تاثیر تغییرات غلظت مواد مغذی و شدت نور بر رشد و تراکم میکروجلبک کلرلا ولگاریس

(*Chlorella vulgaris*)

مرضیه رضائی[۱]* ، مسعود هدایتی فرد[۲] ، رضا صفری [۱] ، آسیه مخلوق[۱]

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

۲- دانشیار گروه شیلاتی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم شهر، ایران

*نویسنده مسئول مقاله: rmarzieh92@gmail.com

تاریخ ارسال : 1396-12-20

چکیده

اثر مواد مغذی و نوسان شدت نور در فرمولاسیون مختلف محیط کشت TMRL بر روی رشد و تراکم میکروجلبک *Chlorella vulgaris* (کلرلا ولگاریس) به منظور تعیین بالاترین تراکم در کم ترین زمان بررسی شد. محیط کشت TMRL با غلظت مختلف از نیتروژن (۷۰ و۵۰، ۳۰ گرم)، فسفر (۷، ۵ , و ۳ گرم) و میزان ثابت آهن (۱ گرم $FeCl_3$) تهیه شد. میکروجلبک ها در این محیط های کشت در معرض دو شدت نوری ۳۵۰±۳۵۰۰ لوکس و ۳۵۰±۵۵۰ لوکس قرار گرفتند. در مجموع شش تیمار با ۳ تکرار در نظر گرفته شد و نمونه ها ۶ بار طی ۱۲ روز شمارش شدند. به تمیارها تعداد مساوی از سلول میکروجلبک کلرلا ولگاریس (۱۵×۱۰^{۵}سلول در میلی لیتر) تزریق شد. نتایج نشان داد که میزان رشد کلرلا ولگاریس در محیط کشت حاوی ۵ گرم فسفر، ۵۰ گرم ازت (اوره) و ۱ گرم آهن، در شدت نوری ۳۵۰۰ لوکس در روز دوازدهم کشت بیشتر از سایر محیط کشت ها بود ($P<۰/۰۵$). همچنین بر اساس نتایج، مقادیر پروتئین، چربی، کربوهیدرات و مواد معدنی در وزن خشک این میکروجلبک به ترتیب برابر با ۴۵/۲، ۹/۵، ۲۵/۱ و ۹/۱ درصد بدست‌آمد.

کلمات کلیدی: کلرلا ولگاریس، محیط کشت، رشد بهینه، مواد مغذی، شدت نور

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

مقدمه

میکروجلبک ها گروه بسیار متنوع از میکروارگانیسم ها هستند که اغلب تک سلولی، فتواتروتروف و به عنوان تولید کنندگان اقیانوسی و آب شیرین شناخته می شوند (Olaizola *et al*., 2003; Hoa *et al*., 2011). پرورش و تولید غذای زنده با کیفیت و کمیت مناسب برای تغذیه لاروها به خصوص در مراحل ابتدایی پرورش آن ها یعنی آغاز تغذیه فعال از اهمیت زیادی برخوردار است (کیان مهر، ۱۳۷۱). آن دسته از لارو ماهیانی که پس از مصرف ذخایر کیسه زرده به علت ناقص بودن و عدم تکامل سیستم گوارشی توانایی تغذیه از جیره های غذایی مصنوعی را ندارند و یا اندازه دهان آن ها در مرحله اولیه تغذیه طبیعی موجب ناتوانی آنها در جذب و مصرف غذاهای با اندازه های مختلف می گردد، نیاز مبرمی به غذای زنده دارند (De Pauw and Persoone, 1988 ; حسینی و جلالی، ۱۳۸۸). معمولاً نخستین مرحله از تغذیه با غذای زنده با میکروجلبک ها شروع می شود (Hallmann, 2007). میکروجلبک ها علاوه بر پروتئین، چربی و کربوهیدرات قابل توجه (Brown, 1991)، سرشار از اسیدهای چرب غیر اشباع، ویتامین B6، پیش ساز ویتامین B12 (کوبالامین) و اسپوروپولین (کاهش سمیت نوروتوکسین ها و فلزات سنگین) می باشند (گنجیان خناری و همکاران، ۱۳۹۲). امروزه جلبک ها مصارف مختلفی دارند که مهمترین آنها شامل کاربرد تغذیه ای برای انسان، علوم پزشکی و دارویی، کشاورزی و حتی تصفیه آب می باشد (کیان مهر، ۱۳۷۱؛ هراتی و همکاران، ۱۳۸۸؛ گنجیان خناری و همکاران، ۱۳۹۲).کشت و پرورش تجاری میکروجلبک ها در محیط های کشت مختلفی صورت می گیرد که یکی از مهم ترین آنها محیط کشت TMRL می باشد که حاوی مواد مغذی مختلفی همانند کلرید آهن، نیترات پتاسیم، متاسیلیکات سدیم و فسفات هیدرات سدیم می باشد (سواری و همکاران، ۱۳۸۳). حضور کافی مواد مغذی در محیط کشت میکروجلبک ها با توجه به نوع جلبک و گونه آن در آب شیرین و شور می تواند تغییر کند. بعضی از جلبک ها در محیط کشت های اختصاصی و بعضی در محیط کشت های عمومی رشد می کنند. گونه های مختلف ریز جلبک ها از نظر ارزش غذایی می توانند به طور قابل ملاحظه ای متنوع باشند و این تنوع ممکن است تحت شرایط مختلف پرورش تغییر نماید. ارزش غذایی هر نوع از جلبک ها به اندازه سلول، قابلیت هضم، ترکیبات سمی محصول و ترکیبات بیوشیمیایی یا ارزش غذایی ان بستگی دارد. اگرچه تفاوت های اصلی در ترکیبات انواع میکروجلبک ها وجود دارد، پروتئین به همراه چربی و کربوهیدرات به عنوان ماده اصلی تشکیل دهنده محسوب می شود. پروتئین موجود در هر سلول به عنوان یکی از مهم ترین فاکتورهای مشخص کننده ارزش غذایی میکروجلبک نسبت به دیگر سازه های سلول می باشد (Lavens and Sorgeloos, 1996).

سلول های کلرلا با تشکیل ۲ تا ۸ سلول دختر درون سلول مادر تولید مثل می کنند، که بسته به شرایط محیطی آزاد می شوند. اگرچه گونه های مختلفی در جنس کلرلا گنجانده شده است اما تنها ویژگی که آنها را به هم مربوط می کند ریخت شناسی و الگوهای تولید مثلی است. گونه های مختلف آن در آبزی پروری به کار برده می شوند و منبع غذایی رایج برای

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

روتیفر و دافنی است (آذری تاکامی و امینی چرمهینی، ۱۳۷۸). کلرلا ولگاریس (*Chlorella vulgaris*) یک جلبک غیر متحرک و بدون تاژک است. سلول ها اغلب انفرادی با اندازه متوسط و غشاء بسیار نازک، کلروپلاست به شکل فنجان و دارای واکوئل نامتقارن است. تولید مثل در کلرلا غیر جنسی است و توسط تشکیل اسپورهای متحرک و غیر متحرک صورت می‌گیرد. این میکروجلبک دارای زندگی همزیستی با برخی از انواع پروتوزواها است و عموماً در تمامی آب های شیرین یافت می‌شوند (اسماعیلی ساری، ۱۳۷۹).

امینی خوئی و همکاران (۱۳۸۹)، اثر شدت و دوره های نور را بر رشد و زی‌توده جلبک کلرلا ولگاریس بررسی نمودند. نتایج تفاوت معنی داری را در بین تیمارهای نوری نشان داد($P<0/05$). بالاترین نرخ رشد ۱/۱۳ در روز در شدت ۱۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه و دوره نوری ۸:۱۶ مشاهده شد. در حالیکه کمترین زمان دو برابر شدن ۰/۶۱ روز در همین تیمار اتفاق افتاد. بیشترین زی‌توده ۲/۰۵ گرم در لیتر در شدت نور ۶۲/۵ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه و دوره نوری ۸:۱۶ تولید شد (امینی خوئی و همکاران،۱۳۸۹). بررسی تاثیر فلز سنگین روی (Zn) بر کلرلاولگاریس نشان داد که فلز روی از سمیت بالایی برخوردار است و تاثیر منفی بر جلبک کلرلا ولگاریس دارد (سواری و همکاران، ۱۳۸۲). اثر غلظت های مختلف عنصر کلسیم بر میزان رشد و بیوماس جلبک سبز کلرلا ولگاریس در محیط کشت زایندر در دمای ۲±۲۵ درجه سانتیگراد و شدت نور ۳۵۰±۳۵۰۰ لوکس نشان داد که غلظت موثر کلسیم در محدوده ۰/۱ تا ۱۵ میلی گرم در لیتر بوده و میزان موثر کلسیم نیز برای حداکثر رشد این جلبک ۲/۸ میلی گرم در لیتر می باشد. رشد و بیوماس جلبک کلرلا در مقادیر معینی بیشتر بوده و مقادیر بالاتر ازآن اثر بازدارندگی بر رشد نشان داد (صلواتیان و همکاران، ۱۳۸۴). در پژوهش حسینی و همکاران (۱۳۸۵)، اثر غلظت های مختلف عنصر آهن بر میزان رشد جلبک سبز *Ankistrodesmus falcatus* بررسی شد و بر وجود آهن بعنوان یک نیاز ضروری برای رشد جلبک تاکید شد. زیرا در هنگام کمبود آهن، نرخ فتوسنتز پایین می آید (Komarek,1973) . به علاوه آهن در فرآیند تنفس، تبادل مواد و سنتز کلروفیل دخالت دارد (Round, 1994).

تاکنون در عمده تحقیقات انجام شده اثرات تغییر یک پارامتر روی میکروجلبک ها مورد بررسی قرار گرفته است (آقایی و سیاه بالایی، ۱۳۹۱). اما با توجه به اثرات عوامل مختلف بر روی رشد جلبک ها، پژوهش هایی شامل فاکتورهای متعدد در محیط و شرایط کشت میکروجلبک ها اهمیت مضاعف می یابد. هدف از این تحقیق تهیه بهترین محیط کشت برای تولید تجاری و اقتصادی میکرو جلبک کلرلا ولگاریس به عنوان غذای زنده در منابع شیلاتی، صنعت پزشکی و دارویی می باشد. همچنین بررسی ارزش غذایی، میزان رشد و تراکم میکروجلبک کلرلا ولگاریس در محیط کشت TMRL در لوکس های متفاوت نوری و بدست آوردن بالاترین تراکم در کم ترین زمان ممکن نیز مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار

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

در این تحقیق ، جلبک کلرلا ولگاریس با نمونه برداری از منابع آبی منطقه فرح آباد به وسیله تور پلانکتون گیر ۲۰ میکرون تهیه گردید. جداسازی جلبک کلرلا از مخلوط جلبک های موجود در هر واحد کشت به روش جداسازی مکانیکی پی پت انجام گرفت (اسماعیلی ساری، ۱۳۷۹). ارزیابی ارزش غذایی نمونه جلبک شامل اندازه گیری مقادیر پروتئین کل، چربی کل، رطوبت و مواد معدنی (خاکستر) به روش AOAC (۲۰۰۲) تعیین شد. پس از ساخت محیط های کشت (جدول۱)، ۱۰ سی سی استوک خالص شده میکروجلبک سبز کلرلا به ارلن های ۲۵۰ سی سی تزریق شد و در اتاق فایکولب کشت استریل مورد پرورش قرار گرفتند.

جدول۱- ترکیب اجزاء محیط کشت TMRL جهت کشت میکروجلبک کلرلا ولگاریس

محیط کشت	فسفر (گرم NaH_2Po_4)	نیتروژن (گرم$(NH_2)_2CO$)	Fe (گرم $FeCl_3$)
شماره ۱	3	۳۰	۱
شماره ۲	5	۵۰	۱
شماره ۳	7	۷۰	۱

تیمارها با تعداد $۱۵×۱۰^{۵}$ سلول جلبک در میلی‌لیتر ذخیره سازی گردید. هوادهی با پمپ آکواریوم و قرار دادن شیلنگ هوا در داخل میکرو پی‌پت موجود در درون هر ارلن، صورت گرفت. نمونه ها به منظور رشد و تکثیر، به مدت ۱۲ روز در درجه حرارت ۲۵±۲ درجه سانتی گراد و مجاورت نور کنترل شده، قرار گرفتند. در این پروژه با استفاده از ۲ تا ۳ لامپ فلورسنت ۶۰ وات و با تنظیم فاصله منبع نوری از محیط کشت از دو شدت لوکس نوری استفاده شد که به ترتیب شامل LUX ۳۵۰ ±۳۵۰۰ L_1= و LUX ۳۵۰ ±۵۵۰۰ L_2= بود (Piri and Ordag, 1997).

محیط کشت مورد استفاده در این آزمایش TMRL بود. محیط کشت TMRL با ۳ غلظت مختلف تهیه شد که در جدول ۱ آورده شده است و در مجموع ۶ تیمار و هر کدام با ۳ تکرار برای کشت جلبک کلرلا و به شرح جدول ۲ در نظر گرفته شد.

جدول ۲- تیماربندی و ساختار فنی و ترکیبی تیمارها جهت کشت میکروجلبک کلرلا ولگاریس

شماره تیمار	نوع محیط کشت	ویژگی های فنی و ترکیب محیط کشت			
		NaH_2Po_4(گرم)	$(NH_2)_2CO$(گرم)	$FeCl_3$ (گرم)	شدت نور(Lux)
۱	اول	۳	۳۰	۱	۳۵۰۰± ۳۵۰
۲	دوم	۵	۵۰	۱	۳۵۰۰± ۳۵۰
۳	سوم	۷	۷۰	۱	۳۵۰۰± ۳۵۰
۴	اول	۳	۳۰	۱	۵۵۰۰± ۳۵۰

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

۵	دوم	۵	۵۰	۱	۵۵۰۰± ۳۵۰
۶	سوم	۷	۷۰	۱	۵۵۰۰± ۳۵۰

مدت زمان روشنایی (L) و تاریکی (D) توسط تایمر اتوماتیک با تناوب مساوی (L/D: 12/12) ساعت تنظیم گردید. درجه حرارت اتاق کشت در تمام مدت آزمایش ۲±۲۵ درجه سانتی گراد بود (Piri and Ordag, 1997). تعیین تراکم و زی‌توده میکروجلبک هر دو روز یک بار به کمک لام نئوبار[1] و میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰ انجام گرفت. تعداد سلول های میکروجلبک در میلی لیتر در هر تیمار و در هر روز با ضرایب مربوطه محاسبه شدند(Martinez *et al*., 1975).

برای انجام آنالیزهای آماری از نرم افزار SPSS17 و برای رسم نمودارها از نرم افزار EXCELL 2003 استفاده شد.

نتایج و بحث

ارزش غذایی میکروجلبک کلرلاولگاریس در جدول ۳ نشان داده شده است. مطابق این جدول، کلرلاولگاریس با ۴۵/۲ درصد پروتئین و ۹/۵ درصد چربی از ارزش غذایی بالایی برخوردار است. علاوه بر این کربوهیدرات و مواد معدنی آن به ترتیب ۲۵/۱ و ۹/۱ درصد می باشد.

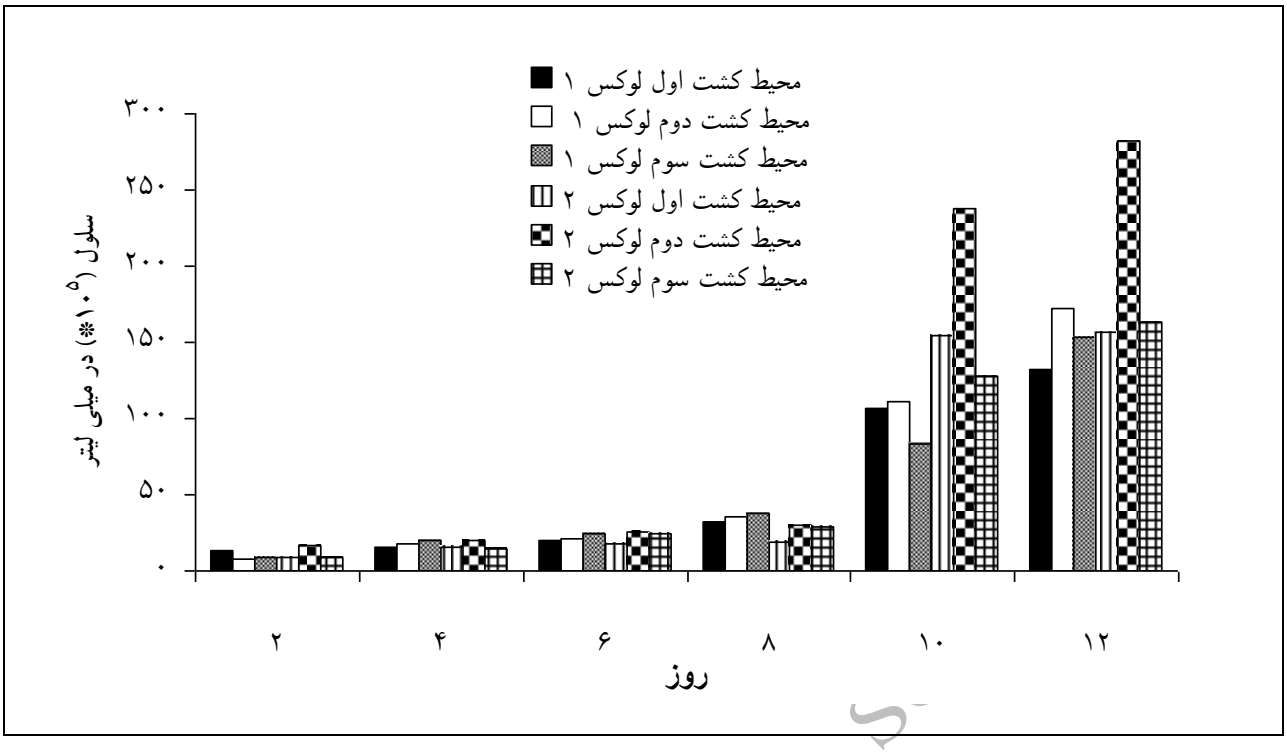
جدول۳- ترکیبات بیوشیمیایی تشکیل دهنده میکروجلبک کلرلاولگاریس براساس وزن خشک (درصد)

ماده غذایی	میانگین و انحراف معیار
پروتئین	۴۵/۲ ± ۱/۶
چربی	۹/۵± ۰/۱
کربوهیدرات	۲۵/۱± ۱/۱
خاکستر	۹/۱±۰/۸
رطوبت	۱۱/۱± ۰/۵

شکل ۱ تعداد سلول میکروجلبک کلرلا ولگاریس در تیمارهای مختلف طی دوره ۱۲ روزه نشان داده شده است. نتایج نشان داد که در همه محیط ها از روز اول تا آخر افزایش تعداد سلول میکروجلبک کلرلا صورت گرفت. همچنین در شدت لوکس نوری ۱در کل دوره پرورش میکروجلبک کلرلا (شکل ۱) بیش ترین تعداد مربوط به محیط کشت ۲ به میزان ۱۷×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر بود.

[1] neobar

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



شکل ۱- تعداد سلول میکروجلبک کلرلا ولگاریس در تیمارها مختلف از محیط کشت و شدت نور درطی ۱۲ روز کشت

در کل دوره پرورش میکروجلبک کلرلا ولگاریس در شدت لوکس نوری۲ (۳۵۰LUX ±۵۵۰۰) و نیز در مقایسه بین دو شدت نوری، بیش ترین تعداد سلول در محیط کشت ۲ و به میزان ۲۸×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر بود که در روز آخر کشت بدست‌آمد (شکل ۱).

مطابق جدول ۳ میکروجلبک کلرلاولگاریس با ۴۵/۲ درصد پروتئین، ۹/۵ درصد چربی و ۲۵/۱ درصد کربوهیدرات از ارزش غذایی بسیار بالایی برخوردار است. وجود ۴۵/۲ درصد پروتئین در کلرلاولگاریس بیانگر جایگاه بسیار با اهمیت این میکروجلبک بین

گونه های پرورشی و کارآیی آن در استفاده به عنوان غذای زنده است. در تحقیق Sasi و همکاران (۲۰۰۸) مشخص گردید که جلبک کلرلاولگاریس در بالاترین غلظت Co_2 و بیشترین شدت نور، ماکزیمم رشد را داشته و نور فاکتور اصلی بر کنترل رشد کلرلا ولگاریس است. عوامل محیطی مانند نور، دما و pH تاثیر مهمی بر نرخ رشد و تولید زی توده میکروجلبک ها دارند. کمیت و کیفیت نورمحیطی عامل تاثیر گذار بر سیستم فتوسنتز و تولید کربوهیدرات در سلول ها می‌باشد (Meseck *et al*., 2005; Martinez *et al*., 1975; Zhu *et al*., 1997). در تحقیقی که برروی رشد دیاتومه تحت تاثیر رژیم های مختلف نوری انجام شد، در شدت نور ۴۰۰۰ لوکس میزان تراکم سلولی نسبت به سایر شدت ها بالاتربود و نور مهمترین عامل افزایش رشد محسوب گردید (شمس و همکاران، ۱۳۸۳). در تحقیق حاضر نیز شدت نور بالا، باعث افزایش رشد میکروجلبک

Journal of Aquatic Caspian S

کلرلاولگاریس شده، و همچنین افزایش معنی داری در تعداد سلول میکروجلبک از لوکس نوری ۱ (۳۵۰±۳۵۰۰ لوکس) به لوکس نوری ۲ (۳۵۰±۵۵۰۰ لوکس) مشاهده شد($P<0/05$). این نتایج نشان می دهد با آنکه شدت نور از جمله فاکتورهای فیزیکی است اما می تواند بر فاکتورهای شیمیایی جلبک ها تاثیر بگذارد.

نتایج حاضر حاکی از آن است که بیش ترین تراکم کلرلاولگاریس در محیط کشت دوم (حاوی Fe=1 , P=5 و N=50 گرم) می‌باشد. از آن جایی که محیط کشت TMRL یک محیط کشت عمومی در پرورش جلبک ها محسوب می شود، بنابر نتایج حاصله می توان با تغییر برخی عناصر مغذی آن موجب کنترل و حتی افزایش شدت رشد گردید. علاوه بر این حضور عوامل خارجی در محیط کشت نیز می تواند میزان رشد جلبک را تحت تاثیر قرار دهد. ساطعی و همکاران (۱۳۸۸) بیان نمودند که افزایش فعالیت نیترات ردوکتازی در حضور آلومینیم می تواند باعث افزایش جذب ماده مغذی مهم یعنی نیترات و افزایش رشد جلبک کلرلاولگاریس گردد. در تحقیق حاضر که در محیط کشت TMRL انجام شده، تغییرات غلظت ماکروالمان‌های P و N بر روی رشد جلبک کلرلاولگاریس تاثیر داشته و این میکروجلبک در محیط کشت دوم (حاوی Fe=1 , P=5 و N=50 گرم) بیشترین رشد را داشته است. اگرچه محیط کشت سوم غلظت بیشتری از P و N را دارد ولی این میکروجلبک در محیط کشت دوم بیشترین رشد را نشان داد که از لحاظ اقتصادی برای کشت انبوه این محیط کشت به صرفه تر است. در پژوهش فلاحی و صلواتیان (۱۳۸۵) غلظت موثر عنصر منیزیم برای جلبک کلرلاولگاریس در محیط کشت زایندر در محدوده ۰/۱ تا ۱۰ میلی گرم در لیتر بود و میزان موثر منیزیم برای حداکثر رشد ۰/۱ میلی گرم در لیتر بدست آمد. مقادیر بیش از ۱۰ میلی گرم در لیتر می تواند رشد بازدارنده بر میکروجلبک داشته باشد. این امر نشان می دهد که تغییرات غلظت هر یک از ماکروالمان ها می تواند بر روی رشد جلبک کلرلا ولگاریس تاثیر داشته باشد. در تحقیقی که در مورد اثر غلظت های مختلف عنصر کلسیم بر میزان رشد و زی توده جلبک سبز کلرلاولگاریس انجام شد، میزان موثر کلسیم برای حداکثر رشد جلبک کلرلاولگاریس ۲/۸ میلی گرم در لیتر بدست‌آمد و رشد آن در غلظت های مختلف از کلسیم دارای اختلاف معنی داری بود (صلواتیان و فلاحی،۱۳۸۴). این مطالعه نیز نشان داد که با تغییر ریزمغذی ها نیز در محیط کشت های مختلف می توان به نتایج مفیدی به منظور رشد بهینه جلبک دست یافت. مطالعه سواری و همکاران (۱۳۸۲) نشان داد که فلز روی نیز تاثیر زیادی بر تراکم جلبک کلرلا ولگاریس دارد، تحقیق حاضر نیز نشان داد که غلظت معینی از فلزات باعث افزایش رشد میکروجلبک کلرلا ولگاریس می‌گردد و بالاتر از آن احتمال دارد باعث کاهش رشد گردد. در مطالعه حاضر کلرلا ولگاریس بیشترین رشد را در محیط کشت دوم و لوکس نوری ۲ (۳۵۰±۵۵۰۰ لوکس) داشته و یک محیط حد واسط را برای رشد انتخاب کرده است و افزایش بیشتر مواد مغذی تاثیری بر روی بالا رفتن رشد نداشت. همچنین نور مهمترین فاکتور در چگونگی رشد بود. بنابراین از نظر اقتصادی نیز به صرفه تر می باشد که با هزینه کمتر می‌توان به بیشترین میزان تولید در کشت انبوه دست یافت.

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

یافته ترویجی

با توجه به نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر بهینه نور برای رشد میکروجلبک کلرلاولگاریس, ۳۵۰±۵۵۰۰ لوکس و محیط کشت مناسب برای دست یابی به بالاترین میزان میکروجلبک کلرلاولگاریس محیط کشت TMRL با ترکیبات NaH_2Po_4=5g ، $(NH_2)_2CO$ =50g ، $FeCl_3$=1g می باشد.

منابع

آقایی، پ. و سیاه بالایی، ر.، ۱۳۹۱. بررسی بقاء، رشد و وضعیت رنگیزه ای در شرایط تغییرات توام دی اکسیدکربن و نور جلبک سبز *Senedesmus obliquous*، پژوهش های علوم گیاهی، ۲۶، ۷(۲): ۲۶-۱۸.

آذری تاکامی، ق. و امینی چرمهینی، م.، ۱۳۸۷. تکثیر و پرورش غذای زنده، دستورالعمل تکثیر و پرورش پلانکتون ها. موسسه انتشارات دانشگاه تهران، ۳۴۲ ص.

اسماعیلی ساری، ع.، ۱۳۷۹. باکتری ها،جلبک ها،قارچ ها و بی مهرگان آب شیرین.موسسه تحقیقات شیلات ایران. مدیریت اطلاعات علمی و روابط بین الملل، ۵۳۵ ص.

امینی خوئی، ز.، سیف آبادی، ج. و رمضانپور، ز.، ۱۳۸۹. اثر شدت و دوره های نور بر رشد و زی توده میکروجلبک *Chlorella vulgaris*. مجله علمی شیلات ایران، ۱۹ (۳): ۱۹-۱۱.

حسینی، س.م.، سیف آبادی، س.ج. و فلاحی، م.، ۱۳۸۵. بررسی اثر غلظت های مختلف عنصر آهن بر میزان رشد جلبک سبز *Ankistrodesmus falcatus*. مجله علمی شیلات ایران، ۱۵ (۳): ۱۶۴-۱۶۱.

حسینی، ع. و جلالی، م، ع.، ۱۳۸۸ . کاربرد غذای زنده در پرورش آبزیان.دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ص ۲،۵،۷، ۱۲ و ۱۳.

ساطعی، آ.، شکروی، ش. و ناطقی، ن.، ۱۳۸۸. اثر مثبت آلومینیوم در کاهش سمیت مس بر فعالیت نیترات ردوکتار و آنزیم های آنتی اکسیدانی کلرلاولگاریس. فصلنامه پژوهش های علوم گیاهی، ۱۶ (۴): ۱۹-۱۱.

سواری، ا.، فلاحی، م.، کوچنین، پ. و ناصر علوی، ق.، ۱۳۸۳. بررسی تاثیر فلز سنگین روی (Zn) بر سه گونه جلبک *Scenedesmus obliquus,Chlorells vulgaris* و *Anabaena flos-aquae* ، .مجله علمی شیلات ایران، ۱۳ (۲): ۹۰-۸۳.

شمس، ل.، سیف آبادی،ج . ،متین فر، ع . و ابراهیم زاده ، ح .،۱۳۸۳. مطالعه میزان رشد دیاتومه *Skeletonema costatum* تحت تاثیر رژیمهای مختلف نوری.مجله علمی شیلات ایران، ۱۳ (۲): ۱۲۶-۱۱۷.

صلواتیان،م. و فلاحی، م.، ۱۳۸۴. بررسی اثر غلظت های مختلف عنصر کلسیم بر میزان رشد و بیوماس جلبک سبز *Chlorella vulgaris*. مجله علمی شیلات ایران، ۱۴ (۱): ۸۶-۷۹.

فلاحی، م. و صلواتیان، م.، ۱۳۸۵. بررسی اثر غلظت های مختلف عنصر منیزیم بر میزان رشد و بیوماس جلبک سبز *Chlorella vulgaris*. مجله پژوهش سازندگی، ۷۲ (۳): ۱۳-۹.

کیان مهر، ه.، ۱۳۷۱. مبانی جلبک شناسی. جهاد دانشگاهی دانشگاه مشهد، ۲۵۸ ص.

گنجیان خناری، ع.، شکوری، م.، قلیچی،ا. و قاسم نژاد، م.، ۱۳۹۲. بررسی تاثیر بی کربنات سدیم بر رشد میکروجلبک سندسموس در محیط کشت TMRL ، مجله شیلات، ۷(۴): ۸۵-۹۲.

هراتی، پ.، شکروی، ش.، ساطعی، آ. و عزیز، پ.، ۱۳۸۸. بررسی تاثیر نور مداوم و دوره های کوتاه تاریکی بر بقاء،رشد و وضعیت رنگیزه ای جلبک *Scenedesmus* sp. از استان گلستان.فصلنامه پژوهش های علوم گیاهی، ۱۵ (۴): ۱۷-۱.

AOAC (the Association of Official Ana- lytical Chemists), 2002. Washington, DC, USA

Brown, M.R., 1991. The amino acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. Aquaculture, 145:79-99.

De Pauw, N. and Persoone, G., 1988. Micro-algae for aquaculture. In:Micro-algal Biotechnology. Borowitzka, M.A. and L.J. Borowitzka (Eds).Cambridge University Press, Cambridge,U.K., pp.197-221.

Hallmann, A., 2007. Algal transgenics and biotechnology. Trans Plant Journal, (1), 81-98.

Hoa, L.T.P., Quang, D.N., Ha, N.T.H., and Tri, N.H., 2011. Isolating and screening mangrove microalgae for anticancer. Research Journal of Phytochemistry, 5 (3), 156-162.

Komarek, J., 1973. Culture collections. In: carr N.G and Whitton, B.A. the biology of blue green algae. Blackwell Scientific PU61, pp.519-524.

Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO fisheries technical, pp.9-40.

Martinez, M.R., Chakroff, C.L. and Pantastico, J.F., 1975, Direct phytoplankton counting techniques using the haemacytometer. Philippine Journal of Agriculture, 55 :43-50.

Meseck, S.L., Alix J.H., Gary H. and Wikfors, G.H., 2005. Photoperiod and light intensity effects on growth and ultilization of nutrients by the aquaculture feed microalga, *Tetraselmis chui*. Aquaculture, 246: 393-404.

Piri, Z.M. and Ordag, V., 1997. Effect of some herbicides commonly used in Iranian agriculture on aquatic food chain. Thesis to the Hungatian academy of Science. pp. 9-30.

Round, F., 1994. The biology of the algae. Reader in physiology, University of Bristol. pp. 45-49.

Sasi, D. Powell, E.E and Hill, G.A., 2008. Effect of light intensity and Co_2 on growth of *Chlorella vulgaris*. Paper no.1083. 8th World Congress of Chemical Engineering, Montreal, Canada, August 23-27, 2008.

Olaizola, M., 2003. Commerical development of micro algal biotechnology: From the test tube to the marketplace. Biomolecular Engineering Journal, 20: 459-466.

Zhu, C.J., Lee, Y.K., Chao, T.M. and Lim, S.H., 1997. Diurnal changes in gross chemical composition and fatty acid profiles of *Isochrysis galbana* Tk1 in outdor closed tubular photobioreactors. Journal of Marine Biotechnology, 5:153-157.

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

The Effect of Nutrients Concentration and Light Intensity on the Growth and Density of the economic Microalgae *Chlorella vulgaris*

Marzieh Rezaei[1]*,Masoud Hedayatifard[2],Reza safari[1],Asieh Makhlough[1]

1- Caspian Sea Ecology Research Center Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Sari,Iran.

2- Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Ghaemshahr Branch, Islamic Azad University, Ghaemshahr, Iran.

Abstract

The effects of nutrients and light intensity fluctuations in different formulations of TMRL medium on growth and density of *Chlorella vulgaris* microalgae were investigated within the shortest time to obtain highest density. TMRL medium was provided with different densities of nitrogen (30, 50, and 70 gr), phosphorus (3, 5, and 7 gr), and fixed iron content (1 gr of $FeCl_3$). The Microalgae were cultured in 2 light intensities (3500±350 lux) and (550 ± 350 lux). A total of six treatments with three replications were considered and the samples were counted 6 times within 12 days. An equal number of *Chlorella vulgaris* microalgae cells were injected to the treatments (15×10^5 cells/ml). Based on the results, the highest growth of *Chlorella vulgaris* obtained in the medium containing 5 g of phosphorus, 50 g of nitrogen (Urea), and 1 g of iron in light density of 3500 lux in the 12th day ($p<0.05$). Meanwhile, protein, fat, carbohydrate, and minerals components were 45.2, 9.5, 25.1, and 9.1 percent respectively in dry weight of the microalgae.

Key Words: *Chlorella vulgaris*, TMRL medium, optimized growth, nutrients, light intensity

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