد گردید.

در تحقیق حاضر با توجه به شکل (۱) و. جدول (۱) شمارش سلولی در اخرین روز بررسی (دوازدهمین روز) بیانگر افزایش تعداد سلول در تیمارهای مختلف نسبت به شاهد بود، بطوریکه تیمار سه بیشترین تعداد سلولی را بخود اختصاص داد و بنظر میرسد نانو ذرات آهن در رشد سلولی میکرو جلبک دونالیلا سالینا تاثیر زیادی دارد.

یافته پژوهشی

با توجه به اهمیت اقتصادی دونالیلا، افزایش رشد سلولی این میکرو جلبک گامی مهم در تولید بیشتر محسوب می‌شود. بر اساس نتایج تحقیق حاضر، افزایش غلظت نانو ذرات آهن به محیط کشت اختصاصی می‌تواند تولید میکرو جلبک دونالیلا سالینا را بطور چشمگیری افزایش دهد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از مدیریت گروه پژوهشی شیلات و آلاینده های آبی خزر (کاسپین) که امکانات لازم جهت انجام این تحقیق فراهم نمودند و استاد ارجمند جناب آقای دکتر شرفی به خاطر نظرات و پیشنهادات ارزنده و سودمندشان قدردانی می گردد.

منابع

ابراهیمی نژاد، ع.، برنجیان، آ.، کوهپایه، س. ا. و قاسمی، ی.، ۱۳۹۳. کاربرد نانو ذرات اکسید آهن در میکروب شناسی و اثرات آنها بر میکروارگانیسم ها. مجله دنیای میکروب ها، ۷ (۱۸):۸۶-۷۵.

بهشتی فر، س. و شریعتی، م.، ۱۳۹۴. اثر تیتانیوم بر رشد و تولید رنگیزههای فتوسنتزی جلبک تک سلولی *Dunaliella salina*. مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، ۲۸(۱): ۵۲-۴۲.

دیار کیان مهر، ه.، ۱۳۷۱. مبانی جلبک شناسی. جهاد دانشگاهی مشهد.

گنجیان خناری، ع.، ۱۳۸۹. کشت جلبک. گروه پژوهشی شیلات و آلاینده‌های آبی خزر، ۲۴ صفحه.

گنجیان خناری، ع.، شکوری، م.، قلیچی، ا.، قاسم نژاد، م.، گنجیان خناری، ف.، خسروی، م. و فارابی، م.و.، ۱۳۹۲. بررسی تأثیر بی کربنات سدیم بر رشد میکروجلبک سندسموس(*Scenedesmus* sp.) در محیط کشت TMRL (AG). مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر، ۷ (۴): ۹۲-۸۵

مقدسی، ز.، امتیازجو، م.، ربانی، م.، امتیازجو، م.، لبیبی، ف.، آذرگشب، ا.، و مصفا، ن.، ۱۳۹۴. مطالعه اثر ضدسرطانی عصاره اتانولی جلبک سبز *Dunaliella salina* جدا شده از دریاچه حوض سلطان بر رده سلولیSquamous cell carcinoma در شرایط آزمایشگاهی. فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۷ (۲): ۳۱۵-۳۰۶.

Becker, W., 2004. Microalgae in human and animal nutrition. In: Richmond A (Ed) Handbook of Microalgal Culture, Blackwell, Oxford, pp 312-351.

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

Ben Amotz, A., Katz, A. and Auron, M., 1982. Accumulation of β-carotene in falotolerant Algae: purification and characterization of Haliotis asinina Linnaeus. M.Sc. Thesis. Burapha University, Chomburi.

Bold, H.C., and Wynne, M., 1985. Introduction to the Algae Structured and Reproduction. 2nd ed. Prentice-Hall, INC, 720pp.

Brown, M. R., Jeffrey, S. W., Volkman, J. K. and Dunstan, G. A., 1997. Nutritional properties of microalgae for maricuture. Aquaculture, 151: 315-331.

Chomrung. A. 2000. Nutritive value of diatoms two species as food for juvenile, Haliotis asinine Linnaeus. Master's thesis. Faculty of Science, Burapha University. Chomburi.

Grung, M., D'Souza, F. M. L., Borowitzka, M. and Liaaen-Jensen, S., 1992. Algal carotenoids 51. Secondary carotenoids 2 Haematococcus pluvialis aplanospores as a source of (3S, 3'S)-astaxanthin esters. Journal of Applied Phycology, 4: 165-171.

Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. No. 361. Rome, 295p.

Mutanda, T., Ramesh, D., Karthikeyan, S., Kumari, S., Anandraj, A. and Bux, F., 2011. Bioprospecting for hyper-lipid producing microalgal strains for sustainable biofuel production. Bioresource Technology, 102: 57-70.

Ordog,V., 1982. Apparatus for laboratory algal Bioassay. Internationale. Revue Gesamten Hydrobiologie, 67 (1): 127-136.

Zar, J.H., 1984. Biostatistics.Prentic-Hall, Inc.,Englewood Cliffs, New Jersey, SA.718 p.

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

The effect of iron Nanoparticles on the growth of *Dunaliella Salina* under laboratory condition

Arezo Masoumi , Shahram Sharafi, Ali Ganjian khenari & Homan Shajaei

Abstract

Today's, Algae have many uses in the world. In many countries, algae constitute a major part of the economy and algae provide large quantities of the exports. The green micro-algae of *Dunaliella* and its various species are highly regarded by biotechnology researchers. In this study, the effects of iron nanoparticles solution (0.1 gr/lit concentration) on growth rate of *Dunaliella salina* evaluated in 3 treatments with different volumes of nanoparticles solution (0.75, 7.5 and 75ml). The cells density was monitored for 12 days and once in 2 days in different treatments and 3 replicates. Based on the results, the maximum cell growths (25.0×10^5 cells/ml) were observed in in third treatment (75 ml of nanoparticles solution) and the minimum growth (10.8×10^5 cells/ml) was in control treatment. The mean of cell density in second treatment (7.5 ml of nanoparticles solution) was not significantly different with control treatment in 6th and 8th days (p>0/05). However, there were significance difference in other days (P<0/05). The cell density showed significant difference (p<0/05) between first and third treatments (0.75 and 75 ml of nanoparticles solution) at level 95% for 12 days. Also growth rate and specific growth factor indicated that *Dunaliella salina* increased in third treatment and that other treatments had more growth than control treatment.

Keywords: Microalga, *Dunaliella salina*, cell count, Iron nanoparticles, Growth rate

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)