بررسی تاثیر دما و عناصر منیزیم و آهن بر میزان رشد و توده زنده جلبک اسپیرولینا (*Arthrospira plantensis*)

رقیه جریان[1]، سید محمدرضا فاطمی*[1]، علی ماشینچیان مرادی[1]

*reza_fatemi@hotmail.com

۱-گروه بیولوژی دریا، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۸

چکیده

در تحقیق حاضر اثر دما (۲۴، ۳۰ درجه سانتیگراد) و اثر حذف عناصر منیزیم و آهن بر میزان رشد و توده زنده جلبک اسپیرولینا در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفتند. بدین منظور از دو محیط کشت زاروک و جردن استفاده شد. آزمایش‌های مربوط به حذف عناصر منیزیم و آهن با شش تیمار و دو شاهد در سه تکرار و آزمایش اثر درجه حرارت نیز با دو تیمار در سه تکرار برای دو محیط کشت مذکور بررسی شدند. میزان جذب نوری نمونه ها روزانه بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (طیف سنج) در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. علاوه بر آن اندازه گیری توده زنده به روش وزنی در دو مرحله، روز هفتم و روز چهاردهم صورت گرفت و میزان تغییرات pH روزانه اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که در محیط کشت زاروک (شاهد) در روش وزنی نیز در روز هفتم تیمار بدون منیزیم و تیمار بدون منیزیم -آهن دارای بیشترین رشد ۰/۸۸ گرم در لیتر بودند. در روز هفتم در بین تیمارها (بدون منیزیم، بدون آهن، بدون منیزیم-آهن) فقط در تیمار بدون منیزیم اختلاف معنا دار آماری نسبت به محیط کشت استاندارد (زاروک) مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). در اندازه گیری روز چهاردهم تیمار بدون منیزیم بیشترین رشد ۰/۹۵ گرم در لیتر را داشت اما بین تیمارها (بدون منیزیم، بدون آهن، بدون منیزیم-آهن) اختلاف معنادار آماری نسبت به محیط کشت استاندارد (زاروک) مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$). در محیط کشت جردن (شاهد) در روش وزنی نیز در روز هفتم شاهد و تیمار بدون آهن دارای بیشترین رشد ۰/۷ گرم در لیتر بود و در روز چهاردهم تیمار بدون آهن بیشترین رشد ۱/۲۷ گرم در لیتر بدست آمد اما بین تیمارها (بدون منیزیم، بدون آهن، بدون منیزیم-آهن) اختلاف معنادار آماری نسبت به محیط کشت استاندارد (جردن) مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$). در ارتباط با اثر دما در محیط کشت زاروک بیشترین رشد در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد مقدار توده زنده ۲/۷۴ گرم در لیتر و در محیط کشت جردن بیشترین رشد در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد مقدار توده زنده ۲/۱۴ گرم در لیتر بدست آمد. بین تیمارها (دما ۲۴، ۳۰ درجه سانتی‌گراد) اختلاف معنادار آماری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). بر اساس نتایج بدست آمده میزان رشد و توده زنده جلبک اسپیرولینا با حذف این دو عنصر دارای رشد بهینه می‌باشد. از اینرو، جهت کاهش هزینه‌ها و رشد بهینه می‌توان این دو عنصر را از این دو محیط کشت حذف و به عنوان محیط کشت بهتر برای اسپیرولینا مطرح نمود.

لغات کلیدی: منیزیم، آهن، اسپیرولینا، محیط کشت جردن، محیط کشت زاروک

*نویسنده مسئول

مقدمه

جلبک‌های سبز-آبی یا سیانوفیتا از قدیمی‌ترین جانداران فتواتوتروف بشمار می‌روند که در سراسر جهان پراکنده می‌باشند (اسماعیلی ساری، ۱۳۷۹). اسپیرولینا جلبکی سبز-آبی و مارپیچی با نام علمی *Arthrospira plantensis* است. میکروارگانیسم‌های فتوسنتزکننده مانند ریز جلبک‌ها و سیانوباکترها پایه بسیاری از زنجیره های غذایی را در سازگان آبزی تشکیل می‌دهد و استفاده از آنها سبب بهبود کیفی غذای انسان و دام و ارتقاء سلامت آنها می‌شود (Reinehr and Devgoswami *et al*., 2012; Costa, 2006). به طور کلی، عوامل فیزیکی و نیازهای شیمیایی از عوامل مؤثر بر رشد اسپیرولینا می باشند (Boney, 1925; Round, 1975). کربن، نیتروژن، فسفر، سولفور، کلسیم، منیزیم و پتاسیم نیز از جمله عناصر ضروری برای اسپیرولینا هستند. عناصری که اسپیرولینا در مقادیر کم به آنها نیاز دارد شامل مولیبدن، آهن، نیکل، مس، روی، کبالت، بور، منگنزو کلرید می‌باشد (اسماعیلی ساری، ۱۳۷۹). آهن نیز برای رشد جلبکها یک نیاز ضروری است و عنصر کلیدی در متابولیسم می‌باشد که در ساختار مولکول سیتوکروم دخالت دارد. هنگامی که کمبود آ هن پیش می آید، نرخ فتوسنتز کاهش می‌یابد (Komarck, 1973). بعلاوه، در فرآیند تنفس، تبادل مواد و سنتز کلروفیل دخالت دارد (Round, 1975). منیزیم یک عنصر اساسی در پدیده فتوسنتز است و نیاز جلبک‌های مختلف به آن متفاوت می باشد. وجود این عنصر برای بعضی از گونه‌های جلبکی به عنوان ماده تشکیل دهنده کلروفیل حیاتی است و به عنوان یکی از عناصر پر مصرف نقش مهم و اساسی در رشد دارد (فلاحی و صلواتیان، ۱۳۸۳). در دنیا تولید تجاری ریز جلبک ابتدا در ژاپن با کشف کلرلا و به دنبال آن با کشت اسپیرولینا اوایل سال ۱۹۶۴۰ در دریای تکسکوکو در مکزیک آغاز شد (Henrikso, 2010). یافتن محیط کشت مناسب اسپیرولینا از زمان شناخت آن در دست بررسی بوده و محیط های گوناگونی برای سویه‌های مختلف آن طراحی شده است (Belay *et al*., 1993). اولین محیط کشت مصنوعی برای کشت اسپیرولینا محیط کشت زاروک بود (Zarrouk, 1996) و این محیط هنوز به عنوان محیط استاندارد مورد استفاده قرار می‌گیرد. علاوه بر زاروک محیط‌های کشت مختلف دیگری نیز از قبیل محیط کشت جردن، Paoletti، شولسر وجود دارد. محیط کشت زاروک از ۱۶/۸ گرم بیکربنات سدیم، ۰/۵ گرم دی پتاسیم هیدروژن فسفات، ۲/۵ گرم نیترات سدیم، ۱ گرم سولفات پتاسیم، ۱ گرم کلرید سدیم، ۰/۲ گرم منیزیم سولفات هیدراته (۷ مولکول آب)، ۰/۰۴ گرم کلرید کلسیم هیدراته (۲ مولکول آب)، ۰/۰۱ گرم سولفات آهن هیدراته (۷ مولکول آب)، ۰/۰۸ گرم اتیلن دی متیل آمین تتراسدیم استات در یک لیتر آب مقطر و ۲/۸۶ گرم اسید بوریک، ۱/۸۱ گرم کلراید هیدراته (۴ مولکول آب)، ۰/۲۲۲ گرم کلرید منگنز (دو آبه)، ۰/۰۱۷۷ گرم سدیم مولیبدات و ۰/۰۷۹ گرم سولفات مس هیدراته (۵ مولکول آب) در یک لیتر آب مقطر حل شده تشکیل می شود (Zarrouk, 1996). محیط کشت جردن از ۱۶ گرم بیکربنات سدیم،۰/۵ گرم سولفات پتاسیم، ۱ گرم کلرید سدیم، ۰/۱ گرم منیزیم سولفات هیدراته (۷ مولکول آب)، ۰/۱گرم کلرید کلسیم هیدراته (۲ مولکول آب)، ۰/۰۱ گرم سولفات آهن هیدراته (۷ مولکول آب)، ۲ گرم KNO_3، ۰/۱ گرم $(NH_4)_2Hpo_4$ در یک لیتر آب مقطر تشکیل می شود (Jourdan, 2001). تاکنون مطالعات مختلفی در رابطه با تاثیر دما و عناصر منیزیم و آهن بر میزان رشد و توده زنده سایر جلبک‌ها در محیط کشت‌های متفاوت توسط محققین داخلی و خارجی صورت گرفته است که از آن جمله می‌توان به مواردی از جمله: فلاحی و صلواتیان (۱۳۸۳) در خصوص غلظت‌های مختلف عنصر منیزیم بر میزان رشد و بیوماس جلبک سبز کلرولا در محیط کشت زایندر، Schwenk (۲۰۱۰) اثرات سولفات منیزیم را بر رشد جلبک سبز *Scenedesmus dimorphus* ، حسینی و همکاران (۱۳۸۳) غلظت آهن بر میزان رشد جلبک سبز *Ankistrodesmus falcatus* ، کمالی و همکاران (۱۳۹۰) حضور آهن در جلبک سبز تک سلولی *Dunaliella*، اکبری و همکاران (۱۳۸۳) اثر دما بر جلبک قرمز *Gracilaria Corticata*، عبدالعلیان و همکاران (۱۳۹۱) درجه حرارت مناسب برای رشدوشکوفایی داینوفلاژله *Cochlodinium polykrikoides* و Danesi و همکاران (۲۰۰۱) و Vonshak (۱۹۹۷) دمای رشد بهینه جلبک اسپیرولینا اشاره نمود. بررسی میزان تأثیر مقدار آهن و منیزیم و اندازه دما بر میزان رشد و بهینه‌سازی شرایط رشد و تولید زیست توده‌ای اسپیرولینا سبب می‌شود که فرآوردهای با ارزش اقتصادی بیشتر و هزینه کمتر فراهم شود. انجام این تحقیق باعث ایجاد زمینه‌ای برای استفاده بهتر و بیشتر از این جلبک می‌گردد که در آبهای کشورمان نیز یافت می‌شود و چون تاکنون تاثیر دما و عناصر منیزیم و آهن بر میزان رشد و توده زنده جلبک اسپیرولینا مورد بررسی قرار نگرفته بود، در این تحقیق مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

سویه اسپیرولینا از مرکز تحقیقات میگوی بوشهر ایران در سال ۱۳۹۶ تهیه شد. منشاء سویه، آبهای خلیج فارس است. برای انجام آزمایش‌های حذف عناصر منیزیم و آهن و تعیین دمای بهینه کشت جلبک *A. plantensis* از دو محیط کشت زاروک و جردن مورد استفاده قرار گرفت. مقادیر عناصر منیزیم و آهن در محیط کشت زاروک بترتیب با غلظت ۰/۲ و ۰/۰۱ گرم در لیتر و در محیط کشت جردن ۰/۱ و ۰/۰۱گرم در لیتر می باشد. ترکیب شیمیایی دو محیط بکار رفته بر حسب گرم در لیتر در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱: ترکیب شیمیایی محیط کشت ها ی به کار رفته برای کشت اسپیرولینا بر حسب گرم در لیتر

Table 1: Chemical composition of the media used for culture of *A. plantensis* in grams perliter

ترکیب شیمیایی	زاروک	جردن
$NaHCO_2$	۱۶/۸۰۰	۱۶
NaCO2		
K_2HPO_4	۰/۵۰۰	
$NaNO_3$	۲/۵۰۰	
K_2SO_4	۱	۰/۵۰۰
NaCI	۱	۱
$MgSO_4 . 7H_2O$	۰/۲۰۰	۰/۱۰۰
$CaCI_2.2H_2O$	۰/۰۴۰	۰/۱۰۰
$FeSO_4 . 7H_2O$	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰
EDTA	۰/۰۸۰	
KNO_3		۲
$(NH_4)_2HPO_4$		۰/۱۰۰
Na_2SO_4		
H_3BO_3	۲/۸۶۰	
$MnCI_2 .4H_2O$	۱/۸۱۰	
$ZnSO_4 .4H_2O$	۰/۲۲۲	
$Na_2MoO_4. 2H_2O$	۰/۰۱۷۷	
$CuSO_4.5H_2O$	۰/۰۷۹۰	

به منظور ساخت یک لیتر محیط کشت زاروک همه عناصر اولیه در یک لیتر آب مقطر با pH هفت حل شد و محلول لازم تهیه شد تا به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گیرد (Zarrouk, 1996). سپس همان محلول بدون منیزیم، بدون آهن، بدون منیزیم- آهن جهت بررسی تهیه شد و مورد استفاده قرار گرفت و برای ساخت محیط کشت جردن نیز به همان صورت انجام شد (Jourdan, 2001). آزمایش‌های مربوط به حذف عناصر منیزیم و آهن با شش تیمار (محلول بدون منیزیم، بدون آهن، بدون منیزیم -آهن) و دو شاهد (محیط کشت زاروک و جردن) در سه تکرار صورت گرفت و آزمایش اثر درجه حرارت نیز با دو تیمار (۲۴ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد) و دو شاهد در سه تکرار برای دو محیط کشت مذکور بررسی شدند (مجموعاً ۶۰ تکرار). محیط کشت‌ها ابتدا به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند و تلقیح از سلول های در حال رشد تهیه شد. اسپیرولینا در همه آزمایش‌ها به محیط کشت‌ها در شرایط استریل و به میزان ۱۰ درصد حجمی به هر ارلن مایر ۵۰۰ میلی لیتری که حاوی ۲۰۰ میلی لیتر محیط کشت بود، تلقیح شد. دما در طول دوره آزمایش ثابت و برابر با ۲±۲۶ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد. و نور رسانی به کشت‌ها با لامپ فلوئورسنت انجام شد و شدت نور ۳۵۰۰ لوکس بود و شدت نور نیز با دستگاه لوکس متر (Ec_1 Hagner) تنظیم گردید و زمان نوردهی (تناوب نوری) برای ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد (حسین زاده و همکاران، ۱۳۹۳). هوادهی کشت‌ها به طور مداوم و یکنواخت توسط شیکر (IKAks501) انجام شد و در آزمایش تعیین دمای بهینه هوادهی کشت‌ها توسط پمپ هوا (HAIALEA) انجام گردید و آزمایش‌های تعیین رشد جلبک اسپیرولینا برای مدت ۱۴ روزادامه یافت. این زمان بر اساس آزمایش‌های پیشین و زمانی که محیط کشت به بالاترین میزان رشد رسید، انتخاب شد (شیخی نژاد و همکاران، ۱۳۹۳).

اندازه‌گیری‌ها

نمونه‌گیری برای بررسی و میزان رشد در شرایط استریل روزانه صورت گرفت. از ارلن مایرهای حاوی ۲۰۰ میلی لیتر محیط کشت یک سی سی برداشت شد، میزان رشد با اندازه‌گیری جذب نوری نمونه‌ها (طیف‌سنجی) در طول موج ۵۶۰ نانومتر و با دستگاه اسپکتروفتومتر (T90+ uv/visSpectrometer, England) اندازه‌گیری شد. سپس مقادیر جذب نوری با توجه به رابطه بدست آمده میان جذب و وزن خشک توده زنده به (روش وزنی) وزن خشک توده زنده، بر حسب گرم در لیتر محاسبه شد. اینکار با اندازه‌گیری توام جذب نوری و وزن خشک توده زنده نمونه‌هایی با غلظت متفاوت انجام شد تا میزان رشد براساس وزن خشک اسپیرولینا گزارش شود (شیخی نژاد و همکاران، ۱۳۹۳). اندازه‌گیری وزن خشک توده زنده (روش وزنی) در دو دوره، روز هفتم و پایان دوره روز چهاردهم و در

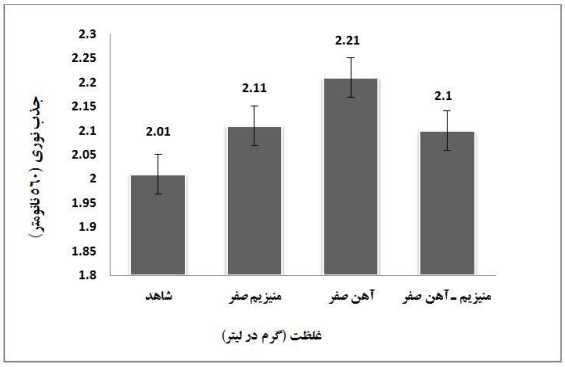
آزمایش دما فقط در یک دوره روز چهاردهم انجام شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک توده زنده، نمونه‌ها پس از سانتریفیوژ و ۲ بار شستشو با آب مقطر با کاغذ صافی ۰/۴۵ میکرون فیلتر شده و سپس سلول‌های روی کاغذ صافی با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و در زمان ۲۴ ساعت در آون (Binder) خشک شدند و در پایان نیز مقدار وزن خشک توده زنده (روش وزنی) با ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۰۱g اندازه‌گیری شد. تغییرات pH در مدت کشت به صورت روزانه با دستگاه pH متر (Metrohm827 pH Lab, Switzerland) معین شد. مرفولوژی سلول ها با میکروسکوپ نوری Nikon, Eclipse (80i, Japan) با بزرگنمایی ۱۰۰۰ بررسی شد. هر آزمایش دارای ۶ تیمار (محلول بدون منیزیم، بدون آهن، بدون منیزیم - آهن) و دو شاهد (محیط کشت زاروک و جردن) در سه تکرار صورت گرفت و آزمایش اثر درجه حرارت نیز در این میان با دو تیمار ۲۴ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد و دو شاهد در سه تکرار برای دو محیط کشت زاروک و جردن مورد بررسی قرار گرفت (در مجموع ۶۰ تکرار).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل نتایج بدست آمده از برنامه آماری SPSS 22 استفاده شد بطوریکه از آنالیز واریانس یک طرفه One-way (ANOVA) جهت تعیین اختلاف معنی دار در فاکتور مورد بررسی بین تیمارهای مختلف و همچنین برای تعیین سطوح عملکرد نتایج بدست آمده در تیمارهای مختلف از آزمون چند دامنه Duncan با سطح معنی داری ۹۵ درصد استفاده شد. تفاوت بین تیمارها منیزیم و آهن با سطح ($p>۰/۰۵$) و نیز بین تیمارهای دما ($p<۰/۰۵$) مشخص شد و نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار (D.S ±Mean) نشان داده شدند و برای ترسیم نمودارها و جداول از نرم افزار(2010) EXCEL استفاده گردید.

نتایج

رشد و تولید توده زنده *A.plantensis* در تیمارهای مختلف محیط کشت زاروک (شاهد)، بدون منیزیم، بدون آهن و بدون منیزیم ـ آهن بررسی شد. میزان جذب نوری طی ۱۴ روز رشد، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (طیف سنج) با طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. میزان میانگین جذب نوری بدست آمده و انحراف معیار در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد میانگین جذب نوری زمانی که غلظت آهن صفر گرم در لیتر است افزایش یافت ولی در سایر غلظت‌ها میزان جذب کاهش یافت. نتایج آنالیز آماری نشان داد میان تیمارها (بدون منیزیم، بدون آهن، بدون منیزیم -آهن) اختلاف معنادار آماری نسبت به محیط کشت استاندارد زاروک (شاهد) مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$).

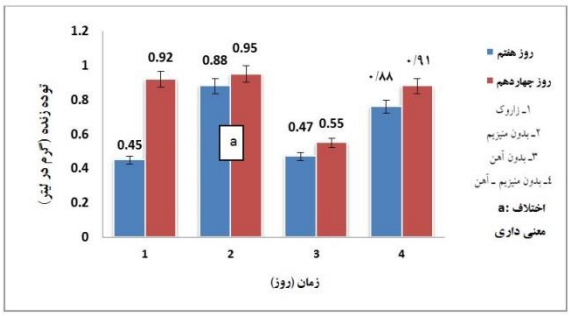


شکل ۱: نمودار اثر *A.plantensis* (انحراف معیار ±میانگین) حذف عناصر منیزیم و آهن بر میزان جذب نوری جلبک

Figure 1: Diagram of effects of delimination mg and Fe optical density of *A.plantensis* (D.S±Mean).

مقدار میانگین توده زنده به روش وزنی نیز در روز هفتم و در روز چهاردهم محاسبه گردید که روند این تغییرات و مقادیر آنها نیز در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج آنالیز آماری نشان داد فقط در روز هفتم در تیمار بدون منیزیم ۰/۸۸ گرم در لیتر اختلاف معنادار آماری نسبت به (زاروک (شاهد) بدون آهن، بدون منیزیم -آهن) وجود دارد ($p<۰/۰۵$) که در ادامه آزمایش میزان رشد در تیمارها تغییر نموده است و در روز چهاردهم بین تیمارهای مختلف (بدون منیزیم، بدون آهن، بدون منیزیم - آهن) اختلاف معنادار آماری نسبت به محیط کشت استاندارد زاروک (شاهد) مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$).

برای هر تیمار، pH آن اندازه‌گیری شد تا تغییرات برحسب میزان رشد مشخص شود. طبق نتایج بدست آمده تغییرات pH در محیط‌های مختلف کشت به طور تدریجی و مداوم بود و همراه با افزایش میزان رشد تغییرات pH افزایش یافت. دامنه تغییرات آن در محیط کشت زاروک ۱۰/۵-۹/۱ و در محیط کشت بدون منیزیم برابر با ۱۰/۵-۹/۱ محیط کشت بدون آهن ۱۰/۵-۹/۱، محیط کشت بدون منیزیم -آهن ۱۰/۳–۹/۲ بدست آمد.

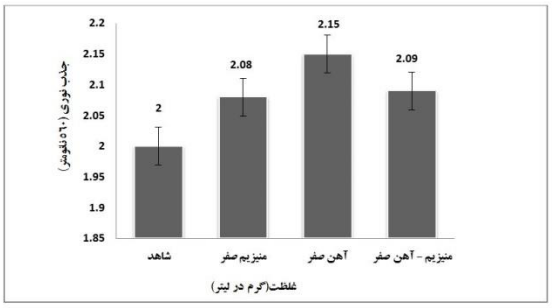


شکل ۲: نمودار توده زنده جلبک *A.plantensis* در محیط کشت زاروک و تیمارها ی مختلف (گرم در لیتر) (میانگین ± انحراف معیار)

Figure 2: Diagram of changes in biomass concentration of *A. plantensis* in different treatment of Zarrouk (g/L) (S.D ± Mean).

محیط کشت جردن

رشد و تولید توده زنده *A. plantensis* در تیمارهای مختلف محیط کشت جردن (شاهد)، بدون منیزیم، بدون آهن و بدون منیزیم -آهن بررسی شد. میزان جذب نوری طی ۱۴ روز رشد، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (طیف سنج) با طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. میزان میانگین جذب نوری بدست آمده و انحراف معیار در شکل ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد میانگین جذب نوری زمانی که غلظت آهن صفر گرم در لیتر است، افزایش یافته ولی در سایر غلظت‌ها میزان جذب کاهش یافته است. نتایج آنالیز آماری نشان داد میان تیمارها (بدون منیزیم، بدون آهن، بدون منیزیم -آهن) اختلاف معنا دار آماری نسبت به محیط کشت استاندارد جردن (شاهد) مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$).

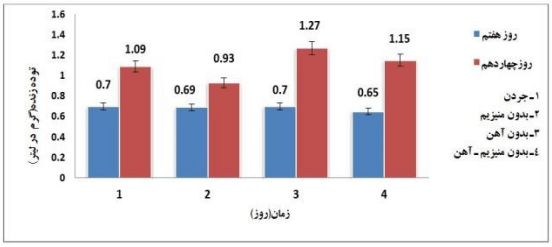


شکل ۳: نمودار اثر *A. plantensis* (میانگین±انحراف معیار) حذف عناصر منیزیم و آهن بر میزان جذب نوری جلبک

Figure 3: Diagram of effects of delimination Mg and Fe optical density of *A. plantensis* (S.D ± Mean)

مقدار میانگین توده زنده به روش وزنی در روز هفتم ودر روز چهاردهم محاسبه گردیدند. روند این تغییرات و مقادیر آنها نیز در شکل ۴ ارائه شده است. میزان رشد در تیمارها تغییر نموده است و نتایج آنالیز آماری نشان داد بین تیمارها (بدون منیزیم، بدون آهن، بدون منیزیم-آهن) اختلاف معنا دار آماری نسبت به محیط کشت استاندارد جردن (شاهد) وجود ندارد ($p>۰/۰۵$).

pH محیط های مختلف کشت به طور تدریجی و مداوم تغییرات افزایشی داشتند، دامنه تغییرات pH در محیط کشت جردن ۱۰/۴–۹/۲، در محیط کشت بدون منیزیم از ۱۰/۳–۸/۶ و محیط کشت بدون آهن ۱۰/۲–۹ و محیط کشت بدون منیزیم ـآهن ۱۰/۳–۹/۳ قرائت گردید.



شکل ۴: نمودارتوده زنده جلبک *A. plantensis* در محیط کشت جردن و تیمارهای مختلف (گرم در لیتر) (میانگین±انحراف معیار)

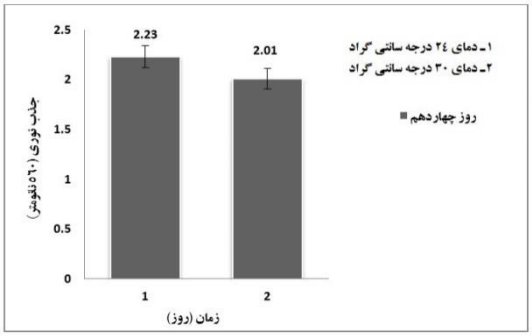
Figure 4:. Diagram of changes in biomass concentration of *A. plantensis* in different treatment of Jourdan (g/L)) (S.D ± Mean).

دما

محیط کشت زاروک نیز در دو تیمار با دماهای ۲۴ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد، طی ۱۴ روز جذب نوری (طیف سنجی) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (طیف سنج) با طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. میزان میانگین جذب نوری بدست آمده و انحراف معیار در شکل ۵ نشان داده شده است. بیشترین میزان جذب در جلبک اسپیرولینا در تیمار با درجه حرارت ۲۴ درجه سانتی‌گراد بدست آمد. نتایج آنالیز آماری نشان داد میان تیمارها (دماهای ۲۴ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد) اختلاف معنی دار آماری وجود دارد ($p<۰/۰۵$).

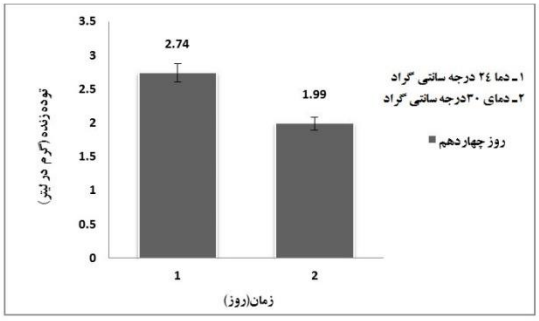
مقدار میانگین توده زنده به روش وزنی در روز چهاردهم محاسبه گردید. روند میزان تغییرات رشد و انحراف معیار نیز در شکل ۶ نشان داده شده است. بیشترین میزان رشد در محیط کشت زاروک در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد ۲/۷۴ گرم در لیتر

بدست آمد و نیز بین تیمارها (دماهای ۲۴ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد) اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده گردید (p<۰/۰۵). دامنه تغییرات pH به طور تدریجی و مداوم روند افزایشی داشت که در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد از ۱۰-۹/۲ و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد ۱۰/۱–۹/۳ قرائت گردید. در محیط کشت جردن نیز در دو تیمار با دماهای ۲۴ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد، طی ۱۴ روز جذب نوری (طیف سنجی) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (طیف سنج) با طول موج ۵۶۰ نانومتر نشان داده شد.



شکل ۵: نمودار روند تغیرات جذب نوری در تیمارهای ۲۴ و ۳۰ درجه سانتی گراد در محیط کشت زاروک (میانگین±انحراف معیار)

Figure 5: Diagram of changes in optical density in 24 and 30°C treatments in culture Zarrouk medium (S.D ± Mean).



شکل ۶: نمودارتوده زنده در محیط کشت زاروک در دماهای ۲۴و۳۰ درجه سانتی گراد (گرم در لیتر) (میانگین±انحراف معیار)

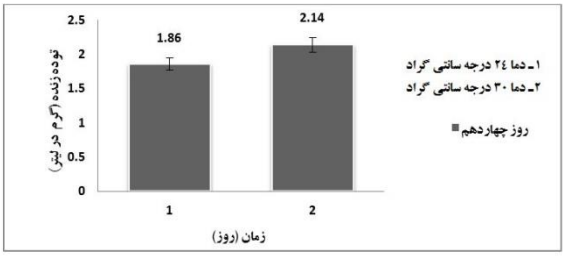
Figure 6: Diagram of biomass in Zarrouk culture medium at temperatures of 24 and 30°C (g/L) (S.D ± Mean).

میزان میانگین جذب بدست آمده و انحراف معیار در شکل ۷ نشان داده شده است. بیشترین میزان جذب در جلبک اسپیرولینا در تیمار با درجه حرارت ۳۰ درجه سانتی‌گراد بدست آمد. نتایج آنالیز آماری نشان داد میان تیمارها (دماهای ۲۴ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد) اختلاف معنی دار آماری وجود دارد (p<۰/۰۵).

شکل ۷: نمودار روند تغیرات جذب نوری در تیمارهای ۲۴ و ۳۰ درجه سانتی گراد در محیط کشت جردن (میانگین±انحراف معیار)

Figure 7: Diagram of changes in optical density in 24 and 30 °C treatments in Jourdan culture medium (S.D ± Mean).

مقدار میانگین توده زنده به روش وزنی در روز چهاردهم محاسبه گردید. روند میزان تغییرات رشد و انحراف معیار نیز در شکل ۸ نشان داده شده است. بیشترین میزان رشد در محیط کشت جردن در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد ۲/۱۴ گرم در لیتر بدست آمد و نیز بین تیمارها (دماهای ۲۴ و ۳۰ درجه سانتی گراد) اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده گردید (p<۰/۰۵). دامنه تغییرات pH در دمای ۲۴ درجه سانتی گراد از ۱۰/۱–۹/۲ و در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد ۱۰/۱–۹/۲ قرائت گردید.



شکل ۸: نمودارتوده زنده در محیط کشت جردن در دماهای ۲۴ و ۳۰ درجه سانتی گراد (گرم در لیتر) (میانگین±انحراف معیار)

Figure 8: Diagram of biomass in Jourdan culture medium at temperatures of 24 and 30 °C (g/ l) (S.D ± Mean).

بحث

با توجه به نقش ریزجلبک‌ها در آبزی‌پروری، فراهم آوردن شرایط بهینه به منظور رشد آنها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Dubinsky *et al*., 1995). بیشترین هزینه تولید اسپیرولینا در مقیاس کوچک، مربوط به محیط کشت می‌باشد و سعی می‌شود با انجام تحقیقاتی در این زمینه امکان تولید ارزان تر اسپیرولینا فراهم گردد (حسین زاده و همکاران، ۱۳۹۳). از اینرو، فرموله نمودن بهینه محیط های کشت از نظر کارایی و اقتصادی بسیار مهم است. در این مطالعه دو محیط کشت پر استفاده شامل زاروک و جردن مورد بررسی قرار گرفتند تا اثرات تغییرات دو عنصر مهم منیزیم و آهن بر کارایی این دو محیط کشت بررسی شود. بر مبنای بررسی سوابق و منابع مشخص شد که در تجارب آزمایشگاهی گذشته این دو عنصر مورد بررسی قرار نگرفته اند. لذا، در ادامه نتایج و یافته‌های بدست آمده از این پژوهش مورد بحث قرار می گیرد. شایان ذکر است که محک و شاخص این بررسی رشد جلبک تک سلولی سیانوباکتر فتوسنتز کننده *A. plantensis* بود. نتایج حاصل از این مطالعه همانطور که شکل ۱ نشان می‌دهد در محیط کشت زاروک میزان جذب نوری با روش (طیف سنجی) هنگامی که غلظت آهن صفر گرم در لیتر بوده است، دارای بیشترین جذب نیز بود. تیمارها نیز در تحلیل آماری بررسی و مشخص شد. میان تیمارها (بدون منیزیم، بدون آهن، بدون منیزیم-آهن) اختلاف معنادار آماری نسبت به محیط کشت استاندارد زاروک (شاهد) وجود ندارد (p>۰/۰۵).در اندازه گیری میزان رشد به روش وزنی شکل ۲ نشان می‌دهد که در روز هفتم تیمار بدون منیزیم و تیمار بدون منیزیم ـآهن ۰/۸۸ گرم در لیتر دارای بیشترین رشد بود و کمترین رشد نیز در زاروک (شاهد) با ۰/۴۵ گرم در لیتر بدست آمد. در رابطه اندازه‌گیری میزان رشد به روش وزنی در روز چهاردهم، در تیمار بدون منیزیم ۰/۹۵ گرم در لیتر بیشترین رشد و کمترین رشد در تیمار بدون آهن ۰/۵۵ گرم در لیتر بدست آمد. در ارتباط با اندازه‌گیری توده زنده به روش وزنی، فقط در روز هفتم در تیمار بدون منیزیم نسبت به (زاروک (شاهد) بدون آهن، بدون منیزیم -آهن) اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده گردید (p<۰/۰۵) که در ادامه و پایان آزمایش میان هیچیک از تیمارها (بدون منیزیم، بدون آهن، بدون منیزیم -آهن) اختلاف معنادار آماری نسبت به محیط کشت استاندارد (شاهد) مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). pH یکی از پارامترهای محدود کننده است که بر فعالیت‌های متابولیک سیانوباکتری‌ها تاثیر دارد و بر رشد فیزیولوژیک و تولید توده زنده اثر می‌گذارد (Mustafa *et al*., 2013). میانگین تغییرات pH در پایان روز چهاردهم در زاروک (شاهد) ۱۰/۵ بیشترین مقدار بود و کمترین تغییرات در تیمار بدون منیزیم ـآهن ۱۰/۳ مشاهده شد. در محیط کشت جردن شکل ۳ میزان جذب نوری با روش (طیف سنجی) هنگامی که غلظت آهن صفر گرم در لیتر بوده دارای بیشترین جذب نیز بود. در تحلیل آماری مشخص شد میان تیمارها (بدون منیزیم، بدون آهن، بدون منیزیم -آهن) اختلاف معنادار آماری نسبت به محیط کشت استاندارد جردن (شاهد) وجود ندارد (p>۰/۰۵). در اندازه‌گیری میزان رشد به روش وزنی شکل ۴ نشان می‌دهد که در روز هفتم جردن (شاهد) و تیمار بدون آهن ۰/۷ گرم در لیتر دارای بیشترین رشد بودند و کمترین رشد نیز در تیمار بدون منیزیم ـآهن ۰/۶۵ گرم در لیتر مشاهده شد. در اندازه‌گیری میزان رشد به روش وزنی در روز چهاردهم، تیمار بدون آهن ۱/۲۷ گرم در لیتر دارای بیشترین رشد بود و کمترین رشد در تیمار بدون منیزیم ۰/۹۳ گرم در لیتر مشاهده شد. در تحلیل آماری مشخص شد اختلاف معنادار میان تیمارها (بدون منیزیم، بدون آهن، بدون منیزیم -آهن) و اختلاف معنادار آماری نسبت به محیط کشت استاندارد (شاهد) وجود ندارد (p>۰/۰۵). میانگین تغییرات pH در پایان روز چهاردهم در جردن (شاهد) ۱۰/۴ دارای بیشترین تغییرات بود و کمترین تغییرات در تیمار بدون آهن ۱۰/۲ مشاهده شد. نتایج پژوهش حاضر حاکی از آن است که با حذف مقادیر عناصر منیزیم و آهن در محیط کشت زاروک بترتیب با غلظت ۰/۲ و ۰/۰۱ گرم در لیتر و در محیط کشت جردن ۰/۱ و ۰/۰۱گرم در لیتر سبب اختلاف معنادار آماری در میزان رشد و توده زنده جلبک اسپیرولینا نمی‌شود (p>۰/۰۵). در پژوهش مشابهی که فلاحی و صلواتیان (۱۳۸۳) در خصوص غلظت‌های مختلف عنصر منیزیم بر میزان رشد و بیوماس جلبک سبز کلرولا در محیط کشت زایندر انجام گرفت، غلظت مؤثر این عنصر در محدوده ۱۰-۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بود و میزان مؤثر منیزیم برای حداکثر رشد این جلبک ۰/۱ میلی گرم در لیتر می‌باشد در حالیکه مقدار آنها در محیط کشت شاهد ۴/۶ میلی‌گرم در لیتر بوده است. طبق این بررسی‌ها رشد بیوماس جلبک کلرولا در غلظتهای مذکور دارای بیشترین مقدار است و مقادیر بالاتر از این اعداد می‌تواند رشد بازدارنده داشته باشد. از سوی دیگر، Schwenk (۲۰۱۰) اثرات سولفات منیزیم را بر رشد جلبک سبز *Scenedesmus dimorphus* بررسی نمود و نتایج نشان داد وجود منیزیم باعث افزایش تراکم و رشد سلول می‌گردد. حتی هنگامی که منیزیم در محیط کشت صفر

گرم در لیتر می‌باشد، رشد جلبک ادامه داشت و احتمال داده شد که شاید ترکیبات وجود ساختار خود جلبک سبب رشد جلبک در فقدان منیزیم می‌شود. نتایج بدست آمده همسو با یافته‌های تحقیق حاضر نمی باشند. در پژوهش حسینی و همکاران (۱۳۸۳) در خصوص غلظت آهن بر میزان رشد جلبک سبز *Ankistrodesmus falcatus*، نتایج بدست آمده نشان داد میزان آهن برای حداکثر رشد این جلبک ۰/۵ میلی گرم درلیتر می باشد در حالیکه مقدار آن در محیط کشت شاهد (N+8-Z) ۰/۱۹ میلی گرم در لیتر بوده است و مقایر بالاتر و پایین تر از این عدد اثرات کاهنده داشتند. از سوی دیگر، کمالی و همکاران (۱۳۹۰) پژوهشی در ارتباط با حضورآهن در جلبک سبز تک سلولی *Dunaliella* انجام دادند و نتیجه نشان داد که احتمالاً آهن سبب افزایش تولید رادیکالهای آزاد می‌گردد و سلولها جهت مقابله، میزان کلروفیل سلولی و در نتیجه رادیکالهای حاصل از آنرا کاهش می‌دهند. از سویی، جهت مقابله با رادیکالهای آزاد تولیدی توسط تنش آهن مقادیر زیادی بتاکاروتن را به عنوان آنتی اکسیدان تولید می‌کنند. Alessandor Concas و همکاران (۲۰۱۴) آهن را در میان میکرونوترینت‌ها مورد مطالعه قرار دادند که نتایج بدست آمده نشان داد آهن سبب افزایش نرخ رشد و افزایش تراکم سلولی می‌باشد و محدودیت آهن می‌تواند در کاهش نرخ تثبیت دی اکسیدکربن و جذب نیتروژن از ریزجلبکها با محدود کردن واکنش فتوسنتز مؤثر باشد. نتایج بدست آمده همسو با یافته‌های تحقیق حاضر نمی‌باشند. یافته های پژوهش حاضر اطلاعات جدیدی در زمینه تاثیر عناصر منیزیم و آهن بر میزان رشد جلبک اسپرولینا در دسترس محققین قرار می‌دهد و می‌تواند در راستای تهیه محیط کشت بهینه با هزینه کمتر برای رشد بیشتر جلبک اسپرولینا موثر باشد و مورد استفاده قرار گیرد. میزان رشد جلبک اسپیرولینا در محیط کشت زاروک در دو دما مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه همانطوریکه شکل ۵ نشان می‌دهد، میزان جذب به روش طیف سنجی در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد بیشتر از جذب در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد می باشد. اندازه‌گیری میزان رشد به روش وزنی در روز چهاردهم نشان داد (شکل ۶) که در تیمار ۲۴ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد بترتیب ۲/۷۴ گرم در لیتر و ۱/۹۹ گرم در لیتر بوده است. میانگین تغییرات pH در دمای ۳۰ و ۲۴ درجه سانتی‌گراد در محیط کشت زاروک بترتیب ۱۰/۱ و ۱۰ بود. نتایج پژوهش حاضر حاکی از آنست که بیشترین میزان رشد در محیط کشت زاروک در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد می‌باشد و میان تیمارها (دماهای ۳۰ و ۲۴ درجه سانتی‌گراد) اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p<0/05$). میزان رشد جلبک اسپیرولینا در محیط کشت جردن در دو دما مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میزان جذب به روش طیف سنجی در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد کمتر از جذب در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد می‌باشد (شکل ۷). اندازه‌گیری میزان رشد به روش وزنی در روز چهاردهم نشان داد در تیمار ۲۴ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد بترتیب ۱/۸۶ گرم در لیتر و ۲/۱۴ گرم در لیتر بوده است (شکل ۸). میانگین تغییرات pH در دمای ۳۰ و ۲۴ درجه سانتی‌گراد در محیط کشت جردن بترتیب ۱۰/۱ و ۱۰/۱ بود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد بیشترین میزان رشد در محیط کشت جردن در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد می باشد و میان تیمارها (دماهای ۳۰ و ۲۴ درجه سانتی‌گراد) اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده گردید ($p<0/05$). در پژوهش مشابه توسط اکبری و همکاران (۱۳۸۳) تاثیر دما بر جلبک قرمز *Gracilaria corticata* بررسی گردید و دما ۳۲-۲۳ درجه سانتی‌گراد برای فصل بهار و ۳۰-۲۳ درجه سانتی‌گراد برای فصل پاییز نوسان داشت و اپتیمم رشد و افزایش وزن گونه مورد نظر در درجه ۲۸ درجه سانتی‌گراد بدست آمد. از سوی دیگر، عبدالعلیان و همکاران (۱۳۹۱) درجه حرارت مناسب برای رشد و شکوفایی دینوفلاژله *Cochlodinium polykrikoides* را ۲۶ درجه سانتی‌گراد بدست آوردند. یافته‌های Kim و همکاران (۱۹۹۷) بیشینه رشد ویژه جلبک *C. polykrikoide* را در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد گزارش کردند. چنین نتایج مشابهی توسط Colla و همکاران (۲۰۰۵) بدست آمد و دریافتند دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد برای سیانوباکتریهایی نظیر اسپیرولینا اثر منفی بر رشد توده زنده دارد و بیشترین رشد توده زنده نیز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد می باشد. از سوی دیگر، Danesi و همکاران (۲۰۰۱) و Vonshak (۱۹۹۷) بیان کردند دمای رشد بهینه اسپیرولینا ۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد بوده است و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای سیانوباکتری‌ها زیان‌آور می‌باشد. علت اینکه بیشترین توده زنده در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد وجود دارد، ممکن است ناشی از افزایش جزئی CO_2 در محیط کشت با دمای ۳۰ نسبت به ۳۵ درجه سانتی‌گراد باشد که این امر سبب افزایش غلظت بی‌کربنات و در نهایت افزایش فتوسنتز می‌شود. فاکتور دیگری که می‌توان در نظر گرفت آن است که در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد افزایش فعالیت چرخه تنفسی وجود دارد که همراه با کاهش وزن سلول

است. نتایج تحقیق کنونی نیز همسو با نتایج بدست آمده در سایر مطالعات می باشد و گویای این مطلب است که جلبک اسپیرولینا در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد در محیط کشت زاروک و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در محیط کشت جردن در محیط آزمایشگاهی دارای بیشترین رشد می باشد و تعیین دمای مناسب می‌تواند موجب اختلاف معنی‌دار بر اندازه میزان رشد و توده زنده جلبک اسپیرولینا گردد.

منابع

اسماعیلی ساری، ا.، ۱۳۷۹. باکتریها، جلبکها، قارچها و بی مهرگان آب شیرین. انتشارات مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، ۲۴۹ صفحه.

اکبری، ح.، فروغی فرد، ح. و اشراف زاده، ش.، ۱۳۸۳. بررسی اثرات برخی ازعوامل محیطی بر رشد جلبک *قرمز corticata Gracilaria* در حوضچه های فایبر گلاس. مجله پژوهش و سازندگی، ۸ :۶۴ :۱۳۸۳.

حسین زاده، خ.، گنجیان خناری، ع. و جعفری، م.، ۱۳۹۳. بررسی تاثیر غنی سازی آب حوضه جنوبی دریای خزر بر رشد ریز جلبک*Spirulina platensis*. مجله تغذیه و بیوشیمی آبزیان، ۱۱ :اول:۱۳۹۳.DOI:10.22092/ISFJ.2006.114905.

حسینی، م.، سیف آبادی، ج. و فلاحی، م.، ۱۳۸۳. تأثیر غلظت های مختلف فسفر و آهن بر میزان رشد جلبک سبز*Ankistrodesmus falcatus*، مجله علمی شیلات ایران، ۱۵ :۳ :۱۳۸۵.

شیخی نژاد، ع.، لباب پور، ع. و معظمی، ن.، ۱۳۹۳. افزایش تولید سیانوباکتری اسپیرولینا با کنترل همزن و ترکیب شیمیایی محیط کشت. مجله پژوهش های گیاهی مجله زیست شناسی ایران، ۱۱ :۲ :۱۳۹۴.

عبدالعلیان، ع.، روحانی، ک.، معذی، م.، فروغی فرد، ح.، اکبرزاده، غ.، مرتضوی، م.، دهقانی، ر.، غریب نیا، م و بناروبی، ف.، ۱۳۹۱. تعیین برخی ازپارامترهای مؤثر رشد و شکوفایی داینوفلاژله *Cochlodinium polykrikoides*. مجله علمی شیلات ایران، ۱۰ :۲ :۱۳۹۱.DOI:10.22092/ISFJ.2017.110317.

فلاحی، م. و صلواتیان، م.، ۱۳۸۳. بررسی اثرغلظتهای مختلف عنصر منیزیم بررشد و بیوماس جلبک سبز*Chlorella Vulgaris*. مجله علمی شیلات تهران، ۱۳ :۷۲ :۱۳۸۵.

کمالی سروستانی، م و شریعتی، م.، ۱۳۹۰. تاثیر آهن بر روی سنتز بتا کاروتن در جلبک سبز تک سلولی *Dunaliella*، پایان نامه. رشته ی زیست شناسی-علوم گیاهی گرایش فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان و شهر اصفهان.

Belay, A., Ota, Y., Miyakawa, K. and Shimatsu, H., 1993. Current knowledge on pontential health benefits of *spirulina*. *Journal of Applide phycology*, 5: 233-241.

Boney, A.D., 1925. Phytoplankton Scond Editon. Edvard Amold Publi Sher. 118P.

Colla, M. and Reinehr, C.H.O., 2007. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperatures and nitrogen regimes. *Bioresource Technology*, 98: 1489-1493.

Concas, A., Steriti, A., Pisu, M. and Cao, G., 2014. Mathematical Modeling of the Effect of Iron on the Growth and the Bio-Oil Productivity of *chloreiia* vulgaris. DOI: 10.3303/CET1438031.

Danesi, E.D.G., Rangeel, C.O., Pelizer, L.H., Carvalho, J.C.M., Sato, S. and Moraes, I.O., 2001. Production of *Spirulina platensis* under different temperatures and urea feeding regimes for chlorophyll attainment. In; proceedings of the Eighth International Congress on Engineering and Food, 2: 1978-1982.

Devgoswami, CH.R., Kalita, M.C., Talukder, J., Bora, R., Sharma, P., 2012. Studies on the growth behavior of *Chlorehha Haematococcus* and *Scenedsmus* sp.in culture media with different concentrations of sodium bicarbonate and carbon dioxide gas. African Journal of Biotechnology 10: 13128-13138.

Dubinsky, Z., Matzukawa, R. and Karube, I., 1995, Photobiological aspects of algal mass

culture. *Journal Marine Biotechnology*, 2: 61-65.

Henrikson, R., 2010. *Spirulina* word food how this micro algae can Transform your health and our planet. Maui, Howaii, Ronore Enterprises.

Jourdan, P., 2001. Manual of smaal scale *spirulina* Culture. Antenna technologies. 15P.

Kim, H.G., 1997. Reccent harmful algal bloomas and mitigation strategis in korea. *Ocean Research*, 19: 185-192.

Komarek, J., 1973. Culture collections. In Carr N.G. and whitton B.A. The biology of blue-green algae. Blackwell scientific publ., pp. 519-524.

Mustafa, Y., Fagiri, A. and Saiieh, A., 2013. Nageerabi SAF Influence of chemical and environmental factors on the growth performance of *Spirulina platensis* strain SZ100. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 4:7-15.

Reinehr, C.O. and Costa, J.A.V., 2006. Repeated batch cultivation of the microahga *spirulina platensis. World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 229, 937-943.

Round, F.E., 1975. The biology of the algae. Second edition. Edward Arnold. pp. 216–230.

Schwenk, J., 2010. Effectas of magmesiul Fate, dige state, and other in rganic nutrients on the photorophic growth of the green microalga scrnede smus dimorphus, science in chemical engineering, Cleveland state University.

Vonshak, A., 1997. *Spirulina platensis* (Arthrospira).Physiology, Cellbiology and Biotechnology.Taylor and Francis, London. ISBN 0-2035-8670-0.

Zarrouk, C., 1966. Contribution to the study of cyanobacteria, influence of various physical and chemical factors on growth and photosynthesis is *spirulina maxima* PhD Thesis, University of Paris.

Evaluation the effects of temperature, magnesium and iron on *Arthrospira plantensis* growth and biomass production

Jarian R[1].; Fatemi, M.R.[1*]; Mashinchian Moradi A.[1]

[*]reza_fatemi@hotmail.com

1- Department of Marine Biology, Islamic Azad University, Faculty of Natural resources and Environment, Science and Research Branch Tehran, Iran

Abstract

This study was conducted to investigate the effects of temperature (24 and 30 ˚C), magnesium and iron removal on *Arthrospira plantensis* growth and biomass in vitro For this purpose two culture media have been used: Zarrouk and Jourdan culture medium. Removal of magnesium and iron were performed in six treatments and two controls with three replications. Temperature experiments were performed in two treatments with three replications for two mentioned media. Optical density of samples was measured daily by a spectrophotometer at 560 nm. In addition, biomass was measured in g/L at two stages (in 7 and 14 days). pH was measured daily. The results showed that in Zarrouk culture medium (control), mg free treatment and mg-fe free treatment have the highest biomass in day 7 (0.88 g/L). In day 7, among all treatments (mg free, fe free, mg-fe free), only mg free treatment showed statistically significant with standard culture medium (Zarrouk), ($p<0.05$). In day 14, the mg free treatment showed the highest biomass (0.95 g/L), but there was not significant difference between treatments (mg free, fe free, mg-fe free) and standard culture medium (Zarrouk), ($p<0.05$). In Jourdan culture medium, control and fe free treatment have the highest biomass (0.7 g/L) in day 7; and fe free treatment has the highest biomass (1.27 g/L) in day 14; but there was not significant difference between treatments (mg free, fe free, mg-fe free) and standard culture medium (Jourdan), ($p<0.05$). Regarding to temperature effects, in Zarrouk and Jourdan media, the highest growth observed at 24˚C and 30˚C, with 2.74 and 2.14 g/L respectively. There was significant difference between treatments (24 and 30˚C), ($p<0.05$). results indicated *A. plantensis* can be cultivated in large scale by removing magnesium and iron from medium by this way, we could reduce the culturing cost of *A. plantensis.*

Keywords: Magnesium, Iron, *Spirulina*, Jourdan culture medium, Zarrouk culture medium

[*]Corresponding author