بهینه‌سازی شرایط رشدی برخی از مهمترین ریزجلبک‌های خالص‌سازی شده از دریاچه بزنگان و بررسی مقدار کلروفیل و کاروتنوئید آن‌ها

سارا خسروی‌نیا، عبدالرضا باقری*، سعید ملک‌زاده شفارودی و نسرین مشتاقی

مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۴/۲۴

چکیده

ریزجلبک‌ها بعنوان یک منبع بالقوه پایدار برای مواد اولیه سوخت، غذا، مواد شیمیایی، تغذیه دام و حتی برای صنعت داروسازی شناخته می‌شوند. در این مطالعه، اثرات نوع محیط کشت شامل محیط‌های F_2، Walne، BG11، BBM و TAP در pHهای ۶، ۶/۵، ۷، ۷/۵، ۸ و ۹ و شدت‌های نور در پنج سطح شامل ۲۰۰۰، ۲۷۰۰، ۳۳۰۰، ۴۵۰۰ و ۷۸۰۰ لوکس بر روی رشد ریزجلبک‌های خالص‌سازی شده از دریاچه بزنگان مطالعه شد. رشد ریزجلبک‌ها با تعیین وزن خشک و نرخ رشد ویژه آن‌ها تعیین شد. همچنین مقدار کلروفیل و کاروتنوئید با کمک روش‌های بیوشیمیایی استاندارد در شرایط بهینه رشدی تعیین گردید. نتایج نشان داد که در ریزجلبک‌های *Nodularia sp.*، *Tetraselmis sp.*، *Chlamydomonas sp.* و *Chlorella sp.* بیشترین رشد بترتیب در محیط کشت‌های والن (۰/۴۰ گرم در لیتر)، F2 (۰/۵۱ گرم در لیتر)، TAP (۰/۴۸ گرم در لیتر) و BG11 (۰/۵۵ گرم در لیتر) مشاهده شد. همچنین بهترین pH و شدت نور برای رشد ریزجلبک‌ها بترتیب برابر با ۷/۵ و ۴۵۰۰ لوکس بود. بیشترین مقدار کلروفیل و کاروتنوئید در ریزجلبک *Chlorella sp.* بترتیب با ۳۹/۹ و ۲۳/۳ میکروگرم در میلی‌لیتر بدست آمد.

واژه های کلیدی: دریاچه بزنگان، ریزجلبک، بهینه‌سازی رشد، کلروفیل، کاروتنوئید.

* نویسنده مسئول، تلفن: عبدالرضا باقری ۰۵۱۳۸۸۰۵۷۲۲، پست الکترونیکی: abagheri@um.ac.ir

مقدمه

مسائل زیست محیطی، غذا و انرژی، ثبات جوامع را با چالشی بزرگ روبرو ساخته است. افزایش جمعیت جهان، عدم تناسب تولیدات صنعتی و کشاورزی با این رشد جمعیتی و توزیع نابرابر منابع و تکنولوژی، مشکل را تشدید نموده است. برای تغذیه و برآورد نیازهای چنین جمعیت عظیمی، یافتن راهکارهای جدید و معنی‌دار جهت افزایش تولید، ضروری بنظر می‌رسد. در این راستا، استفاده از میکروارگانیسم‌ها افق جدیدی را پیش روی محققین گشوده است و از میان آن‌ها، جلبک‌ها بدلیل داشتن خصوصیات ویژه و حضور ترکیبات زیستی متنوعی که می‌تواند در صنایع غذایی، دارویی، آرایشی، تولید کودها و سوخت‌های زیستی، مورد استفاده قرار گیرد، توجه خاصی را به خود معطوف ساخته است (۴۶).

جلبک‌ها گروهی از موجودات فتوسنتز کننده هستند که به دو دسته ریز و درشت تقسیم می‌شوند. جلبک‌های ریز یا میکروسکوپی عموما تک سلولی هستند و بعنوان تولید کنندگان نخستین، نقش بسیار مهمی را در اکوسیستم‌های آبی دارند. همچنین، این جلبک‌ها بعنوان منبع غذایی برای انواع زئوپلانکتون‌ها و لارو آبزیان، جایگاه خاصی در صنعت آبزی پروری یافته‌اند (۴۶). علاوه بر آبزی‌پروری، ریزجلبک‌ها، عمدتا بعنوان منبع استحصال رنگیزه‌هایی از جمله انواع کلروفیل‌ها و کارتنوئیدها مانند بتاکارتن و آستاگزانتین در صنایع دارویی، غذایی و ساخت لوازم

آرایشی کاربرد فراوانی دارند (۴۳، ۴۴ و ۴۷). در حال حاضر رنگ‌های مصنوعی با رنگ‌های طبیعی جایگزین شده و آن‌ها در مواد غذایی مختلف از جمله شکلات، آدامس، نوشیدنی‌ها، پاستا و غیره کاربرد فراوانی دارند (۲۹).

کلروفیل رنگدانه سبز موجود در گیاهان و جلبک‌ها است که به جذب نور خورشید و تبدیل آن به انرژی شیمیایی کمک می‌کند. پنج نوع کلروفیل a، b، c، d و e در جلبک‌ها وجود دارد. کلروفیل a در همه جلبک‌ها وجود دارد، کلروفیل b تنها در کلروفیسه و اوگلنوفیسه، کلروفیل c در جلبک‌های دریازی مانند فئوفیسه، کریپتوفیسه، کریزوفیسه و دیاتومه‌ها، کلروفیل d در برخی جلبک‌های قرمز و کلروفیل e در گونه‌های خاصی از جنس Vaucheria و Tribonema از اگزانتوفیسه‌ها وجود دارد. اعتقاد بر این است که این ماده برای بدن انسان بسیار مفید است. مصرف غذاهای حاوی کلروفیل باعث پاک شدن جریان خون، از بین رفتن بوی بد دهان و بدن و جلوگیری از فساد دندان‌ها می‌شود. کلروفیل همچنین بعنوان یک عامل آنتی اکسیدان قوی باعث کاهش تخریب سلول‌ها بوسیله عوامل سرطان‌زای محیطی می‌شود (۳۴).

کاروتنوئیدها از رنگدانه‌های طبیعی بسیار مهم هستند که توسط گیاهان و جلبک‌ها تولید شده (۳۸) و محلول در چربی هستند و نقش مهمی در فتوسنتز ایفا می‌کنند (۲۴). حیوانات و انسان قابلیت سنتز آن‌ها را ندارند و باید از طریق رژیم غذایی دریافت شوند که پس از آن می‌توانند از شکل کاروتنوئیدی به شکل دیگر تبدیل شوند. همچنین نقش مهمی در تشکیل ویتامین A بر عهده دارند (۱۳). کاروتنوئیدها در صنایع پزشکی، دارویی و بیوتکنولوژی کاربرد دارند (۲۰ و ۳۳). علاوه بر نقشی که در تشکیل رنگدانه‌ها بر عهده دارند، خاصیت آنتی اکسیدانی نیز برای آن‌ها گزارش شده است (۱۳). کاروتنوئیدها بعنوان مکمل، برای میگوی پرورشی استفاده فراوانی داشته و مهم‌ترین اثر آن‌ها ایجاد رنگدانه در آن است (۱۳).

حجم معاملات بازار در حوزه رنگ‌ها، مخصوصا در بخش مواد غذایی، در سال ۲۰۱۶ حدود ۲ میلیارد دلار برآورد شده و پیش بینی می‌شود با نرخ رشد مرکب سالانه ۶/۱ درصد، به ۳ میلیارد دلار در سال برسد ۲۰۲۳ برسد. رنگ‌های طبیعی ۳۱ درصد از این بازار را به خود اختصاص داده است. در کشور ما بر اساس آمار نامه اداره صنایع و معادن بیش از ۶۷۲ واحد صنایع غذایی با تولیدی نزدیک به چهل میلیون تن در حال فعالیت هستند، که بدلیل عدم وجود واحد تولیدکننده رنگ‌های خوراکی در داخل ایران، رنگ‌های مورد نیاز خود را از خارج کشور تامین نموده‌اند. بنابراین، در حال حاضر تقاضای بسیاری برای رنگ‌های خوراکی با منشاء طبیعی در کشور موجود است (۲۶).

رنگ‌های طبیعی موجود در جلبک‌ها یکی از محبوب‌ترین آن‌ها است. ریزجلبک‌های سبز یکی از بزرگترین منابع کلروفیل محسوب می‌شود، بعنوان مثال بیومس *Chlorella sp.* حدود ۱/۱۵ میلی‌گرم کلروفیل دارد که حدود ۲۰ برابر اسفناج است (۲۶). سیانوباکترهایی مانند *Nodularia sp.* نیز طیف وسیعی از رنگ‌های طبیعی از قبیل کلروفیل، کاروتنوئیدها و فیکوبیلی پروتئین‌ها را در خود جای داده است (۴۹).

بنابراین، با توجه به اهمیت اقتصادی ریزجلبک‌ها، فراهم کردن شرایطی برای دستیابی به رشد سریع‌تر و ارزان‌تر آن‌ها بسیار ضروری است. عوامل بسیاری بر رشد ریزجلبک‌ها اثر دارند که فاکتورهای فیزیکی مثل نور و pH از عوامل مهم و تأثیرگذار بر فعالیت‌های فتوسنتزی و در نتیجه رشد ریزجلبک‌ها هستند (۱۸ و ۴۵). نور یکی از فاکتورهای مهم رشدی در ریزجلبک‌ها است که انرژی لازم برای تثبیت کربن و تبدیل CO_2 به ترکیبات آلی را فراهم می‌کند اما آن نمی‌تواند توسط ریزجلبک‌ها ذخیره شود،

بنابراین باید به طور پیوسته تامین شود (۳۷). از طرفی ریز جلبک‌ها نمی‌توانند همه فوتون‌های نور را جذب و استفاده کنند و بنابراین نور زیاد سبب مهار نور در لایه سطحی ریزجلبک و عدم دریافت نور توسط بخش‌های درونی آن می‌شود (۵۰). در گزارشی اثر سه شدت نور ۳۷/۵، ۶۲/۵ و ۱۰۰ میکرومول فوتون بر ثانیه بر نرخ رشد ریزجلبک *Chlorella vulgaris* بررسی شد و نتایج نشان داد که بالاترین نرخ رشد (۱/۱۳ در روز) و بیشترین مقدار زیتوده (۲/۰۵ گرم در لیتر) بترتیب در شدت ۱۰۰ و ۶۲/۵ میکرومول فوتون بر ثانیه مشاهده شد (۳). در مطالعه دیگری اثر سه شدت نور ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۵۰۰۰ لوکس بر میزان رشد و تراکم سلولی ریزجلبک *Tetraselmis chuii* بررسی و نتایج آن نشان داد که بیشترین میزان رشد و تراکم سلولی در شدت نور ۵۰۰۰ لوکس در روز هفتم کشت اتفاق افتاد (۵).

مقدار pH نیز در سرعت رشد ریزجلبک‌ها موثر است و در طی فتوسنتز مقدار آن تغییر می‌کند. برای ریزجلبک‌ها به دام انداختن CO_2 اتمسفر زمانی که شرایط رشد حالت قلیایی دارد، راحت‌تر است، بنابراین بیومس بیشتری می‌تواند تولید کند (۵۴). با افزایش مقدار pH، CO2 آب عمدتا توسط ریزجلبک‌ها به HCO_3 منتقل می‌شود که عمدتا سبب می‌شود کربن در شرایط قلیایی ضعیف، ایجاد شود. بر اساس مطالعه Liu، مقدار کلروفیل II ریزجلبک‌ها وقتی که مقدار pH از ۸/۵ به ۹/۵ می‌رسد، کاهش می‌یابد و بنابراین در میزان رشد و بیومس تولیدی اثر می‌گذارد (۳۶). در مطالعه‌ای اثر pH از ۳/۴ تا ۸/۴ بر رشد ریزجلبک *Chlamydomonas applanata* بررسی شد و نتایج این تحقیق نشان داد که بهترین رشد در pH برابر ۷/۴ مشاهده شد (۵۳). بر اساس گزارشی دیگر بر روی *Chlamydomonas reinhardtii*، مقدار بهینه pH و شدت نور برای رسیدن به حداکثر نرخ رشد بترتیب ۷/۴ و ۷۴۰۰ لوکس بود در حالی که برای رسیدن به حداکثر مقدار نشاسته به pH برابر ۸ و شدت نور ۵۳۰۰ لوکس نیاز بود (۱۴).

بررسی و شناسایی فلور جلبکی آب‌های هر منطقه از اهداف مهم تحقیقاتی در اغلب کشورهای جهان است. در سال‌های اخیر مطالعات محدودی در کشورمان روی فلور آب‌های طبیعی از نظر جلبک‌های آب‌های شیرین و لب شور انجام گرفته است. از جمله تحقیقات انجام یافته، بررسی و شناسایی تراکم و پراکنش فیتوپلانکتون‌های دریاچه سد لار می‌باشد. با این مطالعه طی شش مرحله نمونه برداری حدود ۱۴ جنس متعلق به شاخه جلبک‌های دیاتومه، یک جنس متعلق به شاخه اوگلنوفیسه، هفت جنس متعلق به شاخه جلبک‌های سبز، سه جنس متعلق به شاخه جلبک‌های پیروفیسه، یک جنس متعلق به شاخه جلبک‌های کریزوفیسه و دو جنس متعلق به شاخه جلبک‌های سیانوباکتری‌ها شناسایی شده است (۱۱). بررسی جوامع فیتوپلانکتونی و کیفیت آب تالاب بند علی خان، نشان داد که سه گروه از فیتوپلانکتون‌ها شامل دیاتومه‌ها، سیانوباکتری‌ها و اوگلنوفیسه در این تالاب‌ها حضور دارند (۱۶).

دریاچه بزنگان تنها دریاچه در استان خراسان رضوی و بزرگترین دریاچه طبیعی استان خراسان است. این دریاچه در ۱۳۰ کیلومتری مشهد و ۸۰ کیلومتری شهرستان سرخس واقع شده است. محیط این دریاچه در حدود ۳۳۰۰ متر و مساحت تقریبی منطقه در حدود ۱۲۰ هکتار است. از لحاظ آب و هوایی در ناحیه‌ای معتدل با بارش کم (متوسط بارندگی سالانه منطقه حدود ۳۰۰ میلی‌متر) قرار گرفته و در نتیجه از اوایل خرداد تا شهریور، آب و هوایی خشک و خیلی گرم دارد (۱ و ۶). طعم آب نیز کمی تلخ و شور مزه است. دریاچه تاریخی بزنگان تنها زیستگاه پرندگان مهاجر منطقه سیبری، اروپا و وحشی بومی است (۶).

در مطالعاتی که تاکنون بمنظور بررسی تنوع ریزجلبک‌های دریاچه بزنگان انجام شده است، شناسایی ریزجلبک‌ها تنها با مشاهده مستقیم آب دریاچه در زیر میکروسکوپ نوری

بوده است (۶ و ۱۲). بعنوان مثال در مطالعه‌ای، نمونه‌برداری بصورت فصلی در طی سال ۱۳۸۱ انجام شد. طی این تحقیق، چهار گونه ماکروجلبک و ۳۳ گونه فیتوپلانکتونی شناسایی شد. از مجموع ۳۳ گونه فیتوپلانکتونی، ۲۱ گونه به شاخه کریزوفیتا، هفت گونه به کلروفیتا، چهار گونه به سیانوفیتا و یک گونه به پیروفیتا تعلق داشت. *Diatoma tenuis*، *Ulothrix subtilissima*، *Fragillaria crotonensis*، *Merismopodia punctata* از بیشترین وفور گونه‌ای برخودار بودند (۶). در تحقیق دیگری نمونه‌ها از سه ناحیه و پنج سطح مختلف دریاچه بزنگان بطور فصلی و طی یکسال (۱۳۷۶-۱۳۷۵) جمع‌آوری گردید. در مجموع ۶۵ گونه، متعلق به سه گروه فیتوپلانکتونی شامل ۱۰ گونه سیانوفیسه، ۱۸ گونه کلروفیسه و ۳۷ گونه باسیلاریوفیسه شناسایی شد، که گونه‌های *Chroococcus minor*، *Cosmarium tinctum*، *Ulothirx subtilissima*، *Campylodiscus sp.*، *Cocconeis placentula*، *Cyclotella meneghinana*، *Fragillaria crotonenisis* و *Gyrosigma acuminatum* با میزان فراوانی بالا نسبت به سایر گونه‌ها مشاهده شدند (۱۲).

آب‌های طبیعی کشورمان پتانسیل بسیار خوبی از نظر حضور انواع ریزجلبک‌ها دارند. این ریزجلبک‌ها با شرایط آب و هوایی ایران کاملا سازگار هستند و در صورت انتخاب دقیق برای اهداف و کاربردهای تجاری مشخص، نسبت به نمونه‌های غیر بومی ارجحیت دارند. بنابراین، با توجه بکاربردهای گسترده ریزجلبک‌ها در زمینه‌های مختلف و مطالعات محدودی که تاکنون بر روی جداسازی این گونه‌های ارزشمند بومی و بررسی پتانسیل رشدی و رنگدانه‌ای آن‌ها انجام شده است، این تحقیق طراحی گردید. بنابراین این پژوهش با هدف جداسازی و نگهداری برخی از مهمترین ریزجلبک‌های دریاچه بزنگان بعنوان بخشی از خزانه ارزشمند ژنتیکی ریزجلبک‌های بومی خراسان رضوی و بهینه‌سازی کامل شرایط رشدی آن‌ها و سنجش پتانسیل تولید رنگدانه‌های کلروفیل و کاروتنوئیدی آن‌ها انجام پذیرفت.

مواد و روشها

۱- تهیه نمونه: نمونه‌های مورد نظر برای انجام این پژوهش از دریاچه بزنگان تهیه شد. بدین منظور از هشت ناحیه مختلف حاشیه‌ای دریاچه با استفاده از تور پلانگتون‌گیری نمونه‌برداری انجام شد. سپس اطلاعات مربوط به هر منطقه شامل ارتفاع از سطح دریا، طول و عرض جغرافیایی، جهت و دمای آب و هوا ثبت گردید.

همچنین مقدار pH، EC (Electrical Conductivity)، TDS (Total Dissolved Solids) و شوری آب دریاچه در بخش‌های مختلف آن اندازه‌گیری شد. مقدار یون سدیم موجود در آب دریاچه نیز با استفاده از دستگاه flam photometer (310C digital flame photometer) اندازه‌گیری شد.

مقدار TDS یا کل مواد جامد محلول در نمونه‌ها با استفاده از رابطه زیر بدست آمد:

$$TDS = EC \times ۰/۶۴$$

۲- کشت و خالص‌سازی ریزجلبک‌ها: نمونه‌ها بعد از انتقال به آزمایشگاه در محیط جامد F_2 (که محیطی مناسب برای ریزجلبک‌های آب‌های شور است) کشت شدند (۷). بدین منظور، از هر نمونه آب، ۱۰۰ میکرولیتر در هر پلیت حاوی محیط F_2 کشت و در شرایطی با شدت نور ۳۵۰۰ لوکس و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از گذشت حدود یک ماه از کشت نمونه‌ها، کلنی‌های سبز رنگی در محیط کشت ظاهر شد که به محیط جدید منتقل شدند. بعلت فراوان بودن دیاتومه‌ها در آب دریاچه و رشد آن‌ها بهمراه ریزجلبک‌های سبز، یک مرحله کلنی‌های سبز رنگ در محیط کشت BBM که محیط آب شیرین است و دیاتومه‌ها قادر به رشد در این محیط نیستند، کشت شدند. همچنین برای جلوگیری از رشد آلودگی‌های باکتریایی، به

محیط F_2، آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم به میزان ۲۰۰ میکروگرم در هر میلی‌لیتر افزوده شد (۴۰) و برای از بین بردن آلودگی‌های قارچی از روش جدا کردن چند مرحله‌ای تک کلون‌ها استفاده شد.

برای اطمینان از خلوص نمونه‌ها، از هر کدام از آن‌ها اسلاید تهیه و با بزرگنمایی ۱۰۰ میکروسکوپ نوری (OLYMPUS BX41TF) بررسی و عکس‌برداری شدند. در نهایت جنس‌های مشاهده شده با استفاده از کلیدهای معتبر، از نظر مورفولوژیکی شناسایی گردیدند (۱۷ و ۱۹). کلنی‌های خالص به محیط کشت F_2 مایع منتقل و بر روی شیکری با سرعت ۱۴۰ دور در دقیقه قرار گرفتند تا بیومس کافی ایجاد گردد.

۳- تعیین شرایط بهینه برای رشد ریزجلبک‌ها: برای بررسی شرایط بهینه رشدی ریزجلبک‌ها، اثر محیط کشت، pH و شدت نورهای مختلف، پس از ۲۶ روز از کشت آن‌ها، بر مقدار وزن خشک تولیدی و نرخ رشد ویژه آن‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

پس از این مدت، بیومس تولیدی با سرعت g ۷۳۷۸ بمدت پنج دقیقه سانتریفوژ و در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. فاکتور نرخ رشد ویژه (μ) نیز با فرمول $\mu=\ln x_n-\ln x_0(t_n-t_0)$ محاسبه شد (۳۰)، که در آن X_0: میانگین تعداد سلول‌ها در زمان t_0، Xn: میانگین تعداد سلول‌ها در زمان t_n و μ: نرخ رشد ویژه در روز است.

۳-۱- محیط کشت: برای تعیین بهترین محیط کشت برای هر کدام از ریزجلبک‌ها، از محیط کشت‌های F_2، BBM، BG11، Walne و TAP استفاده شد.

۳-۲- برای تعیین بهترین و موثرترین pH بر رشد ریزجلبک‌ها، آن‌ها در شش pH مختلف ۶، ۶/۵، ۷، ۷/۵، ۸ و ۹ کشت شدند.

۳-۳- برای بررسی اثر شدت نور بر رشد ریزجلبک‌ها، آن‌ها در پنج تیمار نوری ۲۰۰۰، ۲۷۰۰، ۳۳۰۰، ۴۵۰۰ و ۷۸۰۰ لوکس، قرار گرفتند.

۴- منحنی رشد: برای ترسیم منحنی رشد، مقدار بیومس ریزجلبک‌ها، با سنجش چگالی نوری توسط اسپکتروفتومتر (S2100SUV) در دو طول موج ۶۸۰ و ۷۵۰ نانومتر بصورت سه روز در میان اندازه‌گیری شد.

برای بدست آوردن رابطه‌ی خطی بین چگالی نوری و وزن تر و خشک و معادله آن‌ها، رقت‌های سریالی 1، $\frac{1}{2}$، $\frac{1}{4}$، $\frac{1}{8}$، $\frac{1}{16}$ و $\frac{1}{32}$ از کشت‌های جلبکی تهیه شد. بدین منظور ابتدا ۵۰ میلی‌لیتر از کشت جلبکی برداشت و سپس جهت تهیه رقت‌های سریالی $\frac{1}{2}$، هر بار مقدار ۲۵ میلی‌لیتر از محلول غلیظ تر با آب مقطر تا ۵۰ میلی‌لیتر رقیق شد. وزن خشک، وزن تر و چگالی نوری هر یک از رقت‌ها اندازه‌گیری شدند و بدین ترتیب معادله‌ی رگرسیونی حاصل گردید (۳۵).

۵- استخراج و سنجش کلروفیل و کل کاروتنوئیدها در ریزجلبک‌ها: برای عصاره‌گیری، ابتدا ۱۰۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون جلبکی همگن، بمدت ۱۰ دقیقه در g ۷۳۷۸ سانتریفیوژ شد. سپس بخش رویی خارج گردید. در ادامه، ۵۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به رسوب اضافه و سپس بمدت ۱۱ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه التراسونیک (SB-103D) استخراج انجام شد. عصاره حاصل با استفاده از سانتریفوژ با سرعت g ۷۳۷۸ بمدت پنج دقیقه از بقایای سلولی جدا و برای حذف کامل پلت سلولی، مایع رویی با فیلتر سر سرنگی ۰/۴۵ میکرون فیلتر شد. برای بررسی میزان کلروفیل a، b و کل کاروتنوئیدها، میزان جذب این عصاره‌ها در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۴۷۰ و ۶۴۶/۸ با دستگاه اسپکتروفتومتر در برابر نمونه خنثی (بلانک- استون ۸۰ درصد) قرائت و در فرمول‌های زیر جایگذاری شد (۴۹).

$$\text{Chlorophyll a } (\mu g/ml)\ (Ca) = ۱۲/۲۵ \times A_{۶۶۳/۲} - ۲/۷۹ \times A_{۶۴۶/۸}$$

$$\text{Chlorophyll b } (\mu g/ml)\ (Cb) = ۲۱/۵ \times A_{۶۴۶/۸} - ۵/۱ \times A_{۶۶۳/۲}$$

$$\text{Total carotenoid } (\mu g/ml) = (۱۰۰۰ \times A_{۴۷۰} - ۱/۸۲ \times Ca - ۸۵/۰۲ \times Cb)/۱۹۸$$

۶- آنالیز آماری: تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری JMP 8 و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد. همچنین رسم منحنی‌های رشد از طریق نرم افزار Excel انجام گردید.

نتایج

برای بررسی کامل دریاچه، در اردیبهشت سال ۱۳۹۵، از هشت منطقه مختلف حاشیه آن با استفاده از تور پلانکتون‌گیری نمونه‌برداری شد که این مناطق در شکل ۱ مشخص شده‌اند.

شکل ۱- نقشه کلی از دریاچه بزنگان و مناطق نمونه برداری شده از آن

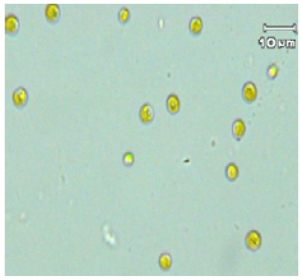
اطلاعات مربوط به هر منطقه شامل ارتفاع از سطح دریا، طول و عرض جغرافیایی و جهت آن و همچنین دمای آب و هوا مشخص گردید (جدول ۱).

جدول ۱- اطلاعات مربوط به ارتفاع از سطح دریا، طول و عرض جغرافیایی و جهت، هشت منطقه نمونه‌برداری شده از دریاچه بزنگان

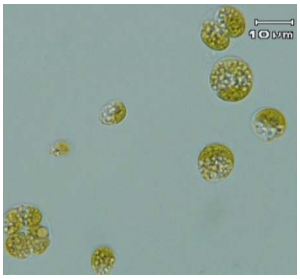
منطقه	ارتفاع از سطح دریا (متر)	طول و عرض جغرافیایی	جهت
۱	۸۳۷	N: 36° 18′ 43.3 E: 60° 23′ 02.8	ضلع شرقی دریاچه
۲	۸۳۶	N: 36° 18′ 48.6 E: 60° 29′ 04.3	ضلع شرقی دریاچه
۳	۸۴۰	N: 36° 18′ 67.1 E: 60° 29′ 02.7	ضلع جنوبی دریاچه
۴	۸۴۷	N: 36° 19′ 00.3 E: 60° 28′ 56.0	ضلع جنوبی دریاچه
۵	۸۳۶	N: 36° 19′ 02.7 E: 60° 28′ 44.5	ضلع جنوبی دریاچه
۶	۸۴۴	N: 36° 18′ 58.0 E: 60° 28′ 42.3	ضلع شمالی دریاچه
۷	۸۵۶	N: 36° 18′ 49.3 E: 60° 28′ 42.8	ضلع شمالی دریاچه
۸	۸۶۰	N: 36° 18′ 38.2 E: 60° 28′ 55.3	ضلع شمالی دریاچه

بر اساس اطلاعات بدست آمده، دمای آب ۲۰ درجه سانتی‌گراد و دمای هوا ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. ویژگی‌های اکولوژی دریاچه مثل مقدار pH، EC و TDS در آزمایشگاه بررسی شد و نشان داد که pH آب بین ۷/۱ تا ۷/۹ و مقدار EC آن بین ۹/۶ تا ۹/۷ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر است. مقدار TDS در بخش‌های مختلف آب دریاچه بین ۶/۱ تا ۶/۲ میلی‌گرم در لیتر بود. همچنین مقدار یون سدیم موجود در آب دریاچه نیز ۴۱۴۴ میلی‌گرم در لیتر بود.

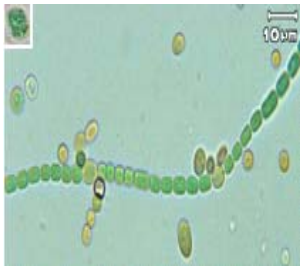
پس از نمونه‌برداری و سنجش ویژگی‌های شیمیایی آب دریاچه، آن را در محیط F_2 کشت و از هر ریزجلبک یک اسلاید جهت تعیین ویژگی‌های مورفولوژیکی تهیه شد (شکل ۲).



A: Chlorella sp



B: Chlamydomonas sp.



C: Nodularia sp.

D: Tetraselmis sp.

شکل ۲- عکس با میکروسکوب نوری با بزرگنمایی ۱۰۰× از نمونه‌های ریزجلبکی خالص‌سازی شده از دریاچه بزنگان

با توجه به پژوهش‌های سیستماتیک، بر اساس خصوصیات ظاهری (کروی، تک یاخته، کلروپلاست فنجانی و بدون تاژک) جلبک A شناسایی و بعنوان *Chlorella spp.* تایید شد. جلبک B نیز با ویژگی‌های مورفولوژیکی جنس *Chlamydomonas spp.* شامل تک سلولی متحرک، معمولا کروی و گاهی بیضی شکل، لکه چشمی موجود در بخش جلویی کلروپلاست، هر سلول دارای دو واکوئل در بخش جلویی و هر سلول دارای دو تاژک مطابقت داشت. از ویژگی‌های مورفولوژیکی جنس *Nodularia spp.* و ریزجلبک C، می‌توان به رشته‌های معمولا صاف و گاهی دارای خمیدگی با پهنای حدود شش میکرومتر، غلاف‌ها بدون رنگ، سلول‌ها بدون تاول‌های گازی و کوتاه و میله مانند هستند با اندازه حدود چهار میکرومتر، هتروسیت‌ها معمولا بیضی شکل و راست گوشه‌ای یا میله‌ای با اندازه حدود هفت میکرومتر و Akinetes کروی یا بیضی شکل با قطر شش تا ده میکرومتر در زنجیره سلولی اشاره کرد. کلروپلاست بشدت سبز رنگ، اجسام سلولی تاژکدار، وجود یک پیرنوئید در داخل کلروپلاست و یک دیواره غلاف‌دار از ویژگی‌های جنس *Tetraselmis spp.* است که با جلبک D مطابقت دارد.

پس از تعیین ویژگی‌های مورفولوژیکی و جنس ریزجلبک‌ها، برای تعیین بهترین محیط کشت برای هر کدام از آن‌ها، رشد ریزجلبک‌ها در محیط کشت‌های مختلفی مثل F_2، BBM، BG11، Walne و TAP پس از گذشت ۲۶ روز از کشت آن‌ها بررسی شدند (جدول ۲).

نتایج بررسی رشد آن‌ها در محیط کشت‌های مختلف، نشان داد که ریزجلبک‌های *Tetraselmis sp.*، *Nodularia sp.*، *Chlamydomonas sp.* و *Chlorella sp.* بترتیب در محیط کشت‌های F_2، Walne، TAP و BG11 بهترین رشد را داشتند که به نوعی جنس جلبک‌های خالص‌سازی و معرفی شده را تایید می‌کند. *Chlorella sp.* در محیط کشت‌های شیرین مثل BG11 (۰/۵۵ گرم در لیتر) و BBM (۰/۳۳ گرم در لیتر) رشد بهتری نسبت به محیط‌های شور مثل F_2 (۰/۲۳ گرم در لیتر) و والن (۰/۲۱ گرم در لیتر) دارد و این اختلاف در سطح ۵ درصد معنی‌دار است ($P<0/05$).

جدول۲- مقدار وزن خشک (گرم در لیتر) و نرخ رشد ویژه (در روز) در ریزجلبک‌های *Tetraselmis sp.*، *Nodularia sp.*، *Chlamydomonas sp.* و *Chlorella sp.* پس از ۲۶ روز از کشت آن‌ها در محیط کشت‌های مختلف. در هر ریزجلبک، میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($P>0/05$).

محیط کشت	*Chlorella sp.*		*Tetraselmis sp.*		*Chlamydomonas sp.*		*Nodularia sp.*	
	نرخ رشد ویژه	وزن خشک	نرخ رشد ویژه	وزن خشک	نرخ رشد ویژه	وزن خشک	نرخ رشد ویژه	وزن خشک
F2	۰/۰۲۰ b	۰/۲۳ b	۰/۰۳۷ a	۰/۵۱ a	۰/۰۲۱ b	۰/۲۳ b	۰/۰۲۱ b	۰/۲۰ b
BBM	۰/۰۳۳ a	۰/۳۳ ab	۰/۰۱۹ b	۰/۲۸ b	۰/۰۲۴ b	۰/۲۳ b	۰/۰۲۱ b	۰/۲۱ b
BG11	۰/۰۴۵ a	۰/۵۵ a	۰/۰۲۴ ab	۰/۲۱ b	۰/۰۱۲ c	۰/۱۶ c	۰/۰۱۳ c	۰/۱۲ c
Walne	۰/۰۱۵ b	۰/۲۱ b	۰/۰۳۱ a	۰/۴۳ a	۰/۰۲۳ b	۰/۲۲ b	۰/۰۳۰ a	۰/۴۰ a
TAP	۰/۰۰۹ c	۰/۱۲ c	۰/۰۱۰ c	۰/۱۵ c	۰/۰۳۸ a	۰/۴۸ a	۰/۰۱۰ c	۰/۱۱ c

Tetraselmis sp. بر عکس *Chlorella sp.*، بیشتر در محیط‌های آب شور رشد می‌کند و بعنوان یک ریزجلبک سبز در محیط F_2 رشد بیشتری (۰/۵۱ گرم در لیتر) دارد ($P<0/05$). *Nodularia sp.* یک سیانوباکتری شورپسند است، بنابراین در محیط والن که مناسب آن‌ها است، بهترین رشد و ماندگاری را دارد (۰/۴۰ گرم در لیتر) ($P<0/05$). محیط کشت TAP که فقط مناسب رشد ریزجلبک‌های جنس *Chlamydomonas spp.* است و بنابراین این ریزجلبک در این محیط کشت بهترین رشد را نسبت به سایر محیط کشت‌ها دارد (۰/۴۸ گرم در لیتر) ($P<0/05$).

فاکتور دیگری که برای بهینه‌سازی شرایط رشدی ریزجلبک‌ها استفاده شد، مقدار pH بود. بدین منظور میزان وزن خشک و نرخ رشد ویژه در محیط کشت‌های بهینه آن‌ها (نتایج جدول ۲) ولی در pH مختلف بررسی شد (جدول ۳).

جدول۳- مقدار وزن خشک (گرم در لیتر) و نرخ رشد ویژه (در روز) در ریزجلبک‌های *Tetraselmis sp.*، *Nodularia sp.*، *Chlamydomonas sp.* و *Chlorella sp.* پس از ۲۶ روز از کشت آن‌ها در محیط کشت‌های بهینه و در pHهای مختلف. در هر ریزجلبک میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($P>0/05$).

PH	*Chlorella sp.*		*Tetraselmis sp.*		*Chlamydomonas sp.*		*Nodularia sp.*	
	نرخ رشد ویژه	وزن خشک	نرخ رشد ویژه	وزن خشک	نرخ رشد ویژه	وزن خشک	نرخ رشد ویژه	وزن خشک
۶	۰/۰۲۴ b	۰/۲۸ b	۰/۰۱۳ b	۰/۲۶ b	۰/۰۱۷ b	۰/۳۹ b	۰/۰۲۰ b	۰/۲۲ b
۶/۵	۰/۰۲۹ b	۰/۳۱ b	۰/۰۲۱ ab	۰/۳۸ ab	۰/۰۳۱ ab	۰/۴۹ ab	۰/۰۲۲ b	۰/۲۴ b
۷	۰/۰۴۹ a	۰/۵۳ a	۰/۰۳۸ a	۰/۵۰ a	۰/۰۴۲ a	۰/۵۱ a	۰/۰۳۶ ab	۰/۴۳ a
۷/۵	۰/۰۵۸ a	۰/۶۴ a	۰/۰۴۲ a	۰/۵۹ a	۰/۰۴۷ a	/۶۰ a	۰/۰۴۱ a	۰/۵۰ a
۸	۰/۰۴۹ a	۰/۵۹ a	۰/۰۳۶ a	۰/۴۹ a	۰/۰۱۹ b	۰/۴۲ b	۰/۰۳۹ ab	۰/۴۵ a
۹	۰/۰۲۵ b	۰/۳۲ b	۰/۰۲۲ ab	۰/۳۲ b	۰/۰۱۲ b	۰/۳۴ b	۰/۰۲۱ b	۰/۲۳ b

نتایج آن نشان داد که با افزایش pH از ۶ تا ۷/۵، مقدار وزن خشک و نرخ رشد ویژه ریز جلبک‌ها افزایش و سپس از pH ۷/۵ تا ۹ کاهش یافت. در تمام ریزجلبک‌های مطالعه شده، بیشترین مقدار نرخ رشد و وزن خشک در pH ۷/۵ مشاهده شد و آن تقریبا دو برابر pH ۶ بود. نتایج آنالیز آماری نشان داد که اختلاف وزن خشک و نرخ رشد ویژه در همه ریزجلبک‌ها، به جز *Chlamydomonas sp.*، بین pH ۷ تا ۸ معنی‌دار نبود ($P>0/05$).

جدول ۴ اثر شدت‌های مختلف نور بر روی رشد ریزجلبک‌های *Nodularia sp.*، *Tetraselmis sp.*، *Chlamydomonas sp.* و *Chlorella sp.* را پس از ۲۶ روز از کشت آن‌ها، در محیط کشت بهینه برای هر کدام از ریزجلبک‌ها و pH برابر ۷/۵ را نشان می‌دهد.

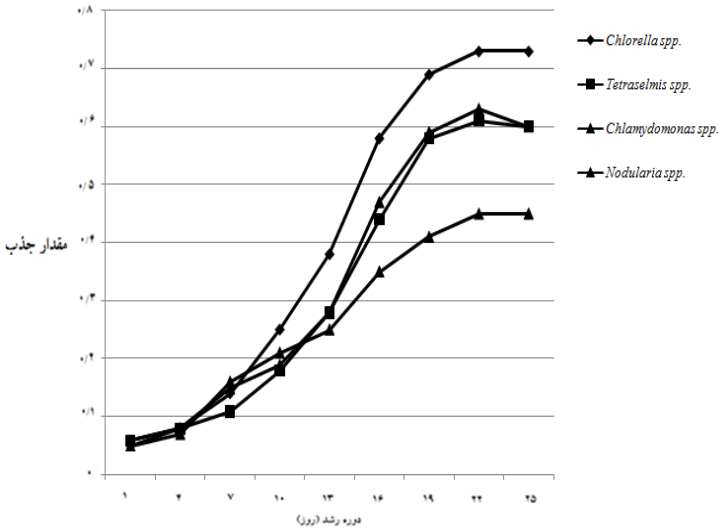
جدول۴- مقدار وزن خشک (گرم در لیتر) و نرخ رشد ویژه (در روز) در ریزجلبک‌های *Nodularia sp.*، *Tetraselmis sp.*، *Chlamydomonas sp.* و *Chlorella sp.* پس از ۲۶ روز از کشت آن‌ها در محیط کشت‌های بهینه هر کدام و pH برابر ۷/۵ و در شدت‌های نوری مختلف. در هر ریزجلبک میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($P>0/05$).

شدت نور	*Chlorella sp.*		*Tetraselmis sp.*		*Chlamydomonas sp.*		*Nodularia sp.*	
	نرخ رشد ویژه	وزن خشک	نرخ رشد ویژه	وزن خشک	نرخ رشد ویژه	وزن خشک	نرخ رشد ویژه	وزن خشک
۲۰۰۰	۰/۰۳۰ b	۰/۴۵ b	۰/۰۲۱ b	۰/۳۱ b	۰/۰۳۱ b	۰/۳۱ b	۰/۰۲۴ b	۰/۲۸ b
۲۷۰۰	۰/۰۴۳ b	۰/۵۵ b	۰/۰۳۳ b	۰/۳۸ b	۰/۰۳۸ b	۰/۳۹ b	۰/۰۳۰ b	۰/۳۳ b
۳۳۰۰	۰/۰۵۹ ab	۰/۶۴ ab	۰/۰۴۱ b	۰/۴۷ b	۰/۰۵۱ a	۰/۶۰ a	۰/۰۴۳ a	۰/۵۱ ab
۴۵۰۰	۰/۰۷۱ a	۰/۷۵ a	۰/۰۵۵ a	۰/۶۸ a	۰/۰۵۷ a	۰/۶۹ a	۰/۰۵۱ a	۰/۶۱ a
۷۸۰۰	۰/۰۶۱ ab	۰/۶۶ ab	۰/۰۴۳ b	۰/۴۶ b	۰/۰۴۰ b	۰/۵۸ a	۰/۰۴۱ a	۰/۳۹ b

با افزایش شدت نور از ۲۰۰۰ به ۴۵۰۰ لوکس، مقدار وزن خشک و نرخ رشد ویژه در همه ریزجلبک‌ها افزایش یافت. بیشترین مقدار وزن خشک در شدت نور ۴۵۰۰ لوکس در *Nodularia sp.*، *Tetraselmis sp.*، *Chlamydomonas sp.* و *Chlorella sp.*، بترتیب ۰/۶۸، ۰/۶۱، ۰/۶۹ و ۰/۷۵ گرم در لیتر بود. نتایج آنالیز آماری نشان داد که در مورد ریزجلبک‌های سبز *Chlamydomonas sp.* و *Chlorella sp.*، اختلاف بین وزن خشک در شدت نور ۳۳۰۰ و ۴۵۰۰ لوکس در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبود ($P>0/05$). با افزایش شدت نور از ۲۰۰۰ به ۴۵۰۰ لوکس، نرخ رشد ویژه در همه ریزجلبک‌های مورد بررسی تقریبا ۲ برابر گردید. اختلاف بین نرخ رشد ویژه در ۴۵۰۰ لوکس در *Tetraselmis sp.* نسبت به سایر شدت نورها معنی‌دار بود ($P<0/05$). در حالی که در مورد *Nodularia sp.* و *Chlorella sp.* بین شدت نور ۳۳۰۰، ۴۵۰۰ و ۷۸۰۰ لوکس اختلاف معنی‌دار نبود ($P>0/05$). همچنین در شدت نور ۷۸۰۰ لوکس، مقدار بیومس تولیدی توسط ریزجلبک‌ها کاهش یافت (البته اختلاف وزن خشک بین شدت نور ۴۵۰۰ و ۷۸۰۰ لوکس در مورد *Chlamydomonas sp.* و *Chlorella sp.* معنی‌دار نبود ($P>0/05$)).

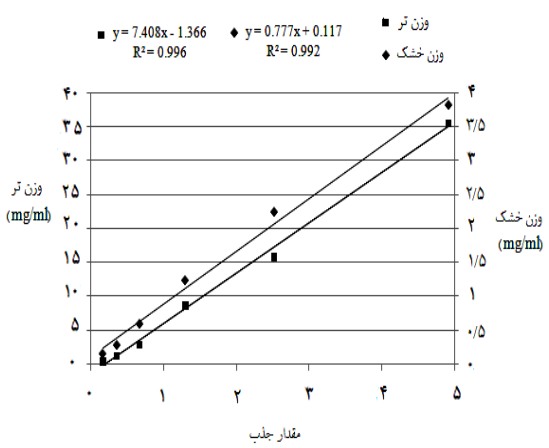
پس از تعیین بهترین محیط کشت و شرایط رشدی برای هر کدام از ریزجلبک‌های *Tetraselmis sp.*، *Nodularia sp.*، *Chlamydomonas sp.* و *Chlorella sp.*، منحنی رشد آن‌ها در محیط کشت و شرایط بهینه رشدی ذکر شده، در طی دوره ۲۵روزه مشخص شد (شکل ۳). بدین ترتیب هر

دو تا سه روز یکبار مقدار جذب آن‌ها در طول موج‌های ۷۵۰ (برای ریزجلبک‌های سبز *Tetraselmis sp.*، *Chlamydomonas sp.* و *Chlorella sp.*) و ۶۸۰ (برای سیانوباکتری *Nodularia sp.*) نانومتر خوانده شد. همانطور که مشاهده گردید نمودار رشدی این ریزجلبک‌ها بصورت لگاریتمی بوده و بیشترین رشد آن‌ها در روزهای ۱۴ تا ۲۱ اتفاق افتد و بعد از آن رشد ریزجلبک بدلیل کاهش مواد مغذی و بالارفتن غلظت محیط کشت و عدم نفوذ نور در آن‌ها کند شده و از روز ۲۱ به بعد رشد ریزجلبک‌ها کاهش یا موقف شد.

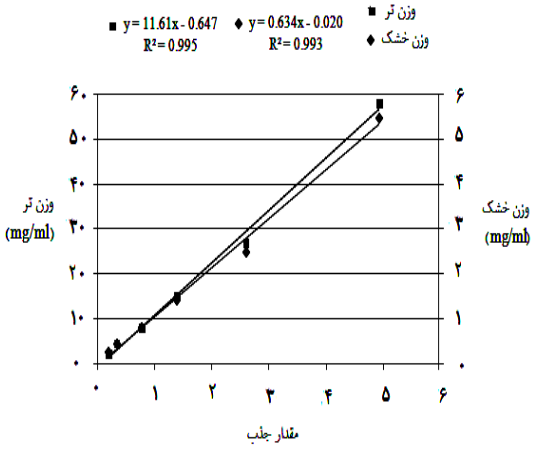


شکل ۳- منحنی رشد ریزجلبک‌های *Chlorella sp.*، *Tetraselmis sp.*، *Chlamydomonas sp.* و *Nodularia sp.* در طی ۲۵ روز دوره رشدی و در شرایط بهینه (یعنی ریزجلبک‌ها بترتیب در محیط‌های BG11، F2، TAP و والن و در pH برابر ۷/۵ کشت و در شدت نور ۴۵۰۰ لوکس نگهداری شدند).

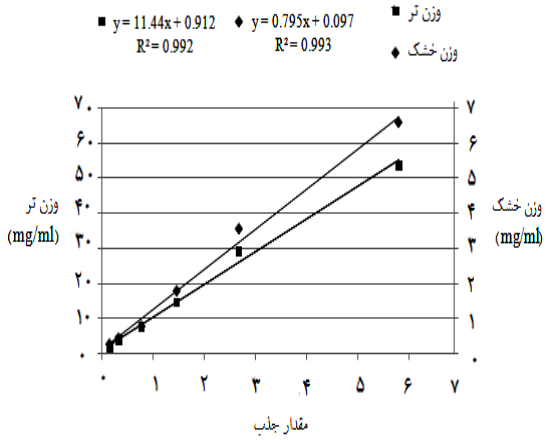
شکل ۴ و ۵ رابطه خطی بین مقدار جذب، وزن تر (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و وزن خشک (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) ریزجلبک‌های *Nodularia sp.*، *Tetraselmis sp.*، *Chlorella sp.* و *Chlamydomonas sp.* در محیط کشت‌ها و شرایط بهینه رشدی را نشان می‌دهد. این ارتباط بسیار معنی‌دار و مثبت است. برای *Tetraselmis sp.*، رابطه مقدار جذب و وزن تر ($y=11/61x-0/647$ و $0/5<y<58$) با $R^2=0/995$ و مقدار جذب و وزن خشک ($y=0/634x-0/020$ و $0/2<y<5/5$) با $R^2=0/993$ و رابطه بین وزن تر و خشک آن ($y=0/054x+0/013$ و $0/5<x<58$) با $R^2=0/999$ است. برای *Chlorella sp.*، رابطه مقدار جذب و وزن تر ($y=11/44x+0/912$ و $0/5<y<52$) با $R^2=0/992$ و مقدار جذب و وزن خشک ($y=0/795x+0/097$ و $0/08<y<6/6$) با $R^2=0/993$ و رابطه بین وزن تر و خشک آن ($y=0/069x+0/034$ و $0/5<x<64$) با $R^2=0/999$ است. برای *Chlamydomonas sp.*، رابطه مقدار جذب و وزن تر ($y=10/50x-2/021$ و $0/3<y<40$) با $R^2=0/996$ و مقدار جذب و وزن خشک ($y=0/733x-0/071$ و $0/04<y<2/85$) با $R^2=0/994$ و رابطه بین وزن تر و خشک آن ($y=0/069x+0/068$ و $0/4<x<39$) با $R^2=0/998$ است. برای *Nodularia sp.*، رابطه مقدار جذب و وزن تر ($y=7/408x-1/366$ و $0/3<y<35$) با $R^2=0/996$ و مقدار جذب و وزن خشک ($y=0/777x+0/117$ و $0/05<y<3/5$) با $R^2=0/992$ و رابطه بین وزن تر و خشک آن ($y=0/104x+0/267$ و $0/6<x<35$) با $R^2=0/983$ است.



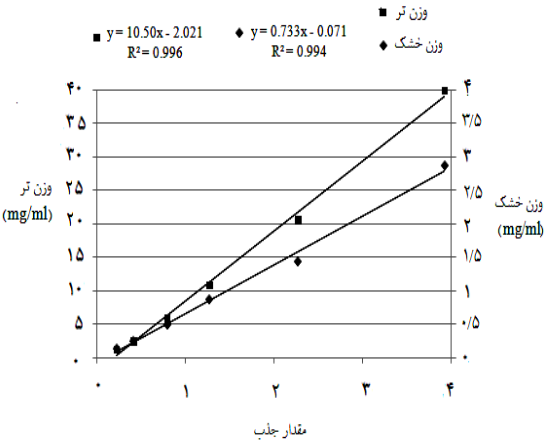
Nodularia sp.



Tetraselmis sp.

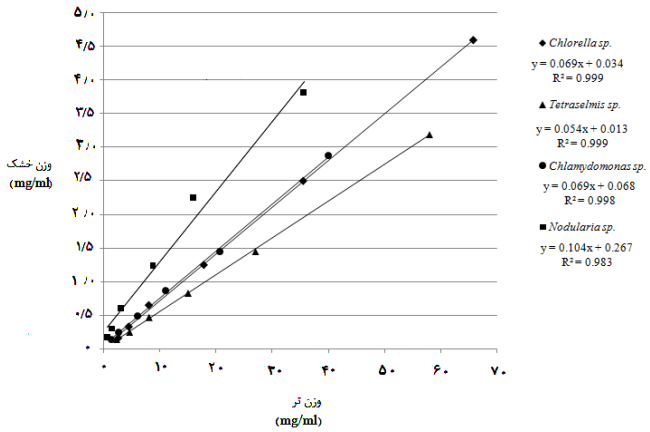


Chlorella sp.



Chlamydomonas sp.

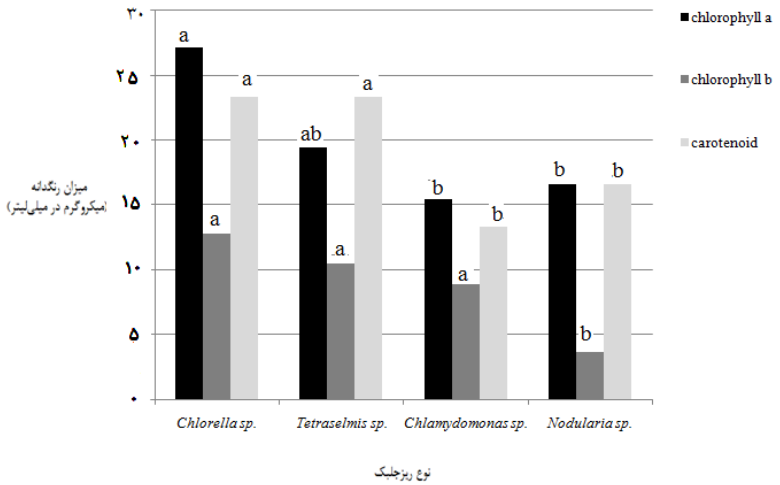
شکل ۴- رابطه بین مقدار جذب (در طول موج‌های ۷۵۰ و ۶۸۰ نانومتر) و وزن تر و خشک (میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر) در ریزجلبک‌های *Chlorella sp.*، *Tetraselmis sp.*، *Chlamydomonas sp.* و *Nodularia sp.* در شرایط بهینه رشدی (یعنی ریزجلبک‌ها بترتیب در محیط‌های BG11، F2، TAP و والن و در pH برابر ۷/۵ کشت و در شدت نور ۴۵۰۰ لوکس نگهداری شدند). (♦ وزن خشک و ■ وزن تر).



شکل ۵- رابطه بین وزن تر و وزن خشک (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) برای ریزجلبک‌های *Chlorella sp.*، *Tetraselmis sp.*، *Chlamydomonas sp.* و *Nodularia sp.* در شرایط بهینه رشدی (یعنی ریزجلبک‌ها بترتیب در محیط‌های BG11، F2، TAP و والن و در pH برابر ۷/۵ کشت و در شدت نور ۴۵۰۰ لوکس نگهداری شدند).

شکل ۶ مقدار کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها را در ریزجلبک‌های *Tetraselmis sp.*، *Nodularia sp.*، *Chlamydomonas sp.* و *Chlorella sp.* در pH برابر ۷/۵ و شدت نوری ۴۵۰۰ لوکس را نشان می‌دهد. نتایج ما نشان داد که بیشترین مقدار کلروفیل a بترتیب در *Chlorella sp.* (با ۲۷/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر)، *Tetraselmis sp.* (با ۱۹/۴ میکروگرم در میلی‌لیتر) و سپس *Chlamydomonas sp.* (با ۱۵/۴ میکروگرم در میلی‌لیتر) یافت شد که اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد میان *Chlorella sp.* و *Tetraselmis sp.* با *Chlamydomonas sp.* وجود داشتند ($P<۰/۰۵$). همچنین بیشترین مقدار کلروفیل b نیز بترتیب در ریزجلبک‌های سبز *Chlorella sp.* (۱۲/۸ میکروگرم در میلی‌لیتر)، *Tetraselmis sp.* (۱۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر) و *Chlamydomonas sp.* (۸/۹ میکروگرم در میلی‌لیتر) یافت شد که اختلاف معنی‌داری را در سطح ۵ درصد نشان ندادند ($P>۰/۰۵$). کمترین مقدار رنگدانه کلروفیل a و b در سیانوباکتری *Nodularia sp.* مشاهده شد که بترتیب ۱۶/۶ و ۳/۷ میکروگرم در میلی‌لیتر بود که اختلاف معنی‌داری با ریزجلبک‌های سبز در سطح ۵ درصد داشتند ($P<۰/۰۵$).

بیشترین مقدار رنگدانه کاروتنوئید در ریزجلبک‌های *Tetraselmis sp.* و *Chlorella sp.* (۲۳/۳ میکروگرم در میلی‌لیتر) مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با *Chlamydomonas sp.* (۱۳/۳ میکروگرم در میلی‌لیتر) و *Nodularia sp.* (۱۶/۶ میکروگرم در میلی‌لیتر) نشان داد ($P<۰/۰۵$).



شکل ۶- مقدار رنگدانه‌های کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها (میکروگرم در میلی‌لیتر) در ریزجلبک‌های *Chlorella sp.*، *Tetraselmis sp.*، *Chlamydomonas sp.* و *Nodularia sp.* در شرایط بهینه رشدی (یعنی ریزجلبک‌ها بترتیب در محیط‌های BG11، F2، TAP و والن و در pH برابر ۷/۵ کشت و در شدت نور ۴۵۰۰ لوکس نگهداری شدند). در هر رنگدانه، میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($P>۰/۰۵$).

بحث و نتیجه گیری

محیط‌های آبی، از جمله تالاب‌ها و دریاچه‌ها بدلیل تولید و تنوع زیستی بالا، گونه‌های منحصر بفرد گیاهان، جانوران و ریزجلبک‌ها را در خود جای داده و از ارزش‌های اکولوژیک بسیار بالایی برخوردارند (۶). امروزه ریزجلبک‌ها در صنایع مختلفی مانند دارویی، غذایی، آرایشی و آبزی پروری کاربرد فراوان دارند (۲۰). قبلا جمعیت ریزجلبک‌های دریاچه‌های مختلف توسط محققین مطالعه شده است و نتایج مطالعات آن‌ها نشان داد که تغییر در جوامع فیوپلاکتونی نشان دهنده تغییرات محیطی بلند مدت و کوتاه مدت در اکوسیستم دریاچه هستند (۶، ۲۵ و ۴۲).

طبق گزارشی در بهار سال ۱۳۸۴، میزان pH، EC، TDS و یون سدیم در دریاچه بزنگان بترتیب ۷/۵، ۱/۵ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر، ۰/۹۶ میلی‌گرم در لیتر و ۲۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود (۱۲). مقایسه داده‌های موجود با اطلاعات مربوط به سال‌های گذشته، افزایش شوری و تغییرات pH را در آب دریاچه بزنگان نشان می‌دهد که بیشتر می‌تواند بدلیل خشکسالی‌های اخیر در منطقه و وجود لایه‌های مارنی و گچی موجود در سازندهای مسیر آب باشد (۱). بنابراین میزان یون‌های محلول و هدایت الکتریکی، مقدار کل ذارت جامد معلق و کدورت آن و درصد شوری آب افزایش یافته است که در نهایت می‌تواند روی جمعیت ریزجلبک‌های آن تاثیرگذار باشد (۱۰). دریاچه Bafa در غرب ترکیه پس از ساخت و سازهایی که در سال ۱۹۸۵ بمنظور کنترل سیل صورت پذیرفت، شوری دریاچه افزایش یافت. پس از بررسی جمعیت میکروارگانیزم‌های آن در طول یک سال، نتایج نشان داد که این جمعیت تغییر کرده است و ترکیبی از جمعیت‌های آب‌های شور و شیرین می‌باشد (۲۵).

با توجه به نقش و کاربرد ریزجلبک‌ها در صنایع مختلف، فراهم آوردن شرایطی برای دست یافتن به رشد بهینه آن‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. تاکنون مطالعات بسیاری در این مورد انجام شده است و فاکتورهایی از قبیل شدت و طول دوره نوردهی، دما، pH و غلظت و نوع ترکیبات محیط کشت از عوامل تأثیر گذار بر روی رشد و تولید رنگدانه‌ها در ریزجلبک‌ها محسوب می‌شوند (۲۲ و ۵۵). همان طور که در بالا ذکر شد، تغییر در نوع و ترکیبات محیط کشت، یکی از عوامل مهم در رشد ریزجلبک‌ها محسوب می‌شود. در گزارشی که در سال ۲۰۱۳ انجام شد، اثر دو محیط کشت F_2 گیلارد و کانوی بر رشد *Tetraselmis sp.* بررسی شد و نتایج آن نشان داد که، پس از ۱۲۰ ساعت، محیط کانوی (۲/۳ گرم در لیتر) اثر بهتری نسبت به F_2 گیلارد (۱/۴ گرم در لیتر) بر رشد آن دارد (۲۳). همچنین اثر محیط کشت‌های مختلف بر رشد *Chlorella sp.* بررسی و نتایج آن نشان داد که محیط کشت BG11 اثر بهتری بر رشد آن نسبت به محیط کشت F_2 دارد (مقدار جذب در روز ۱۲ رشد در محیط کشت‌های BG11 و F_2 بترتیب ۱/۶ و ۰/۲۲ بود) (۵۲).

pH نیز یکی از مهمترین فاکتورها در رشد ریزجلبک‌ها است چون می‌تواند حلالیت و دسترسی CO_2 و دیگر مواد غذایی ضروری را تعیین کند (۲۲). نتایج مطالعه‌ای نشان داد که بهترین رشد ریزجلبک *Mortierella alpine* در محیط کشتی با pH بین ۷ تا ۸ مشاهده شد و بالاتر و پایین‌تر از آن رشد کاهش یافت (۵۵). نتایج مشابهی هم توسط دیگر محققان بدست آمد که نشان دهنده بهینه رشد ریزجلبک‌های مختلف در pH برابر ۷/۵ است (۲۷ و ۳۹).

مطالعات مختلف نیز نشان دادند با افزایش شدت نور، جذب مواد مغذی مانند نیتروژن و فسفر از محیط کشت در زمان کوتاه‌تری و با سرعت بیشتری صورت می‌گیرد در نتیجه بیومس سلولی افزایش می‌یابد (۲۸). اما در شدت نورهای بسیار بالا مقدار بیومس تولیدی کاهش می‌یابد که آن می‌تواند بخاطر تخریب لاملای کلروپلاستی و غیرفعال شدن آنزیم‌های درگیر در فرآیند تثبیت CO_2 باشد (۲۱ و ۳۲). نتایج مطالعه‌ای روی برخی ریزجلبک‌های میکروسکوپی نشان داد که در شدت نور بالا یا پایین‌تر از شرایط مطلوب، رشد جلبک‌های تک سلولی محدود می‌شود و در شدت نور بالا ممانعت نوری رخ می‌دهد (۲۰).

کمی سنجی دقیق مقدار بیومس ریزجلبک‌ها بسیار مهم و با شیوه‌های مختلفی انجام می‌شود. آن برای تعیین کارایی رشد و درک فرآیندها و مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ریزجلبک‌ها ضروری است. روش‌های مختلفی برای ارزیابی بیومس جلبکی وجود دارد که یکی از در دسترس‌ترین و در عین حال دقیق‌ترین روش‌ها برای مقیاس آزمایشگاهی و همچنین مقیاس‌های گسترده، تعیین وزن خشک، وزن تر و OD آن‌ها است (۵۱). گزارش‌هایی بر روی تعیین رابطه بین بیومس و OD انجام شده است که

براحتی قابل تبدیل به یکدیگر هستند (۳۱ و ۳۵). در تحقیقی رابطه بین OD و وزن خشک و تراکم سلولی در پنج ریزجلبک *Nanochloropsis oculata*، *Nanochloropsis salina*، *Nanochloropsis* *Phaeodactylum tricornutum* و *Cylindrotheca fusiformis* را در طول موج ۷۵۰ نانومتر بررسی کردند و نتایج نشان داد که یک ارتباط خطی معنی‌دار بین این سه فاکتور وجود دارد. همچنین در تراکم سلولی پایین ارتباط بین OD و تراکم سلولی قوی‌تر از بین وزن خشک و تراکم سلولی بود و تراکم سلولی بالا، روش وزن خشک دقیق‌تر از دو فاکتور دیگر بود (۳۵).

کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها گروهی از رنگدانه‌های فتوسنتزی هستند که در گیاهان، جلبک‌ها و فیتوپلانکتون‌ها وجود دارند. مطالعات مختلف نشان دادند که شوری، pH و دما، بعلت اثر بر روی فرآیندهای بازدارنده فتوسنتز، بر روی مقدار این رنگدانه‌ها موثر هستند (۲ و ۱۵). همچنین مقدار رنگدانه‌ها در گونه‌ها و حتی استرین‌های مختلف یک گونه ممکن است، متفاوت باشد (۱۵). در گزارش اکبرپور و همکاران در سال ۱۳۹۳، حداکثر میزان رنگدانه کلروفیل a و b در ریزجلبک *Tetraselmis chuii* در تیمار شوری 10 قسمت در هزار بترتیب ۳۲/98 و 18۷/92۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در رابطه با رنگدانه کاروتنوئید کل نتایج حاکی از آن بود که میزان آن $14/752 \times 10^3$ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (۲). نتایج مطالعه‌ای دیگر که در سال ۱۳۹۴ انجام شد، نشان داد که بیشترین مقدار کاروتنوئید در شوری ۲/۹۹ مولار و شدت نور ۲۰۰ میکرومول در ریزجلبک *Dunaliella salina*، ۵/۰۷ میکروگرم در هر میلی‌لیتر و کمترین آن در شدت نور ۴۰ میکرومول، ۱/۸۲ میکروگرم در هر میلی‌لیتر بود (۹). همچنین مقدار کل کاروتنوئید در ریزجلبک‌های سبز *Micractinium sp.* و *Mychonastes rotundus* که در محیط کشت BBM کشت شده بودند، بترتیب ۶/۰۵ و ۵/۷۵ میکروگرم در هر میلی‌لیتر گزارش شد. مقدار کلروفیل و کاروتنوئید در *Micractinium sp.* و *Mychonastes rotundus* بترتیب ۲ و ۱/۵ برابر سیانوباکتری *Oscillatoria sp.* بود (۲۶). در گزارشی دیگر، مقدار کلروفیل a در عصاره متانولی سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* که در شرایط شدت نور ۵۰۰۰ لوکس و pH حدود ۷ رشد یافته بودند، ۲/۲۵

میکروگرم در میلی‌لیتر بود (۸). همچنین بیشترین میزان کلروفیل در سیانوباکتری *Synechococcus sp. ISC* 106، ۱/۰۷۸ میکروگرم در میلی‌لیتر، در شرایط pH برابر ۹ و غلظت ۰/۲۵ درصد $NaNO_3$ مشاهده گردید (۱۵).

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر حمایت مالی از این طرح (به شماره ۳/۴۰۳۵۹)، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱- آدابی، م. ح. و محمدزاده، ح. ۱۳۷۶، مکانیسم تشکیل و وضعیت هیدرولوژیکی دریاچه بزنگان واقع در شرق حوضه کپه داغ، فصلنامه تحقیقات جغرافیایی، ۷(۴۰): ۳۱-۴۴.

۲- اکبرپور، ا.، خلیل‌پذیر، م. و زنده بودی، ع. 1393، بررسی تأثیر غلظت های مختلف شوری بر روی میزان رشد و ترکیبات بیوشیمیایی ریزجلبک تک سلولی تتراسالمیس چوئی (*Tetraselmis chuii*)، مجله علمی شیلات ایران، ۲۳(۱): ۹-۲۳.

۳- امینی خوئی، ز.، سیدآبادی، ج. و رمضان‌پور، ز. ۱۳۹۸، اثر شدت و دوره‌های نور بر رشد و زیتوده میکرو جلبک *Chlorella vulgaris*، مجله علمی شیلات ایران، ۱۹(۳): ۱۱-۲۰.

۴- سلطان، ط.، نوروزی، م. و آموزگار، م. ع. 1395، بررسی میزان کلروفیل a و b و توتال کاروتنوئید و هم چنین فعالیت آنتی اکسیدانی چهار گونه جلبک سبز جداشده از سواحل گلستان دریای خزر، مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی، ۶(۲۴): ۳۱-۳۶.

۵- خلیل‌پذیر، م.، اکبرپور، ا. و وهاب‌نژاد، آ. ۱۳۹۶، میزان رشد و تراکم ریزجلبک *Tetraselmis chuii* در شدت‌های نوری مختلف، نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۱(۲): ۳۹-۴۸.

۶- خوشبخت، ف. ۱۳۷۶، مطالعه اکولوژیکی و فلور جلبکی دریاچه بزنگان، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد، ۱۰-۱۱.

۷- رفیعی، ف.، اشجع اردلان، ا.، اصغر بیگی، ن. و اسماعیل‌زاده، ع. ۱۳۹۰، بررسی اثر غلظت‌های مختلف نیترات بر میزان پروتئین، کلروفیل a و وزن خشک جلبک *Tetraselmis suecica*، مجله آبزیان و شیلات، ۲(۶): ۱۹-۲۶.

۸- سلطانی، ن.، ایرانشاهی، ش.، نظری، ف.، بلفیون، م.، رحمانی، م. و ابراهیمی، ب. ۱۳۹۴، اثر شدت‌های مختلف نور بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی سیانوباکتری *Schizothrix vaginata* تحت تیمار نفتالن، مجله بوم شناسی آبزیان، ۴(۴): ۲۵-۳۲.

۹- سلمانی‌نژاد، م. ۱۳۹۴، تاثیر محیط کشت و شدت نور بر رشد و کاروتنوئیدهای جلبک *Dunaliella salina* دریاچه ارومیه، مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، ۲۸(۴): ۷۱-۸۳.

۱۰- شهنواز، ب. و قاسم‌زاده، ف. ۱۳۹۴، تنوع فیلوژنتیکی باکتری‌های قابل کشت دریاچه بزنگان و نقش اکولوژی آن‌ها، مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی، ۲۸(۳): ۳۶۰-۳۷۰.

۱۱- صلواتیان، م.، عبدالله پور، ح.، نظامی بلوچی، ش. ع.، مکارمی، م. و پورغلامی مقدم، ا. ۱۳۸۹، ترکیب گونه‌ای و تعیین تراکم فیتوپلانکتونی در دریاچه پشت سد لار، مجله علمی- تخصصی تالاب دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، ۲(۳): ۲۶-۳۸.

۱۲- غلامی، ع. ۱۳۸۲، بررسی و شناسایی اکولوژیکی فلور آبزی و حاشیه‌ای دریاچه بزنگان، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد، ۶۶-۶۷.

۱۳- قائنی، م.، سید هشترودی، م.، قادری، ف. و رومیانی، ل. ۱۳۹۱، بررسی کلروفیل a و کاروتنوئیدها در ریزجلبک اسپیرولینا، مجله علمی پژوهشی زیست شناسی دریا، ۱۴(۳): ۱-۷.

۱۴- قلی‌زاده، ف.، قنبری، ط.، شریفی، و.، سلطانی، ن. و علوی، م. ۱۳۹۵، بهینه‌سازی تولید نشاسته توسط جلبک کلامیدوموناس رینهاردتی با روش سطح پاسخ، فصلنامه علمی-پژوهشی زیست شناسی میکروارگانیزم ها، ۱۹(۵): ۱۱-۲۲.

۱۵- کیائی، ا.، سلطانی، ن.، مظاهری اسدی، م.، خاوری نژاد، ر. و دزفولیان، م. ۱۳۹۲، بررسی شرایط بهینه بمنظور استفاده از سیانوباکتری *Synechococcus sp.* بعنوان کاندید تولید بیودیزل، مجله بوم شناسی آبزیان، ۲(۴): ۴۰-۵۱.

۱۶- نجات خواه معنوی، پ.، مهدوی، م. و فروزد، م. ۱۳۸۹، بررسی جوامع فیتوپلانکتونی و کیفیت آب در تالاب بندعلی خان، مجله علوم و تکنولوژی محیط زیست، ۱: ۱۴۹-۱۶۲.

biochemical cytology, 5: 89-94.

22- Chen, C.Y. and Durbin, E.G. 1994, Effects of pH on the Growth and Carbon Uptake of Marine Phytoplankton, Marine Ecology-Progress Series Journal, 109: 83-94.

23- Cruz Coelho, A., Ubirajara Goncalves Barros, M., Henrique Cavalcante Bezerra, J., William Alves da Silva, J., Lafaiete Moreira, R. and Ronald Lobo Farias, W. 2013, Growth of the Microalgae *Tetraselmis tetrathele* and Nitrate Depletion in Culture Medium Guillard f/2 and Conway, Acta Scientiarum, 35 (2): 163-168.

24- Del Campo, J.A., Garcia-Gonzalez, M. and Guerrero, M.G. 2007, Outdoor Cultivation of Microalgae for Carotenoid Production: Current State and Perspectives, Applied Microbiology and Biotechnology, 74: 63-74.

25- Demir, N. 2007, Changes in the Phytoplankton Community of a Coastal, Hyposaline Lake in Western Anatolia, Turkey, Limnology, 8: 37-42.

17- Algae Base [Internet], Galway: National University of Ireland. 2015 [cited 16 december 2015], Available from:http://www.algaebase.org.

18- Bechet, Q., Shilton, A. and Guieysse, B. 2013, Modeling the Effects of Light and Temperature on Algae Growth: State of the Art and Critical Assessment for Productivity Prediction During Outdoor Cultivation, Biotechnology Advances, 31 (8): 48-63.

19- Bellinger, E.G. and Sigee, D.C. 2015, Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators, Wiley-Blackwell, 271pp.

20- Bouterfas, R., Belkoura, M. and Dauta, A. 2006, The Effects of Irradiance and Photoperiod on the Growth Rate of Three Freshwater Green Algae Isolated from a Eutrophic Lake, Limnetica, 25 (3): 647-656.

21- Brody, M. and Vatter, A.E. 1959, Observations on Cellular Structures of *Porphyridium cruentum*, Journal of biophysical and

26- Dharma, A., Sekatresna,W., Zein, R., Chaidir, Z. and Nasir, N. 2017, Chlorophyll and Total Carotenoid Contents in Microalgae Isolated from Local Industry Effluent in West Sumatera, Indonesia, Der Pharma Chemica, 9 (18): 9-11.

27- Garcia, C.M.C., Sevilla, J.M.F., Fernandez, F.G.A., Grima, E.M. and Camacho, F.G. 2000, Mixotrophic Growth of *Phaeodactylum tricornutum* on Glycerol: Growth Rate and Fatty Acid Profile, Journal of Applied Phycology, 12: 39-48.

28- Ghezelbash, F., Farboodnia, T., Heidari, R. and Agh, N. 2008, Effects of Different Salinities and Luminance on Growth Rate of the Green Microalgae (*Tetraselmis chuii*), Research Journal of Biological Sciences, 3 (3): 11-14.

29- Goh, L.P., Loh, S.P., Fatimah, M.Y. and Perumal, K. 2009, Bioaccessibility of Carotenoids and Tocopherols in Marine Microalgae, *Nannochloropsis* sp. and *Chaetoceros* sp., Malaysian Journal of Nutrition, 15 (1): 77-86.

30- Guillard, R.L. 1973, Handbook of phycological methods, Cambridge University Press.Cambridge, 1: 289-312.

31- Huo, S., Yuan, Z., Zhou, W., Wang, Z., Zhu, S., Dong, L., Huang, W. and Dong, R. 2015, Biomass Measurement of Microalgae Cultivated under Photoautotrophic Conditions for Biofuels, Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects, 37: 47–54.

32- Iqbal, M. and Zafar, S. 1993, Effects of Photon Flux Density, CO2, Aeration Rate, and Inoculum Density on Growth and Extracellular Polysaccharide Production by *Porphyridium cruentum*, Folia Microbiologica, 38: 9–14.

33- Katircioglu, H., Beyatli, Y., Aslim, B., Yuksekdag, Z. and Atici, T. 2006, Screening for Antimicrobial Agent Production in Fresh Water, The Internet Journal of Microbiology, 2 (2): 1-5.

34- Lee, R.E. 2008, phycology, fourth edition, Cambridge university press 4th edition, 561 P.

35- Lin, L., Guanpin, Y., Baohua, Z. and Kehou, P. 2017, A Comparative Study on Three Quantitating Methods of Microalgal Biomass, Indian Journal of Geo Marine Sciences, 46 (11): 65-72.

36- Liu, C., Jin, X. and Sun, L. 2005, Effects of pH Oil Growth and Species Changes of Algae in Freshwater, Journal of Agro-Environment Science, 24 (2): 94-98.

37- Lopes, E.J., Scoparo, C.H., Lacerda, L.M. and France, T.T. 2008, Effect of Light Cycles (Night/Day) on CO2 Fixation and Biomass Production by Microalgae in Photobioreactors. Chemical Engineering and Processing, 4 (3):1-5.

38- Mohammed, M. and Mohd, M. 2011, Production of Carotenoids (Antioxidants/ Colournt) in *Spirulinain response* to Indoleacetic Acid (IAA), International Journal of Engineering Science and Technology, 3 (6): 21-29.

39- Munir, N., Imtiaz, A., Sharif, N. and Naz, S. 2015, Optimization of Growth Conditions of Different Algal Strains and Determination of their Lipid Contents, The Journal of Animal & Plant Sciences, 25 (2): 46-53.

40- Mustapa, M., Sallehudin, N.J., Shamzi Mohamed, M., Mohammad Noor, N. and Ahmad Raus, R. 2016, Decontamination of *Chlorella sp.* Culture using Antibiotics and Antifungal Cocktail Treatment, Journal of Engineering and Applied Sciences, 11 (1): 104-109.

41- 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.

42- Naeimi, M. and Zehtabian, G.R. 2011, Review of Saline Water in Desert Management, International Journal of Environmental Science and Development, 2 (6): 474-478.

43- Ogbonda, K.H., Aminigo, R.E. and Abu, G.O. 2007, Influence of Temperature and pH on Biomass Production and Protein Biosynthesis in a Putative *Spirulina* sp., Bioresource Technology, 98 (11): 7-11.

44- Pulz, O. and Gross, W. 2004, Valuable Products from Biotechnology of Microalgae, Applied Microbiology and Biotechnology, 65 (6): 35-48.

45- Qasmi, M.A., Raut, N., Talebi, S., Rajhi, S.A. and Barwani, T.A. 2012, A Review of Effect of Light on Microalgae Growth, World Congress on Engineering, 1: 8-10.

46- Richmond, A. 2004, Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and applied phycology, Blackwell, Oxford. 566P.

47- Sajilata, M.G., Singhal, R.S. and Kamat, M.Y. 2008, Fractionation of Lipids and Purification of Y-Linolenic Acid (GLA) from *Spirulina platensis*, Food Chemistry, 109 (3): 80-86.

48- Saleh, A.M., Dhar, D.W. and Singh, K. 2011, Comparative Pigment Profiles of Different Spirulina Strains, Research in Biotechnology, 2 (2): 67-74.

49- Sumanta, N., Imranul Haque, C., Nishika, J. and Suprakash, R. 2014, Spectrophotometric Analysis of Chlorophylls and Carotenoids from Commonly Grown Fern Species by Using Various Extracting Solvents, Research Journal of Chemical Sciences, 4 (9): 63-69.

50- Tingting, R. 2014, Primary Factors Affecting Growth of Microalgae Optimal Light Exposure Duration and Frequency, Graduate Theses and Dissertations.

51- White, L.H., Martin, D.W., Witt, K.K. and Vogt, F. 2014, Impacts of Nutrient Competition on Microalgae Biomass Production, Journal of Chemometrics, 28 (4): 448-461.

52- Wong, Y.K., Ho, Y.H., Ho, K.C., Leung, H.M. and Yung, K.K.L. 2017, Growth Medium Screening for *Chlorella vulgaris* Growth and Lipid Production, Journal of Aquaculture & Marine Biology, 6 (1): 1-10.

53- Visviki, I. and Santikul, D. 2000, The pH Tolerance of *Chlamydomonas applanata* (Volvocales, Chlorophyta), Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 38: 147-151.

54- Zang, C., Huang, S. and Wu, M. 2011, Comparison of Relationships Between pH, Dissolved Oxygen and Chlorophyll a for Aquaculture and Nonaquaculture Waters, Water Air and Soil Pollution, 219 (4): 157-174.

55- Zhu, M., Zhou, P.P. and Yu, L.J. 2002, Extraction of Lipids from *Mortierella alpina* and Enrichment of Arachidonic Acid from the Fungal Lipids, Bioresource Technology, 84: 93-95.

Optimization of the growth conditions of some of the most important microalgae purified from Bazangan Lake and evaluation of their chlorophyll and carotenoids content

Khosravinia S., Bagheri A., Malekzadeh S. and Moshtaghi N.

Dept. of Biotechnology and Plant Breeding, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R. of Iran.

Abstract

Microalgae are known as a potentially sustainable source of feedstock for fuel, food, chemicals, feeding animals and even for the pharmaceutical industries. In this project, the effects of mediums including (F2, Walne, BG11, BBM and TAP), pH (6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 and 9.0) and light intensity (at five levels: 2000, 2700, 3300, 4500 and 7800 Lux) on growth of microalgae purified from Bazangan lake were studied. The Microalgae growth was determined by measuring dry weight and specific growth rate. Also, chlorophyll and carotenoid content were estimated using the standard biochemical methods in optimal codition. The results showed that in *Tetraselmis sp*., *Nodularia sp*., *Chlamydomonas sp*. and *Chlorella sp*. microalgae, the highest growth rate was observed in F_2 (0.51 gL^{-1}), Waln (0.40 gL^{-1}), TAP (0.48 gL^{-1}) and BG11 (0.55 gL^{-1}) medium, respectively. Also, the optimum pH and light intensity for growth of the microalgae was 7.5 and 4500 Lux respectively. The highest chlorophyll and carotenoid content was obtained in *Chlorella sp*. with 39.9 and 23.3 µg/ml respectively.

Key words: Bazangan Lake, Microalgae, Growth optimization, Chlorophyll, Carotenoid.