بررسی تاثیر محیط کشت بر تراکم سلولی و نرخ رشد ویژه *Scenedesmus obliquus*

سیما فیاضی[۱]، بهروز زارعی دارکی[۲*]، جعفر سیف آبادی[۳]

۱-کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، استان مازندران، نور، پست الکترونی: fayazisima@yahoo.com

۲-استادیار، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، استان مازندران، نور، پست الکترونی: zareidarki@modares.ac.ir

۳-دانشیار، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، استان مازندران، نور، پست الکترونی: seyfabadi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۵ ** نویسنده مسوول* *تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۸*

© نشریه علمی ـ پژوهشی اقیانوس‌شناسی ۱۳۹۴، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس‌شناسی است.

چکیده

در مقاله حاضر اثر ترکیبات سه محیط کشت متفاوت Tamiya، Trenkenshu و Guillard (F/2) بر میزان تراکم سلولی و نرخ رشد ویژه جلبک سبز *Scenedesmus obliquus* Kützing مورد بررسی قرار گرفت. جلبک فوق‌الذکر از جنوب دریای مازندران (ساحل شهر نور) جداسازی و سپس خالص‌سازی شد و در سه تیمار با سه تکرار برای هر کدام کشت داده شد. شمارش سلولی روزانه با سه تکرار به‌وسیله لام هماسیتومتر انجام شد و منحنی رشد جلبک با استفاده از نرم‌افزار اکسل ترسیم گردید. نرخ رشد ویژه (d^{-1}) پس از محاسبه، توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه بین تیمارها مقایسه شد. نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر نشان می‌دهد که بیش‌ترین تراکم سلول‌ها ($۱۰^{۶}\times$ ۱۷ سلول در میلی‌لیتر) در محیط کشت Trenkenshu، و کمترین تراکم سلول‌ها ($۱۰^{۶}\times$ ۷ سلول در میلی‌لیتر) در محیط کشت Guillard است.

کلمات کلیدی: *جلبک سبز، Scenedesmus obliquus، نرخ رشد ویژه، تراکم سلولی، دریای مازندران.*

۱. مقدمه

ریزجلبک‌ها گروه بزرگ و متنوعی از موجودات ساده اتوتروف هستند، که شامل انواع تک‌سلولی تا پرسلولی هستند و از جمله تولیدکنندگان اولیه در زنجیره غذایی بوم‌سامانه‌های آبی محسوب می‌شوند (Demirbas, 2010). جنبه‌های مختلف ویژگی‌های ریزجلبک‌ها، همچون استفاده به عنوان غذا در آبزی-پروری، مکمل غذای انسان، کاربرد آن‌ها در داروسازی و نیز استفاده در تولید سوخت، باعث استفاده از آن‌ها در زمینه‌های گسترده‌ای شده است (Makareviciene et al., 2011). گونه‌های متنوعی از ریزجلبک‌ها در دریاها یافت می‌شوند و تحقیقات زیادی جهت شناسایی آن‌ها انجام شده است. مطالعه ریزجلبک-های بومی منطقه و بررسی پتانسیل کشت انبوه، ارزش غذایی و پی بردن به کاربردهای آن‌ها، از نظر بکارگیری جلبک‌ها در

صنعت کشت و استفاده از فواید آن‌ها، حائز اهمیت است. از میان انواع ریز جلبک‌های مطالعه شده، ریز جلبک‌های رده Chlorophyceae به دلیل داشتن شرایط مناسب (رشد سریع، تولید زی‌توده بالا و تنوع بیش‌تر نسبت به سایر گونه‌های جلبکی)، در صنعت آبزی‌پروری از جایگاه و اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. از این جهت در مقاله حاضر *Scenedesmus* از رده مذکور در آب‌های ساحلی شهرستان نور مورد بررسی قرار گرفت. *Scenedesmus* به صورت سنوبی است، و تعداد سلول-های سنوبی مضربی از عدد دو است که بر حسب تعداد سلول و زواید خار مانند دیواره سلول طبقه‌بندی می‌شوند (سلطانی و غفاری، ۱۳۹۳). سندسموس از نظر پراکنش در بوم‌سامانه‌های آب شیرین و دریایی وجود دارد. از بوم‌سامانه‌های آبی ایران تاکنون ۲۷ گونه از جنس *Scenedesmus* گزارش شده است (زارعی دارکی، ۱۳۹۰). در جهان تاکنون تقریباً ۴۳۳ گونه از این جنس گزارش شده است (Guiry and Guiry, 2014). جنس *Scenedesmus* در همه آب‌های شیرین و لب شور وجود دارد و برای تولید زی‌توده در بیوتکنولوژی به‌کار برده می‌شود. برخی گونه‌های این جنس به دلیل دارا بودن مقدار قابل ملاحظه پروتئین ۴۵ تا ۵۶ درصد به صورت انبوه کشت داده می‌شوند (ریاحی، ۱۳۸۷). گونه *Scenedesmus obliquus* Kützing به عنوان یکی از گونه‌های تجاری مهم برای حذف برخی کاتیون‌های سمی مانند کادمیوم از منابع آبی، قابل استفاده در صنعت می‌باشد (Gopinathan, 1986). این ریزجلبک از لحاظ داشتن مقادیر قابل توجه اسید چرب از نظر تولید سوخت طبیعی مطرح است (Richmond, 2004). جهت رشد جلبک‌های میکروسکپی در شرایط آزمایشگاهی به محیط‌های کشت مناسب برای گونه مورد نظر نیاز است. جلبک‌های شاخه‌های مختلف، تفاوت‌های اساسی از نظر رشد در محیط کشت‌های متفاوت را نشان می‌دهند، که بستگی به نوع و میزان مواد و ترکیبات موجود در محیط کشت دارد (Chen et al., 2011; Dou et al., 2013).

هر عامل اثرگذار بر فتوسنتز بر رشد نیز تاثیرگذار است. شدت و کیفیت نور، دما، و شوری از جمله عوامل مهم تاثیرگذار بر فتوسنتز هستند. بنابراین تغییر در شرایط محیطی، نظیر تاثیر بر نوع و میزان ازت و نیز تاثیر بر میزان آهن، از جمله تغییرات ناشی از تغییر در شرایط محیطی به‌حساب می‌آیند که می‌توانند باعث ایجاد تغییراتی در سلول شوند (Gopinathan, 1986; Li et al., 2011; Seyfabadi et al., 2011). به عنوان مثال، کاهش فیکوسیانین و کلروفیل a به‌دنبال محدودیت آهن رخ می‌دهد (Toyub et al., 2008; Ruangsomboon et al., 2012). افزایش میزان آمونیوم تا ۰/۰۰۲ مولار در محیط کشت باعث افزایش ۳۲ درصدی آگار در جلبک *Gracilaria corticata* می‌شود (رفیعی و همکاران، ۱۳۹۴). از آن جایی‌که روش‌های کشت جلبک‌های مختلف نیاز به آگاهی مشخصی از نیازهای تغذیه‌ای آن‌ها دارد، در این تحقیق نتایج یک مطالعه آزمایشی در رابطه با اثر ترکیبات غذایی در سه محیط کشت متفاوت روی رشد ریزجلبک *S. obliquus*، بررسی شده است (Gopinathan, 1986).

۲. مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری جلبک *S. obliquus* از ساحل دریای مازندران، در حوالی دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس به‌وسیله تور پلانکتون‌گیری با مش‌بندی ۵۵ میکرونی، و نمونه‌بردار روتنر ۲ لیتری انجام گردید. نمونه‌ها در کمترین زمان ممکن به آزمایشگاه گروه بیولوژی دریا در دانشگاه تربیت مدرس جهت آماده‌سازی و شناسایی انتقال داده شدند. سپس جهت جداسازی و خالص‌سازی جلبک *S. obliquus* از سایر میکروارگانیسم‌ها و ریزجلبک‌ها، از روش کشت خطی و پلیت آگار و تکرار کشت مایع استفاده شد. پس از خالص‌سازی، *S. obliquus* در سه محیط کشت Trenkenshu، Tamiya و Guillard کشت داده شد (جدول ۱).

جهت استریل نمودن اتاق کشت از لامپ UV به‌مدت نیم ساعت استفاده شد. تمامی وسایل شیشه‌ای ابتدا با آب مقطر شستشو داده شدند، سپس در کوره با دمای ۱۸۰°C به‌مدت یک ساعت خشک و استریل شدند. ارلن‌های حاوی محیط کشت مایع به‌وسیله پنبه و فویل آلومینیومی پوشانده شدند. جهت استریل نمودن در دستگاه اتوکلاو به‌مدت ۲۰ دقیقه با دمای ۱۸۰°C قرار گرفتند. جهت تنظیم نور، از شدت نور ۳۰۰۰ لوکس توسط لامپ‌های فلورسنت و دوره تاریکی/ روشنایی، ۲۴:۰۰ ساعت استفاده شد. نمونه‌های جلبکی در اتاقک رشد مخصوص جلبک کشت داده شدند و شدت نور مورد نظر توسط دستگاه لوکس‌متر به طور دقیق کنترل شد و دمای مناسب جهت رشد جلبک در محدوده (±SE) ۲۵ ±۰/۵ °C در اتاقک رشد مدل Binder ساخت آلمان، به شکل ثابت تنظیم گردید.

جدول ۱: مشخصات محیط‌های کشت (Wasser, 1989؛ Kilham و همکاران، ۱۹۹۸؛ Trenkenshu و همکاران، ۲۰۰۹)

Guillard			Tamiya			Trenkenshu	
نام محلول	نوع ماده	گرم در لیتر	نام محلول	نوع ماده	گرم در لیتر	نوع ماده	گرم در لیتر
Main solution	$NaNo_3$	۰,۰۷۵	Main solution	KNO_3	۵	$NaNo_3$	۱,۸
	$NaH_2Po_4.H_2O$	۰,۰۰۵		$K_2H_2PO_4$	۱,۲۵	$NaH_2Po_4.2H_2O$	۰,۳
	$Na_2Sio_3.9H_2O$	۰,۰۳		$MgSO_4.7H_2O$	۲,۵	Na_2 EDTA	۰,۰۳۷
	EDTA Na	۰,۰۰۴۳		Disodium EDTA	۰,۰۳۷	$FeC_6H_8O_7.7\ H_2O$	۰,۰۴۲
	Biotin	۰,۰۰۰۵		$FeSO_4.7H_2O$	۰,۰۰۹	$Mncl_2.4H_2O$	۰,۰۰۸
	Thiamine	۰,۰۰۰۰۱		Filtrated seawater	۱۰۰۰ میلی‌لیتر	$Co(NO_3)_2.6H_2O$	۰,۰۰۶۲۵
	B_{12}	۰,۰۰۰۵		TES	۱ میلی‌لیتر	$(NH_4)_6MoO_7.4H_2O$	۰,۰۰۱۸۳
	Trace element solution	۱ میلی‌لیتر				$K_2Cr_2(SO_4)_2.24H_2O$	۰,۰۰۲۳۸
	Filtrated seawater	۱۰۰۰ میلی‌لیتر				TiO_2	۰,۰۰۰۰۵۸
	TES	۱ میلی‌لیتر					
Trace element solution	$FeC_{12}.6H_2O$	۰,۳۲	Trace element solution	H_2BO_3	۲,۸۶		
	$Mncl_{12}.4H_2O$	۰,۰۲		$Mncl_2.4H_2O$	۱,۸۱		
	$CuSO_4.5\ H_2O$	۰,۰۰۱		$ZnSO_4.7H_2O$	۰,۲۲۲		
	$ZnSO_4.7H_2O$	۰,۰۰۲		NH_4VO_3	۰,۰۲۳		
	$CoC_{12}.6H_2O$	۰,۰۰۱		MoO_3	۰,۰۱۵		
	$Na_2MoO_4.2H_2O$	۰,۶		$Na_2MoO_4.2H_2O$	۰,۰۲۳		
	Ditilled water	۱۰۰ میلی‌لیتر					

جهت کشت جلبک از سه محیط کشت Trenkenshu، Tamiya و Guillard استفاده شد. سه محیط کشت معرفی شده دارای تعدادی ترکیبات مشابه هستند که از میان آن‌ها ازت، آهن و فسفر اهمیت بیش‌تری دارند. بنابراین یکی از عمده تفاوت‌های این سه محیط تفاوت در میزان هر یک از این سه ترکیب است. جهت تهیه یک لیتر از هر محیط کشت، ترکیبات نمکی هر یک به ترتیب به آب مقطر اتوکلاو شده افزوده گردید، و عمل هم‌زنی پیوسته به‌وسیله هم‌زن انجام شد (Wasser, 1989). لازم به ذکر است در محیط کشت Guillard از یک لیتر آب دریای فیلتر شده و اتوکلاو شده استفاده شد. در این محیط کشت، محلول مربوط به ریزمغذی‌ها جداگانه به‌وسیله آب مقطر تهیه و به محیط کشت افزوده شدند (Kilham et al., 1998). همچنین در محیط کشت Tamiya محلول آهن و محلول مربوط به ریزمغذی‌ها به وسیله آب مقطر تهیه گردید و جداگانه به محیط کشت افزوده شد. جهت کشت تا حجم یک لیتر، محیط کشت حاوی جلبک کشت داده شده در کنار شعله به محیط کشت‌های استریل تلقیح شد، تا جایی‌که میزان نور عبوری[1] به ۹۲ تا ۹۳ درصد رسید (Trenkenshu et al., 2009). جهت به‌دست آوردن این میزان نور عبوری حین افزودن محیط کشت حاوی جلبک، میزان جذب نوری محیط کشت به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد تا به میزان مورد نظر رسید. ظروف حاوی محیط کشت در دمای ۲۵ °C قرار داده شدند، و با استفاده از پمپ هواده با قدرت ۲ لیتر در دقیقه، هوادهی محیط کشت انجام شد.

شمارش نمونه‌ها به مدت ۳۱ روز، روزانه و با سه تکرار برای هر نمونه و با استفاده از لام هماسیتومتر (نئوبار) به‌وسیله میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰ انجام گرفت (Guillard, 1973). جهت شمارش سلولی از فرمول ۱ استفاده شد.

فرمول ۱: تراکم سلولی در میلی لیتر= کل سلول‌های شمارش شده × 10^4× فاکتور رقت

همچنین مقادیر نرخ رشد ویژه (μ) از فرمول ۲ محاسبه شد (Levasseur et al., 1993).

فرمول ۲: $\mu = k = 1/Log2 \times 1/t \times (Log N_t - Log N_o)$

k= ثابت نرخ رشد

N_t= تعداد سلول‌ها در زمان t

N_o= تعداد سلول‌ها در زمان شروع کشت

t= طول زمان کشت (ساعت یا روز)

جهت تعیین میزان جذب[2] یک میلی‌لیتر از محیط کشت مورد نظر در کنار شعله نمونه‌برداری شد و میزان آن به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۷۵۰ نانومتر قرائت شد (Evens and Nieds, 2011).

جهت تعیین وزن خشک، فیلتر کاغذی درون یک پلیت شیشه‌ای قرار داده و در کوره با دمای ۱۰۵ ºC به‌مدت ۲ ساعت

[1] Transmittance

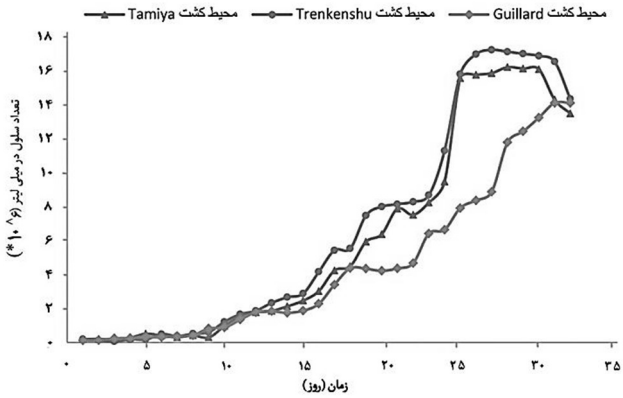
[2] Optical Density

خشک شد. پس از خارج نمودن پلیت از کوره جهت تعدیل دما به مدت ۲۵ دقیقه در دسیکاتور قرار گرفت. سپس فیلتر به کمک پنس از دسیکاتور خارج شد و به‌وسیله ترازوی دیجیتالی OHAUS با حساسیت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون جلبکی روی فیلتر ریخته شد. فیلتر مجددا به داخل پلیت منتقل و در کوره مدل memmert با دمای ۱۰۵ ^{o}C به‌مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و مجددا توزین شد. بر اساس اختلاف وزن اولیه و ثانویه، میزان ماده خشک جلبک بر حسب گرم بر لیتر محاسبه شد (Janelt et al., 1997). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ و ترسیم نمودارها با استفاده از Excel ۲۰۱۰ انجام شد. جهت تعیین نرمالیتی داده‌ها از آزمون کلموگروف اسمیرینوف و جهت همگنی واریانس‌ها از آزمون leven استفاده گردید. جهت بررسی کارایی فاکتورهای اعمال شده در رشد جلبک از آنالیز واریانس یک طرفه و جهت مقایسه میانگین‌های بین تیمارها از آزمون Duncan استفاده شد.

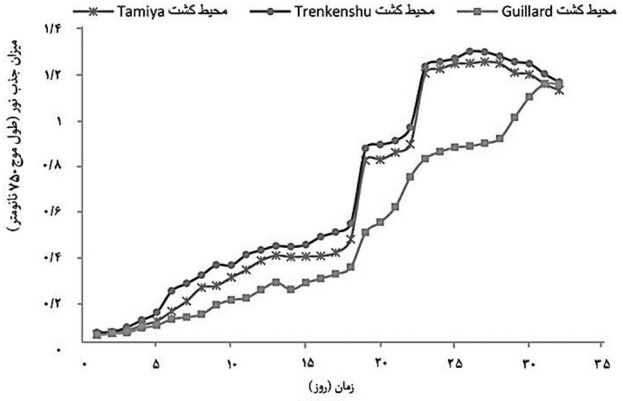
۳. نتایج و بحث

با شمارش سلول‌های جلبک *S. obliquus*، منحنی رشد برای سه محیط کشت Tamyia (کنترل)، Trenkenshu و Guillard ترسیم شد (شکل‌های ۱، ۲ و ۳).

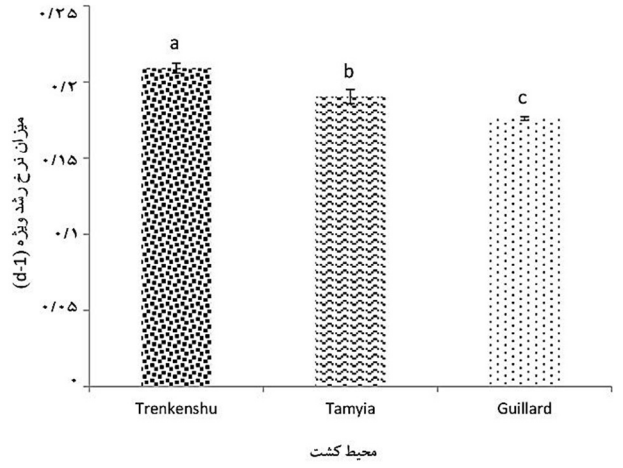
نرخ رشد سلولی جلبک *S. obliquus* (بر اساس شمارش سلولی در محیط کشت‌های مختلف)، بیانگر یک فاز تاخیری در روز اول، ولی افزایش تعداد سلول‌ها از روز دوم به بعد است. بیش‌ترین میزان رشد به‌ترتیب در محیط کشت Trenkenshu و محیط Tamiya و کم‌ترین رشد در محیط Guillard با تعداد ۷×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر، مشاهده شد. تعداد سلول‌ها تا روز ۲۵، یعنی شروع مرحله رشد ایستایی در محیط کشت Trenkenshu حدود ۱۷×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر، و در محیط Tamiya حدود ۱۵×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر ثبت گردید (شکل ۱). هم‌زمان با شمارش سلول‌ها، میزان جذب نوری با طول موج ۷۵۰ نانومتر نیز به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. مقایسه نتایج به‌دست آمده بیانگر نوسانات رشدی تقریبا یکنواخت در هر دو روش است (شکل ۲). این نتایج با یافته‌های Adams و همکاران (۲۰۱۳) که در جلبک *Scenedesmus deserticola* JNU19 در محیط Tamiya کشت داده شده است همخوانی دارد. با مقایسه آنالیز نرخ رشد بین سه محیط کشت، اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). بیش‌ترین نرخ رشد ویژه (۰/۲۰۹ در روز) در محیط کشت Trenkenshu و کمترین نرخ رشد ویژه (۰/۱۷۵ در روز) در محیط کشت Guillard مشاهده گردید (شکل ۳).



شکل ۱: مقایسه میزان رشد سلولی جلبک *S. obliquus* در سه محیط کشت

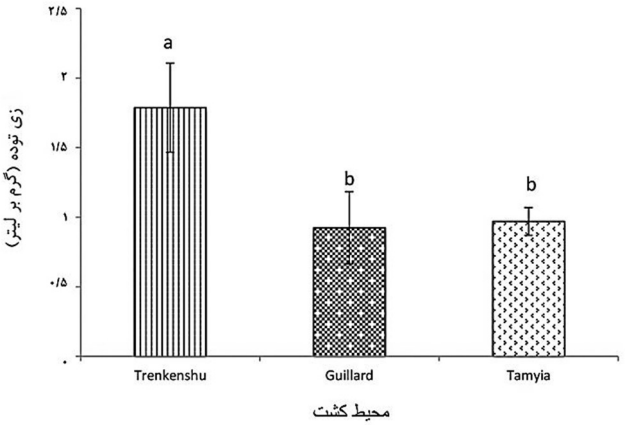


شکل ۲: مقایسه میزان جذب نور جلبک *S. obliquus* در سه محیط کشت



شکل ۳: مقایسه نرخ رشد ویژه (μ) سلولی جلبک *S. obliquus* در سه محیط کشت حروف غیرمشابه نشان از اختلاف معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$)

مقدار زی‌توده گرم در لیتر تولید شده در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵)، به‌طوری‌که کمترین میزان زی‌توده در محیط کشت Guillard با مقدار ۰/۹۲ گرم در لیتر، و بیش‌ترین میزان در محیط Trenkenshu با مقدار ۱/۷۸ گرم در لیتر مشاهده شد (شکل ۴).



شکل ۴: نوسانات زی‌توده جلبک *S. obliquus* در سه محیط کشت (حروف غیرمشابه نشان از اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

عوامل فیزیکی و شیمیایی متعددی بر ویژگی‌ها و رشد جلبک‌ها تاثیرگذار هستند که تنظیم این عوامل منجر به رشد مناسب آن‌ها خواهد شد. از این بین می‌توان به ترکیب عناصر مغذی محیط پیرامون آن‌ها اشاره نمود. ازت، فسفر و آهن از مهم ترین عناصری هستند که میزان آن‌ها در محیط کشت، تاثیر بیش-تری بر میزان رشد دارد. از آن‌جا که نرخ رشد شاخص مناسبی در توانایی سازگاری یک گونه نسبت به شرایط محیط طبیعی یا آزمایشگاهی است، از آن برای مقایسه محیط کشت‌های مختلف استفاده می‌شود. نتایج حاصل از منحنی رشد جلبک *S. obliquus* در سه محیط کشت Trenkenshu، Tamyia و Guillard بیانگر تاثیرگذاری نوع و میزان ازت، آهن و فسفر موجود در محیط کشت روی نرخ رشد است، به‌طوری‌که زمان رسیدن به فاز سکون در کشت Trenkenshu کوتاه‌تر از Tamyia، و در محیط کشت Tamyia نیز کوتاه‌تر از محیط Guillard است (شکل ۱). در محیط کشت Trenkenshu مرحله تاخیر تا روز هشتم به طول انجامید، سپس سلول‌ها وارد فاز لگاریتمی رشد شدند که این روند به میزان ۰/۲۰۹ در روز تا مرحله سکون ادامه داشت. زمانی که محیط کشت از نظر میزان مواد مغذی در شرایط مطلوبی قرار داشت، تقسیم سلولی نیز یکنواخت انجام شد و رشد تا روز ۲۴ ادامه داشت و بعد از آن وارد فاز سکون شد. در محیط Tamyia روند رشد به میزان کندتری (۰/۱۹۰ در روز) نسبت به محیط Trenkenshu ادامه یافت. نرخ رشد ویژه در محیط Guillard با روند نزولی به میزان ۰/۱۷۵ در روز اندازه‌گیری شد، که بین تیمارها کندترین رشد بود. عوامل متعددی نظیر شوری و دما می-توانند بر آستانه تحمل جلبک‌ها تاثیر گذاشته و باعث کاهش نرخ رشد ویژه شوند. لیکن در این شرایط فعالیت آنزیم‌هایی که در عمل فتوسنتز دخالت دارند آشفته می‌گردد (Bouterfas et al., 2006). میزان و ترکیب عناصر موجود در محیط کشت، روی رشد جلبک موثر است. بنابراین، افزایش نرخ رشد در محیط کشت Trenkenshu را می‌توان به‌علت افزایش میزان آهن دانست که با نتایج دیگر مطالعات انجام شده در این زمینه مطابقت دارد (Mata et al., 2013; Menzyanova et al., 2009; Lewandowska and Kosakowa, 2004).

نتایج حاصل از بررسی‌های سایر محققین نیز بیانگر تاثیر مواد و ترکیبات موجود در محیط کشت بر میزان رشد در گونه‌های مختلف جلبکی است (Trenkenshu et al, 2009; Xin et al., 2011). اثر غلظت‌های مختلف ازت روی گونه *Chlorella pyrenoidosa*، *Chlorococcum ellipsoideum* UTEX972، *Chlorococcum nivale* LB2225، *Chlorococcum tatrense* UTEX2227 و *Scenedesmus deserticola* JNU19 نشان داد که با کاهش میزان ازت و تغییر منبع آن، میزان رشد نیز کاهش می‌یابد (Nigam et al., 2011; Adams et al., 2013; Tao et al., 2013). همچنین مطالعه Xin و همکاران (۲۰۱۰)، Yi Pai و Jia Lai (۲۰۱۱) نشان داد با بالا رفتن میزان فسفر در گونه‌های جلبکی، میزان نرخ رشد نیز افزایش می‌یابد. از آن‌جایی که ترکیب مواد موجود در محیط کشت یکی از مهم‌ترین عوامل تاثیرگذار بر میزان زی‌توده است (Harrison, 2009; Pruvost et al., 2012 Griffiths and)، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که دلیل افزایش زی‌توده در محیط کشت Trenkenshu احتمالاً وجود میزان ازت و آهن بیش‌تر نسبت به دو محیط دیگر بوده است. یافته‌های پژوهش‌های دیگر نیز بیانگر این است که با بالا رفتن میزان ازت، میزان زی‌توده نیز افزایش می‌یابد (Arumugam, 2013; Jiang et al., 2012). نتایج نشان داد در شدت‌های بالاتر نور، زی‌توده سلولی افزایش می‌یابد و جذب مواد مغذی مانند نیتروژن و فسفر از محیط در زمان کوتاهتری انجام می‌شود. لذا کارایی فتوسنتز افزایش یافته و سلول با سرعت بیشتری تکثیر می‌یابد (Renaud et al., 2002). کمبود ازت باعث کاهش کارایی فتوسنتزی در

جلبک‌های میکروسکوپی می‌شود، بدین‌صورت که وقتی سلول در معرض کمبود ازت قرار می‌گیرد، دچار تغییرات فیزیولوژیکی شده که باعث کاهش دریافت نور کافی، انتقال انرژی و تثبیت کربن می‌شود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت میزان ازت موجود بر میزان زی‌توده نیز تاثیر می‌گذارد (Da silva et al., 2009). همچنین مطالعات Liu و همکاران (۲۰۰۸)؛ Dou و همکاران (۲۰۱۳)، Mata و همکاران (۲۰۱۳) افزایش میزان زی‌توده بر اثر افزایش میزان آهن را تایید می‌کنند.

۴. نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که عوامل محیطی می‌توانند تاثیر ویژه‌ای روی نرخ رشد جلبک‌ها داشته باشند، همچنین محیط کشت یک عامل تاثیرگذار بر رشد *S. obliquus* است. میزان تاثیر عوامل محیطی بر رشد در جلبک‌های گوناگون متفاوت است، لذا مطالعات بیشتر در خصوص رفتار ریزجلبک‌ها از جمله *Scenedesmus* به عوامل مختلف زیستی و محیطی توصیه می‌شود.

۵. سپاسگزاری

نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از دانشگاه تربیت مدرس برای در اختیار قرار دادن امکانات لازم و بودجه این تحقیق ابراز می‌دارند. همچنین از کارشناسان آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی که نهایت همکاری را در انجام این تحقیق به‌عمل آوردند، سپاسگزاری می‌شود.

منابع

سلطانی، ن.؛ غفاری، ر.، ۱۳۹۳. بیولوژی و فیزیولوژی جلبک‌ها. دانشگاه شهید بهشتی. صفحه ۲۳۵.

رفیعی، ف.؛ نجات خواه معنوی، پ.؛ سلمان زاده، ن.، ۱۳۹۴. بررسی تغییرات شوری، آمونیوم و سیتوکینین بر توده زنده و میزان آگار جلبک قرمز *Gracilaria corticata*. نشریه اقیانوس‌شناسی، سال ششم، شماره ۲۱ (۹)، صفحات ۱۱۵-۱۰۷.

ریاحی، م.، ۱۳۸۷. جلبک شناسی. انتشارات دانشگاه الزهرا. صفحه ۲۴۷.

زارعی دارکی، ب.، ۱۳۹۰. جلبک‌های اکوسیستم‌های آبی ایران. پیام علوی. صفحه ۳۲۳.

Adams, C.; Godfrey, V.; Wahlen, B.; Seefeldt, L.; Bugbee, B., 2013. Understanding precision nitrogen stress to optimize the growth and lipid content tradeoff in oleaginous green microalgae. Bioresource Technology, 131: 188-194.

Arumugam, M.; Agarwal, A.; Arya, M.C.; Ahmed, Z., 2013. Influence of nitrogen sources on biomass productivity of microalgae *Scenedesmus bijugatus*. Bioresource Technology, 131: 246-249.

Bouterfas, R.; Belkoura, M.; Dauta, A., 2006. The effects of irradiance and photoperiod on the growth rate of three freshwater green algae isolated from a eutrophic lake. Journal of Limnetica, 25(3): 647-656.

Chen, M.; Tang, H.; Ma, H.; Holland, T.C.; Simon Ng, K.Y.; Salley, S.O., 2011. Effect of nutrients on growth and lipid accumulation in the green algae *Dunaliella tertiolecta*. Bioresource Technology, 102: 1649-1655.

Da silva, A.F.; Lourenco, S.O.; Chaloub, R.M., 2009. Effects of nitrogen starvation on the photosynthetic physiology of a tropical marine microalga *Rhodomonas* sp. (*Cryptophyceae*). Aquatic Botany, 91: 291-297.

Demirbas, A., 2010. Use of algae as biofuel sources. Energy Conversion and Management 51: 2738-2749.

Dou, X.; Lu, X.H.; Lu, M.Z.; Yu, L.S.; Xue, R.; Ji, J.B., 2013. The effects of trace elements on the lipid productivity and fatty acid composition of *Nannochloropsis oculata*. Journal of Renewable Energy, 2013: 1-6.

Evens, T.J.; Nieds, R.P., 2011. Mapping the fundamental niches of two freshwater microalgae *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae) and *Peridinium cinctum* (Dinophyceae), in 5-Dimensional Ion Space. International Journal of Ecology, 2013: 1-12.

Gopinathan, C.P., 1986. Differential growth rates of microalgae in various culture media. Indian Journal of

Bioresource Technology, 99: 4717-4722.

Makareviciene, V.; Andruleviciute, V.; Skorupskaite, V.; Kasperoviciene, J., 2011. Cultivation of microalgae *Chlorella* sp. and *Scenedesmus* sp. as a potential biofuel feedstock. Environmental Research, Engineering and Management, 3: 21-27.

Mata, T.M.; Almeida, R.; Caetano, N.S., 2013. Effect of the culture nutrients on the biomass and Lipid Productivities of Microalgae *Dunaliella tertiolecta*. Chemical Engineering Tranceactions, 32: 973-978.

Menzyanova, N.G.; Goltvyansky, A.V.; Kuznetsova, Y.A.; Sysenko, E.I., 2009. Season variability of iron effects on periodic culture of microalgae *Dunaliella viridis* Teod. Frontiers of Biology in China, 4: 328-336.

Nigam, S.; Rai, M.P.; Sharma, R., 2011. Effect of nitrogen on growth and lipid content of *Chlorella pyrenoidosa*. American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 7: 124-129.

Pruvost, J.; Van Vooren, G.; Le Gouic, B.; Couzinet Mossion, A.; Legrand, J., 2012. Systematic investigation of biomass and lipid productivity by microalgae in photobioreactors for biodiesel application. Bioresource Technology, 102: 150-8.

Renaud, S.M.; Thinh, L.; Lambrinidis, G.; Parry , D.L., 2002. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grow in batch cultures. Journal of Aquaculture, 211: 195- 214.

Richmond, A., 2004. Handbook of microalgalculture: Biotechnology and Applied Phycology, Blackwell Science. 577P.

Ruangsomboon, S.; Ganmanee, M.; Choochote, S., 2012. Effects of different nitrogen, phosphorus, and iron concentrations and salinity on lipid production in newly isolated strain of the tropical green microalga, *Scenedesmus dimorphus* KMITL. Journal of Applied Phycology, 25: 867-874.

Fisheries, 33: 450-456.

Griffiths, M.J.; Harrison, S.T.L., 2009. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. Journal Apply Phycology, 21: 493-507.

Guillard, R.R.L., 1973. Division rates. In: Stein (ed) Handbook of physiological methods, Cambridge University Press, Cambridge, 1: 289-312.

Guiry, M.D.; Guiry, G.M., 2014. Algae Base. World Wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. http://www.algaebase.org. Version (07/ 2014).

Janelt, G.; Bolt, P.; Gerbsch, N.; Buchholz, R., 1997. The lamellar settler a low cost alternative for separating the micro alga *Chlorella vulgaris* from a cultivation broth. Apply Microbiology Biotechnology, 48: 6-10.

Jiang, Y.; Yoshida, T.; Quigg, A., 2012. Photosynthetic performance, lipid production and biomass in response to nitrogen limitation in marine microalgae. Plant Physiology and Biochemistry, 54: 70-77.

Kilham, S.S.; Kreeger, D.A.; lynn, S.G.; Goulden, C.E., 1998. COMBO: a defined freshwater culture medium for algae and zooplankton. Hydrobiologia, 337: 147-159.

Levasseur, B.J.O.Z.N., 1993. Physiological acclimation of marine phytoplankton to different nitrogen sources. Journal of Phycology, 29: 587-595.

Lewandowska, J.; Kosakowska, A., 2004. Effect of iron limitation on cells of the diatom *Cyclotella meneghiniana* Kutzing. Oceanologia, 46: 269-287.

Li, Y.; Chen, P.; Chen, P.; Min, M.; Zhou, W.; Martinez, B.; Zhu, J.; Ruan, R., 2011. Characterization of a microalga *Chlorella* sp. Well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. Bioresource Technology, 102: 5138-5144.

Liu, Z.Y.; Wang, C.; Zhou, B.C., 2008. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*.

phototrophs. Sevastopol. ECOSI-Hydrophisica, 40P.

Wasser, S.P.; Kondrateva, N.V.; Massjuk, N.P., 1989. Algae. Naukova Dumka, 608P.

Xin, L.; Hong ying, H.; Ke, G.; Ying Xue, S., 2010. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. Bioresource Technology, 101: 5494-5500.

Xin, L.; Hong ying, H.; Yu ping, Z., 2011. Growth and lipid accumulation properties of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. Under different cultivation temperature. Bioresource Technology, 102: 3098-3102.

Yi Pai, T.; Jia Lai, W., 2011. Analyzing algae growth and oil production in a batch reactor under high nitrogen and phosphorus conditions. International Journal of Applied Science and Engineering, 9: 161-168.

Seyfabadi, J.; Ramezanpour, Z.; Amini Khoeyi, Z., 2011. Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. Journal of Applied Phycology, 23: 721-726.

Tao, L.; Linglin, W.; Aifen, L.; Chengwu, Z., 2013. Responses in growth, lipid accumulation, and fatty acid composition of four oleaginous microalgae to different nitrogen sources and concentrations. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 31: 1306-1314.

Toyub, M.A.; Miah, M.I.; Habib, M.A.B.; Rahman, M.M., 2008. Growth performance and nutritional value of Scenedesmus obliquus cultured in different concentrations of sweetmeat factory waste media. Bangladesh Journal of Animal Science, 37: 86-93.

Trenkenshu, R.P.; Borovkov, A.B.; Lelekov, A.S., 2009. Standardized laboratory setting to study the lower