فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال چهارم، شماره ۱۴، تابستان ۱۳۹۴، صفحه ۴۹- ۶۰
تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۲۳ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۲/۳۱

بررسی شرایط بهینه رشد و ارزش غذایی دو ریزجلبک بومی، *هماتوکوکوس* و *دسمودسموس کوناتئوس* در محیط‌های کشت مختلف

مهدی نادری فارسانی *: کارشناس ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ایران، me.nf1987@yahoo.com
سعید مشکینی: استادیار بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ایران، s.meshkiniy@yahoo.com
رامین مناف فر: استادیار بیوتکنولوژی آبزیان، پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه، دانشگاه ارومیه، ایران، raminmanaffar@gmail.com

چکیده

مقدمه: تعیین بهینه شرایط کشت یک جلبک تک سلولی با استفاده از محیط‌های کشت ضروری از مهم‌ترین ملزومات کشت صنعتی یک جلبک است. دو ریزجلبک *هماتوکوکوس* و *دسمودسموس کوناتئوس* جزو ریزجلبک‌های مهم آب شیرین با کاربرد صنعتی بالا هستند که به تازگی از آب‌های داخلی استان آذربایجان غربی جداسازی شدند.

مواد و روش‌ها: به منظور تعیین بهترین محیط کشت برای این دو گونه تأثیر پنج محیط کشت مختلف (BM، RM، OHM، BBM و CHU) بر رشد، محتوای اسید چرب و پروتئین این دو گونه در یک دوره ۱۲ روزه بررسی شد. برای تعیین نرخ رشد، تراکم سلولی و زمان دو برابر شدن جمعیت ریزجلبکی، شمارش جلبک‌ها به شکل روزانه و با استفاده از لام هموسیتومتری انجام گرفت. در مرحله سکون ریزجلبک‌ها به منظور تعیین میزان اسیدهای چرب و پروتئین برداشت شدند.

نتایج: نتایج این پژوهش بالاترین میزان تراکم سلولی ($۱۰^{۵}$×۰/۶۸ ± ۱۸/۹ سلول در میلی‌لیتر) و میزان رشد ویژه (۰/۰۶ ± ۰/۱۶ در روز) را در ریزجلبک *هماتوکوکوس* در محیط کشت OHM نشان داد. این بررسی نشان داد بیشینه تراکم سلولی ($۱۰^{۵}$×۱/۱۱ ± ۲۱/۳۱ سلول در میلی‌لیتر) و بالاترین میزان رشد ویژه (۰/۰۶ ± ۰/۱۷ در روز) *دسمودسموس کوناتئوس* در محیط کشت RM حاصل می‌شود. علاوه بر این بیش‌ترین میزان اسیدهای چرب چند غیراشباع و n−3/ n−6 در هر دو ریز جلبک در محیط کشت BBM به دست آمد.

بحث و نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به دست آمده، بین ارزش غذایی ریزجلبک از نظر محتوای اسیدهای چرب و میزان رشد ارتباط چندانی مشاهده نشد و به نظر می‌رسد مسیر مکانیسم رشد جلبک‌ها در تعادل با ارزش غذایی آن‌ها نیست و مطالعات بیشتری در این زمینه لازم است. هرچند با استفاده از محیط کشت BBM برای این دو ریز جلبک می‌توان به نرخ رشد کمابیش مناسب و ارزش غذایی کافی دست پیدا کرد.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب، پروتئین، *دسمودسموس کوناتئوس*، میزان رشد ویژه، *هماتوکوکوس*

---

* نویسنده مسؤول مکاتبات

مقدمه

ریزجلبک‌ها موجودات میکروسکوپی هستند که به طور گسترده در آب‌های شیرین و شور یافت می‌شوند (۱ و ۲). تعدادی از این میکرواگارنیسم‌ها به علت دارا بودن ترکیبات بدنی ارزشمند همانند: اسیدهای چرب، پروتئین، ویتامین و آنتی‌اکسیدان‌ها به طور گسترده مطالعه و کشت صنعتی می‌شوند (۳ و ۴). این موجودات در آبزی‌پروری و در سال‌های اخیر در صنایع غذایی (بیسکویت، ماکارونی و رنگدانه‌های غذایی)، دارویی (اسیدهای چرب ضروری و آنتی‌اکسیدان‌ها) و انرژی (تولید سوخت زیستی) کاربرد فراوانی یافته‌اند (۵ و ۶). رشد، فیزیولوژی و ارزش غذایی ریز جلبک‌ها تحت تأثیر عامل‌های متفاوت بیوتیک و غیر بیوتیک از جمله محیط کشت قرار دارد. اختلاف در تعیین ریز و درشت مغذی‌های محیط‌های کشت، تفاوت در میزان رشد، وضعیت بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی ریزجلبک‌ها را به همراه دارد (۷). پژوهشگران زیادی گزارش داده‌اند که ارتباط زیادی بین مواد مغذی مورد استفاده در محیط‌های کشت و ارزش غذایی ریزجلبک‌ها وجود دارد (۸ و ۹). از این‌رو در مقیاس تجاری به منظور دست‌یابی به بالاترین میزان بیومس و بهبود ارزش غذایی، استفاده از محیط‌های کشت با ترکیبات مناسب ضروری است. در سال‌های اخیر مطالعات گسترده‌ای به منظور بهبود محیط‌های کشت برای پرورش ریزجلبک‌ها انجام شده است (۷، ۸ و ۱۰). تأمین این ریزمغذی‌ها در محیط‌های کشت بیشتر بر اساس نیازمندی‌های جلبک‌ها و تحلیل زیستگاه طبیعی آن‌ها انجام می‌شود. *هماتوکوکوس* و *دسمودسموس کوناتئوس* دو گونه مورد مطالعه از جمله جلبک‌های بسیار مهم و کاربردی در آبزی‌پروری و صنایع مختلف هستند که پتانسیل خوبی برای پرورش با اهداف یاد شده دارند. اگرچه پرورش این جلبک‌ها با معایب و مشکلاتی نیز همراه است. یکی از مشکلات اصلی پرورش این دو ریزجلبک به ویژه *هماتوکوکوس* نرخ رشد پایین آن است که در سال‌های اخیر چندین مطالعه در این زمینه انجام شده است که می‌توان به مطالعات فابرگاس[1] و همکاران در سال ۲۰۰۰ (۸) و گوکسان[2] و همکاران در سال ۲۰۱۱ اشاره کرد (۱۰). *هماتوکوکوس*[3] یک ریزجلبک تک‌سلولی تاژک‌دار متحرک و ساکن آب‌های شیرین است. این ریزجلبک به علت تولید بالای آستاگزانتین از مشهورترین جلبک‌های تجاری محسوب می‌شود و به عنوان رنگدانه‌های غذایی در جیره غذایی آبزیان استفاده می‌شود (۱۱).

ریزجلبک *دسمودسموس*[4] از شاخه کلروفیتا[5] و معمولا به شکل یک کلونی مسطح (۸- ۲ سلول و گاهی بیشتر) درآب‌های شیرین دیده می‌شود. این ریزجلبک در زنجیره غذایی و در تغذیه زئوپلانکتون‌ها و ماهی‌ها اهمیت دارد همچنین از این ریزجلبک به عنوان شاخص زیستی در خود پالایی سیستم‌های آبی استفاده می‌شود (۱۲ و ۱۳). هدف از این پژوهش، تأثیر پنج محیط کشت مختلف: RM, BM, CHU, BBM ,OHM بر رشد و وضعیت اسیدهای چرب دو گونه از ریزجلبک‌های آب شیرین *هماتوکوکوس* و *دسمودسموس کوناتئوس* و در نهایت، انتخاب بهترین محیط کشت برای پرورش این ریز جلبک‌هاست.

مواد و روش‌ها

دو ریزجلبک *هماتوکوکوس* و *دسمودسموس* از بانک جلبکی بخش آرتمیا و آبزیان پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه دانشگاه ارومیه تهیه شد. این دو

ریز جلبک به تازگی از منابع آبی استان جداسازی و به شکل خالص کشت داده شده بود. نمونه‌های جلبکی در ارلن مایرهای ۵۰۰ میلی‌لیتری و در شرایط استریل در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و شدت نور مداوم ۱۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه، که توسط لامپ فلورسنت ایجاد شده بود در اسیدیته برابر ۷/۵ در محیط کشت BM کشت داده شد. سلول‌ها در مرحله رشد تصاعدی سانتریفیوژ شده و با تراکم اولیه $۳/۲\times۱۰^{۵}$ سلول در هر میلی‌لیتر به محیط‌های کشت مورد نظر انتقال یافت. دوره آزمایش ۱۲ روز در نظر گرفته شد. شمارش جلبک‌ها به شکل روزانه و با استفاده از لام هموسیتومتری و با روش پیشنهادی مارتینز[۶] و همکاران در سال ۱۹۷۵ انجام شد (۱۴). میزان رشد ویژه[۷] و زمان دو برابر شدن جمعیت جلبک‌ها[۸] با استفاده از رابطه‌های ذیل محاسبه شد:

$$SGR = \ln (N(t) / N_0)\, \Delta t^{-1} \quad (۱۵)$$

$$DT = log_e^2 / SGR \quad (۱۶)$$

که در آن، N تعداد جلبک در انتهای آزمایش، N_0 تعداد جلبک در شروع آزمایش و Δt مدت زمان انجام آزمایش است. ارزش غذایی و مواد مغذی محیط‌های کشت مورد آزمایش در این مطالعه شامل: (۱۷) BBM، (۱۸) BM، (۸) OHM، (۱۹) CHU و (۷) RM وضعیت هریک از محیط‌های کشت در جدول ۱ نشان داده شده است. برای ساخت هر محیط کشت به این شکل عمل شد که ابتدا یک محلول ذخیره از نمک‌های زیر برای هر محیط کشت تهیه شد؛ به این ترتیب که مقادیر مندرج در جدول زیر، پس از توزین در ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده، سپس، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده به ۴۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر انتقال داده شد تا محیط کشت نهایی آماده شود (در محیط‌های کشتی که حاوی ویتامین بودند، ویتامین بعد از اتوکلاو به محیط کشت اضافه شد).

بررسی اسیدهای چرب نمونه‌های جلبکی: برای آماده‌سازی نمونه‌ها برای تحلیل اسیدهای چرب از روش متیل استریفیکاسیون مستقیم استفاده شد (۲۰). در این روش از هر نمونه جلبک در مرحله رشد تصاعدی مقداری برداشت و با سرعت ۵۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. نمونه‌ها به منظور به حداقل رساندن تغییرات تا زمان استفاده، در منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس، ۰/۵گرم از بیومس تر از نمونه جلبکی در لوله‌های شیشه‌ای درب‌دار مخصوص ریخته، به هر کدام از آن‌ها پنج میلی‌لیتر محلول متانول/ تولوئن (با نسبت حجمی ۲:۳) و ۰/۱ میلی‌لیتر محلول استاندارد داخلی (حاوی اسید چرب (۶ -n)۲:۲۲ حل شده در ایزواکتان) اضافه شد. سپس، پنج میلی‌لیتر مخلوط تازه تهیه شده استیل کلراید/ متانول (با نسبت حجمی ۱:۲۰) به عنوان عامل استریفیکاسیون اضافه شد. درب ظروف محکم بسته و مواد مخلوط شد و در حمام آبی ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه جوشانده و هر ۱۰ دقیقه یک‌بار تکان داده شد. بعد از اینکه لوله‌ها سرد شدند به هر یک پنج میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر شده و پنج میلی‌لیتر هگزان اضافه شد. لوله‌ها به مدت پنج دقیقه با دور ۳۰۰۰g سانتریفیوژ شده و فاز بالایی به لوله‌های جدید منتقل شد. در نهایت، از طریق فیلتر سولفات سدیم آب‌گیری و به بالن‌های گلابی شکل انتقال داده و توسط روتاتور در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد. سپس، در ۰/۵میلی لیتر ایزواکتان حل، به شیشه‌های کوچکی انتقال داده و تا زمان تزریق در فریزر نگهداری شد.

جدول ۱- وضعیت مواد مغذی در محیط‌های کشت مختلف

مواد تشکیل دهنده (میلی گرم در لیتر)	RM	BM	CHU	BBM	OHM
KNO_3		۱۰۰			۴۱۰
$NaHCO_3$			۱۲/۶		
$NaNO_3$	۳۰۰		۸/۵	۲۵۰	
Na_2HPO_4					۳۰
K_2HPO_4	۲۰		۸/۷	۷۵	
KH_2PO_4				۱۷۵	
$MgSO_4 .7H_2O$	۱۰	۴۰	۳۶/۹	۷۵	۲۴۶/۵
$Cl_2Ca .2H_2O$	۵۸/۵		۳۶/۷	۲۵	۱۱۰/۹
$FeC_6H_5O_7 .5H_2O$			۳۳/۵		۲/۶۲
$FeSO_4 .7H_2O$				۴/۹۸	
$Cl_2Co .6H_2O$		/۰۱۱۰	۰/۰۲		۰/۰۱۱
$Co(NO_3)_2 .6H_2O$	۰/۲۶			۰/۴۹	
$CuSO_4 .5H_2O$	۰/۰۸		۰/۰۲	۱/۵۷	۰/۰۱۲
Cr_2O_3					۰/۰۷۶
$MnCl_2 .4H_2O$		۰/۱۰۸	۰/۰۱۲۶	۱/۴۴	۰/۹۸۹
$Na_2MoO_4 .2H_2O$		۰/۰۰۷۵	۰/۰۱۲۶		۰/۱۲
MoO_3				۰/۷۱	
SeO_2					۰/۰۰۵
H_3BO_3	۰/۳		۰/۶۲	۱۱/۴۲	
$ZnSO_4 .7H_2O$	۰/۱	۰/۰۶۶	۰/۰۴۴	۸/۸۲	
$Na_2SiO_3.9H_2O$			۲۸/۴		
KOH				۳۱	
$MnSO_4.H_2O$	۱/۵				
NaCl	۲۰			۲۵	
$(NH_4)6MO_7O_{24}.4H_2O$	۰/۳				
$C_6H_8O_7.7H_20$	۱۷				
$FeCl_3.6H_2O$		۵/۸۸			
$Ca(NO_3)_24H_2O$		۱۵۰			
β-Na_2 glycerophosphate		۵۰			
EDTA-Na2		۲/۲۷			
EDTA	۷/۵				
Biotin		۰/۱			۰/۰۲۵
Thiamine					۰/۱۷۵
B12					۰/۰۱۵
Thiamine-HCL		۰/۰۱			
Trisaminomethane		۰/۵			

بررسی و شناسایی اسیدهای چرب موجود در نمونه با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل ۷۸۹۰ Agilent- ساخت آمریکا مجهز به دتکتور FID و ستون کاپیلاری [۹] انجام شد. نیم میکرولیتر از نمونه استری با استفاده ازسرنگ میکرولیتری به دستگاه گاز کروماتوگرافی تزریق شد (دمای شروع ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، دمای پایانی ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه) شناسایی اسیدهای چرب در نمونه‌ها با تزریق محلول استاندارد اسیدهای چرب و مقایسه منحنی‌های رسم شده برای هر اسید چرب بر اساس زمان بازداری آن‌ها انجام گرفت. در نهایت، مقادیر اسید چرب به شکل درصد سطح زیر پیک از کل بیان شد.

استخراج پروتئین: استخراج پروتئین کل بر اساس روش مجیر و ویجفلس [۱۰] در سال ۱۹۹۸ انجام شد (۲۱). بدین منظور ۱۰۰ میلی‌گرم از جلبک‌های پرورش یافته وزن، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵۰۰ دور سانتریفیوژ، با ۲۵ میلی‌لیتر بافر فسفات شستشو و سپس به ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات با ۱ درصد SDS منتقل شد. تخریب سلول‌ها نیز با استفاده از سونیکاتور بر روی یخ به مدت ۱۲۰ انجام شد. تعیین میزان پروتئین‌ها به روش برادفورد [۱۱] در سال ۱۹۷۶و با استفاده از سرم آلبومن بووین [۱۲] انجام شد (۲۲).

نتایج

یافته‌های این پژوهش نشان داد که میزان رشد دو ریزجلبک *دسمودسموس کوناتئوس* و *هماتوکوکوس* در پنج محیط کشت مختلف در یک دوره ۱۲ روزه اختلاف معناداری را نشان می‌دهند (*P value*>۰/۰۵).

ریزجلبک *هماتوکوکوس* بیش‌ترین میزان بیشینه ($۱۰^{۵}$×۰/۶۸ ± ۱۸/۹۰ سلول در هر میلی‌لیتر) و کم‌ترین میزان بیشینه تراکم سلولی (۱۰/۹۰±۰/۹۲ سلول در هر میلی‌لیتر) را به ترتیب در محیط کشت OHM و CHU نشان داد (شکل ۱). از سوی دیگر بیش‌ترین میزان رشد ویژه (۰/۰۶ ± ۰/۱۶ در روز) و کوتاه‌ترین زمان دو برابر شدن (۰/۶۶± ۴/۳۳ در روز) جمعیت در روز، در محیط کشت OHM به دست آمد (جدول ۲). برای ریز جلبک *دسمودسموس کوناتئوس* بیشینه میانگین تراکم سلولی ($۱۰^{۵}$×۱/۱۱ ± ۲۱/۳۱ سلول در هر میلی‌لیتر) و بیش‌ترین نرخ رشد ویژه (۰/۰۶۱± ۰/۱۷ در روز) در محیط کشت RM و بیش‌ترین زمان دو برابر شدن جمعیت جلبکی در محیط کشت CHU (۰/۶۱±۵/۵۰ در روز) مشاهده شد (جدول ۳ و شکل ۲).

جدول ۲- میانگین تراکم سلولی، میزان رشد ویژه و زمان دو برابر شدن جمعیت ریزجلبک *هماتوکوکوس* کشت داده شده در محیط‌های کشت مختلف

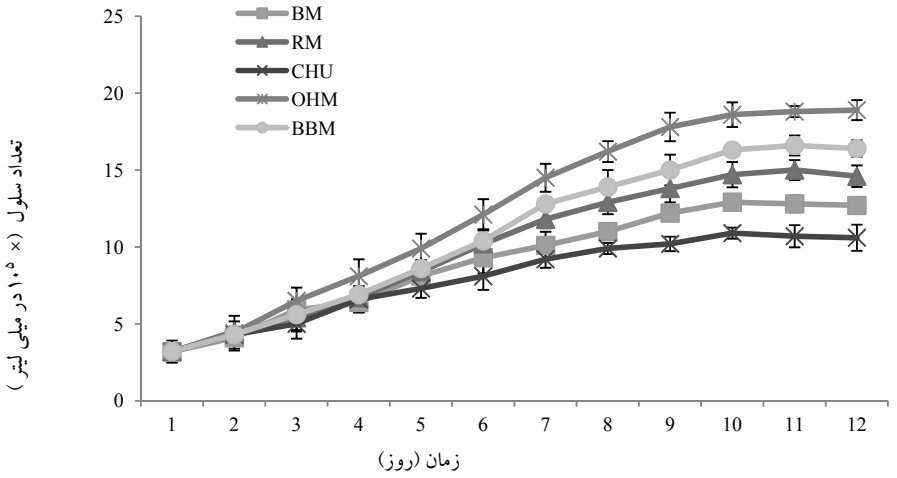
محیط‌های کشت	حداکثر تراکم سلولی (تعداد سلول در هر میلی‌لیتر×$۱۰^{۵}$)	نرخ رشد ویژه (در روز)	زمان دو برابر شدن (در روز)
OHM	^{a}۰/۶۸ ± ۱۸/۹	^{a}۰/۰۶ ± ۰/۱۶	^{c}۰/۶۶ ± ۴/۳۳
BM	^{c}۱/۰۱ ± ۱۲/۹۱	^{c}۰/۰۹ ± ۰/۱۲	^{ab}۰/۳۱ ± ۵/۷۷
CHU	^{d}۰/۹۲ ± ۱۰/۹۰	^{d}۰/۰۵ ± ۰/۱۰	^{a}۰/۹۷ ± ۶/۹۳
BBM	^{b}۰/۸۶ ± ۱۶/۶	^{b}۰/۰۷ ± ۰/۱۴	^{bc}۰/۵۷ ± ۴/۹۵
RM	^{b}۰/۴۷ ± ۱۵/۰۰	^{ab}۰/۰۶ ± ۰/۱۵	^{bc}۰/۶۱ ± ۴/۶۲

حروف یکسان در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنادار است (*P value* >۰/۰۵).

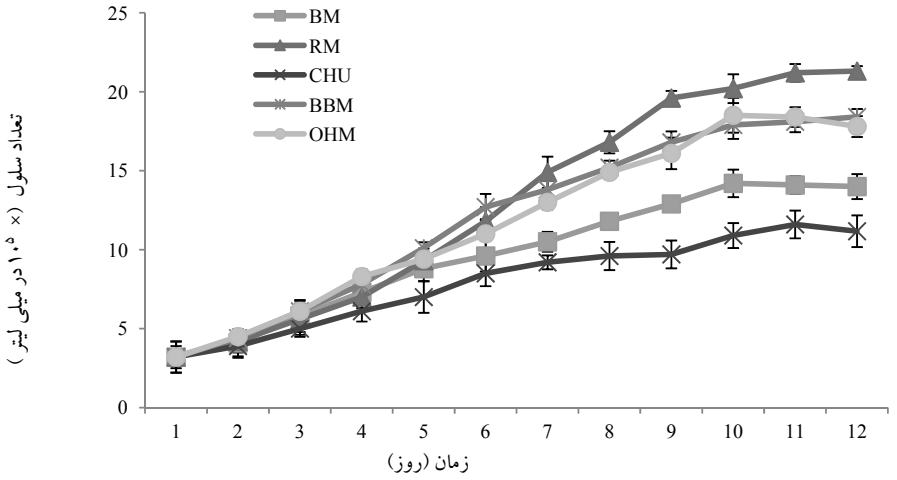
جدول ۳- میانگین تراکم سلولی، میزان رشد ویژه و زمان دو برابر شدن جمعیت ریزجلبک *دسمودسموس کوناتئوس* کشت داده شده در محیط‌های کشت مختلف

محیط‌های کشت	حداکثر تراکم سلولی (تعداد سلول در هر میلی‌لیتر×۱۰^۵)	نرخ رشد ویژه (در روز)	زمان دو برابر شدن (در روز)
OHM	۱۸/۵۰/۱۲ ± ۰/۷۱ [b]	۰/۱۶ ± ۰/۰۹ [a]	۰/۷۲ ± ۴/۲۲ [ab]
BM	۱۴/۵۰ ± ۰/۷۸ [c]	۰/۱۳ ± ۰/۰۶ [b]	۰/۳۳ ± ۵/ ۲۱ [ab]
CHU	۱۲/۱۷ ± ۰/۷۵ [c]	۰/۱۲ ± ۰/۰۵ [b]	۰/۶۱ ± ۵/۵۰ [a]
BBM	۱۸/۴۱ ± ۰/۸۶ [b]	۰/۱۵ ± ۰/۰۷ [ab]	۰/۵ ± ۴/۵۶ [ab]
RM	۲۱/۳۱ ± ۱/۱۱ [a]	۰/۱۷ ± ۰/۰۶ [a]	۳/۸۹ ± ۰/۴۵ [b]

حروف یکسان در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنادار است (*P value* >۰/۰۵).



شکل ۱- تأثیر محیط‌های کشت مختلف بر تراکم سلولی *هماتوکوکوس* در روزهای مختلف



شکل ۲- تأثیر محیط‌های کشت مختلف بر تراکم سلولی *دسمودسموس کوناتئوس* در روزهای مختلف

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای مختلف محیط کشت بر محتوای اسیدهای چرب ریزجلبک *هماتوکوکوس* نشان داد که محیط‌های کشت مختلف موجب اختلاف معناداری در محتوای اسیدهای چرب اشباع[۱۳]، اسیدهای چرب تک غیراشباع[۱۴] و اسیدهای چرب چند غیراشباع[۱۵] می‌شود. بالاترین میزان اسیدهای چرب اشباع (۲۹/۴۰±۰/۹۷) در محیط کشت CHU، کم‌ترین میزان در تیمارهای OHM (۲۱/۷۶±۰/۷۶ ۲۲ درصد) و BBM (۰/۶۶ ± ۲۲/۴۷ درصد) بود (جدول ۴). علاوه بر این، بالاترین درصد اسیدهای چرب تک غیراشباع (۰/۴۶ ± ۲۳/۷۸ درصد) و اسیدهای چرب چند غیراشباع (۱/۱۲ ± ۲۸/۷۳ درصد) زمانی حاصل شد که به ترتیب محیط‌های کشت BM و BBM استفاده شد. همچنین محیط کشت BBM بالاترین نرخ n–3/ n–6 (۰/۴۹ ± ۲/۲۱) را نشان داد (جدول ۴).

جدول ۴- درصد کل اسیدهای چرب جلبک تک سلولی *هماتوکوکوس* در محیط‌های کشت مختلف

Fatty acid	BBM	RM	CHU	BM	OHM
C۱۴:۰	۰/۷۱ ± ۰/۱۸^{ab}	۰/۵۱ ± ۰/۰۳^{b}	۰/۴۸ ± ۰/۱۴^{b}	۱/۱۴ ± ۰/۰۱^{a}	۰/۴۷ ± ۰/۱۲^{b}
C۱۶:۰	۱۸/۳ ± ۱/۳۹^{d}	۲۲/۱۱ ± ۰/۲۲^{c}	۲۶/۴ ± ۰/۳۹^{a}	۲۴/۵۱ ± ۰/۴۲^{a}	۱۷/۸ ± ۰/۲۱^{d}
C۱۸:۰	۱/۱۲ ± ۰/۲۳^{a}	۲/۱۸ ± ۰/۴۰^{a}	۱/۸۶ ± ۰/۱۴^{a}	۱/۹۱ ± ۰/۰۶^{a}	۱/۶۸ ±۰/۰۴^{a}
C۲۰:۰	۰/۷۱ ± ۰/۰۴^{a}	۰/۱۵ ± ۰/۰۴^{b}	۰/۱۵ ± .۰/۰۳^{b}	۰/۱ ± ۰/۰۲^{c}	۰/۷۲ ± ۰/۰۶^{a}
C۲۲:۰	۰/۴۸ ± ۰/۰۷^{b}	۰/۱۶ ± ۰/۰۳^{d}	۰/۱۴ ± ۰/۱۴^{d}	۰/۲۳ ± ۰/۰۷^{c}	۰/۸۸ ±۰/۵۱^{a}
C۲۴:۰	۱/۱۵ ± ۰/۴۲^{a}	۰/۴۳ ± ۰/۱۷^{c}	۰/۳۷ ± ۰/۰۳^{c}	۰/۱۲ ± ۰/۰۷^{d}	۰/۶۶ ± ۰/۲۷^{b}
C۱۴:۱ (n-۵)	۱/۶۱ ± ۰/۶۲^{b}	۱/۱۴ ± ۰/۱۶^{b}	۱/۲۲ ± ۰/۱۷^{b}	۲/۳۸ ± ۰/۵۲^{a}	۰/۸۶ ± ۰/۳۶^{b}
C۱۶:۱ (n-۷)	۰/۷۶ ± ۰/۱۷^{b}	۰/۶۵ ± ۰/۱۰^{b}	۰/۶۴ ± ۰/۰۲^{b}	۱/۹۹ ± ۰/۶۹^{a}	۰/۴۳ ± ۰/۱۷^{b}
C۱۸:۱ (n-۹)	۷/۳۲ ±۱/۰۸^{a}	۸/۳۵ ± ۳/۱۴^{a}	۸/۱۶ ± ۰/۰۸^{a}	۷/۵۱ ±۱/۱^{a}	۴/۸۶ ± ۰/۸۱^{b}
C۱۸:۱ (n-۷)	۹/۶۹ ± ۱/۲۴^{c}	۹/۰۷ ± ۱/۱۹^{c}	۱۲/۸۵ ± ۱/۴۷^{ab}	۱۱/۵۹ ± ۱/۷۷^{b}	۱۴/۱۲ ±۲/۵۶^{a}
C۲۰:۱ (n-۹)	۰/۲۳ ± ۰/۰۲^{b}	۰/۱۶ ± ۰/۰۶^{b}	۰/۱ ± ۰/۰۴^{b}	۰/۲۱ ± ۰/۰۵^{b}	۱/۲۴ ±.۰/۰۹^{a}
C۲۲:۱ (n-۹)	nd	nd	nd	nd	nd
C۲۴:۱ (n-۹)	۰/۳ ± ۰/۰۴^{a}	۰/۲۴ ±۰/۷۷^{b}	۰/۰۸ ± ۰/۰۲^{c}	۰/۱ ± ۰/۰۵^{c}	۰/۳۳ ± ۰/۰۳^{a}
C۱۸:۲ (n-۶)	۸/۹۰ ± ۰/۷۴^{b}	۱۱/۰۶ ± ۱/۲۶^{c}	۷/۱۲ ± ۰/۰۸^{c}	۷/۵ ± ۰/۴۶^{c}	۱۴/۲ ± ۱/۳^{a}
C۱۸:۳ (n-۳)	۱۶/۰۴ ± ۰/۶^{a}	۱۲/۸۳ ± ۲/۸۶^{b}	۱۰/۸۵ ± ۰/۲۳^{c}	۱۱/۲۱ ± ۰/۳^{c}	۱۰/۸۳ ± ۱/۵۴^{c}
C۲۰:۲ (n-۶)	nd	nd	nd	nd	nd
C۲۰:۴ (n-۶)	nd	nd	nd	nd	nd
C۲۰:۳ (n-۳)	۱/۲۵ ±۰/۰۷^{a}	۰/۱۹ ± ۰/۰۴^{b}	۰/۱۳ ± ۰/۰۷^{b}	۰/۲۸ ± ۰/۰۹^{b}	۰/۸۶ ± ۰/۳۴^{ab}
C۲۰:۵ (n-۳)	۱/۵۰ ± ۰/۰۷^{a}	۱/۲۵ ± ۰/۳۶^{a}	۰/۳۱ ±۰/۰۷^{b}	۰/۰۹ ± ۰/۰۹^{b}	۰/۶۶ ± ۰/۲۸^{ab}
C۲۲:۶ (n-۳)	۱/۰۴ ±۰/۰۶^{a}	۰/۸۲ ± ۰/۰۱^{b}	۰/۱۶ ± ۰/۰۲^{cd}	۰/۱۳ ± ۰/۰۵^{d}	۰/۱۸ ± ۰/۰۹^{c}
∑ SAF	۲۲/۴۷ ± ۰/۶۶^{d}	۲۵/۵۴ ± ۱/۲۲^{c}	۲۹/۴۰± ۰/۹۷^{a}	۲۸/۰۱ ± ۱/۰۶^{b}	۲۲/۲۱ ± ۰/۷۶^{d}
∑ MUFA	۱۹/۹۱ ± ۱/۱۱^{c}	۱۹/۶۱ ± ۰/۸۲^{c}	۲۳/۰۵ ± ۰/۳۳^{ab}	۲۳/۷۸ ± ۰/۴۶^{a}	۲۱/۸۴ ± ۰/۶۶^{b}
∑ PUFA	۲۸/۷۳ ± ۱/۱۲^{a}	۲۶/۱۵ ± ۰/۷۶^{b}	۱۸/۵۷ ± ۰/۵۳^{d}	۱۹/۲۱ ± ۰/۹۶^{c}	۲۶/۷۳ ± ۰/۲۹^{b}
∑ n –۳/n –۶	۲/۲۱ ± ۰/۴۹^{a}	۱/۳۶ ± ۱/۱۱^{ab}	۱/۶۰ ± ۰/۳۳^{ab}	۱/۵۶±۰/۷۵^{ab}	۰/۸۸ ± ۰/۱۱^{b}

حروف یکسان در هر ردیف بیانگر عدم اختلاف معنادار است (*P value* >۰/۰۵).

بیشینه میانگین اسیدهای چرب اشباع (۱/۰۶ ± ۲۷/۰۲ درصد) در جلبک *دسمودسموس کوناتئوس* در تیمار BM مشاهده شد. این در حالی است که تیمار CHU (۰/۵۳ ± ۲۱/۷۱ درصد) و BM (۰/۹۶ ± ۲۱/۳۲ درصد) کم‌ترین میزان اسیدهای چرب چند غیراشباع را نشان دادند. از سوی دیگر بالاترین میزان اسیدهای چرب چند غیراشباع (۰/۷۶ ± ۲۶/۵۱ درصد) در محیط کشت BBM مشاهده شد. کم‌ترین و بیش‌ترین میزان اسیدهای چرب تک غیراشباع به ترتیب در تیمارهای OHM (۰/۶۶ ± ۱۹/۳۳ درصد) و CHU (۰/۳۳ ± ۲۲/۳۴ درصد) مشاهده شد. همچنین بالاترین نرخ n–3/ n–6 (۰/۵۵ ± ۲/۴۹ درصد) در تیمار BBM ثبت شد (جدول ۵).

جدول ۵- درصد کل اسیدهای چرب جلبک تک سلولی *دسمودسموس کوناتئوس* در محیط‌های کشت مختلف

Fatty acid	BBM	RM	CHU	BM	OHM
C۱۴:۰	۰/۴۵ ± ۰/۱۱^{ab}	۰/۳۶ ± ۰/۱۸^{abc}	۰/۴۸ ± ۰/۰۶^{a}	۰/۳۲ ± ۰/۰۹^{bc}	۰/۲۶ ± ۰/۰۸^{c}
C۱۶:۰	۱۸/۸۹ ± ۱/۴۲^{b}	۱۹/۱۲ ± ۱/۲۲^{b}	۲۳/۷۴ ± ۰/۹۰^{a}	۲۲/۸۱ ± ۰/۳۳^{a}	۱۹/۵۹ ± ۰/۲۰^{b}
C۱۸:۰	۱/۱۴ ± ۰/۱۲^{a}	۰/۹۲ ± ۱/۰۳^{a}	۰/۵۱ ± ۰/۰۶^{a}	۱/۱۶ ± ۰/۱۶^{a}	۰/۹۸ ±۰/۰۹^{a}
C۲۰:۰	۱/۴۸ ± ۰/۶۱^{a}	۱/۶۸ ± ۰/۶۸^{a}	۰/۲۴ ± ۰/۰۴^{b}	۰/۹۲ ± ۰/۰۷^{ab}	۱/۳۵ ± ۰/۳۷^{ab}
C۲۲:۰	۱/۶۶ ± ۱/۳۹^{b}	۳/۱۲ ± ۱/۱۴^{a}	۱/۴۱± ۰/۰۲^{b}	۱/۶۴ ± ۰/۱۳^{b}	۱/۲۱ ±۲/۱۵^{b}
C۲۴:۰	۰/۷۷ ± ۰/۳۴^{b}	۰/۶۴ ± ۰/۳۹^{b}	۰/۲۲ ± ۰/۲۲^{c}	۰/۱۷ ± ۰/۰۱^{c}	۱/۲۴ ± ۰/۱۴^{a}
C۱۴:۱ (n-۵)	۱/۷۹ ± ۰/۵۲^{ab}	۱/۴۰ ± ۰/۵۸^{b}	۲/۱۰ ± ۰/۰۱^{ab}	۲/۷۱ ± ۰/۰۶^{a}	۱/۴۱ ± ۰/۷۱^{b}
C۱۶:۱ (n-۷)	۰/۱۸ ± ۰/۰۶^{b}	۰/۳۶ ± ۰/۱۲^{b}	۱/۱۵ ± ۰/۰۳^{a}	۰/۵۱ ± ۰/۰۱^{b}	۰/۱۷ ± ۰/۰۳^{b}
C۱۸:۱ (n-۹)	۸/۶۴ ±۰/۰۲^{b}	۹/۹۹ ± ۰/۵۸^{a}	۸/۳۴ ± ۰/۴۰^{b}	۷/۹۰ ±۲/۴۲^{bc}	۶/۷۶ ± ۰/۵۸^{c}
C۱۸:۱ (n-۷)	۷/۹۹ ± ۰/۷۹^{b}	۷/۴۰ ± ۰/۷۱^{b}	۹/۴۵ ± ۰/۱۱^{a}	۹/۷۵ ± ۱/۱۰^{a}	۱۰/۱۲ ±۰/۷۹^{a}
C۲۰:۱ (n-۹)	۰/۷۴ ± ۰/۱۳^{ab}	۰/۵۲± ۰/۱۵^{cd}	۰/۷۹ ± ۰/۰۴^{a}	۰/۴۳ ± ۰/۰۳^{d}	۰/۶۴ ±.۰/۰۳^{bc}
C۲۲:۱ (n-۹)	nd	nd	nd	nd	nd
C۲۴:۱ (n-۹)	۰/۷۰ ± ۰/۰۵^{ab}	۰/۳۳ ±۰/۰۲^{b}	۰/۵۱ ± ۰/۰۲^{b}	۱/۰۳ ± ۰/۴۴^{a}	۰/۲۴ ± ۰/۰۹^{b}
C۱۸:۲ (n-۶)	۷/۵۹ ± ۰/۴۶^{b}	۸/۵۱ ± ۰/۲۳^{b}	۷/۵۰ ± ۰/۸۲^{b}	۸/۲۱ ± ۰/۸۶^{b}	۱۲/۲ ± ۰/۲۶^{a}
C۱۸:۳ (n-۳)	۱۵/۷۳ ± ۰/۴۶^{a}	۱۴/۱۲ ± ۰/۰۳^{a}	۱۳/۵۲ ± ۰/۲۳^{b}	۱۱/۵۱ ± ۰/۰۲^{b}	۱۰/۹۵ ± ۰/۷۴^{c}
C۲۰:۲ (n-۶)	nd	nd	nd	nd	nd
C۲۰:۴ (n-۶)	nd	nd	nd	nd	nd
C۲۰:۳ (n-۳)	۲/۰۳ ±۰/۷۸^{a}	۱/۴۸ ± ۰/۸۶^{b}	۰/۲۸ ± ۰/۰۲^{c}	۱/۲۹ ± ۰/۷۴^{bc}	۲/۳۲ ± ۰/۱۰^{a}
C۲۰:۵ (n-۳)	۰/۸۲ ± ۰/۱۹^{a}	۰/۳۴ ± ۰/۰۳^{b}	۰/۳۱ ± ۰/۰۷^{b}	۰/۱۴ ± ۰/۰۲^{b}	۰/۷۸ ± ۰/۰۸^{ab}
C۲۲:۶ (n-۳)	۰/۳۴ ±۰/۱۶^{b}	۰/۸۱ ± ۰/۰۱^{a}	۰/۱ ± ۰/۰۲^{b}	۰/۱۷ ± ۰/۰۷^{b}	۰/۱۶ ± ۰/۳۲^{b}
∑ SAF	۲۴/۳۹ ± ۰/۶۶^{b}	۲۵/۸۴ ± ۱/۲۲^{b}	۲۶/۵۹ ± ۰/۹۷^{a}	۲۷/۰۲ ± ۱/۰۶^{a}	۲۴/۶۳ ± ۰/۷۶^{b}
∑ MUFA	۲۰/۰۴ ± ۱/۱۰^{b}	۲۰/۰۰ ± ۰/۸۲^{b}	۲۲/۳۴ ± ۰/۳۳^{a}	۲۲/۳۳ ± ۰/۴۶^{a}	۱۹/۳۳ ± ۰/۶۶^{b}
∑ PUFA	۲۶/۵۱ ± ۱/۱۲^{a}	۲۵/۲۶ ± ۰/۷۶^{b}	۲۱/۷۱ ± ۰/۵۳^{c}	۲۱/۳۲ ± ۰/۹۶^{c}	۲۶/۴۱ ± ۰/۲۹^{ab}
∑ n –۳/n –۶	۲/۴۹ ± ۰/۷۵^{a}	۱/۹۶± ۰/۴۹^{a}	۱/۸۹ ± ۰/۷۸^{a}	۱/۵۶ ± ۰/۵۵^{a}	۱/۱۶± ۰/۶۹^{a}

حروف یکسان در هر ردیف بیانگر عدم اختلاف معنادار است (*P value* >۰/۰۵).

همان‌طور که در جدول ۶ مشاهده می‌شود میزان پروتئین دو ریز جلبک *هماتوکوکوس* و *دسمودسموس* در محیط‌های کشت مختلف اختلاف معناداری را نشان داد (P value <۰/۰۵). بیش‌ترین میزان پروتئین استخراج شده در *هماتوکوکوس* و *دسمودسموس* به ترتیب درمحیط کشت OHM (۰/۰۲ ± ۳۵/۲۱ درصد) و BBM (۰/۱۲±۲۷/۲۳ درصد) بود. این در حالی است که محیط کشت CHU کم‌ترین میزان پروتئین را در هر *هماتوکوکوس* (۰/۰۱±۲۰/۱۵ درصد) و *دسمودسموس* (۰/۰۳±۱۴/۳۰ درصد) نشان داد.

جدول ۶- میزان پروتئین محلول استخراج شده (بر حسب درصد) در ریز جلبک *دسمودسموس کوناتئوس* در *هماتوکوکوس* در محیط‌های کشت مختلف (Mean ± SD)

محیط‌های کشت	*دسمودسموس کوناتئوس* (درصد پروتئین)	*هماتوکوکوس* (درصد پروتئین)
OHM	۲۲/۰۹ ± ۰/۱۱ [c]	۳۵/۲۱ ± ۰/۰۲ [a]
BM	۱۸/۱۶ ± ۰/۰۷ [d]	۲۱/۰۹ ± ۰/۰۶ [d]
CHU	۱۴/۳۰ ± ۰/۰۳ [e]	۲۰/۱۵ ± ۰/۰۱ [d]
BBM	۲۷/۲۳ ± ۰/۱۲ [a]	۳۲/۴۰ ± ۰/۰۴ [b]
RM	۲۴/۱۷ ± ۰/۰۲ [b]	۳۰/۲۱ ± ۰/۰۶ [c]

بحث و نتیجه‌گیری

تاکنون مطالعات گسترده‌ای به منظور بهبود میزان رشد ریزجلبک‌ها انجام گرفته شده است (۲۳ و ۲۴). میزان و نوع مواد مغذی جزو عواملی هستند که تأثیر زیادی بر میزان رشد دارد، با وجود این احتمالا به علت اختلافات جمعیتی و سویه‌ای گاهی نتایج مختلفی از میزان رشد و بقای یک گونه جلبک در محیط‌های کشت واحد حاصل شده است. فابرگاس و همکاران در سال ۲۰۰۰ گزارش داده اند که تراکم سلولی *هماتوکوکوس پلوویالیس*[۱۶] در محیط کشت OHM سه برابر بیشتر از تراکم سلولی به دست آمده در محیط کشت BBM است (۸). درحالی که دومینگز-بوکانگرا[۱۷] و همکاران در سال ۲۰۰۴ بالاترین نرخ رشد *هماتوکوکوس پلوویالیس* را در محیط کشت BBM گزارش کردند (۲۴). نتایج گزارش اخیر مطابق با یافته‌های ایمامگلو[۱۸] و همکاران در سال ۲۰۰۷ است که بالاترین نرخ رشد *هماتوکوکوس پلوویالیس* را در محیط کشت RM گزارش کرده‌اند (۷). یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که دو ریزجلبک *هماتوکوکوس* و *دسمودسموس کوناتئوس* در تیمارهای مختلف از محیط‌های کشت، دارای نرخ رشد متفاوتی هستند. مناسب‌ترین میزان تراکم سلولی، میزان رشد ویژه و کم‌ترین زمان دو برابر شدن جمعیت *هماتوکوکوس* و *دسمودسموس کوناتئوس* به ترتیب در محیط کشت OHM و RM به دست آمد. نتایج این مطالعه نشان داد که در محیط کشت CHU، کاهش تراکم سلول و میزان رشد و افزایش زمان دو برابر شدن جمعیت این دو ریزجلبک انجام می‌شود (جداول ۲ و ۳). بنابراین، با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان چنین نتیجه گرفت که محیط‌های کشت OHM و RM مناسب برای رشد این دو ریزجلبک و محیط کشت CHU بازدارنده رشد محسوب می‌شود. بررسی‌های انجام شده نشان داده است که تفاوت در غلظت مواد مغذی (به ویژه ماکرونوترینت‌های همانند P و N) در محیط‌های کشت

از عوامل اساسی مؤثر بر رشد ریزجلبک‌هاست. علاوه بر این، اختلاف در غلظت میکرونوترینت‌ها همانند آهن تأثیر زیادی بر رشد ریزجلبک‌ها دارد. برای مثال لیو [۱۹] و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که افزایش بیش از حد آهن می‌تواند اثرات سمی بر رشد جلبک‌ها داشته باشد (۲۵). وجود مواد آلی همانند ویتامین‌ها و کلات‌ها می‌تواند رشد ریزجلبک‌ها را افزایش دهد (۱۰). پرینگشم [۲۰] در سال ۱۹۹۶ گزارش داد که تیامین از عامل‌های اساسی رشد ریزجلبک‌ها محسوب می‌شود در حالی که وجود ویتامین B_{12} در محیط کشت چندان ضروری نیست (۲۶). علاوه بر این، میزان پروتئین سنتز شده نقش مهمی را بر میزان بیومس و نرخ رشد دارد و هر گونه تغییر در سنتز پروتئین‌ها اثر مستقیمی بر میزان رشد جلبک‌های تک سلولی دارد. از سوی دیگر تغییر در میزان نوترینت‌ها به ویژه ماکرو نوترینتی همانند نیتروژن (که از عناصر اصلی تشکیل دهنده پروتئین‌ها محسوب می‌شود) تأثیر مستقیم بر سنتز پروتئین‌ها دارد (۲۷). نتایج این پژوهش نیز نشان داد که بیش‌ترین پروتئین استخراج شده در این دو جلبک تک سلولی از تیمارهای با غلظت بالای نیتروژن به دست آمد. بیش‌ترین میزان پروتئین در *هماتوکوکوس* و *دسمودسموس کوناتئوس* به ترتیب درمحیط کشت OHM و RM مشاهده شد. براساس گزارش تعداد زیادی از پژوهشگران کیفیت و میزان اسیدهای چرب تحت تأثیر شرایط پرورش قرار دارد (۲۸- ۳۰). در این مطالعه محیط کشت BBM و OHM بالاترین میزان اسیدهای چرب چند غیراشباع را در *هماتوکوکوس* نشان دادند. در حالی که در محیط کشت CHU کم‌ترین میزان اسیدهای چرب چند غیراشباع و بیش‌ترین میزان اسیدهای چرب اشباع مشاهده شد. علاوه بر این، بالاترین میزان اسیدهای چرب تک غیراشباع در محیط کشت BM به دست آمد. در *دسمودسموس کوناتئوس* بیش‌ترین میزان اسیدهای چرب چند غیراشباع در محیط کشت BBM و OHM مشاهده شد. همچنین بیش‌ترین میزان اسیدهای چرب اشباع و اسیدهای چرب تک غیراشباع در محیط کشت BM ثبت شد. بر اساس نتایج تعدادی از پژوهشگران غلظت نیتروژن یکی از عوامل مهم بر محتوای اسید چرب ریزجلبک‌ها محسوب می‌شود. هالسی [۲۱] و همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارش دادند که کمبود نیتروژن به افزایش اسیدهای چرب اشباع و کاهش اسیدهای چرب غیر اشباع منجر می‌شود (۳۱). وب و چو [۲۲] در سال ۱۹۸۶ گزارش کردند در صورتی که نسبت n–3/ n–6 بین ۲ تا ۵ باشد بیومس تولید شده از نظر ارزش غذایی مناسب است (۳۲). در بین تیمارهای مختلف تنها محیط کشت BBM بهترین نسبت n–3/ n–6 را در *هماتوکوکوس* و *دسمودسموس کوناتئوس* نشان داد.

بر اساس نتایج به دست آمده، بین ارزش غذایی ریزجلبک از نظر محتوای اسیدهای چرب و میزان رشد ارتباط چندانی مشاهده نشد و به نظر می‌رسد مسیر مکانیسم رشد جلبک‌ها در تعادل با ارزش غذایی آن‌ها نیست و مطالعات بیشتری در این زمینه لازم است. این پژوهش نشان داد که در بین محیط‌های کشت مورد مطالعه، محیط کشت BBM در هر دو ریزجلبک می‌تواند شرایط بهینه رشد و ارزش غذایی اسیدهای چرب (درصد بالای اسیدهای چرب چند غیراشباع) و نسبت مناسب (n–3/ n–6) را تامین کند.

References

(1) Meireles L.C., Catarina A., Guedes AC., Malcata FX. Lipid class composition of the microalgae *Pavlova lutheri*: Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic acids. *Agriculture Food Chemistry* 2003; 51 (18): 2237-41.

(2) Coelho A.A.D.C., Barros C.U.M., Bezerra J.H., Sillva J.W.A.D., Moreira R.L., Farias W.R.L. Growth of the microalgae *Tetraselmis tetrathele* and nitrate depletion in culture medium guillard f/2 and Conway. *Acta Science and Biochemistry Science* 2013; 35 (2): 163- 8.

(3) Durmaz Y., Monteiro M., Bandarra N., Gökpinar S., Işik O. The effect of low temperature on fatty acid and tocopherols of the red microalgae, *Porphyridium cruentum*. *Applied Phycology* 2005; 19 (3): 223- 7.

(4) Makareviciene V., Andruleviciute V., Kaspereviciene J. Cultivation of microalgae *Chlorella* sp. and *Scenedesmus* sp. as a potential biofuel feedstock. *Environmental Reasearch Enginering Managment* 2011; 57 (3) : 21- 7.

(5) Marchetti J., Bougaran G., Jauffrais T., Lefebvre S., Rouxel C., Jean BS., et al. Effects of blue light on the biochemical composition and photosynthetic activity of *Isochrysis* sp. *Applied Phycology* 2013; 25 (1): 106- 5.

(6) Borowitzka MA. Microalgae for aquaculture: opportunities and constraints. *Applied Phycology* 1997; 9 (5): 393- 401.

(7) Imamogul E., Sukan F.V., Dalay M.C. Effect of different culture media and light intensities on growth of *Haematococcus pluvialis*. *Natural Enginrring Science* 2007; 3 (1): 05- 09.

(8) Fabregas J., Domingue A., Regueiro M., Maseda A., Otero A. Optimazation of culture medium for the continious cultivation of the microalgae *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 2000; 53 (5): 530- 5.

(9) Sanchez S., Martinez E., Espinola F. Biomass production and biochemical variability of the marine microalgae *Isochrysis galbana* in relation to culture medium. *Biochemistry Enginering* 2000; 6 (1): 13- 18.

(10) Goksan TAkI., Kilic C. Growth characteristic of the Alga *Haematococcus pluvialis* flotow as Affected by nitrogen source, vitamin, light and aeration. *Fish Aquatic Science* 2011; 11 (3): 377- 83.

(11) Lorentz R.T., Cysewski G.R. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. *Trends Biotechnology* 2000; 18 (4): 160- 7.

(12) Hegewald E. Taxonomy and phylogeny of Scenedesmaceae. *Algae* 1997; 12 (3): 235- 46.

(13) Farsani M.N., Meshkiny S., Manaffar R., Asal Pishe Z. Response of growth, protein and fatty acid content of *Desmodesmus cuneatus* to the repletion and depletion of nitrogen. *Biological Journal of Microorganism* 2015; 3 (12): 59- 68.

(14) Martinez M.R., Chakroff C.L., Pantastico J.F. Direct phytoplankton counting techniques using the haemacytometer. *Agriculture* 1975; 55 (4): 43- 50.

(15) Guillard RD. In: Stein, editor. *Handbook of phycological methods*. London: Cambridge University Press; 1973; 289- 312.

(16) Omori M., Ikeda T. *Methods in marine zooplankton ecology*. New York: John Wiley and Sonsin- inc; 1984.

(17) Nichols H.W. Growth media-freshwater. In: Stein JR., editor. *Handbook of phycological methods. Culture methods and measurements* .London: Cambridge University Press; 1973: 7- 24.

(18) Hata N., Ogbonna J., Hasegawa Y., Taroda H., Tanaka H. Production of astaxanthin by *Haematoc occus pluvialis* in a sequential heterotrophic photoautotrophic culture. *Applied Phycology* 2001; 13 (5): 395- 402.

(19) Starr R.C., Zeikus J.A. The culture collection of algae at the University of Texas at Austin. *Applied Phycology* 1993; 29 (2): 98- 106.

(20) Lepage G., Roy C. Improved recovery of fatty acid through direct transeterification without - prior extraction or purification. *Lipid Research* 1984; 25 (12): 1391- 6.

(21) Meijer E., Wijffels R.H. Development of a fast, reproducible and effective method for the extraction and quantification of proteins of microalgae. *Biotechnology Techniques* 1998; 12 (5): 353- 8.

(22) Bradford A. Rapid and sensitive method for the quantitaton of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annual Biochemistry* 1976; 722 (4): 248- 54.

(23) Li M., Gong R., Rao X., Liu Z., Wang X. Effects of nitrate concentration on growth and fatty acid composition of the marine microalgae *Pavolva viridis* (*Prymnesiophyceae*). *Annual Microbiology* 2005; 55 (1): 51- 5

(24) Domìnguez- Bocanegra A.R., Legarreta I., Jeronimo F., campocosio A. Infuence of enviromental and nutritional factors in the production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource Technology* 2004; 92 (2): 209- 14.

(25) Liu Z.W., Wang G.E., Zhou BC. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology* 2008; 99 (11): 4717- 22.

(26) Pringsheim E.G. Nutritional requirements of *Haematococcus pluvialis* and related species. and nitrogen starvation. *Applied Phycology* 1966; 2 (4): 1- 7.

(27) Ördög V., Wendy A., Bálint P., Staden JV., Lovász C. Changes in lipid, protein and pigment concentrations in nitrogen-stressed *Chlorella minutissima* cultures. *Applied Phycology* 2012; 24 (4): 907- 14.

(28) Pratoomyot J., Srivilas P., Noiraksar T. Fatty acids composition of 10 microalgal species. The Songklanakarin. *Science Technology* 2005; 27 (6):1179- 87.

(29) Solovchenko A.E., Khozin-Goldberg I., Didi-cohen S., Cohen Z., Merzlyak MN. Effects of light intensity and nitrogen starvation on growth, total fatty acids and arachidonic acid in the green microalga *Parietochloris incisa*. *Applied Phycology* 2008; 20 (3): 245- 51.

(30) Renaud S.M., Parry D.L., Luongvan T., Kuo C., Padovan A., Sammy N. Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture. *Applied Phycology* 1991; 3 (1): 43- 53.

(31) Halsey K.H., Milligan A.J., Behrenfeld M.J. Physiological optimization underlies growth rate- independent chlorophyll specific gross and net primary production. *Photosynthesis Research* 2010; 103 (2): 125- 37.

(32) Webb K.L., Chu F. L.E. *Phytoplankton as a food source for bivalve larvae*, In: Pruder GD., Langdon CJ., Conklin DE., editors. *Proceedings of the 2nd International Conference on Aquaculture Nutrition*. Louisiana State: University Baton Rouge; 1983: 272- 91.

---

[1]- Fabregas
[2]- Göksan
[3]- *Haematococcus* sp.
[4]- *Desmodesmus cuneatus*
[5]- *Chlorophyta*
[6]- Martinez
[7]- SGR (Specific growth rate)
[8]- DT (Doubling time)
[9]- (DB-225MS, 30 m × 0.250 mm ID × 0.25 µm Film thickness)
[10]- Meijer and Wijffels
[11]- Bradford
[12]- Bovine serum albumen
[13]- SFA (saturated fatty acid)
[14]- MUFA (Monounsatrated fatty acid)
[15]- PUFA (Polyunsatrated fatty acid)
[16]- *Haematococcus pluvialis*
[17]- Domìnguez-Bocanegra
[18]- Imamoglu
[19]- Liu
[20]- Pringshem
[21]- Halsey
[22]- Chu and Webb

Study of Optimum growth conditions and nutrition value of the two endemic microalgae, *Haematococcus* sp. and *Desmodesmus cunaetus*, in different culture media

Mehdi Naderi Farsani *
M.Sc. of Aquatic Cultivation and Propagation, Urmia University, Iran, me.nf1987@yahoo.com
Saeed Meshkiniy
Assistant professor of Fish higen, Urmia University, Iran, s.meshkiniy@yahoo.com
Ramin Manaffar
Assistant profess of Biotechnology, Urmia University, Iran, raminmanaffar@gmail.com

Abstract

Introduction: Identification of the optimum culture conditions of unicellular algae in different culture media is one of the most important steps required for industrial cultivation requirements of algae. Two microalgae *Haematococcus sp.* and *Desmodesmus cunaetus*, as valuable microalgae families, were newly isolated from inland of West Azerbaijan Province.

Materials and methods: In order to determine the best medium for these algae five different media (BM, RM, OHM, BBM and CHU) were studied for their growth rate and fatty acid content in a period of 12 days. To determine the growth rate, cell density and doubling time, counted daily done by Neubauer haemocytometer. The cells were harvested in the stationary phase to determine the fatty acid and protein content.

Results: The results of present study revealed the highest density ($18.9 \pm 0.68 \times 10^5$ cell.mL^{-1}) and maximum specific growth rate (0.16 ± 0.06 day^{-1}) in the microalgae *Haematococcus sp*. while using in OHM medium. The current study also depicted the maximum cell density ($21.31 \pm 1.11 \times 10^5$ cell.mL^{-1}) and growth rate (0.17 ± 0.06 day^{-1}) of *D.cunaetus* in RM medium. In addition, the maximum content of PUFA (polyunsaturated fatty acid) and n-3/n-6 of both microalgae was found in the culture medium of BBM.

Discussion and conclusion: On the basis of our experimental results, we conclude that no clear parallel could be established between good nutritional characteristics of the biomass and mechanism of algae growth hence further research is demanded in this area. However, a compromise between the nutritional properties and growth of both microalgae could be achieved by the use of BBM medium, which provides good fatty-acid composition and adequate protein content as well as relatively high specific growth rate.

Key words: *Desmodesmus cunaetus*, Fatty acids, Growth rate, *Haematococcus sp*., Protein

* Corresponding author
Received: January 13, 2014 / **Accepted:** May 21, 2014