فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال یازدهم، شماره اول، بهار ۱۴۰۲

مقاله پژوهشی

بررسی قابلیت پرورش ریزجلبک *Dunaliella tertiolecta* در آب‌های ژرف سیستان

عبدالعلی راهداری[۱]*، علی خسروانی‌زاده[۱]، ساحل پاکزاد توچایی[۲]

DOI: 10.22124/japb.2022.21644.1457
تاریخ دریافت: بهمن ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۱

چکیده

هدف این مطالعه ارزیابی قابلیت آب نخستین چاه ژرف کشور واقع در منطقه سیستان برای پرورش ریزجلبک *Dunaliella tertiolecta* بود. به این منظور ۵ تیمار شامل آب چاه ژرف با شوری‌های ۲۰ و ۳۵ppt، آب چاه ژرف و نمک دریاچه ارومیه (۳۵ppt) و آب شهر با شوری‌های ۲۰ و ۳۵ppt در نظر گرفته شد و ریزجلبک *D. tertiolecta* به مدت ۲۴ روز تحت شرایط استاندارد (دمای ۱±۲۶ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ۲۰۰۰ لوکس و ۱۶ ساعت روشنایی- ۸ ساعت تاریکی) پرورش داده شد. نتایج نشان داد مقدار pH در همه تیمارها تا روز ۶ اندکی افزایش یافت، ولی سپس کاهش یافت و از روز ۱۲ تا ۲۴ روند ثابتی داشت. بالاترین میزان رشد، بیشترین تولید کلروفیل a و کاروتنوئید، بالاترین سرعت رشد ویژه، کمترین زمان دو برابر شدن و بالاترین میزان تقسیم در تیمار آب ژرف با شوری ۲۰ppt مشاهده شد. اگر چه کمترین میزان زی‌توده تولیدی در همین تیمار بود. بر اساس این نتایج می‌توان گفت در صورت افزودن نمک به آب ژرف، با تغییر ترکیب و افزایش شوری، میزان زی‌توده تولیدی افزایش خواهد یافت و به طور کلی ریزجلبک *D. tertiolecta* در آب ژرف (چاه شماره یک) منطقه سیستان قابل پرورش است.

واژگان کلیدی: *چاه ژرف، پرورش، ریزجلبک، Dunaliella tertiolecta، سیستان.*

۱- استادیار گروه شیلات، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، پژوهشگاه زابل، زابل، ایران.
۲- استادیار گروه اکوسیستم‌های طبیعی، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، پژوهشگاه زابل، زابل، ایران.
* نویسنده مسئول: Rahdari57@uoz.ac.ir

مقدمه

جنس *Dunaliella* قادر است دامنه وسیعی از شوری را تحمل کند. در سال‌های اخیر توجه ویژه‌ای به این جنس شده است. این ریزجلبک‌های سبز رنگ شورپسند قادر به رشد در طیف گسترده‌ای از شوری از ۵۰ میلی‌مولار تا ۵/۵ مولار (نزدیک به حد اشباع NaCl) هستند. پرورش ریزجلبک‌ها به دلیل مزایای متعدد آنها گسترش یافته است. در مورد گونه *Dunaliella tertiolecta* که از نظر محتوای نسبتا بالای چربی، نرخ رشد سریع و مقاومت زیاد نسبت به شرایط سخت محیطی مانند شوری بالا مورد توجه است (Hosseini and Shariati, 2009)، مطالعات جامعی صورت گرفته است که این گونه به عنوان سوخت زیستی کاربرد دارد (Tang et al., 2011; Fazeli et al., 2012). همچنین، ریزجلبک‌ها منبع تامین بسیاری از رنگدانه‌های مهم و کاربردی هستند. نداشتن دیواره سخت سلولی استخراج محتویات آنها را آسان می‌کند. کاروتنوئیدها مواد شیمیایی با ارزش تجاری بالا هستند که به عنوان مواد رنگ کننده در مواد مغذی، دارویی و آرایشی استفاده می‌شوند (Jin et al., 2003). این ترکیبات خواص آنتی‌اکسیدانی دارند و در شیمی درمانی سرطان‌ها کاربرد دارند (Nishino et al., 2002). از حدود ۱۰۰۰ کاروتنوئید موجود در طبیعت تنها تعداد کمی از آنها در میوه‌ها و سبزیجات به وفور یافت می‌شوند. این کاروتنوئیدها عبارتند از بتاکاروتن موجود در هویج، لیکوپن در گوجه فرنگی و لوتئین در اسفناج (Prasad et al., 1999). اگرچه برخی از کاروتنوئیدها مانند بتاکاروتن و زآگزانتین به شکل مصنوعی وجود دارند، علاقه فزاینده‌ای به کاروتنوئیدهای تولید شده از طریق ریزجلبک طبیعی، منابع باکتریایی و مخمرها وجود دارد که علت آن ذهنیت منفی افکار عمومی نسبت به افزودنی‌های مصنوعی است (Bhosale et al., 2004). ریزجلبک‌ها میکروارگانیسم‌های فتوسنتز کننده یوکاریوتی هستند که برای تولید ترکیبات بسیار با ارزش مانند کاروتنوئیدها استفاده می‌شوند (Barbosa et al., 2003). اگرچه شوری زیاد به تولید کاروتنوئید توسط ریزجلبک‌ها کمک می‌کند، اما تراکم سلولی معمولا در غلظت نمک بالا کاهش می‌یابد (Gomez et al., 2003; Jahnke and White, 2003). جذب فلزات سنگین از دیگر قابلیت‌های ریزجلبک‌ها است. گونه *D. tertiolecta* از طریق تولید

فیتوکلاتین (Phytochelatin) که فلزات را در واکوئل‌ها ذخیره می‌کند، قادر به تحمل فلزات سنگین است و به همین دلیل از خاصیت زیست پالایی برای حذف فلزات سنگین از محیط زیست برخوردار است (Tsuji et al., 2002). همچنین، این گونه انتخاب خوبی برای تصفیه فاضلاب‌های دریایی حاوی مقادیر بالای آمونیاک است (Belle, 2007). از مزایای دیگر پرورش جلبک این است که اراضی مستعد کشاورزی اشغال نمی‌شود و نیز روشی برای حذف CO_2 است (Mata et al., 2010).

در طول سالیان گذشته نزولات آسمانی کاهش یافته و جریان آب رودخانه هیرمند به عنوان مهم‌ترین شاهرگ حیاتی تامین آب سیستان و تالاب بین المللی هامون به شدت کاهش یافته است. در نتیجه، شاهد خشک شدن و از بین رفتن بخش زیادی از حیات جوامع محلی منطقه سیستان هستیم. در چنین شرایطی که کشور بیشتر از هر زمان دیگری درگیر مشکل تامین آب است، لازم است منابع جدید برای مصارف شرب و کشاورزی شناسایی و تامین شودند تا امنیت زندگی مردم منطقه برقرار بماند. برای تامین نیاز آبی سیستان به صورت پایدار، گزینه‌هایی مانند انتقال آب از دریای عمان و آب‌های ژرف مورد توجه قرار گرفته‌اند. مطالعاتی که در طی سال‌های گذشته انجام شده تایید کننده وجود منابع آب‌های ژرف در مناطق مختلف کشور است. آب‌های ژرف به منابع آب‌های پنهانی گفته می‌شود که در سازندهای زمین‌شناسی، سفره‌های آبی زیرزمینی را تشکیل می‌دهند و می‌توانند تجدیدپذیر باشند. معاونت علمی ریاست جمهوری با همکاری شرکت‌های دانش بنیان و بر اساس آخرین استانداردهای دنیا حفر و اکتشاف آبخوان‌های مختلف در چاه ژرف شماره یک سیستان تا عمق ۳۰۰۰ متری را در سال ۱۳۹۷ به سرانجام رسانده است. در این چاه تجدیدپذیر امکان تولید ۱۵۰۰ مترمکعب آب در روز فراهم شد. دمای آب شور تولیدی این چاه در سطح زمین ۸۷ درجه سانتی‌گراد است که شرایط تولید انرژی را نیز دارد.

ایجاد و توسعه کشت‌های گلخانه‌ای و آبزی‌پروری گزینه‌هایی برای استفاده از گرما و آب استحصالی از چاه ژرف سیستان هستند. با توجه به ویژگی‌های خاص آب استحصالی از این چاه، بررسی‌های متنوعی روی آن صورت گرفته است که مطالعه حاضر در راستای ارزیابی قابلیت آب چاه ژرف برای پرورش ریزجلبک‌ها است. با توجه به جایگاهی که ریزجلبک‌ها به عنوان منابع انرژی در تولید سوخت زیستی، تولید

رنگدانه‌ها، مواد آرایشی و تصفیه فاضلاب پیدا کرده‌اند، در سال‌های اخیر توجه زیادی به سمت آنها معطوف شده است (Benavides et al., 2015). از طرف دیگر، شناسایی منبع جدید آبی تحت عنوان آب چاه ژرف در منطقه سیستان، زمینه و ضرورت امکان‌سنجی آبزی‌پروری در این منابع آبی را ایجاد کرده است که ریزجلبک‌ها با توجه به اهمیت اقتصادی و ویژگی‌های زیستی خود، انتخاب مناسبی برای پرورش در آب ژرف سیستان هستند.

مواد و روش‌ها

پرورش ریزجلبک

استوک اولیه ریزجلبک *Dunaliella tertiolecta* از پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمال غرب و غرب کشور (تبریز) تهیه شد. برای دستیابی به غلظت مناسب ریزجلبک، استوک تهیه شده به مدت یک هفته درون ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی آب شور شده با نمک دریاچه ارومیه (۳۵ppt)، با افزودن محیط کشت جانسون (Johnson et al., 1968) و تحت شرایط محیطی کنترل شده و استاندارد مانند دمای ۲۷-۲۵ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۲۰۰۰ لوکس (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) در آزمایشگاه پژوهشکده تالاب بین المللی هامون دانشگاه زابل کشت داده شدند. پس از رسیدن به تراکم ۱۸ میلیون سلول در هر میلی‌لیتر، آزمایش اصلی شروع شد. ظروف کشت با اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریلیزه شدند. در طول دوره پرورش، هوادهی به نحوی انجام شد که از رسوب جلبک‌ها جلوگیری شود. هر ظرف با ۹۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت جانسون (آب مورد نظر + محیط کشت) (جدول ۱) و ۱۰۰ میلی‌لیتر استوک با تراکم نهایی $۱/۸\times۱۰^{۶}$ سلول در میلی‌لیتر کشت داده شد. کشت در زمانی انجام شد که استوک اولیه در فاز خطی رشد بود.

برای مقایسه میزان رشد ریزجلبک *D. tertiolecta* در آب ژرف با آب معمولی، ۵ تیمار (هر کدام با سه تکرار) به مدت ۲۴ روز با مشخصات جدول ۱ در نظر گرفته شد.

شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب در تیمارهای آزمایشی

مقدار pH آب به وسیله دستگاه pHمتر (Labtron ،L2012، ایران) و میزان نیترات، نیتریت، فسفات، سولفات، منیزیوم، منگنز، روی، مس کل، سختی کل و قلیائیت آب توسط دستگاه فتومتر (Palintest ،8000، انگلستان) اندازه‌گیری شد.

جدول ۱: تیمارهای استفاده شده در مطالعه حاضر

عنوان تیمار	مشخصات
ژرف ۲۰	آب استخراج شده از چاه ژرف ۱ سیستان- شوری ۲۰ppt
ژرف ۳۵	آب ژرف تغلیظ شده در دمای اتاق- شوری ۳۵ppt
ژرف و ارومیه ۳۵	آب ژرف با شوری ۲۰ppt و ۱۵ گرم در لیتر نمک دریاچه ارومیه- شوری ۳۵ppt
آب شهر ۲۰	آب معمولی شهر و ۲۰ گرم در لیتر نمک دریاچه ارومیه- شوری ۲۰ppt
آب شهر ۳۵	آب معمولی شهر و ۳۵ گرم در لیتر نمک دریاچه ارومیه- شوری ۳۵ppt

مقدار دو عنصر پتاسیم و سدیم توسط فلیم‌فتومتر (CL 361، ELICO، هند) اندازه‌گیری شد. ابتدا برای هر یون استانداردهای لازم با استفاده از محلول‌های استاندارد (Chem-Lab، بلژیک) تهیه شد و سپس غلظت عناصر نمونه‌ها در دستگاه خوانده شد.

اندازه‌گیری میزان رشد ریزجلبک

میزان رشد ریزجلبک در طول دوره با فواصل ۳ روزه به دو روش اندازه‌گیری شد. در روش اول از محیط همگن پرورش، ۳ نمونه به وسیله سمپلر برداشت و شمارش جلبک‌ها با لام نئوبار و عکس‌برداری با میکروسکوپ نوری (GE 3035، Euromex، هلند) مجهز به دوربین (CMEX، Euromex، هلند) انجام شد. در روش دوم میزان جذب نوری در طول موج ۶۸۰ نانومتر با کمک اسپکتروفتومتر (2100، Unico، آمریکا) خوانده شد (Hopkins et al., 2019).

مقدار رشد ویژه (SGR)، زمان دو برابر شدن (DT) و تعداد تقسیم در روز (K) با استفاده از رابطه‌های ۱ تا ۳ محاسبه شدند (Omori and Ikeda, 1984; James and Al-Khars, 1986).

رابطه ۱:

$$SGR = (LnN_2 - LnN_1) / (T_2 - T_1)$$

N_1: تعداد سلول‌های ریزجلبک در زمان T_1؛ N_2: تعداد سلول‌ها در زمان T_2.

رابطه ۲:

$$DT = Ln\,2 / SGR$$

رابطه ۳:

$$K = SGR / Ln\,2$$

اندازه‌گیری میزان زی‌توده

برای اندازه‌گیری زی‌توده، ابتدا لوله‌های آزمایش کاملا شسته و تمیز شده و به مدت یک ساعت در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد

خشک شدند. سپس، وزن لوله‌های خشک اندازه‌گیری شد. هر ۶ روز یک بار از ظروف کشت کاملا همگن و یکنواخت شده، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون جلبکی برداشت (Ramakrishna et al., 2011) و به لوله‌های آزمایش منتقل شد. نمونه‌ها در ۳۵۰۰g به مدت ۸ دقیقه سانتریفوژ (مبین‌طب، ایران) شدند. محلول رویی از لوله‌ها خارج و یک بار دیگر این عمل با آب مقطر انجام شد تا نمک باقی‌مانده از لوله خارج شود. لوله حاوی زی‌توده جلبکی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از این مدت، دوباره لوله‌ها وزن شدند. وزن لوله‌ها در هر مرحله به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ میلی‌گرم اندازه‌گیری شد.

استخراج رنگدانه و اندازه‌گیری

در هر نمونه‌برداری، ابتدا ظرف به خوبی بهم زده می‌شد تا کاملا یکنواخت شود. سپس، از هر ظرف یک نمونه ۵ میلی‌لیتری برداشت و به مدت ۶ دقیقه در سرعت ۳۵۰۰g سانتریفوژ شد. محلول روی پلت خارج و ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به آن افزوده شد. لوله‌ها به مدت ۲ دقیقه ورتکس شدند تا زی‌توده جلبکی در معرض استون قرار گرفته و استخراج انجام شود. سپس، لوله‌ها درون فویل پیچیده شدند تا در معرض نور قرار نگیرند و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال گذاشته شدند. بعد از این مدت، دوباره به روش قبلی سانتریفوژ شدند (Jin et al., 2003). مقدار جذب نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۷ و ۶۶۳ نانومتر خوانده و غلظت رنگدانه‌ها با رابطه‌های ۴ تا ۶ محاسبه شد (Lichtenthaler and Wellburn, 1983; Lichtenthaler, 1987).

رابطه ۴:

$$\textbf{Chlorophyll a (µg/mL)} = 12.21A_{663} - 2.81A_{647}$$

رابطه ۵:

$$\textbf{Chlorophyll b (µg/mL)} = 20.13A_{647} - 5.03A_{663}$$

رابطه ۶:

$$\textbf{Carotenoids (µg/mL)} = (1000A_{470} - 3.27\text{Chl a} - 104\text{ Chl b}) / 229$$

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نرم‌افزار SPSS 19.0 برای تجزیه و تحلیل داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها به ترتیب از طریق آزمون‌های Kolmogorov-Smirnov و Levene بررسی شد. مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون تحلیل واریانس یک طرف (One-way ANOVA) و پس‌آزمون دانکن (Duncan) در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام

شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel 2016 استفاده شد. همه داده‌های متن به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده‌اند.

نتایج

شاخص‌های رشد و تغذیه

نتایج سنجش شاخص‌های آب در جدول ۲ ارائه شده است.

مقدار pH در همه تیمارها افزایش یافت که تا روز ۶ این افزایش قابل توجه بود و پس از آن کمی کاهش پیدا کرد. ولی همواره نسبت به ابتدای دوره بالاتر بود. افزایش pH در تیمارهای حاوی آب شهر نسبت به تیمارهای آب ژرف کاملا محسوس بود. مقدار pH از روز ۱۲ تا پایان دوره روند ثابتی داشت (شکل ۱).

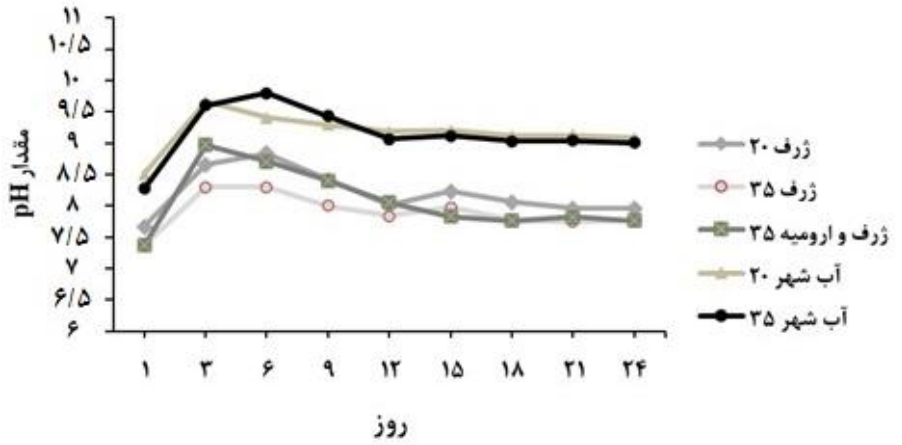
جدول ۲: شاخص‌های فیزیکوشیمایی آب در تیمارهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

تیمار / شاخص	ژرف ۲۰	ژرف ۳۵	ژرف و ارومیه ۳۵	آب شهر ۲۰	آب شهر ۳۵
نیترات (mg/L)	۱/۰۶±۰/۰۰۶ ^{c}	۱/۳۹±۰/۰۱۳ ^{b}	۱/۳۵±۰/۰۰۴ ^{b}	۳/۱۶±۰/۰۱۳ ^{a}	۳/۱۷±۰/۰۶۲ ^{a}
فسفات (mg/L)	۱/۸۴±۰/۰۳۰ ^{a}	۱/۵۳±۰/۰۳۸ ^{b}	۱/۰۴±۰/۰۳۰ ^{c}	۰/۱۱±۰/۰۰۶ ^{d}	۰/۱۱±۰/۰۱۰ ^{d}
سولفات (mg/L)	۴۸۱/۶۷±۱۲/۵۸ ^{a}	۳۸۶/۶۷±۱۲/۵۸ ^{c}	۴۱۱/۶۷±۱۲/۵۸ ^{b}	۳۲۱/۶۷±۲/۸۹ ^{d}	۴۰۳/۳۳±۵/۷۷ ^{bc}
نیتریت (mg/L)	۰/۰۰۶±۰/۰۰۰۳ ^{b}	۰/۰۰۶±۰/۰۰۰۲ ^{b}	۰/۰۰۶±۰/۰۰۱۰ ^{b}	۰/۰۰۲±۰/۰۰۰۱ ^{a}	۰/۰۰۶±۰/۰۰۰۲ ^{b}
منیزیوم (mg/L)	۶۵/۶۷±۵/۸۶ ^{b}	۷۲/۶۷±۱/۵۳ ^{a}	۶۴/۳۳±۱/۵۳ ^{b}	۲۹/۶۷±۰/۵۸ ^{c}	۳۰/۰۰±۱/۷۳ ^{c}
منیزیوم*	۲۷۲/۳۳±۱/۱۵ ^{b}	۳۰۱/۴۷±۱/۲۸ ^{a}	۲۶۸/۹۳±۱/۰۰ ^{c}	۱۲۵/۷۷±۰/۶۸ ^{d}	۱۲۱/۲۷±۱/۱۰ ^{e}
منگنز (mg/L)	۰/۰۰۸۰±۰/۰۰۰۲ ^{b}	۰/۰۰۶۹±۰/۰۰۰۵ ^{b}	۰/۰۱۰۰±۰/۰۰۳۰ ^{a}	۰/۰۰۵۸±۰/۰۰۰۸ ^{b}	۰/۰۰۸۷±۰/۰۰۰۶ ^{b}
روی (mg/L)	۰/۰۱۳±۰/۰۰۲ ^{b}	۰/۰۲۲±۰/۰۰۲ ^{a}	۰/۰۱۲±۰/۰۰۲ ^{b}	nd	nd
مس کل (mg/L)	۳/۸۰±۰/۲۵ ^{a}	۳/۷۰±۰/۰۳ ^{a}	۲/۳۵±۰/۰۸ ^{b}	۰/۷۰±۰/۰۴ ^{c}	۰/۴۲±۰/۰۱ ^{d}
پتاسیم (mg/L)	۲۸/۶۰±۰/۵۳ ^{b}	۳۷/۲۰±۰/۸ ^{a}	۲۵/۶۷±۱/۴۶ ^{c}	۵/۹۷±۰/۶۵ ^{d}	۶/۰۳±۰/۲۵ ^{d}
سدیم (mg/L)	۱۲۴۶/۶۷±۱۰/۴۱ ^{e}	۱۷۱۶/۶۷±۲۰/۸۲ ^{c}	۱۷۹۷/۰۰±۶/۰۸ ^{b}	۱۳۹۸/۶۷±۴/۶۲ ^{d}	۱۸۸۳/۳۳±۱۲/۵۸ ^{a}
سختی کل*	۲۹۰۳/۳۳±۳۵/۱۲ ^{c}	۵۰۹۰/۰۰±۳۶/۰۶ ^{a}	۴۳۰۳/۳۳±۶۵/۰۶ ^{b}	۱۸۵/۶۷±۳/۰۵ ^{d}	۲۰۸/۳۳±۲/۸۹ ^{d}
قلیائیت*	۳۰/۳۳±۰/۵۸ ^{d}	۴۴/۶۷±۱/۵۳ ^{c}	۳۱/۳۳±۱/۵۳ ^{d}	۱۱۴/۰۰±۳/۶۰ ^{a}	۹۵/۶۷±۳/۰۵ ^{b}

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P<0/05$).

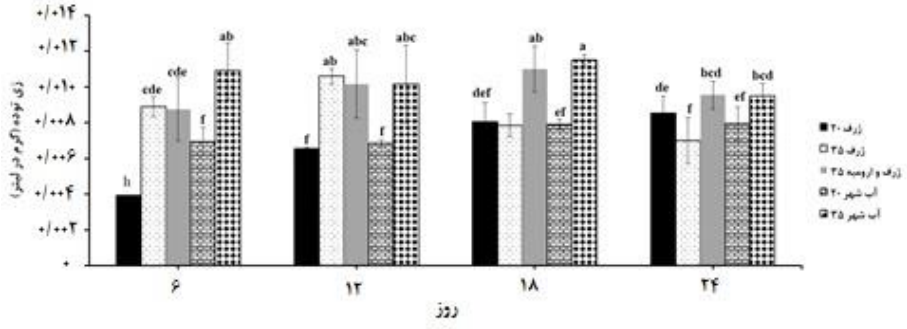
*: اندازه‌گیری بر اساس میلی‌گرم در لیتر کربنات کلسیم ($CaCO_3$)

nd: غیرقابل سنجش



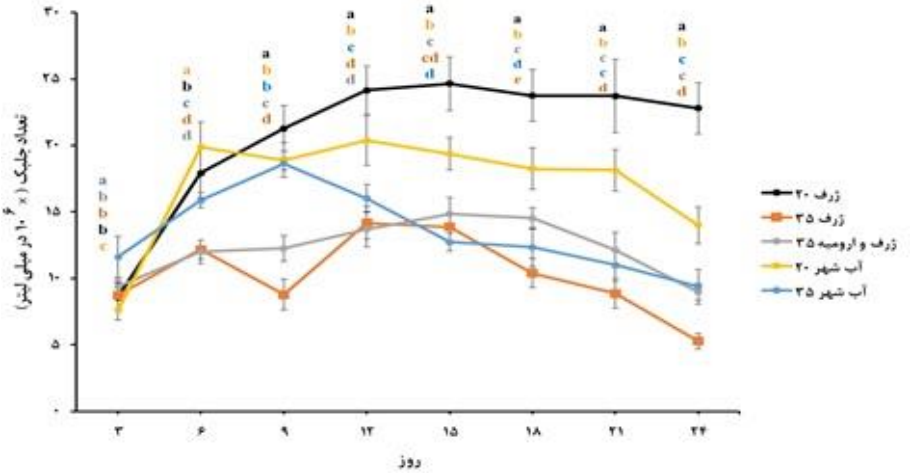
شکل ۱: روند تغییرات pH طی دوره پرورش ریزجلبک *Dunaliella tertiolecta* در تیمارهای مختلف

مقادیر زی‌توده خشک طی دوره آزمایش نشان داد در تیمار ژرف ۲۰ مقدار زی‌توده در طول دوره روند افزایشی داشت و در پایان دوره بیشترین مقدار را نشان داد، در حالی که در بقیه تیمارها چنین روندی وجود نداشت و در تمیار ژرف ۳۵ مقدار زی‌توده پس از روز ۱۸ کاهش یافت. میزان زی‌توده تولید شده تیمار ژرف ۲۰ در روز ۶ کمتر از بقیه تیمارها بود و همین تاخیر اولیه در افزایش زی‌توده باعث شد در طی دوره نسبت به برخی تمیارها مقدار آن کمتر باشد، ولی در این تیمار روند افزایش زی‌توده بر خلاف بقیه تیمارها در طول دوره برقرار بود (شکل ۲).

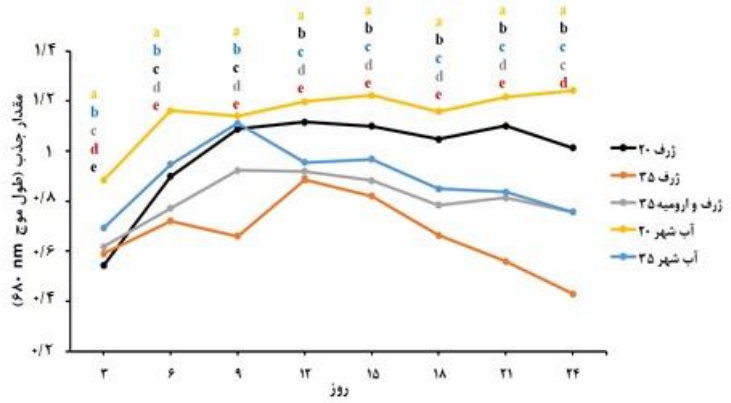


شکل ۲: تغییرات مقدار زی‌توده ریزجلبک *Dunaliella tertiolecta* در طول دوره پرورش (میانگین ± خطای معیار). حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در هر تیمار هستند (P<۰/۰۵).

میزان رشد ریزجلبک در آب ژرف ۲۰ در مقایسه با تیمارهای دیگر روند تقریبا متفاوتی داشت، به طوری که تا روز ۶ تعداد جلبک و مقدار جذب در طول موج ۶۸۰ نانومتر با شیب زیاد مثبت اتفاق افتاد و از روز ۶ تا ۱۲ روند افزایشی شیب نمودار ملایم‌تر بود. در این تیمار از روز ۱۲ تا ۲۱ مرحله ایستایی رشد جلبک اتفاق افتاد و پس از آن (روز ۲۱ به بعد) رشد سلول‌ها کاهش یافت. تعداد سلول‌ها در این تیمار در فاصله زمانی روزهای ۱۲ تا ۱۵ حدود ۲۴×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر بود که نسبت به روز سوم تقریبا سه برابر شده بود. کمترین میزان رشد در طول دوره مربوط به تیمار آب ژرف ۳۵ بود. در این تیمار، از روز ۱۲ روند کاهش رشد شروع و تا پایان دوره ادامه داشت. همچنین، شروع روند کاهش رشد در همه تیمارها نسبت به آب ژرف ۲۰ زودتر اتفاق افتاد. مثلا در آب شهر ۳۵ پس از روز ۹ و در آب ژرف ۳۵ پس از روز ۱۵ روند کاملا کاهشی بود (شکل ۳). الگوهای جذب نوری با الگوهای نمودار رشد همخوانی بسیار بالایی داشت، اگرچه در برخی موارد با هم تطابق نداشتند (شکل ۴).

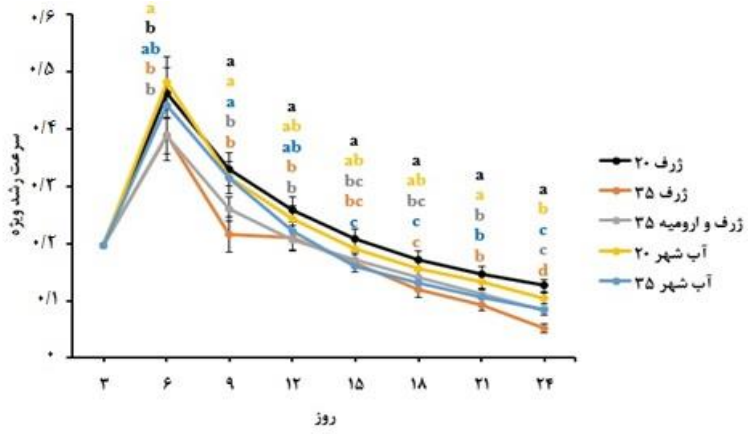


شکل ۳: وضعیت رشد ریزجلبک *Dunaliella tertiolecta* در طول دوره پرورش (میانگین ± خطای معیار). حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در هر تیمار هستند (P<۰/۰۵).

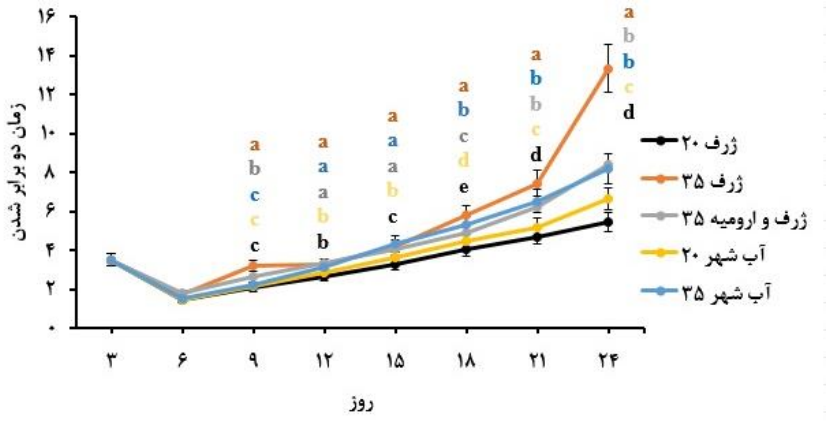


شکل ۴: مقدار جذب نوری تیمارهای مختلف در طول موج ۶۸۰ نانومتر در طول دوره پرورش (میانگین ± خطای معیار). حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در هر تیمار هستند (P<۰/۰۵).

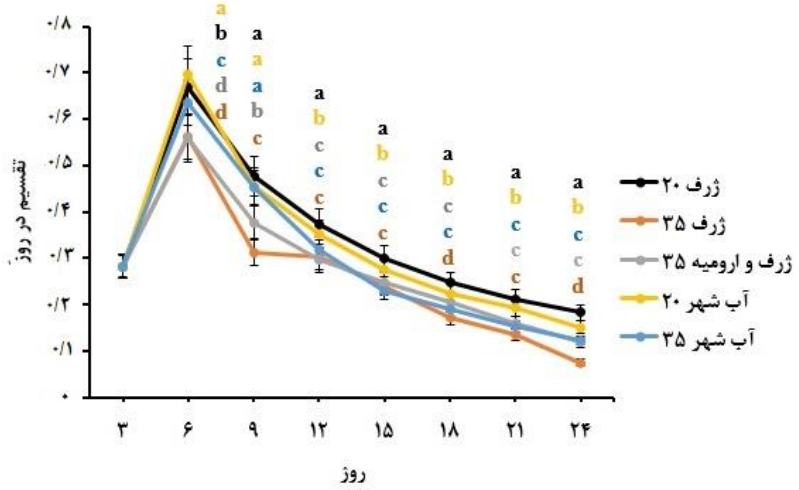
بیشترین سرعت رشد ویژه، کمترین زمان دو برابر شدن و بالاترین میزان تقسیم سلولی در روز ۶ آزمایش مشاهده شد. در روز ۶، بالاترین میزان تقسیم در تیمار آب شهر ۲۰ مشاهده شد، ولی پس از آن طی روزهای ۹ تا ۲۴ بالاترین تقسیم در ژرف ۲۰ بود (شکل‌های ۵، ۶ و ۷). نمودار رشد به روش شمارش تعداد سلول‌ها تا حدود زیادی با نمودار سنجش میزان جذب نور انطباق داشت (شکل‌های ۳ و ۴).



شکل ۵: سرعت رشد ویژه ریزجلبک *Dunaliella tertiolecta* در طول دوره پرورش (میانگین ± خطای معیار). حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در هر تیمار هستند (P<۰/۰۵).



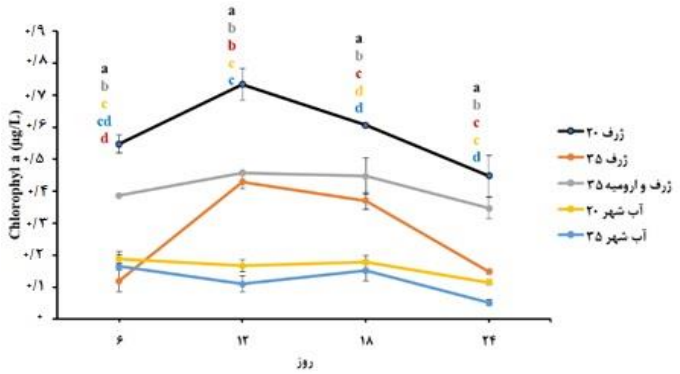
شکل ۶: زمان دو برابر شدن ریزجلبک *Dunaliella tertiolecta* در طول دوره پرورش (میانگین ± خطای معیار). حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در هر تیمار هستند (P<۰/۰۵).



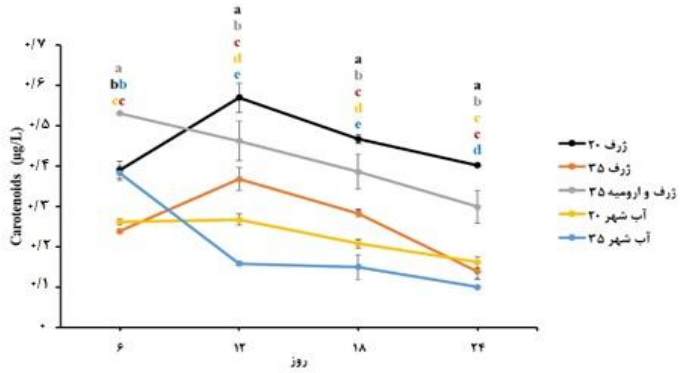
شکل ۷: میزان تقسیم ریزجلبک *Dunaliella tertiolecta* در طول دوره پرورش (میانگین ± خطای معیار). حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در هر تیمار هستند (P<۰/۰۵).

مقدار کلروفیل a در تیمارهای حاوی آب ژرف (۲۰، ۳۵ و ژرف و ارومیه ۳۵) در روز ۱۲ به حداکثر مقدار رسید، ولی در تیمارهای حاوی آب شهر (۲۰ و ۳۵) در روز ۶ بیشترین مقدار بود. در کل تیمارها و دوره آزمایش، بیشترین مقدار کلروفیل a در روز ۶ تیمار ژرف ۲۰

مشاهده شد که به میزان معنی‌داری بیشتر از تیمارهای دیگر بود (P<۰/۰۵). در تیمار آب شهر ۲۰ تغییری در میزان کلروفیل a در طول دوره مشاهده نشد و کمترین مقدار در بین همه تیمارها در روز ۲۴ و در تیمار آب شهر ۳۵ مشاهده شد (شکل ۸). نتایج اندازه‌گیری کاروتنوئیدها نشان داد که بیشترین مقدار این رنگدانه‌ها در تیمارهای ژرف ۲۰، ژرف ۳۵ و شهر ۲۰ در روز ۱۲ و بقیه تیمارها در روز ۶ ملاحظه شد. کمترین مقدار کاروتنوئید در آب شهر ۳۵ به دست آمد که در روز ۲۴ به کمترین مقدار در کل دوره رسید (شکل ۹).



شکل ۸: کلروفیل a تولید شده ریزجلبک *Dunaliella tertiolecta* در روزهای مختلف پرورش (میانگین ± خطای معیار). حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در هر تیمار هستند (P<۰/۰۵).



شکل ۹: کاروتنوئید تولید شده ریزجلبک *Dunaliella tertiolecta* در روزهای مختلف پرورش (میانگین ± خطای معیار). حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در هر تیمار هستند (P<۰/۰۵).

بحث

در مطالعه حاضر کارایی آب استحصالی از چاه ژرف شماره یک سیستان برای پرورش ریزجلبک *D. tertiolecta* بررسی شد. به این منظور، از شوری‌های ۲۰ و ۳۵ppt با دو ترکیب مختلف (آب ژرف و آب شهر با یا بدون نمک دریاچه ارومیه) استفاده شد. علت انتخاب شوری ۲۰ppt این بود که شوری طبیعی آب استحصالی از چاه ژرف شماره یک سیستان تقریبا همین مقدار بود. شوری ۳۵ نیز به این دلیل انتخاب شد که این مقدار شوری برای ریزجلبک مورد مطالعه مطلوب است (Kim et al., 2017).

به طور کلی، برای دستیابی به تولید بالا، نیاز به زی‌توده بزرگ و نرخ رشد سریع است. بنابراین، همواره اقداماتی صورت می‌گیرد تا با بهینه کردن شرایط پرورش میزان تولید افزایش یابد (Minhas et al., 2016). شاخص‌های متعددی شامل شوری، دما، pH، منبع کربن و مواد مغذی در تنظیم میزان رشد ریزجلبک دخیل هستند. در آزمایش حاضر از محیط کشت جانسون استفاده شد. در مطالعه Colusse و همکاران (۲۰۲۰)، میزان زی‌توده تولیدی *Dunaliella salina* در محیط کشت کانوی بیشتر از محیط کشت‌های F2 و جانسون بود. علت رشد بیشتر ریزجلبک‌های *D. salina* و *D. tertiolecta* در برخی محیط‌های کشت، وجود مواد مغذی مانند پنتوزها (Freitas et al., 2019) و هورمون رشد (El Arroussi et al., 2015) بیان شده است. مطالعات دیگر هم تاثیر ترکیب محیط‌های کشت را بر میزان تولید جلبک به اثبات رسانده است (Nahidian et al., 2018) و حتی در بعضی از مطالعات اقدام به تغییر و اصلاح محیط کشت جانسون به منظور افزایش کارایی آن شده است (Sathasivam and Juntawong, 2013). در مطالعه حاضر از محیط کشت متداول جانسون استفاده شد و هیچ گونه مکمل یا مواد خاص آزمایشگاهی به آن افزوده نشد و این محیط برای تمامی تیمارها یکسان بود. بنابراین، تفاوت ایجاد شده در شاخص‌های رشد را نمی‌توان به محیط کشت مورد استفاده نسبت داد و باید عوامل دیگر را مورد بررسی قرار داد. در این مطالعه، بیشترین تعداد سلول در تیمار ژرف ۲۰ به مقدار ۲۴×۱۰^{۶} عدد در میلی‌لیتر به دست آمد. بیشترین تعداد سلول‌های گونه *D. salina* در غلظت یک مولاریته نمک طعام و با محیط کشت جانسون ۴۰×۱۰^{۶} و برای گونه *Dunaliella bardawil* حدود ۱۷×۱۰^{۶} بود (اکبری و مددکار حق‌جو، ۱۳۹۶). شاخص متغیر بین

تیمارها در مطالعه حاضر مقدار شوری و ترکیبات تشکیل دهنده شوری بود که میزان رشد و دیگر نتایج به دست آمده می‌تواند تحت تاثیر آنها قرار گرفته باشد. بنابراین، نتایج به دست آمده را بر اساس ویژگی‌های آب تیمارهای مختلف باید مورد بحث و بررسی قرار داد.

با توجه به تاثیری که شوری بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ریزجلبک‌ها می‌گذارد، شاخص بسیار مهمی محسوب می‌شود (Kirst, 1990). بر اساس مطالعات متعددی که برای تعیین شوری بهینه پرورش ریزجلبک *D. tertiolecta* صورت گرفته مشخص شده است که این گونه می‌تواند غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۳ مولار نمک را تحمل کند (Jahnke and White, 2003). در مطالعه Kim و همکاران (۲۰۱۷) برای پرورش *D. tertiolecta* شوری ۰/۶ مولار کلرید سدیم (حدود ۳۵ppt) به عنوان شوری بهینه محیط پرورش انتخاب شده که نزدیک به شوری طبیعی آب دریا (۰/۵۸۱ مولار) است. بنابراین، شوری‌های استفاده شده در این مطالعه در محدوده قابل قبول برای رشد و پرورش ریزجلبک یاد شده است.

یکی از شاخص‌های تاثیرگذار در میزان رشد جلبک‌ها pH است. گونه‌های مختلف *Dunaliella* دامنه وسیعی از pH بین صفر تا ۱۱ را تحمل می‌کنند ولی برای مثال در گونه *D. salina* مقدار بهینه آن بین ۹ تا ۱۱ است. بالا رفتن pH می‌تواند خطر رسوب نمک‌های کلسیم و لخته شدن زی‌توده جلبکی را به همراه داشته باشد و عملا مقدار رشد جلبک را کاهش دهد. چنان که در مطالعه حاضر نیز در تیمار آب ژرف ۲۰ که pH همواره بیشتر از ۹ بود این مشکل تا حدودی مشاهده شد. بنابراین، پیشنهاد شده است در آب‌هایی که این مشکل را دارند از افزایش pH به بالای ۸ اجتناب شود (Ben-Amotz and Avron, 1989). در این مطالعه مقدار pH تغییر داده شده است تا قابلیت رشد جلبک در آب ژرف بدون تغییر ویژگی‌های ذاتی آن مشخص شود. به هر حال، pH بالای ۹ در تیمار ژرف ۲۰ همراه با ترکیب آب را می‌توان از دلایل تفاوت میزان رشد این تیمار با بقیه تیمارها قلمداد کرد.

در جدول ۲ برخی از ترکیبات تیمارهای مختلف ارائه شده است. ریزجلبک *D. tertiolecta* به سدیم نیاز دارد که سدیم می‌تواند از طریق کلرید سدیم یا سولفات سدیم تامین شود. احتمالا نمک‌های دیگر سدیمی نیز می‌توانند منبع تامین سدیم برای این ریزجلبک باشند، مشروط بر این که آنیون همراه آنها سمی

نباشند (McLachlan, 1960). در این مطالعه، اگر چه مقدار سدیم در تیمارها با هم اختلاف معنی‌دار داشت و حتی در تیمار ژرف ۲۰ که بالاترین رشد وجود داشت، کمتر از بقیه تیمارها بود (۱۰/۴۱±۱۲۴۶/۶۷ میلی‌گرم در لیتر)، می‌توان گفت مقدار سدیم مورد نیاز برای رشد ریزجلبک *D. tertiolecta* تامین شده است. در مطالعه حاضر، هر چند مقدار نیترات در تیمارهای حاوی آب ژرف کمتر از تیمارهای حاوی آب شهر بود ولی درست بر عکس این رویه، مقدار فسفات در هر سه تیمار حاوی آب ژرف به طور معناداری از تیمارهای حاوی آب شهر بالاتر و بیشترین مقدار در آب ژرف ppt ۲۰ بود که اختلاف معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت. فسفر، یکی از عناصر ضروری برای رشد جلبک‌ها است. البته جلبک‌ها به مقدار زیاد فسفر نیاز ندارند و عمدتا همانند موجودات زنده دیگر، فسفر در زنجیره انتقال انرژی جلبک‌ها مهم است. بنابراین، می‌توان گفت که فسفر موجود در آب چاه ژرف می‌تواند عاملی برای رشد ریزجلبک *D. tertiolecta* باشد. به ویژه این که *D. tertiolecta* فسفات را بیشتر از نیترات و آمونیاک جذب می‌کند و این عنصر نسبت به نیتروژن در این گونه موثرتر است (Belle, 2007) که خود می‌تواند از عوامل بالاتر بودن رشد این ریزجلبک در آب ژرف قلمداد شود. جنس *Dunaliella* برای رسیدن به حداکثر رشد به غلظت‌های بالای سولفات (تقریبا ۲ میلی‌مول در لیتر) نیاز دارد. ولی معمولا به ندرت نیاز به افزودن سولفات به محیط‌های پرورش *Dunaliella* است، زیرا منابع آب‌های طبیعی مانند آب دریا یا آب شهر حاوی مقادیر بالاتر از نیاز این جلبک به سولفات هستند (حدود ۳۰ میلی‌مول در لیتر) (Ben-Amotz and Avron, 1989). در مطالعه حاضر نیز با وجود این که آب ژرف مقادیر سولفات بالاتری داشت، ولی مقدار سولفات در همه تیمارها نسبت به نیاز ریزجلبک *D. tertiolecta* بسیار بیشتر بود و نمی‌توان این شاخص را عامل محدود کننده یا افزایش دهنده رشد تلقی کرد. ریزمغذی‌ها مانند منگنز، روی و مس برای رشد بهینه ضروری هستند (Ben-Amotz and Avron, 1989). در مطالعه حاضر، منگنز در همه تیمارها وجود داشت ولی مقدار مس در تیمارهای آب ژرف چند برابر آب شهر بود و از طرف دیگر روی در دو تیمار حاوی آب شهر به اندازه‌ای کم بود که قابل شناسایی نبود. طبق گزارش‌های منتشر نشده شرکت بهره‌بردار غلظت آهن در آب ژرف نیز ۰/۰۴ میلی‌گرم در لیتر و مقادیر بالاتر است. بنابراین،

وجود مس بالا، روی و آهن را می‌توان در رشد بیشتر تیمارهای حاوی آب ژرف موثر دانست.

شاخص‌های محیطی نقش موثری بر میزان کاروتنوئید گونه‌های مختلف جنس *Dunaliella* دارند (Celekli and Donmez, 2006; Borowitzka and Siva, 2007) و بیشترین میزان تولید بتاکاروتن (β-carotene) در شوری، دما و شدت نور بالا به دست می‌آید. به طوری که در مطالعه Rad و همکاران (۲۰۱۱) با افزایش شوری از ۱ به ۳ مولار میزان تولید بتاکاروتن در جنس *Dunaliella* جداسازی شده از دریاچه ارومیه افزایش یافت. مطالعات متعدد نشان داده است که بالاترین مقدار بتاکاروتن در ریزجلبک *D. salina* تحت شوری‌های بسیار بالا اتفاق می‌افتد. در ریزجلبک *D. tertiolecta* میزان کاروتنوئید کل با افزایش میزان شوری زیاد می‌شود (Kim et al., 2017). اگرچه بر اساس مطالعه Gomez و همکاران (۲۰۰۳) که تاثیر شوری را بر مقدار و کیفیت کاروتنوئید در گونه‌های *D. salina* و *D. bardawil* بررسی کرده‌اند، افزایش یا کاهش شوری و به طور کلی تغییرات شوری از رابطه خاصی در مقدار تولید کاروتنوئید کل تبعیت نمی‌کرد. از طرف دیگر، مقدار کاروتنوئید تولیدی به میزان رشد ریزجلبک بستگی دارد و هر چه رشد افزایش پیدا کند میزان کاروتنوئید نیز بیشتر خواهد بود (Borowitzka et al., 1984). در مطالعه حاضر مقدار کاروتنوئید در تیمار آب ژرف ۲۰ حتی بالاتر از تیمارهایی بود که شوری آنها بیشتر بود. علت این اتفاق را می‌توان به میزان رشد بیشتر ریزجلبک در تیمار ژرف ۲۰ و نیز ترکیب متفاوت آن نسبت داد. همچنین، میزان کاروتنوئید استخراج شده در سه تیمار حاوی آب ژرف بیشتر از تیمارهای آب شهر بود که دلیل آن را می‌توان به ترکیب نمکی متفاوت آب ژرف در این تیمارها نسبت داد. مطالعه Mojaat و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد با افزودن $FeSO_4$ به محیط کشت جلبک *D. salina*، میزان رنگدانه بتاکاروتن به میزان معنی‌داری افزایش پیدا کرد. از این رو، بالا بودن مقدار آهن در آب چاه ژرف می‌تواند نقش مهمی در میزان کاروتنوئید کل داشته باشد. علاوه بر مواردی که راجع به ترکیبات آب تیمارهای آزمایشی به آنها اشاره شد، با توجه به این که آب چاه ژرف از عمق تقریبی ۳۰۰۰ متری استحصال شده است و در واقع نوعی منبع آب نامتعارف است، احتمال وجود تفاوت‌های دیگر این نوع آب با منابع شناخته شده آب نیز وجود دارد.

در مجموع، نتایج شاخص‌های رشد و میزان رنگدانه های تولیدی در مطالعه حاضر حاکی از قابلیت آب استحصالی از چاه ژرف شماره یک سیستان برای پرورش ریزجلبک *D. tertiolecta* است و برای دستیابی به نرماتیوهای بهینه در رشد این ریزجلبک، باید مطالعات بیشتری به ویژه با تاکید بر ترکیب آب چاه ژرف انجام شود. همچنین، با توجه به تاثیر نوع محیط کشت بر میزان تولید جلبک، باید تاثیر انواع محیط‌های کشت مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از طرح پژوهشی «امکان-سنجی پرورش آرتمیا در آب‌های ژرف سیستان» پیرو قرارداد شماره ۱۳/۹۹/۳۰۲۵۷/پ مورخ ۹۹/۰۴/۰۱ میان دانشگاه زابل و شرکت پرلوک پردیس پارسه است. بدین وسیله نویسندگان از شرکت پرلوک پردیس پارسه به خاطر تامین اعتبار انجام این مطالعه و همکاری‌های بسیار خوب و صمیمانه‌ای که برای انجام کلیه مراحل داشتند کمال قدردانی و تشکر را دارند.

منابع

اکبری ف. و مددکار حق‌جو م. ۱۳۹۶. بهبود ارزش تغذیه‌ای دو گونه میکروجلبک سبز *Dunaliella* به وسیله تغییر در فاکتورهای محیط کشت. مجله منابع طبیعی ایران، ۷۰(۳): ۲۶۱-۲۴۳.

Barbosa M., Janssen M.G.J., Ham N., Tramper J. and Wijffels R.H. 2003. Microalgae cultivation in air-lift reactors: Modelling biomass yield and growth rate as a function of mixing frequency. Biotechnology and Bioengineering, 82: 170–179.

Belle A.J. 2007. Laboratory evaluation of *Dunaliella tertiolecta* as a candidate algal species tertiary wastewater treatment of nitrogen and phosphorus-laden effluents impacting marine environments. M.Sc. Thesis, Louisiana State University, USA. 77P.

Ben-Amotz A. and Avron M. 1989. The biotechnology of mass culturing of *Dunaliella* for products of commercial interest. P: 90–114. In Cresswell R.C., Ress T.A.V. and Shah N. (Eds.). Algal and Cyanobacterial Biotechnology. Longman Scientific and Technical, UK.

Benavides M., Mailier J., Hantson A., Munoz G., Vargas A., Impe J.V. and Vande Wouwer A. 2015. Design and test of a low-cost RGB sensor for online measurement of microalgae concentration within a photo-bioreactor. Sensors, 15: 4766–4780.

Bhosale P., Larson A.J. and Bernstein P.S. 2004. Factorial analysis of tricarboxylic acid cycle intermediates for optimization of zeaxanthin production from *Flavobacterium multivorum*. Journal of Applied Microbiology, 96: 623–629.

Borowitzka L.J., Borowitzka M.A. and Moulton T. 1984. Mass culture of *Dunaliella*: From laboratory to pilot plant. Hydrobiologia, 116/117: 115–121.

Borowitzka M.A. and Siva C.J. 2007. The taxonomy of the genus *Dunaliella Chlorophyta*, Dunaliellales, with emphasis on the marine and halophilic species. Journal of Applied Phycology, 19: 567–590.

Celekli A. and Donmez G. 2006. Effect of pH, light intensity, salt and nitrogen concentrations on growth and β-carotene accumulation by a new isolate of *Dunaliella* sp. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 22: 183–189.

Colusse G.A., Borges Mendes C.R., Rabello Duarte M.E., Cesar De Carvalhod J. and Noseda M.D. 2020. Effects of different culture media on physiological features and laboratory scale production cost of *Dunaliella salina*. Biotechnology Reports, 27: 1–9 (e00508).

El Arroussi H., Benhima R., Bennis I., El Mernissi N. and Wahby I. 2015. Improvement of the potential of *Dunaliella tertiolecta* as a source of biodiesel by auxin treatment coupled to salt stress. Renewable Energy, 77: 15–19.

Fazeli M., Tofighi H., Samadi N., Jamalifar H. and Fazeli A. 2012. Carotenoids accumulation by *Dunaliella tertiolecta* (Lake Urmia isolate) and *Dunaliella salina* (CCAP 19/18 & WT) under stress conditions. Daru Journal of Pharmaceutical Sciences, 14(3): 146–150.

Freitas B.C.B, Bracher E.H., Morais E.G., Atala D.I.P., Morais M.G. and Costa J.A.V. 2019. Cultivation of different microalgae with pentose as carbon source and the effects on the carbohydrate content. Environmental Technology, 40: 1062–1070.

Gomez P.I., Barriga A., Cifuentes A.S. and Gonzalez M.A. 2003. Effect of salinity on the quantity and quality of carotenoids accumulated by *Dunaliella salina* (strain CONC-007) and *Dunaliella bardawil* (strain ATCC 30861) Chlorophyta. Biological Research, 36: 185–192.

Hopkins T.C., Sullivan Graham E.J., Schwilling J., Ingram S., Gomez S.M. and Schuler A.J. 2019. Effects of salinity and nitrogen source on growth and lipid production for a wild algal polyculture in produced water media. Algal Research, 38: 1–11 (101406).

Hosseini T.A. and Shariati M. 2009. *Dunaliella* biotechnology: Methods and applications. Journal of Applied Microbiology, 107: 14–35.

Jahnke L.S. and White L.A. 2003. Long-term hyposaline and hypersaline stresses produce distinct antioxidant responses in the marine alga *Dunaliella tertiolecta*. Journal of Plant Physiology, 160: 1193–1202.

James C.M. and Al-Khars A.M. 1986. Studies on the production of planktonic copepods for aquaculture. Syllogeus, 58: 333–340.

Jin E.S., Feth B. and Melis A. 2003. A mutant of the green algae *Dunaliella salina* constitutively accumulates zeaxanthin under all growth conditions. Biotechnology and Bioengineering, 81: 115–124.

Johnson M.K., Johnson E.J., MacElroy R.D., Speer H.L. and Bruff B.S. 1968. Effects of salts on

the halophilic alga *Dunaliella viridis*. Journal of Bacteriology, 95: 1461–1468.

Kim M., Ahn J., Jeon H. and Jin E. 2017. Development of a *Dunaliella tertiolecta* strain with increased zeaxanthin content using random mutagenesis. Marine Drugs, 15: 1–14.

Kirst G. 1990. Salinity tolerance of eukaryotic marine algae. Annual Review of Plant Biology, 41: 21–53.

Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology, 148: 350–382.

Lichtenthaler H.K. and Wellburn A.R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions, 11: 591–592.

Mata T.M., Martins A.A. and Caetano N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14: 217–232.

McLachlan J. 1960. The culture of *Dunaliella tertiolecta* Butcher-A euryhaline organism. Canadian Journal of Microbiology, 6: 367–379.

Minhas A.K., Hodgson P., Barrow C.J. and Adholeya A. 2016. A review on the assessment of stress conditions for simultaneous production of microalgal lipids and carotenoids. Frontiers in Microbiology, 7: 1–19.

Mojaat M., Pruvost J., Foucault A. and Legrand J. 2008. Effect of organic carbon sources and Fe^{2+} ions on growth and b-carotene accumulation by *Dunaliella salina*. Biochemical Engineering Journal, 39: 177–184.

Nahidian B., Ghanati F., Shahbazi M. and Soltani N. 2018. Effect of nutrients on the growth and physiological features of newly isolated *Haematococcus pluvialis* TMU1. Bioresource Technology, 255: 229–237.

Nishino H., Murakosh M., Ii T., Takemura M., Kuchide M., Kanazawa M., Mou X.Y. and Wada S. 2002. Carotenoids in cancer chemoprevention. Cancer and Metastasis Reviews, 21: 257–264.

Omori M. and Ikeda T. 1984. Methods in Zooplankton Ecology. John Wiley and Sons, USA. 332P.

Prasad K.N., Kumar A., Kochupillai V. and Cole W.C. 1999. High doses of multiple antioxidant vitamins: Essential ingredients in improving the efficacy of standard cancer therapy. The Journal of the American College of Nutrition, 18: 13–25.

Rad A.F., Aksoz N. and Amin Hejazi M. 2011. Effect of salinity on cell growth and β-carotene production in *Dunaliella* sp. isolates from Urmia Lake in northwest of Iran. African Journal of Biotechnology, 10: 2282–2289.

Ramakrishna A., Dayananda C., Giridhar P., Rajasekaran T. and Ravishankar G.A. 2011. Photoperiod influences endogenous indoleamines in cultured green alga *Dunaliella bardawil*. Indian Journal of Experimental Biology, 49: 234–240.

Sathasivam R. and Juntawong N. 2013. Modified medium for enhanced growth of *Dunaliella* strains. International Journal of Current Science Research and Review, 5: 67–73.

Tang H., Abunasser N., Garcia M.E.D., Chen M., Simon Ng K.Y. and Salley S.O. 2011. Potential of microalgae oil from *Dunaliella tertiolecta* as a feedstock for biodiesel. Appl Energy, 88: 3324–3330.

Tsuji N., Hirayanagi N., Okada M., Miyasaka H., Hirata K., Zenk M.H. and Miyamoto K. 2002. Enhancement of tolerance to heavy metals and oxidative stress in *Dunaliella tertiolecta* by Zn-induced phytochelatin synthesis. Biochemical and Biophysical Research Communications, 293: 653–659.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 11, No. 1, Spring 2023

Research Paper

Investigation of Sistan deep aquifer well water potential for culturing microalga *Dunaliella tertiolecta*

Abdolali Rahdari[1]*, Ali Khosravanizadeh[1], Sahel Pakzad Toochaei[2]

DOI: 10.22124/japb.2022.21644.1457

Received: February 2022 Accepted: June 2022

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the potential of deep aquifer well water located in Sistan region (southeastern of Iran) for growing *Dunaliella tertiolecta*. For this purpose, 5 treatments including deep aquifer well water with salinities of 20 and 35ppt, deep aquifer well water and salt of Urmia Lake (35 ppt) and tap water with salinities of 20 and 35ppt were considered and *D. tertiolecta* microalgae was reared for 24 days under standard conditions (temperature 26±1ºC, light 2000 lux, 16 hours light and 8 hours darkness). The results showed that the pH value in all treatments increased slightly until day 6 but then decreased and had a steady trend from day 12 to 24. The highest amount of growth, chlorophyll a and carotenoid production, specific growth rate, the least doubling time and the highest rate of division were observed in deep aquifer well water treatment (salinity 20 ppt), although the lowest amount of biomass production was in this treatment. Based on these results, it can be said that if salt is added to deep aquifer well water, by changing the composition and increasing salinity, the amount of biomass produced will increase. In general, *D. tertiolecta* can be grown in deep aquifer well water (No. 1) extracted in Sistan region.

Key words: *Deep Aquifer Well, Cultivation, Microalgae,* Dunaliella tertiolecta, *Sistan.*

1- Assistant Professor in Department of Fisheries, Hamoun International Wetland Institute, Research Institute of Zabol, Zabol, Iran.
2- Assistant Professor in Department of Natural Ecosystems, Hamoun International Wetland Institute, Research Institute of Zabol, Zabol, Iran.

*Corresponding Author: Rahdari57@uoz.ac.ir