بررسی روند رشد میکرو جلبک کلرلا با غنی سازی آب دریای خزر درمحیط کشت عمومی

سیدسعیدرضایی[۱]، حسن تقوی جلودار[۲]* و علی گنجیان خناری[۳]

[۱] **بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، گروه زیست شناسی دریا**

[۲] **بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، گروه بیولوژی دریا**

[۳] **ساری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، آموزش و ترویج کشاورزی، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر**

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۲۳

چکیده

میکرو جلبک کلرلا یکی از معروفترین جلبکها می باشد، که بطور کامل و یا عصاره آن در اهداف مختلف مانند سلامت غذا، دارو، تهیه کود گیاهی و غیره بکار گرفته می شود. این بررسی جهت بهینه‌سازی تولید میکروجلبک کلرلا و بررسی روند رشد آن با غنی سازی آب دریای خزر توسط محیط کشت معمولی انجام گرفت. رشد سلولی میکرو جلبک کلرلا در تیمارها و روزهای متفاوت اختلاف معنی دار وجود داشته است. ولی در تیمار ۵(شاهد) در روز دوم و چهارم اختلاف آماری وجود نداشت و رشد سلولی از روز ششم شروع و روند تصاعدی رشد تا روز آخر(دهمین روز) ادامه داشته است. بیشترین رشد سلولی میکروجلبک کلرلا(۸۳۰×۱۰^{۶} تعداد در میلی لیتر) در تیمار ۳(۵۰ درصد آب دریا ۵۰ درصد محیط کشت) و کمترین رشد سلولی(۵۴۳×۱۰^{۶} تعداد در میلی لیتر) در تیمار یک(۱۰۰ درصد آب دریا) بوده و همچنین بیشترین میزان ضریب رشد ویژه در تیمارهای ۲ و ۳(۰/۳۰) و کمترین میزان ضریب رشد ویژه در تیمار ۱ و ۵(۰/۲۶) به ثبت رسید. همچنین در روز دهم کمترین فراوانی در تیمار های ۵ و ۱ بود، بطوریکه تیمار پنج با افزایش رشد نسبت به روزهای گذشته رشد قابل توجه ای داشته، اما تیمار ۱ کاهش فراوانی را نسبت به روزهای قبل نشان داد. تیمار ۲ و ۳ بیشترین فراوانی را به خود اختصاص دادند. برای پایین آوردن هزینه تولید میکرو جلبک کلرلا می توان از تیمارهای ترکیبی شامل آب دریا و محیط کشت عمومی مانند تیمار ۳ استفاده کرد.

واژه های کلیدی: میکرو جلبک کلرلا، محیط کشت عمومی، غنی سازی، دریای خزر

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۱۱۲۵۳۴۲۴۹۷ ، پست الکترونیکی: taghavi25@yahoo.com

مقدمه

کلرلا به معنی سبز کوچک متعلق به خانواده Chlorellaceae از راسته Chlorococcales می باشد. بعد از معرفی آن تو سط Beijerinck در حدود ۱۲۰ سال پیش به طور وسیعی در سراسر دنیا مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت(۱۰، ۲۳، ۲۴، ۲۵ و ۳۳). میکروجلبک کلرلا، یکی از گونه های مهم تجاری در دنیا محسوب می شود. ارزش تغذیه ای آن بین سال های ۱۹۵۰ تا ۱۹۶۰ شناسایی شده و به عنوان منبع ارتقا دهنده سلامت انسان می باشد(۱)، همچنین در صنعت دام، طیور و آبزیان نقش مهمی را ایفا می کند(۳). میکروجلبک کلرلا بعنوان خوراک و داروی جایگزین آنتی بیوتیک مورد استفاده و کاربردهای وسیعی دارد(۲۸). پژوهش حاضر با توجه به اهمیت این میکرو جلبک از نظر ارزش غذایی و سایر جنبه های اقتصادی این گونه جهت مطالعه انتخاب گردید.

با توجه به کمبود آب شیرین در جهان و وجود منابع آبی غیر قابل شرب فراوان در اقیانوس ها و

آب دریاها، یافتن راه حلی مناسب جهت استفاده از آب غیر قابل شرب برای تولید غذا از دیر باز مورد توجه بوده است. تحقیقات متعدد نشان دادند که جلبک‌های تک سلولی توانایی استفاده از ضایعات را داشته و می‌توانند از طریق تبدیل انرژی نوری و مواد کم قیمت طبیعی همانند دی‌اکسیدکربن مواد با ارزشی دارویی، شیمیایی، غذای انسان و حیوان را تولید نمایند(۱۵).

جلبک‌ها از دسته آغازیان فتواتوتروف می‌باشند، که قادرند با فتوسنتز، مواد غیرآلی را به مواد آلی تبدیل کنند. به لحاظ اهمیت جلبک‌های دریایی در جهان، تخمین زده می‌شود که ارزش محصولات متنوع حاصل از آن‌ها معادل ۶ ـ ۵/۵ میلیارد دلار آمریکا در سال باشد، که حدود ۵ میلیارد دلار آمریکا به فرآورده‌های غذایی اختصاص می‌یابد و مابقی آن را کود و افزودنی‌های خوراک دام تشکیل می‌دهد. برداشت تجاری جلبک‌ها در ۳۵ کشور جهان از نیمکره شمالی تا جنوبی، در آب‌های سرد، معتدل تا تروپیکال (Tropical) صورت می‌گیرد. امروزه نیز جلبک شناسان در کشورهای مختلف، در کنار تحقیقات زیستی خود درباره جلبک‌ها، به دنبال کشف خواص مفید و روش‌های استفاده اقتصادی از آن‌ها هستند. میکروجلبک‌ها برای مصارف گوناگون بصورت صنعتی تولید می‌شوند. تعدادی از آن‌ها در مقیاس وسیع تولید و به عنوان غذای سالم منبع ویتامین و مواد معدنی در غذای انسان و خوراک دام، پرورش آبزیان و تصفیه بیولوژیک آب‌های صنعتی بکار می‌روند(۲۱). جلبک های میکروسکوپی به دلیل دارا بودن مواد مغذی ارزشمند می توانند ضمن بهبود کیفی غذای انسان و دام در ارتقای سلامت آنها نیز نقش موثری داشته باشند. این میکروارگانیسم ها دارای میزان بالایی پروتئین بوده و قدرت سنتز همه اسیدهای امینه ضروری را دارند(۱۸). تولید تجاری میکروجلبک در دنیا ابتدا در ژاپن با کشت کلرلا و به دنبال آن با کشت اسپیرولینا اوایل سال ۱۹۷۰ در دریای تکسکوکو (Texcoco) در مکزیک آغاز شد(۲۲). به طور کلی نور، دما، pH، کیفیت آب، میزان هوادهی و حضور ترکیبات مغذی فاکتورهای موثر در تولید میکرو جلبک می باشند(۷،۱۲). دریاچه خزر محیط آبی لب شور است که حجم قابل توجهی آب شیرین از حوزه آبریز خود دریافت می کند. آب این دریاچه دارای ترکیبات شیمیایی مخصوص به خود و متفاوت با ترکیب آب دیگر دریاها و دریاچه هاست. آب دریای خزر به دلیل دارا بودن نمک های سولفات بویژه سدیم سولفات و منیزیم سولفات جزو آب های تلخ مزه به شمار می رود. املاح کلرید دریای خزر کمتر اما نمک های سولفاتی و کربناتی آن بیشتر از مقادیر اقیانوسی گزارش شده است(۴).

هدف از این تحقیق بهینه سازی تولید میکروجلبک کلرلا با استفاده از محیط کشت استاندارد عمومی رقیق شده با آب دریای خزر به روش کشت غیر مداوم می‌باشد تا بتوان میزان بهینه نوسازی محیط کشت، غلظت سلولی و بهترین نوع محیط کشت میکرو جلبک کلرلا در این روش تولید را یافت و هزینه‌های تولید این محصول را کاهش داد تا بتوان به صورت صنعتی آن را تولید نمود.

از طرفی تولید با هزینه پایینتر با استفاده از محیط کشت ارزان می تواند یک فاکتور کلیدی در توسعه تولید میکروجلبک ها باشد. با توجه به این که جلبک های مختلف تحت شرایط محیطی متفاوت دارای رشد یکسانی نخواهند بود و با توجه به اهمیت اقتصادی این جلبک ها در زمینه های غذایی، دارویی، کود بیولوژیک(کود سبز) و بیودیزل(سوخت سبز) ضرورت رشد سریعتر و ارزانتر این ارگانیسم ها مورد توجه تولیدکنندگان انبوه می باشد، از این رو با تغییر بعضی از منابع غذایی می توان میزان رشد و تراکم سلولی را به حداکثر مقدار خود به خصوص در مقادیر انبوه رساند. لذا می بایست مطالعاتی بر روی تاثیر میزان این عناصر روی واریته ها و گونه های بومی و غیر بومی کشورمان صورت گیرد تا بتوان به خودکفایی و رفع مشکلات آبزی پروی و همچنین به علت کاربرد بسیار وسیع

و ارزش اقتصادی، میکروجلبک ها و مصارف آنها در صنایع مختلف دیگر گامی مثبت برداشت.

مواد و روشها

محیط کشت جلبک معمولی(TMRL(AG (Tang Kaga Marine Research Lab) که ترکیبی از ۱ گرم $Fecl_3$، ۵ گرم NaH_2Po_4 و ۵۰ گرم ازت می باشد تهیه گردید(۵). استوک خالص میکروجلبک سبز کلرلا از آزمایشگاه کشت جلبک گروه پژوهشی شیلات و آلاینده‌های آبی خزر(کاسپین) تهیه گردید. سپس در شرایط کاملاً استریل به لوله‌های آزمایش محتوی محیط کشت مورد نظر انتقال و بعد از ۵ روز جهت تولید استوک بیشتر در ارلن‌های ۲۵۰ سی‌سی و بعد از ۴ روز در ارلن ۵۰۰ سی‌سی و یک لیتری انتقال داده شد. اتاق کشت کاملا استریل و با شدت نوری ۳۵۰± ۳۵۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه، دوره روشنایی(L) وتاریکی(D) توسط پریز اتوماتیک(تایمردار) به صورت تناوب(۱۲/۱۲):(L/D) ساعت تنظیم گردید. دمای اطاق کشت در تمام مدت آزمایش۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. هوادهی محیط کشت‌ها با استفاده از دستگاه پمپ آکواریوم مرکزی که به وسیله چند رابط به‌هم متصل انجام شد، به‌طوری‌که با ایجاد تلاطم مواد مغذی مورد نیاز در اختیار استوک قرار گیرد و از رسوب جلوگیری شود(۵). بعد از رسیدن به تراکم مورد نظر، ۵ تیمار با درصدهای مختلفی از محیط کشت به ترتیب۰، ۲۰، ۵۰، ۸۰ ٪ و تیمار شاهد (جدول ۱) جهت بررسی رشد میکروجلبک کلرلا مورد ارزیابی قرار گرفت. تیمار ها در سه تکرار در شرایط یکسان نور، دما، هوادهی و pH بصورت آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت.

شمارش تعداد سلول جلبک کلرلا با استفاده از لام نئوبار توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰X انجام گرفت. روند رشد(تعداد سلول در میلی لیتر) هر تیمار در طی دوره آزمایش(هر دو روز یکبار) تعیین گردید. در نهایت تعداد واقعی سلول های جلبک در هر تیمار و در هر روز محاسبه گردید(۵،۶).

جدول ۱- غلظت آب مصرفی دریای خزر در تیمارهای مختلف

تیمارها	غلظت مصرفی
T1	۱۰۰٪ آب خالص دریا
T2	۲۰٪ آب دریا
T3	۵۰٪ آب دریا
T4	۸۰٪ آب دریا
T5(شاهد)	۰٪ آب دریا(۱۰۰٪محیط کشت تجاری)

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای Excell2007 و SPSS18 انجام شد. میانگین، انحراف معیار، حداقل و حداکثر دسته‌بندی داده ها مورد آنالیز آماری قرارگرفت. برای تجزیه وتحلیل داده‌ها از(ANOVA) و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۹۵ درصد استفاده گردید(۳۳،۳۱).

برای محاسبه سرعت رشد(ضریب رشد ویژه) Specific Growth Rate(SGR) در روزهای مختلف از فرمول زیر استفاده شده:

$$SGR=\frac{\ln W^2 - \ln W^1}{t^2 - t^1}$$

W^2 = تعداد آخرین روز، W^1 = تعداد اولین روز، t^1= اولین روز و t^2= آخرین روز(۱۳،۳۱،۵) همچنین نرخ رشد با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود(۳).

$K= \ln Nt - \ln N0 /t$

K = نرخ رشد

N0 = تعداد سلول های اولیه درزمان شروع آزمایش

t = زمان (روزها)

Nt = تعداد سلول ها در زمان t

نتایج

در این بررسی بیشترین رشد سلولی(۸۳۰×۱۰^{۶} تعداد در میلی لیتر) و کمترین رشد سلولی(۵۴۳×۱۰^{۶} تعداد در میلی لیتر) بترتیب در تیمارهای ۳ و ۱ محاسبه شده است(جدول ۲). همانطوریکه جدول۲ نشان می دهد شمارش سلولی(تعداد سلول در میلی لیتر) در روز دوم در تیمار های مختلف اختلاف معنی دار نشان نمی دهد($P> ۰/۰۵$). اما در روزهای چهارم، ششم، هشتم و دهم اختلاف معنی داری بین تیمار های۱ تا ۴ و تیمار ۵(شاهد) نسبت به روز دوم وجود دارد($P< ۰/۰۵$). همچنین رشد سلولی تیمارهای مختلف در روزهای متفاوت اختلاف معنی دار نشان داده است. اما در تیمار ۵ در روز های دوم و چهارم اختلاف آماری وجود نداشته و رشد سلولی در روز چهارم در این تیمار مشاهده نشد و برخلاف سایر تیمارها رشد سلولی آن در روز ششم مشاهده شده است.

جدول ۲- مقایسه رشد میکروجلبک کلرلا(میانگین± انحراف معیار)، حداقل و حداکثر(تعداد سلول میلی لیتر $\times ۱۰^{۶}$) در تیمارهای مختلف طی۱۰ روز

روزهای آزمایش	تیمار ها														
	تیمار ۱			تیمار ۲			تیمار ۳			تیمار ۴			تیمار ۵(تیمار شاهد)		
	میانگین	حداقل	حداکثر	میانگین	حداقل	حداکثر	میانگین	حداقل	حداکثر	میانگین	حداقل	حداکثر	میانگین	حداقل	حداکثر
۲	۵۳/۷±۲/۷a	۵۰	۵۶	۲۵/۷ ±۲/۷a	۵۰	۵۵	۵۵/۹±۲/۸a	۵۳	۵۸	۶۶۰/۱±۴/۹a	۵۵	۶۵	۵۲/۹±۲/۸ a	۵۰	۵۵
۴	۸۵/۰ ±۰/۵b	۸۴/۵	۸۵/۵	۵۸/۸±۱/۳ b	۵۷/۵	۶۰	۱۲۳/۸±۵/۸b	۱۱۸	۱۲۹/۵	۱۶۴/۸±۴/۳b	۱۶۰/۵	۱۶۹	۵۲/۵±۲/۵ a	۵۰	۵۵
۶	۳۰۹/۰ ±۳/۵c	۳۰۵/۵	۳۱۲/۵	۱۴۳±۲/۵۰ c	۱۴۱/۵	۱۴۵/۵	۴۲۰/۳±۴/۸ c	۴۱۵/۵	۴۲۵	۲۷۴/۳±۰/۸c	۲۷۳/۵	۲۷۵	۹۹/۵±۱/۰b	۹۸/۵	۱۰۰/۵
۸	۵۳۴/±۰/۸۸d	۵۳۴	۵۳۵/۵	۶۱۶/ ۲±۱/۸d	۶۱۴/۴	۶۱۸	۶۲۹/۵±۰/۵d	۶۲۹	۶۳۰	۵۶۳/۸±۳/۸d	۵۶۰	۵۶۷/۵	۳۳۵/۲±۲/۳c	۳۳۲/۹	۳۳۷/۵
۱۰	۵۴۳ ۵ ±۳/۴e	۵۳۹/۵	۵۴۵/۸	۷۸۸/ ۵±۲/۷e	۷۸۵/۶	۷۹۱	۸۳۰/۰±۱/۸e	۸۲۸/۵	۸۳۲	۷۳۶/۸±۴/۳e	۷۳۲	۷۴۰	۵۵۸/۴±۰/۹d	۵۵۷/۸	۵۵۹/۵

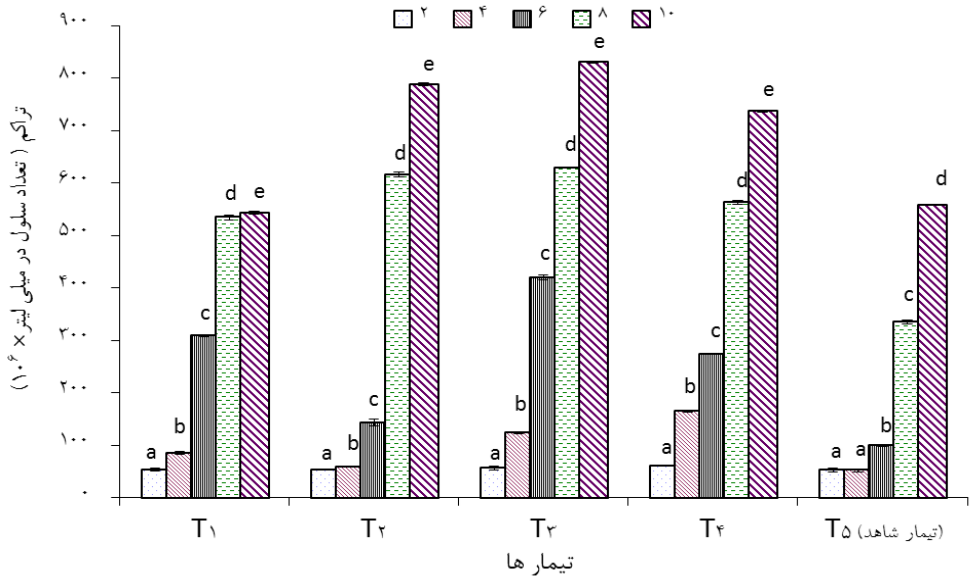
میانگین ± (انحراف از استاندارد) اعداد در یک سطر با حروف متفاوت با یکدیگر دارای اختلاف معنی‌داری می باشند($P<۰/۰۵$). تیمار۱: آب خالص دریا ۱۰۰٪، تیمار۲: ۲۰٪ آب دریا، تیمار۳: ۵۰٪ آب دریا، تیمار۴: ۸۰ ٪ آب دریا و تیمار ۵ : ۱۰۰ ٪ محیط کشت عمومی).

در این بررسی بیشترین میزان ضریب رشد ویژه در تیمارهای ۲ و۳ و کمترین میزان ضریب رشد ویژه در تیماری ۱ و ۵ به ثبت رسید(جدول ۳).

جدول ۳- میزان ضریب رشد ویژه و نرخ رشد میکرو جلبک کلرلا در تیمارهای مختلف

تیمارها	ضریب رشد	نرخ رشد
T1	۰/۲۶	۱/۷۸
T2	۰/۳۰	۱/۸۳
T3	۰/۳۰	۱/۸۴
T4	۰/۲۸	۱/۸۱
T5(تیمار شاهد)	۰/۲۶	۱/۷۹

بررسی روند روزانه رشد سلولی میکروجلبک کلرلا در تیمارهای مختلف در شکل ۱ و جدول ۲ آمده است. بر اساس آنها رشد تصاعدی در همه تیمارها از روز ششم شروع و تا روز دهم ادامه داشته است. اما تیمار ۱ رشد تصاعدی آن همانند سایر تیمارها از روز ششم شروع شده ولی بر خلاف سایر تیمارها در روز هشتم و دهم رشد چندانی نداشته است.



شکل ۱- نمودار میانگین تراکم (تعداد سلول در میلی‌لیتر × ۱۰^۶) میکرو جلبک کلرلا در تیمارهای مختلف طی ده روز

جدول۴، فراوانی میکرو جلبک کلرلا در تیمار های مختلف در طی دوره آزمایش را نشان می دهد. بر اساس آن در روز دوم بیشترین فراوانی متعلق به تیمار ۴ و کمترین آن در تیمار های ۲ و ۵ محاسبه شد. در روز چهارم بیشترین رشد فراونی در تیمار ۴ و کمترین فراوانی رشد در تیمار ۵ بود. همچنین تیمار ۳ نسبت به روز دوم از تعداد سلول بیشتری برخوردار بود.

روز ششم بیشترین فراوانی را تیمار ۳ به خود اختصاص داده، بطوریکه در روزهای قبل نسبت به تیمار ۴ رشدکمتری داشته است، که نشان دهنده شرایط رشد خوب میکروجلبک کلرلا در این تیمار می باشد. بعلاوه کمترین رشد را تیمار ۵ داشته و تیمار ۴ نسبت به روزهای قبل از رشد کمتری برخوردار بوده است.

بررسی روز هشتم نشان از افزایش فراوانی رشد سلولی در تیمار ۲ و ۳ بود. بطوریکه در روز ششم تیمار ۲ از ۱۲ درصد به ۲۳ درصد فراوانی رسیده است. همچنین تیمار۵، رشد قابل توجه ای داشته اما کمترین فراوانی را دارا بود.

در روز دهم کمترین فراوانی در تیمار های ۵ و ۱ بدست آمده، بطوریکه تیمار ۵ رشد قابل ملاحضه ای نسبت به روزهای گذشته داشته است. اما تیمار ۱ کاهش فراوانی را نسبت به روزهای قبل نشان داد. همچنین تیمار ۲ و ۳ بیشترین فراوانی را به خود اختصاص دادند.

جدول ۴- فراوانی(درصد) میکروجلبک کلرلا در تیمارهای مختلف و روزهای شمارش شده

روزهای شمارش	T1	T2	T3	T4	T5(تیمار شاهد)
۲	۲۰	۱۹	۲۰	۲۲	۱۹
۴	۱۸	۱۲	۲۵	۳۴	۱۱
۶	۲۵	۱۱	۳۴	۲۲	۸
۸	۲۰	۲۳	۲۳	۲۱	۱۳
۱۰	۱۶	۲۳	۲۴	۲۱	۱۶

بحث و نتیجه گیری

پرورش جلبک‌ها نسبت به گیاهان خشکیزی دارای مزایایی می باشد، از آن جمله می‌توان به توانایی پرورش آنها در سیستم‌های پایدار، برداشت آنها در طول سال، قابلیت هضم و مصرف تمام پیکره سلولی آنها و سهولت در افزودن CO_2 مورد نیاز برای رشد آنها به محیط کشت اشاره نمود(۹و۱۶).

یکی از مواردی که همواره محققان در زمینه کشت انبوه میکروجلبک ها بدان توجه فراوان دارند، دستیابی به محیط کشت ارزان قیمت می باشد، تا بدین طریق از هزینه های تولید میکروجلبک ها کاسته شود. هزینه بالای محیط کشت که رشد سلولی میکروجلبک ها را فراهم می آورد، یکی از مسائل مهم در تولید انبوه میکروجلبک ها می باشد(۱۹).

در تحقیق حاضر بین تعداد سلول ها ی شمارش شده تیمارها در روز دوم اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$)، چون تقریبا تیمارها در مرحله القا یا تاخیری قرار دارند. در این مرحله تکثیر صورت نمی گیرد، که علت آن احتمالا بخاطر افزایش سطوح آنزیم ها و متابولیسم های در گیر در تقسیم سلولی و همچنین تاخیر در سازش فیزیولوژیکی سلولهای ریزجلبک نسبت به محیط اطراف است. همچنین کمتر بودن تراکم سلول تیمارها در روز دوم پرورش در مقایسه با دیگر روزهای پرورش که از یافته های دیگر این بررسی می باشد، موید نتایج Staal و همکاران (۲۰۰۷) بود (۲۷). در روزهای چهارم تا دهم بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری مشاهده شد. دلیل آن بخاطر اینست که از روز دوم به بعد تراکم سلولهای ریزجلبک بصورت لگاریتمی افزایش پیدا می کند. به عبارت دیگر، رشد انفجاری شروع میگرد(۳۰). فاز لگاریتمی و فاز تاخیری در تیمارهای مختلف متفاوت به نظر می رسد که این تفاوت می تواند احتمالا بخاطر زمان دو تا شدن سلولها در تیمارهای مختلف باشد، بطوریکه مثلا فاز تاخیری در تیمار۱(۱۰۰٪ آب دریا) و تیمار۳(۵۰٪ آب دریا)تقریبا مشابه ولی فاز رشد در تیمار ۱ سریعتر و کوتاهتر نسبت به تیمار ۳ و سایر تیمارها می باشد. اما تیمار ۲(۲۰٪ آب دریا) دارای فاز تاخیری بیشتری نسبت به سایر تیمار است. در روز هشتم که تقریبا مرحله چهارم نمودار رشد شروع می گردد، در این مرحله رشد میکرو جلبک تقریبا رو به ثابت شدن پیش میرود که می تواند به علت فعال شدن واکنش های اکسیداسیون نوری و افزایش مواد فتوسنتز کننده مانند کاروتینویید، کلروفیل a و b در سلول است(۸).

آب دریای خزر دارای ترکیبات شیمیایی مخصوص به خود و متفاوت با ترکیب دیگر دریاهاست و به دلیل دارا بودن نمکهای سولفات بویژه سدیم سولفات و منیزیوم سولفات جزو آبهای تلخ مزه به شمار می رود(۴). این پژوهش با

بکارگیری از آب دریا جهت پرورش میکرو جلبک کلرلا و همچنین کاهش هزینه تولید، نتایج مطلوب و مساعدی در بر داشته است. بطوریکه در تیمارهای ۲ و ۳ بترتیب با استفاده از ۲۰ و ۵۰ ٪ از آب دریا در محیط کشت عمومی ضریب رشد ۳۰٪ را نشان داد، که نسبت به تیمار ۱ با ۱۰۰٪ آب دریا، تیمار ۴ با ۸۰ ٪ آب دریا و تیمار شاهد(محیط کشت خالص) بیشترین ضریب رشد مشاهده شد. مشابه این بررسی توسط Chen و همکاران(۲۰۱۳) از آب مناطق عمیق دریا (Deep- SeaWater) (بیشتر از ۲۰۰ متر) ساحل شرقی تایوان با محیط کشت معمولی، رشد میکروجلبک *Chlorella sorokiniana CY1* را در تیمارهای بترتیب ۰، ۱۰، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰٪ آب دریا صورت گرفته و بیشترین تولید بیومس را در تیمارهای ۱۰ و ۲۰٪ آب دریا گزارش کردند(۱۱)، که با یافته های این تحقیق تفاوت دارد. علت این تفاوت احتمالات بخاطر ویژگیهای آب دریای خزر می باشد. بطوریکه میانگین شوری آب دریای خزر ۳۰٪ املاح موجود در آب اقیانوسها است. بعلاوه املاح کلرید دریای خزر کمتر از نمکهای سولفاتی و کربناتی آن بیشتر از مقادیر اقیانوسی گزارش شده است(۴).

نرخ رشد مهمترین راه برای بیان موفقیت اکولوژیک یا توانایی سازگاری یک گونه نسبت به تغییرشرایط محیط طبیعی یا آزمایشگاهی است(۲۰). در این مطالعه نرخ رشد و ضریب رشد ویژه محاسبه شده بترتیب نشان از رشد و افزایش سلول های میکروجلبک کلرلا در تیمار ۳ دارد. بعلاوه میانگین تعداد سلولهای شمارش شده تیمارها در روزهای مختلف تفاوت چندانی را نشان نمی دهد(غیر از اولین روز شمارش)، موید گزارشات(۲، ۱۴، ۱۷و ۲۵) می باشد. در مجموع با توجه به کمبود آب شیرین و وجود منابع آبی فراوان در دریاها و اقیانوس ها، از طرفی با توجه به توانایی میکروجلبکها از آبهای غیر شرب پیشنهاد تحقیقات بیشتری در این زمینه می گردد.

منابع

۱-ابراهیمی ممقانی، م.، علی اشرفی،س.، خوشباطن،م.، ممقانی، ب. ۱۳۹۲. تاثیر مکمل یاری میکروجلبک کلرلا ولگاریس بر الگوی لیپیدی و پراکسیداسیون لیپیدی بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دوره بیست و سوم شماره ۱۰۵.

۲-حسین زاده، خ.، گنجیان خناری،ع.، جعفری،س.۱۳۹۳. بررسی تاثیر غنی سازی آب حوضه جنوبی دریای خزر بر پارامترهای رشد ریز جلبک *Spirulina platensis*. تغذیه و بیوشیمی آبزیان سال اول، شماره ۱.

۳-فلاحی، م.. قناعت پرست ، ا.. صلواتیان ، م.. پیری ، م .. دانش ، ع .. پیری ، ح.. شیخ ، غ .۱۳۸۲ .گزارش بررسی نقش روتیفر *Branchionus pilicatilis*در افزایش بقاء لارو ماهی سفید و مقایسه آن با غذای کنسانتره . مؤسسه تحقیقات شیلات ایران . صفحات ۷-۸

۴-کردوانی،پ.. *اکوسیستم های آبی ایران*، دریای خزر.*۱۳۷۱*. نشرقوس. ، ۳۵۲صفحه.

۵-گنجیان، ع.. ۱۳۸۹. دوره آموزشی و کارگاه کشت جلبک. گروه پژوهشی شیلات و آلاینده های آبی خزر. ۳۳ صفحه

۶-محسنی، م. ۱۳۸۹. تیکنیک ها در میکروبیولوژی، انتشارات دانشگاه مازندران، بابلسر. صفحات ۲۱۴-۲۰۹.

7-Ayala, F., 1998. Guide Spirulina cultivation. Microorganisms in Biotechnology at photoautotrophs. pp. 3-20.

8-Barnes, R., and Mann, K., 1999. Funda mentals of Aquatic Ecology. Blackwell Science. Gambridge. UK, 270P.

9-Bilanovic, D., · Arsema, A., Tim, K,. Gedaliahu, S., 2009. Freshwater and marine microalgae sequestering of CO2 at different C and N concentrations—response surface methodology analysis. 50(2):262–7

10-Bock, C., Lothar, K,.Thomas, P,. 2011. Taxonomic reassessment of the genus Chlorella (Trebouxiophyceae) using molecular signatures (barcodes), including description of seven new species. 11(2): 293–312.

11-Chen, C,.Chang, H,. Tzong, C,. Hsien,. W, 2013. Enhancing microalgal oil/lipid production from Chlorella sorokiniana CY1 using deep-sea water supplemented cultivation medium, Biochemical Engineering Journal 77 (2013) 74– 81

12-Ciferri, O,. 1983. Spirulina the Edible Microorganism. Microbiological Reviews 47(4): 551-578.

13-Clesceri, L. S., Greenberg, A. E. and Trussell, R. R. 1989. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation; New York. USA, pp. 92-1110.

14-Costa, J. A. V., Colla, L. M., Filho, P.D. 2003. Spirulina platensis Growth in Open Raceway Ponds Using Fresh Water Supplemented with Carbon, Nitrogen and Metal Ions. Z. Naturforsch 58: 76-80

15-De la Noue, J,. Pauw, N. 1988. The potential of microalgal biotechnology: A review of production and uses of microalgae, Biotechnology Advances, 6, 4, 725-770.

16-Demirbas, A,.2010. Use of algae as biofuel source. Energy conservation and management 51(2010): 2738-2749.

17-Devanathan, J,. Ramanathan, N. 2013.Utilization of sea water as a medium for mass production of spirulina – a novel approach. International Journal of Recent Scientific Research Vol. 4, Issue, 5, pp. 597 – 602.

18-Devgoswami, Ch.R., Kalita, M.C., Talukdar, J., Bora, R., Sharma, P. 2012. Studies on the growth behavior of Chlorella, Haematococcus and Scenedesmus sp. in culture media with different concentrations of sodium bicarbonate and carbon dioxide gas. African Journal of Biotechnology, Vol. 10(61), pp. 13128-13138.

19-El Nabris, K,. 2012. Development of Cheap and Simple Culture Medium for the Microalgae Nannochloropsis sp. Based on Agricultural Grade Fertilizers Available in the Local Market of Gaza Strip (Palestine), Journal of Al Azhar University-Gaza (Natural Sciences), 2012, 14 : 61-76

20-Ghezelbash, F., Farboodnia, T., Heidari, R., and Agh, N. 2008. Effects ofdifferent salinities and luminance on growth rate of the green microalgae(*Tetraselmis chuii*) Research J. Biological Sciences. 3: 3. 311-314.

21-Harun, R., M. 2008. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products." Renewable and Sustainable Energy Reviews 14(3): 1037-1047.

22-Henrikson, R., Ed. 2010. spirulina world food., How this micro algae can transform your health and our planet. Maui,Hawaii, Ronore Enterprises.

23-Kato, H. R., Kamako, S,. Imamura, N. 2005. Genetic evidence of “American” and “European” type symbiotic algae of Paramecium bursaria Ehrenberg. – Plant Biol. 7: 526–532.

24-Luo, W., Pröschold, T., Bock, C,. Krienitz, L. 2010. Generic concept in Chlorella–related coccoid green algae (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). – Plant Biol. 12: 545–553.

25-Nur, N, Rahman, M., Farid, S. 2008. Development of low cost medium for the culture of Chlorella ellipsoidea using poultry waste, Agrofor. Environ. 2(1): 1-6

26-Reinehr, C. O. and Costa, J. A. V. 2006. Repeated batch cultivation of the microalga Spirulina platensis. World Journal of Microbiology and Biotechnology.

27-Staal, M., Thar, R., Kühl, M., Van Loosdrecht, M. C. M., Wolf, G., De Brouwer, J. F. C., & Rijstenbil, J. W. 2007. Carbon isotope fractionation in developing natural phototrophic biofilms. Biogeosciences Discussions, 4(1), 69-98.

28-Taskin, E., Ozturk, E and Kurt, O., 2007. Antibacterial activities of some Marine algae from the Aegean sea, African Jounarl of Biotechnology, Vol.6 (24): 2746-2751.

29-Theroux, S. 2005. Effects of Nutrient Limitation on the Productivity of Coccolithophore algae and the Paleoclimatic implications (Doctoral dissertation, WILLIAMS COLLEGE).

30-Toro, J. E. 1989. The growth rate of two species of microalgae used in shellfish hatcheries cultured under two light regimes. Aquaculture Research, 20(3), 249-254.

31-Toyub,M.A, Miah, M.I, Habib, B. Rahman,M.M, 2008, Growth performance and nutritional value of Scenedesmus obliqus culture in different concentrations of sweetmeat factory media. Bang.J.Anim.Sci ,37(1): 86-93

32-Volker A. R. Huss, Carola Frank, Elke C. Hartmann, Monika Hirmer, Annette Kloboucek, Barbara M. Seidel, Petra Wenzeler, and Erich Kessler. 1999. Biochemical taxonomy and molecular phylogeny of the genus chlorella sensulato(chlorophyta).J.phycol.35,587-59.

33-Zar,J.H., 1984. Biostatistics. Prentic-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, USA.pp718.

Study of the growth process of microalgae Chlorella using water enrichment of Caspian Sea in general medium

Rezaei S.S.[1], Taghavi Jelodar H.[1] and Ganjian Khenari A.[2]

[1] **Marine Biology Dept., Faculty of Marine and Oceanic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R. of Iran**

[2]**Institute Ecology of the Caspian Sea, Sari, I.R. of Iran**

Abstract

Chlorella is one of the most popular micro algae, which is exploited fully or as extract in various purposes, such as health food, medicine, peat preparation, etc. Purpose of this paper is studying way of optimizing Chlorella microalgae production and evaluating its growth trend by enrich Caspian Sea using conventional culture medium. In total, five comparisons were done. There has been significance difference between the cell growths of microalgae Chlorella in treatments in different days. There was no statistical difference in 5th treatment (control) in the second and fourth days. Cell growth was began in 6th day and the exponential growth was continued to the last day. The maximum cell growth (830×10^6 in per mL) was observed in treatment 3 (50% sea water, 50% medium) and the minimum growth (543×10^6 in per mL) was in treatment 1 (100% sea water). Also, the highest and lowest growth rate were recorded in treatment 2, 3 (0.30) and treatment 1, 5 (0.26), respectively. In 10th day, the lowest frequencies were related to treatments 1, 5. So treatment 5 had a significant growth with increasing growth over the past days, but the treatment 1 was shown the reduction in frequency than the past days. The highest frequencies were related to treatment 2, 3. In general it can be concluded that to bring down the cost of production of micro-algae, chlorella, we could apply complex treatment include sea water and commercial (general) growth medium such as treatment 3.

Key words: Microalgae Chlorella,General media, Enrichment, Caspian Sea