

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 ریز جلبک 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 مناف‌فر: 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 ریز جلبک هماتوکوکوس و دسمودسموس کوناتئوس جزو ریز جلبک‌های 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 (RM، BM)، 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 ریز جلبکی، شمارش جلبک‌ها به شکل روزانه و با استفاده از لام هموسیتمتری انجام گرفت. در مرحله سکون ریز جلبک‌ها به منظور تعیین میزان اسیدهای چرب و پروتئین برداشت شدند.

**نتایج:** نتایج این پژوهش بالاترین میزان تراکم سلولی ( $10^5 \times 0.68 \pm 18/9$  سلول در میلی‌لیتر) و میزان رشد ویژه ( $0.06 \pm 0.16$  در روز) را در ریز جلبک هماتوکوکوس در محیط کشت OHM نشان داد. این بررسی نشان داد بیشینه تراکم سلولی ( $10^5 \times 1/11 \pm 21/31$  سلول در میلی‌لیتر) و بالاترین میزان رشد ویژه ( $0.06 \pm 0.17$  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 ریز جلبک 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

## مقدمه

ریز جلبک‌ها موجودات میکروسکوپی هستند که به طور گسترده در آب‌های شیرین و شور یافت می‌شوند (۱ و ۲). تعدادی از این میکروارگانیسم‌ها 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 آبی‌پروری 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 ریز جلبک‌ها را به همراه دارد (۷). پژوهشگران زیادی گزارش داده‌اند که ارتباط زیادی بین مواد مغذی مورد استفاده در محیط‌های کشت و ارزش غذایی ریز جلبک‌ها 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 ریز جلبک‌ها انجام شده است (۷، ۸ و ۱۰). تأمین این ریز مغذی‌ها 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 آبی‌پروری 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 ریز جلبک 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<sup>۱</sup> و همکاران در سال ۲۰۰۰ (۸) و گوکسان<sup>۲</sup> و همکاران در سال ۲۰۱۱ اشاره کرد (۱۰). هماتوکوکوس<sup>۳</sup> یک ریز جلبک تک‌سلولی تاژک‌دار متحرک و ساکن آب‌های شیرین است. این ریز جلبک به علت تولید بالای آستاگرانترین از مشهورترین جلبک‌های تجاری محسوب می‌شود و به عنوان رنگدانه‌های غذایی در جیره غذایی آبزیان استفاده می‌شود (۱۱).

ریز جلبک دسمودسموس<sup>۴</sup> از شاخه کلروفیتا<sup>۵</sup> و معمولاً به شکل یک کلونی مسطح (۸-۲ سلول و گاهی بیشتر) در آب‌های شیرین دیده می‌شود. این ریز جلبک در زنجیره غذایی و در تغذیه زئوپلانکتون‌ها و ماهی‌ها اهمیت دارد همچنین از این ریز جلبک 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 ریز جلبک‌های آب شیرین هماتوکوکوس و دسمودسموس کوناتئوس و در نهایت، انتخاب بهترین محیط کشت برای پرورش این ریز جلبک‌هاست.

## مواد و روش‌ها

دو ریز جلبک هماتوکوکوس و دسمودسموس از بانک جلبکی بخش آرتیمیا و آبزیان پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه دانشگاه ارومیه تهیه شد. این دو

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، ۰/۵ گرم 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 (۶-۲۲:۲) 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 ۰/۵ میلی‌لیتر ایزواکتان حل، به شیشه‌های کوچکی انتقال داده و تا زمان تزریق در فریزر نگهداری شد.

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  $3/2 \times 10^5$  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 هموسیستمتری و با روش پیشنهادی مارتینز<sup>۶</sup> و همکاران در سال ۱۹۷۵ انجام شد (۱۴). میزان رشد ویژه<sup>۷</sup> و زمان دو برابر شدن جمعیت جلبک‌ها<sup>۸</sup> با استفاده از رابطه‌های ذیل محاسبه شد:

$$SGR = \ln(N(t)/N_0) \Delta t^{-1} \quad (15)$$

$$DT = \log_e^2 / SGR \quad (16)$$

که در آن، N تعداد جلبک در انتهای آزمایش،  $N_0$  تعداد جلبک در شروع آزمایش و  $\Delta t$  مدت زمان انجام آزمایش است. ارزش غذایی و مواد مغذی محیط‌های کشت مورد آزمایش در این مطالعه شامل: (۱۷) BBM، (۱۸) BM، (۱۹) CHU و (۲۰) RM وضعیت هر یک 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

جدول ۱- وضعیت مواد مغذی در محیط‌های کشت مختلف

OHM	BBM	CHU	BM	RM	مواد تشکیل دهنده (میلی گرم در لیتر)
۴۱۰			۱۰۰		KNO <sub>3</sub>
		۱۲/۶			NaHCO <sub>3</sub>
	۲۵۰	۸/۵		۳۰۰	NaNO <sub>3</sub>
۳۰					Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
	۷۵	۸/۷		۲۰	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
	۱۷۵				KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
۲۴۶/۵	۷۵	۳۶/۹	۴۰	۱۰	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O
۱۱۰/۹	۲۵	۳۶/۷		۵۸/۵	Cl <sub>2</sub> Ca .2H <sub>2</sub> O
۲/۶۲		۳۳/۵			FeC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> .5H <sub>2</sub> O
	۴/۹۸				FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O
۰/۰۱۱		۰/۰۲	/۰۱۱۰		Cl <sub>2</sub> Co .6H <sub>2</sub> O
	۰/۴۹			۰/۲۶	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O
۰/۰۱۲	۱/۵۷	۰/۰۲		۰/۰۸	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O
۰/۰۷۶					Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
۰/۹۸۹	۱/۴۴	۰/۰۱۲۶	۰/۱۰۸		MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O
۰/۱۲		۰/۰۱۲۶	۰/۰۰۷۵		Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O
	۰/۷۱				MoO <sub>3</sub>
۰/۰۰۵					SeO <sub>2</sub>
	۱۱/۴۲	۰/۶۲		۰/۳	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>
	۸/۸۲	۰/۰۴۴	۰/۰۶۶	۰/۱	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O
		۲۸/۴			Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> .9H <sub>2</sub> O
	۳۱				KOH
				۱/۵	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O
	۲۵			۲۰	NaCl
				۰/۳	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> MO <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O
				۱۷	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> .7H <sub>2</sub> O
			۵/۸۸		FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O
			۱۵۰		Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O
			۵۰		β-Na <sub>2</sub> glycerophosphate
			۲/۲۷		EDTA-Na <sub>2</sub>
				۷/۵	EDTA
۰/۰۲۵			۰/۱		Biotin
۰/۱۷۵					Thiamine
۰/۰۱۵					B12
			۰/۰۱		Thiamine-HCL
			۰/۵		Trisaminomethane

میزان پروتئین‌ها به روش برادفورد<sup>۱۱</sup> در سال ۱۹۷۶ و با استفاده از سرم آلبومین بووین<sup>۱۲</sup> انجام شد (۲۲).

### نتایج

یافته‌های این پژوهش نشان داد که میزان رشد دو ریز جلبک دسمودسموس کوناتئوس و هماتوکوکوس در پنج محیط کشت مختلف در یک دوره ۱۲ روزه اختلاف معناداری را نشان می‌دهند ( $P \text{ value} > 0.05$ ).

ریز جلبک هماتوکوکوس بیش‌ترین میزان بیشینه ( $1.05 \times 10^5 \pm 0.68$  سلول در هر میلی‌لیتر) و کم‌ترین میزان بیشینه تراکم سلولی ( $1.09 \pm 0.92$  سلول در هر میلی‌لیتر) را به ترتیب در محیط کشت OHM و CHU نشان داد (شکل ۱). از سوی دیگر بیش‌ترین میزان رشد ویژه ( $0.06 \pm 0.16$  در روز) و کوتاه‌ترین زمان دو برابر شدن ( $0.66 \pm 0.33$  در روز) جمعیت در روز، در محیط کشت OHM به دست آمد (جدول ۲). برای ریز جلبک دسمودسموس کوناتئوس بیشینه میانگین تراکم سلولی ( $1.11 \times 10^5 \pm 1.31$  سلول در هر میلی‌لیتر) و بیش‌ترین نرخ رشد ویژه ( $0.061 \pm 0.17$  در روز) در محیط کشت RM و بیش‌ترین زمان دو برابر شدن جمعیت جلبکی در محیط کشت CHU ( $0.61 \pm 0.50$  در روز) مشاهده شد (جدول ۳ و شکل ۲).

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<sup>۹</sup> انجام شد. نیم میکرولیتر از نمونه استری با استفاده از سرنگ 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<sup>۱۱</sup> 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

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

مختلف

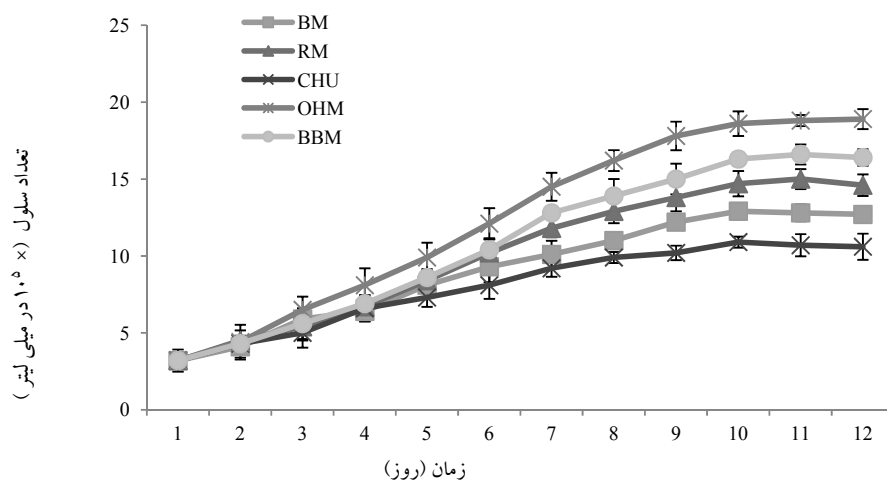
محیط‌های کشت	حداکثر تراکم سلولی (تعداد سلول در هر میلی‌لیتر $\times 10^5$ )	نرخ رشد ویژه (در روز)	زمان دو برابر شدن (در روز)
OHM	$1.09 \pm 0.68^a$	$0.06 \pm 0.16^a$	$0.66 \pm 0.33^c$
BM	$1.12 \pm 0.91^c$	$0.09 \pm 0.12^c$	$0.31 \pm 0.57^{ab}$
CHU	$1.09 \pm 0.92^d$	$0.05 \pm 0.10^d$	$0.97 \pm 0.93^a$
BBM	$1.06 \pm 0.96^b$	$0.07 \pm 0.14^b$	$0.57 \pm 0.49^{bc}$
RM	$1.05 \pm 0.67^b$	$0.06 \pm 0.15^{ab}$	$0.61 \pm 0.50^{bc}$

حروف یکسان در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنادار است ( $P \text{ value} > 0.05$ ).

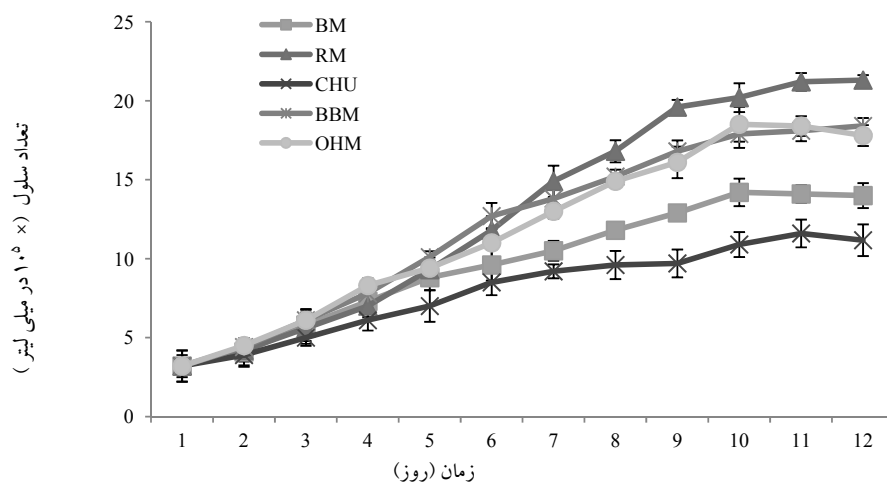
جدول ۳- میانگین تراکم سلولی، میزان رشد ویژه و زمان دو برابر شدن جمعیت ریز جلبک دسمودسموس کوناتوس کشت داده شده در محیط‌های کشت مختلف

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

حروف یکسان در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنادار است ( $P \text{ value} > 0.05$ ).



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



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

(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).

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای مختلف محیط کشت بر محتوای اسیدهای چرب ریز جلبک هماتوکوکوس نشان داد که محیط‌های کشت مختلف موجب اختلاف معناداری در محتوای اسیدهای چرب اشباع<sup>۱۳</sup>، اسیدهای چرب تک غیراشباع<sup>۱۴</sup> و اسیدهای چرب چند غیراشباع<sup>۱۵</sup> می‌شود. بالاترین میزان اسیدهای چرب اشباع (۲۹/۴۰ ± ۰/۹۷) در محیط کشت CHU، کم‌ترین میزان در تیمارهای OHM (۲۲/۲۱ ± ۰/۷۶) و BBM

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

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

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

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).

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

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

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

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



ترتیب در محیط کشت OHM ( $35/21 \pm 0/02$ ) درصد) و BBM ( $27/23 \pm 0/12$ ) درصد) بود. این در حالی است که محیط کشت CHU کم‌ترین میزان پروتئین را در هر هماتوکوکوس ( $20/15 \pm 0/01$ ) درصد) و دسمودسموس ( $14/30 \pm 0/03$ ) درصد) نشان داد.

همان‌طور که در جدول ۶ مشاهده می‌شود میزان پروتئین دو ریز جلبک هماتوکوکوس و دسمودسموس در محیط‌های کشت مختلف اختلاف معناداری را نشان داد ( $P \text{ value} < 0/05$ ). بیش‌ترین میزان پروتئین استخراج شده در هماتوکوکوس و دسمودسموس به

جدول ۶- میزان پروتئین محلول استخراج شده (بر حسب درصد) در ریز جلبک دسمودسموس کوناتئوس در هماتوکوکوس در محیط‌های

کشت مختلف (Mean  $\pm$  SD)

محیط‌های کشت	دسمودسموس کوناتئوس (درصد پروتئین)	هماتوکوکوس (درصد پروتئین)
OHM	$22/09 \pm 0/11^c$	$35/21 \pm 0/02^a$
BM	$18/16 \pm 0/07^d$	$21/09 \pm 0/06^d$
CHU	$14/30 \pm 0/03^e$	$20/15 \pm 0/01^d$
BBM	$27/23 \pm 0/12^a$	$32/40 \pm 0/04^b$
RM	$24/17 \pm 0/02^b$	$30/21 \pm 0/06^c$

## بحث و نتیجه‌گیری

تاکنون مطالعات گسترده‌ای به منظور بهبود میزان رشد ریز جلبک‌ها 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 احتمالاً به علت اختلافات جمعیتی و سویه‌ای گاهی نتایج مختلفی از میزان رشد و بقای یک گونه جلبک در محیط‌های کشت واحد حاصل شده است. فابریکاس و همکاران در سال ۲۰۰۰ گزارش داده‌اند که تراکم سلولی هماتوکوکوس پلویالیس<sup>۱۶</sup> در محیط کشت OHM سه برابر بیشتر از تراکم سلولی به دست آمده در محیط کشت BBM است (۸). در حالی که دومینگز-بوکانگرا<sup>۱۷</sup> و همکاران در سال ۲۰۰۴ بالاترین نرخ رشد هماتوکوکوس پلویالیس را در محیط کشت BBM گزارش کردند (۲۴). نتایج گزارش اخیر مطابق با یافته‌های ایمامگلو<sup>۱۸</sup> و همکاران در سال ۲۰۰۷ است که بالاترین نرخ رشد هماتوکوکوس پلویالیس را در

محیط کشت RM گزارش کرده‌اند (۷). یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که دو ریز جلبک 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 ریز جلبک انجام می‌شود (جدول 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 ریز جلبک 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

بالاترین میزان اسیدهای چرب تک غیراشباع در محیط کشت BM به دست آمد. در دسمودسموس کوناتوس 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 نیترژن یکی از عوامل مهم بر محتوای اسید چرب ریزجلبک‌ها محسوب می‌شود. هالسی<sup>۲۱</sup> و همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارشی دادند که کمبود نیترژن به افزایش اسیدهای چرب اشباع و کاهش اسیدهای چرب غیر اشباع منجر می‌شود (۳۱). وب و چو<sup>۲۲</sup> 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 کوناتوس 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.

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<sup>۱۹</sup> 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<sup>۲۰</sup> در سال ۱۹۹۶ گزارشی داد که تیمین از عامل‌های اساسی رشد ریزجلبک‌ها محسوب می‌شود در حالی که وجود ویتامین B<sub>12</sub> 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 نیترژن (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 نیترژن به دست آمد. بیش‌ترین میزان پروتئین در هماتوکوکوس و دسمودسموس کوناتوس به ترتیب در محیط 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،

## 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 tetraethele* 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., Işık 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 Research Engineering Management* 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 Engineering 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 Engineering* 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 Pische 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 *Haematococcus 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 transesterification 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 quantitation 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) Dominguez- Bocanegra A.R., Legarreta I., Jeronimo F., campocoso A. Influence of environmental 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 Songklanakarinn. *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.

---

<sup>1</sup>- Fabregas

<sup>2</sup>- Göksan

<sup>3</sup>- *Haematococcus* sp.

<sup>4</sup>- *Desmodesmus cuneatus*

<sup>5</sup>- *Chlorophyta*

<sup>6</sup>- Martinez

<sup>7</sup>- SGR (Specific growth rate)

<sup>8</sup>- DT (Doubling time)

<sup>9</sup>- (DB-225MS, 30 m × 0.250 mm ID × 0.25 µm Film thickness)

<sup>10</sup>- Meijer and Wijffels

<sup>11</sup>- Bradford

<sup>12</sup>- Bovine serum albumen

<sup>13</sup>- SFA (saturated fatty acid)

<sup>14</sup>- MUFA (Monounsaturated fatty acid)

<sup>15</sup>- PUFA (Polyunsaturated fatty acid)

<sup>16</sup>- *Haematococcus pluvialis*

<sup>17</sup>- Dominguez-Bocanegra

<sup>18</sup>- Imamoglu

<sup>19</sup>- Liu

<sup>20</sup>- Pringsheim

<sup>21</sup>- Halsey

<sup>22</sup>- 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<sup>-1</sup>) and maximum specific growth rate ( $0.16 \pm 0.06$  day<sup>-1</sup>) 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<sup>-1</sup>) and growth rate ( $0.17 \pm 0.06$  day<sup>-1</sup>) 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