اوپتیمم شوری برای پرورش ریزجلبک نانوکلروپسیس اوکولاتا در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره)

اسمعیل پقه[1*]، مجتبی ذبایح نجف‌آبادی[2]، جاسم غفله مرمضی[3] و سیمین دهقان[3]

1-مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آبهای داخلی گرگان
2-پژوهشکده آبزی پروری جنوب کشور، ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره)
3-پژوهشکده آبزی پروری جنوب کشور
*آدرس الکترونیکی نویسنده مسئول:esmaeilpaghe@gmail.com

مقدمه

ریز جلبک گونه *N. oculata* متعلق به جنس *Nannochloropsis* از رده Eustigmatophyceae می باشد (Hibberd, 1981). گونه های این جنس اغلب در محیطهای دریایی شناخته شده اند اما همچنین در محیطهای آب شیرین و لب شور نیز یافت می شوند (Fawley & Fawley, 2007). شوری مناسب برای پرورش ریزجلبکهای دریایی در منابع مختلف بین 20 تا 25 قسمت در هزار گزارش شده است (Lavens & Sorgeloos, 1996). این گونه در تکثیر ماهیان دریایی اهمیت ویژه‌ای دارد و بعنوان گونه اصلی مورد استفاده در مراکز تکثیر ماهیان دریایی و برای پرورش روتیفر و ایجاد اثر آب سبز در مخازن پرورش لاروی ماهیان دریایی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

روش‌ها

در طی سه آزمایش مختلف ابتدا شوری بهینه برای پرورش این گونه با آزمودن تاثیر شوری‌های 20، 25، 30 و 35 قسمت در هزار سنجیده شد، بعد از آن رشد این گونه در شوری‌های کمتر (0، 5، 10 و 15 قسمت در هزار) و سپس در شوری‌های بالاتر از آزمایش اول (40، 45، 50، 55، 60 و 65 قسمت در هزار) مطالعه شد. شوری‌های بالاتر از شوری آب دریا با تبخیر کردن آب و برای شوری‌های کمتر از آن با افزودن آب شیرین (مقطر) تنظیم شدند، سپس با استفاده از کلر با دوز 30ppm ضدعفونی شده پس از 24 ساعت با استفاده از تیوسولفات سدیم کلر باقی‌مانده کلر آب خنثی شد. سپس آنها را در ارلنهای نیم لیتری ریخته، در دستگاه اتوکلاو با دمای 121 درجه سانتی‌گراد استریل شدند. پس از خنک شدن آنها ریزجلبک مادر به آنها تلقیح شد طوری که تراکم اولیه کشت در مطالعات مختلف بین 5/5 تا 7 میلیون سلول در میلی‌لیتر بود. دمای کشت حدود 24-23 درجه سانتی‌گراد، شدت نور حدود 2000 لوکس و دوره نوری 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی رعایت شد (Lavens & Sorgeloos, 1996). برای تامین مواد مغذی مورد نیاز رشد ریزجلبکها از محیط کشت کانوی (Lavens & Sorgeloos, 1996; Pagheh et al., 2012) استفاده شد. دوره پرورش 7 روزه (Lavens & Sorgeloos, 1996) در نظر گرفته شد. در روزهای یکم، دوم و هفتم پس از کشت از کشت‌ها نمونه برداشته و در زیر میکروسکوپ نوری (با بزرگنمایی 10*) و با استفاده از لام نئوبار شمارش گردید. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از بسته نرم‌افزاری SPSS نسخه 19 و برای آزمودن معنی‌دار بودن میانگین‌ها از آزمون توکی (tukey) استفاده شد.

یافته‌ها

در آزمایش اول نتایج نشان داد که مناسب‌ترین شوری برای پرورش این گونه شوری 20 قسمت در هزار بود که در آن بالاترین تراکم سلولی (105/75±3/40 میلیون سلول در میلی‌لیتر) بدست آمد و هر چه به میزان شوری آب کشت‌ها اضافه شد از میزان تراکم نهایی بدست آمده کاسته شد، طوری که میزان تراکم بدست آمده در شوری 20 قسمت در هزار با تراکم بدست آمده در شوری 25 قسمت در هزار اختلاف معنی‌دار نداشت ($p>0.05$) ولی با تراکم‌های بدست آمده در شوری‌های 30 و 35 قسمت در هزار اختلاف معنی‌دار داشت ($p<0.05$) (جدول 1).

جدول 1: تراکم سلولی ریزجلبک نانوکلروپسیس اوکولاتا در شوری‌های مختلف در روز هفتم پس از کشت

شوری (ppt)	20	25	30	35
تراکم سلولی (میلیون سلول در میلی‌لیتر)	$105/75 \pm 3/40^{a}$	$100/25 \pm 4/60^{ab}$	$96/33 \pm 0/88^{b}$	$86/75 \pm 1/00^{c}$

در آزمایش دوم نتایج نشان داد که هر چه شوری آب کشت ریزجلبک پایین‌تر از حد مطلوب آن می شود برای رشد و افزایش تراکم سلولی این ریزجلبک نامطلوب‌تر می‌شود و در پایان تراکم کمتری داشتند و تراکم ریزجلبک در هر شوری نسبت به شوری بالاتر مورد بررسی به صورت معنی‌داری ($p<0.05$) کمتر بود، طوری‌که در شوری صفر قسمت در هزار رشد آن تقریباً متوقف شد، اما شوری 15 قسمت در هزار برای کشت آن قابل استفاده بود (جدول 2).

جدول 2: تراکم سلولی ریزجلبک نانوکلروپسیس اوکولاتا در شوری‌های مختلف کمتر از شوری مطلوب در روز هفتم پس از کشت

شوری (ppt)	0	5	10	15
تراکم سلولی (میلیون سلول در میلی‌لیتر)	$8/13 \pm 0/68^{d}$	$25/14 \pm 2/88^{c}$	$30/64 \pm 1/64^{b}$	$44/09 \pm 1/28^{a}$

در آزمایش سوم هر چه شوری آب کشت از شوری 40 قسمت در هزار به سمت شوری 65 افزایش یافت از تراکم نهایی بدست آمده به طور معنی‌داری ($p<0.05$) کاسته شد، ولی تراکم‌های بدست آمده نشان‌دهنده این بود که این ریزجلبک را در صورت نیاز می‌توان در شوری 60 قسمت در هزار نیز پرورش داد.

جدول 3: تراکم سلولی ریزجلبک نانوکلروپسیس اوکولاتا در شوری‌های مختلف بالاتر از شوری مطلوب در روز هفتم پس از کشت

شوری (ppt)	40	45	50	55	60	65
تراکم سلولی (میلیون سلول در میلی‌لیتر)	$76/17 \pm 2/40^{a}$	$61/75 \pm 3/12^{b}$	$59/17 \pm 2/32^{b}$	$56/42 \pm 2/12^{b}$	$37/83 \pm 2/47^{c}$	$16/17 \pm 1/53^{d}$

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که برای کشت ریزجلبک نانوکلروپسیس اوکولاتا مناسبترین شوری، شوری 20 تا 25 قسمت در هزار است ولی در صورت لزوم می‌توان آن‌را در شوری‌های 15 تا 60 قسمت در هزار نیز پرورش داد هر چند هر چه از شوری مطلوب فاصله بگیریم، میزان رشد آن و در نتیجه تولید سلول ریزجلبک نانوکلروپسیس اوکولاتا کمتر خواهد بود. منابع مختلفی نیز مناسب-ترین شوری برای کشت اکثر ریزجلبک‌های دریایی را در محدوده 20 تا 25 قسمت در هزار ذکر کرده اند (Lavens & Sorgeloos, 1996; Richmond, 2004; Xan & Hai, 2004). فتوسنتز در جلبک‌ها تحت تاثیر استرس اسمزی قرار می‌گیرد که در این استرس شوری آب نقش مهمی را ایفا می‌کند (Richmond, 2004).

منابع

1. Fawley, K. P. and Fawley, M. W. 2007 . Obeservation on the diversity and ecology of freshwater *Nannochloropsis* (Eustigmatophyceae), with descriptions of new taxa. Protist. Vol. 158, pp. 325-336.
2. Hibberd, D. J. 1981. Notes on the taxonomy and nomenclature of the algae classes Eustigmatophyceae and Tribophyceae (synonym Xanthophyceae). Journal of the Linnean Society of London, Botany. Vol. 82, pp. 93 – 119.
3. Lavens, p. & Sorgeloos, p. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical paper. No. 361, FAO, Rome. 305 pp.
4. Pagheh, E. ; Ghafleh Marammazi, J. and Zabayeh Najafabadi, M. 2012. Effect of salinity and culture media on the concentration increasment of *N. oclata* algae. First international larviculture conference in Iran. 11-12 December 2012 , Karaj – IRAN. Pp. 512-517.
5. Richmond, A. 2004 . Handbook of Microalgal culture : Biotechnology and applied phycology. Blakwell publishing, Oxford, 566 pp.
6. Xan, L. & Hai, D. X. 2004. Effect of temperature, salinity and stoching density on development of mass culture of *Isochrysis galbana* and *Nannochloropsis oculata* for breeding. Increasing Aquaculture Productivity, p. 23 (abstract).