



دانشگاه گیلان، گروه شیلات و پرورش آبزیان

بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد دوم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۲
<http://japu.gau.ac.ir>

تأثیر شدت و دوره نوری بر نرخ رشد و سنتز چربی در جلبک سبز *Dunaliella salina*

* معصومه پورافراسیابی^۱، جاوید ایمانپور نمین^۲، زهره رمضانپور^۳
و مرجان صادقی‌راد^۴

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیلات دانشگاه گیلان، ^۲ استادیار گروه شیلات دانشگاه گیلان، ^۳ استادیار، انستیتو بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت- سنگر، ^۴ مربی پژوهشی، انستیتو بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت- سنگر
تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۶/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۱۸

چکیده

در این مقاله، تأثیر شدت نور ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه، در دوره‌های تاریکی: روشنایی ۸:۱۶، ۱۲:۱۲ و ۱۶:۸ ساعت بر نرخ رشد و میزان تولید چربی کل در جلبک سبز *Dunaliella salina* بررسی شد. پس از کشت و اعمال تیمارهای نوری، شمارش سلولی به صورت روزانه با استفاده از لام توما انجام شد و نرخ رشد ویژه محاسبه گردید. میزان تولید چربی پس از کشت انبوه جلبک در تیمارهای نوری مختلف اندازه‌گیری شد. نرخ رشد ویژه و میزان تولید چربی کل اختلاف معنی‌داری در تیمارهای مختلف داشتند ($P < 0.05$). حداکثر نرخ رشد ویژه در بین تیمارها در دوره نوری ۱۲:۱۲ و شدت نور ۱۵۰ به میزان 1.4 d^{-1} بود. حداقل نرخ رشد ویژه در دوره نوری ۸:۱۶ و شدت نور ۱۵۰ به مقدار 0.8 d^{-1} ثبت شد. بیشترین تولید چربی کل، در شدت نور ۱۰۰ و دوره تاریکی: روشنایی ۱۶:۸ (۱۴/۴ درصد) و حداقل آن در شدت نور ۱۵۰ و دوره نوری ۱۲:۱۲ (۲/۲ درصد) مشاهده شد. نتایج به دست آمده نشان داد که عوامل محیطی مانند شدت نور و دوره نوری بر میزان رشد و تولید چربی در جلبک سبز *D. salina* مؤثر هستند. تحت شرایط استرس میزان چربی افزایش یافت. افزایش نرخ رشد ویژه لزوماً به معنای افزایش میزان ترکیبات بیوشیمیایی جلبک نبود.

واژه‌های کلیدی: دوره نوری، شدت نور، *Dunaliella salina*، چربی، نرخ رشد

* مسئول مکاتبه: masomeh_a52@yahoo.com

مقدمه

جلبک‌ها گروهی از ارگانیزم‌های فتوسنتزکننده هستند که به دو دسته جلبک‌های میکروسکوپی و ماکروسکوپی تقسیم می‌شوند. جلبک‌های میکروسکوپی عموماً تک سلولی هستند و ابتدایی‌ترین منبع انرژی به‌شمار می‌روند. این گروه از ارگانیزم‌ها به‌عنوان منابع تولید ترکیبات بیوشیمیایی با ارزش مانند رنگدانه، پروتئین و لیپیدها محسوب می‌شوند (والکر و همکاران، ۲۰۰۵).

جلبک‌های میکروسکوپی به‌عنوان منبع پاک و تجدیدپذیر در صنعت بیوتکنولوژی مورد استفاده قرار می‌گیرند. ترکیبات روغنی حاصل از آن‌ها در صنایع مختلف غذایی، پزشکی، داروسازی و صنعت تولید بیودیزل یا سوخت زیستی کاربرد دارد (دانستان و همکاران، ۱۹۹۳؛ سوکنیک و همکاران، ۱۹۹۳؛ والکر و همکاران، ۲۰۰۵).

امروزه، علم بیوتکنولوژی به‌دنبال یافتن محرک‌هایی مؤثر جهت افزایش نرخ رشد و محتوای ترکیبات مختلف بیوشیمیایی مانند لیپیدها و رنگدانه‌ها در جلبک‌ها است. جلبک‌های میکروسکوپی به‌دلیل این‌که فتوسنتز کننده می‌باشند به منبع نور، دی‌اکسید کربن، آب و نمک‌های معدنی جهت رشد نیازمند هستند (بالت، ۲۰۱۰). به‌منظور افزایش بازدهی و تحریک افزایش تولید چربی (لیپید) در این ارگانیزم‌ها، امروزه از علوم مهندسی ژنتیک و متابولیک بهره گرفته می‌شود. در مهندسی متابولیک از طریق تغییر شرایط فیزیکی (مانند دوره نور، شدت نور) و شیمیایی (مانند نیتروژن، شوری، فسفات) محیط کشت در قالب طرح آزمایشگاهی، بهترین شرایط موردنیاز کشت هر گونه از جلبک به‌صورت معرفی می‌شود (لیسکا و همکاران، ۲۰۰۴؛ مسک و همکاران، ۲۰۰۵). بیشتر جلبک‌های میکروسکوپی، تحت شرایط استرس مقادیر بالایی از لیپید تولید می‌کنند. در صورتی‌که به‌مدت طولانی در معرض تابش نور قرار گیرند، انرژی نورانی طی عمل فتوسنتز به‌صورت ذخایر چربی، در آن‌ها تجمع می‌یابد (کلپاجکو-گورویچ و همکاران، ۱۹۹۹).

در انتخاب نژادهای جلبک، عوامل مختلف مورد توجه قرار می‌گیرد که برخی از مهمترین این ویژگی‌ها، نرخ رشد طبیعی جلبک، میزان تجمع زیتوده در واحد زمان و در واحد حجم، کمیت و کیفیت تولید چربی، مقاومت در برابر استرس‌های محیطی مانند درجه حرارت، ورودی نور و مواد مغذی، امکان رقابت با گونه‌های دیگر و باکتری‌ها، امکان استفاده از مواد مغذی گوناگون به‌ویژه CO_2 ، سفر و نیتروژن حاصل از زه آب کشاورزی، سهولت برداشت و فرآوری زیتوده، سهولت آنالیز، استخراج و خالص‌سازی چربی می‌باشند. به‌همین دلیل، جلبک‌های سبز به‌طور گسترده جهت کشت استفاده می‌شوند (ماتا، ۲۰۱۰).

جلبک میکروسکوپی *D. salina* در شاخه Chlorophyta، رده Chlorophyceae، راسته Dunaliellales، خانواده Dunaliellaceae و جنس *Dunaliella* قرار می‌گیرد. از ویژگی‌های این جلبک تک سلولی، شکل بیضوی و دو تاژک آن است. علازقم آن‌که فاقد دیواره ضخیم است اما، در برابر شوری و تغییر شرایط محیط مقاوم است (لیسکا و همکاران، ۲۰۰۴؛ جاهانکی و همکاران، ۲۰۰۸). بخش قابل توجه‌ای از تولیدات اولیه در اکوسیستم‌های آب شور توسط این گونه انجام می‌شود (اورن، ۲۰۰۵). ترکیبات بیوشیمیایی حاصل از این جلبک در صنایع مختلف استفاده می‌شوند.

مطالعات مختلفی در زمینه تأثیر کمیت و کیفیت نور بر نرخ رشد و ترکیبات بیوشیمیایی جلبک‌ها انجام شده است. از جمله آن‌ها می‌توان به مطالعه بوترفاس و همکاران (۲۰۰۶) در زمینه تأثیر شدت نور و میزان جذب فسفر و نیتروژن، پژوهش‌های آک و همکاران (۲۰۰۸)، بر روی جلبک *D. viridis* در دو شدت نور ۵۰ و $70 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ، بررسی میزان رشد جلبک *D. tertiolecta* با سه منبع نور (لامپ دوقطبی سفید، لامپ دوقطبی قرمز، لامپ فلوروسنت) با شدت $100 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ و دوره تاریکی: روشنایی، ۹:۱۵ ساعت و غلظت CO_2 ، ۴ درصد توسط تانگ و همکارانش (۲۰۱۰) اشاره کرد.

هدف از این پژوهش، مقایسه نرخ رشد و میزان تولید لیپید در جلبک سبز *D. salina* در شدت و دوره‌های نوری مختلف، جهت انتخاب شرایط بهینه کشت و نیز تحریک افزایش تولید لیپید در این جلبک بود.

مواد و روش‌ها

D. salina از دریاچه ارومیه تهیه شد و جهت کشت به آزمایشگاه اکولوژی انستیتو پژوهش‌های بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت منتقل گردید. قبل از هر مرحله از آزمایش از تجهیزات استریل‌سازی شامل آون و دستگاه اتوکلاو برای جلوگیری از بروز آلودگی استفاده شد. محیط کشت JM (Jaworski's Medium) تهیه شد. (CCAP، ۱۹۸۸) از هر یک از ۹ محلول استوک ۱ میلی‌لیتر به ۱ لیتر آب پایه با شوری ۱/۳ مولار NaCl اضافه شد. محیط کشت JM جهت کشت جلبک‌های آب شیرین پیشنهاد می‌شود. در این مطالعه برای جلبک نمک دوست دونالیلا، آب شور جایگزین آب مقطر شد. ۵ سی‌سی از محیط کشت به هر یک از لوله‌های آزمایش با سه تکرار ($n=18$) اضافه شد و ۱ سی‌سی از سلول‌های ذخیره مادر ($5.0 \times 10^4 \text{ cell.ml}^{-1}$) به آن تزریق گردید. لوله‌های آزمایش به اتاق

کشت منتقل شدند و در هر اتاقک با یک تیمار نوری خاص، با شدت‌های نوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه و دوره‌های تاریکی (D): روشنایی (L) ۸:۱۶، ۱۲:۱۲ و ۱۶:۸ ساعت، قرار گرفتند. درجه حرارت محیط کشت در محدوده 25 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد، بود. از لام توما جهت شمارش سلول‌ها استفاده شد. شمارش سلول‌ها، با نمونه‌برداری از ۳ تکرار هر تیمار، به‌صورت روزانه انجام گرفت و از سه سری داده شمارش شده میانگین گرفته شد. فاکتور نرخ رشد ویژه (μ) با فرمول $\mu = \ln x_n - \ln x_0 (t_n - t_0)^{-1}$ محاسبه شد (گیلارد، ۱۹۷۳) که در آن X_0 : میانگین تعداد سلول‌ها در زمان t_0 ، میانگین تعداد سلول‌ها در زمان t_n و μ : نرخ رشد ویژه (d^{-1}) است. منحنی رشد با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شد. از آنالیز واریانس دو طرفه یا Two-way ANOVA و تست توکی جهت تخمین معنی‌دار بودن اختلاف بین تیمارها استفاده شد. میزان چربی کل با استفاده از روش شن و همکاران محاسبه شد (شن و همکاران، ۲۰۰۹).

نتایج

با شمارش سلول‌های جلبک دونالیلا، منحنی رشد در شدت نور ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه و دوره‌های تاریکی: روشنایی ۸:۱۶، ۱۲:۱۲ و ۱۶:۸ ساعت، ترسیم شد (شکل ۱). در دوره تاریکی: روشنایی ۱۲:۱۲ ساعت، طولانی‌ترین دوره رشد مربوط به شدت نور $100 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ بود که حداکثر تعداد سلول‌ها در روز دهم به $(2/7 \times 10^6 \text{ cell.ml}^{-1})$ رسید در حالی‌که در شدت نور ۱۵۰ حداکثر تعداد سلول‌ها در روز هشتم به $(3/3 \times 10^6 \text{ cell.ml}^{-1})$ رسید.

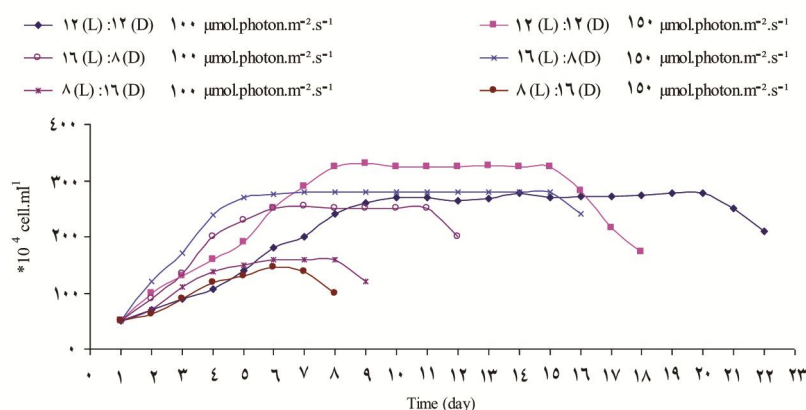
در دوره تاریکی: روشنایی ۱۶:۸ ساعت، برخلاف دوره نوری ۱۲:۱۲ با افزایش شدت نور دوره رشد افزایش یافت. طولانی‌ترین دوره رشد مربوط به شدت نور $150 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ بود. در این شدت نور، حداکثر تعداد سلول‌ها در روز ششم به $2/8 \times 10^6 \text{ cell.ml}^{-1}$ رسید. در شدت نور ۱۰۰، حداکثر تعداد سلول‌ها در روز هفتم $2/5 \times 10^6 \text{ cell.ml}^{-1}$ بود.

دوره تاریکی: روشنایی ۸:۱۶ در هر دو شدت نور، کوتاه‌ترین دوره رشد در بین تیمارها بود. در این دوره برخلاف سایر دوره‌های نوری مورد مطالعه، با افزایش شدت نور علاوه بر کاهش دوره رشد، تعداد سلول‌ها کاهش یافت. به‌طوری‌که کوتاه‌ترین دوره رشد در بین تیمارها مربوط به شدت نور $150 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ بود. در این تیمار، حداکثر تعداد سلول‌ها در روز ششم به

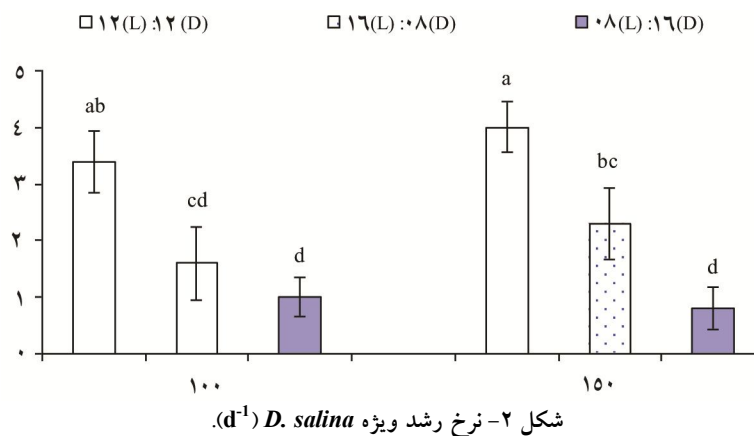
$10^6 \text{ cell.ml}^{-1}$ رسید که پس از طی فاز کوتاه مدت رشد در روز هشتم وارد فاز مرگ شدند. در شدت نور $100 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ حداکثر تعداد سلول‌ها در روز ششم $10^6 \text{ cell.ml}^{-1}$ بود و سلول‌ها پس از طی یک فاز کوتاه مدت در روز نهم وارد فاز مرگ شدند (شکل ۱).

نرخ رشد ویژه اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها داشت ($F=16.817, d_f=5,143, P<0.05$) حداکثر نرخ رشد ویژه در بین تیمارها در دوره نوری ۱۲:۱۲ و شدت نور $150 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ به‌میزان 0.4 d^{-1} بوده است. حداقل آن در دوره تاریکی: روشنایی ۸:۱۶ و شدت نور $150 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ 0.8 d^{-1} مشاهده شد. در هر دو شدت نور نرخ رشد در دوره نوری ۱۲:۱۲ ساعت، بیشتر از دوره‌های نوری ۱۶:۸ و ۸:۱۶ بود. نرخ رشد ویژه در دوره تاریکی: روشنایی ۸:۱۶ در شدت نور $100 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (1 d^{-1}) بیشتر از $150 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (0.8 d^{-1}) بوده است (شکل ۲).

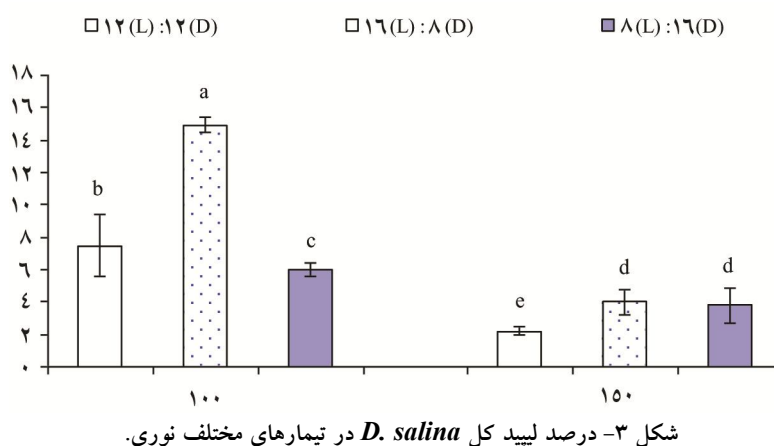
میزان تولید چربی کل در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ($F=882.346, d_f=5,17, P<0.05$) در دوره‌های تاریکی: روشنایی ۱۲:۱۲ و ۱۶:۸ ساعت، با افزایش شدت نور میزان چربی کاهش یافت. در حالی که در دوره تاریکی: روشنایی ۸:۱۶، این میزان افزایش یافت. حداکثر تولید چربی کل در شدت نور $100 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ و دوره ۱۶:۸ (۱۴/۴ درصد) و حداقل آن شدت نور $150 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ و دوره ۱۲:۱۲ (۲/۲ درصد) مشاهده شد. میزان تولید چربی در شدت نور $150 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ در هر سه دوره نوری نسبت به $100 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ کمتر بوده است (شکل ۳).



شکل ۱- منحنی رشد *D. salina* طی دوره پرورش.



شکل ۲- نرخ رشد ویژه *D. salina* (d⁻¹).



شکل ۳- درصد لیپید کل *D. salina* در تیمارهای مختلف نوری.

بحث

رشد جلبک‌ها تحت تأثیر عوامل فیزیکی و شیمیایی محیط مانند شدت و دوره نور است. بنابراین جهت کشت بهینه جلبک‌ها، تنظیم فاکتورهای محیطی ضروری است. کمیت و کیفیت نور بر روند رشد و متابولیسم جلبک‌ها تأثیر دارد. تغییر در کمیت نور به واسطه تغییر در ترکیب رنگدانه‌های سلولی می‌تواند در روند رشد مؤثر باشد (سانچز- ساویدرا و همکاران، ۲۰۰۲). نور به‌عنوان یک عامل محدود کننده رشد باید به‌طور مناسب تنظیم شود. برای رشد گونه‌های مختلف دامنه نوری خاصی مورد نیاز است. هرگاه میزان نور دریافتی توسط جلبک کمتر از دامنه تحمل آن باشد، جلبک قادر به

کسب انرژی لازم و عمل فتوسنتز نخواهد بود و در شدت نور بالاتر از این آستانه ترکیبات سلولی به‌ویژه رنگدانه‌های جمع‌کننده نور دچار آسیب و فتوسنتز متوقف می‌شود (ریوکین، ۱۹۸۹؛ ریچموند، ۲۰۰۴).

نتایج حاصل از منحنی رشد *D. salina* در دو شدت نور ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه و دوره‌های تاریکی: روشنایی ۸:۱۶ و ۱۲:۱۲ و ۱۶:۸ ساعت، نشان داد که در دوره‌های تاریکی: روشنایی ۱۲:۱۲ و ۱۶:۸ ساعت، با افزایش شدت نور، میانگین تعداد سلول‌ها و آهنگ رشد افزایش می‌یابد. به‌طوری‌که در شدت نور $100 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ، زمان رسیدن به فاز سکون کوتاه‌تر از شدت نور $100 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ بوده است. با کاهش شدت نور در $100 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ، سلول‌ها دیرتر وارد فاز سکون شدند و آهنگ رشد نیز کندتر از شدت $100 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ بود. در دوره تاریکی: روشنایی ۸:۱۶ ساعت، با افزایش شدت نور، میانگین تعداد سلول‌ها کاهش یافت. در مطالعه آک و همکارانش (۲۰۰۸) در زمینه تأثیر شدت نور ۷۰ و ۵۰ ($\mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) در جلبک *D. viridis* در شوری و درجه حرارت‌های مختلف، حداکثر نرخ رشد و غلظت سلولی در شدت نور $50 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ به‌دست آمد و افزایش شدت نور باعث کاهش در تعداد سلول‌ها شد. مطالعه تانگ و همکارانش (۲۰۱۰) بر روی میزان رشد *D. tertiolecta* با سه منبع نور (لامپ دوقطبی سفید، لامپ دوقطبی قرمز، لامپ فلئورسنت) در شدت نور $100 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ، دوره تاریکی: روشنایی ۹:۱۵ ساعت، غلظت ۴ درصد CO_2 و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تفاوتی در میزان رشد مشاهده نشد اما با تعیین سه سطح از شدت روشنایی با منبع فلئورسنت (200 و $300 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)، بیشترین میزان رشد بین شدت نور ۱۰۰ و $200 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ثبت شد. نتایج نشان می‌دهد در شرایط و گونه‌های مختلف دامنه تحمل نسبت به شدت نور متفاوت است (ریوکین، ۱۹۸۹؛ ریچموند، ۲۰۰۴).

نرخ رشد مهم‌ترین راه برای بیان موفقیت اکولوژیک یا توانایی سازگاری یک گونه نسبت به تغییر شرایط محیط طبیعی یا آزمایشگاهی است (قزلباش و همکاران، ۲۰۰۸). بنابراین در این مطالعه به‌منظور تعیین بهترین شدت و دوره نوری، به مقایسه نرخ رشد ویژه سلول‌ها در تیمارهای مختلف پرداخته شد. در دوره تاریکی: روشنایی ۸:۱۶ کندترین رشد مربوط به شدت نور ۱۵۰ با آهنگ رشد $0.8 d^{-1}$ بود که کندترین نرخ رشد در بین تیمارها نیز به‌شمار می‌رود. در این دوره با کاهش شدت نور به $100 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ، نرخ رشد با آهنگ رشد $1/2 d^{-1}$ افزایش یافت. شاید علت کاهش رشد

در شدت نور بالا، وجود تنش نوری زیاد در این تیمار بوده است. به طوری که قرار گرفتن در شدت نور زیاد در دوره روشنایی نسبتاً کوتاه ۸ ساعته، سبب محدودیت رشد شده است. تغییر در شدت نور، بر سازمان‌دهی و وظایف سیستم فتوسنتز مؤثر است (اسکینز و همکاران، ۱۹۸۹؛ لیونگ و همکاران، ۱۹۸۵؛ فالدکوسکی و همکاران، ۱۹۹۱). پاسخ‌های فیزیولوژیک نسبت به شدت نور "سازگاری نوری" نامیده می‌شود. در طی این پدیده جلبک تغییراتی در فرآیندهای فیزیولوژی خود ایجاد می‌کند. از جمله می‌توان به تغییر در محتوای رنگدانه و مدت زمان انتقال الکترون از آب به CO₂ اشاره نمود. به این ترتیب به طور بهینه نور را از محیط دریافت می‌کند و ظرفیت سیستم فتوسنتز را تعدیل می‌کند. اما در برخی شرایط جلبک‌ها قادر به سازگاری با تغییر ناگهانی شدت نور نیستند. نتایج مطالعه بوترفاس و همکاران (۲۰۰۶) روی برخی جلبک‌های میکروسکوپی نشان داد که در شدت نور بالا یا پایین‌تر از شرایط مطلوب، رشد جلبک‌های تک سلولی محدود می‌شود و در شدت نور بالا ممانعت نوری یا رخ می‌دهد (بوردمن، ۱۹۷۷؛ فالدکوسکی، ۱۹۸۰؛ بوترفاس و همکاران، ۲۰۰۶).

در دوره‌های روشنایی بالاتر، ۱۲:۱۲ و ۱۶:۸ ساعت، با افزایش شدت نور از $100 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ به ۱۵۰، نرخ رشد ویژه افزایش یافت. در دوره نوری ۱۲:۱۲ با افزایش شدت نور دوره رشد کوتاه‌تر شد و سلول‌ها سریع‌تر وارد فاز مرگ شدند. در شدت نور $150 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ در هر دو دوره سلول‌ها، پیش از ورود به فاز مرگ به رنگ زرد- نارنجی تغییر رنگ یافتند. علت افزایش نرخ رشد در این شرایط می‌تواند به دلیل افزایش شدت نور باشد. مطالعات مختلف نشان می‌دهد با افزایش شدت نور جذب مواد مغذی از محیط کشت با سرعت بیشتری صورت می‌گیرد (قزلباش و همکاران، ۲۰۰۸). نتایج پژوهش باترفاس و همکارانش (۲۰۰۶) نشان داد در شدت‌های بالاتر نور بیوماس سلولی افزایش می‌یابد و جذب مواد مغذی مانند نیتروژن و فسفر از محیط در زمان کوتاه‌تری انجام می‌شود (بناموتز، ۱۹۹۵). هر چند با افزایش شدت نور، سرعت تقسیم سلول‌ها بیشتر می‌شود، اما با ادامه حضور سلول‌ها در شدت بالای نور محتوای کلروفیل کاهش می‌یابد (فالدکوسکی، ۱۹۸۰). نتایج مطالعات نشان می‌دهد (مسک و همکاران، ۲۰۰۵؛ لاتاسا، ۱۹۹۵) که با افزایش شدت و دوره نوری، میزان کلروفیل a (رنگدانه سبز رنگ) کاهش می‌یابد و سنتز بتاکاروتن (رنگدانه زرد- نارنجی) افزایش می‌یابد. علت این تغییرات را به میزان نور در دسترس سلول‌ها نسبت می‌دهند. به طوری که شدت نور بالا، سبب آسیب رساندن به تشکیلات سیستم فتوسنتز، از جمله کلروفیل a می‌شود. در نتیجه سلول‌ها سریع‌تر وارد فاز مرگ می‌گردند (مسک و همکاران، ۲۰۰۵).

مقایسه میزان تولید لیپید کل در جلبک *D. salina* در تیمارهای مختلف نشان می‌دهد که عوامل محیطی مانند شدت و دوره نوری، تأثیر ویژه‌ای بر تولید ترکیبات لیپیدی در این جلبک دارند. میزان تولید لیپید، در شدت نور $100 \mu \text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ، در هر سه دوره نوری، بیشتر از شدت نور $150 \mu \text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ بوده است. در شدت نور $100 \mu \text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ، با افزایش دوره روشنایی میزان تولید لیپید افزایش یافت. به طوری که در این شدت نور، میزان تولید لیپید در دوره تاریکی: روشنایی ۱۶:۸ ساعت (۱۴/۴ درصد) بیش از سایر تیمارها بوده است. فابریگاس و همکارانش (۲۰۰۲) با بررسی تغییر ترکیبات بیوشیمیایی در سیکل روشنایی و تاریکی پی بردند که محتوای چربی سلول‌ها در اواخر دوره تاریکی شروع به افزایش می‌کند و این روند افزایشی تا ۱۲ ساعت اولیه دوره روشنایی ادامه می‌یابد. ژو و لی (۱۹۹۷) با مطالعه زمان تولید چربی‌ها در چرخه روشنایی و تاریکی پی بردند که چربی‌ها به‌عنوان ذخایر سلولی در زمان روشنایی تولید می‌شوند و در دوره تاریکی و تنفس سلولی مصرف می‌شوند. بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که با طولانی‌تر شدن دوره تاریکی، میزان تولید لیپید کل کاهش می‌یابد.

میزان لیپید کل در شدت نور $150 \mu \text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ، نسبت به $100 \mu \text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ، کاهش یافت. در این شدت نور در دوره‌های تاریکی: روشنایی ۱۲:۱۲ و ۱۶:۸ ساعت، میانگین تعداد سلول‌ها در پایان فاز رشد و نیز نرخ رشد ویژه نسبت به شدت نور ۱۰۰ بیشتر بوده است. تحت این شرایط رنگ سلول‌ها پس از طی فاز رشد به رنگ زرد نارنجی تغییر یافت. مطالعات مختلف نشان می‌دهد قرار گرفتن سلول‌های جلبک در شدت نور بالا سبب کاهش رنگدانه سبز رنگ کلروفیل و افزایش رنگدانه محافظتی و زرد رنگ بتا کاروتن می‌گردد. زمانی که سلول در معرض فوتون‌های بیش از حد آستانه تحمل کلروفیل قرار می‌گیرد این رنگدانه‌ها دچار آسیب می‌شوند. در نتیجه فرآیند فتوسنتز که مسئول تولید فرم‌هایی از انرژی به‌صورت ATP و NADPH است مختل می‌شود. ATP و NADPH در چرخه کلون اسیدهای چرب را به‌وجود می‌آورند که در نهایت به‌صورت بدنه‌های روغنی در داخل سلول تجمع می‌یابند (رزنیگ و همکاران، ۲۰۰۸). بنابراین علت کاهش چربی در شدت نور بالا می‌تواند آسیب وارده به رنگدانه کلروفیل باشد. ضمن آن‌که نتایج مختلف نشان می‌دهد که میزان اسیدهای چرب غیراشباع در شدت بالای نور کاهش می‌یابد (اورکات و همکاران، ۱۹۷۴؛ رینود و همکاران، ۱۹۹۱).

میزان لیپید کل، در شدت نور $150 \mu\text{mol.photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ، تحت دوره تاریکی: روشنایی ۸:۱۶ ساعت (۴/۲ درصد)، بیش از دوره نوری ۱۲:۱۲ ساعت (۲/۲ درصد)، بود. سلول‌ها در این تیمار کمترین تعداد و کوتاه‌ترین دوره رشد را داشتند. قرارگرفتن جلبک در شدت نور بالا تحت دوره روشنایی نسبتاً کوتاه ۸ ساعته، می‌تواند سبب وارد شدن استرس به این جلبک شده باشد. بسیاری از جلبک‌های میکروسکوپی مقادیر بالایی از چربی را تحت شرایط استرس تولید می‌کنند (اسچنک و همکاران، ۲۰۰۸؛ بتاموتز، ۱۹۹۵؛ فالکووسکی، ۱۹۸۰). یکی از مکانیسم‌های دفاعی جلبک جهت غلبه بر نوسانات و استرس‌های محیطی تجمع اسیدهای چرب اشباع است. نتایج پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهد که کمیت و کیفیت اسیدهای چرب جلبک‌های تک‌سلولی در واکنش به تغییرات محیطی مانند دما، نور و شوری تغییر می‌کند. همچنین گونه‌های مختلف جلبک در شرایط مختلف واکنش‌های سازگاری مختلفی را نسبت به تنش‌های نوری از خود نشان می‌دهند (رینود و همکاران، ۱۹۹۹؛ رینود و همکاران، ۲۰۰۲) اسیدهای چرب در جلبک‌ها در عملکرد غشای سلولی، سوخت و ساز سلول و در فرآیندهای سازگاری جلبک در برابر تغییرات شرایط محیطی نقش بسیار مهمی دارند (ژوکوا و همکاران، ۲۰۰۶). در جلبک‌های مختلف تغییر عوامل محیطی به‌عنوان یک شوک سبب افزایش کارایی تولید لیپید می‌شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده در این مطالعه، تغییر شدت و دوره نوری به‌عنوان عوامل محیطی، می‌تواند سبب تغییر میزان ترکیبات روغنی در جلبک تک سلولی *D.salina* شوند. بنابراین تنظیم شرایط محیط کشت جلبک می‌تواند در تعیین شرایط کشت بهینه با هدف افزایش تولید ترکیبات بیوشیمیایی مختلف از جمله لیپیدها مؤثر باشند. تغییر عوامل محیطی به‌عنوان یک شوک یا استرس می‌تواند سبب افزایش محتوای ترکیبات روغنی جلبک شود که لازم است برای هر گونه از جلبک خاص از طریق مطالعه تعیین گردد. لازم است بیان شود که افزایش نرخ رشد ویژه لزوماً به معنای افزایش میزان ترکیبات بیوشیمیایی در یک جلبک نیست.

منابع

1. AK, I., Cirik, S., and Goksan, T. 2008. Effect of light intensity, salinity and temperature on growth in Camalti starin of *Dunaliella viridis* Teodoresco from Turkey, *J. Biological Sciences*. 8: 1356-1359.
2. Balat, H. 2010. Prospects of biofuels for a sustainable energy future: a critical assessment. *Energy Educ. Sci. Technol. Part A*. 24: 85. 111.
3. Benamotz, A. 1995. New mode of *Dunaliella* biotechnology-2-phase growth for beta-carotene production. *J. Applied phycology*. 7: 65-68.
4. Boardman, N.K. 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *J. Annu. Rev. Plant. Physiol*. 28: 355-377.
5. Bouterfas, R., Belkoura, M., and Dauta, A. 2006. The effects of irradiance and photoperiod on the growth rate of three freshwater green algae isolated from a eutrophic lake. *J. Limnetica*. 25: 3. 647-656.
6. Culture Collection of Algae and Protozoa (CCAP), 1988. Catalogue of strains. Pp: 24-35.
7. Dunstan, G.A., Volkman, J.K., Barrett, S.M. and Garland, C.D. 1993. Changes in the lipid composition and maximization of the polyunsaturated fatty acid content of three microalgae grown in mass culture, *J. Applied Phycology*. 5: 71-83.
8. Eskins, K., Westhoff, P., and Beremand, P.D. 1989. Light quality and irradiance level interaction in the control of expression of lightharvesting complex of photosystem II. *J. Plant Physiol*. 91: 163- 169.
9. F'abregas, J., Maseda, A., Dom'nguez, A., Ferreria, M., and Otero, A. 2002. Changes in the cell composition of the marine microalgae (*Nannochloropsis gaditana*) during a light:dark cycle. *J. Biotechnology Letters*, 24: 2491-2500.
10. Falkowski, P.G. 1980. Light-shade adaptation in marine phytoplankton. In PG Falkowski, ed, *Primary Productivity in the Sea*. Plenum Press, New York, 99-119.
11. Falkowski, P.G., and LaRoche, J. 1991. Acclimation to spectral irradiance in algae. *J. Phycol*. 26: 8-14.
12. Ghezelbash, F., Farboodnia, T., Heidari, R., and Agh, N. 2008. Effects of different salinities and luminance on growth rate of the green microalgae (*Tetraselmis chuii*) *Research J. Biological Sciences*. 3: 3. 311-314.
13. Guillard, R.L. 1973. Division rates. In: Stein (ed) *Handbook of phycological methods*. Cambridge University Press. Cambridge. 1: 289-312.
14. Jahanke, L.S., and White, A.L. 2003. Long-term hyposaline and hypersaline stresse produce distinct antioxidant responses in the marine alga *Dunaliella tertiolecta*. *J. plant physiology*. 160: 1193-1202.
15. Klyachko-Gurvich, G.L., Tsoglin, L.N., Doucha, J., Kopetskii, J., Shebalina, I.B., and Semenenko V.E. 1999. Desaturation of Fatty Acids as an Adaptive Response to shifts in light intensity. *J. Physiol. Plant*. 107: 240-249.
16. Leong, T.Y, Goodchild, D.J., and Anderson, J.M. 1985. Effects of light quality on the composition, function, and structure of photosynthetic thylakoid membranes of *Asplenium aiustralasicuim* Hook. *J. Plant Physiol*. 78: 561-567.

17. Latasa, M. 1995. Pigment composition of *Heterocapsa* sp. and *Thalassiosira weissflogii* growing in batch cultures under different irradiances, *J. Phytochemistry*. 66: 73-79.
18. Liska, A.J., Shevchenko, A., Pick, U., and Katz, A. 2004. Enhanced photosynthesis and redox energy production contribute to salinity tolerance in *Dunaliella* as revealed by homology-based proteomics. *J. Plant Physiol*. 136: 2806-2817.
19. Mata, T.M. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *J. Renew Sustainable Energy Rev*. 14: 217-232.
20. Meseck, S.L., Alix, J.H., Gary, H. and Wikfors, G.H. 2005. Photoperiod and light intensity effects on growth and utilization of nutrients by the aquaculture feed microalgga, *Tetraselmis chui* (PLY 429), *J. Aquaculture*, 246: 393-404.
21. Oren, A. 2005. A hundred years of *Dunaliella* research: 1905-2005. *J. Saline Syst*. 1: 2.
22. Orcutt, D.M., and Patterson, G.W. 1974. Effect of light intensity upon lipid composition of *Nitzschia closterium* (*Cylindrotheca fusiformis*), *Lipid*. 9: 1000-1003.
23. Phadwal, K., and Singh, P.K. 2003. Isolation and characterization of an indigenous isolate of *Dunaliella* sp. for β -carotene and glycerol production from a hyper saline lake in India. *J. Basic Microbiol*. 43: 423-429.
24. Renaud, S.M., Parry, D.L., Luong-Van, T., Kuo, C., Padovan, A. and Sammy, N. 1991. Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture. *J. Applied phycology*. 3: 43-53.
25. Renaud, S.M., Thinh, L., Lambrinidis, G., and Parry, D.L. 2002. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grow in batch cultures. *J. Aquaculture*. 211: 195-214.
26. Richmond, A. 2004. *Handbook of Microalgae culture, Biotechnology and Applied Phycology*, Blackwell Publishing Company. Pp: 566.
27. Rivkin, R.B. 1989. Influence of irradiance and spectral quality on the carbon metabolism of phytoplankton. I. Photosynthesis, chemical composition and growth. *J. Marine Ecology Progress Series*. 5: 291-304.
28. Rosenberg, J.N., Oyler G.A., Wilkinson, L., and Betenbaugh, M.J. 2008. A green light for engineered algae: redirecting metabolism to fuel a biotechnology revolution, *J. Current Opinion in Biotechnology*. 19: 430-436.
29. Sanchez-saavedra, M.P., and voltolin, D. 2002. Effect of photon fluence rates of white and blue-green light on efficiency and pigment content of three diatom species in batch culture, *J. Ciencias marinas*. 28: 3. 273-279.
30. Schenk, P.M., Thomas-Hall, S.R., Stephens, E. Marx, U.C., Mussgnug, J.H., Posten, C., Kruse, O., and Hankamer, B. 2008. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. *J. Bioenergy research*. 1: 24.
31. Shen, Y., Pei, Z., Yuan, W., and Mao, E. 2009. Effect of nitrogen and extraction

- method on algae lipid yield. J. Agric. and Biol. Eng, 2: 1. 51-57.
32. Sukenik, A., Zmora, O., and Carmeli, Y. 1993. Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition: II. *Nannochloropsis* sp. J. Aquaculture. 117: 313-326.
33. Tang, H., Abunasser, N., Garcia, M.E.D., Chen, M., Simon Ng K.Y., and Salley, S.O. 2010. Potential of microalgae oil from *Dunaliella tertiolecta* as a feedstock for biodiesel. J. Applied Energy. 98: 1-7.
34. Walker, T.L., Purton, S., Becker, D.K., and Collet, C. 2005. Microalgae as bioreactors. J. Plant Cell Reports. 24: 629-641.
35. Zhu C.J., and Lee, Y.K. 1997. Diurnal changes in gross chemical composition and fatty acid profiles of *Isochrysis galbana* TK 1 in outdoor closed tubular photobioreactors. J. marine biotechnology. 5: 153-157.
36. Zhukova, N.V., and Titlyanov, E.A. 2006. Effect of light intensity on fatty acid composition of dinoflagellates symbiotic with hermatypic corals, J. Botanica. 49:339-346.

