



ORIGINAL RESEARCH PAPER (Marine Science)

The effect of temperature on production of biomass and pigments of dinoflagellate (*Symbiodinium* sp.) in photobioreactor biofilm

Hamideh. Tahmasebi Malekrodi¹, Behrouz. Zarei Darki^{2*}

1. Postgraduated, Department of Biology, Faculty of Marine Sciences and Natural Resources, Tarbiat Modares University, Noor, Iran. 2. Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Marine Sciences and Natural Resources, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2022/03/8

Revised: 2023/09/10

Accepted: 2023/09/6

Keywords:

Peridinin

Chlorophyll a

Dinophyta

Temperature

*Corresponding author:

✉ zareidarki@modares.ac.ir

orcid: 0000-0003-4308-8376

doi: [10.52547/joc.14.54.5](https://doi.org/10.52547/joc.14.54.5)

doi: [201001.1.15621057.1402.14.54.5.1](https://doi.org/10.201001.1.15621057.1402.14.54.5.1)

ABSTRACT

Background and Objectives: Purpose of this present study is about, production of *Symbiodinium* sp. and therefore, mass production of peridinin on a laboratory scale, under different temperatures, because of its abundant application in different fields of food and medicine.

Methods: For this study, sea anemone was collected from the east coast of Hormuz Island in July 2016. we extracted the symbiotic dinoflagellate (*Symbiodinium* sp.), then were cultured in different medium of ASP₁₂, ASP₈, F₂-Gillard and L₁ under the constant temperatures. In order to mass peridinin production on a laboratory scale, the first, it was produced as a suspension and then cellular biomass was transferred to CDs (photobioreactor) under the temperatures of 17±1, 23±1 and 29±1 °C and the light of 100 μmol.photon.m⁻².s⁻¹. in the photobioreactor biofilm. Growth rates were measured. The concentration of peridinin and chlorophyll a pigments was calculated by spectrophotometer at 645, 663 and 665 nm. Data analysis was done using SPSS 26 and Excel 2016 software. The data normality was evaluated by Kolmogorov-Smirnov test. ANOVA test, Tukey's test and Duncan's test were also used to compare results.

Findings: ASP₁₂ suspension and 23±1 °C temperature were selected as the selective culture medium and optimum temperature, respectively. the amount of biomass produced by the symbiotic cell, under the different temperatures of 17±1, 23±1 and 29±1°C was observed as amount of 47.44, 24.66 and 21.55 g/m². peridinin concentration was observed at the amount of 35.59, 11.86 and 12.67 mg/L, under the different temperatures of 17±1, 23±1 and 29±1°C, respectively. Also chlorophylla concentration was observed as amount of 29.96, 9.33 and 10.83 mg/L under the different temperatures of 17±1, 23±1 and 29±1°C, respectively. Statistical results showed a significant difference in growth rates, chlorophylla, peridinin concentration of Zooxanthellae at three different temperatures (P<0.05).

Conclusion: The results demonstrate that cultivation of dinoflagellates is applicable by a biofilm-based PBR.



NUMBER OF TABLES

0



NUMBER OF FIGURES

8



NUMBER OF REFERENCES

45

مقاله پژوهشی

نشریه علمی پژوهشی اقیانوس‌شناسی (علوم دریایی)

تأثیر دما بر میزان تولید زیست‌توده و رنگدانه‌های داینوفلاژله *Symbiodinium sp.* همزیست کشت‌داده‌شده در بیوفیلم فتوبیوراکتورحمیده طهماسبی ملکردی^۱، بهروز زارعی دارکی^{۲*}

۱. دانش‌آموخته گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

۲. دانشیار گروه زیست‌فناوری دریا، دانشکده علوم دریایی و منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۱۷

تاریخ بازبینی: ۱۴۰۲/۶/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۱۵

واژگان کلیدی:

پریدینین

کلروفیل a

داینوفایتا

دما

پیشینه و اهداف: هدف تحقیق حاضر، کشت ریزجلبک *Symbiodinium sp.* و، در نتیجه، تولید انبوه بیوماس سلولی، از جمله پریدینین، در مقیاس آزمایشگاهی، تحت دماهای متفاوت، به دلیل کاربرد فراوان آن (رنگدانه پریدینین) در عرضه‌های غذایی-دارویی است.

روش‌ها: برای انجام این فعالیت، در تیرماه ۱۳۹۵، از شقایق دریایی *Stichodactyla haddoni* در سواحل شرقی جزیره هرمز نمونه‌برداری شد. پس از جداسازی، ابتدا زئوزانتلای همزیست در محیط کشت‌های ASP₁₂، ASP₈، ASP₆، F₂-Gilard و L₁ تحت دماهای ثابت کشت داده شدند. برای تولید انبوه پریدینین در مقیاس آزمایشگاهی، ابتدا به‌صورت سوسپانسیون تولید شدند و سپس بیوماس سلولی تولیدشده بر دیسک‌های کشت کاغذی (CDs) موجود در دستگاه کشت فتوبیوراکتور انتقال و تحت دماهای ۱۷±۱، ۲۳±۱ و ۲۹±۱ °C و شدت نوری ۱۰۰ μmol.photon.m⁻².s⁻¹ قرار داده شدند و نرخ رشد ویژه محاسبه شد. سنجش غلظت رنگدانه پریدینین و کلروفیل a با استفاده از حلال متانول، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۶۶۵ نانومتر قرائت شد. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Spss 26 و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2016 استفاده شد. ابتدا، نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov بررسی شد. در صورت نرمال بودن داده‌ها، از آزمون ANOVA و، برای مقایسه میانگین‌ها، از آزمون Duncan و Tukey استفاده شد.

یافته‌ها: محیط کشت سوسپانسیون ASP₁₂ به‌مثابه کشت انتخابی و همچنین دمای ۱۷±۲۳ °C به‌مثابه دمای بهینه انتخاب شد. میزان تولید بیوماس سلولی از زئوزانتلای همزیست تحت دماهای ۱۷±۲۹ °C و ۲۳±۱، ۱۷±۱، به ترتیب، ۴۷/۴۴، ۲۱/۵۵ و ۲۴/۶۶ g/m² مشاهده شد. حداکثر غلظت پریدینین تحت دماهای ۱۷±۲۹ و ۲۳±۱، به ترتیب، به مقدار ۳۸/۵۹، ۱۱/۸۶ و ۱۲/۶۷ mg/L و همچنین غلظت کلروفیل a تحت دماهای مذکور به مقدار ۲۹/۹۶، ۹/۳۳ و ۱۰/۸۳ mg/L مشاهده شد. نتایج آماری نشان می‌دهد تفاوت معناداری در نرخ رشد ویژه، بیوماس سلولی، غلظت پریدینین و کلروفیل a تحت دماهای ۱۷±۱، ۲۳±۱ و ۲۹±۱ °C وجود دارد (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: در پژوهش حاضر، کشت داینوفلاژله‌ها با استفاده از دستگاه فتوبیوراکتور در مقیاس فنی قابل اجراست.

*نویسنده مسئول

✉zareidarki@modares.ac.ir

orcid: 0000-0003-4308-8376

doi: 10.52547/joc.14.54.5

dor:20,1001,1,15621057.1402,14,54,5,1

مقدمه

تولید پریدینین دارای اهمیت زیادی است. در طی مطالعات صورت گرفته، برای کشت ریزجلبک جنس *Symbiodinium* از محیط کشت‌های F_2 ، ASP_8 ، ASP_{12} ، Zs ، $2a$ ، $FLAp2$ ، Pd ، $Pk13$ ، Sin ، $A001$ ، $CCMP421$ ، $KB8$ ، $Y106$ ، $K100$ ، $Y103$ ، $K111$ و $K102$ استفاده شده است [۱۲، ۱۶، ۲۴]. کشت داینوفلاژله‌ها در مقیاس فنی، به دلیل رشد ضعیف و دلایلی که هنوز ناشناخته مانده، بسیار سخت بوده است اما، به‌تازگی، ریزجلبک جنس *Symbiodinium* در دستگاه فتوبیورآکتور کشت شده که، در مقایسه با کشت سوسپانسیون، میزان رشد درخور توجه و حداکثر تولید بیوماس را فراهم کرده است. بنابراین، کشت داینوفلاژله‌های همزیست در مقیاس فنی قابل اجراست [۲].

روش پژوهش

۱. نمونه‌برداری شقایق دریایی *stichodactyla haddoni*

نمونه‌برداری شقایق دریایی *Stichodactyla haddoni* سبزرنگ در زمان جزر کامل از نواحی شرقی جزیره هرمز و در ساحل ایستگاه خضر صورت گرفت. نمونه‌ها در ظروف حاوی یخ خشک قرار گرفتند و در کمترین زمان ممکن به آزمایشگاه انتقال داده شدند [۲].

۲. استخراج و کشت داینوفلاژله *Symbiodinium* sp.

برای استخراج *Symbiodinium* sp.، صفحه‌دهانی شقایق دریایی با کاتر جدا شد. سپس، با آب دریایی فیلترشده مخلوط و ورتکس شد. سپس، رسوب باقی‌مانده رقیق و مجدداً در دمای $4^{\circ}C$ سانتریفیوژ انجام شد. این عمل، برای به‌دست‌آوردن رسوب خالص جلبکی، چندین مرتبه تکرار شد [۱۳]. سپس، به نمونه‌ها آنتی‌بیوتیک افزوده شد و در یخچال نگهداری شدند [۳۰، ۳۵]. پس از شست‌وشوی جلبک‌ها از آنتی‌بیوتیک، برای خوگیری زئوزانتلای همزیست، از محیط کشت‌های ASP_8 ، ASP_{12} ، F_2 و L_1 و ASP_{12} استفاده شد [۲، ۹]. بعد از مشاهده تکثیر زئوزانتلا در محیط کشت‌های به‌کارگرفته‌شده طی چندین هفته، محیط کشت ASP_{12} به‌مثابه مناسب‌ترین انتخاب شد.

به‌منظور کشت، ابتدا کلیه وسایل و ادوات شست‌وشو داده شدند و پس از خشک کردن، زیر لامپ UV به‌مدت نیم ساعت قرار داده شدند. ارلن‌های حاوی محیط کشت مایع به‌وسیله پنبه و فویل آلومینیومی پوشانیده شدند و، برای استریل شدن، به‌مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه اتوکلاو، تحت دمای $120^{\circ}C$ ، قرار گرفتند. سپس، داینوفلاژله *Symbiodinium* sp. در ارلن‌های حاوی محیط کشت ASP_{12} [۲]، تحت دماهای $29^{\circ}C \pm 1$ و 23 ± 1 ، 17 ± 1 و شدت نوری $100 \mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ در ژرمیناتورها قرار گرفتند به‌طوری‌که تعداد اولیه سلول‌های زئوزانتلا در محیط کشت مذکور به‌میزان 2×10^4 Cell/ml در نظر گرفته شد. دوره نوری به‌صورت ۱۵/۹ تاریکی/روشنایی تنظیم شد. شمارش سلولی هر دو روز یک بار با استفاده از لام نئوبار توسط میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی $\times 20$ شمارش شد [۳، ۸، ۱۰، ۲۶، ۳۵]. برای شمارش سلولی، از فرمول ذیل استفاده شد:

اقیانوس‌ها زیستگاه بسیاری از موجودات متنوع هستند و متابولیت‌های حاصله از آنها در صنایع گوناگون، از جمله آرایشی-بهداشتی، آب و فاضلاب، تغذیه انسان، دام و طیور و آبزیان، کاربردهای فراوانی دارند [۲۱]. تولید برخی از متابولیت‌ها، از جمله استرول‌ها، قندها، آمینواسیدها، اسیدهای آلی، ترکیبات فسفر، گلیسرول و اسیدهای چرب، مستلزم همزیستی بین گونه‌ای است که گسترده‌ترین آن بین اعضای شاخه مرجانیان و جلبک‌های داینوفلاژله از جنس *Symbiodinium* مشاهده می‌شود [۵، ۱۸]. گروه دیگر از متابولیت‌ها کاروتنوئیدها و مایکوسپرین‌ها هستند. مایکوسپرین‌ها در لوازم آرایشی به‌عنوان کرم‌های ضدآفتاب کاربرد دارند و کاروتنوئیدها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی‌اند [۲]. در سال‌های اخیر، مطالعات گسترده روی موجودات گوناگون منجر به معرفی بیش از ۷۰۰ نوع کاروتنوئید و مشتقات آن شده است که در طبیعت به‌صورت هیدروکربن‌های بتاکاروتن و زانتوفیل‌ها مشاهده می‌شوند. درحقیقت، زانتوفیل‌ها محصولات اکسیژنه از آلفا و بتا-کاروتن‌ها هستند [۳۹، ۴۵]. رنگدانه پریدینین از مشتقات کاروتنوئیدی و دارای خواص ضدآکسیداتیو قوی است که برای جلوگیری از تشکیل تومور یا القای آپوپتوز در سلول‌های تومور کاربرد دارد. در تولید پریدینین و مشتقات آن دو مسیر مولونیک‌اسید (MVA) و غیرمولونیک‌اسید (DOXP) وجود دارد که منجر به تولید ایزوپنتیل-۵-پیروفسفات (IPP) می‌شود [۴۲]. در داینوفلاژله‌ها، زمانی که نور توسط پریدینین جذب می‌شود، انرژی برانگیخته‌شده با راندمان ۹۰ درصد به کلروفیل a انتقال می‌یابد. علاوه بر انتقال الکترون، پریدینین نقش محافظ نوری را ایفا می‌کند. پریدینین و بتاکاروتن استخراج‌شده از داینوفلاژله *Gonyaulax polyedra*، به‌ترتیب، ۵۵ و ۴/۱ درصد از کل کاروتنوئید را تشکیل می‌دهند. بنابراین، پریدینین ۱۰ برابر فراوان‌تر از بتا-کاروتن است که نسبت این فراوانی در گونه‌ها متفاوت است. انتظار می‌رود، به‌دلیل این فراوانی، پریدینین نقش حفاظت اصلی را در برابر تأثیرات زیان‌بار O_2 ایفا کند. همچنین میزان وجود کلروفیل در رشد و نمو جلبک‌ها و گیاهان از اهمیتی ویژه برخوردار است. افزایش غلظت کلروفیل سبب بالا بردن توانایی استفاده مؤثرتر از نور می‌شود و گیاه یا جلبک را قادر می‌سازد تا شدت‌های متفاوت نور را بهتر تحمل کنند [۱۹]. تحقیقات نشان می‌دهد که فراوانی و انواع متابولیت‌های تولیدشده در میان گونه‌های *Symbiodinium* تحت شرایط محیطی، از جمله دما و رژیم‌های نوری، متفاوت است [۱۸]. دما و نور از مهم‌ترین متغیرهای زیست محیطی هستند که متناسب با عرض جغرافیایی تغییر می‌کنند [۱۹].

ریزجلبک *Symbiodinium* به‌صورت همزیست با شقایق دریایی *Stichodactyla haddoni* از سواحل جزیره هرمز گزارش شده است [۲۱]. شقایق دریایی مذکور در شاخه مرجانیان، رده *Anthozoa* و راسته *Actinaria* از خانواده *Stichodactylidae* قرار می‌گیرد [۴]. همزیستی *Symbiodinium* با شقایق‌های دریایی *Stichodactyla haddoni* موجب تولید کاروتنوئیدهایی، از جمله پریدینین، می‌شود که در عرصه‌های گوناگون غذا و دارو نیز کاربرد فراوانی دارند. از این‌رو، کشت داینوفلاژله‌ها و

در معادله ۲، A غلظت پریدینین (میلی‌گرم/لیتر)، E_{λ} جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۶۶۵ نانومتر، C وزن بافت تر و d حجم نهایی متانول خالص: آمونیوم استات ۲ درصد مصرفی است.

۶. تحلیل آماری داده‌ها

برای تحلیل آماری داده‌ها، از نرم‌افزار آماری SPSS 26 و برای رسم نمودارها، از نرم‌افزار Excel 2016 استفاده شد. ابتدا، نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov بررسی شد. در صورت نرمال بودن داده‌ها، از آزمون ANOVA و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون Tukey و Duncan استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج کشت اولیه برای خوگیری زئوزانتلای همزیست بیشترین تعداد سلولی را، به مقدار 4×10^5 Cell/ml، در محیط کشت ASP₁₂ نشان داد. تعداد سلولی در محیط کشت F₂، ASP₈ و L₁ در سطح پایین‌تری، در مقایسه با ASP₁₂، مشاهده شد. شایان ذکر است در محیط کشت L₁ و ASP₈، بعد از گذشت چهار هفته، کلیه سلول‌ها بی‌رنگ شدند. نتایج آماری اختلافی معنادار را در تراکم سلولی داینوفلاژله‌ها در محیط کشت ASP₁₂، در مقایسه با محیط کشت‌های دیگر، نشان می‌دهد ($P < 0.05$). در نتیجه، محیط کشت ASP₁₂ به مثابه محیط کشت انتخابی در نظر گرفته شد (شکل ۱، الف). سپس، زئوزانتلاها از محیط کشت ASP₁₂، به مثابه محیط کشت انتخابی، به محیط کشت سوسپانسیون (ASP₁₂) طی سه دمای متفاوت ($1 \pm 29^{\circ}\text{C}$ و $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ و $17 \pm 1^{\circ}\text{C}$) انتقال داده شدند. برای شمارش سلولی، ۲۰ میکرولیتر از محیط کشت مورد نظر در کنار شعله نمونه‌برداری شد و با استفاده از لام نئوبار توسط میکروسکوپ نوری با لنز ۲۰ شمارش و سپس نرخ رشد ویژه محاسبه شد. پس از رسیدن سلول‌ها به انتهای فاز رشد لگاریتمی، زیست‌توده جلبکی به وسیله سانتریفیوژ (500 rpm) (۲۰ min) از محیط آبی جدا و در آون، تحت دمای 105°C ، به مدت یک ساعت خشک شد. به ترتیب، بیشترین و کمترین تعداد سلولی به میزان 12×10^5 و 9×10^5 cell/ml در محیط کشت سوسپانسیون ASP₁₂ تحت دمای $1 \pm 23^{\circ}\text{C}$ مشاهده شد (شکل ۱، ب) به طوری که نتایج این پژوهش نرخ رشد ویژه سلول‌های داینوفلاژله را تحت دماهای $1 \pm 29^{\circ}\text{C}$ و $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ و $17 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ، به ترتیب، 0.1071 ، 0.1086 و 0.1067 نشان داد (شکل ۲). بنابراین، بیشترین تراکم و نرخ رشد ویژه در دمای $1 \pm 23^{\circ}\text{C}$ تحت محیط کشت ASP₁₂ مشاهده شد. نتایج آماری نشان می‌دهد اختلاف معنادار بین تعداد سلولی و نرخ رشد ویژه سلول‌های زئوزانتلا در دمای $1 \pm 23^{\circ}\text{C}$ با دماهای $1 \pm 29^{\circ}\text{C}$ و $17 \pm 1^{\circ}\text{C}$ وجود دارد ($P < 0.05$). در نتیجه، دمای $1 \pm 23^{\circ}\text{C}$ به مثابه دمای بهینه انتخاب شد (شکل ۱، ب). همچنین میزان تولید بیوماس سلولی از زئوزانتلای همزیست تحت دماهای $1 \pm 29^{\circ}\text{C}$ و $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ، به میزان $47/44$ ، $21/55$ و $24/66$ g/m² مشاهده شد (شکل ۲: الف، ب و ج). حداکثر غلظت پریدینین تحت دماهای $1 \pm 29^{\circ}\text{C}$ و $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ، به ترتیب، به مقدار $38/59$ ، $11/86$ و $12/67$ mg/L

تراکم سلولی در میلی‌لیتر = کل سلول‌های شمارش شده $\times 10^4 \times$ فاکتور رقت

۳. روش اندازه‌گیری بیوماس

پس از به اشباع رسیدن تعداد سلول‌ها در محیط کشت ASP₁₂، برای تولید انبوه پریدینین در مقیاس آزمایشگاهی، سوسپانسیون تغلیظ شده با دور 500 rpm در مدت ۲۰ دقیقه، به میزان 0.1039 گرم بر دیسک‌های کشت کاغذی (CDs) به قطر ۲۰ میلی‌متر و مساحت 0.1003 مترمربع، انتقال و تحت دماهای $1 \pm 29^{\circ}\text{C}$ و $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ با لوکس نوری 17 ± 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ۱۰۰ قرار داده شد. نمونه‌برداری هر دو روز انجام شد و به مدت ۴۸ ساعت در فریز درایر مدل FDU-7012 خشک شدند. پس از گذشت ۱۵ روز، به ترتیب، میزان بیوماس سلولی، غلظت رنگدانه پریدینین و کلروفیل a از زئوزانتلای همزیست، تحت دماهای $1 \pm 29^{\circ}\text{C}$ و $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ و $17 \pm 1^{\circ}\text{C}$ محاسبه شد [۲].

۴. روش اندازه‌گیری کلروفیل a و پریدینین

جلبکی از دیسک کشت توسط حلال‌های متانول خالص: آمونیوم استات ۲ درصد استخراج شد بدین صورت که ابتدا، به ازای 0.1039 گرم از پودر جلبکی، ۳ میلی‌لیتر متانول خالص اضافه شد و به مدت ۱۲۰ ثانیه ورتکس شدند. در مرحله بعدی، به مدت ۲ ساعت در یخ خشک در تاریکی قرار داده شدند. پس از ۲ ساعت، 0.5 میلی‌لیتر آمونیوم استات 0.5 M ، اسیدیته: $7/2$ اضافه شد و مجدداً عمل ورتکس انجام گرفت و در طول شب در دمای 20°C - درجه نگهداری شدند بدین صورت که، طی ۳ دوره ۳۰ دقیقه‌ای، نمونه‌ها به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس شدند. در مرحله بعدی، ناخالصی‌های حل‌ناپذیر با دو بار سانتریفیوژ در دمای 4°C ، به مدت ۱۰ دقیقه حذف شدند بدین صورت که عصاره، در وهله اول، تحت دور 8000 rpm ، ۱۰ دقیقه در دمای 4°C و، در وهله دوم، سانتریفیوژ در دور 14000 rpm ، ۵ دقیقه در دمای 4°C صورت گرفت [۲، ۲۷].

۵. تعیین غلظت کلروفیل a و پریدینین در عصاره متانولی با

استفاده از اسپکتوفوتومتر

آزمایش به روش اسپکتوفوتومتری و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر UV/VIS انجام شد. عصاره متانولی در کووت ریخته شد و مقادیر جذب کلروفیل a (در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر) و پریدینین (در طول موج ۶۶۵ نانومتر) با استفاده از معادلات ذیل قرائت و غلظت پریدینین و کلروفیل a اندازه‌گیری شد. از محلول متانول خالص: آمونیوم استات ۲ درصد به مثابه بلانک استفاده شد [۱، ۱۳، ۳۴، ۳۷].

معادله ۱

$$\text{Chl. a (mg/L)} = [12.7 (A_{663}) - 2.69 (A_{645})] \times V/W$$

معادله ۲

$$A (\text{mg/L}) = E_{\lambda} \cdot c \cdot d$$

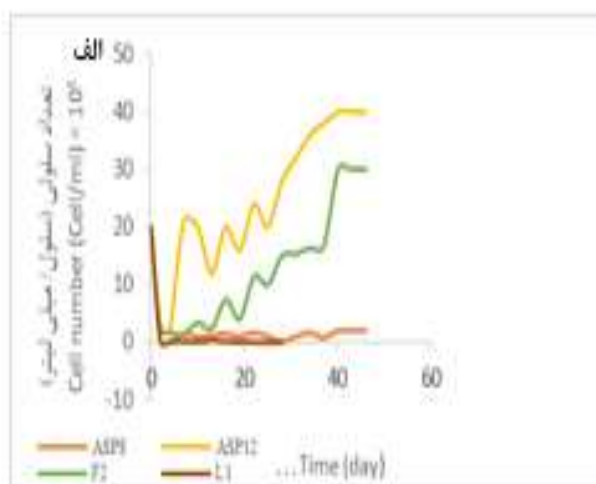
در معادله ۱، A جذب نوری نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر، Chl. a غلظت کلروفیل a (میلی‌گرم/لیتر)، V حجم نهایی متانول خالص: آمونیوم استات ۲ درصد مصرفی و W وزن بافت تر است.

(شکل ۳) و همچنین غلظت کلروفیل a تحت دماهای مذکور به مقدار ۲۹/۹۶، ۹/۳۳ و ۱۰/۸۳ mg/L مشاهده شد (شکل ۴). ابتدا ممکن است این سؤال مطرح شود که چرا محیط کشت ASP₁₂ و دمای ۱±۲۳ °C، به ترتیب، به مثابه محیط کشت مناسب و دمای بهینه انتخاب شدند. در خصوص این امر، دما و مواد غذایی از فاکتورهای مهمی هستند که موجب حفظ پایداری رابطه درون‌همزیستی بین مرجانیان و داینوفلاژله‌های درون‌همزیست می‌شوند. سازوکار و پاسخ سلول‌های داینوفلاژله کشت‌داده‌شده در حضور دماهای متفاوت هنوز ناشناخته است [۱۴، ۲۸، ۴۶]. بر اساس تحقیقات صورت‌گرفته‌شده، داینوفلاژله *Symbiodinium* sp. در محیط کشت F₂ تحت دمای ۴۰ μE. m⁻². s⁻¹ و دوره نوری ۱۲/۱۲ (PAR= Photosynthetically Active Radiation) و کشت بدون نیتروژن انتقال یافتند و طی دوره‌های دمایی ۳۰°C و ۲۵، ۱۵ قرار گرفتند. با مشاهده زنجیره انتقال الکترون، نتایج نشان داد زمانی که جلبک مذکور در معرض دمای ۳۰°C تحت نیتروژن محدود قرار گرفت ابتدا رشد بالایی داشت اما، بعد از ۵ روز، دیواره سلولی نازک شد و تجمع لیپید افزایش یافت. تحت دمای ۱۵°C، رشد ریزجلبک مذکور کاهش یافت و، در نتیجه، نرخ رشد مطلوب در دمای ۲۵°C مشاهده شد. ناگفته نماند که نرخ رشد مطلوب داینوفلاژله *Symbiodinium* sp. در دمای ۳۲°C هم گزارش شده است. این تحقیق نشان می‌دهد که چگونه داینوفلاژله‌ها تحت شرایط استرسی سازگار می‌شوند و، در واقع، با تجمع لیپید در کوتاه‌مدت این مشکل را تا حدودی رفع می‌کنند [۱۷، ۳۲، ۴۱]. این امر با نتایج گزارش‌شده مبنی بر اینکه دما از مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر بر ترکیبات درون‌سلولی، مانند مصرف مواد غذایی، است و بر نرخ رشد همه جلبک‌ها تأثیرگذار است مطابقت دارد [۱۴]. گزارش‌ها نشان داده‌اند که رابطه‌ای مستقیم بین اعمال دماهای متفاوت و افزایش مصرف فسفر توسط داینوفلاژله *Symbiodinium* sp. وجود دارد [۳۶]. تحت شرایط استرس‌زا، مانند کمبود نیتروژن، دیواره سلولی جلبک‌ها تخریب می‌شود. به دنبال آن، کاهش تقسیم سلولی یا رشد و همچنین کاهش تشکیل ترکیبات غشایی گزارش شده است. در این صورت، سلول‌ها اسیدهای چرب را به تری‌گلیسرول تبدیل می‌کنند و میزان لیپید کل برای سازگاری جلبک در برابر شرایط جدید افزایش می‌یابد [۱۴، ۲۰، ۴۷]. مطالعات نشان داده‌اند که نیتروژن و فسفر دو عامل بسیار مهم تغذیه‌ای برای رشد داینوفلاژله‌ها محسوب می‌شوند چراکه، برای رشد، جلبک‌ها نیازمند نور، آب، دی‌اکسید کربن و نمک‌های معدنی هستند. محیط رشد آنها باید دارای منابع ارزشمند غذایی، مثل نیتروژن، فسفر، آهن و مقادیری سیلیسیوم، نیز باشد. احتمالاً، در پژوهش حاضر، این عامل موجب تفرق و برتری محیط کشت ASP₁₂ بر محیط کشت‌های ASP₈، F₂ و L₁ شده است. در محیط کشت ASP₁₂، نیتروژن (g/L NaNO₃ ۱۰۰/۳۰) و فسفر (g/L Na₂-Glycerophosphate ۱۹/۳۵) بیشتری، در مقایسه با محیط کشت‌های دیگر، مورد نیاز است. همچنین تنظیم pH، برای شرایط کشت ایدئال، بسیار حائز اهمیت است. از این رو، وجود HEPES (2-(-4-

در پژوهش حاضر، غیر از محیط کشت‌های سوسپانسیونی مذکور، از دستگاه کشت فتوبیورآکتور هم استفاده شد. در طول دهه گذشته، مدلی جدید از فتوبیورآکتور در ارتباط با کشت جلبک عرضه شده است که، در آن، ریزجلبک به صورت غیرمتحرک روی صفحه بیوفیلم قرار می‌گیرد و، از طریق نیروی اسمزی، مواد غذایی موجود در محیط کشت را جذب و رشد می‌کند. این نوع فتوبیورآکتور که در این پژوهش نیز از آن استفاده شده است، با نام PBRs (Photobioreactor)، مشکلات استرسی ناشی از نیروی هیدرودینامیکی آب را، از طریق بی‌تحرک کردن جلبک روی صفحه بیوفیلم، برطرف کرده است. علاوه بر آن، کمترین خطر آلودگی جلبک، کاهش حضور باکتری‌ها و حداقل تبخیر در آن وجود دارد و، در نتیجه، میزان رشد درخورد توجه و حداکثر تولید بیوماس را ایجاد کرده است. بنابراین، کشت داینوفلاژله‌های همزیست در مقیاس فنی قابل‌اجراست [۲، ۳، ۲۳، ۳۰، ۴۰]. طبق گزارش‌ها، ریزجلبک‌های داینوفلاژله و دیگر جلبک‌های حساس به نیروی هیدرودینامیک آب می‌توانند با موفقیت روی بیوفیلم فتوبیورآکتور کشت یابند و رشد کنند [۲۷، ۲۹]. در پژوهش حاضر، این تکنولوژی برای تولید پریدینین از داینوفلاژله *Symbiodinium* sp. در یک بیوفیلم فتوبیورآکتور در مقیاس آزمایشگاهی استفاده شد. علاوه بر این، کاغذهای چاپ ساده به مثابه بستر کشت، برای بی‌تحرکی سلول‌های ریزجلبکی مذکور، بدون صرف هزینه اقتصادی در نظر گرفته شد. بنابراین، دستگاه کشت فتوبیورآکتور نشان‌دهنده پتانسیل اقتصادی مطلوب برای تولید پریدینین در مقیاس آزمایشگاهی است.

علاوه بر این، دو مطالعه دیگر کشت ریزجلبک *Symbiodinium voratum* در دستگاه کشت فتوبیورآکتور صورت گرفت بدین صورت که، بعد از مراحل کشت سوسپانسیونی و به‌اشباع‌رسیدن ریزجلبک مذکور، محیط کشت سوسپانسیونی سانتریفیوژ شد و به دیسک‌های کشت در سیستم دولایه فتوبیورآکتور به مساحت انتقال داده شد. کشت در دستگاه مذکور در بیوفیلم‌های PBRs در گلخانه، تحت دما و نور ۲۵±۳ و ۷۳، ۴۰۹ و ۴۱۷ μE. m⁻². s⁻¹ انجام پذیرفت. به همراه کشت بیوفیلم، کشت فتوبیورآکتور سوسپانسیونی (حاوی نیروی هیدرودینامیکی) هم انجام گرفت. نتایج گزارش‌شده بیشترین بیوماس تولیدشده در بیوفیلم PBRs را به مقدار ۴/۳-۱۱ g/m².day نشان داد. همچنین پریدینین تولیدشده در بیوفیلم PBRs به میزان ۰/۱۹-۰/۲۴ g/m².day مشاهده شد. میزان بیوماس تولیدشده در بیوفیلم فتوبیورآکتور با فتوبیورآکتور سوسپانسیونی مقایسه شد. نتایج کاهش بیوماس درخورد ملاحظه‌ای را به میزان ۰/۴ نشان داد. در نتیجه، طبق نتایج مذکور، کشت داینوفلاژله *Symbiodinium voratum* در بیوفیلم به صورت غیرمتحرک انجام شد. این امر از نیروی هیدرودینامیک وارده که نوعی استرس تلقی می‌شود

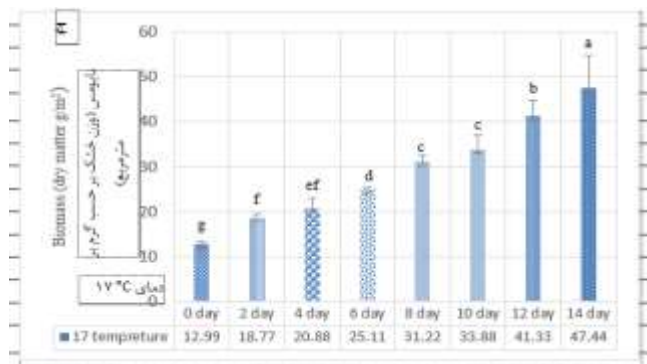
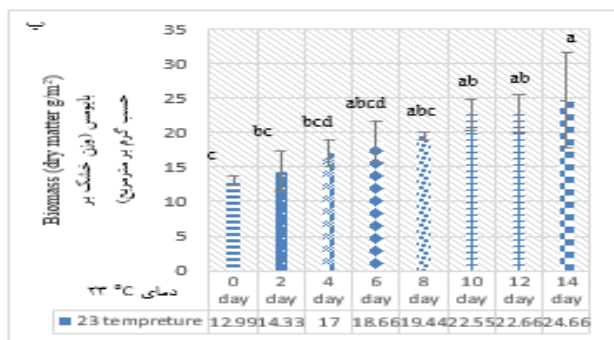
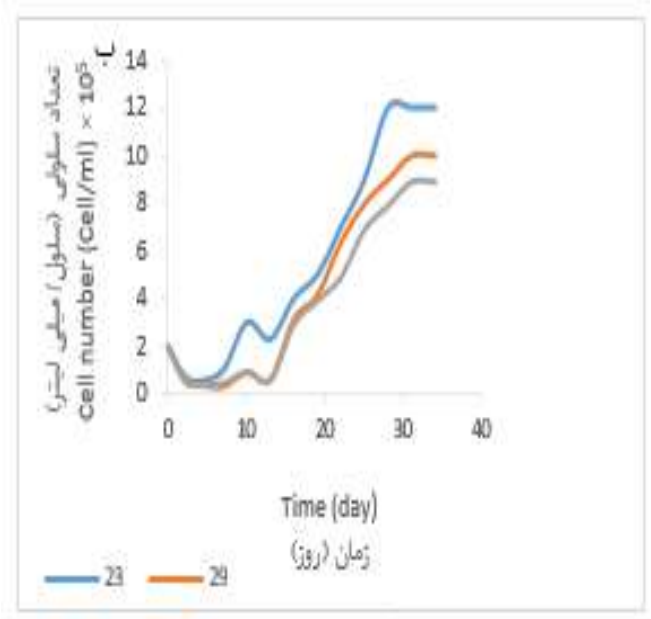
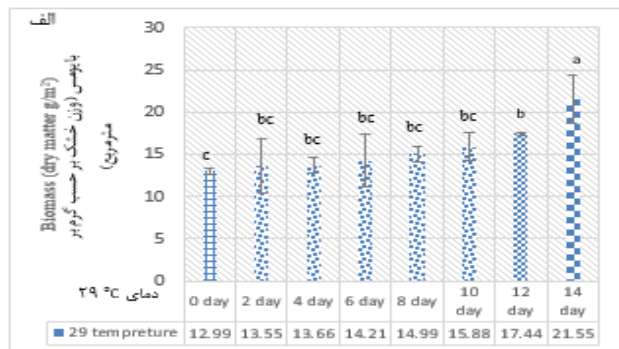
مدت، به دلیل سازش در برابر شرایط استرسی، از خود نشان داده باشد. در این صورت، با توجه به نتایج و همچنین اهمیت نقش کمپلکس تجزیه کننده آب در ادامه جریان انتقال الکترون فتوسیستم II، می توان گفت کاهش کارایی کمپلکس تجزیه کننده آب بر اثر کاهش دما احتمالاً در کاهش میزان انتقال الکترون به پذیرنده های الکترون فتوسیستم II نقش دارد و اختلال در فعالیت زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II (E0Φ) در ریزجلبک داینوفلاژله گونه مذکور بر اثر کاهش دما ممکن است به علت کاهش کارایی کمپلکس تجزیه کننده آب تحت تنش سرما باشد [۳۳، ۴۸]. طبق نتایج این بررسی، حداکثر نرخ رشد ویژه سلول های داینوفلاژله در محیط کشت سوسپانسیونی ASP₁₂ در محدوده دمایی ۱±۲۳ °C مشاهده شد و با نتایجی که که فتوسنتز داینوفلاژله *Symbiodinium microadriaticum* را در محدوده دمایی ۲۰-۳۵ °C گزارش کردند مطابقت دارد [۱۲]. بر اساس نتایج، تراکم سلولی داینوفلاژله کلاد D و گونه *Amphidinium carterae*، به ترتیب، در محدوده ۱-۶×۱۰^۵ و ۲۳/۳×۱۰^۵ cell/ml گزارش شده است. این میزان با نتایج این پژوهش (۱۲×۱۰^۵ Cell/ml) همخوانی نداشت. دمای مطلوب برای نرخ رشد داینوفلاژله *Gymnodinium* در محیط کشت سوسپانسیونی در محدوده ۲۰-۴۲ °C گزارش شده است و با بررسی های موجود در این مقاله که دمای ۱±۲۳ °C بهترین دمای رشد زئوزانتلا در محیط کشت سوسپانسیونی ASP₁₂ است مطابقت دارد (شکل ۱، الف). طبق نتایج، داینوفلاژله *Prorocentrum belizeanum* در محدوده دمایی ۲۸، ۲۵ و ۱۸ °C حداکثر میزان رشد بهینه را در محدوده دمایی ۲۵ °C نشان داده است [۲۵]. همچنین داینوفلاژله *Symbiodinium thermophilum* همزیست با مرجانیان خلیج فارس و دریای عرب در برابر افزایش دمایی ۳۵ °C در تابستان مقاومت داشته است [۱۱].



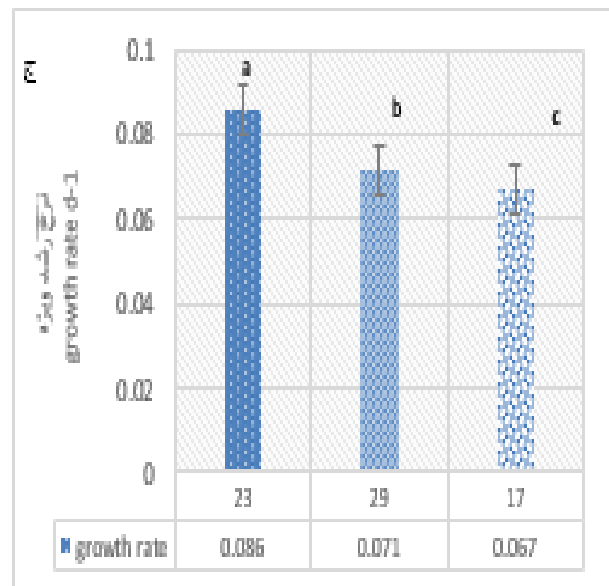
شکل ۱-الف مقایسه رشد *Symbiodinium sp.* تحت محیط کشت های ASP₈، ASP₁₂، F₂-Gilard و L₁ برای تعیین محیط کشت انتخابی و اندازه گیری شاخص میتوزی. با توجه به نمودار، بیشترین تراکم سلول های *Symbiodinium sp.* در محیط کشت ASP₁₂ به مقدار ۴×۱۰^۵ Cell/ml مشاهده شد. نتایج آماری اختلافی معنادار را در تراکم سلولی داینوفلاژله در محیط کشت ASP₁₂، در مقایسه با محیط کشت های ASP₈ و L₁ نشان می دهد (P<0.05).

جلوگیری کرد و موجب تولید حداکثر بیوماس شد. بنابراین، پیشرفت های اخیر برای تجاری سازی رنگدانه پریدینین موفقیت آمیز است [۲]. طبق یافته ها، ریزجلبک *Symbiodinium sp.* در محیط کشت L₁ تحت شدت نوری ۰.۱۷ μE. m⁻². s⁻¹ ۱۰۰۱ کشت داده شد و، در نتیجه، میزان غلظت کلروفیل a و c، پریدینین و دیادینوزانتین، به ترتیب، به مقدار ۰/۹۰، ۰/۳۴، ۰/۸۶، و ۰/۱۷ μg/ml گزارش شده است [۳۸]. همچنین، طبق گزارش ها، پریدینین و نوپریدینین در حدود ۸۴ درصد از کل کاروتنوئید را در داینوفلاژله *Amphidinium sp.* به خود اختصاص داده اند [۱۳]. گزارش ها نشان داده اند کشت داینوفلاژله *Alexandrium minutum* برای تولید پریدینین در کشت سوسپانسیونی فتوبیورآکتور PBRs امکان پذیر بوده به طوری که تولید پریدینین به مقدار ۰/۳۵ g/L.day گزارش شده است که فشار هیدرودینامیکی آب و نرخ جریان را دو عامل اصلی بازدارندگی رشد در نظر گرفته اند. همچنین بهترین نرخ جریان در هر دو محیط کشت سوسپانسیونی و ثابت در فتوبیورآکتور به مقدار ۰/۲-۴/۵ L/min گزارش شده است [۶، ۷، ۳۱]. بیشترین میزان تولید پریدینین از داینوفلاژله در فتوبیورآکتور PBRs به مقدار ۰/۷-۳/۳ درصد [۱۵] و ۰/۹-۱/۷ درصد [۲] از وزن خشک گزارش شده است.

در پژوهش حاضر، با توجه به نتایج کشت ریزجلبک *Symbiodinium sp.* در دستگاه کشت فتوبیورآکتور و نتایج گزارش های ثبت شده در این قسمت، به ترتیب، غلظت پروتئین، پریدینین و کلروفیل a تحت دمای شاهد (۱±۲۳ °C) به میزان ۴۵/۰۳ درصد، ۱۱/۸۱ و ۹/۳۳ mg/L مشاهده شد. با توجه به دمای شاهد، بیشترین غلظت کلروفیل a، پریدینین و درصد پروتئین در دمای ۱±۱۷ °C به مقدار ۳۸/۵۹ mg/L، ۲۹/۹۶ mg/L و ۷۵/۳۳ درصد مشاهده شد. همچنین این مقدار در دمای ۱±۲۹ °C به مقدار ۱۲/۶۷ mg/L، ۱۰/۸۳ mg/L و ۶۱/۰۳٪ محاسبه شد. انتظار می رود دمای ۱±۱۷ °C به مثابه دمای استرس زا معرفی شود زیرا زمانی که جلبک تحت شرایط استرسی قرار گیرد غلظت پریدینین و پروتئین، در مقایسه با غلظت کلروفیل a افزایش می یابد. ناگفته نماند که، تحت شرایط مطلوب، نسبت رنگدانه پریدینین به کلروفیل a در گونه مورد مطالعه با نسبت ۱/۲ گزارش شده است که تقریباً همین نسبت در غلظت رنگدانه ها تحت دمای شاهد (۱±۲۳ °C) با نسبت تقریبی یک و نیم برابر مشاهده می شود. اما این سؤال مطرح است که اگر دمای ۱±۱۷ °C دمای استرس زا معرفی شود چرا غلظت کلروفیل a در داینوفلاژله مورد مطالعه تحت دمای استرسی به میزان بیشتری، در مقایسه با غلظت رنگدانه پریدینین، مشاهده می شود. این امر بدین دلیل است که، با توجه به نتایج، داینوفلاژله مورد مطالعه در این پژوهش گونه مقاوم به دمای استرسی است و نیازی به کاهش فعالیت در مرکز واکنش فتوسیستم II در نتیجه کاهش زنجیره انتقال الکترون، کاهش رشد و کاهش غلظت رنگدانه کلروفیل a برای سازگاری با شرایط استرسی ندارد چراکه خود گونه ای مقاوم و قادر به تحمل پارامتر استرسی مذکور در طی کوتاه مدت (۱۴ روز) است. اما، طبق نتایج کشت سوسپانسیونی، کمترین تعداد، نرخ رشد ویژه تحت دمای ۱±۱۷ °C مشاهده شده است که این خود ممکن است به دلیل فشار نیروی هیدرودینامیکی آب به مثابه استرس وارده به جلبک و در نتیجه کاهش رشد باشد یا ممکن است ریزجلبک مذکور طی بلندمدت در محیط کشت سوسپانسیونی نتیجه ای عکس را، در مقایسه با فتوبیورآکتور در طی کوتاه



شکل ۱-ب مقایسه رشد *Symbiodinium sp.* تحت دماهای متفاوت در محیط کشت سوسپانسیونی ASP12. با توجه به نمودار، بیشترین تعداد سلول‌های *Symbiodinium sp.* در دمای 23 ± 1 °C، به میزان 12×10^5 Cell/ml مشاهده شد. همچنین تعداد سلولی در دماهای 29 ± 1 °C و 17 ± 1 °C، به ترتیب، به مقدار 1×10^6 و 9×10^5 Cell/ml مشاهده شد. نتایج آماری (Repeated measures) اختلافی معنادار را در مقایسه آنالیز تعداد سلولی در بین دماهای متفاوت، طی ۳۴ روز، نشان می‌دهد ($P < 0.05$).



شکل ۲ استفاده از سیستم کشت فتوبیورآکتور تحت شرایط دمایی متفاوت برای اندازه‌گیری میزان زیست‌توده تولید شده.

الف) میزان زیست‌توده تولیدی (g) تحت دمای 29 ± 1 °C در هر مترمربع طی ۱۴ روز، به ترتیب، به مقدار ۱۲/۹۹، ۱۳/۵۵، ۱۳/۶۶، ۱۴/۲۱، ۱۴/۹۹، ۱۵/۸۸، ۱۷/۴۴ و ۲۱/۵۵ g.m-2 مشاهده شد. نتایج آماری (تحلیل واریانس یک‌طرفه) نشان می‌دهد اختلافی معنادار در میزان تولید بیوماس وجود دارد ($P < 0.05$).

ب) میزان بیوماس تولیدی (g) تحت دمای 23 ± 1 °C در هر مترمربع طی ۱۴ روز، به ترتیب، به مقدار ۱۲/۹۹، ۱۴/۳۳، ۱۷، ۱۸/۶۶، ۱۹/۴۴، ۲۲/۶۶ و ۲۴/۶۶ g.m-2 مشاهده شد. نتایج آماری (تحلیل واریانس یک‌طرفه) نشان می‌دهد اختلافی معنادار در میزان تولید بیوماس وجود دارد ($P < 0.05$).

ج) میزان بیوماس تولیدی (g) تحت دمای 17 ± 1 °C در هر مترمربع طی ۱۴ روز، به ترتیب، به مقدار ۱۲/۹۹، ۱۸/۷۷، ۲۰/۸۸، ۲۵/۱۱، ۳۱/۲۲، ۳۳/۸۸ و ۴۱/۳۳ g.m-2 مشاهده شد. نتایج آماری (تحلیل واریانس یک‌طرفه) نشان می‌دهد اختلافی معنادار در میزان تولید بیوماس وجود دارد ($P < 0.05$).

شکل ۱-ج مقایسه نرخ رشد ویژه سلول‌های داینوفلازله طی دماهای متفاوت در محیط کشت ASP12. بیشترین نرخ رشد ویژه سلول‌های *Symbiodinium sp.* در دمای 23 ± 1 °C به مقدار ۰/۰۸۶.

فاکتورهای محیطی، از جمله دما، در حالت استرس‌زا، بر میزان تولید بیوماس سلولی تأثیرگذارند. از آنجاکه پریدینین، به‌مثابه آنتی‌اکسیدانی قوی، توان حفاظت علیه استرس‌های فیزیولوژیکی القاشده بر اثر پارامترهای محیطی، مانند دما، را دارد، می‌توان نتیجه گرفت که شقایق دریایی توانسته است اثر آسیب فاکتور استرس دمایی را به‌کمک داینوفلاژله همزیست در شقایق دریایی برطرف کند و با شرایط محیطی سازگار شود. به‌علاوه، با توجه به ویژگی‌های مذکور، پریدینین موجود در داینوفلاژله *Symbiodinium sp.* می‌تواند گزینه‌ای بسیار مناسب در عرصه پزشکی باشد و، برای مثال، مانند در مهار قوی فعال‌سازی آنتی‌ژن اولیه ویروس Epstein-Barr یا هرپس انسانی ۴، القای آپاپتوز سلول‌های سرطانی کولورکتال (روده بزرگ) انسانی با فعال کردن هر دو نوع آنزیم کاسپاز ۸ و ۹ و بهبود بخشیدن به واکنش‌های آلرژیک، مانند بیماری آسم یا درماتیت اتوپیک (atopic dermatitis)، استفاده شود. لذا، در تحقیقات آزمایشگاهی مورد توجه بسیاری قرار گرفته است.

مشارکت نویسندگان

در نگارش مقاله حاضر، نویسندگان سهمی یکسان داشته‌اند.

تشکر و قدردانی

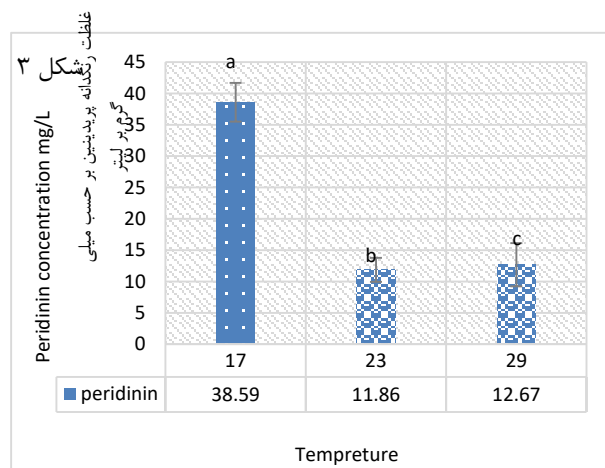
از حمایت‌های سرای نوآوری آزمایشگاه منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، واحد نور مازندران، در انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را داریم.

تعارض منافع

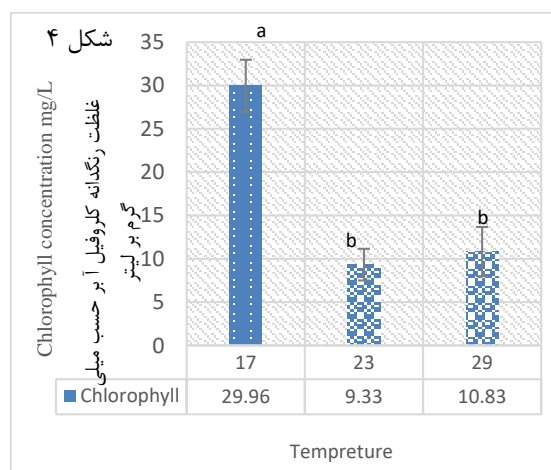
این مقاله بر اساس «تعارض حرفه‌ای و مالکیت فکری: ارتقای سازمانی و نظریات تخصصی شخصی اینجانب، نویسنده مسئول، گردآوری شده است».

منابع

- [1] Arnon, D. I., 1949, "Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*". *Plant Physiol*, 24(1): 1-15 (15 pages).
<https://academic.oup.com/plphys/article/24/1/1/607615>
- [2] Benstein, R. M.; Çebi, Z.; Podola, B. & Melkonian, M., 2014, "Immobilized growth of the peridinin-producing marine dinoflagellate *Symbiodinium* in a simple biofilm photobioreactor". *Mar. Biotechnol*, 16(6): 621-628 (8 pages).
<https://link.springer.com/article/10.1007/s10126-014-9581-0>



شکل ۳ مقایسه غلظت رنگدانه پریدینین تحت دماهای 17 ± 1 ، 23 ± 1 و 29 ± 1 °C در روز چهاردهم. با توجه به نمودار، غلظت پریدینین تحت دماهای مذکور، به ترتیب، به‌مقدار 38.59 ، 11.86 و 12.67 mg/L مشاهده شد. نتایج آماری نشان می‌دهد اختلافی معنادار در میزان تولید پریدینین در روز ۱۴ تحت دمای 29 ± 1 °C، در مقایسه با دماهای دیگر، وجود دارد ($P < 0.05$).



شکل ۴ مقایسه غلظت رنگدانه کلروفیل a تحت دماهای 17 ± 1 ، 23 ± 1 و 29 ± 1 °C در روز چهاردهم. با توجه به نمودار، غلظت کلروفیل a تحت دماهای مذکور، به ترتیب، به‌مقدار 29.96 ، 9.33 و 10.83 mg/L مشاهده شد. نتایج آماری نشان می‌دهد اختلافی معنادار در میزان تولید کلروفیل a در روز ۱۴ تحت دمای 29 ± 1 °C، در مقایسه با دماهای دیگر، وجود دارد ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بی‌حرکی سلول‌های جلبکی روی بیوفیلم فتوبیورآکتور می‌تواند بر نیروهای هیدرودینامیکی آب وارده بر سلول‌های ریزجلبکی موجود در محیط کشت سوسپانسیونی غلبه کند و، در نتیجه، موجب حداکثر تولید رنگدانه‌ها، از جمله پریدینین و بیوماس سلولی شود. پیشرفت‌های اخیر در خصوص کشت ریزجلبک‌ها به‌صورت بی‌حرک در دولاویه فتوبیورآکتور راه‌های جدیدی را برای تجاری‌سازی تولیدات زیستی هموار می‌کند. همچنین این تحقیق نشان داده است که

- “Stichochrysis immobilis is a diatom, not a chrysophyte”. *Phycologia*, 32(3): 234-236 (3 pages).
<https://www.semanticscholar.org/paper/Stichochrysis-immobilis-is-a-diatom%2C-not-a-Guillard-Hargraves/6cac436d3491e570def04c89455ac1133ceafd>
 ed
- [10] Guillard, R. R. & Ryther, J. H., 1962, “Studies of marine planktonic diatoms: I. Cyclotella Nana Hustedt, and Detonula Confervacea (CLEVE) Gran”. *Can. J. Microbiol*, 8(2): 229-239 (11 pages).
<https://europepmc.org/article/med/13902807>
- [11] Hume, B. C.; Voolstra, C. R.; Arif, C.; D’Angelo, C.; Burt, J. A.; Eyal, G. & et al., 2016, “Ancestral genetic diversity associated with the rapid spread of stress-tolerant coral symbionts in response to Holocene climate change”. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*, 113(16): 4416-4421 (6 pages).
<https://www.pnas.org/content/113/16/4416>
- [12] Iglesias-Prieto, R.; Matta, J. L.; Robins, W. A. & Trench, R. K., 1992, “Photosynthetic response to elevated temperature in the symbiotic dinoflagellate Symbiodinium microadriaticum in culture”. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*, 89(21): 10302-10305 (4 pages).
<https://www.pnas.org/content/89/21/10302>
- [13] Jeffrey, S. W. & Haxo, F. T., 1968, “Photosynthetic pigments of symbiotic dinoflagellates (zooxanthellae) from corals and clams”. *The Biological Bulletin*, 135(1): 149-165 (17 pages).
<https://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.2307/1539622>
- [14] Jiang, P. L.; Pasaribu, B.; & Chen, C. S., 2014, “Nitrogen-deprivation elevates lipid levels in Symbiodinium spp. by lipid droplet accumulation: morphological and compositional analyses”. *PLoS One*, 9(1): 1-10 (10 pages).
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0087416>
- [15] Johansen, J.; Svec, W.; Liaaen-Jensen, S. & Haxo, F., 1974, “Carotenoids of the Dinophyceae. *Phytochem*”. *Rev*, 13(10):2261–2271 (11 pages).
- [3] Boelee, N.C.; Janssen, M.; Temmink, H.; Shrestha, R.; Buisman, CJN. & Wijffels, R.H., 2014, “Nutrient removal and biomass production in an outdoor pilot-scale phototrophic biofilm reactor for effluent polishing. *Appl*”. *Biochem. Biotechnol*, 172(1): 405–422 (18 pages).
<https://link.springer.com/article/10.1007/s12010-013-0478-6>
- [4] Attaran, F. G. & Loghmani, M., 2020, “Phylogenic study of dinoflagellate Gyrodinium instriatum simultaneous occurrences during red tide of Gonyaulax polygramma isolated from the coastal waters of Ramin (Makoran Sea)”. *joc*, 11 (41): 73-81 (9 pages).
<https://www.sid.ir/en/Journal/ViewPaper.aspx?ID=830681>
- [5] Davy, S. K.; Allemand, D. & Weis, V. M., 2012, “Cell biology of cnidarian-dinoflagellate symbiosis”. *Microbiol. Mol. Biol. Rev*, 76(2): 229-261 (33 pages).
<https://journals.asm.org/doi/10.1128/MMBR.05014-11>
- [6] Fuentes-Grünwald, C.; Garcés, E.; Alacid, E.; Rossi, S. & Camp, J., 2013, “Biomass and Lipid production of dinoflagellates and raphidophytes in indoor and outdoor photobioreactors”. *Mar. Biotechnol*, 15(1): 37–47 (11 pages).
<https://link.springer.com/article/10.1007/s10126-012-9450-7>
- [7] García, Camacho. F.; Gallardo, Rodríguez. J.; Sánchez, Mirón. A.; Belarbi, E.H.; Chisti, Y. & Molina-Grima, E., 2011, “Photobioreactor scale-up for a shear-sensitive dinoflagellate microalga”. *Proc Biochem*, 46(4): 936–944 (9 pages).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1359511311000110>
- [8] Gibson, C. H.; Thomas, W. H.; 1995, “Effects of turbulence intermittency on growth inhibition of a red tide dinoflagellate, Gonyaulax polyedra Stein”. *Journal of J. Geophys. Res*, 100(C12): 24841-24846 (6 pages).
<https://agupubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1029/95JC02256>
- [9] Guillard, R. R. L. & Hargraves, P. E., 1993,

- [22] Little, A. F.; Van Oppen, M. J. & Willis, B. L., 2004, "Flexibility in algal endosymbioses shapes growth in reef corals". *Science*, 304(5676): 1492-1494 (3 pages).
<https://www.science.org/doi/10.1126/science.1095733>
- [23] Liu, T.; Wang, J.; Hu, Q.; Cheng, P.; Ji, B.; Liu, J. & et al., 2013, "Attached cultivation technology of microalgae for efficient biomass feedstock production". *Bioresour Technol*, 127 (1):216–222 (7 pages).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852412014502>
- [24] Logan, D. D.; LaFlamme, A. C.; Weis, V. M. & Davy, S. K., 2010, flow cytometric characterization of the cell surface glycans of symbiotic dinoflagellates (*Symbiodinium* spp.) 1". *J. Phycol*, 46(3), 525-533 (9 pages).
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1529-8817.2010.00819.x>
- [25] López-Rosales, L.; Gallardo-Rodríguez, J. J.; Sánchez-Mirón, A.; Cerón-García, M. D. C.; Belarbi, E. H.; García-Camacho, F. & et al., 2014, "Simultaneous effect of temperature and irradiance on growth and okadaic acid production from the marine dinoflagellate *Prorocentrum belizeanum*". *Toxins*, 6(1): 229-253 (25 pages).
<https://www.mdpi.com/2072-6651/6/1/229>
- [26] McDuff, R. E. & Chisholm, S. W., 1982, "The calculation of in situ growth rates of phytoplankton populations from fractions of cells undergoing mitosis: a clarification". *Limnol. Oceanogr*, 27(4): 783-788 (6 pages).
<https://aslopubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.4319/lo.1982.27.4.0783>
- [27] Melkonian, M. & Podola, B., 2010, "Method and device for cultivating eucaryotic organisms or blue algae, and biosensor with cultivated eucaryotic organisms or blue algae". *U.S. Patent*, 7,745, 201 B2: 1-7 (7 pages).
<https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2005010140>
- [28] Nitschke, M. R.; Davy, S. K.; Cribb, T. H. & Ward, S.,
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/031942274850387>
- [16] Karim, M. R. & Rahman, M. A., 2015, "Drought risk management for increased cereal production in Asian least developed countries". *Weather Clim. Extremes*, 7(1): 24-35 (12 pages).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212094714000838>
- [17] Kinzie, III. R. A.; Takayama, M.; Santos, S. R. & Coffroth, M. A., 2001, "The adaptive bleaching hypothesis: experimental tests of critical assumptions". *The Biological Bulletin*, 200(1): 51-58 (8 pages).
<https://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.2307/1543084>
- [18] Kluefer, A.; Crandall, J. B.; Archer, F. I.; Teece, M. A. & Coffroth, M. A., 2015, "Taxonomic and environmental variation of metabolite profiles in marine dinoflagellates of the genus *Symbiodinium*". *Metabolites*, 5(1), 74-99 (26 pages).
<https://www.mdpi.com/2218-1989/5/1/74>
- [19] LaJeunesse, T. C. & Trench, R. K., 2000, "Biogeography of two species of *Symbiodinium* (Freudenthal) inhabiting the intertidal sea anemone *Anthopleura elegantissima* (Brandt)". *The Biological Bulletin*, 199(2): 126-134 (9 pages).
<https://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.2307/1542872>
- [20] Lin, I.P.; Jiang, P.L.; Chen, C.S. & Tzen, J.T.C., 2012, "A unique caleosin serving as the major integral protein in oil bodies isolated from *Chlorella* sp. cells cultured with limited nitrogen". *Plant Physiol. Biochem.* 61(1): 80-87 (8 pages).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0981942812002513>
- [21] "Study of the morphology and ultrastructure of the symbiotic Zootaxanthellae extracted from *Stichodactyla haddoni* from coast of Hormuz Island". *joc.* 11(42): 105-110 (6 pages).
http://joc.inio.ac.ir/browse.php?a_code=A-10-615-3&sid=1&slc_lang=en&ppup=1

- pages).
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/nl8011648>
- [35] Polne-Fuller, M., 1991, "A Novel Technique for Preparation of Axenic Cultures of Symbiodinium (Pyrophyta) Through Selective Digestion by Amoebae1". *J. Phycol*, 27(4) :552-554 (3 pages).
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.0022-3646.1991.00552.x>
- [36] Powell, N.; Shilton, A. N.; Pratt, S. & Chisti, Y., 2008, "Factors influencing luxury uptake of phosphorus by microalgae in waste stabilization ponds". *Environ. Sci. Technol*, 42(16), 5958-5962 (5 pages).
<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es703118s>
- [37] Porra, R. J.; Thompson, W. A. & Kriedemann, P. E., 1989, "Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy". *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg*, 975(3): 384-394 (11 pages).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0005272889803470>
- [38] Rogers, J. E. & Marcovich, D., 2007, "A Simple Method for the Extraction and Quantification of Photopigments from Symbiodinium Spp". *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*, 353(2): 191-197 (7 pages).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022098107004492>
- [39] Roy, S.; Llewellyn, C. A.; Egeland, E. S. & Johnsen, G. (Eds.), 2011, *Phytoplankton pigments: characterization, chemotaxonomy and applications in oceanography*. Cambridge University Press. Book. 1-823 (823 pages).
<https://www.cambridge.org/ir/academic/subjects/earth-and-environmental-science/oceanography-and-marine-science/phytoplankton-pigments-characterization-chemotaxonomy-and-applications-oceanography?format=HB&isbn=9781107000667>
- [40] Shi, J.; Podola, B. & Melkonian, M., 2007, "Removal 2015, "The effect of elevated temperature and substrate on free-living Symbiodinium cultures". *Coral Reefs*, 34(1): 161-171 (11 pages).
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00338-014-1220-8#article-info>
- [29] Nowack, E. C.; Podola, B. & Melkonian, M., 2005, "The 96-well twin-layer system: a novel approach in the cultivation of microalgae". *Protist*, 156(2), 239-251 (13 pages).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1434461005000386>
- [30] Olivieri, G.; Salatino, P. & Marzocchella, A., 2014, "Advances in photobioreactors for intensive microalgal production: configurations, operating strategies and applications". *J. Chem. Technol. Biotechnol*, 89(2): 178-195 (18 pages).
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jctb.4218>
- [31] Parker, N.; Negri, A. & Frampton, D., 2002, "Growth of the toxic dinoflagellate *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) using high biomass culture systems". *J Appl Phycol*, 14 (5):313–324 (14 pages).
<https://link.springer.com/article/10.1023/A:1022170330857#article-info>
- [32] Pasaribu, B.; Li, Y. S.; Kuo, P. C.; Lin, I. P.; Tew, K. S.; Tzen, J. T. & et al., 2016, "The effect of temperature and nitrogen deprivation on cell morphology and physiology of Symbiodinium". *Oceanologia*, 58(4): 272-278 (7 pages).
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00338-020-01932-8#article-info>
- [33] Pereira, W. E.; de Siqueira, D. L.; Martínez, C. A. & Puiatti, M., 2000, "Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminium stress". *J. Plant Physiol*, 157(5): 513-520 (8 pages).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0176161700801066?via%3Dihub>
- [34] Podsiadlo, P.; Michel, M.; Lee, J.; Verploegen, E.; Wong Shi Kam, N.; Ball, V. & et al., 2008, "Exponential growth of LBL films with incorporated inorganic sheets". *Nano Lett*, 8(6): 1762-1770 (9

- Hidrobiológica*, 21(1): 34-48 (15 pages).
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57820771004>
- [45] Venugopal, V., 2008, "Marine products for healthcare: functional and bioactive nutraceutical compounds from the ocean". *CRC press*. 1-528 (528 pages).
<https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/9781420052640/marine-products-healthcare-vazhiyil-venugopal>
- [46] Weng, L. C.; Pasaribu, B.; Lin, I P.; Tsai, C. H.; Chen, C. S. & Jiang, P. L., 2014, "Nitrogen deprivation induces lipid droplet accumulation and alters fatty acid metabolism in symbiotic dinoflagellates isolated from *Aiptasia pulchella*". *Sci. Rep*, 4(1): 1-8 (8 pages).
<https://www.nature.com/articles/srep05777>
- [47] Yeesang, C. & Cheirsilp, B., 2011, "Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand. *Bioresour. Technol*, 102(3): 3034-3040 (7 pages).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085241001669X>
- [48] Zouni, A.; Witt, H. T.; Kern, J.; Fromme, P.; Krauss, N.; Saenger, W. & Orth, P., 2001, "Crystal structure of photosystem II from *Synechococcus elongatus* at 3.8 Å resolution". *Nature*, 409(6821): 739-743 (5 pages).
<https://www.nature.com/articles/35055589>
- of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae immobilized on twin layers: an experimental study". *J. Appl Phycol*, 19 (5): 417-423 (7 pages).
<https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-006-9148-1>
- [41] Strychar, K. B.; Coates, M.; Sammarco, P. W.; Piva, T. J. & Scott, P. T., 2005, "Loss of Symbiodinium from bleached soft corals *Sarcophyton ehrenbergi*, *Sinularia* sp. and *Xenia* sp". *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*, 320(2): 159-177 (19 pages).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022098105000286>
- [42] Takaichi, S, 2011, "Carotenoids in algae: distributions, biosyntheses and functions". *Mar. Drugs*, 9(6): 1101-1118 (18 pages).
<https://www.mdpi.com/1660-3397/9/6/1101>
- [43] Thomas, P.H. & Carr, NG., 1985, "The invariance of macromolecular composition with altered light limited growth rate of *Amphidinium carteri* (Dinophyceae)". *Arch. Microb*, 142 (1):81- 86 (6 pages).
<https://link.springer.com/article/10.1007/BF00409242>
- [44] Valenzuela-Espinoza, E.; Millán-Núñez, R.; Santamaría-del-Ángel, E. & Trees, C. C., 2011, "Macronutrient uptake and carotenoid/chlorophyll a ratio in the dinoflagellate *Amphidinium carteri* Hulburt, cultured under different nutrient and light conditions".

AUTHOR(S) BIOSKETCHES


Tahmasebi Malekrodi, Hamideh., Postgraduate, Department of Biology, Faculty of Marine Sciences and Natural Resources, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

✉ Hamideh.tahmasebi26@gmail.com

 0000-0002-4839-0621

zarej Darki, Bhrouz., Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Marine Sciences and Natural Resources, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

✉ zareidarki@modares.ac.ir

 0000-0003-4308-8376

این قسمت توسط نشریه تکمیل می‌گردد:

HOW TO CITE THIS ARTICLE



Citation (Vancouver) Parsi, M.; Akbarpour Jannat, M.R., (2021). Tsunami warning system using of IoT. *J. of Oceanography*, Spring 2021; 11(44): 1-17.

 <http://doi.org/10.52547/joc.14.54.5>

 <http://joc.inio.ac.ir/article-1-1706-fa.html>

 <https://orcid.org/0000-0003-4308-8376>

COPYRIGHTS



©2021 The author(s). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the original authors and source are cited. No permission is required from the authors or the publishers.