مقاله علمی - پژوهشی:

تاثیر توأم تناوب نوری و شوری بر تراکم، زیست‌توده و رنگدانه‌های ریزجلبک دریایی *Tetraselmis tetrathele*

امیدوار فرهادیان*[1]، مریم همتیان[1]، صفی‌اله حیدری[1]

*omfarhad@iut.ac.ir

۱-گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: بهمن ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۴۰۳

چکیده

در دنیای آبزی‌پروری، ریزجلبک‌ها عمدتاً به عنوان منبع استحصال رنگدانه‌ها یا تولید غذای زنده برای آبزیان کاربرد دارند. این تحقیق با هدف بررسی تاثیر توأم تناوب نوری و شوری بر رشد، تکثیر و رنگدانه‌های ریزجلبک دریایی *Tetraselmis tetrathele* انجام شد. این آزمایش به صورت یک طرح کاملاً تصادفی با سه رژیم نوری (۱۲D تاریکی:۱۲L روشنایی، ۴L:۴D و ۳L:۳D) در پنج شوری متفاوت (۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ گرم بر لیتر) در یک دوره ۲۳ روزه انجام شد. نتایج نشان داد که افزایش رژیم نوری و شوری به طور معنی‌داری ($p<0/05$) بر تراکم، میزان رشد ویژه و مقدار زیست‌توده تأثیرگذار است. بیشترین تراکم سلولی و میزان رشد ویژه به‌ترتیب $11/2\times10^{7}$ سلول در میلی‌لیتر و ۰/۲۰۶ در روز، در رژیم نوری ۳L:۳D و شوری ۳۵ گرم در هزار به‌دست آمد. بیشترین میزان زیست‌توده خشک و کل کاروتنوئیدها به‌ترتیب ۱/۴ و ۴/۶ میلی‌گرم در لیتر در رژیم نوری ۴L:۴D و شوری ۴۰ گرم بر لیتر بود. بیشترین مقدار کلروفیل *a* و *b* به‌ترتیب ۲۲/۳ و ۳۵/۴ میلی‌گرم در لیتر در رژیم نوری ۳L:۳D و شوری ۲۵ گرم بر لیتر اندازه‌گیری شد. نتایج این مطالعه نشان داد که تناوب نوری ۳L:۳D و ۴L:۴D توأم با افزایش شوری می‌تواند باعث بهبود رشد و زیست‌توده و افزایش نسبی رنگدانه‌ها گردد.

لغات کلیدی: کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کاروتنوئید، رشد ویژه، زیست‌توده خشک، زیست‌توده روزانه

*نویسنده مسئول

Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

مقدمه

صنعت آبزی‌پروری در سال‌های اخیر از رشد چشمگیری برخوردار بوده و قادر است بخش‌های دولتی و خصوصی را جهت سرمایه‌گذاری در این صنعت ترغیب نماید (Heydarnejad, 2012). با توجه به جایگاه تغذیه در صنعت آبزی‌پروری، استفاده از غذاهای زنده به‌ویژه جلبک‌ها به عنوان تولیدکنندگان اولیه با قرارگیری در زنجیره غذایی آبزیان نقش به‌سزایی در توسعهٔ این صنعت ایفاء می‌کنند (Richmond, 2003). در اکوسیستم‌های آبی، ریزجلبک‌ها به عنوان تولیدکنندگان اولیه زنجیره‌غذایی نقش کلیدی در چرخه حیات دارند (Amini Khoeyi *et al*., 2012) و در دنیای آبزی‌پروری، ریزجلبک‌ها عمدتاً به عنوان منبع استحصال رنگدانه‌ها و اسیدهای چرب یا تولید غذای زنده برای آبزیان کاربرد دارند (Chauton *et al*., 2015). در حال حاضر، تنها تعداد اندکی از ریزجلبک‌ها برای استخراج ترکیبات باارزش مانند رنگدانه‌ها یا پروتئین‌ها کشت داده می‌شوند (Priyadarshani and Rath, 2012) و تنها برخی از گونه‌ها همانند *Tetraselmis*، *Chlorella* و *Isochrysis* قادرند در زنجیره غذایی آبزیان مورد استفاده قرار گیرند (Brown, 1991). وجود اسیدهای چرب، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، کارتنوئیدها و مواد مغذی موردنیاز لاروها در جلبک‌ها بر اهمیت استفاده از آنها می‌افزاید (Barsanti and Gualtieri, 2006). جنس *Tetraselmis* از جلبک‌های سبز در آبهای شور بوده که متعلق به خانوادهٔ Chlorodendraceae و ردهٔ Chlorodendrales است (Serdar *et al*., 2007). در آبزی‌پروری، این نوع جلبک به طورگسترده در جهان، به دلیل توانایی رشد در محدودهٔ وسیعی از شرایط فیزیکی و شیمیایی محیط، جهت تغذیهٔ آبزیان گیاهخوار دریایی استفاده می‌شود (Lourenco *et al*., 1997). ریزجلبک (*Tetraselmis tetrathele* (West) Butcher, 1959) تاژکداری بزرگ به رنگ سبز روشن (قطر ۱۶-۱۰ میکرون) و شوری‌پسند بوده و دارای سطوح چربی زیاد، اسیدهای آمینه طبیعی و استرول است که باعث تحریک تغذیه در حیوانات دریایی می‌شود (Ghezelbash *et al*., 2008). لذا، برای کشت و پرورش لارو میگوهای پنائیده و خرچنگ و نرم‌تنان کاربرد فراوانی دارد (Samocha *et al*., 2002). عوامل محیطی از قبیل دورهٔ نوری، درجه حرارت آب، شوری و دسترسی به مواد مغذی تا حد زیادی ترکیبات شیمیایی ریزجلبک‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در واقع، این عوامل با تأثیر بر فتوسنتز، سبب تغییر در میزان کربن تثبیت‌شده و اختصاص کربن به انواع مختلف درشت مولکول‌ها می‌شوند (Juneja *et al*., 2013). کیفیت و کمیت نور شامل شرایط نوری، شدت نور و رژیم نوری از عوامل اصلی مؤثر بر رشد، متابولیسم، ترکیب شیمیایی و رنگدانه در سلول‌های جلبکی هستند (Amini Khoeyi *et al*., 2012). در محیط کشت فوتواتوتروفیک[۱]، شدت نور و دورهٔ نوری از عوامل مهم در تعیین زیست‌توده تولیدی هستند (Parmar *et al*., 2011). تغییر در ساعات روشنایی- تاریکی، منجر به تغییر در محتوای ترکیبات بیوشیمیایی سلول‌های ریزجلبک‌ها می‌شود (Amini Khoeyi *et al*., 2012). علاوه‌براین، افزایش یا کاهش شدت نور نیز بر محتوای پروتئینی، ویتامین‌ها، اسیدهای چرب غیراشباع، کربوهیدرات‌ها و رنگدانه‌ها اثر می‌گذارد (Boulus *et al*., 2007). همچنین تنش شوری یکی از تنش‌های غیرزیستی مهم است و اثرات جدی بر بقاء موجود زنده و تولید محصول و ترکیبات زیستی دارد. جلبک‌ها برای مقابله با تنش شوری، انواعی از متابولیت‌های ثانویه را برای رشد و تعادل اسمزی تولید می‌کنند (Jayanta *et al*., 2012). اگرچه در خصوص تأثیر شاخص‌های محیطی (درجه‌حرارت، دورهٔ نوری، گونهٔ جلبکی، شوری، محیط‌کشت) و فصول سال بر رشد و محتوای ترکیبات بیوشیمیایی (پروتئین‌ها و چربی‌ها) در ریزجلبک‌ها مطالعاتی انجام شده است (Aizdaicher and Markina, 2011; Gerasimenko *et al*, 2011; Blair *et al*, 2014; Singh and Singh, 2015; Abou-El-Souod *et al*, 2016; Marques *et al*, 2021; Minhas *et al*, 2023; Trentin *et al*, 2024)، اما در خصوص تأثیر هم‌زمان نور و شوری بر رشد و تکثیر و میزان رنگدانه‌های جلبک‌های دریایی، مطالعات اندکی صورت گرفته است (Hotos and

[۲] Photoautotrophic
(افزایش شدت نور به همراه غنی کردن محیط از گاز دی اکسید کربن و حذف قندها)

(Avramidou, 2021; Nezafatian *et al*, 2023). در مطالعه حاضر، تأثیر سه رژیم نوری ۱۲L:۱۲D(ساعت روشنایی: ساعت تاریکی)، ۴L:۴D و ۳L:۳D با شوری‌های ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ گرم بر لیتر بر شاخص‌های زیستی رشد، تولیدمثل، زیست‌توده و مقدار رنگدانه در جلبک سبز *T. tetrathele* مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

تهیه ذخیره اولیه ریزجلبک

نمونه خالص جلبک *T. tetrathele* از ایستگاه تحقیقات شیلاتی نرم‌تنان خلیج‌فارس- بندرلنگه تهیه و در آزمایشگاه کشت جلبک دانشگاه صنعتی اصفهان مورد استفاده قرار گرفت. جهت اطمینان از خالص بودن استوک، مشاهده آن با میکروسکوپ اینورت (مدل CETA ساخت بلژیک) انجام شد و کلیدهای شناسایی (Huynh and Serediak , 2011; Bellinger and Sigee, 2015; Gonzalo *et al*. 2016) برای اطمینان مورد استفاده قرار گرفت. ریزجلبک *T. tetrathele* در ارلن مایرهای پنج لیتری با استفاده از محیط کشت کانوی (جدول ۱) (Tompkins *et al*., 1995) در آب دریا با شوری ۲۵ گرم در لیتر کشت با روش پیشنهادی Nezafatian و همکاران (۲۰۲۳) گردید. آب شور موردنیاز از پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس و دریای عمان با شوری ۴۰ گرم در هزار تهیه و جهت تنظیم شوری از آب مقطر استفاده گردید. به منظور تهیه شوری از آب دریا و برای تنظیم و کنترل همه شوری‌های ساخته‌شده، از دستگاه شورسنج مدل YW-622 استفاده گردید. ترکیبات مورداستفاده جهت تهیه محیط کشت کانوی در جدول ۱ ارائه شده است.

روش آزمایشگاهی

جهت انجام آزمایش، کشت جلبک در دوره‌های نوری ۱۲L:۱۲D (۱۲ ساعت روشنایی: ۱۲ ساعت تاریکی)، ۴L:۴D و ۳L:۳D در ۵ شوری مختلف ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ گرم بر لیتر، هرکدام در سه تکرار انجام شد (Nezafatian *et al*, 2023). آزمایش در ارلن‌مایرهای شیشه‌ای پنج لیتری در شرایط آزمایشگاهی در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ۸۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه (نورسنج مدل LI-COR LI-189) و pH تقریباً ۸ (±۰/۲) (مدل 744 Metrohm، ساخت سوئیس) انجام شد. استوک جلبکی به میزان ۱۰ درصد حجمی اضافه شد.

جدول ۱: محیط کشت کانوی مورد استفاده برای کشت ریزجلبک *Tetraselmis tetrathele*

Table 1: Conway medium used for cultivation of microalgae *Tetraselmis tetrathele*

Concentrations(g/L in natural sea water)	Chemicals
100/116	$NaNO_3/KNO_3$
45	EDTA
33.6	H_3BO_3
20	$NaH_2PO_4.4H_2O$
1.3	$FeCl_3.6H_2O$
0.36	$MnCl_2.4H_2O$
1 ml	Trace metal solution
2.1	$ZnCl_2$
2.0	$CoCl_3.6H_2O$
0.9	$(NH_4)6Mo_7O_2.4H_2O$
0.2	thiamine
0.01	Cyanocobalamin B_{12}
2.0	CuSO4.5H2O

هوادهی و نور مناسب نیز با استفاده از پمپ هواده مرکزی و لامپ‌های فلورسنت فراهم گردید. جهت شمارش تعداد سلول‌های ریزجلبک هر روز و با استفاده از لام هموسیتومتر و با روش پیشنهادی Martinez و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد. میزان رشد ویژه با استفاده از روش پیشنهادی Omori و Ikedo (۱۹۸۴) و وزن خشک جلبک‌ها با استفاده از روش پیشنهادی Lavens و Sorgeloos (۱۹۹۶) با استفاده از حجم معینی از جلبک‌های شمارش شده به‌دست آمد. جهت اندازه گیری وزن خشک، از نمونه مورد نظر ۳۰۰ میلی‌لیتر محلول جلبکی برداشته شد و به‌وسیله کاغذ صافی غشایی از قبل توزین شده، فیلتر گردیدند. کاغذ صافی حاوی محلول جلبکی در آون (مدل Shimifan Lo. 141) در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت قرار داده شد تا خشک شود. پس ازخشک شدن، کاغذ صافی در دسیکاتور قرار داده شد و پس از آن به‌وسیله یک ترازوی دیجیتالی (مدل

Shimadzu LIBROR AEU-210) وزن گردید. اختلاف وزن حاصل، نشان‌دهندهٔ وزن خشک جلبک است. به منظور اندازه‌گیری وزن خشک تولیدی در انتهای دوره کشت (زی‌توده جلبکی) از روش پیشنهادی Ryckebosch و همکاران (۲۰۱۲) استفاده گردید. در این روش محلول جلبکی باقیمانده هر تیمار را برداشته شده و به داخل لوله فالکون ۵۰ میلی‌لیتری انتقال داده شده و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول فوقانی، جداسازی شده و ریزجلبک‌های ته‌نشین شده، دو بار با آب مقطّر شستشو داده شدند تا نمک آنها خارج شود. سپس جلبک‌ها به ظروف پلاستیکی درب‌دار منتقل شدند. قبل از انتقال جلبک‌ها، ظروف خالی وزن شدند. پس از انتقال، با قرارگیری در وزش هوای گرم خشک شدند تا نمونه‌ها به طور کامل آب خود را از دست بدهند. بعد از خشک شدن کامل ریزجلبک‌ها، ظروف حاوی جلبک مجدداً وزن شدند. وزن ظروف پس از خشک شدن از وزن ظروف خالی کسر شد و بدین طریق میزان زیست‌توده تعیین گردید.

اندازه‌گیری مقدار رنگدانه‌ها

اندازه‌گیری کلروفیل *a*، *b* و کل کاروتنوئیدهای نمونه‌ها، با استفاده از کاغذ صافی غشایی، سانتریفیوژ، استون ۹۰ درصد، دستگاه اسپکتروفتومتری (مدل JENWAY 6400) و بر اساس روش Parsons و همکاران (۱۹۸۴) انجام شد. برای محاسبه میزان کلروفیل و کل کاروتنوئید از فرمول‌های ذیل استفاده شد (Dere *et al*, 1998; Khuantrairong and Traichaiyaporn, 2012):

$$C_a\ (mg/L) = 11.75(A662)-2.350(A645)$$

$$C_b\ (mg/L) = 18.61(A645)-3.960(A662)$$

$$C_{x+c}\ (mg/L) = 1000(A470)-2.270(C_a)-81.4(C_b)/227$$

C_a = کلروفیل *a*، C_b = کلروفیل *b*، C_{x+c} = کل کاروتنوئیدها، A = میزان جذب در طول‌موج مورد نظر

روش تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

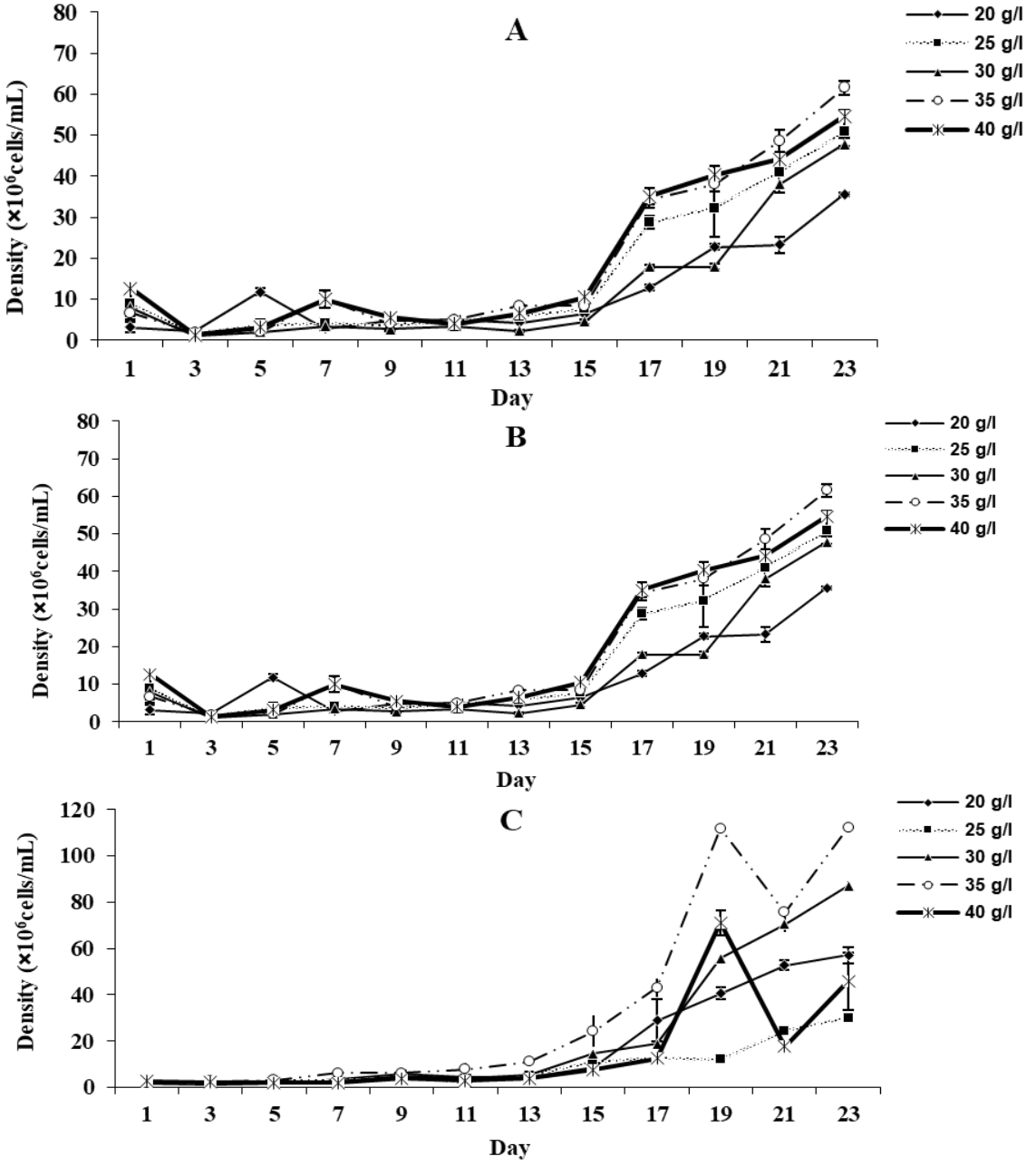
آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. جهت تجزیه‌وتحلیل داده‌های تراکم سلولی، میزان رشد ویژه، میزان زی‌توده جلبک و رنگدانه‌ها ابتدا از تجزیه واریانس دوطرفه ANOVA و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح خطای ۵ درصد استفاده شد. از نرم‌افزار آماری SPSS 22 برای انجام آزمون‌های آماری استفاده گردید.

نتایج

میزان تراکم، رشد ویژه و زی‌توده جلبک *T. tetrathele*

میانگین تراکم سلولی در دوره پرورش در رژیم‌های نوری مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است. میانگین تراکم سلولی و میزان رشد ویژه در شکل ۲ و میزان زی‌توده روزانه و میزان زی‌توده خشک در پایان دوره پرورش جلبک *T. tetrathele* (روز ۲۳) در شکل ۳ نشان داده شده است.

نتایج تجزیه‌وتحلیل واریانس دوطرفه در طول آزمایش نشان داد که تیمارهای مختلف آزمایشی بر مشخصه‌های مختلف اندازه‌گیری شده، تأثیر معنی‌داری دارند ($p<۰/۰۵$). بر اساس نتایج به‌دست آمده در انتهای آزمایش، بیشترین تراکم سلولی و بیشترین میزان رشد ویژه در رژیم نوری ۳L:۳D و شوری ۳۵ گرم در لیتر (شکل ۲) و بیشترین میزان زیست‌توده روزانه و بیشترین میزان زیست‌توده خشک در رژیم نوری ۴L:۴D و شوری ۴۰ گرم در لیتر حاصل شد (شکل ۳). در مقابل کمترین تراکم سلولی در رژیم نوری ۳L:۳D و شوری ۲۵ گرم در لیتر، کمترین میزان رشد ویژه در رژیم نوری ۱۲L:۱۲D و شوری ۴۰ گرم در لیتر (شکل ۲)، کمترین میزان زیست‌توده روزانه و میزان زیست‌توده خشک در رژیم نوری ۳L:۳D و شوری ۳۰ گرم در لیتر مشاهده شد (شکل ۳). بدین‌ترتیب، اختلاف معنی‌داری بین تیمار نوری ۳L:۳D و ۱۲L:۱۲D و تیمار شوری ۲۵ گرم بر لیتر با تیمار شوری ۴۰ گرم بر لیتر نیز وجود داشت.

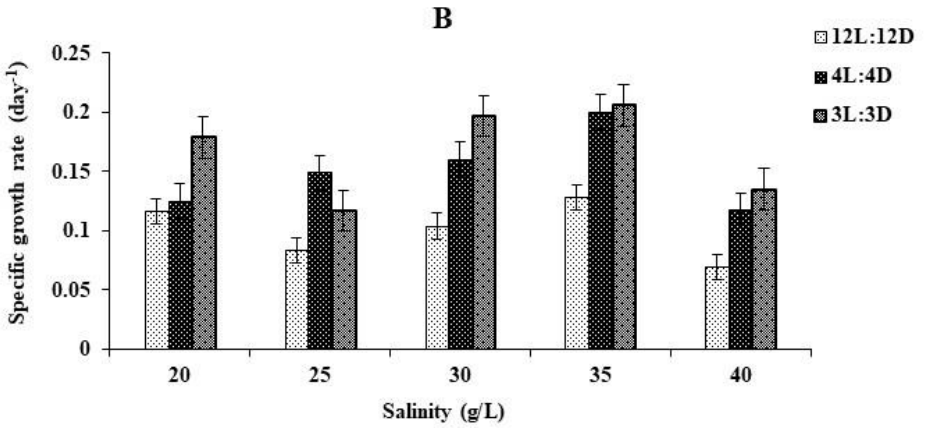


شکل ۱: میانگین (± خطای استاندارد) تراکم سلولی جلبک *Tetraselmis tetrathele* در رژیم‌های نوری ۱۲L:۱۲D (الف)، ۴L:۴D (ب) و ۳L:۳D (ج) در تیمارهای مختلف در طول دوره پرورش

Figure 1: Mean (± SE) of density of ***Tetraselmis tetrathele*** in photoperiods 12L:12D (A), 4L:4D (B) and 3L:3D (C) in different treatments during culture period

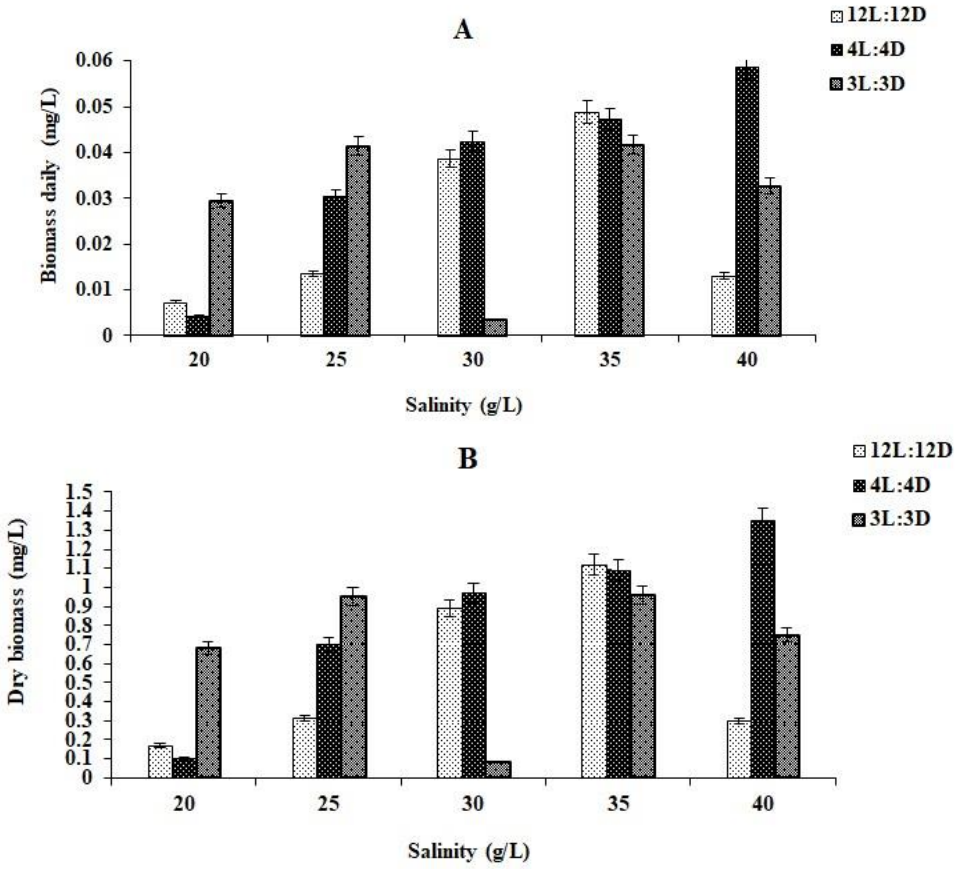
رنگدانه‌های جلبک *T. tetrathele*

میزان کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کل کاروتنوئیدها جلبک *T. tetrathele* در آغاز ورود به مرحله فاز ثابت رشد در تیمارهای مختلف در شکل ۴ نشان داده شده است. نتایج تجزیه‌وتحلیل واریانس دوطرفه در طول آزمایش نشان داد که تیمارهای مختلف آزمایشی بر مشخصه‌های مختلف اندازه‌گیری شده تأثیر معنی‌داری دارند ($p<۰/۰۵$).



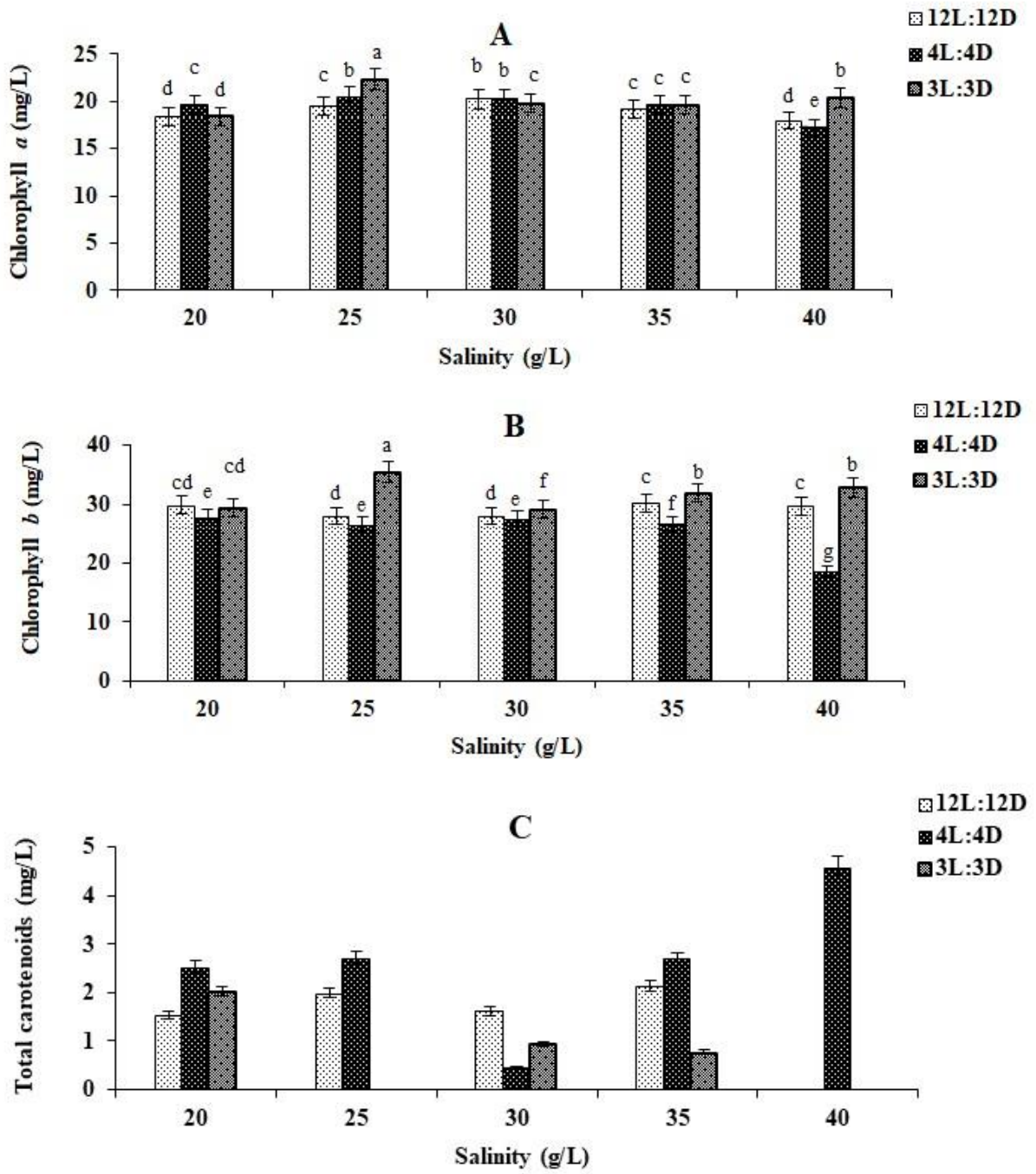
شکل ۲: میانگین (± خطای استاندارد) تراکم (الف) و رشد ویژه (ب) جلبک *Tetraselmis tetrathele* در تیمارهای مختلف. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد باهم اختلاف معنی‌داری ندارند (p>۰/۰۵).

Figure 2: Mean (± SE) of density (A) and specific growth rate (B) of *Tetraselmis tetrathele* in different treatments. Means with at least one similar letter were not statistically significant at the 5% level (p>0.05).



شکل ۳: میانگین (± خطای استاندارد) میزان زی‌توده روزانه (الف) و میزان زی‌توده خشک (ب) جلبک *Tetraselmis tetrathele* در تیمارهای مختلف. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد باهم اختلاف معنی‌داری ندارند (p>۰/۰۵).

Figure 3: Mean (± SE) of biomass daily (A) and amount of dry biomass (B) of *Tetraselmis tetrathele* in different treatments. Means with at least one similar letter were not statistically significant at the 5% level (p>0.05).



شکل ۴: میانگین (± خطای استاندارد) کلروفیل *a* (الف)، کلروفیل *b* (ب) و میزان کل کاروتنوئیدها (ج) در پایان دوره پرورش جلبک *Tetraselmis tetrathele* در تیمارهای مختلف. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه ازنظر آماری در سطح ۵ درصد باهم اختلاف معنی‌داری ندارند ($p>۰/۰۵$).

Figure 4: Mean (± SE) of chlorophyll *a* (A), chlorophyll *b* (B) and amount of total carotenoids (C) of *Tetraselmis tetrathele* in different treatments. Means with at least one similar letter were not statistically significant at the 5% level ($p>0.05$).

بر اساس نتایج به‌دست آمده در انتهای آزمایش، بیشترین میزان کلروفیل *a* و کلروفیل *b* در رژیم نوری ۳L:۳D با شوری ۲۵ گرم بر لیتر (به‌ترتیب برابر ۲۲/۳ میلی‌گرم در لیتر و ۳۵/۴ میلی‌گرم در لیتر) و کمترین میزان آنها در رژیم نوری ۴L:۴D با شوری ۴۰ گرم بر لیتر (به‌ترتیب برابر ۱۷/۲ میلی‌گرم در لیتر و ۱۸/۶ میلی‌گرم در لیتر) حاصل شد. بیشترین میزان کل کاروتنوئیدها در رژیم نوری ۴L:۴D با شوری ۴۰ گرم بر لیتر (۴/۶ میلی‌گرم در لیتر) کمترین میزان آن در تیمار نوری ۳L:۳D و شوری ۲۵ گرم بر لیتر (۰/۰۸ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد. در مطالعه حاضر، ریزجلبک *T. tetrathele* افزایش معنی‌داری را در میزان کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کل کاروتنوئیدها در تیمارهای ساعات روشنایی کمتر و شوری‌های کمتر نشان داد.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که رژیم‌های نوری و شوری اثر معنی‌داری بر رشد و میزان رنگدانه‌های جلبک *T. tetrathele* دارد. بیشترین میزان تراکم سلولی جلبکی و میزان رشد ویژه در رژیم نوری ۳L:۳D و شوری ۳۵ گرم در لیتر به‌دست آمد، اما بیشترین میزان زیست‌توده روزانه و زیست‌توده خشک جلبک در رژیم نوری ۴L:۴D و شوری ۴۰ گرم در لیتر حاصل گردید. Hotos و Avramidou (۲۰۲۱) در مطالعه‌ای بر چند گونه جلبک بیان کردند که جلبک *Tetraselmis* بهترین رشد را در شوری ۲۰ و ۴۰ گرم در هزار دارد و در شوری‌های بالاتر، میزان رشد جلبک کاهش می‌یابد. Nezafatian و همکاران (۲۰۲۳) از تنش‌های شوری و شدت نور در طول فاز ساکن برای افزایش محتویات رنگدانه جلبک *T. tetrathele* استفاده کردند. بیشترین مقدار رنگدانه در کشت‌های تحت تنش شوری ۴۰ گرم در هزار که با استفاده از نور فلورسنت روشن شده بودند، به‌دست آمد. Ghezelbash و همکاران (۲۰۰۸) با هدف بررسی رشد و محتوای لیپید و کربوهیدرات *Tetraselmis* sp. در شوری‌های مختلف نشان دادند که تراکم سلولی، محتوای لیپید و کربوهیدرات در شوری ۳۰ گرم در هزار به طور قابل‌توجهی بالاتر بود. Sanchez-Saavedra و Voltolina (۲۰۲۲) بیان کردند که تغییر در کمیت، کیفیت و شدت نور موجب تغییر در ترکیب اصلی رنگدانه‌ها، زنجیره انتقال الکترون، فعالیت آنزیم‌ها، روند تنفس و فتوسنتز می‌شود و رشد جلبک‌ها را تغییر می‌دهد. در مطالعه Wahidin و همکاران (۲۰۱۳) بر ریزجلبک دریایی *Nannochloropsis* sp.، به این نتیجه رسیدند که رشد سلول تحت شرایط بهینه نور (۱۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه در دوره نوری ۱۸ ساعت روشنایی و ۶ ساعت تاریکی)، منجر به تجمع کربوهیدرات به عنوان ماده ذخیره‌ای برای سوخت‌وساز و رشد می‌شود و درنهایت باعث تولید میزان بالای زیست‌توده می‌گردد و علت کاهش تراکم سلولی و میزان رشد ویژه در شدت نور بیشتر از حد اشباعیت (۲۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه) مربوط به به پدیده ممانعت نوری است. Tzovenis و همکاران (۱۹۹۷) بیان کردند، زمان روشنایی طولانی‌تر تا هنگامی که مولکول کلروفیل آسیب ندیده باشد، باعث افزایش تقسیم سلول‌ها در فتواتوتروف‌ها می‌شود. Mohammadi و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که افزایش یا کاهش درجه شوری در محیط پیرامون ریزجلبک *Tetraselmis* علاوه بر تغییر در میزان تراکم موجب تغییر در ترکیبات بیوشیمیایی آن نیز می‌شود. Ojha (۲۰۰۶) گزارش نمود که رشد خوب جلبک *Tetraselmis* در آبهای لب‌شور و دریایی با شوری ۳۶-۱۵ گرم بر لیتر انجام می‌گیرد. مطالعه Sigaud و Aidar (۱۹۹۳)، نشان می‌دهد که گونه *Tetraselmis gracilis* دامنه وسیع به تحمل شوری دارد و حداکثر تعداد سلول آن در دامنه شوری ۴۰-۲۵ گرم بر لیتر شمارش شده است. Strizh و همکاران (۲۰۰۴) به این نتیجه رسیدند، زمانی که ریزجلبک *Tetraselmis viridis* در محیط‌های با شوری بیشتر قرار می‌گیرد، قادر به سنتز پروتئین‌هایی با وزن مولکولی نزدیک به ۱۰۰ کیلودالتون بوده که قادر است با کمک پمپ Na^+-ATPase در فرآیند انتقال Na^+ دخالت کند و این امکان را به ریزجلبک می‌دهد که دامنه شوری بالایی را تحمل نماید. لذا، بیشتر بودن میزان کلروفیل و تراکم سلولی جلبک *Tetraselmis tetrathele* در شوری‌های بالا (شکل ۳) احتمالاً ناشی از این پدیده بوده است.

در تحقیق حاضر، بیشترین میزان زیست‌تودهٔ روزانه و زیست‌تودهٔ خشک مربوط به رژیم نوری ۴L:۴D و شوری ۴۰ گرم بر لیتر بود که احتمال می‌رود این مسئله به دلیل سازش جمعیت جلبک *T. tetrathele* با شرایط محیطی و نوری، دریافت بیشتر انرژی نوری، تولید ATP و NADPH بیشتر، تجمع نشاسته و متناسب بودن انرژی لازم برای انجام واکنش‌های فتوسنتزی، باشد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اگرچه کشت ریزجلبک *T. tetrathele* در شوری ۴۰-۳۰ گرم در لیتر میسر است، اما در شوری ۳۵-۳۰ گرم بر لیتر بهتر انجام می‌شود به‌طوری‌که در شوری‌های بالا (۳۰ و ۳۵ گرم بر لیتر) در تمام دوره‌های نوری، جمعیت *T. tetrathele* از رشد و تولید بهتری برخوردار بوده است. در مقابل کمترین میانگین تراکم در شوری ۲۵ گرم در لیتر و رژیم نوری ۳L:۳D و کمترین میزان رشد ویژه در شوری ۴۰ گرم در لیتر و رژیم نوری ۱۲L:۱۲D بود. بدین‌ترتیب، اختلاف معنی‌داری بین تیمار نوری ۱۲L:۱۲D و ۳L:۳D وجود داشت. در پی افزایش درجه شوری علاوه بر کاهش تقسیمات دوتایی در ریزجلبک *T. tetrathele*، میزان مصرف انرژی در سلول‌های این جلبک به منظور برقراری تعادل اسمزی با محیط اطراف افزایش و رشد جلبک محدود خواهد شد (Norma *et al*., 2012).

بررسی شرایط توأم وجود نور و تاریکی همراه با تنش شوری به‌خوبی تائید می‌کند که بر پایه مطالعات انجام‌شده محققان، تابش نور و به دنبال آن فعالیت سیستم فتوسنتزی، تولید انرژی و اسمولیت گلیسرول و سایر فرآیندهای وابسته، توانایی این جلبک را در جهت سازگاری با شرایط جدید و بازگشت بـه حالت طبیعی قبل از تنش افزایش می‌دهد (Ghasemi Kalachai and Shariati, 2012). همچنین جلبک *Tetraselmis* سازگار به مناطق جزر و مدی با استرس‌های نوری کوتاه‌مدت و شوری‌های متغیر آب است. بنابراین، در مطالعه حاضر، رشد و تولیدمثل جلبک موردنظر در رژیم نوری ۳L:۳D و محدوده شوری ۳۵-۳۰ گرم بر لیتر بهتر صورت گرفته است.

نتایج تجزیه‌وتحلیل رنگدانه‌ها نیز در این مطالعه نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل *a* و کلروفیل *b* (به‌ترتیب برابر ۲۲/۳ و ۳۵/۴ میلی‌گرم در لیتر) در رژیم نوری ۳L:۳D با شوری ۲۵ گرم بر لیتر و بیشترین میزان کل کاروتنوئیدها (۴/۶ میلی‌گرم در لیتر) در رژیم نوری ۴L:۴D با شوری ۴۰ گرم بر لیتر به‌دست آمد. با توجه به این‌که ترکیب بیوشیمیایی بسیاری از جلبک‌ها می‌تواند متأثر از عوامل غیرزنده باشد، لذا، با توجه به مطالعه حاضر می‌توان استنباط نمود که تغییرات در رژیم نوری و شوری می‌تواند با ایجاد استرس در محیط پرورش، میزان رنگدانه‌های سلول را به‌شدت تحت تأثیر قرار دهد به‌طوری‌که کاهش ساعات روشنایی و کاهش شوری باعث افزایش در میزان کلروفیل *a* و کلروفیل *b* شده و کاهش ساعات روشنایی و افزایش شوری نیز سبب افزایش میزان کاروتنوئیدها می‌گردد. Ras و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که محتوای کلروفیل *a* ریز جلبک‌ها به عنوان یک مکانیسم سازگاری، برای تطبیق انرژی ذخیره‌ای فاز نوری با انرژی لازم برای فاز تاریکی در شرایط نوری و دمایی و شوری تغییر می‌کند. Schulze و همکاران (۲۰۱۴) عنوان نمودند که نور کم سبب تولید واحدهای فتوسنتزی بزرگ‌تر برای کمک به استفاده و جذب نور شده و در نور زیاد برای جلوگیری از آسیب نوری، واحدهای فتوسنتزی کوچک‌تر تولید می‌شود. Tanaka و Tanaka (۲۰۰۰) به این نتیجه رسیدند که کلروفیل *b* با تعدیل جذب نور در شرایط تنش، سلول را از آسیب محافظت می‌نماید. Moradi و Ismail (۲۰۰۷) گزارش نمودند که کاهش محتوای کلروفیل در شوری‌های بالا به علت کاهش نرخ فتوسنتز است. کشت‌های ریزجلبکی با غلظت‌های بالای شوری، محتوای کلروفیلی پایینی دارند. Rai و Abraham (۱۹۹۳) گزارش کردند که کلروفیل اولین هدف در سمیت شوری است که منجر به کاهش فتوسنتز و رشد می‌گردد. موارد مذکور مؤید کاهش میزان کلروفیل *a* و *b* با افزایش بیش از حد شوری در ریز جلبک *T. tetrathele* است.

در مطالعه حاضر، با افزایش شوری مقدار کاروتنوئیدها به صورت معنی‌داری افزایش یافته است. Farrahi-Ashtiani و همکاران (۲۰۰۲) دریافتند که افزایش شوری تا ۲۰ گرم بر لیتر باعث افزایش وزن خشک جلبک *Haematococcus pluvilis* و بیوسنتز آستاگزانتین در سلول‌ها می‌شود که

افزایش وزن خشک ناشی از تیمار شوری به دلیل تشکیل دیواره‌ی ضخیم بیوپلیمری است که از مشتقات کاروتنوئید است و افزایش آستاگزانتین در این جلبک باعث افزایش زنده مانی سلول‌ها در برابر استرس‌های محیطی می‌شود. Fazeli و همکاران (۲۰۰۵) گزارش نمودند که میزان کاروتنوئید کل در ریز جلبک *Dunaliella tertiolecta* که در معرض درجات شوری بالا قرار می‌گیرد، با افزایش همراه است.
به طورکلی، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مناسب‌ترین رشد و تولیدمثل جلبک *T. tetrathele* در رژیم نوری ۳L:۳D و محدوده شوری ۳۰-۳۵ گرم بر لیتر به‌دست می‌آید.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه صنعتی اصفهان برای فراهم نمودن شرایط و امکانات لازم برای انجام این تحقیق و از آقایان دکتر سعید اسدالهی و دکتر ابراهیم متقی تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Abou-El-Souod, G.W., Hassan, L.H. and Morsy, E.M., 2016. Comparison of different media formulations and the optimal growing conditions on growth, morphology and chlorophyll content of green alga, *Chlorella vulgaris*. *Journal of American Science*, 12(6):86-95.

Aizdaicher, N.A. and Markina, Z.V., 2011. Influence of changes in sea water salinity on the growth, photosynthetic pigment content, and cell size of the benthic alga *Attheya ussurensis Stonik*, Orlova et Crawford, 2006 (Bacillariophyta). *Russian Journal of Marine Biology*, 37:472-477.

Amini Khoeyi, Z., Seyfabadi, J. and Ramezanpour, Z., 2012. Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*. *Aquaculture International*, 20:41-49. DOI:10.1007/s10499-011-9440-1.

Barsanti, L. and Gualtieri, P., 2006. Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor and Francis. Group, Boca Raton, FL. 301 P.

Bellinger, E.G. and Sigee, D.C., 2015. A key to the more frequently occurring freshwater algae. Freshwater Algae. 2nd edition. John Wiley & Sons, Ltd., . 244 P. DOI:10.1002/9780470689554.ch4.

Blair, M.F., Kokabian, B. and Gude, V.G., 2014. Light and growth medium effect on *Chlorella vulgaris* biomass production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(1): 665-674.

Boulus, A., Spaneir, E. and Friedlander, M. 2007. Effect of outdoor conditions on growth rate and chemical composition of *Gelidium crinale* in culture. *Journal of Applied Phycology*, 19:471-478. DOI:10.1007/s10811-007-9158-7.

Brown, M.R., 1991. The amino-acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 145:79-99. DOI:10.1016/0022-0981(91)90007-J.

Chauton, M.S., Reitan, K.I., Norsker, N.H., Tveteras, R. and Kleivdal, H.T., 2015. A techno-economic analysis of industrial production of marine microalgae as a source of EPA and DHA-rich raw material for aquafeed: Research challenges and possibilities. *Aquaculture*, 436:95-103. DOI:10.1016/j.aquaculture.2014.10.038.

Dere, S., guneş, T. and Sivaci, R., 1998. Spectrophotometric Determination of Chlorophyll-A, B and Total Carotenoid Contents of Some Algae Species Using Different Solvents. *Turkish Journal of Botany*, 22:13-17.

Farrahi-Ashtiani, S., Mahdiyeh, M. and Nahvi, I., 2002. The Effects of salinity, phosphate deprivation and eosin on growth and astaxanthin production in unicellular green alga, *Haematococcus Pluvialis*. *Journal of Crop Production and Processing*, 6(2):201-213 (In Persian).

Fazeli, M.R., Tofighi, H., Samadi, N. and Jamalifar, H., 2005. Effects of salinity on β-carotene production by Dunaliella tertiolecta DCCBC26 isolated from the Urmia Salt Lake, north of Iran. *Bioresource Technology*, 97:2453–2456. DOI:10.1016/j.biortech.2005.10.037.

Gerasimenko, N.I., Skriptsova, A.V., Busarova, N.G. and Moiseenko, O.P., 2011. Effects of the season and growth stage on the contents of lipids and photosynthetic pigments in brown alga *Undaria pinnatifida*. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58:885-891.

Ghasemi Kalachai, M. and Shariati, M., 2012. Effect of salt stress on psii efficiency of *Dunaliella bardawil* under light and dark conditions. *Journal of Cell & Tissue*, 3(2):141-151 (In Persian).

Ghezelbash, F., Farboodnia, T., Heidari, R. and Agh, N., 2008. Effects of different salinities and luminace on growth rate of the green microalgae *Tetraselmis chuii*. *Research Journal of Biological Sciences*, 3:311-314. DOI:rjbsci.2008.311.314.

Gonzalo, M., Figueroa-Torres., Bermejo Padilla, E., Pittman, J.K. and Theodoropoulos, C., 2016. Microalgae strain catalogue. EnhanceMicroAlgae team at The University of Manchester, Manchester, UK. 86 P.

Heydarnejad, M.S., 2012. Survival and growth of common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to different water pH levels. *Turkish Journal Veterinary Animal Sciences*, 36: 245-249. DOI:10.3906/vet-1008-430.

Hotos, G.N. and Avramidou, D., 2021. The effect of various salinities and light intensities on the growth performance of five locally isolated microalgae [*Amphidinium carterae*, *Nephroselmis* sp., *Tetraselmis* sp. (var. red pappas), *Asteromonas gracilis* and *Dunaliella* sp.] in laboratory batch cultures. *Journal of Marine Science and Engineering*, 9(11):1275.

Huynh, M.L. and Serediak, N., 2011. Algae Identification Field Guide: An illustrative field guide on identifying common algae found in the Canadian praries. Agriculture and Agri-Food Canada, 40 P.

Jayanta, T., Chandra, K.M. and Chandra, G.B., 2012. Growth, total lipid content and fatty acid profile of a native strain of the freshwater oleaginous microalgae *Ankistrodesmus falcatus* (Ralf) grown under salt stress condition. *International Research Journal of Biological Sciences*, 1:27–35.

Juneja, A., Ceballos, R.S. and Murthy, G., 2013. Effect of environmental factors and

Minhas, A.K, Gaur, S. and Adholeya, A., 2023. Influence of light intensity and photoperiod on the pigment and, lipid production of *Dunaliella tertiolecta* and *Nannochloropsis oculata* under three different culture medium. *Heliyon*, 9(2):e12801, DOI:10.1016/j.heliyon.2023.e12801.

Mohammadi, M., Kazeroni, N., Javaheri Baboli, M., 2015. Fatty acid composition of the marine micro alga *Tetraselmis chuii* Butcher in response to culture conditions. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 6(2):49-55.

Moradi, M. and Ismail, A.M., 2007. Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS–Scavenging systems to salt stress during seedling and reproductive stages of rice. *Annals of Botany*, 99:1173-1161. DOI:10.1093/aob/mcm052.

Nezafatian, E., Farhadian, O., Yegdaneh, A., Safavi, M., Daneshvar, E. and Bhatnagar, A., 2023. Enhanced production of bioactive compounds from marine microalgae *Tetraselmis tetrathele* under salinity and light stresses: A two-stage cultivation strategy. *Bioresource Technology*, 376, 128899. DOI:10.1016/j.biortech.2023.128899.

Norma, G., Jose Antonio, L.E., Anselmo, M., Marcel, M.P., Nolberta, H. and Antonio, G., 2012. Effect of salinity on growth and chemical composition of the diatom *Thalassiosira weissflogii* at three culture phases. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 40: 435-440. DOI:10.3856/vol40-issue2-fulltext-18.

nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production. *Energies*, 6: 4607-4638. DOI:10.3390/en6094607.

Khuantrairong, T. and Traichaiyaporn, S., 2012. Enhancement of carotenoid and chlorophyll content of an edible freshwater alga (Kai: *Cladophora* sp.) by supplementary inorganic phosphate and investigation of its biomass production. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 6:1-11. DOI:10.14456/mijst.2012.1

Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture FAO Fisheries Technical Paper. No. 361. Rome, FAO. 295 P.

Lourenço, S.O., Lanfer Marquez, U.M., Mancini-Filho, J., Barbarino, E. and Aidar, E., 1997. Changes in biochemical profile of *Tetraselmis gracilis* I. Comparison of two culture media. *Aquaculture*, 148:153-168. DOI:10.1016/S0044-8486(96)01416-0.

Marques, R., Cruz, S., Calado, R., Lillebo, A., Abreu, H., Pereira, R., Pitarma, B., da Silva, J.M. and Cartaxana, P., 2021. Effects of photoperiod and light spectra on growth and pigment composition of the green macroalga *Codium tomentosum*. *Journal of Applied Phycology*, 33:471–480. DOI:10.1007/s10811-020-02289-9.

Martinez, M.E., Sanches, S., Jimenes, J.M., Yousfi, F.E. and Munoz, L., 2000. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalgae *Scenedesmus obliqus*. *Bioresource Technology*, 73(3):263-272. DOI:10.1016/s0960-8524(99)00121-2.

Ojha, J.S., 2006. Aquaculture nutrition and biochemistry. Agrotech Publishing Academy. 192 P. ISBN:8183210244, 9788183210249.

Omori, M. and Ikedo, T., 1984. Methods in marine zooplankton ecology. John Wiley and Sons Inc, New York. 332 P.

Parmar, A., Singh, N.K., Pandey, A., Gnansounou, E. and Madamwar, D., 2011. Cyanobacteria and microalgae: a positive prospect for biofuels. *Bioresource Technology*, 102:10163-10172. DOI:10.1016/j.biortech.2011.08.030.

Parsons, T.R., Maita, Y. and Lalli, C.M., 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, Oxford. 173 P. DOI:10.25607/OBP-1830.

Priyadarshani, I. and Rath, B., 2012. Commercial and industrial applications of micro algae-A review. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 3:89-100.

Rai, A.K. and Abraham, G., 1993. Salinity tolerance and growth analysis of the cyanobacterium *Anabaena doliolum*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 51:724-731. DOI:10.1007/BF00201651.

Ras, M., Steyer, J.P. and Bernard, O., 2013. Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production Reviews in Environmental Science and Biotechnology 12: 153-164. DOI: 10.1007/s11157-013-9310-6

Richmond, A., 2003. Biological principles of mass cultivation. In: Richmond A (ed) Handbook of microalgal mass culture. Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell, Oxford. 566p. DOI: 10.1201/9780203712405.

Ryckebosch, E., Muylaert, K. and Foubert, I.J., 2012. Optimization of an analytical procedure for extraction of lipids from microalgae. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89: 189-198. DOI:10.1007/s11746-011-1903-z.

Samocha, T.M., Hamper, L., Emberson, C.R., Davis, A.D., McIntosh, D., Lawrence, A.L. and Van Wyk, P.M., 2002. Review of some recent developments in sustainable shrimp farming practices in Texas. *Arizona, and Florida*, 12:1-42. DOI:10.1300/J028v12n01_01.

Sanchez-Saavedra, M.P. and Voltolina, D., 2002. Effect of photon fluence rates of white and blue-green light on growth efficiency and pigment content of three diatom species in batch cultures. *Ciencias Marinas*, 28:273-279. DOI:10.7773/cm.v28i3.225

Schulze, P.S.C., Barreira, L.A., Pereira, H.G.C., Perales, J.A. and Varela, J.C.S., 2014. Influence of light emitting diodes on indigenous microalgae cultivation in municipal wastewater. *Energy*, 75:786–792.

Serdar, S., Lok, A., Acarli, S. and Kose, A., 2007. The effect of two different dulture media and five different salinities on growth of *Tetraselmis suecica*. Rapp Comm int Mer Médit 38: 394 – 395.

Sigaud, T.C.S. and Aidar, E., 1993. Salinity and temperature effects on the growth and chlorophyll-a content of some planktonic algae. *Brazilian Journal of Oceanography*,

Algae and Protozoa, Catalogue of Strains. Titus Wilson and Son, Kendal.

Trentin, R., Moschin, E., Custodio, L. and Moro, I., 2024. Temperature effects on growth, metabolome, lipidic profile and photosynthetic pigment content of Microglena antarctica (chlorophyceae): A comprehensive analysis. *Algal Research*, 79, 103461. DOI:10.1016/j.algal.2024.103461.

Tzovenis, I., Pauw, N.D. and Sorgeloos, P., 1997. Effect of different light regimes on the docosahexaeniic acid (DHA) content of *Isochrysis aff. galbana* (clone T-ISO). *Aquaculture International*, 5:489-507. DOI:10.1023/A:1018349131522.

Wahidin, S., Muhamad Shaleh, S.R. and Idris, A., 2013. The influence of light intensity and photoperiod on the growth and lipid content of microalgae *Nannochloropsis* sp. *Bioresource Technology*, 129:7-11. DOI:10.1016/j.biortech.2012.11.032.

41:95-103. DOI:10.1590/S0373-55241993000100008.

Singh, S.P. and Singh, P., 2015. Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 50:431-444. DOI:10.1016/j.rser.2015.05.024.

Strizh, I.G., Popova, L.G. and Balnokin, Y.V., 2004. Physiological aspects of adaption of the marine microalga *Tetraselmis* (Platymonas) *viridis* to various medium salinity. *Russian Journal of Plant Physiology*, 51:176-182. DOI:10.1023/B:RUPP.0000019210.59579.6b

Tanaka, R. and Tanaka, A., 2000. Chlorophyll *b* is not just an accessory pigment but a regulator of the photosynthetic antenna. *Porphyrins*, 9:240-245.

Tompkins, J., DeVille, M., Day, J. and Turner, M., 1995. Culture Collection of

Combined effects of salinity and photoperiod on the density, biomass, and pigments of marine microalgae *Tetraselmis tetrathele*

Farhadian O.[1*]; Hematian M.[1]; Heidari S.[1]

*omfarhad@iut.ac.ir

1-Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Abstract

In the world of aquaculture, microalgae are mainly used as a source of extracting pigments or producing live food for aquatic animals. This research aimed to investigate the combined effects of photoperiods and salinity on the growth, reproduction, and pigments of marine microalgae *Tetraselmis tetrathele*. The experiment was carried out as a completely randomized design at three photoperiods (3L light: 3D dark, 4L:4D, and 12L:12D) and five different salinities (20, 25, 30, 35, and 40 g/L) with three replicates in each treatment for 23 days. Results showed that the increase in photoperiod and salinity significantly ($p<0.05$) increased density, specific growth rate, and biomass. The highest cell density and specific growth rate were 11.2×10^7 cells/mL and 0.206 per day, respectively, in the 3L:3D light regime and 35 g/L salinity. The maximum dry biomass and total carotenoids were 1.4 and 4.6 mg/L at 4L:4D and 40 g/L, respectively. Maximum chlorophyll *a* and *b* were 22.3 and 35.4mg/L at 3L:3D and 25 g/L salinity, respectively. In conclusion, this study indicated that 3L:3D and 4L:4D photoperiod combined with a high salinity could be improved growth and biomass as well as relative increase in the pigment contents.

Keywords: Chlorophyll *a*, Chlorophyll *b*, Carotenoid, Specific growth rate, Dry biomass, Daily biomass

*Corresponding author