

تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی به عنوان محیط کشت جایگزین بر روی رشد، میزان کلروفیل a و کارتنوئید جلبک میکروسکوپی *Nanochloropsis oculata*

پریسا غریب نیا^۱، مازیار یحوی^{۱*}، کیومرث روحانی قادیکلایی^۲

۱- گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران، صندوق پستی: ۷۹۱۵۹/۱۳۱۱

۲- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، صندوق پستی: ۷۹۱۴۵/۱۵۹۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۹/۱۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۲۸

چکیده

ریزجلبک‌ها بدلیل داشتن رنگدانه، ویتامین، اسیدهای چرب و پروتئین از اهمیت غذایی بالایی برخوردارند که از اینرو در امر آبی‌پروری نقش کلیدی را ایفا میکنند. مطالعات متعددی بر روی محیط کشت ریز جلبک‌ها انجام شده است. یکی از این محیط کشتها، مواد غنی سازی چون عصاره جلبک‌های ماکروسکوپی می باشد. از اینرو این تحقیق با مطالعه تأثیر عصاره حلال آبی سه گروه جلبک ماکروسکوپی سبزی (*Ulva lactuca*, *Enthromorpha intistialis*)، قهوه‌ای (*Colpomenia sinuosa*, *Sargassum illicifolium*) و قرمز (*Gracilaria corticata*, *Hypnea valentia*) بر روی روند رشد، میزان کلروفیل a و کارتنوئید جلبک *Nanochloropsis oculata* در فایکولب پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان مورد بررسی قرار گرفت. این ریزجلبک با استفاده از عصاره جلبک‌های ماکروسکوپی در دو مرحله بصورت مکمل و جایگزین محیط F۲، بمدت ۱۴ روز کشت داده شد. نتایج نشان داد تیمارهای عصاره حلال آبی از نظر تراکم نهایی، نرخ رشد ویژه بیشترین میزان را در *S. illicifolium* بعنوان مکمل و کمترین را در *H. valentia* بعنوان جایگزین دارا بود ($P < 0/05$). بیشترین میزان کلروفیل a در تیمار حاوی عصاره *S. illicifolium* بعنوان مکمل و کمترین میزان را در *E. intistialis* بعنوان جایگزین بود ($P < 0/05$). بیشترین میزان کاروتنوئید در تیمار حاوی عصاره *S. illicifolium* به عنوان مکمل و کمترین میزان را در *H. valentia* بعنوان جایگزین بود ($P < 0/05$). بنابراین می توان نتیجه گرفت که استفاده از عصاره این جلبک‌ها به عنوان محیط کشت کمکی و غنی ساز می تواند تا حدود زیادی به بهبود فاکتورهای مورد بررسی کمک کند.

کلمات کلیدی: عصاره جلبک ماکروسکوپی، محیط کشت، کلروفیل a، کاروتنوئید، *Nanochloropsis oculata*.

مقدمه

ریز جلبکها به دلیل داشتن کلروفیل که آنها را قادر به انجام عمل فتوسنتز می کند مهمترین تولیدکنندگان مواد آلی در محیط های آبی بشمار می آیند و به عنوان اولین حلقه زنجیره غذایی در اکوسیستم های آبی محسوب می شوند. ریز جلبکها فتواتوتروف موجودات فتواتوتروفی هستند که از طریق فتوسنتز غذا و انرژی تولید می کنند (گنجیان خناری و همکاران، ۱۳۹۱). ریز جلبکها در تمام سطوح تغذیه ای زنجیره ها و شبکه های غذایی جریان دارند، به همین دلیل در اکوسیستمهای آبی بخش مهمی از زنجیره غذایی موجودات آبرزی را تشکیل می دهند که علاوه بر این نقش مهمی به عنوان تصفیه کنندگان بیولوژیکی منابع آبی و تعدیل pH محیط را دارند (دیاریان مهر، ۱۳۸۴). همچنین به دلیل اینکه تنها گیاهان قادر به سنتز اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره هستند، تأمین کننده و منبع اولیه اسیدهای چرب غیر اشباع (PUFA) برای تمامی موجودات زنجیره غذایی آبی می باشند (Pulz and Gross, 2004). بسیاری از ریز جلبک ها شاخص های بیولوژیکی آب نیز می باشند و نمایانگر وضعیت اکوژیکی محیط هستند. در کنار کاربردهای گوناگون ریز جلبک ها در آبرزی پروری، کاربری اصلی آنها در امر تغذیه می باشد (Muller, 2000). بدین شکل که بعنوان منبعی غذایی برای تمامی مراحل پرورش تجاری گونه های مختلف آبزیان دریایی شامل دو کفه ایها، نرمتهان، مراحل لاروی برخی از گونه های سخت پوستان و ماهیان ضروری و غیر قابل اجتناب می باشند. بعلاوه فیتوپلانکتون ها در تولید مقادیر انبوه زئوپلانکتون ها (روتیفر، کوپه پودا و آرتمیا) که بعنوان غذا برای لارو و مراحل آغازین سخت پوستان و ماهی

ها بکار می روند (Lavens and Sorgeloos, 1996). در امر پرورش لارو مقادیر ناکافی اسیدهای چرب مخصوصاً EPA و DHA باعث نرخ رشد پائین و مرگ و میر در مراحل لاروی میگو و ماهی می گردد، یکی از راهکارهای ممکن بمنظور بالا بردن نرخ رشد و تولید لاروهای قوی تر حفظ و افزایش ارزش غذایی لارو می باشد، که به اشکال مختلفی صورت می پذیرد. غنی سازی ریز جلبکها با مواد مغذی شیمیایی و عصاره طبیعی جلبکهای ماکروسکوپی و تغذیه آن برای لارو آبرزی یکی از روشهای مرسوم و مناسب برای این کار می باشد. عصاره جلبکهای ماکروسکوپی نه تنها حاوی بیشتر مواد مغذی می باشد بلکه حاوی مواد فعال بیولوژیک و هورمونهای رشد نیز می باشند که باعث افزایش میزان کلروفیل، تقسیم سلولی و سنتز پروتئین و چربی های اشباع نشده توسط سلولهای ریز جلبکی از طریق افزایش جذب مواد معدنی میگردد (Zhang, 1997). اثرات سودمند عصاره جلبکی به میزان عناصر کمیاب ضروری، تنظیم کننده های رشد گیاهی (اکسین، جیبرلین و سیتوکینین) و کمپلکس پلی ساکاریدها مربوط می باشد (Henry, 2005) و عصاره جلبک های ماکروسکوپی حاوی بیش از ۷۰ نوع مواد مغذی مختلف است که بعنوان محرک های بیولوژیک طبقه بندی می شوند. همچنین در مقایسه با گیاهان عالی، جلبک های ماکروسکوپی سرشار از ویتامین بوده (۲۰-۱۰ برابر نسبت به گیاهان عالی) A، D، E و B کمپلکس می باشد (Kolb et al., 2004). با توجه به اهمیت آبرزی پروری در ایران و اهمیت غنی سازی ریز جلبک ها هدف اصلی این مطالعه توسعه و ارائه روشهای قابل اطمینان برای غنی سازی محیط کشت گونه های ریز جلبکی است که بصورت اختصاصی نیازهای غذایی

مراکز تکثیر میگو و سایر آبزیان در ایران را از طریق غنی سازی محیط کشت ریزجلبکهای مورد تغذیه لارو آبزیان تامین می کنند و بیشترین تاکید براین است که چگونگی روشهای تولید را ساده و مدت زمان تولید ریزجلبک را کاهش دهیم.

مواد و روشها

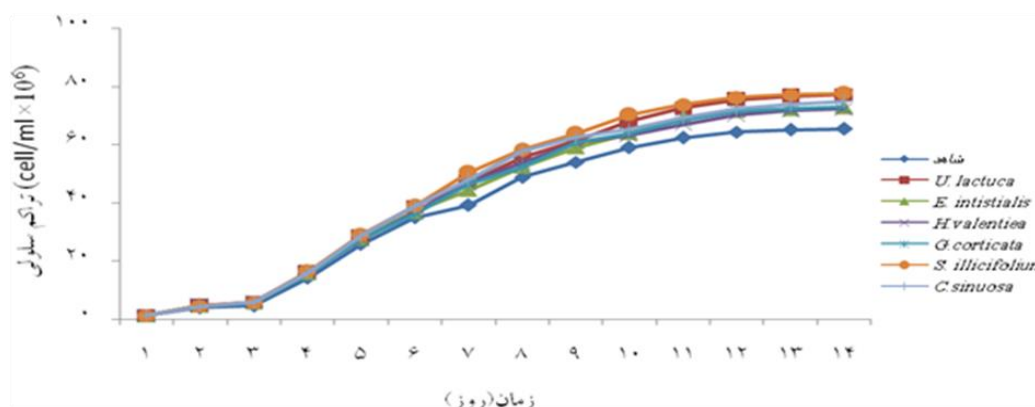
این آزمایش در سال ۱۳۹۱-۱۳۹۲ در آزمایشگاه فایکولب پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان انجام شد. جهت تأمین عصاره جلبک ماکروسکوپی، جمع آوری ۶ گونه جلبک *Ulva Colpomenia*، *Enthromorpha intistialis*، *dactuca Gracilaria*، *sinuosa*، *Sargassum illicifolium corticata* و *Hypnea valentia* از سواحل و جزایر استان هرمزگان در فصل زمستان و بهار صورت گرفت. نمونه ها بصورت تازه تحت شرایط سرما و در یخدان به آزمایشگاه منتقل شد. سپس تال های آنها تمیز و با آب شستشو گردید. پس از آن نمونه ها در انکوباتور فن دار در دمای ۲۰°C خشک و پودر خشک از آنها تهیه گشت. جهت استخراج عصاره این جلبکها، به ازای هر ۲۰ میلی گرم میزان یک میلی لیتر (هر ۱ گرم پودر خشک جلبک میزان ۵۰ سی سی آب مقطر) آب مقطراستریل به آن اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی و دمایی ۲۰°C قرار داده شد (Wang et al., 2007). این عمل سه مرتبه تکرار گردید (در دفعات دوم و سوم این زمان به ۸-۶ ساعت کاهش یافت). سپس مواد معلق بخش عصاره آبی به کمک دستگاه سانتریفیوژ جدا و سپس با فیلتر ۰/۴۵ میکرون فیلتر شد (Cho et al., 1999). عصاره دردمای ۲۰°C در شرایط تاریکی قرار گرفت تا خشک شود

(Rohani et al., 2011). ریزجلبک *N. oculata* مورد نیاز برای این پژوهش از پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان بندرعباس تهیه گردید. این آزمایش در ۱۳ تیمار شامل شاهد، ۶ تیمار تزریق عصاره جلبک با غلظت ۰/۲ میلی گرم در لیتر بدون محیط کشت f_۲ (به عنوان جایگزین) و ۶ تیمار تزریق عصاره جلبک با غلظت ۰/۲ میلی گرم در لیتر به همراه محیط کشت f_۲ (به عنوان مکمل) و هر کدام در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. تیمارها در ارلن های ۵۰۰ سی سی که هر کدام حاوی ۴۵۰ سی سی آب دریای استریل و فیلتر شده (شوری ۲۵ppt) بود و ۵۰ سی سی جلبک نانوکلوپسیس با تراکم یک میلیون در لیتر در شرایط استاندارد آزمایشگاهی (هوادهی ملایم و شرایط نوری ۱۲:۱۲ تاریکی به روشنایی) (Guillard and Ryther, 1962) مورد بررسی قرار گرفت (خلیل پذیر و همکاران، ۱۳۹۶). افزودن عصاره در ارلن ها در دو مرحله انجام شد نصف غلظت مورد نظر در روز اول و نصف دیگر آن در روز هفتم افزوده گردید. جهت تعیین نرخ رشد و تراکم سلولی، روزانه ۱ میلی لیتری نمونه از هر ظرف پس از تثبیت با محلول فرمالین ۴ درصد با استفاده از لام شمارش هموسیترمتر شمارش گردید. روند شمارش روزانه به مدت ۱۴ روز ادامه داشت و تمام اطلاعات ثبت می گشت. به منظور تعیین میزان کلروفیل a و کاروتنوئید از هر ارلن به مقدار مساوی ۵ سی سی نمونه برداشت و برای کاهش شوری به نمونه ها ۵ سی سی آب مقطر نیز اضافه گردید. سپس بوسیله دستگاه وکیوم و کاغذ صافی ۰/۴۵ میکرون نمونه ها فیلتر شد. کاغذ صافی های حاوی نمونه در لوله آزمایش قرار داده و مقدار ۱۰ سی سی استن ۰/۹۰ به هر کدام از لوله ها اضافه گردید. سر

و آزمون‌های تفریقی (Tukye) جهت مقایسه داده‌ها در سطح معنی دار برای داده‌ها $P < 0.05$ انجام گرفت.

نتایج

تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بعنوان مکمل بر روند رشد جلبک *N. oculata* در شکل ۱ نشان داده شده است. در روز شروع آزمایش تراکم سلولی در تمامی تیمارها بطور یکسان ذخیره سازی شد. در روز دوم هیچ اختلاف معنی داری بین تیمارها وجود نداشت ($P > 0.05$). ولی از روز سوم اختلاف تراکم سلولی در تیمار شاهد مشاهده شد و این اختلاف تا روز چهاردهم ادامه داشت. در روز آخر کمترین تراکم سلولی مربوط به تیمار شاهد با تراکم $10^6 \text{ cell ml}^{-1} \times 65/36$ و بیشترین تراکم سلولی مربوط به تیمار *S. illicifolium* با تراکم $10^6 \text{ cell ml}^{-1} \times 77/55$ بود.



شکل ۱: تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بعنوان مکمل بر روند رشد جلبک *N. oculata*

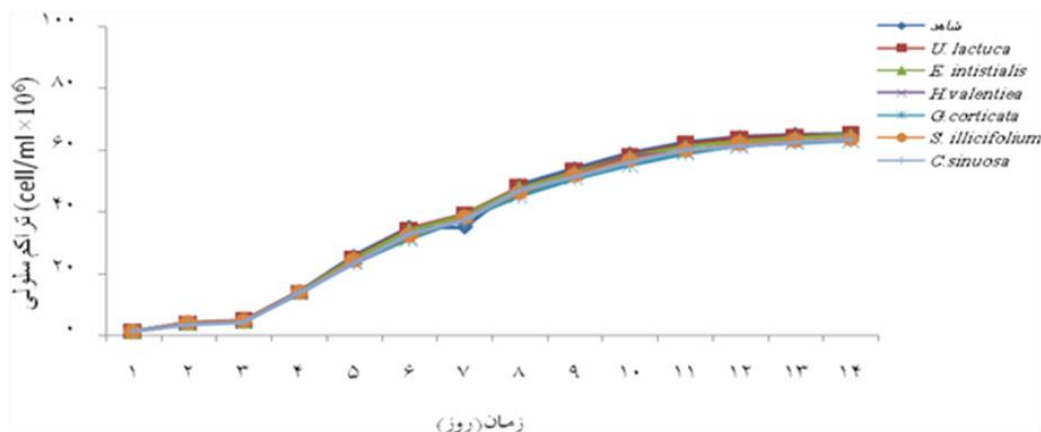
نداشت ($P > 0.05$). از روز پنجم اختلاف تراکم بین تیمارها مشاهده شد. در روز چهاردهم کمترین تراکم سلولی مربوط به تیمار *H. valentia* با تراکم $10^6 \text{ cell ml}^{-1} \times 63/08$ و بیشترین تراکم سلولی مربوط به تیمار شاهد با تراکم $10^6 \text{ cell ml}^{-1} \times 65/36$ بود.

لوله‌ها با پارافیلیم پوشانده شد و در یک محیط کاملاً تاریک و خنک بمدت ۲۴ ساعت نگهداری گشت سپس نمونه‌ها با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در ثانیه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از آن با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر میزان کلرفیل را با استفاده از طیف نوری با طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵، ۷۵۰ و ۶۳۰ و میزان کارتنوئید با استفاده از طیف نوری با طول موج‌های ۴۸۰ و ۵۱۰ طیف سنجی شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات و داده‌های بدست آمده در نرم‌افزار Excel وارد شد و نتایج توصیفی بصورت نمودار تهیه گردید. تحلیل آماری نتایج در برنامه SPSS و با بکارگیری آزمون‌های پارامتری (آنالیز واریانس یکراهه

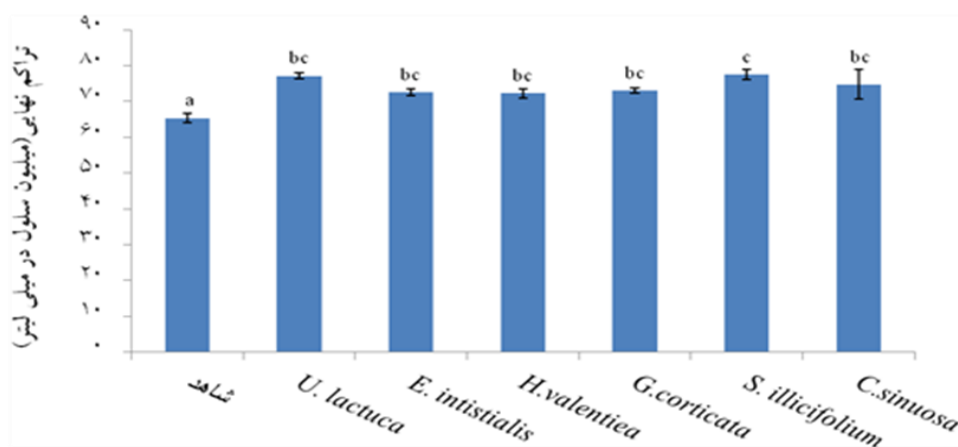
تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بعنوان جایگزین بر روند رشد جلبک *N. oculata* در شکل ۲ نشان داده شده است. در شروع آزمایش در این مرحله با تراکم یکسان همانند مرحله اول انجام شد. در روز دوم تا چهارم هیچ اختلاف معنی داری بین تیمارها وجود



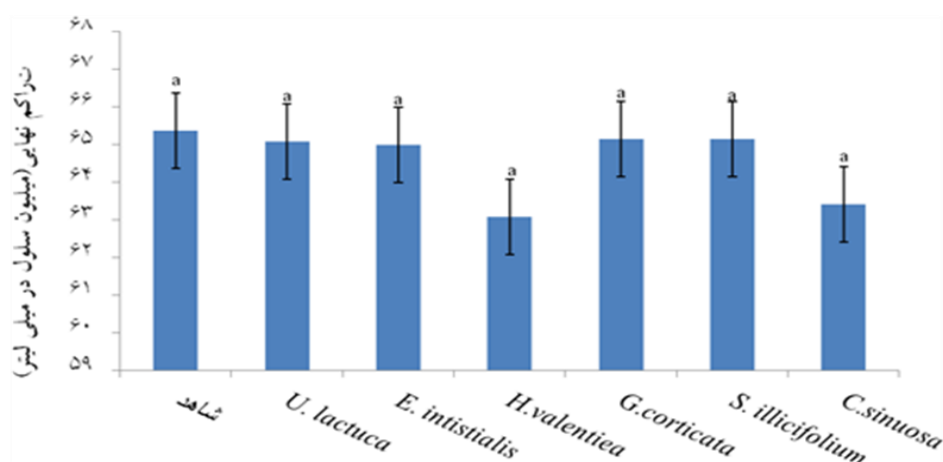
شکل ۲: تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بعنوان جایگزین بر روند رشد جلبک *N. oculata*

مقایسه تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بعنوان جایگزین و مکمل بر روند رشد جلبک *N. oculata*

نتایج آنالیز واریانس یکطرفه در مقایسه تأثیر عصاره ۶ جلبکی به صورت مکمل و جایگزین نشان دادند (شکل های ۳ و ۴) در روز چهاردهم، بیشترین تراکم سلولی را تیمار *S. illicifolium* با تراکم (cell $\times 10^6$) 77.55×10^6 و کمترین تراکم سلولی را تیمار شاهد با تراکم (cell $\times 10^6$) 77.19×10^6 بعنوان مکمل و بیشترین تراکم سلولی را تیمار شاهد با تراکم (cell $\times 10^6$) 65.06×10^6 و کمترین تراکم سلولی را تیمار *H. valentia* با تراکم (cell $\times 10^6$) 63.08×10^6 بعنوان جایگزین دارا بود که اختلاف معنی داری را بین دو گروه نشان دادند ($P < 0.05$). بین تیمار شاهد و بقیه تیمارهای جایگزین اختلاف معنی داری وجود نداشت ($P > 0.05$). اما بین شاهد و بقیه تیمارهای مکمل در روز یازدهم به بعد اختلاف معنی دار وجود داشت ($P < 0.05$).



شکل ۳: عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بعنوان مکمل بر تراکم نهایی *N. oculata*



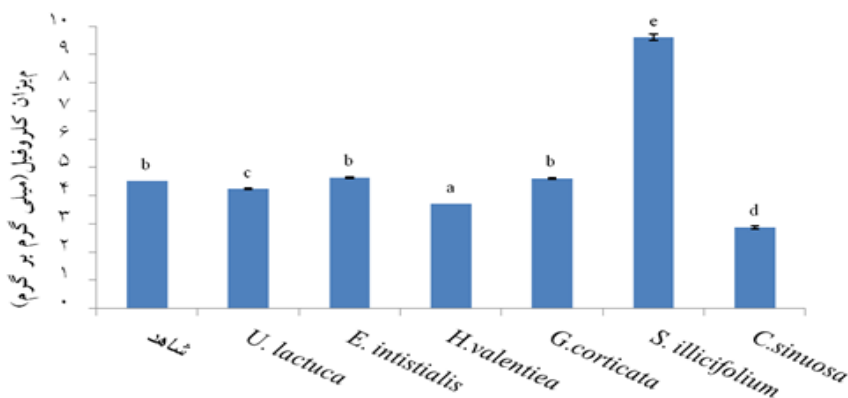
شکل ۴: عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بعنوان جایگزین بر تراکم نهایی *N. oculata*

شاهد با میانگین ($۴/۵۲ \text{ pg cell}^{-1}$) اختلاف معنی دار بود ($P < ۰/۰۵$).

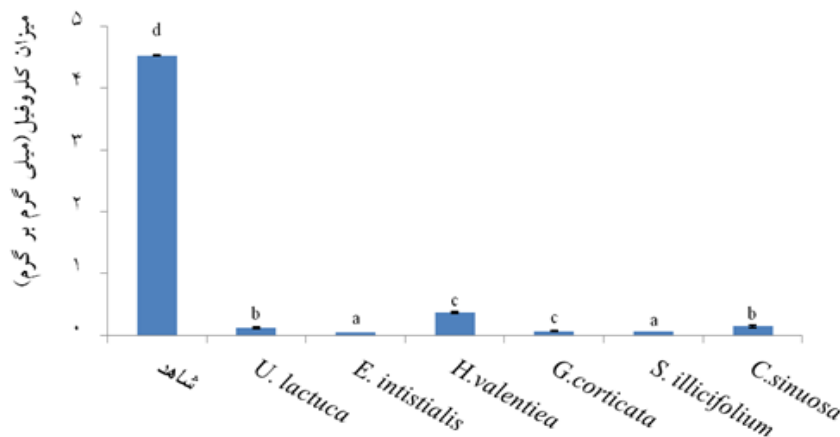
نتایج آنالیز واریانس یکطرفه داده ها در آزمایش، استفاده از عصاره بعنوان جایگزین نشان داد (شکل ۶) بیشترین میزان کلروفیل a متعلق به تیمار شاهد با میانگین ($۴/۵۲ \text{ pg cell}^{-1}$) و کمترین میزان کلروفیل a متعلق به تیمار *E. intistialis* با میانگین ($۰/۰۴ \text{ pg cell}^{-1}$) بود که اختلاف معنی داری را نشان دادند و این اختلاف بین تیمار شاهد و بقیه تیمارها نیز وجود داشت ($P < ۰/۰۵$).

تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بعنوان مکمل و جایگزین بر میزان رنگدانه کلروفیل a جلبک *N. oculata*

نتایج آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA این آزمایش، استفاده از عصاره بعنوان مکمل نشان داد (شکل ۵). بیشترین میزان کلروفیل a متعلق به تیمار *S. illicifolium* با میانگین ($۹/۶۲ \text{ pg cell}^{-1}$) و کمترین میزان کلروفیل a متعلق به تیمار *C. sinuosa* با میانگین ($۲/۸۸ \text{ pg cell}^{-1}$) بود که اختلاف معنی داری بین آنها مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$). در بین تمامی تیمارها جز بین سه تیمار *G. corticata* با میانگین ($۴/۶۲ \text{ pg cell}^{-1}$) و تیمار *E. intistialis* با میانگین ($۴/۶۵ \text{ pg cell}^{-1}$) و



شکل ۵: تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بعنوان مکمل بر میزان رنگدانه کلروفیل a جلبک *N. oculata*



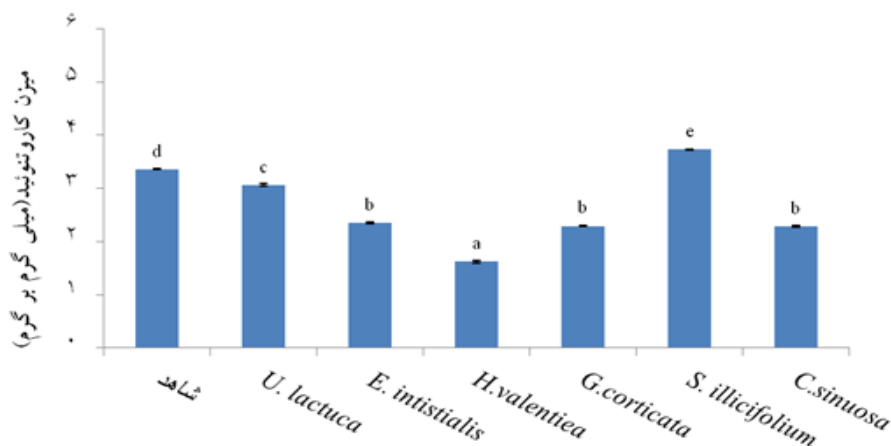
شکل ۶: تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بعنوان جایگزین بر میزان رنگدانه کلروفیل a جلبک *N. oculata*

Sinuosa با میانگین ($2/29 \text{ pg cell}^{-1}$) بعنوان مکمل اختلاف معنی دار بود ($P < 0/05$).

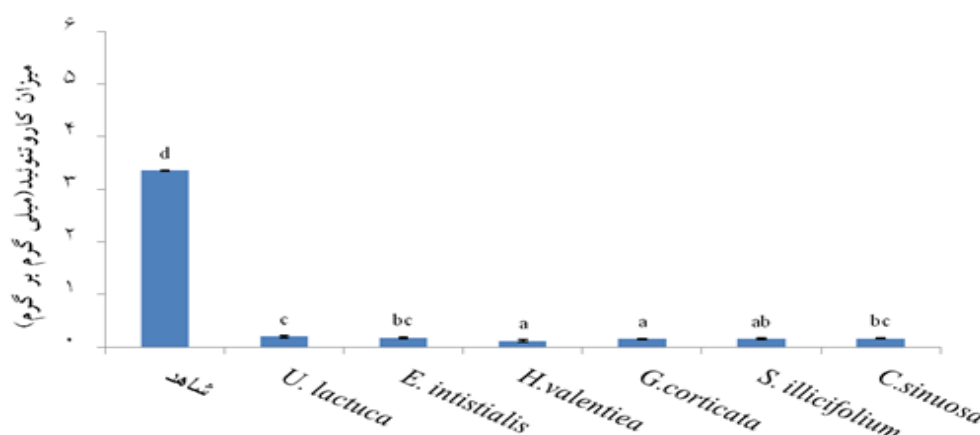
نتایج آنالیز واریانس یکطرفه داده ها در آزمایش استفاده از عصاره بعنوان جایگزین نشان داد (شکل ۸)، که کمترین میزان کاروتنوئید متعلق به تیمار *H. valentia* با میانگین ($0/12 \text{ pg cell}^{-1}$) و بیشترین میزان متعلق به تیمار شاهد با میانگین ($3/35 \text{ cell}^{-1}$) بود. که اختلاف معنی داری بین آنها و همچنین تیمار شاهد با تمامی تیمارها مشاهده شد ($P < 0/05$).

تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بعنوان مکمل و جایگزین بر میزان رنگدانه کاروتنوئید جلبک *N. oculata*

نتایج آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA این آزمایش نشان داد (شکل ۷) که کمترین میزان کاروتنوئید متعلق به تیمار *H. valentia* به عنوان مکمل با میانگین ($1/62 \text{ pg cell}^{-1}$) و بیشترین میزان متعلق به تیمار *S. illicifolium* بعنوان مکمل با میانگین ($3/73 \text{ pg cell}^{-1}$) بود. که اختلاف معنی داری را دارا بود ($P < 0/05$). در بین تمامی تیمارها جز بین سه تیمار *G. corticata* با میانگین ($2/29 \text{ pg cell}^{-1}$) و تیمار *E. intistialis* با میانگین ($2/35 \text{ pg cell}^{-1}$) و تیمار *C.*



شکل ۷: تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بعنوان مکمل بر میزان رنگدانه کاروتنوئید جلبک *N. oculata*



شکل ۸: تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بعنوان جایگزین بر میزان رنگدانه کاروتنوئید جلبک *N. oculata*

بقیه تیمارها نیز وجود داشت. همچنین بین تیمار *H. valentia* با تیمار *E. intistialis* با میانگین (pg 0.18×10^{-1}) و تیمار *U. lactuca* با میانگین (pg 0.20×10^{-1}) بعنوان جایگزین اختلاف معنی دار مشاهده شد ($P < 0.05$).

بحث

عصاره جلبکهای ماکروسکوپی نه تنها حاوی بیشتر مواد مغذی می باشد بلکه حاوی مواد فعال بیولوژیک و هورمونهای رشد نیز می باشند که باعث افزایش میزان کلروفیل، تقسیم سلولی و سنتز پروتئین و چربی های اشباع نشده توسط سلولهای ریزجلبکی از طریق افزایش جذب مواد معدنی می گردد (Zhang, ۱۹۹۷). عصاره جلبک های ماکروسکوپی حاوی بیش از ۷۰ نوع مواد مغذی مختلف بوده که بعنوان محرک های بیولوژیک طبقه بندی می شوند. میزان رشد و ترکیبات بیوشیمیایی ریزجلبکها دو ویژگی مهمی هستند که کارایی گونه را برای هدف های آبرزی پروری تعیین می نمایند (۲۰۰۵ De Castro Araújo et al.,). مهم ترین کاربرد ریزجلبکها برای اهداف آبرزی پروری مرتبط با تغذیه آن می باشد (Alabi et al., ۱۹۹۹). در این تحقیق

مقایسه تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بعنوان مکمل و جایگزین بر میزان رنگدانه کلروفیل a جلبک *N. oculata*

در این مرحله نتایج مقایسه بین تیمارها نشان داد که کمترین میزان کلروفیل a متعلق به تیمار *E. intistialis* با میانگین (pg 0.04×10^{-1}) بعنوان جایگزین و بیشترین میزان کلروفیل a متعلق به تیمار *S. illicifolium* با میانگین (pg 0.92×10^{-1}) بعنوان مکمل بود که دارای اختلاف معنی دار نیز بودند. همچنین بین تیمار *S. illicifolium* و بقیه تیمارها اختلاف معنی دار بود ($P < 0.05$).

مقایسه تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بعنوان مکمل و جایگزین بر میزان رنگدانه کاروتنوئید جلبک *N. oculata*

نتایج آماری حاصل از مقایسه این دو مرحله از آزمایش نشان داد که کمترین میزان کاروتنوئید را تیمار *H. valentia* با میانگین (pg 0.12×10^{-1}) به عنوان جایگزین و بیشترین کاروتنوئید را تیمار *S. illicifolium* با میانگین (pg 0.73×10^{-1}) بعنوان مکمل دارا بود و اختلاف معنی داری را نشان دادند ($P < 0.05$). این اختلاف بین تیمار *S. illicifolium* با

استفاده از عصاره حلال آبی جلبکهای ماکروسکوپی در دو مرحله بعنوان جایگزین و مکمل مورد بررسی قرار گرفت که نشان داد این عصاره ها می تواند به عنوان مکمل یا جایگزین مناسب باشد.

تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بعنوان مکمل و جایگزین بر تراکم نهایی *N. oculata*

نتایج آماری این تحقیق نشان داد که بیشترین تراکم متعلق به *S. illicifolium* با میانگین (cell $10^6 \times 77/55$) بعنوان مکمل و کمترین تراکم سلولی متعلق به تیمار *H. valentia* با میانگین (cell $10^6 \times 63/08$) بعنوان جایگزین بود. که نتایج نشان داد تیمارهای استفاده شده بعنوان مکمل مناسبتر از تیمار هایی بود که بعنوان محیط کشت جایگزین انتخاب شدند. در واقع ترکیباتی که در این عصاره ها موجود بوده احتمالاً در حد کافی و کامل برای رشد جلبک نبوده است و چنانچه از عصاره به عنوان محیط کشتی تکمیل کننده استفاده شود بهتر است. همچنین در برخی از تیمارها افزایش رشد در حد مطلوب مشاهده شد ولی در برخی تیمارها روند رشد حتی از تیمار شاهد کمتر بود و این نشان می دهد که احتمالاً بدلیل وجود برخی از ترکیباتی است که در عصاره جلبکها وجود داشته و اثر مثبت بر رشد *N. oculata* نداشته است. در مطالعه ای دیگر تعیین شده است که رشد سلولهای ریزجلبکی می تواند بوسیله عصاره استخراج شده از برخی از جلبکهای ماکروسکوپی تنظیم گردد و استفاده از عصاره جلبکهای ماکروسکوپی در محیط کشت، مهمترین فاکتور محرک رشد سلولی ریزجلبکها و همچنین افزایش میزان ترکیبات بیوشیمیایی ریزجلبکها می باشد (Kumar et al., 1999, Cho et al., 1999).

(al., 1994). همچنین نتایج حاصل از مطالعاتی دیگر نشان داد که عصاره حاصل از جلبکهای ماکروسکوپی نه تنها حاوی مواد فعال بیولوژیک (هورمونهای گیاهی) می باشد، بلکه حاوی مواد معدنی (میکرو و ماکروالمنت)، ویتامین و اسیدهای آمینه نیز می باشند و وجود این عناصر باعث افزایش جذب مواد مغذی، افزایش میزان کلروفیل، تقسیم سلولی توسط سلولهای ریزجلبکی می گردد

(Munda and , Finnie and Van Staden, 1985)

Gubensek, 1975

(Moor and Van Staden, 1986). تحقیقاتی

دیگر در این زمینه نشان داده است که عصاره جلبک ماکروسکوپی *Ceramium sp*. (از جلبکهای قرمز)، از رشد و نمو جلبکهای ناخواسته ای چون ریزجلبکها، کلادوفورا و همچنین باکتریها به میزان قابل ملاحظه ای جلوگیری نموده است، از اینرو می توان بعنوان علف کش و بدون اثرات جانبی بر روی آبزیان پرورشی و اثرات زیست محیطی نامطلوب استفاده نمود (Bazes et al., 2006) که نتایج این تحقیقات با نتایج بدست آمده در این تحقیق همراستا بود.

تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی بعنوان مکمل و جایگزین بر میزان رنگدانه کلروفیل a و رنگدانه کاروتنوئید جلبک *N. oculata*

نتایج تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده عصاره حلال آبی جلبکهای ماکروسکوپی در دو مرحله بعنوان جایگزین و مکمل در این تحقیق نشان داد نشان داد که کمترین میزان کاروتنوئید در تیمار *H. valentia* با میانگین ($0/12 \text{ pg cell}^{-1}$) بعنوان جایگزین و بیشترین میزان کاروتنوئید در تیمار *S. illicifolium* با میانگین

($3/73 \text{ pg cell}^{-1}$) بعنوان مکمل بود. که اختلاف معنی داری را نشان دادند همچنین این اختلاف در بین کمترین و بیشترین میزان کاروتنوئید با تیمار شاهد نیز وجود داشت ($P < 0/05$). نتایج این تحقیق بیانگر آن بود که تیمارهای عصاره بعنوان مکمل که میزان رشد و تراکم سلولی در آنها بیشتر بود دارای میزان کلروفیل a و کاروتنوئید بیشتر هم بوده است که احتمالاً می تواند بدلیل وجود ترکیبات مؤثر بر رشد و بالا بودن تراکم سلولی و تجمع این رنگدانه در آنها باشد. در تحقیقی دیگر نتایج نشان داده است که عصاره جلبک *Gratolopia* sp. باعث افزایش نرخ رشد جلبک ایزوکرایسیس از ۵۲٪ به ۶۵٪ در روز شده است و همچنین میزان ترکیبات بیوشیمیایی چون چربی، پروتئین، کربوهیدرات، رنگدانه ها از جمله کلروفیل و وزن خشک نیز افزایش یافته است (Pratoomyot et al., 2005, Mike, et al., 2006, Brown et al., 1991 و Molina et al., 1991). همچنین نتایج حاصل از مطالعاتی دیگر نشان داد که عصاره حاصل از جلبک های ماکروسکوپی نه تنها حاوی مواد فعال بیولوژیک (هورمون های گیاهی) می باشد، بلکه حاوی مواد معدنی (میکرو و ماکروالمنت)، ویتامین و اسیدهای آمینه نیز می باشند وجود این عناصر باعث افزایش جذب مواد مغذی، افزایش میزان کلروفیل، تقسیم سلولی و سنتز پروتئین و چربی های اشباع نشده توسط سلولهای ریزجلبکی می گردد (Finnie and Van Staden, 1985, Munda and Gubensek, 1975). نتایج حاصل از این تحقیق نیز با نتایج تحقیقات دیگری که در فوق آمده است همسو و همراستا بود.

نتایج این تحقیق بیان کرد که در تمامی فاکتورهای مورد بررسی بهترین نتیجه متعلق به تیمارهایی بود که از عصاره بعنوان مکمل استفاده شده بود. در تیمارهای عصاره حلال آبی در فاکتورهای تراکم نهایی، در کلروفیل a بیشترین میزان را تیمار *S. illicifolium* بعنوان مکمل و کمترین میزان را تیمار *E. intistialis* بعنوان جایگزین نشان داد و در کاروتنوئید بیشترین میزان مربوط به تیمار *S. illicifolium* بعنوان مکمل و کمترین میزان مربوط به تیمار *H. valentia* که بعنوان جایگزین بود دیده شد. نتایج در این تحقیق نشان دادند که در طول دوره کشت از بررسی روند رشد جلبک تقریباً کمترین تراکم سلولی مربوط به تیمار شاهد و بیشترین تراکم مربوط به تیمار *S. illicifolium* که بعنوان مکمل استفاده شده بود.

سپاسگزاری

در اجرای این پروژه از جناب آقای دکتر محمد صدیق مرتضوی ریاست محترم پژوهشگاه اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان و بخش آبرزی پروری و ریاست محترم آن جناب آقای دکتر حجت اله فروغی فرد و هم چنین کارشناسان بخش آقایان مهندس مسعود غریب نیا و مهندس عیسی عبدالعلیان و خانم مهندس مریم معزی، جهت حمایت های همه جانبه شان کمال تشکر و قدردانی را دارم.

منابع

۱. خلیل پذیر، م.، اکبرپور، ا.، وهاب نژاد، آ.، ۱۳۹۶. میزان رشد و تراکم ریز جلبک *Tetraselmis chuii* در شدت های نوری مختلف. نشریه توسعه آبرزی پروری، ۱۱(۲)، ۴۸-۳۹.

10. Guillard, R. R. L. & Ryther, J.H., 1962. Studies on marine planktonic3 diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. Canadian Journal of Microbiology, 8, 229–239.
11. Henry, E. C., 2005. Report on Alkaline Extraction of aquatic Plants. BioScienceService. 18p.
12. Kolb, N.; Valloran, L.; Milanovic, N.; Stocchi, V., 2004. Evaluation of Marine algae as food supplements. Food Technology and Biotechnology, 42(1) 57-61.
13. Lavens, P., Sorgeloos, P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO, first edition, pp: 371-401.
14. Mike, L. M., Bricelj, V. M. & Parrish, C. C., 2006. Comparison of early life history stages of the bay scallop, *Argopecten irradians*: Effects of microalgal diets on growth and biochemical composition. Aquaculture, 260, 272–289.
15. Molina, E. ; Martínez M. E., Sánchez S.; García F. and A. Contreras., 1991. Growth and biochemical composition with emphasis on the fatty acids of *Tetraselmis* sp. Applied Microbiology and Biotechnology, 36, 21–25.
16. Moore, P. A. and J. Van Staden. 1986. Algae and cytokinins. Journal of Plant Physiology, 123, 1–2.
17. Muller-Feuga, A., 2000. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. Journal of Applied Phycology, 12, 527–534.
18. Munda, M. & Gubensek F., 1975. The amino acid composition of some common marine algae from Iceland. Botanica Marina, 19, 85–92.
19. Pratoomyot, J., Srivilas, P. & Noiraksar, T., 2005. Fatty acids composition of 10 microalgal species. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 27, 1179–1187.
20. Pulz, O. and Gross, 2004. W.: Valuable products from biotechnology of microalgae. Applied Microbiology and Biotechnology, 65, 635–648.
۲. دیار کیان مهر، ه.، ۱۳۷۱. مبانی جلبک شناسی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۲۵۱ص.
۳. گنجیان خناری، ع.، شکوری، م.، قاسم نژاد، م.، گنجیان خناری، ف.، فارابی، و.، ۱۳۹۱. بررسی تأثیر بی کربنات سدیم بر رشد میکروجلبک کلرلا (*Chlorella* sp.) در محیط کشت TMRL. نشریه توسعه آبرزی پروری، ۶(۲)، ۶۵–۵۷.
4. Alabi, A. O., Cob, Z. C., Jones, D. A., & Latchford, J. W. 1999. Influence of algal exudates and bacteria on growth and survival of white shrimp larvae fed entirely on microencapsulated diets. Aquaculture International, 7(3), 137-158.
5. Bazes A., Silkina A., Defer D., Bernède-Bauduin C., Quémener E., Braud J-P., Bourgougnon N. 2006. Active substances from *Ceramium botryocarpum* used as antifouling products in aquaculture. Aquaculture, 258 (1-4): 664-674.
6. Brown, M. R., 1991. The amino acid and sugar composition of sixteen species of microalgae used in mariculture. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 145, 79–99.
7. Cho, J. Y., Jin, H. J., Lim, H. J., Whyte, J. N. C. & Hong, Y.K., 1999. Growth activation of the microalga *Isochrysis galbana* by the aqueous extract of the seaweed *Monostroma nitidum*. Journal of Applied Phycology, 10, 561–567.
8. De Castro Araujo, S., & Garcia, V. M. T., 2005. Growth and Biochemical composition of the diatom *Chaetoceros* sp. *Wighamii* brightwell under different temperature, salinity and carbon dioxide levels, Protein, Carbohydrates and Lipids. Aquaculture, 246(1-4), 405-412.
9. Finnie, J. F. & Van Staden, J., 1985. The effect of seaweed concentrate and applied hormones on in vitro cultured tomato roots. Journal of Plant Physiology, 120, 215-310.

- growth of the red tide microalga *Prorocentrum donghaiense* under laboratory conditions. *Journal of Sea Research*, 58, 189–197.
23. Zhang, X., 1997. Influence of Plant Growth Regulators on Turfgrass Growth, Antioxidant Status, and Drought Tolerance. Blacksburg, Virginia. 131p.
 21. Rohani-ghadikolaei, K., Abdulalian, E., Aghajari, N., Aftabsavar, Y. and Ng, W. K., 2011. The effect of seaweed extracts, as a supplement or alternative culture medium, on the growth rate and biochemical composition of the microalga, *Isochrysis galbana*. *Aquaculture Research*, 1365-2109.2011.02951.x.
 22. Wang, R.; Xiao, H.; Wang, Y.; Zhou, W., and Tang, X., 2007. Effects of three macroalgae, *Ulva linza* (Chlorophyta), *Corallina pilulifera* (Rhodophyta) and *Sargassum thunbergii* (Phaeophyta) on the