وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور – پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی

عنوان :

تهیه دستورالعمل کشت و پرورش میکروجلبک و کنسانتره کردن آن جهت استفاده در تغذیه ماهی فیتوفاگ پرورشی و ارائه آموزشهای لازم

مجری:
مریم فلاحی

شماره ثبت
٤٣٦٩٤

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی

عنوان پروژه : تهیه دستورالعمل کشت و پرورش میکروجلبک و کنسانتره کردن آن جهت استفاده درتغذیه ماهی فیتوفاگ پرورشی و ارائه آموزشهای لازم

شماره مصوب پروژه : ۸۸۰۹۱-۱۲-۷۳-۴

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : مریم فلاحی

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) : -

نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : مریم فلاحی

نام و نام خانوادگی همکار(ان) : عباسعلی مطلبی - حسین صابری – عظمت دادای قندی - منصور شریفیان – سید حجت خداپرست – محمد صلواتیان - فرشاد ماهی صفت - – شهرام بهمنش - علی دانش – علیرضا ولی پور- احمد قناعت پرست – کامبیز خدمتی – رودابه روفچائی- امید ایمنی - محمد حسین طلوعی – رحیم شعبانپور – سید ابراهیم صفوی

نام و نام خانوادگی مشاور(ان) : -

نام و نام خانوادگی ناظر(ان) : یزدان مرادی

محل اجرا : استان گیلان

تاریخ شروع : ۸۸/۱۱/۱

مدت اجرا : ۲ سال و ۳ ماه

ناشر : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار : سال۱۳۹۳

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است .

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

پروژه : تهیه دستورالعمل کشت و پرورش میکروجلبک و کنسانتره کردن آن جهت استفاده درتغذیه ماهی فیتوفاگ پرورشی و ارائه آموزشهای لازم

کد مصوب : ٤-٧٣-١٢-٨٨٠٩١

شماره ثبت (فروست) : ٤٣٦٩٤ تاریخ : ٩٢/٧/٢٩

با مسئولیت اجرایی سرکار خانم مریم فلاحی دارای مدرک تحصیلی دکتری در رشته بیولوژی دریا می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش زیست فنآوری و فرآوری آبزیـــان در تاریخ ٩٢/٤/١٢ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد □ پژوهشکده ■ مرکز □ ایستگاه □

با سمت رئیس پژوهشکده در پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی مشغول بوده است.

عنوان	« فهرست مندرجات »	صفحه

چکیده ۱
۱- مقدمه ۲
۱-۱- ویژگی ها و ارزش جلبکهای مورد نظر در مطالعه ۳
۱-۲- شرایط عمومی جهت کشت میکروجلبک ۸
۱-۳- دینامیک یا پویایی رشد میکروجلبکها ۱۱
۱-۴- تکنیک پرورش جلبک ۱۲
۱-۵- انواع اساسی کشت وپرورش فیتوپلانکتون ۱۳
۱-۶- تولید جلبکی در استخرهای بیرونی (خارجی) ۱۵
۱-۷- دلایل توجیهی طرح ۱۶
۱-۸- اهداف طرح ۱۷
۱-۹- سوابق تحقیق در داخل و خارج از کشور با تاکید بر نتایج آنها ۱۷
۲- مواد و روشها ۱۹
۲-۱- راه اندازی آزمایشگاه کشت و پرورش جلبک ۱۹
۲-۲- تهیه محیط کشت ۲۱
۲-۳- روش جداسازی و خالص سازی میکروجلبکها ۲۹
۲-۴- روش برطرف کردن آلودگیهای احتمالی و درمان آنها ۳۰
۲-۵- مراحل کشت جلبک ۳۲
۲-۶- کمیت بیوماس جلبکی ۳۳
۲-۷- برداشت و نگهداری میکروجلبکها ۳۳
۲-۸- اندازه گیری وزن خشک ۳۳
۲-۹- کنسانتره کردن میکروجلبک ۳۳
۲-۱۰- دستورکار اندازه گیری پروتئین ۳۴
۲-۱۱- روش اندازه گیری چربی کل ۳۵
۲-۱۲- آنالیز اسیدهای چرب ۳۶
۲-۱۳- اندازه گیری ویتامین E ۳۷
۲-۱۴- اندازه گیری ویتامین C در نمونه های ماهی ۳۷
۲-۱۵- اندازه گیری ویتامین A ۳۸

عنوان	« فهرست مندرجات »	صفحه

۲-۱۶- روش بررسی کلروفیل و کاروتن ۳۹
۲-۱۷- روش اندازه گیری رطوبت ۳۹
۲-۱۸- اندازه گیری خاکستر ۳۹
۲-۱۹- روش بررسی تغذیه دافنی با جلبکهای مختلف ۴۰
۲-۲۰- آزمایش تغذیه ماهی سیلور کارپ ۴۱
۳- نتایج ۴۳
۳-۱- نتایج جداسازی ، کشت و کنسانتره کردن ۴۳
۳-۲- نتایج آنالیز ویتامین C ۴۶
۳-۳- نتایج آنالیز ویتامین E ۴۷
۳-۴- نتایج آنالیز ویتامین A ۴۷
۳-۵- نتایج کارتنوئید ها ۴۸
۳-۶- نتایج آنالیز چربی کل ۴۹
۳-۷- نتایج آنالیز پروتئین ۵۰
۳-۸- نتایج آنالیز اسیدهای چرب ۵۰
۳-۹- نتایج رطوبت و خاکستر در جلبکهای مختلف ۵۲
۳-۱۰- نتایج تغذیه دافنی ماگنا (*Daphnia magna*)با جلبکهای مختلف ۵۳
۳-۱۱- نتایج تغذیه بچه ماهیان کپور نقره ای از جلبکهای مختلف ۵۵
۴- بحث ۵۸
۴-۱- تجزیه و تحلیل جلبکهای مختلف در رشد ماهی فیتوفاگ و دافنی ۵۸
۴-۲- برآورد هزینه محیط کشت های مختلف ۶۰
۵- پیشنهادها ۶۲
۶- منابع ۶۳
چکیده انگلیسی ۶۶

چکیده

با توجه به اهمیت میکروجلبکها در تغذیه آبزیان از جمله ماهیان در مطالعه حاضر تهیه پودر یا کنسانتره جلبکهای مفید جهت پرورش تغذیه ماهی فیتوفاگ مورد بررسی قرار گرفت . گونه های مختلف جلبکی از استخرهای پرورش ماهیان گرمابی جداسازی ، خالص سازی و کشت انبوه داده شدند. در مرحله بعد میکروجلبکها با اسپری درایر خشک و بصورت پودر درآمده و تغذیه بچه ماهی فیتوفاگ با آنها مورد بررسی قرار گرفت. طی این عملیات گونه های *Scenedesmus obliquus* ، *Scenedesmus acuminatus* ، *Ankistrodesmus falcatus* ، *Pediastrum boryanum* ، *Pandorina morum* ، *Chlorella vulgaris* از جلبکهای سبز ، گونه های *Anabaena floe-aquae* و *Oscillatoria agardhi*، *Spirulina platensis* از جلبکهای سبز- آبی و جلبک *Cyclotella meneginiana* از دیاتومه ها جداسازی گردید . جلبکهای سیز و سبز- آبی در محیط کشت زایندر ، دیاتومه ها در زایندر ولی با آب تالاب انزلی و همچنین محیط کشت F2 با آب دریای مصنوعی وجلبک اسپیرولینادر محیط کشت زاروک کشت داده شد. پس از کشت میکروجلبکها اقدام به کنسانتره نمودن جلبکهای فوق الذکر گردید .

در مرحله بعد تآثیر میکروجلبکها بر روی تغذیه دافنی ماگنا و بچه ماهی فیتوفاگ ۲ تا ۳ گرمی مورد بررسی قرار گرفت . نتایج نشان داد که جلبک *Cyclotella* نقش بیشتری در نرخ تغذیه چه ماهی فیتوفاگ داشته وجلبکهای *Anabaena flos-aquae* و *Spirulina platensis* از نرخ تغذیه کمتری نسبت به سیکلوتلابرای این ماهی برخوردار است . جلبک بعدی که بیشترین تأثیر را در نرخ تغذیه ماهی فیتوفاگ نشان داد جلبک *Scenedesmus obliquus* و سپس جلبک *Scenedesmus acuminatus*بوده است .جلبک *Scenedesmus obliquus* از نرخ تغذیه بیشتری نسبیت به سایر جلبکها برای دافنی ماگنا برخوردار بوده است .

لغات کلیدی : میکروجلبک ، کنسانتره جلبک ، ماهی فیتوفاگ ، تغذیه

۱- مقدمه

جلبکها نقش مهمی را همراه با باکتریها در تعادل اکسیژن و دی اکسید کربن در محیط تکثیر و پرورش ایفا می نمایند. اسید های چرب غیر اشباع که توسط جلبکها سنتز می شود در رشد و بقای ماهیان دریایی ، میگو و نرم تنان دوکفه ای مؤثر می باشد. امروزه جلبکها یکی از منابع مهم درآمدی بشمار رفته و مواد با ارزش و مهمی از آنها استخراج می گردد.

در شرایط فعلی در کشورمان برای پرورش بچه ماهیان فیتوفاگ و حتی مراحل اولیه پرورش لارو از کودهای شیمیایی جهت باروری استخرها استفاده می شود. این کودها عوارض مختلفی رابه همراه داشته و گاها استفاده بی رویه و نامناسب از آنها باعث بروز مشکلاتی برای استخرهای پرورش ماهیان(بلوم جلبکهای سمی ، مرگ و میر ماهیان ، کیفیت نامناسب گوشت ماهیان ، کاهش اکسیژن و ...) می گردد. از طرفی نیز ممکن است جلکهای مورد نیاز و مناسب جهت رشد بیشتر ماهیان را نیز در استخر ها غالب ننماید. لذا استفاده از جلبکهای مناسب با توجه به سایز تیغه های آبششی ماهی و هضم آسان و دارا بودن پروتئین و اسید چرب غیر اشباع بالاتر می تواند در تسریع رشد ماهیان مفید واقع شود. از طرفی استفاده از جلبک مناسب می تواند در کیفیت گوشت ماهی فیتوفاگ تاثیر گذاشته و طعم آنرا نیز مطبوع تر نماید. در پرورش زئوپلانکتون نیز استفاده از جلبک مناسب با توجه به سایز دهان و خوشخوراک بودن بر روی میزان تغذیه ، تولید مثل و رشد تاثیر گذار بوده و بالطبع ماهی که از این زئوپلانکتون تغذیه می کند رشد بهتری خواهد نمود.

هدف از بررسی حاضر تهیه پودر یا کنسانتره جلبکهای مفید جهت پرورش فیتوفاگ و مطالعه تاثیر آنها در تغذیه فیتوفاگ و زئوپلانکتون دافنی ماگنا می باشد. لذا امید است با دستاوردهای این پروژه بتوان از جلبکها به عنوان مکمل غذایی در استخرهای پرورش ماهیان اسفاده کرد و خطرات مرگ و میر این ماهیان را تحت شرایط استفاده از کوددهی نامناسب بخصوص در فصل تابستان از بین برد.

تولید انبوه این کنسانتره می تواند دغدغه مشکلات بلوم جلبکی نامناسب و ضعیف بودن رشد ماهیان فیتوفاگ را تا حدود زیادی برطرف نماید . شایان ذکر است که استفاده از این کنسانتره خود باعث رشد و تکثیر زئوپلانکتون خواهد شد که می تواند مورد تغذیه ماهیان بیگ و سایر ماهیان قرار گیرد.

جلبکهای میکروسکوپی یکی از منابع غذایی مهم موجودات آبزی از جمله صدفها ی دو کفه ای شامل کلام ها ، اسکالوپ ها و ماسل ها ، لارو میگو ، بعضی از ماهیان و زئو پلانکتونها می باشند. برای نمونه می توان از جلبک های سبز مانند کلرلا، کلامیدوموناس ،دونالیلا و سندسموس و از دیاتومه ها از اسکلتونما، سیکلوتلا و سیلندروتکا و از جلبکهای سبز ـ آبی اسپیرولینا را نام برد.

امروزه از جلبکها بعنوان منبع مهم غذایی ، دارویی ، اشتغال و درآمد ، پژشکی ، کشاورزی و غیره استفاده می شود. جلبکها حاوی ویتامینها (اسید فولیک ، B2,B1 و نیکوتین آمید)، منیزیم ،منگنز ، ید ، مس ،کلسیم ،آهن و پروتئین را برآورده نماید . ترکیب پروتئین آنها بهتر از گوشت ، شیر و تخم مرغ بوده و از ۷۰ درصد

طیف کامل آمینواسیدهای اساسی و غیر اساسی برخوردار می باشد. نانکه از جلبک اسپیرولینا در ژاپن و تایوان بعنوان غذای ماهی آکواریوم استفاده می شود. مواد رنگی افزودنی از آن تهیه می شود (Al-Al-Batshan et al.,2001)

همچنین میکروجلبکها سیستم ایمنی بدن را در مقابل باکتریها ، ویروسها و مواد شیمیایی و سایر مهاجمین خارجی تقویت می نمایند(Kanno, 2005). بتا کاروتن موجود در اسپیرولینا در خنثی کردن رادیکالهای آزادکه باعث تغییر دادن سلولهای تولید کننده سرطانی مؤثر است(Fedkovic et al.,1993 و Schwartz et al.,1990).

مبکرو جلبکها سریع تکثیر می کنند .جلبکها سالانه ۵۰ تن در هکتار پروتئین تولید می کنند در حالیکه در گندم این میزان تنها ۰/۸ تن و در مورد گاو و گوسفند ۰/۱۶ تن می باشد . برخی از گونه های میکرو جلبکی ۵۰ الی ۶۰ درصد پروتئین داشته و میزان کلروفیل آن ۱۰ برابر یونجه (بیشترین کلروفیل را در میان گیاهان زمینی دارد) می باشد.

میکروجلبکها در عاری کردن هوا از دی اکسید کربن، جانشین کردن کودهای شیمیای بوسیله محصولات طبیعی و نیزتصفیه فاضلابها نقش دارند. آنها بعنوان بهترین غذا در سفرهای طولانی فضایی می باشند.

باروری و تکثیرآنها بالا و در مدت زمان بسیار کوتاهی بیشترین مواد مغذی را تولید می کنند. میکروجلبکها سریعترین نرخ رشد را نسبت به محصولات زمینی دارند .

۱-۱- ویژگی ها و ارزش جلبکهای مورد نظر در مطالعه

۱-۱-۱- جلبک اسپیرولینا(*Spirulina*) :

اسپیرولینا ریز جلبک سبز-آبی چند سلولی است که در رده سیانوفیسه(Cyanopheceae) و راسته اسیلاتوریا (Oscillatoriales) طبقه بندی می شود.این جلبک مارپیچی می باشد.

اسپیرولینا به صورت معلق در آب رشد می کند به همین دلیل نیاز به ساختن دیواره سلولی که این دیواره به میزان زیادی دسترسی به مواد مغذی داخل سلول را محدود می کند، ندارد. مهم ترین پیگمان موجود در اسپیرولینا فیکو سیانین است. این پیگمان آبی اثرات بسیار مهمی دارد و یکی از مهم ترین اثرات آن تحریک کردن سیستم ایمنی بدن است.

رنگ تیره اسپیرولینا به خاطر وجود غلظت های بالایی از سه رنگ طبیعی کاروتنوئیدها، کلروفیل و فیکوسیانین است که این رنگها متابولیسم حیاتی بدن را تنظیم می کنند.

این جلبک دارای ۶۵ درصد پروتئین (Ciferri,1983) (بیش از مرغ ، ماهی و گوشت) بوده و دارای اسید آمینه های ضروری (لوسین ۱۰/۹ درصد ، والین ۷/۵ درصد و ایزولوسین ۸/۶ درصد) می باشد(Cohen,1997).

اساسا مصرف اسپیرولینا در ایجاد ایمنی بالا در بدن موجودات بسیار مؤثر است.اسپیرولینا منبع عمده ای از کربوهیدراتها از جمله گلیکوژن بوده که بوسیله بدن جذب شده و موجب انرژی بالا در بدن میشوند .

امروزه پرورش دهندگان ژاپنی به پنج کلید سود آوری در مصرف اسپیرولینا در خوراک آبزیان دست پیدا کرده اند.۱- میزان رشد بهتر ۲- بهبود کیفیت در رنگ پذیری ماهی ۳- میزان بقاء بیشتر ۴- کاهش مصرف دارو ۵- کاهش ضایعات محیطی

این جلبک مکمل خوب برای هچری هابوده ومصرف پودر اسپیرولینا در افزایش رشد بهتر و کاهش ضایعات تغذیه ای) بعلت عدم ایجاد چربی شکمی (پایداری بیشتر نسبت به بیماریها را بدنبال دارد. با مصرف این ماده نسبت رشد تا ۱۰ ٪ افزایش خواهد داشت.

اسپیرولینا همچنین غذای سلامت برای ماهیان آکواریوم می باشد. در تولید ماهیان زینتی برای بسیاری از گونه ها از جمله ماهیان مناطق حاره ؛ جلبک ها بخشی از رژیم غذایی آنها را تشکیل میدهند. مصرف اسپیرولینا پنج سود اساسی را برای آکواریوم داران بدنبال دارد. ۱- تامین ویتامینها و مواد معدنی لازم ۲- سرشار از پروتئین های مخاطی جهت سلامت پوست ۳- حاوی فیکوسیانین جهت جلوگیری از چاقی و افزایش رشد بهتر ماهی۴- وجود اسید های چرب ضروری به منظور رشد متناسب اندام ها ۵- غنی از رنگ دانه شبیه کارتنوئیدها .

تغذیه ماهیان با این آلگ ماهیانی زیبا؛ سلامت با طول عمر بیشتر را تولید خواهد کرد. اسپیرولینا در فضای آکواریوم رشد نخواهد کرد و لذا موجب کثیفی آن نخواهد شد.

شایان ذکر است که جلبک اسپیرولینا می تواند برای ماهیان آکواریومی و همچنین بعنوان پروبیوتیک در جیره غذایی برخی از ماهیان مانند قزل آلا استفاده شود.همچنین این جلبک مصرف انسانی نیز دارد. لذا توصیه می شود که برای کشت آن از راه اندازی کشت گلخانه ای یا حداقل مسقف کردن روی حوضچه جهت حفظ نمودن از هوای بد و برای کم کردن ریسک آلودگی کشت شود. سقف می تواند سفید یا پلاستیک شفاف باشد یا با مواد دیگر ساخته شده که اجازه دهد نور عبور کند.سعی شود pH محیط کشت اسپیرولینا زیر ۸ تا ۸/۲ و در حوضچه پرورش ۱۰ تا ۱۱ باشد . اسپیرولینا میکروجلبک مصرف کننده کربن است که دی اکسید کربن را برای فتوسنتز مصرف می کند. درجه حرارت ایده آل برای تولید آن ۳۵ درجه سانتی گراد است . درجه حرارت مهمترین فاکتور تأثیر گذار در نرخ رشد اسپیرولینا است . در زیر ۲۰ درجه سانتیگراد رشد عملا هیچ است اما اسپیرولینا نمی میرد. اپتیمم درجه حرارت برای رشد ۳۵ درجه سانتیگراد است در بالای ۳۸ درجه سانتیگراد اسپیرولینا در خطر است . نور نیز یکی از فاکتورهای مهم است اما آفتاب کامل ممکن نیست بهترین نرخ روشنایی را بدهد. ۳۰ درصد از نور آفتاب کامل بهترجواب می دهد. رشته های منفرد اسپیرولینا در طول روشنایی قوی نابود می شوند. بنابر این نیاز است برای مدت زمان کمی که در معرض آفتاب کامل قرار دارند تلاطم ایجاد شود. نور مصنوعی و گرما می توانند برای رشد اسپیرولینا استفاده شوند اگرچه آنها اقتصادی

نیستند. لامپهای فلورسنت و هالوژن هر دو مناسب هستند. لامپها می توانند روشنایی و گرمای کشت را همزمان تأمین نمایند. متلاطم کردن آب حوضچه اگر نیاز است با هموژنیز کردن و توزیع خوب نور میان رشته های اسپیرولینا صورت گیرد.

توصیه می شود با کف گیری سطح حوضچه از اسپیرولینا محصول گرفته شود.برخی پیشنهاد می کنندکه ابتدا اسپیرولینا را در فیلترهایی مثل تور بشه بندی ۶۰ میکرون فیلترسپس شسته و بصورت پودر در پلاستیک ذخیره شود. برخی نیز معتقدند که اسپیرولینا را باید زمانی که در شرایط خوبی است برداشت کرد وگرنه وقتی پیر شود برداشتنش یک کابوس است . صبح زود بهترین زمان برای برداشت محصول به دلایل مختلف است . درجه حرارت کم باعث می شود این کار آسانتر انجام شود. آفتاب ساعات بیشتری را برای خشک کردن محصول در دسترس است . درصد پروتئین اسپیرولینا در صبح بیشترین مقدار است .

اساسا دو مرحله برداشت برای اسپیرولینا وجود دارد.۱- فیلتر کردن جهت کسب بیوماس شامل ماده خشک و محیط کشت باقی مانده . با برداشتن محیط کشت باقی مانده ، توده اسپیرولینای تازه حاصل می شود که آماده مصرف یا خشک شدن است .

فیلتر کردن به سادگی با عبور از یک پارچه ریز بافت با استفاده از نیروی گرانش به عنوان نیروی محرکه انجام پذیر است . پارچه با الیاف مصنوعی (خصوصا پلی آمید و یا پلی استر) با سایز حدود ۳۰ تا ۵۰ میکرون ترجیحا برای فیلتر مناسب است . حمایت پارچه فیلتر توسط یک تورعالی فیلترکردن را سرعت می بخشد و در مقابل پارگی پارچه را محافظت می کند.اما یک کیسه ساده ساخته شده از پارچه نیز بخوبی کار می کند. این فیلتر می تواند بالای استخر پرورش اسپیرولینا نصب شود تا مستقیما آب فیلتر شده را بازیافت کند. محصول کشت شده باید از یک الک (به اندازه ۲۰۰ میکرون) عبور کند. این کار برای حذف ماده خارجی شامل حشرات ، لاروها، برگها و توده های پلی ساکارید و یا گل و لای است . سپس محصول باید شسته شود. شستشو با آب شیرین ممکن است باعث پارگی دیواره سلول اسپیرولینا ناشی از فشار اسمتیک شود و این مسئله منتهی به از دست دادن محصول با ارزش گردد. همچنین ممکن است باعث تولید میکروبهایی در آن شود. بیوماس محصول شسته شده نسبت به نمونه فشرده بیشتر مستعد برای تخمیر است.

بیوماس فشرده شده شامل دوبرابر ماده خشک نسبت به فشرده نشده است که زمان خشک شدن را کاهش می دهد. هنگامی که توده بیش از حد چسبنده است باید شسته شود. مواد مغذی نیز با برداشت محصول به جهت حفظ باروری باید جایگزین شود.

اگرچه اسپیرولینا بصورت تازه می تواند مصرف شود ولیکن پس از اینکه بارامی خشک شود نیز می تواند مصرف شود. بهتر است اسپیرولینا در ۶ ساعت از محصول دهی مصرف شود اما می تواند برای یک دوره بیش از یکسال بعد از خشک شدن در نورخورشید یا یک خشک کننده خوب خورشیدی حفظ و مصرف شود.

برای ذخیره کردن اسپیرولینا در مدت زمان طولانی باید آن را در خلاء خشک کرد و بدون هوا بسته بندی نمود که کیفیت مواد مغذی برای ۵ سال حفظ شود.

۲-۱-۱- جلبک کلرلا (Chlorella) :

کلرلا جلبک سبز تک سلولی متعلق به شاخه Chlorophyta ، راسته Chlorococcales وخانواده Oocystuceae بوده وسلول کروی شکل کوچکی به قطر ۲ تا ۱۰ میکرون می باشد که دیواره سلولز نسبتا ضخیمی آنرا احاطه نموده است . سیتوپلاسم سلول محتوی هسته و سایر اندامکهای غشاء دار می باشد .کلروپلاست فنجانی شکل سلول را غشایی دو لایه احاطه نموده است که بخش داخلی آن ماده زمینه و تیغه های تیلاکوئیدی بصورت دستجاتی قرار گرفته اند که رنگیزه های فتوسنتزی روی این صفحات واقع شده اند. رنگیزه های فتوسنتزی شامل کلروفیل های a وb (رنگیزه های اصلی فتوسنتزی) ، آلفا و بتا کارتنوئید و گزانتوفیلها (رنگیزه های کمکی فتوسنتزی) می باشند.

کلروفیل های a و b که مقدارشان نسبت به سایر رنگیزه های فتوسنتزی بیشتر می باشد به رنگ سبز علفی (سبز تیره) می باشند. از آنجا که رنگ ریسه جلبکها به مقدار نسبی رنگیزه های فتوسنتزی سلول بستگی دارد نامگذاری جلبکهای سبز مانند سایر جلبکها بر اساس رنگ غالب ریسه صورت گرفته است . در کلروپلاست هر سلول کلرلا یک جسم پروتئینی موسوم به پیرنوئید وجود دارد که حاوی آنزیم های لازم برای انجام فتوسنتز می باشد و در تجمع نشاسته نقش دارد. کلرلا فقط به روش غیر جنسی تکثیر می یابد. نحوه تولید مثل غیر جنسی آنرا اصطلاحا اتوگامی می نامند. در این روش هسته داخل سلول تقسیم شده تعداد ۲، ۴ ، ۸ و بندرت ۱۶ هسته کوچکتر موسوم به اتوسپور را بوجود می آورد. هر هسته همراه با مقداری از سیتوپلاسم سلول مادر منشاء پیدایش سلولی جدید می گردد .

کلرلا بصورت منفرد یا بصورت توده های مجتمع است . دارای زندگی آزاد و هم زندگی انگلی (در بدن حیواناتی مثل پروتوزوآ ، مخصوصا سیلیاتاو اسفنج ها بسر می برند) می باشند (محمد جانی و فلاحی ۱۳۶۷) .

کلرلا به دلیل دارا بودن ضریب رشد و ارزش غذایی بالا از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشد. حدود ۵۰ درصد وزن خشک این جلبک را پروتئین تشکیل می دهد.

این جلبک میلیاردها سال است که روی کره زمین وجود دارد و یکی از اولین غذاهای موجود در زمین بوده است. جلبک کلرلا، یک جلبک تک سلولی است که در آب‌های تازه می‌روید. کلرلا به علت میزان بالای کلروفیل موجود در آن، بویی شبیه به علف یا چمن دارد. میزان کلروفیل در این جلبک از هر گیاه دیگری در دنیا بیشتر است.

فسیل‌هایی از کلرلا یافت شده که قدمت آن‌ها به سه میلیارد سال پیش باز می‌گردد. کلرلا یکی از سالم‌ترین غذاهاست.کلرلا باعث می‌شود که باکتری‌های مفید معده انسان به نام لاکتوباسیل‌ها چهار برابر سریع‌تر رشد کنند.

تایوان بزرگ‌ترین تولیدکننده جلبک کلرلا است و بزرگ‌ترین شرکت تولیدکننده آن کلرلا را با دقت بسیار از نظر خلوص و آلودگی باکتریایی آزمایش می‌کند. این شرکت تنها شرکت دنیاست که اجازه صدور جلبک کلرلا را به ژاپن دارد و مورد تأیید وزارت بهداشت ژاپن می‌باشد.

شکل ۱- ۱- قرص کلرلا بعنوان مکمل غذایی

۳-۱-۱- جلبک سندسموس (*Scenedesmus*)

جلبک سندسموس متعلق به شاخه Chlorophyta ، راسته Chlorococcales و خانواده Scenedesmaceae بوده ودارای تعداد زیادی گونه و واریته می باشد که هم در تیکوپلانکتون و هم در ایوپلانکتون واقع می شوند. بر طبق نوع گونه سلولها تخم مرغی ، دوکی شکل یا هلالی شکل هستند (محمد جانی و فلاحی ، ۱۳۶۷). سندسموس جلبک سبز کلنی شکل غیر متحرکی است که تعداد سلولهای کلنی در گونه های مختلف آن متفاوت و همواره مضربی از ۲،۴ ، ۸ ، ۱۶ و ۳۲ سلول در یک کلنی موجود باشند. اشکال سلولهای هر کلنی در گونه های مختلف متفاوت می باشد . بطوریکه ممکن است داخل یک کلنی دو شکل سلول موجود باشد. در تمامی گونه ها سلولهای تشکیل دهنده یک کلنی به موازات محور طولی ، پهلو به پهلو به هم پیوسته اند. در برخی گونه ها سلولهای حاشیه ای یک کلنی دارای زوائد خار مانندی می باشند.تعداد سلولهای کلنی در گونه S.Obliquus عمدتا ۴ عدد می باشند. در این گونه سلولهای میانی دوکی شکل و سلولهای کناری هلالی شکل و فاقد خارند (اسماعیلی ساری ، ۱۳۷۹) . طول کلنی ۴ سلولی این گونه ۱۵ میکرون و عرض آن ۱۲ تا ۱۴ میکرون می باشد (آذری تاکامی و امینی چرمهینی ، ۱۳۸۷) . سلولهای جوان دارای یک کلروپلاست کشیده محتوی پیرنوئید می باشند. در سلولهای مسن ، کلروپلاست بخش اعظم سیتوپلاسم سلول را فرا می گیرد. سلولها تک هسته ای هستند. هریک از سلولهای کلنی قادر به ایجاد یک کلنی جوان موسوم به اتوکلنی

می باشند. هریک از سلولهای اتوکلنی ، اتوسپور نامیده می شوند. در نتیجه تقسیمات طولی و عرضی پروتوپلاسم سلول مادر تعداد ۲، ۴ ، ۸ ، ۱۶ و ۳۲ اتوسپور بوجود می آیند . اغلب رنگ آب را سبز می نمایند و بیشتر اوقات در رودخانه ها ، حوضها و دریاچه ها یافت می شوند . این جلبک در موقعیت های غیر طبیعی بصورت سلولهای منفرد ظاهر می شوند.

٤-۱-۱- جلبک سیکلوتلا (*Cyclotella*):

این جلبک متعلق به شاخه Bacillariophyta ، راسته Centrales و خانواده Coscinodiscaceae می باشد. سلول آن مدور (مرکزی) می باشد. در منظره جانبی تقریبا مستطیلی و اغلب بصورت موازی و بشکل زنجیری در امتداد درازا با هم خوابانیده شده است . در منظره سطحی یک دایره دندانه ای و درخشان با قاب حاشیه دار و یک مرکز دیده می شوند. قسمت محیطی صاف یا منقطع شده و منقوط می باشد. گونه های این جنس پلانکتونی هستند.

۲-۱- شرایط عمومی جهت کشت میکروجلبک

۱-۲-۱- نور

میکرو جلبکها همانند تمام گیاهان فتوسنتز کننده هستند یعنی آنها کربن غیر آلی را تبدیل به مواد آلی خواهند نمود. نور منبع انرژی است که سبب انجام این واکنش می گردد و باید شدت روشنایی ، کیفیت طیف نوری و دوره روشنایی مورد نیاز در این زمینه در نظر گرفته شود (جدول۲-۱). شدت نور نقش مهمی را ایفا می نماید ، اما نیاز ها با عمق کشت و تراکم جلبکها ی پرورش داده شده به میزان زیادی تغییر می یابد . در عمق بالاتر و غلظت سلول بالاشدت نور بایستی افزایش یابد تا بتواند از میان کشت نفوذ نماید(مثلا ۱۰۰۰ لوکس برای هر ظرف ارلن مایر مناسب خواهد بود و ۵۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ لوکس جهت حجم های بالا تر مورد نیاز می باشد).

نور ممکن است به صورت طبیعی و یا توسط لامپ های لوله ایی فلورسنت تامین گردد. همچنین شدت بالای نور (مثلا نور مستقیم خورشید ، ظروف کوچکتر نزدیک تر به نور مصنوعی) ممکن است سبب توقف فتوسنتز گردد. همچنین از بیش از حد گرم کردن بواسطه هر دو روشنایی طبیعی و مصنوعی باید اجتناب گردد. لامپ های لوله ای فلورسنت طیف نوری آبی و یا قرمز از خود ساطع می کنند که بایستی ترجیحا آنها در بخشی از طیف نورانی که مناسب فتوسنتز می باشد فعال شوند. نواسانات روشنایی مصنوعی بایستی جداقل ۱۸ ساعت روشنایی در روز باشد، اگر چه رشد فتوپلانکتونهای کشت داده شده بطور معمول تحت روشنایی ثابت خواهد بود.

جدول شماره ۲-۱- محدوده پارامترهای مختلف جهت رشد میکروجلبکها

پارامترها	محدوده	اپتیمم
درجه حرارت	۱۶-۲۷	۱۸-۲۴
شوری (گرم در لیتر)	۱۲-۴۰	۲۰-۲۴
شدت نور (لوکس)	۱۰۰۰۰-۱۰۰۰ بستگی به حجم و تراکم	۲۵۰۰-۵۰۰۰
دوره روشنایی(روشنایی ، تاریکی ، ساعت)		۱۶:۸(مینیمم) ۲۴:۰(ماکزیمم)
Ph	۷-۹	۸/۲ -۸/۷

در مورد *Spirulina platensis* این موارد تا حدی متفاوت است یعنی دردرجه حرارت ۳۰ تا ۳۷ و بهترین حالت ۳۵ درجه سانیگرادمیتواند رشد خوبی داشته و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با شدت نوری ۲۰۰۰ تا ۲۵۰۰ لوکس نوری بهتر رشد می کند و گاها تا pH ۱۰/۵ هم رشد خوبی دارد. البته اسپیرولینا در شدت نور کمتر هم رشد خواهد نمود اما شدت اعلام شده بهتر رشد می نماید.

۲-۲-۱- درجه حرارت

درجه حرارت اپتیمم جهت پرورش میکروجلبک بطور کلی بین ۲۰ و ۲۴ درجه سانتیگراد بوده(۱-۲) ، هر چند که ممکن است براساس ترکیب محیط کشت گونه و نوع فیتوپلانکتون تغییر یابد. بیشتر گونه های پرورش یافته از میکروچلبکها درجه حرارتی بین ۲۷-۱۶ درجه سانتیگراد را تحمل می کنند. درجه حرارت پایین تر از ۱۶ درجه سانیگراد می تواند رشد آنها را کاهش داده در صورتی که درجه حرارت بالاتر از ۳۵ درجه سانتیگراد جهت تعداد زیادی از گونه ها کشنده است . اگر نیاز باشد پرورش میکروجلبکها می تواند با کمک جریان آب سردی که بر روی سطح ظروف کشت جاری خواهد شد و یا توسط کنترل درجه حرارت هوا با هوای سرد در واحد های پرورشی کند گردد.

۳-۲-۱- شوری

بیشتر میکروجلبکهای دریایی دامنه بالایی از تغییرات شوری را تحمل می نمایند. بیشتر گونه ها در شوری هایی پایین تر از شوریهای زیستگاه اصلی آنها می باشد سریعتر رشد خواهند نمود. شوریهای بین ۲۴-۲۰ گرم بر لیتر جهت نمونه های دریایی مناسب خواهد بود.

۴-۲-۱- pH :

دامنه pH جهت بیشتر گونه های میکروجلبکی پرورشی بین ۷ تا ۹ بوده در حالی که دامنه اپتیمم بین ۸/۷- ۸/۲ می باشد. خراب شدن کامل کشت بواسطه شکسته شدن (متلاشی شدن) بسیاری از سلول ها فرآیندی است که می تواند بر اثر عدم موفقیت در نگه داشتن pH قابل قبول به وقوع بپیوندد. مورد ذکر شده توسط هوادهی کشت انجام شده است . در این حالت تراکم بالای کشت جلبک باعث اضافه شدن دی اکسید کربن شده و دی اکسید کربن باعث افزایش pH می گردد ، که ممکن است مقدار آن از محدوده بالای ۹ در مدت رشد جلبک نیز بگذرد.

۵-۲-۱- هوادهی

مخلوط کردن به منظور جلوگیری از رسوب شدن جلبک ضروری است و این اطمینان را خواهد داد که تمام جمعیت سلوها بطور یکسان در معرض نور و مواد مغذی قرار گرفته و از طبقه بندی حرارتی نیز جلوگیری بعمل خواهد آورد (مثلا در کشت های بیرونی و تبادلات گازی بین محیط کشت و هورا را تسریع خواهد نمود. مورد اخیرالذکر یعنی تبادلات گازی از اهمیت خاصی برخوردار است چون هوا محتوی منبع کربن جهت فتوسنتز به شکل دی اکسید کرین می باشد. برای پرورشهای خیلی متراکم ، CO_2 از هوا (محتوی CO_2 هوا ۰/۰۳ درصد می باشد) به صورت حباب در میان محیط کشت وجود داشته که رشد میکروجلبکها را محدود نموده و دی اکسید کربن خالص ممکن است به صورت مکمل به هوا اضافه شود (مثلا به میزان ۱ درصد کل حجم هوا) . دی اکسید کربن اضافی همچنین به عنوان بافر در آب در برابر تغییرات pH خواهد بود و سبب تعادل CO_2/HCO_3 خواهد گردید. بسته به مقیاس سیستم پرورشی ، مخلوط کردن بوسیله تکان دادن با دست (لوله های آزمایش ، ارلن مایر ها) ، هوادهی (کیسه ها و تانک ها) با استفاده از هواده چرخ آسیابی و جت پمپ ها (استخرها) موفقیت آمیز خواهد بود. البته این را نیز می بایستی خاطر نشان نمود که همه گونه های میکرو جلبکی نمی توانند مخلوط کردن شدید را تحمل نمایند.

در بررسی حاضر دی اکسید کربن توسط سیستم هوادهی مخصوص به کشت های انجام شده اضافه می شود. سیستم استفاده شده در این بررسیها شبیه به روش Felfoldy,1962 بوده است . لوله های هواده دارای فیلتر پنبه ای در قسمت بالا بوده و در انتها قطر لوله به اندازه ۳ سانتیمتر باریک می شود. CO_2 موجود در هوا به راحتی از داخل فیلتر پنبه ای لوله های هواده عبور می کند. هنچنین به منظور جلوگیری از افتادن لوله های هواده به داخل محیط کشت اطراف آن در قسمت فیلتر با پنبه و گاز پیچیده شد.

برای کشت میکروجلبک از ارلن مایر های ۵۰۰ میلی لیتر استفاده شد، بطوریکه داخل هر کدام ۲۵۰ میلی لیتر محلول غذایی ریخته و درب آن توسط ورق آلومینیومی پوشانده و انوکلاو گردید. فیلتر پنبه ای استریل از ورود باکتریها به داخل محیط کشت جلوگیری می نماید. کشت ها توسط دو ائر بلوئر که در پشت اتاق نسب

شده بود هوادهی شدند . ایر بلوئر ها به فاصله ۳ ساعت از هم کار می کردند. این هوای تولیدی از داخل یک بالن ژوژه یک لیتری محتوی آب مقطر گذر کرده و سپس از فلومتر عبور داده شد. بدین ترتیب هوا بر اساس تعداد ارلن مایرها تنظیم شد.

۳-۱- دینامیک یا پویایی رشد میکروجلبکها

رشد یک کشت استریل میکروجلبک دارای ۵ مرحله با مشخصات ذیل همانگونه که در شکل شماره۲-۱ آمده می باشد:

الف - مرحله تأخیری :

در این مرحله پس از تلقیح جلبک به محیط کشت میزان تراکم موقتاً ثابت می ماند هرچند که اندازه سلول بیشتر و سلول فعال شده و پروتوپلاسم جدید می سازد. بطور کلی در این مرحله تغییرات متابولیکی وجود دارد ولیکن در تقسیم سلولی تأخیر وجود دارد. در انتهای این مرحله سلول شروع به تقسیم می کند.در مدت این فاز افزایش کمی در تراکم سلوله به وقوع خواهد پیوست . کندی رشد در این مرحله را به سازگاری فیزیولوژیکی متابولیسم سلولی رشد ، افزایش سطوح آنزیم ها و متابولیسم پیچیده تقسیم سلولی و نثبیت کربن نسبت می دهند.

ب - مرحله رشد لگاریتمی :

سلولها با سرعت ثابت و یکنواخت شروع به تقسیم کرده و سرعت رشد به حداکثر می رسد . در این مرحله رشد گونه اساسا بستگی به نوه گونه ، شدت نور و درجه حرارت دارد.

ج- مرحله نرخ رشد تأخیری :

تقسیمات سلولی زمانی که مواد مغذی ، نور،pH ، دی اکسید کربن یا دیگر فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی جهت رشد محدود می شوند کند خواهد گردید.

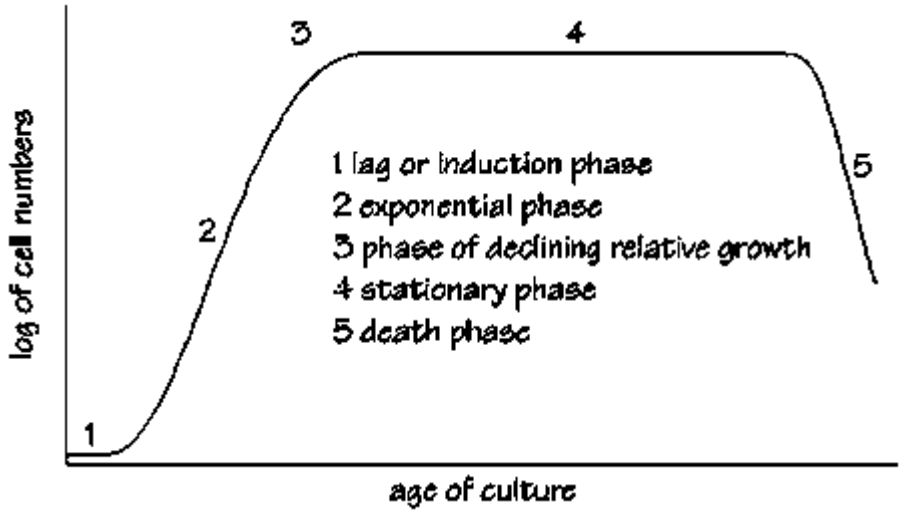
ج - مرحله سکون یا ثابت :

رشد لگاریتمی بطور تدریجی کم شده و عمل تقسیم متوقف یا میزان تکثیر با میزان کم مرگ و میر متعادل می شود و رشد سلول برای مدتی ثابت می گردد. ثبات نسبی تراکم سلول وجود دارد.

د - مرحله کاهش یا مرگ :

در این مرحله کیفیت آب تنزل یافته و مواد مغذی تا سطح غیر قابل قبولی جهت یک رشد پایدار کاهش می یابند . تراکم سلول به سرعت کاهش یافته و سر انجام متلاشی خواهد گردید. میزان مرگ و میر بیش از تکثیر بوده و میزان سلولهای زنده کاهش می یابد. دور شدن از شرایط ایده آل رشد مانند کمبود مواد مغذی ، کاهش اکسیژن ،درجه حرارت بیش از حد ، نوسانات pH یا آلودگی باعث مرگ می شود. بعلاوه ارزش

تغذیه ای جلبکهای تولید شده در مرحله ۳ بواسطه کاهش در قابلیت هضم ، کاهش در ترکیبات و احتمالا تولید مواد متابولیکی سمی نامرغوب و پایین است .



شکل۲-۱- مراحل رشد کشت های میکروجلبکی

٤- ۱- تکنیک پرورش جلبک

جلبک ها می توانند با انواع روشها تولید شوند که دامنه ای از روشهای آزمایشگاهی کاملا کنترل شده تا روشهای قابل پیش بینی در تانک های محیط بیرون را شامل می گردد. اصطلاحاتی که جهت توصیف نوع پرورش جلبک بکاربرده می شود عبارتند از :

الف- کشت داخل و کشت بیرون (**indoor/outdoor**):

در کشت داخل بر روی نوردهی ، درجه حرارت ، سطوح مواد مغذی ، آلودگی با شکارچیان و جلبک های رقابت کننده کنترل وجود دارد در صورتیکه در سیستم های کشت و پرورش بیرونی خیلی مشکل است که کشت های تک گونه ای جلبک برای مدت زیاد حفظ شود.

ب- کشت باز و بسته (**open/ close**):

کشت های باز همچنین استخرهای بدون پوشش و تانک ها (داخلی یا بیرونی) در مقایسه با ظروف کشت بسته همچون لوله ها ، ظروف ، بطریها ، کیسه ها و غیره آلوده خواهند شد.

ج- کشت استریل یا خالص :

کشت های خالص بدون هر گونه ارگانیسم های خارجی همچون باکتریها بوده و نیاز به استریلیزاسیون جدی تمام ظروف شیشه ای ، محیط کشت و ظروف به منظور جلوگیری از آلودگی می باشد. مورد ذکر شده جهت استریل کردن ظروف در مقیاس های تجارتی امکان پذیر نخواهد بود.

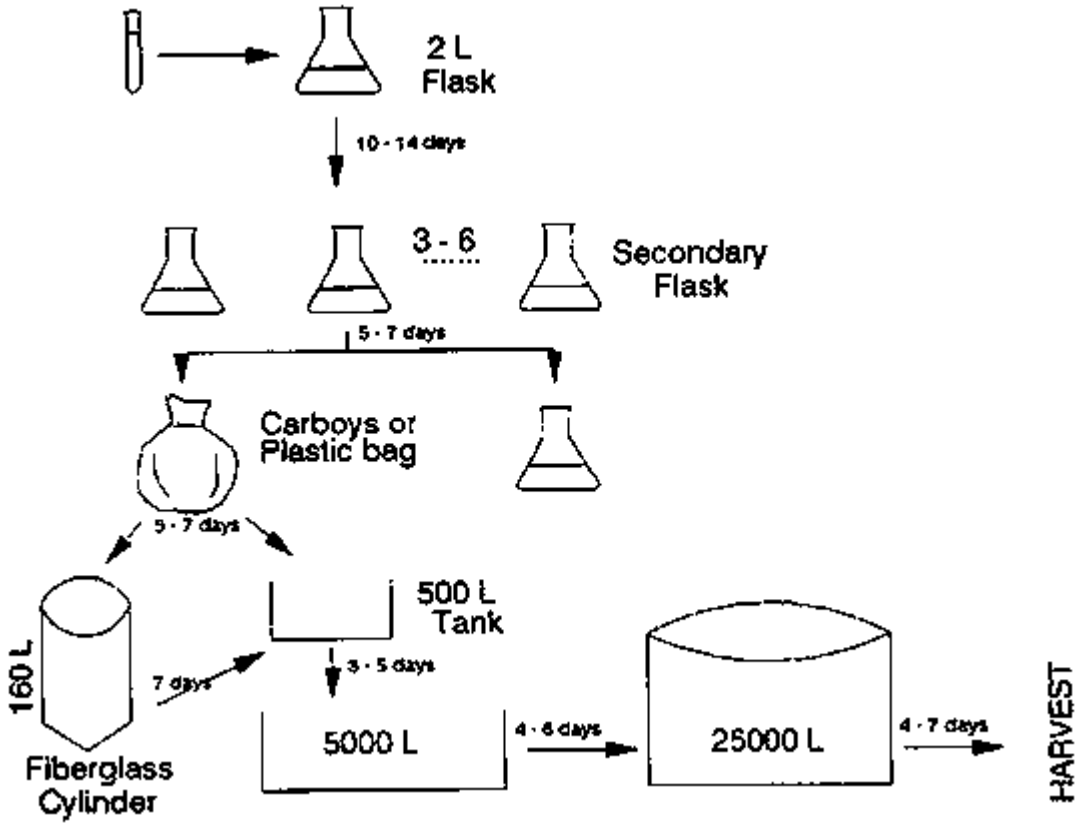
۵- ۱- انواع اساسی کشت و پرورش فیتوپلانکتون

سه تیپ اساسی کشت فیتوپلانکتون وجود دارد:

۱-۵-۱- پرورش یک گروه (Batch culture) :

Batch culture شامل تنها القاء سلول ها درون ظروف آب دریای بارور شده در طول یک دوره رشد چندین روزه و نهایتا برداشت آنها زمانی که جمعیت جلبک ها به حداکثر رسیده یا به تراکم حداکثر نزدیک گردیده خواهد بود.در عمل جلبک ها پیش از اینکه به فاز سکون برسند به حجم بزرگتر کشت منتقل خواهند شد و حجم های بزرگتر کشت سپس به حداکثر تراکم رسانده شده و برداشت می کردند.

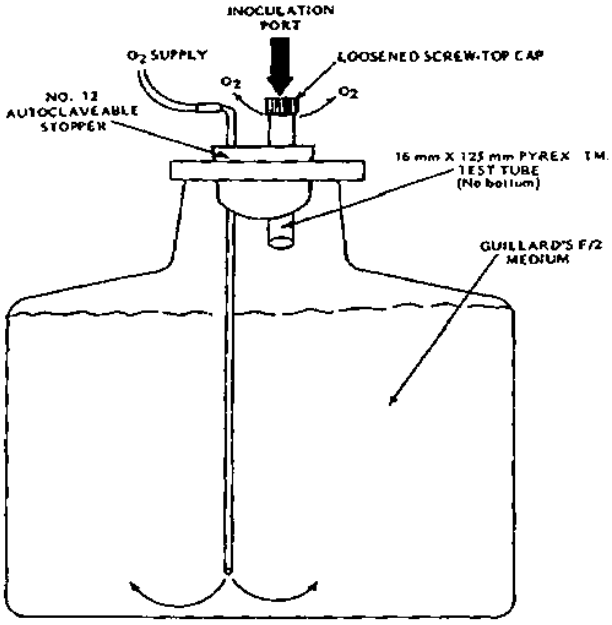
مراحل پشت سر هم ممکن است استفاده شوند . ابتدا لوله آزمایش بعد ظروف ۲ لیتری ،بطریهای ۵ تا ۲۰ لیتری ، ظروف استوانه ای ۱۶۰ لیتری ، تانک های ۵۰۰ لیتری ، تانک های ۵۰۰ لیتری داخل ، تانک های ۵۰۰۰ تا ۲۵۰۰۰ لیتری خارجی (شکل شماره ۳-۱) .



شکل ۳-۱- نمایی از کشت حلبک به روش Batch culture

بر اساس غلظت جلبک ها ، حجم ماده القاء شده بطور کلی بستگی به حجم مرحله قبلی در روند کشت داشته و مقدار آن ۱۰-۲ درصد حجم کشت نهایی است . در مکانهایی که مقادیر کوچک (کم) جلبک ها نیاز باشد یکی از ساده ترین تیپ های کشت داخل ظروف شیشه ای یا ظروف پلاستیکی ۱۰ تا ۲۰ لیتری بکار برده

خواهند شد(شکل شماره ۴-۱ که ممکن است در قفسه گذاشته شده و با نور لامپ های لوله ای فلورسنت نگهداری شوند.



٤-۱- ظرف کشت جلبک

سیستم های کشت batch بطور وسیعی کاربرد داشته زیرا آنها ساده بوده و قابلیت انعطاف پذیری داشته و نیز اجازه تغییر گونه ها و رفع نقواقص در سیستم به سهولت امکان پذیر خواهد بود. اگر چه اغلب به عنوان معتبرترین روش مد نظر می باشد اما batch culture لزوما کارایی ترین و مفید ترین روش نخواهد بود. batch culture درست قبل از فاز سکون برداشت شده و بنابراین بایستی همواره جهت یک دوره زمانی اساسی بعد از نرخ رشد گونه ای حداکثر نگهداری شوند . همچنین کیفیت سلولهای برداشت شده ممکن است کمتر نسبت به سیستم های پیوسته قابل پیش بینی باشد و برای مثال با زمان برداشت تغییر می نماید (زمان و روز صحیح در فاز رشد) . از دیگر معایب آن است که نیاز به جلوگیری از آلودگی در مدت القاء ابتدایی و ابتدای دوره رشد می باشد. زیرا تراکم مطلوب فیتوپلانکتون پایین بوده و غلظت مواد مغذی بالاست و هر آلودگی با نرخ رشد سریعتر توانایی متوقف کردن رشد کشت را خواهد داشت . batch culture همچنین به کارگران زیادی جهت برداشت ، تمیز کردن ، استریل کردن ، دوباره پر کردن و القاء نمودن ظروف دارد.

۲-۵-۱- پرورش مداوم یا پیوسته (Continous culture) :

روش کشت مداوم (یعنی یک کشت که بوسیله آب دریا بارور شده که بطور دائم به درون محفظه رشد پمپاژ شده و کشت زادی که همزمان از درون محفظه خارج می گردد می باشد) ، روش کشتی است که اجازه

می دهد کشت بسیار نزدیک به نرخ رشد حداکثر نگهداری گردد. دو دسته کشت های مداوم می تواند تشخیص داده شود:

کشت Turbidostat : که غلظت جلبکی در سطح قبلی بوسیله رقیق کردن کشت با استفاده از محیط کشت تازه و بوسیله یک سیستم اتوماتیک نگه داشته خواهد شد.

کشت Chemostat : که یک جریان محیط کشت تازه به درون کشت بطور ثابت و با نرخ (میزان) ابتدایی خود معرفی می شود. اضافه نمودن به میزان ابتدایی نرخ فیکس شدن مواد مغذی حیاتی را محدود می نماید (مثلا نیترات) و لذا به همین دلیل نرخ رشد و تراکم رشد و تراکم سلول ها را نمی توان ثابت نگه داشت .

معایب سیستم مداوم آن است که بطور نسبی ارزش آن بالا و پیچیدگی دارد . احتیاجات جهت ثبات نوردهی و درجه حرارت اغلب به سیستم های مداوم در داخل (indoor) محدود شده و لذا تنها بطور نسبی در تولید در مقیاس کوچک امکان پذیر خواهد بود. البته کشت های مداوم دارای محاسنی از جمله تولید جلبک های بیشتر و با کیفیت قابل پیش بینی خواهند داشت . علاوه بر این آنها از تکنولوژی کنترل و اتوماسیون بهره مند می باشند که باعث افزایش اطمینان سیستم و کاهش نیاز به کارگر می گردد.

۳-۵-۱- پرورش نیمه مداوم (Semi-continous culture)

در تکنیک نیمه پیوسته از تانک های بزرگ کشت بواسطه برداشت نمودن دوره ای جزئی بلافاصله بعد از اینکه حجم کشت اصلی به حد ممتاز یا عالی رسید استفاده می شود. مواد مغذی نیز بعنوان مکمل جهت حفظ سطح باروری کشت اصلی به آن اضافه می گردد. کشت مجددا به حداکثر رشد رسیده و بخشی از آن برداشت می شود و به همین شکل تکرار خواهد شد. کشت نیمه مداوم ممکن است به صورت داخلی (indoor) یا خارجی (outdoor) باشد، اما معمولا مدت زمان آنها قابل پیش بینی نیست .

رقابت کننده ها ، شکارچیان و یا آلودگی ها و گهگاهی مواد متابولیکی ساخته شده ، و به تعبیر دیگر کشت جهت استفاده های بعدی مناسب نخواهد بود. چون کشت بطور کامل برداشت نمی گردد روش کشت نیمه مداوم محصول بیشتر جلبکی نسبت به روش batch culture جهت همان تانک ها با همان اندازه خواهد داشت .

٦-۱- تولید جلبکی در استخرهای بیرونی (خارجی)

استخرهای خارجی بزرگ با یک بستر طبیعی با دیواره ای از سیمان ، پلی اتیلن با صفحان PVC بوده که بطور موفقیت آمیزی جهت تولید جلبک استفاده می شوند. مواد مغذی محیط کشت جهت کشت های خارجی بر اساس آن چیزی است که در کشت های داخلی است ، اما کودهای کشاورزی به جای کودهای آزمایشگاهی استفاده می گردد.

عمق کشت بطور معمول ۱- ۰/۲۵ متر می باشد . کشت های حاصل از تولید کشت داخل ممکن است جهت تلقیح کشت های تک گونه ای استفاده نمایند. به تناوب یک شکوفایی فیتوپلانکتونی ممکن است در آب دریایی که تمام گروههای زئوپلانکتونی آن بوسیله فیلتر شنی حذف شده اند بوجود آید، تولید جلبک در استخرهای خارجی بطور نسبی ارزان و کم هزینه بوده اما تنها برای یک مدت کوتاه مناسب بوده ولی جهت گونه های با رشد سریع بواسطه آلودگی ها توسط شکارجیان ، انگل ها و گونه های هرز جلبکی مشکل خواهد داشت . علاوه بر این تولید خارجی اغلب خصوصیاتی مانند یک گروه ضعیف تا گروه منسجم و کشت های غیر قابل پیش بینی متلاشی شده بواسطه تغییرات در آب و هوا ، نور خورشید با کیفیت آب را خواهند داشت.

۷-۱-دلایل توجیهی طرح

بسیاری از کشورهای جهان دهها سال است که پی به ارزشهای غذایی ، دارویی ،آرایشی میکروجلبکها برده و از آنها بهره برداریهای اقتصادی می نمایند . امروزه میکروجلبکها بعنوان منابع جدیدی برای تولید درآمدو اشتغال در کشورهای مختلف مطرح هستند. برخی از گونه های میکرو جلبکی ۵۰ الی ۶۰ درصد پروتئین داشته و میزان کلروفیل آن ۱۰ برابر یونجه (بیشترین کلروفیل را در میان گیاهان زمینی دارد) می باشد.

این جلبکها دارای سرعت تکثیر بالا بوده لذا در کوتاه مدت پاسخگوی بسیاری از نیازهای غذایی و داروی انسان و آبزیان می باشند. میزان کمی از آنها می تواند قسمت زیادی از نیازهای روزمره مانند ویتامینها (اسید فولیک ، B2,B1 و نیکوتین آمید)، منیزیم ،منگنز ، ید ، مس ،کلسیم ،آهن و پروتئین را برآورده نماید . میکروجلبکها در عاری کردن هوا از دی اکسید کربن، جانشین کردن کودهای شیمیای بوسیله محصولات طبیعی و نیزتصفیه فاضلابها نقش دارند.

در کشور ایران از سال ۱۳۷۵ جداسازی ، خالص سازی و کشت نیمه انبوه برخی لز میکروجلبکهای اکوسیستم های آبی کشورمان توسط پژوهشکده آبزی پروری شیلات ایران (گیلان) شروع شده و پروژه هایی نیز در در خصوص اکولوژی ، اکوتوکسیکولوژی و فواید اقتصادی بصورت مختصر داشته است .

در شرایط فعلی در کشورمان برای پرورش بچه ماهیان فیتوفاگ و حتی مراحل اولیه پرورش لارو از کودهای شیمیایی جهت باروری استخرها استفاده می شود. گاها استفاده بی رویه و نامناسب از آنها باعث بروز مشکلاتی برای استخرهای پرورش ماهیان(بلوم جلبکهای سمی ، مرگ و میر ماهیان ، کیفیت نامناسب گوشت ماهیان ، کاهش اکسیژن و ...) می گردد. از طرفی نیز ممکن است جلکهای مورد نیاز و مناسب جهت رشد بیشتر ماهیان را نیز در استخر ها غالب ننماید. لذا استفاده از جلبکهای مناسب با توجه به سایز تیغه های آبششی ماهی و هضم آسان و دارا بودن پروتئین و اسید چرب غیر اشباع بالاتر می تواند در تسریع رشد ماهیان مفید واقع شود. از طرفی استفاده از جلبک مناسب می تواند در کیفیت گوشت ماهی فیتوفاگ تاثیر گذاشته و

طعم آنرا نیز مطبوع تر نماید. در پرورش زئوپلانکتون نیز استفاده از جلبک مناسب با توجه به سایز دهن و خوشخوراک بودن بر روی میزان تغذیه ، تولید مثل و رشد تاثیر گذار بوده و بالطبع ماهی که از این زئوپلانکتون تغذیه می کند رشد بهتری خواهد نمود.

هدف از بررسی حاضر تهیه پودر یا کنسانتره جلبکهای مفید جهت پرورش فیتوفاگ و مطالعه تاثیر آنها در تغذیه فیتوفاگ و زئوپلانکتون دافنی ماگنا می باشد.

تولید انبوه این کنسانتره می تواند دغدغه مشکلات کوددهی و غنی بودن استخر را از نظر فیتئوپلانکتونی و زئوپلانکتونی بردارد. شایان ذکر است که استفاده از این کنسانتره خود باعث رشد و تکثیر زئوپلانکتون خواهد شد که می تواند مورد تغذیه ماهیان بیگ و سایر ماهیان قرار گیرد.

۸-۱- اهداف طرح

- ایزوله سازی و خالص سازی، تهیه استوک های جامد و کشت نیمه انبوه میکروجلبکهای مطلوب جهت تغذیه ماهی فیتوفاگ و زئوپلانکتون آب شیرین(دافنی ماگنا)
- کنسانتره نمودن میکروجلبکهای مفید
- تاثیر کنسانتره های مختلف میکروجلبکی بر روی تغذیه ماهی فیتوفاگ در آکواریوم و نیز تاثیر کنسانتره بر روی نرخ تغذیه زئوپلانکتون(دافنی ماگنا)

۹-۱- سوابق تحقیق در داخل و خارج از کشور با تاکید بر نتایج آنها

ماهی فیتوفاگ یک فیلتر فیدر پلانکتون خوار می باشد که از اندازه های مختلف جلبکی تغذیه می کند.ظرفیت مقدار فیلتر کردن بچه ماهی فیتوفاگ بستگی به سوراخهای آبششی دارد.

Marian et al.,1986 نشان داد که غربال آبششی کپور نقره ای بین ۳۰-۲۰ میکرون و برخی منابع ۴۲-۱۲ میکرون (Hampl et al.,1983) ذکر شده اما ماهی می تواند ذراتی به کوچکی ۴/۵ میکرون را هضم نماید (Xie,1999).Xie در سال ۱۹۹۹ بیان نمود که ترشح موکوس می تواند نقش مهمی در جمع آوری ذرات کوچک داشته باشد. بازده فیلتر کردن ماهی باندازه جلبک ارتباط دارد و تجزیه محتویات روده ماهی کپور نقره ای نشان داده است که این ماهی بطور قابل توجهی از نانوپلانکتونهای بزرگتر از ۱۰ میکرون و زئوپلانکتونها تغذیه می نماید (Smith,1989)

فلاحی در سال ۱۳۸۴ و Kim et al., 2003 بیان نمود که دیاتومه ها نقش بیشتری در رشد و انتخاب ماهی فیتوفاگ دارند.

گروههای زئوپلانکتونی که اغلب از چلبک بعنوان غذا ی زنده تغذیه می نمایند عبارتند از روتیفرها ، کوپه پودها،کلادوسرها(دافنی و مؤئینا) وآرتمیا. برای بعضی از موجودات مصرف کننده مانند روتیفر ، میگو،

تیلاپیا ، کپور نقره ای جلبکهایی مانند کلرلا ، سندسموس و اسپیرولینا مهم می باشـند(Browitz and Browitzka ,1988) .

در سال ۱۹۸۵ دو محقق به نامهای Infant and Litt طی مطالعاتشان دریافتند که برای *Daphnia pulicaria* و *D.thorata* جلبک کریپتوموناس بهترین غذا می باشد و پیشنهاد دادند که دلیل آن کیفیت انفرادی بودن ، شکل، اندازه و مقادیر پایین کربن و نیتروژن می باشد. اندازه مطلوب یا شکل خود تا حدودی کم بودن مواد مغذی آنرا جبران کرده و در واقع این تاژکداران متحرک هستند و در سوسپانسیون باقی می مانند و زئوپلانکتون می تواند آنهارا آسانتر ببلعند(May,1987).

در سال ۲۰۰۸ اثر پروبیوتیکی جلبک اسپیرولینا را بر روی کپور معمول بررسی شد و بیان گردید که این جلبک علاوه بر خاصیت پروبیوتیکی رشد کپور را نیز افزایش می دهد Ramakrishnan et al.,2008 .

Ahmadzadenia et al.,2011 بر روی جایگزینی اسپیرولینا با سویا در چیره غذایی ماهی قزل آلا کار کرد.

Gouveia et al.,1997 اثر کارتنوئید کلرلا را بر روی قزل آلا مورد بررسی قرار دادند.

Januszko,1974 و Spataru et al., 1983 بیان کردن که سیکلوتلا بخوبی توسط ماهی فیتوفاگ فیلتر و مصرف می شود.

Toyub et al.,2010 تغذیه ماهی فیتوفاگ را با سه جلبک Spirulina platensis ، Scenedesmus obliquus ، Chlorella ellipsoideaرا با غذای کنسانتره و کیک خردل مورد بررسی قرار داد و بیان نمود که رشد با هریک از جلبکهای فوق بیش از غذای کنسانتره و کیک خردل است .

۲- مواد و روشها

۱-۲- راه اندازی آزمایشگاه کشت و پرورش جلبک

۱-۱-۲- ابزارهای اساسی مورد نیاز

- اتاق UV یا فضای استریل
- دستگاه لامیناریاکس
- اتاق پرورش جلبک
- میزهای پرورش جلبک
- میکروسکوپ اینورت
- دستگاه آون یا فور
- دستگاه اتوکلاو
- دستگاه آب مقطر گیری
- تانک های کروی کشت نیمه انبوه
- قابهای چوبی جهت نسب پلاستیک های حاوی جلبک
- کاغذ GFF
- سایر لوازم آزمایشگاهی

۲-۱-۲- احداث فضای مناسب

جهت کشت جلبک اتاقی به مساحت ۵۰ مترمربع در مرکز تحقیقات ماهیان استخوانی دریای خزر درنظر گرفته شد. کف این اتاق با سرامیک های روشن طراحی گردیدند. ۳ میز دو طبقه که هر طبقه مجهز به قفسه ای برای جای دادن لامپهای مهتابی به میزان ۶ عدد و به فاصله ۱۵ سانتی متر و شیشه ای به فاصله ۱۵ سانتیمتر از لامپها جهت قراردادن ارلنهای کشت گردید. سه قاب چوبی نیز برای آویزان نمودن پلاستیک های بزرگ کشت طراحی شد. در این قابها نیز لامپهای مهتابی به میزان لازم جایگذاری گردید. ۹ گوی کروی از جنسP.V.C در وسط اتاق در نظر گرفته شد که همگی در زیر خود پایه ای داشته و مجهز به لامپهای مهتابی شدند.

میزان نور در هر میز ، گوی یا قابهای چوبی قابل کنترل بوده و بطور مستقل با کلیدهای جداگانه خاموش و روشن می شد. لوله کشی هوا نیز در این اتاق انجام گرفت و توسط ترمینالهایی به هر ارلن ، کیسه پلاستیکی و یا گوی کروی پخش می شد. دو پمپ هوا یا ایربلوئر هر کدام به فاصله ۳ ساعت کل سیستم را هوادهی می نمودند. شایان ذکر است که در مسیرهای ورودی هوا جهت کنترل آلودگی فیلترقرار داده شد .پی پت های هوایی که بر روی ارلن های کشت جلبک نصب می گردد دارای فیلتر پنبه ای در قسمت بالا می باشند و

انتهای پی پت های هوا به اندازه ۳ سانتی متر قطر لوله باریک می شود. به منظور جلوگیری از افتادن لوله های هواده به داخل محیط کشت ارلن اطراف آن با پنبه وگازپیچیده شد. فیلتر پنبه ای استریل از ورود باکتریها به داخل محیط کشت جلوگیری می کند . بدین ترتیب نیازی به استریل کردن کل سیستم نیست . بطور کلی نور اتاق طوری طراحی شد که حدود ۳۵۰± ۳۵۰۰ لوکس (Stewdrt,1974) را پشتیبانی نماید ولیکن میزان آن قابل کنترل بود. دمای اتاق توسط شوفاژ و بخاری تنظیم گردید.

۳-۱-۲- ایجاد اتاق استریل یا UV

اتاقی به مساحت ۹ متر مربع برای این منظور طراحی گردید. ایزوله سازی و کشت اولیه در این اتاق انجام شد. در این اتاق یک لامپ مهتابی معمولی و یک لامپ UV در ناحیه سقف نصب گردید. اطراف در و پنجره کاملاً مسدود شد. بطور کلی از کوچکترین روزنه ای که نور UV از آن خارج گردد جلوگیری بعمل آمد . در داخل این اتاق دستگاه لامیناریاکس یا جعبه استریل قرار داده شد. این دستگاه مجهز به سیستم فیلتر هوا ، لامپ مهتابی معمولی و لامپ UV شد. در داخل این دستگاه لوازم لازم برای کشت از جمله محیط کشت ، پنبه ، شعله گاز ، میکروسکوپ ، پلیت ، پی پت پاستور و پی پت های ۲ و ۱۰ سی سی ، پی پت هوا،الکل صنعتی ، قیف شیشه ای ، کبریت یا فندک قرار می گیرند.

٤-۱-۲- شستشو و استریل کردن ظروف و ایزار لازم

برای شستن ظروف شیشه ای مانند لوله آزمایش و ارلن می بایست آنها را در اسید سولفوریک رقیق یا شوینده ها یک شب خوابانید و سپس با آب و آب مقطر شستشو نمود. برخی ظروف شیشه ای مانند پی پت پس از شستشو می بایست در آون با دمای ۱۷۰ درجه سانتیگراد خشک و استریل گردند. برای شستشو و تمیز کردن ظروفی که در مقابل اسیـد مقاوم نیستند مانند بطـری فلزی ، لوله کائوچو می بایست توســـــط شوینده ها (دترجنت ها) با مدتی خوابانیدن در آنها تمیز نمود.

پی پت های هوا نیز مانند پی پت معمولی تمیر شده در داخل آنها قبل از قرار دادن در آون پنبه استریل و اطراف آن نیز پنبه قرار داده و با تنظیف بسته و در آون با دمای ۱۶۵ درجه سانتیگرادبه مدت ۲ ساعت گذاشته شد تا استریل گردد. پی پت هوا پس از استریل شدن به داخل کاغذ آلومینیمی پیچیده شد.

۵-۱-۲- تمیز کردن اتاق uv و اتاق کشت انبوه

کف اتاق جداسازی و میز دستگاه لامیناریاکس ، قبل و بعد از هر مرحله جداسازی و تلقیح توسط دتول یا الکل صنعتی ضدعفونی گردید. تمیز کردن اتاق اصلی پرورش هر هفته یکبار توسط دتول یا الکل صنعتی صورت گرفت .

از اشعه ماوراء بنفش برای استریل نمودن محیط آزمایشگاه و اطاق کشت جلبک استفاده کرده که برای این منظور اشعه ماوراء بنفش را که بصورت لامپهای فلورسنت ۲۰ واتی است به مدت ۳۰ الی ۴۵ دقیقه روشن گذاشته ؛ آ«گاه بمدت ۳۰ دقیقه دیگر تهویه اتاق کشت را روشن نموده تا گاز ازون ایجاد شده برطرف گردد و در نهایت نسبت به کشت جلبکها در اتاق کشت اقدام می شود.

٦-١-٢- استریل کردن سیستم هوادهی

برای استریل کردن سیتم هواده هوا را در ابتدا از داخل ظروف اسید سولفوریک رقیق و سپس آب مقطر عبور داده و پس از گذراندن آن از پنبه به دستگاه فلومتر که در اندازه میزان ورودی هوا نقش دارد وصل کرده تا برای ارلن های کشت جلبک مهیا شود.

۲-۲- تهیه محیط کشت

محیط کشت های مختلف با توجه به گروههای مختلف جلبکی و گونه های مختلف تهیه گردید. محیط کشت پس از تهیه توسط اتوکلاو استریل گردید. لوله ها و ارلن های حاوی محیط کشت جز در مواردی که شامل ویتامین یا ترکیبات قندی بود پس از بستن سر آنها با کاغذ آلومینیمی بمدت ۳۰-۱۵ دقیقه در فشار یک اتمسفر یاb/in ۱۵۱ در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد استریل شدند. محیط کشت های مختلف پس ازاستریل شدن توسط اتوکلاو به اتاق UV منتقل گردیدند.

۱-۲- ۲- محیط کشت زایندر

این محیط کشت میتواند برای جلبکهای مانند کلرلا و سندسموس استفاده می شود و از ۴ محلول ساخته میشود. برای ساختن یک لیتر محیط کشت زایندر۳سی سی از محلول شماره ۱ ، یک سی سی محلول شماره ۲، ۱۰ سی سی محلول شماره ۳ و نیم سی سی از محلول شماره ۴ توسط آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده میشود. شایان ذکر است که محلول شماره ۱ آن برای جلبکهای سبز و سبز – آبی متفاوت است .ترکیب این محلولها عبارتند از :

- محلول شماره ۱ (جلبکهای سبز) :

برای ساختن این محلول عناصر زیر به نسبت های ذیل در ۳۰۰ سی سی آب مقطر حل گردید:

NaNO3	۴۶/۷ گرم
Ca(NO3)2.4H2O	۵/۹ گرم
MgSO4.7H2O	۲/۵گرم

- محلول شماره ۲ :

برای ساختن این محلول عناصر به میزان ذیل در ۳۰۰ سی سی آب مقطر حل گردیدند.

KH2PO4	۳/۹ گرم
NaCO3	۳/۶ گرم

- محلول شماره ۳ :

برای ساختن این محلول ابتدا دو محلول A و B ساخته شد که ترکیب آنها چنین بود:

- محلول A :
- ۱/۳۵۱ گرم FeCl3.6H2O + ۱/۵ میلیگرم HCl + ۱۵۰ میلی لیتر آب مقطر

- محلو ل B :

۲/۱۹۱۵ گرم EDTA.Na2 + ۱۵۰ میلی لیتر آب مقطر

پس از ساخته شدن محلول A و B به میزان ۵سی سی از هریک در ۵۰۰ سی سی آب مقطر اضافه شده و محلول شماره ۳ ساخته می شود.

- محلول شماره ۴ :

برای ساختن محلول ۴ عناصر به نسبتهای ذیل در ۵۰۰ سی سی آب مقطر حل شدند.

Na2SO3.9H2O	۲۵ میلیگرم
H3BO3	” ” ۱۵۵۰
MnCl2.4H2O	” ” ۱۱۱۵
(NH4)6Mo7O27.4H2O	” ” ۴۴
KBr	” ” ۵۹/۵
ZnSO4.7H2O	” ” ۱۴۳/۵
KI	” ” ۴۱/۵
Co(NO3)2.6H2O	” ” ۷۳
CuSO4.5H2O	” ” ۶۲/۵
Al2(SO4).18H2	” ” ۲۳۷
LiCl.H2O	” ” ۲۵

۲-۲-۲- محیط کشت TRML

این محیط کشت برای ابعاد وسیع برای جلبکهای زیادی مانندسندسموس و کلرلا بکار می رود.میزان عناصر مورد نیاز برای یک تن آب بدین شرح می باشد

NaNO3	۱۰۰ گرم
NaH2PO4	۱۰گرم
Na2SiO3	۴ گرم
Na2EDTA	۱-۱/۵ گرم
FeCl3	۲/۵ گرم

۳-۲-۲- محیط کشت Zarrouk :

این محیط کشت برای جلبک اسپیرولینا استفاده می شود.

محیط کشت شماره 1	دریک لیترآب مقطر
NaHCO3	۱۸ گرم
NaNO3	۲/۵ گرم
KHPO4	۰/۵ گرم
K2SO4	۱ گرم
NaCl	۱ گرم
CaCl2	۰/۰۴ گرم
Na2EDTA	۰/۰۸ گرم
MgSO4.7H2O	۰/۲ گرم
FeSo4.7H2O	۰/۰۱ گرم

۱ میلی لیتر محیط کشت شماره ۲

محیط کشت شماره۲	گرم در لیتر
H3BO3	۲/۸۶
(NH4)6MO7O24	۰/۰۲
MnCl2.4H2O	۱/۸
CuSO4	۰/۰۸
ZnSO4.7H2O	۰/۲۲

محلول نهایی توسط محلول NaOHیک مول در لیتر به pH ۸/۲ برسد.نور لازم برای اسپیرولینا حدود ۲۵۰۰۰ تا ۲۰۰۰ لوکس می باشد.

٤-۲-۲- محیط کشت ساتو

این محیط کشت برای جلبک کلرلا و برخی جلبکهای دریایی استفاده می شود.

	استوک (در لیتر)	محلول اصلی(در لیتر)
NaNO3	۱۰ گرم	۱۰ سی سی
NaHCO3۱۰	۱۰گرم	۱۶/۸ سی سی
NaH2PO4.2H2O	۱۰گرم	۱سی سی
NaSiO3	۱۰ گرم	1 سی سی
محلول ۱		۱ سی سی
محلول ۲		۱ سی سی

محلول ۱	در ۱۰۰میلی لیتر	در یک لیتر
NaEDTA		۴ گرم
ZnCl2		۰/۰۴ گرم
CoCl2.6H2O	۰/۰۰۸ گرم	۱میلی لیتر
H3BO3		۳/۴۴ گرم
MnCl2.4H2O		۰/۲۷ گرم
CuSO4.5H2O	۰/۰۰۴ گرم	۱ میلی لیتر

محلول ۲	در ۱۰۰میلی لیتر
KI	۱۰ گرم
Iodine crystals	۵گرم
Acetic acid	۱۰ میلی لیتر

pHمحلول نهایی باید ۷/۵ الی ۸ باشد سپس اتوکلاو می گردد.

در هنگام کشت یک دهم گرم از پودر ویتامین های B1، B2 و B12 را در یک لیتر آب حل کرده و به ازای هر لیتر محیط کشت ۱ تا ۵ سی سی ویتامین استفاده می شود.

۵-۲-۲- محیط کشت F2 (Guillard and Ryther 1962, Guillard 1975)

این محیط کشت برای جلبکهای نواحی ساحلی خصوصا دیاتومه ها استفاده می شود. در این بررسیها برای کشت کلرلا و همچنین سیکلوتلا استفاده شده است .

به ۹۵۰ میلی لیتر از آب دریای فیلتر شده (ابتدا به آب دریا به میزان ۵ میلی گرم در لیتر کلر اضافه نموده و پس از ۲۴ ساعت با ۲/۵ میلیگرم تیوسولفات خنثی می شود. سپس بعد از ۲۴ ساعت از فیلتر ۱۰ میکرون آب را عبور داده و تحت اشعهUV قرار داده خواهد شد) ترکیبات زیر استفاده می شود(جدول شماره ۱-۲) .

سپس حجم نهایی با آب دریای فیلتر شده به یک لیتر رسانده می شود.در این بررسیهاعلاوه بر آب دریا در برخی موارد از آب مصنوعی هم بجای آب دریا برای ساخت محیط کشت استفاده شد.

جدول شماره ۱-۲- محیط کشت F2 (Guillard and Ryther 1962, Guillard 1975)

Component	Stock Solution	Quantity	Molar Concentration in Final Medium
$NaNO_3$	75 g/L dH_2O	1 mL	8.82×10^{-4} M
NaH_2PO_4 H_2O	5 g/L dH_2O	1 mL	3.62×10^{-5} M
Na_2SiO_3 $9H_2O$	30 g/L dH_2O	1 mL	1.06×10^{-4} M
trace metal solution	(see recipe below)	1 mL	---
vitamin solution	(see recipe below)	0.5 mL	---

تهیه محلول عناصر کمیاب یا Trace Metal Solution :

به ۹۵۰ میلی لیتر آب مقطر عناصر زیر را اضافه می شود و سپس حجم نهایی را با آب مقطر به یک لیتر رسانده و اتو کلاو می گردد(جدول شماره۲-۲) .

جدول ۲-۲- عناصر کمیاب محیط کشت F2

Component	Primary Stock Solution	Quantity	Molar Concentration in Final Medium
$FeCl_3$ $6H_2O$	---	3.15 g	1.17×10^{-5} M
Na_2EDTA $2H_2O$	---	4.36 g	1.17×10^{-5} M
$CuSO_4$ $5H_2O$	9.8 g/L dH_2O	1 mL	3.93×10^{-8} M
Na_2MoO_4 $2H_2O$	6.3 g/L dH_2O	1 mL	2.60×10^{-8} M
ZnSO4 $7H_2O$	22.0 g/L dH_2O	1 mL	7.65×10^{-8} M
$CoCl_2$ $6H_2O$	10.0 g/L dH_2O	1 mL	4.20×10^{-8} M
$MnCl_2$ $4H_2O$	180.0 g/L dH_2O	1 mL	9.10×10^{-7} M

- **تهیه ویتامین محیط کشت F2 :**

اول محیط کشت اصلی را آماده می کنیم . برای آماده کردن محلول ویتامین به ۹۵۰ میلی لیتر آب مقطر تیامین را به میزان ذکر شده در جدول ۳-۲ ریخته و لی بیوتین و سیانوکوبالامین را ابتدا آماده کرده، سپس

به مقدار ذکر شده در یک لیتر اضافه می گردد و حجم نهایی به یک لیتر رسانده خواهد شد. محلول در یخچال نگهداری شود.

جدول شماره ۳-۲- ویتامین های محیط کشت F2

ترکیب	Primary Stock Solution	Quantity	Molar Concentration in Final Medium
thiamine HCl (vit. B_1)	---	200 mg	2.96×10^{-7} M
biotin (vit. H)	0.1 g/L dH_2O	10 mL	2.05×10^{-9} M
cyanocobalamin (vit. B_{12})	1.0 g/L dH_2O	1 mL	3.69×10^{-10} M

- تهیه آب مصنوعی دریا :
- عناصر زیر با آب مقطر به یک لیتر رسانده می شود.

Nacl ۵/۹ گرم

MgCl2 ۱/۲۴ گرم

Na2SO4 ۰/۹۷ گرم

CaCl2 ۰/۲۷ گرم

KCl ۰/۱۱ گرم

NaHCo3 ۰/۰۴۸ گرم

KBr ۰/۰۲۴ گرم

H3Bo3 ۰/۰۰۶ گرم

SrCl2 ۰/۰۰۶ گرم

NaF ۰/۰۰۳ گرم

٦-۲-۲- محیط کشت جوردن(Jourdan,2001)

این محیط کشت برای کشت انبوه اسپیرولینا خصوصا در حوضچه یا استخراستفاده می شود. برای تهیه این محیط کشت به یک لیتر آب مقطر عناصر زیر اضافه می شود(جدول ۴-۲) :

جدول شماره ٤-۲- محیط کشت جوردن

مواد شیمیایی	گرم در لیتر
Na_2CO_3	۵
NaCl	۵
KNO_3	۲
$NaHCO_3$	۱
$K2PO_4$ کریستاله	۱
Urea	۰/۰۲
NH4PO4 کریستاله	۰/۱
MgSO4.7H2O	۰/۲
Lim	۰/۰۲
$FeSO_4$	۰/۰۰۵

در محیط کشت pH می تواند به ۱۰ تا ۱۰/۴ هم برسد.

۷-۲-۲- محیط کشت جوردن اصلاح شده برای جلبک اسپیرولینا

این محیط کشت برای کشت انبوه اسپیرولینا(جدول شماره ۵-۲) استفاده می شود.

جدول شماره ۵- ۲- محیط کشت اسپیرولینا

غلظت گرم در لیتر	ترکیبات شیمیایی
۸	NaHCO3
۵	NaCl
۲	KNO3
۰/۱۶	MgSO4. 7 H2O
۰/۰۸	NH4PO4. 12 H2O
۰/۰۱۵	Urea CO(NH2)2
۰/۰۰۵	FeSO4. 7H2O

۸-۲-۲- محیط کشت BBM (Bold's Basal Medium)

این محیط کشت برای جلبکهای سبزمانند کلرلا و سندسموس استفاده می شود . یکی از محیط کشت های خوب برای جلبک کلرلا می باشد.

محلول۱ : NaNO3 به ۲۵ گرم در لیتر

محلول ۲ : Cacl2.2H2O ۲/۵ گرم در لیتر

محلول ۳ : MgSO4.7H2O ۷/۵ گرم در لیتر

محلول ۴ : K2HPO4 ۷/۵ گرم در لیتر

محلول ۵ : KH2PO4 ۱۷/۵ گرم در لیتر

محلول ۶ : NaCl ۲/۵ گرم در لیتر

محلول ۷ : Na2EDTA ۵۰ گرم و KOH ۳۱ گرم به یک لیتر رسانده می شود.

محلول ۸ : FeSO4.7H2O ۴/۸۹ گرم و H2SO4 ۱ گرم به یک لیتر رسانده می شود.

محلول ۹ : H3Bo3 ۱۱/۴۲ گرم در لیتر

محلول ۱۰ : عناصر زیر به یک لیتر رسانده می شود:

- ZnSO4.7H2O ۸/۸۲ گرم
- MnCl.4H2O ۱/۴۴ گرم
- MoO3 ۰/۷۶ گرم
- CuSO4.5H2O ۱/۵۷ گرم
- Co(NO3)2.6H2O ۰/۴۹ گرم

برای تشکیل یک لیتر محیط کشت ۱۰ میلی لیتر از هریک از محلول های ۱ تا ۶ ، ۱ میلی لیتر و از هریک از محلولهای ۷ تا ۱۰ نیز یک میلی لیتر با آب مقطر به یک لیتر رسانده می شود. pH در حدود ۶/۶ رسانده شود.

۹-۲- ۲- محیط کشت اختصاصی کلرلا ولگاریس

مواد زیر را با آب مقطر به حجم یک لیتر و pH حدود ۶/۸ تنظیم می شود.

جدول شماره ٦-۲- محیط کشت اختصاصی کلرلا ولگاریس

ماده شیمیایی	مقدار به گرم	ماده شیمیایی	مقدار به گرم
KNO3	۱/۲۵	MnCl2	۰/۰۱۴
KH2PO4	۱/۲۵	ZnSO4.7H2O	۰/۰۹
MgSO4.7H2O	۱	CuSO4.5H2O	۰/۰۱۶
CaCl2.2H2O	۰/۰۸۵	MoO#	۰/۰۰۷
FeSO4.7H2O	۰/۰۵	Co(NO3)2.6H2O	۰/۰۰۵
EDTA-Na	۰/۵	H3BO3	۰/۱۱۴

۳ـ۲ـ روش جداسازی و خالص سازی میکروجلبکها

کلیه میکروجلبکها ازآب استخرهای پرورشی ماهیان گرمابی و جلبک *Cyclotella menegiana* از تالاب انزلی نمونه برداری شد. چندین تکنیک آزمایشگاهی جهت خالص سازی سلولهای میکروجلبکی وجود دارد که عبارتند از : سریالی از کشت های رقیق شده ، ظروف کشت پشت سرهم بر روی محیط کشت آگار و جداسازی با استفاده از پی پت مویی یا نازک و ظریف .

باکتریها می توانند از محیط کشت میکروجلبک بوسیله شتشو یا کشت دادن در ظروف در حضور آنتی بیوتیک ها حذف گردند. خالص سازی کشت می تواند با یک لوله آزمایش محتوی آب دریا یا یک گرم در لیتر پکتوپپتون صورت پذیرد.بعد از خالص سازی یک قطره از محیط کشت آزمایش شده اضافه و هر باکتری که وجود داشته باشد با محلول پکتوپپتون جدا می گردد.

جمع آوری جلبک های خالص بایستی با دقت و محافظت در برابر آلودگی در مدت جابه جایی و نیز ضعف در تنظیم درجه حرارت صورت پذیرد. به منظور کاهش ریسک دو سری از ذخیره ها (استوک ها) اغلب نگهداری شده یکی از آنها به عنوان کشت ابتدایی جهت سیستم تولیدی استفاده شده و دیگری تنها به منظور استفاده های بعدی نگهداری می گردد. استوک های پرورشی می بایستی در لوله آزمایشی با شدت نور تقریبا ۱۰۰۰ لوکس و درجه حرات مناسب نگهداری شوند. استوک های پرورشی برای مدت تقریبا یک ماه نگهداری شده و سپس جهت بوجود آوردن یک حط کشت جدید منتقل می شوند.

در بررسیهای حاضر جداسازی به شرج ذیل صورت گرفت:

ابتدا توسط روتنر یا تور پلانکتونی نمونه ای از محیط آبی که گونه ها ی مورد نظر در آن وجود داشت برداشت نموده و به آزمایشگاه انتقال داده شد. جهت جداسازی گونه های جلبکی ابتدا اتاق UV و دستگاه لامیناریاکس را به مدت نیم ساعت جهت استریل نمودن فضا و ایزار مورد نیاز روشن گردید. جهت جلوگیری از ورود میکروبهای دهان ماسکی به صورت زده شد . دستگاه تهویه و سیرکوله لامیناریاکس روشن شده و شعله چراغ گاز نیز روشن گردید. بر روی پلیت چند قطره به فاصله آب مقطر یا آب محیط کشت ریخته شد. از نمونه زنده محیطی یک قطره به آب قطره اول پلیت اضافه گردید و در زیر میکروسکوپ مورد بررسی و جداسازی قرار گرفت . پس از یافتن گونه مورد نظر توسط پی پت پاستور استریل که انتهایش(نوکش) در زیر شعله کشیده و به قطر ۱۰۰- ۷۵ آگستروم شده بود و سر پستانکی نیر به قسمت سر آن وصل بود ، گونه مورد نظر را برداشته و به قطره بعدی انتقال داده شد و از قطره دوم نیز گونه مزبور توسط پی پت پاستور تمیز دیگری به قطره سوم منتقل شد و این عمل تا مرحله نهایی که فقط گونه مورد نظر وجود دارد ادامه یافت.

در مرحله آخر لوله محتوی کشت را گرفته و در کنار شعله پنبه و کاغذ نسوز آنرا برداشته و سپس گونه جداسازی شده توسط پی پت پاستور تمیزی در کنار شعله به داخل لوله حاوی محیط کشت تلقیح شد. مشخصات لازم بر روی لوله ثبت و به روی میزهای کشت با نور تقریبا ۱۰۰۰ لوکس و گاها ۳۵۰+ ۳۵۰۰

لوکس (Stewdrt,1974) و دمای ۲+ ۲۵ (Rennold,1975) درجه سانتی گراد در اتاق کشت و پرورش با ۱۰ ساعت تاریکی و ۱۴ ساعت روشنایی (Nielson and steeman,1978) منتقل گردید.

کشت های خالص میکروجلبک ها که جهت اهداف آبزی پروری استفاده می شوند ممکن است از مجموعه کشت های مخصوص تأمین گردد. لیستی از مجموعه های کشت توسط Vonshak در سال ۱۹۸۶ و Smith و همکاران در سال ۱۹۹۳ تهیه شده است .

خالص سازی گونه های بومی جلبکی ساده نبوده زیرا اندازه سلول ها کوچک و با دیگر گونه های اپی فیتیک رابطه دارد . چندین تکنیک آزمایشگاهی جهت خالص سازی سلول ها، همچون سریالی از کشت های رقیق شده (آبکی) ، ظروف کشت پشت سرهم بر رروی محیط کشت آگار و جداسازی با استفاده از پی پت های مویی یا نازک و ظریف قابل دسترس می باشد. باکتریها می توانند از محیط کشت فیتوپلانکتون بوسیله شستشو یا کشت دادن در ظروف در حضور آنتی بیوتیک ها حذف گردند. خالص سازی کشت می تواند با یک لوله آزمایش محتوی آب دریا با یک گرم بر لیتر پکتو پپتون صورت پذیرد . بعد از خالص سازی یک قطره از محیط کشت آزمایش شده اضافه شده و هر باکتری که وجود داشته باشد با محلول پکتوپپتون جدا می گردد.

استوک های پرورشی می بایستی در لوله ای آزمایشی با شدت نور نگهداری ۱۰۰۰ لوکس و درجه حرارت ۱۶ تا ۱۹ درجه سانتی گراد نگهداری شوند. ثبات نوری جهت نگهداری تاژکداران بسیار مهم است ، اما ممکن است منجر به کاهش اندازه سلول در استوک های پرورشی دیاتومه ها گردد. استوک های پرورشی برای مدت تقریبا یک ماه نگهداری شده و سپس جهت بوجود آوردن یک خط کشت جدید منتقل می شوند.

٤-۲- روش برطرف کردن آلودگیهای احتمالی کشت جلبک و درمان آنها

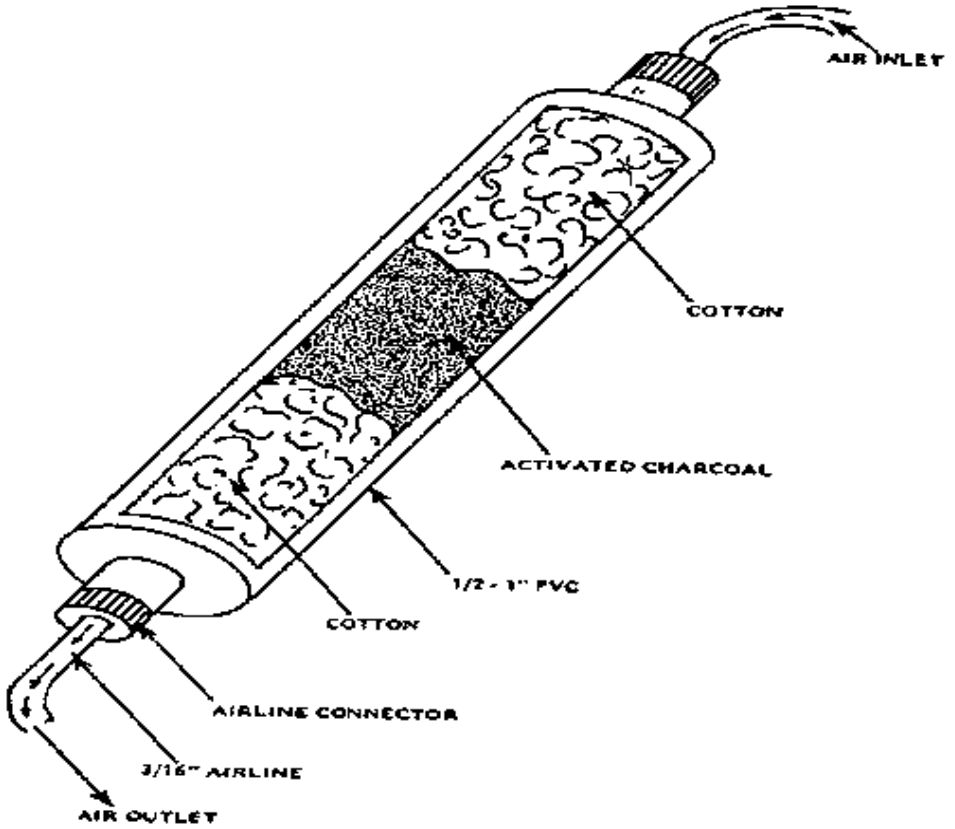
آلودگی با باکتریها ، پروتوزوآ یا دیگر گونه های جلبکی یک مشکل جدی جهت کشت خالص یا تک گونه ای میکروجلبک ها است . عمده منابع آلودگی شامل محیط کشت (آب دریا و مواد مغذی) ، هوا (از منبع تأمین هوا و نیز محیط) ، ظروف کشت و کشت ابتدایی می باشند.

آب دریای استفاده شده جهت کشت جلبک ها بایستی عاری از ارگانیسم هایی که ممکن است با جلبک های تک سلولی رقابت کنند باشد؛ همچنین دیگر گونه های فیتوپلانکتونی ، زئوپلانکتون فیتوپلانکتون خوار یا باکتریها نباشند. بنابر این استریل کردن آب دریا توسط روش فیزیکی (فیلتراسیون ، اتوکلاو کردن ، پاستوریزاسیون و اشعه ماوراء بنفش) و هم روش شیمیایی (کلرینه کردن ، اسیدی کردن و استفاده از ازن) الزامی است .

اتوکلاو کردن بمدت ۱۵ تا ۴۵ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد و با فشار Psi ۲۰ بسته به حجم آب یا پاستوریزاسیون بمدت ۱الی ۲ ساعت با دمای ۸۰ درجه سانتیگراد کاربرد بیشتری جهت استریل کردن محیط کشت در لوله های آزمایش ، ارلن مایر ها و بطریهای شیشه ای خواهند داشت . حجم های بیش از ۲۰ لیتر

معمولا با فیلترهای میکرونی فیلتر شده و با اسید (مثلا اسید کلریدریک با pH =۳ بعد از مدت ۲۴ ساعت با کربنات سدیم خنثی می شود) یا کلرین (مثلا ۱ یا ۲ میلی گرم بر لیتر ، به مدت ۲۴ساعت بدون هوادهی انکوباسیون شده ، سپس بعد از این مدت به مدت ۳-۲ ساعت جهت حذف کلرین هوادهی شده و تیوسولفات سدیم جهت خنثی سازی کلرین نیز ممکن است اگر هوادهی جهت حذف کلرین مناسب نبوده استفاده گردد) تیمار گردد. تیمار نمودن آب زمانی که از آبهای شور زیر زمینی بوسیله حفر کردن زمین تأمین می شود نیاز نخواهد بود . این آبها عموما عاری از موجودات زنده بوده و ممکن است محتوی نمکهای معدنی کافی جهت پشتیبانی کشت های جلبکی بدون نیاز به غنی سازی بعدی باشند. در بعضی از حالات آب چاه محتوی سطوح بالای آمونیوم و نمک های آهن دو ظرفیتی است که خصوصا آهن دو ظرفیتی بعد از هوادهی رسوب خواهد نمود.

یک منبع عمومی آلودگی انسداد لوله های هوا توسط مژه داران می باشد. به همین دلیل لوله های هوا می بایستی خشک نگه داشته و هر دو هوا و دی اکسید کربن بایستی از میان فیلتر های ۰/۳ تا ۰/۵ میکرونی قبل از ورود به کشت عبور داده شوند. جهت حجم های بالاتر هوا، واحد های فیلتر با استفاده از پنبه (کتان) و کربن فعال ساخته می شوند.



شکل ۱-۲- فیلتر هوا(Fox, 1983)

آماده کردن ظروف کشت کوچک یک مرحله حیاتی در مراحل بعدی کشت های جلبکی است

- شستشو با مواد پاک کننده
- شستن با آب گرم
- تمیز نمودن با اسید
- شستشوی دوباره با آب گرم
- خشک کردن قبل استفاده

به تناوب ، لوله ها ، ظروف و بطریها می توانند بوسیله اتوکلاو کردن ، استریل کردن و از ظروف یکبار مصرف کشت مانند کیسه های پلی اتیلنی می توان استفاده نمود.

۵-۲- مراحل پرورش جلبک

۱-۵-۲- کشت در محیط مایع

پس از مراحل جداسازی و قرار دادن لوله های تلقیح داده شده بر روی میزهای کشت جلبک رویش آن یا تغییر رنگ مورد بررسی قرار گرفت . پس از گذشت زمان ۱۴ الی ۲۰ روز و رشد جلبک مجدداً اتاق استریل را UV زده و پس از خاموش نمودن این لامپ نمونه را به اتاق استریل منتقل و سر آن در کنار شعله باز شد . قطره ای از این نمونه در زیر میکروسکوپ مورد مشاهده قرار گرفت . اگر نمونه خالص بود مقداری از آن به ارلن های حاوی همان نوع محیط کشت در کنار شعله تلقیح یا کشت شد. میزان تلقیح یک میلیگرم ماده خشک در لیتر می باشد. اگر نمونه دچار ناخالصی بود باید اقدام به خالص سازی آن نمود. شرایط نوری مناسب ۳۵۰+ ۳۵۰۰ لوکس و دما نیز در محدوده ۲۳ الی ۲۷ درجه سانتیگراد (برای دیاتومه ها کمتر) و با ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی نگهداری گردید.

پس از رشد جلبک در ارلن ها که توسط پی پت هوادهی می شدند (روش Felfoldy,1962) و بازهم بررسی خلوص آنها در اتاق استریل ، کشت در پلاستیک ها و گویهای بزرگتر با همان نوع محیط کشت ادامه یافته و در شرایط نوری و دمای مناسب با ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی پرونده شد. شایان ذکر است که برای کشت آزمایشگاهی جلبکها ی سبز و سبز- آبی از روش Miller et al.,1978 و Ordog,1981 و برای تلقیح از روشFelfoldy,1962 استفاده گردید.

۲-۵-۲-کشت جلبک در محیط جامد

ابتدا با توجه به گونه مورد نظر محیط کشت مایع آن تهیه می شود. سپس به ازای هر ۵۰ سی سی دو گرم آگار به آن اضافه و در ارلن مایر های ۱۰۰ سی سی ریخته شد. ارلن ها اتوکلاو شده و به اتاق کشت منتقل گردیدند. کشت در اتاق استریل زیر دستگاه لامیناریاکس صورت گرفت . ابتدا در داخل در کنار شعله داخل

محیط آگار با لوپ چاهک ایجاد نموده و سپس جلبک در آن چاهک تلقیح گردید. سر این ارلن با کاغذ آلومینیمی پوشانده و در محیط کم نور بدون هوا دهی قرار داده شد تا رشد زیادی نداشته باشد. این محیط های جامد از ۶ تا ۱۲ ماه و گاهاً بیشتر قابل نگهداری بودند.

۲-٦- کمیت بیوماس جلبکی

سلولها مستقیما زیر میکروسکوپ با استفاده از لام توما شمارش شدند و سپس در ۱ میلی لیتر محاسبه گردیدند.

۲-۷- برداشت و نگهداری میکروجلبکها

انواع تکنیک های برداشت توسط Barnabe در سال ۱۹۹۰ و Fox در سال ۱۹۸۳ بیان شده است . کشت های جلبکی با تراکم بالا می توانند بوسیله انبوه سازی شیمیایی یا سانتریفوژ کنسانتره (افشره) گردد. تولیداتی مانند سولفات آلومینیم و کلرید آهن دو ظرفیتی می تواند سبب لخته شدن سلول ها و رسوب آنها در بستر یا شناور شدن آنها بر روی سطح گردد. بازیافت بیوماس جلبکی سپس به ترتیب بوسیله سیفون کردن مواد شناور شده در سطح یا سلول ایی که در بستر ته نشین شده اند انجام خواهد شد.

۲-۸- اندازه گیری وزن خشک

ابتدا کاغذ GFF (Glass fiber filter) ۰/۴۵ میکرون را در آون به مدت ۲ ساعت با دمای ۱۰۵خشک نموده تا رطوبت آن گرفته شود . کاغذ را بعد از ۲ ساعت در دیسیکاتور قرار داده تا گرمای خود را ازدست بدهد.سپس با ترازو وزن کرده و این وزن وزن اولیه کاغذ خواهد بود. در مرحله بعد کاغذ را در قیف بوخنر در دستگاه میلی پور قرار داده و حجم مشخصی از جلبک را در کاغذ توسط دستگاه میلی پور فیلتر و در آون به مدت دوساعت با دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد خشک خواهد شد. پس از طی زمان ۲ ساعت کاغذ مجددا در دیستکاتور قرا گرفته و پس از خنک شدن توزین و عدد حاصله وزن ثانویه کاغذ خواهد بود. در نهایت وزن ثانویه کاغذ را از وزن اولیه کم نموده تا وزن خشک جلبک بدست آید . حال اگر عدد حاصله به فراوانی جلبک در حجم خشک شده تقسیم گردد وزن خشک یک جلبک بدست خواهد آمد.

۲-۹- کنسانتره کردن میکروجلبک

جهت کنسانتره کردن میکروجلبک از دستگاه اسپری درایر(Spray dryer) استفاده شد. از ابزار های مهم در آزمایشگاه تجزیه ودر صنایع غذایی جهت خشک کردن نمونه ها دستگاه خشک کن نوع اسپری درایرمی

باشد که اسپری و خشک کردن نمونه توسط آن انجام می گیرد. این دستگاه شامل بخشهای محفظه اسپری و صفحه تنظیم دما و فشار پمپ و غلتک ورود نمونه می باشد.

استفاده از این ابزار منجر می گردد که نمونه ها در دمای کم و کنترل شده خشک و رطوبت گیری شده تا کیفیت نمونه محفوظ مانده و تجزیه نمونه ها با حداقل خطا انجام گیرد. نظر به ملاحظات فوق در این پروژه مطالعاتی نیز به جهت تهیه نمونه ها از دستگاه اسپری درایر مدل B-290 ساخت کشور سوئیس استفاده گردید که روش کار دستگاه نیز به شرح زیرمی باشد.

ابتدا دستگاه را روشن نموده تا دمای محفظه اسپری درایر به دمای مورد نظر برسد که این عمل طی حدود نیم ساعت انجام می گیرد. همزمان با روشن نمودن دستگاه ، پمپ خلاء را روشن نموده تا دما در کل سیستم یکنواخت گردد. پس از رسیدن به دمای مورد نظر اجازه داده شد تا دستگاه در این دما نثبیت گردد. شیر مربوطه به آب خنک کننده را باز نموده تا از رسوب نمونه ها در مسیر خروجی جلوگیری بعمل آید. بعد از رسیدن به دما ۷۵ درجه سانتیگراد و تثبیت شدن آن ، شیر کمپرسور هوا را باز نموده و درجه فشار کمپرسور دستگاه در محدوده ۳۵۷ تا ۴۱۴ لیتر بر ساعت تنظیم گردید.

تنظیم دما و فشار کمپرسور هوا و پمپ خلاء و سرعت ورود نمونه به نازل بطور تجربی انجام گرفته و بسته به نوع حلال در حدی میزان گرید تا حداکثر محصول پودر خشک شده با بهترین کیفیت آن تهیه شود. قبل از استفاده از نمونه اصلی از مقداری آب مقطر استفاده نموده تا شرایط دستگاه ثابت و آماده برای استفاده از نمونه اصلی گردد. شلنگ متصل به غلتک مکش نمونه را در محلول حاوی نمونه میکروجلبک قرار داده و نمونه ها را پس از خشک شدن ، وزن کرده و پس از اتمام کار دستگاه با مقداری آب مقطر شستشو داده تا برای خشک کردن نمونه بعدی آماده شود.

۱۰-۲- دستورکار اندازه گیری پروتئین

روش اندازه گیری پروتئین بر مبنای رفرنس AOAC, 1998 صورت گرفت .

۱ گرم از نمونه تر را بدقت وزن کرده و بدرون یک بالن هضم انتقال دهید.۱ عدد قرص کلدال و ۵۰ سی سی اسید سولفوریک را به آن اضافه کنید. بالن را بمدت ۳۰ دقیقه تحت دمای ۴۲۰ درجه سانتی گراد قرار دهید تا رنگ محلول شفاف گردد.

پس از هضم بالن را سرد کرده و با آب رقیق کنید.

یک ارلن مایر حاوی ۲۵ میلی لیتر اسید بوریک را در زیر قسمت خروجی مبرد قرار دهید.مواد قلیایی (۲۵ میلی لیتر محلول NaOH ۴۰ ٪) را وارد بالن حاوی نمونه هضم شده کرده و آن را بمدت ۴ دقیقه تقطیر کنید.محلول بورات آمونیوم تشکیل شده را با اسید سولفوریک یا اسید کلریدریک ۰/۱ مولار تا تشکیل رنگ خاکستری متمایل به ارغوانی تیتر کنید. این عملیات روی نمونه خشک به میزان ۰/۲۵ گرم نیز انجام شد.

● محاسبه:

میزان ازت و پروتئین غذا به روش زیر محاسبه می شود:

الف) استفاده از اسید کلریدریک ۰/۱M برای تیتراسیون :

$$\text{٪ ازت موجود} = \frac{۰/۱۴ \times A}{\text{وزن غذا بر حسب گرم}}$$

که در آن A عبارت از حجم (میلی لیتر) اسید کلریدریک ۰/۱M مصرفی برای تیتراسیون می باشد.

ب) استفاده از اسید سولفوریک ۰/۱ M برای تیتراسیون :

$$\text{٪ ازت موجود} = \frac{۰/۲۸ \times B}{\text{وزن غذا بر حسب گرم}}$$

که در آنB عبارتست از حجم (میلی لیتر) اسید کلریدریک ۰/۱M مصرفی برای تیتراسیون می باشدو بالاخره:

$$\text{٪ پروتئین} = \text{٪ ازت} \times \frac{۱۰۰}{\text{٪ ازت در پروتئین}}$$

۱۱-۲- روش اندازه گیری چربی کل

از نمونه خشک که کاملا پودر شده مقدار ۱ گرم و از نمونه های تربه میزان ۵ گرم را به دقت وزن کرده وبه لوله آزمایش درب پیچیده ریخته و به روش Folch *et al.* (1957) استخراج چربی رابا استفاده از مخلوط (کلروفرم+متانول) صورت می گیرد. جهت تسریع بخشیدن به عمل استخراج بعد ازبستن در لوله ،آن را به شدت بهم زده ودر داخل اولتراسوند به مدت ۱۰ دقیقه قرار می دهیم بعد مخلوط را سانتریفیوژنموده و حلال حاوی چربی را به داخل لوله آزمایشی که وزن آن را یادداشت کرده ایم ریخته و مرحله فوق را دو مرتبه دیگر انجام میدهیم وسپس توسط گاز نیتروژن کلروفرم ومتانول را تبخیر کرده و وزن لوله حاوی چربی را دوباره اندازه گیری کرده وا اختلاف آنها درصد چربی محاسبه می گردد.

۱۲-۲- آنالیز اسیدهای چرب

تجهیزات آزمایشگاهی:

دستگاه کروماتوگراف گازی مدل Agilent-6890 ساخت کمپانی Agilent آمریکا، مجهز به دریچه تزریق کاپیلاری ، ستون کاپیلاری ویژه تجزیه اسید های چرب ، دتکتور یونش شعله ای (FID) (شکل ۵-۲) می باشد. پردازش داده های دستگاه با استفاده از نرم افزار Chemstation در محیط ویندوز انجام شد.

شکل ۵-۲- دستگاه کروماتوگرافی

برای جداسازی حلال از چربی از دستگاه تقطیر تحت خلا (روتاری) ساخت کمپانی Hidolph آلملن مدل Laborta 4003 (شکل ۶-۲) استفاده گردید.

شکل ٦-۲- دستگاه تقطیر تحت خلاء

مواد آزمایشگاهی: گاز های نیتروژن و هیدروژن مورد استفاده برای آنالیز با دستگاه کروماتوگراف گازی با خلوص تجزیه ای ۹۹/۹۹۹٪ از شرکت اکسیژن سبلان نمایندگی شرکت Air Product انگلستان تهیه شدند. هوای فشرده از شرکت اکسیژن ارومیه گاز فراهم گردید. حلالهای هپتان نرمال، کلرفرم، متانول با خلوص بالا از شرکت کالدون کانادا تهیه شده و بدون تخلیص مجدد مورد استفاده قرار گرفته اند. هیدروکسید پتاسیم و سایر نمک ها از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

وزن خشک برای اسید چرب بین ۰/۵ الی ۱ گرم (بسته به در صد چربی با افزایش در صد چربی نمونه مقدار نمونه کم نیاز است) و در نمونه های تر حدود ۵ گرم نمونه وزن می شود. اندازه گیری اسیدهای چرب به روش Desvilettes et al.,1994 انجام شد.

۱۳-۲- اندازه گیری ویتامین E

روش اندازه گیری ویتامین E بر مبنای رفرنس Paixa and Campos,2003 انجام شد.

حدود ۰/۵ گرم نمونه بدقت توزین شده درون لوله آزمایش درپیچ دار ریخته می شود. بر روی آن ۴ میلی لیتر محلول ۵٪ متا فسفریک اسید ریخته شده و توسط vortex به شدت همزده شده و همگن می شود. سپس دوبار با ۲ میلی لیتر محلول ۱٪ BHT در هگزان استخراج می گردد. حلال هگزان تحت جریان گاز ازت تبخیر شده و باقیمانده خشک در ۲۵۰ میکرولیتر استونیتریل حل و به HPLC تزریق می شود.

دستگاه HPLC مدل ۱۱۰۰ ساخت کمپانی Agilent آمریکا و مجهز به ستون C18 به طول ۱۵ سانتی متر و دتکتور ماوراء بنفش برای اینکار بکار گرفته شد. ترکیب فاز متحرک بکار رفته حاوی ۶۸٪ استونیتریل، ۲۲٪ تتراهیدروفوران، ۷٪ متانول و ۳٪ آمونیوم استات (۱٪) با فلوی ۱ میلی لیتر در دقیقه بود. طول موج دتکتور در 325 نانومتر تنظیم گردید.

۱۴-۲- اندازه گیری ویتامین C

مواد و دستگاه های مورد استفاده:

نمونه ماهی- محلول متافسفریک اسید ۵٪ ،

دستگاه اولتراسوند

دستگاه سانتریفوژ Hettich- ساخت آلمان

دستگاه HPLC

روش آزمایش:

روش اندازه گیری ویتامین E بر مبنای رفرنس Paixa and Campos,2003 انجام شد.

250 میلیگرم از نمونه تر جلبک و ۱۰۰ میلی گرم از نمونه خشگ جلبک را به دقت وزن نموده و به آن ۴ میلی لیتر از محلول متافسفریک اسید ۵٪ اضافه کرده و با دستگاه هموژنایزر بخوبی هموژن میکنیم. بعد از مرحله هموژن سازی لوله محتوی نمونه را در دستگاه اولتراسوند به مدت ۵ دقیقه قرار داده و بعد ازاتمام ۵ دقیقه به دستگاه سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای صفر درجه با دور ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. بعداز سانتریفوژ از فاز بالایی(شفاف) از فیلتر ۰/۴۵ میکرون عبور داده شد و ۲۰ میکرو لیتر به دستگاه HPLC تزریق گردید.

مشخصات دستگاه **HPLC**:

HPLC Agilent 1100 series
Detector: Diode Array Detector (DAD) – 254 nm
Column: shimadzu VP-ODS (25cm)

فاز متحرک محلول ۱٪ تترابوتیل آمونیوم هیدروکسید و بافر استات در pH برابر ۵ و فلوی آن ۰/۵ میلی لیتر بر دقیقه.

شکل ۷-۲- شکل دستگاه HPLC

۱۵-۲- اندازه گیری ویتامین A

روش اندازه گیری ویتامین E بر مبنای رفرنس Paixa and Campos,2003 انجام شد.

در نمونه های تر برای آنالیز ویتامین A حدود ۰/۵ گرم (به دقت وزن می کنیم). در نمونه های خشک برای آنالیز ویتامین A ۰/۲ گرم از نمونه های خشک در نظر گرفته شد.

حدود ۰/۵ گرم نمونه بدقت توزین شده درون لوله آزمایش درپیچ دار ریخته می شود. بر روی آن ۴ میلی لیتر محلول ۵٪ متا فسفریک اسید ریخته شده و توسط vortex به شدت همزده شده و همگن می شود. سپس دوبار با ۲ میلی لیتر محلول ۱٪ BHT در هگزان استخراج می گردد. حلال هگزان تحت جریان گاز ازت تبخیر شده و باقیمانده خشک در ۲۵۰ میکرولیتر استونیتریل حل و به HPLC تزریق می شود.

دستگاه HPLC مدل ۱۱۰۰ ساخت کمپانی Agilent آمریکا و مجهز به ستون C18 به طول ۱۵ سانتی متر و دتکتور ماوراء بنفش برای اینکار بکار گرفته شد. ترکیب فاز متحرک بکار رفته حاوی ۶۸٪ استونیتریل، ۲۲٪ تتراهیدروفوران، ۷٪ متانول و ۳٪ آمونیوم استات (۱٪) با فلوی ۱ میلی لیتر در دقیقه بود. طول موج دتکتور در 325 نانومتر تنظیم گردید.

۲-۱۶- روش بررسی کلروفیل و کاروتن

نمونه های وزن شده را در ۵۰ میلی لیتر متانول بازای هر گرم قرار داده و با هموژنایزر در ۱۰۰۰ دور به مدت یک دقیقه هم می زنیم . محلول هموژن شده با دو لایه پارچه پنیر فیلتر نموده و بمدت ۱۰ دقیقه در دور ۲۵۰۰ سانتریفوژ می شود. مایع رویی جداسازی شده و در طول موج ۷۰۰-۴۰۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر مدل Shimadzu خوانده می شود.

اعداد خوانده شده طبق فرمول های زیر (Lichtetaler and Wellbum,1985)

محاسبه شدند.

$$Ca = 15.65\ A666 - 7.340\ A653$$
$$Cb = 27.05\ A653 - 11.21\ A666$$
$$Cx+c = 1000\ A470 - 2.860\ Ca - 129.2\ Cb/245$$

۲-۱۷- روش اندازه گیری رطوبت

حدود ۱۰-۵ گرم جلبک آماده شده ماهی در داخل آون با دمای ۲ ± ۱۰۳ درجه سانتی گراد به مدت ۶ ساعت قرار گرفته و پس از آن به داخل دیسیکاتور انتقال یافت . نمونه پس از سرد شدن مجددا توزن گردیده و عمل خشک شدن تا زمانی ادامه یافت که تغییر وزن محسوسی در نمونه دیده نشد . میزان رطوبت از رابطه زیر(پروانه ، ۱۳۷۱) محاسبه شد:

$$\text{درصد رطوبت} = \frac{(p-a)\times 100}{P}$$

P = وزن جلبک اولیه (گرم)

a = وزن نمونه خشک شده پس از آون (گرم)

۲-۱۸- اندازه گیری خاکستر

بوته به همراه ۵ گرم جلبک مورد آزمایش دقیقا توزین شده و به کوره الکتریکی با حرارت ۵۰۰ تا ۵۵۰ درجه سانتیگراد منتقل گردید و به مدت ۶ ساعت بوته در کوره قرار داده شد تا رنگ خاکستر کاملا سفید گردد.

پس از آن بوته به دسیکاتور منتقل شد و پس از سرد شدن مجددا توزین گردد . درصد خاکستر جلبک از فرمول زیر (پروانه ، ۱۳۷۱) محاسبه شد:

$$\text{درصد خاکستر} = \frac{(M2-M1)\times 100}{M0}$$

M2 = مقدار بوته و جلبک پس از کوره (گرم)

M1 = مقدار بوته و جلبک قبل از کوره (گرم)

M0 = وزن جلبک اولیه (گرم)

۱۹-۲-روش بررسی تغذیه دافنی با جلکهای مختلف

- کشت دافنی :

در این آزمایشات بدلیل اینکه به تعداد محدودی دافنی مورد نیاز می باشد دافنی ها در آکواریوم های ۲۰ لیتری حاوی آب فاقد کلر پرورش یافتند . این دافنی ها با جلبـــــــک *Scenedesmus obliquus* تغذیه شدند و آب دافنی ها در هفته سه بار تعویض شد.

میزان کشت دافنی ۵۰ عدد در هر لیتر بوده و آنها در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۱±۲۲ درجه سانتیگراد و شدت نور ۱۰۰۰ لوکس پرورش یافتند.

-آزمایش تغذیه دافنی :

ابتدا در ه میزان ۲۵۰ سی سی آب مقطر ریخته سپس به هریک از ارلن ها به میزان ۱۰ میلی گرم در لیتر جلبک اضافه شد.شایان ذکر است که در هر ارلن جلبک مجزایی ریخته شد ، بطوریکه در ارلن های ۱ تا ۵ به ترتیب جلبکهای *Chlorella vulgaris* ، *Scenedesmus obliquus* ، *Ankistrodesmus falcatus* ، *Oscillatoria agardhi* و *Anabaena variabilis* اضافه گردید. سپس از هر یک از ارلن ها ۵ سی سی نمونه پس از هم زدن یا همگن نمودن برداشته شد و با فرمالین به نسبت ۴ درصد فیکس گردید. در مرحله بعد در داخل هر ارلن ۱۰ عدد دافنی ریخته و سر ارلن ها بسته و به دستگاه دافنی گردان متصل گردانیده شد. پس از اتصال تمامی ارلن ها به دستگاه دافنی گردان جهت جلو گیری از نفوذ نور و رشد جلبک روی دستگاه با پارچه مشکی و یا تیر ه پوشانیده شد . بعد از ۲۴ ساعت دستگاه را خاموش نموده و ارلن ها روی میز کار گذاشته شدند . سپس از هر ارلن مجدداً ۵ سی سی نمونه پس از هم زدن برداشته و داخل لوله آزمایش ریخته شد. نمونه های موجود در لوله ها توسط فرمالین به نسبت ۴ درصد فیکس گردیدند و مشخصاتشان یادداشت شد. قبل از مشاهده و شمارش جلبکها در لوله های اولیه و ثانویه ابتدا نمونه ها شیکر گردید و میزان ۱ سی سی از آن در محفظه شمارش ۱سی سی ریخته و پس از

رسوب نمودن در زیر میکروسکوپ اینورت با عدسی شیئی ۴۰ شمارش شدند . پس از شمارش نمونه های اولیه و ثانویه نرخ فیلتر کردن و بلعیدن از فرمول Gould,1951 بدست آمد.

$$F= \frac{V}{n} \times \frac{\ln C0 - LnCt}{t} - A$$

$$A= \frac{\ln C0 - LnCt}{t}$$

$$I= F \sqrt{C0 \times Ct}$$

نرخ بلعیدن * وزن یک سلول جلبک = نرخ تغذیه (mg/g/h)

که :F نرخ فیلتر کردن ، C0 غلظت اولیه جلبک (سلول در میکرولیتر) ، Ct غلظت نهایی جلبک (سلول در میکرولیتر) ، t زمان اجرای آزمایش به ساعت ، n تعداد دافنی ، V حجم آب ارلن به میکرولیتر ، A فاکتور تصحیح برای تغییرات حاصله در شاهد با غلظت نهایی Ct بعد از زمان t ، C0*Ct میانگین هندسی غلظت جلبک در زمان t و I نرخ بلعیدن می باشد. این آزمایش برطبق روش Fernandez- casalderrey et al., 1984 و فلاحی (۱۳۷۷) انجام شد . شایان ذکر است که آزمایش فوق در سه مرحله تکرار گردید.

۲۰-۲- آزمایش تغذیه ماهی سیلور کارپ

- مواد لازم :
- سیستم کشت جلبک
- آکواریوم ، سنگ هوا و پمپ هوا
- هیتر های برقی
- بچه ماهی سیلور کارپ

این آزمایشات در ۱۵ آکواریوم ۵۰ لیتری صورت گرفت . در داخل این آکواریومها به میزان ۴۵ لیتر آب شیر پر شد و به مدت ۲۴ ساعت جهت از بین رفتن کلر آن هیچ آزمایشی صورت نپذیرفت . درجه حرارت آب در طی آزمایش توسط هیترهای برقی در ۲ ±۲۳ درجه سانتیگراد ثابت نگه داشته شد. بچه ماهیان کپور نقره ای (فیتوفاگ) از یکهفته قبل از شروع آزمایش به ونیرو ها منتقل شد تا با شرایط جدید سازش یابند. یک روز قبل از شروع آزمایش غذادهی قطع گردید. جهت انجام آزمایش در هر آکواریوم ۵ عدد بچه ماهی۲ تا ۳ گرمی پس از توزین و اندازه گیری طول ریخته شد . کلیه شرایط آزمایشگاهی تحت کنترل و یکسان نگهداری گردید.

در مورد جلبک نیز هر یک از جلبکهای *Chlorella vulgaris*، *Scenedesmus obliquus*، *Spirulina* ، *Scenedesmus sp.* و *Cyclotella sp.* که در محفظه های ۸ لیتری کشت شده بودند به مدت ۲۴ ساعت بدون هوادهی رسوب داده شدند سپس آب سطحی پلاستیک مورد سیفون قرارگرفت و رسوبات جلبکی در کف پس از هم زدن به میزان ۱۰ سی سی برداشت و پس از فیلتر شدن در کاغذ *GFF* ۰/۴۵ میکرون بمدت ۲ ساعت در داخل آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. شایان ذکر است که کاغذ فیلتر ۰/۴۵ میکرون قبل از انجام آزمایش به مدت ۲ ساعت در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد گذاشته شد و وزن اولیه آن محاسبه گردید.

نمونه جلبکی پس از فیلتر شدن در کاغذ به مدت ۲ ساعت در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد خشک و توزین گردید. از تفاوت وزن ثانویه و اولیه کاغذ ، میزان وزن خشک جلبک حاصل گردید. پس از محاسبه وزن خشک جلبک به میزان ۲، ۵ و ۱۰ درصد از وزن ماهی به آکواریوم ها ی حاوی بچه ماهی جلبک داده شد . شایان ذکر است که کنسانتره هر جلبک ابتدا در آب خوب حل گردیده و به بچه ماهی داده شد .در این مرحله از هر آکواریوم پس از هم زدن ۵ سی سی نمونه آب برداشت و پس از فیکس شدن با فرمالین جهت شمارش کنار گذاشته شد. سپس روی آکواریوم ها با پارچه مشکی پوشانده شد. پس از طی زمان ۲۴ ساعت پارچه سیاه برداشته و مجدداً نمونه آب آکواریوم هم زده و ۵ سی سی آب جهت شمارش جلبک برداشت و توسط فرمالین فیکس گردید. نمونه های اولیه و ثانویه جلبک توسط میکروسکوپ اینورت شمارش و میزان نرخ فیلتر کردن و بلعیدن با استفاده از فرمول Gould,1951 حاصل آمد. قابل ذکر است که با توجه به محدودیت در تولید کنسانتره توسط اسپری درایر آزمایشگاهی با نگهداشتن شرایط آزمایشگاهی یکسان ابتدا ۲ درصد وزن بدن مورد بررسی قرارگرفت و سپس ۵ درصد و درمرحله آخر ۱۰ درصد مطالعه شد.

۳- نتایج

۳-۱- نتایج جداسازی ، کشت و کنسانتره کردن

از تیر ماه ۱۳۸۸ اقدام به ایزوله سازی ، خالص سازی و کشت نیمه انبوه گونه های میکروجلبکی بومی که در تغذیه ماهیان فیتوفاگ نقش عمده ای دارند گردید . طی این عملیات گونه های *Scenedesmus obliquus* ، *Scenedesmus acuminatus* ، *Ankistrodesmus falcatus* ، *Pediastrum boryanum* ، *Pandorina morum* ، *Chlorella vulgaris* از جلبکهای سبز ، گونه های *Anabaena floe-aquae* و *Oscillatoria agardhi*، *Spirulina platensis* از جلبکهای سبز- آبی و جلبک *Cyclotella meneginiana* از دیاتومه ها جداسازی گردید .اشکال برخی از جلبکها در ذیل آمده است (اشکال ۱-۳ الی ۸-۳)

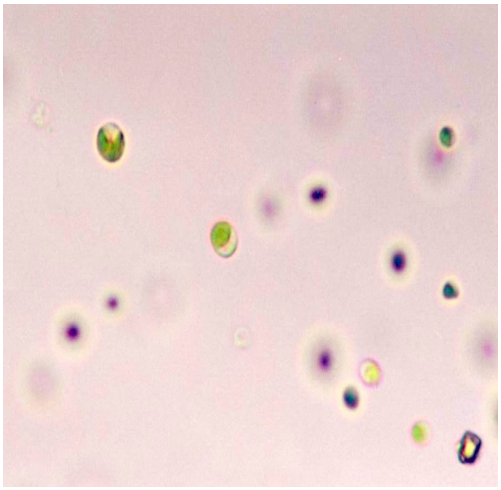
جلکهای سیز *Scenedesmus* ، *pediastrum*، *pandorina* و *Chlorella* در محیط کشت زایندر ، دیاتومه ها در زایندر ولی با آب تالاب انزلی و اسپیرولینادر محیط کشت زاروک کشت داده شد. شایان دکر است که کلرلا در محیط کشت BBM نیز پرورش داده شد.

جهت اقتصادی تر نمودن تولیدگونه ها در محیط کشت TRML نیز کشت شدند و نتایج حاصله نشان داد که هرچند که اکثر گونه ها قادر به رشد در آن بودند ولی شدت رشد در آن کمتر از محیط کشت اختصاصی بوده است .

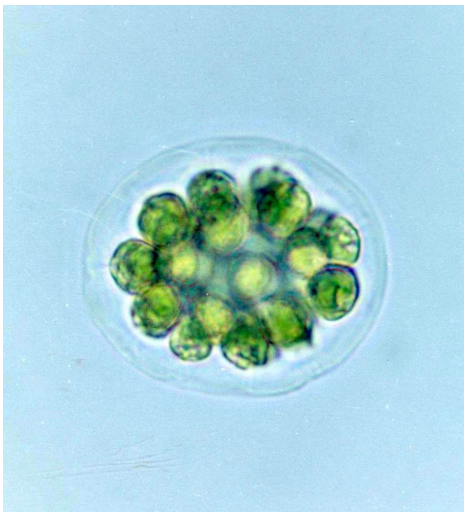
در مرحله بعد اقدام به کنسانتره نمودن جلبکهای فوق الذکر گردید (شکل ۹-۳) . بهترین درجه فشار کمپرسور هوا در محدوده ۳۵۷ تا ۴۱۴ لیتر بر ساعت و دمای ۷۵ درجه سانتیگراد بدست آمد.پودردر جای خشک و خنک دور از نور و تابش خورشید قرار گیرد.

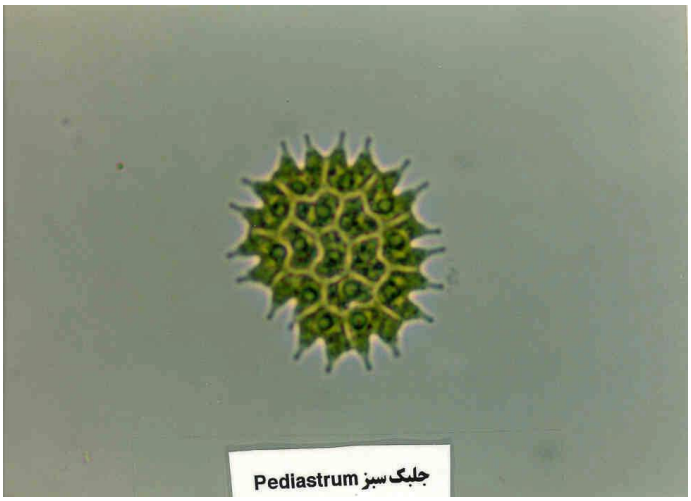
در مرحله بعد تأثیر موفقت آن بصورت آزمایش بر روی تغذیه بچه ماهی فیتوفاگ ۲ تا ۳ گرمی مورد بررسی قرار گرفت . نتایج نشان داد که جلبکهای *Chlorella vulgaris* و *Spirulina platensis* رشد کمتری به این ماهی داده و جلبک *Cyclotella* نقش بیشتری درتغذیه بچه ماهی فیتوفاگ داشته است .

شکل ۱-۳- جلبک *Chlorella vulgaris*

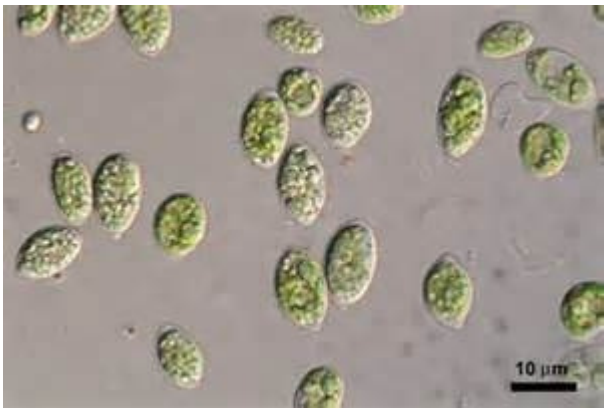


شکل ۲-۳ *Pandorina morum*





شکل ۳-۳- *Pediastrum boryanum*

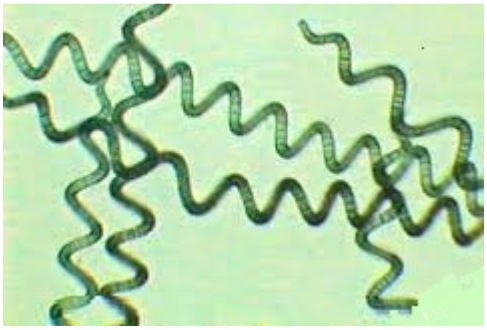


شکل ٤-٣- شکل جلبک *Scenedesmus obliquus*

شکل ٥-٣- جلبک *Scenedesmus*

شکل ٦-٣- جلبک *Scenedesmus acuminatus*

شکل ٧-٣- جنس *Cyclotella meneghiniana*



شکل ۸-۳- جنس *Spirulina platensis*

شکل ۹-۳- کنسانتره تهیه شده از جلبک

۲-۳- نتایج آنالیز ویتامین C:

نتایج در جدول شماره ۱ -۳ آمده است :

همانگونه که نتایج نشان میدهد جلبک تر *Scenedesmus obliquus* دارای بیشترین ویتامین C می باشد که پس از خشک شدن یا کنسانتره شدن حدود ۸۰ درصد ویتامین آن حفظ شده است . اما اکثر جلبکها پس از کنسانتره شدن بیش از ۹۰ در صد ویتامین C در آنها حفظ شده است . بنابر این نتیچه گیری می شود که شیوه کنسانتره نمودن تأثیر زیادی در ازبین رفتن ویتامین C نداشته است . هرچند می شود بازهم وضعیت را بهبود بخشید. در میان جلبکهای خشک میزان این ویتامین در جلبکهای ***Pediastrum buryanum*** و ***Chlorella vulgaris*** به ترتیب بیشترین مقدار بوده است .

جدول شماره ۱-۳- میزان ویتامین C در میکروجلبکهای تر و خشک

نام جلبک	ویتامین ث (میلی گرم برگرم نمونه تر)	ویتامین ث (میلی گرم برگرم نمونه خشک)
Scenedesmus acuminatus	۰/۸۳	۳/۰۶
Pediastrum buryanum	۰/۶۵	۸/۵۵
Chlorella vulgaris	۰/۴۵	۶/۲۷
Pandorina morum	۰/۳۸	۵/۴۸
Scenedesmus obliquus	۱/۴۶	۵/۴۱
Spirulina platensis	۱/۲۳	۵/۱۱
Cyclotella meneghiniana	۰/۸۶	۳/۵۳

۳-۳- نتایج آنالیز ویتامین E

نتایج ویتامین E در جدول شماره ۲-۳ آمده است .نتایج نشان می دهد که باستثناء پدیاستروم میزان ویتامین E پس از کنسانتره شدن کاهش می یابد ولی هنوز کنسانتره حاوی این ویتامین می باشد. شایان ذکر است که میزان ویتامین E در جلبک خشک ***Pandorina buryanum*** و ***Scenedesmus acuminatus*** به ترتیب بیشترین مقدار بوده است .

جدول ۲-۳- میزان ویتامین E در میکروجلبکهای تر و خشک شده

نام جلبک	ویتامین**E** (میلی گرم در گرم نمونه تر)	ویتامین **E** (میلی گرم در گرم نمونه خشک)
Scenedesmus acuminatus	۲۳/۷۴	۶/۶۶
Pediastrum buryanum	۲۰/۵۸	۳/۰۹
Chlorella vulgaris	۵/۶۷	۵/۴۲
Pandorina morum	۱۰/۷۴	۳/۰۸
Scenedesmus obliquus	۶/۷۱	۵/۱۳
Spirulina platensis	۳/۸۸	۳/۵۱
Cyclotella meneghiniana	۰/۷۳۸	۰/۸۱۰

٤-۳- نتایج آنالیز ویتامین A

نتایج آنالیز ویتامین A در جدول ۳ آمده است . نتایج نشان می دهد که میزان این ویتامین در میکروجلبک ***Scenedesmus acuminatus*** کنسانتره شده بیش از سایر جلبکها بوده و ۹۰ درصد این ویتامین د راین جلبکها پس از کنسانتره شدن در اکثر میکروجلبکها حفظ شده است(جدول شماره ۳ -۳).

جدول شماره ۳-۳- میزان ویتامین A در میکروجلبکهای تر و خشک

نام جلبک	مقدار ویتامین Aمیکرو گرم در گرم نمونه تر	مقدار ویتامین Aمیکرو گرم در گرم نمونه خشک
Scenedesmus acuminatus	۰/۸	۳/۹
Pediastrum buryanum	۰/۳	۰/۲
Chlorella vulgaris	۰/۵	۱/۹
Pandorina morum	۰/۶	۱/۳
Scenedesmus obliquus	۱/۳	۲/۸
Spirulina platensis	۶/۹	۰/۴
Cyclotella meneghiniana	۰/۳	۱/۲

۵-۳- نتایج کارتنوئید ها

میزان رنگدانه کلروفیل در جلبکهای مختلف بصورت دیل اندازه گیری شد.میزان کلروفیل a و b جلبک *Scenedesmus obliquus* بیش از سایر جلبکها بود. میزان کلروفیلaوb در برخی از میکروجلبکها مانند اسپیرولینا پس از کنسانتره شدن کاهش یافته است (.جداول شماره ۴-۳ و۵-۳)

جدول ٤- ۳- میزان کلروفیل در وزن تر میکروجلبکهای مختلف

نام نمونه	*Scenedesmus acuminatus*	*Pediastrum buryanum*	*Chlorella vulgaris*	*Pandorina morum*	*Scenedesmus obliquus*	*Spirulina platensis*	*Cyclotella meneghiniana*
کلروفیل a (میکروگرم بر گرم)	۸۸/۲	۱۱۸	۷۴	۲۶۷/۵	۳۹۲/۵	۳۷۱/۵	۲۰۹۲/۵
کلرفیل b (میکروگرم بر گرم)	۵۰/۵	۵۳	۴۱	۱۳۷	۲۰۷	۱۰۱/۳	
کارتنوئید	۵۵۶/۲	۵۶۷/۵	۶۳۳/۱	۵۹۳/۴	۸۱۴/۸	۶۹۶/۵	

جدول ۵- ۳- میزان کلروفیل در وزن خشک میکروجلبکهای مختلف

نام نمونه	*Scenedesmus acuminatus*	*Pediastrum buryanum*	*Chlorella vulgaris*	*Pandorina morum*	*Scenedesmus obliquus*	*Spirulina platensis*	*Cyclotella meneghiniana*
کلروفیلa (میکروگرم بر گرم)	۲۱۸/۸	۱۸۴/۴	۴۸۲/۵	۳۵۱/۸	۷۰۹/۲	۱۸/۶	
کلرفیل b (میکروگرم بر گرم)	۱۶۷/۹	۱۸۲/۸	۲۸۷/۳	۲۸۸/۶	۵۳۶/۲	۹۶/۶	
کلرفیل کل(میکروگرم بر گرم)	۱۷۸۷/۰	۱۹۶۰/۶	۲۷۶۳/۸	۲۸۷۰/۶	۳۳۵۲/۴	۱۳۱۲/۰	

۶-۳- نتایج آنالیز چربی کل

نتایج نشان داد که میزان چربی کل درمیکروجلبک *Scenedesmus obliquus* بیش از سایر جلبکها بوده و میزان چربی کل پس از کنسانتره شدن در اکثر جلبکها تغییر نیافته و یا به میزان ناچیزی تغییر می یابد (جدول شماره ۶ -۳) .

جدول ۶-۳- میزان چربی کل در میکروجلبکهای مختلف

نام جلبک	درصد چربی کل (٪) در نمونه تر	درصد چربی کل (٪) در نمونه خشک
Scenedesmus acuminatus	۲/۲۶	۱۱/۵۶
Pediastrum buryanum	۲/۱۱	۴/۹۴
Chlorella vulgaris	۳/۰۱	۱۳/۸۱
Pandorina morum	۲/۴۶	۱۳/۵۳
Scenedesmus obliquus	۴/۵۵	۱۹/۱۹
Spirulina platensis	۰/۹۸	۳/۳۷
Cyclotella meneghiniana	۰/۷۲	۳/۶۶

۷-۳- نتایج آنالیز پروتئین

میزان پروتئین در میکروجلبکهای مختلف نشان داد که میزان پروتئین در جلبک *Spirulina platensis* بیش از سایر جلبکها بوده و میکروجلبکها پس از کنسانتره و خشک شدن از نظرمیزان پروتئین تغییرنیافته و پروتئین آنها حفظ شده است واین خود نشان میدهدکه نجوه کنسانتره بودن مطلوب بوده است (جدول شماره ۷ -۳) .

جدول شماره ۷ – ۳- میزان درصد پروتئین در وزن خشک و تر میکروجلبکهای مختلف

نام جلبک	درصد پروتئین در وزن تر نمونه (٪)	درصد پروتئین در وزن خشک نمونه (٪)
Scenedesmus acuminatus	۸ /۴	۴۵±۳
Pediastrum buryanum	۵/۷	۲۳/۴
Chlorella vulgaris	۹/۶۱	۵۱ ± ۸
Pandorina morum	۶/۴	۳۵/۱
Scenedesmus obliquus	۸/۹	۴۸± ۳
Spirulina platensis	۱۲/۶	۶۲/۸
Cyclotella meneghiniana	۴/۷	۱۰/۲

۸-۳- نتایج آنالیز اسیدهای چرب

نتایج آنالیز اسید های چرب در جدول۸ –۳ و ۹-۳ و ۱۰-۳ آمده است .

جدول ۸-۳- نتایج آنالیز اسیدهای چرب در میکروجلبکهای مختلف

اسید چرب	درصد در وزن تر *Scenedesmus acuminatus*	درصد در وزن تر *Pediastrum boryanum*	درصد در وزن تر *Chlorella vulgaris*	درصد در وزن تر *Pandorina morum*	درصد در وزن تر *Scenedesmus obliquus*	درصد در وزن تر Spirulina platensis	درصد در وزن خشک Scenedesmus acuminatus	درصد دروزن خشک Pediastrum boryanum	درصد در وزن خشک Chlorella vulgaris	درصد در وزن خشک Pandorina morum	درصد در وزن خشک Scenedesmus obliquus	درصد در وزن خشک *Spirulina platensis*
C14:0	/۵۵۵	۱/۹۷۹	۱/ ۲۲۱	۱/ ۴۱۳	۳/۶۶۷	۸۱۲ ۱/	۳/۶۷۷۴	۸/ ۴۰۵	۳/ ۸۹۸	۱/ ۴۴	۱۰/۴۵	۲/۵
C14: 1n5	۰/ ۲۷۸	۰/ ۰۶۶	۰/ ۰۹۳۷	۰/۰۸۶۲	۰/ ۲۷۸	۰۸۷ ۰/	۲۸۳۸ ۰/	۱۵۹۴ ۰/	۰/ ۱	۱۱۸ ۰/	۰/ ۲۸۹	۰/۰۹
C16: 0	۱۶/ ۲۷۷	۱۴/ ۹۲	۱۵/ ۶۵	۱۷/ ۲۲۴	۱۷/۲۷۸	۴۷	۱۷/ ۱۶	۹۸۵ ۲۸/	۳۹۰ ۱۸/	۸۶۶ ۰/	۱۸/۱۱۱	۴۷/۵
C16: 1n7	۳/۶۶۷	۱/۳۹۹۰	۰/۷۵	۳/۰۸۶۲	۲/۶۶۷	۴/۵	۰۳۲ ۱۱/	۶۹۵۶ ۸/	۲۹۷۳ ۵/	۵۳۰۴ ۲/	۱۰/ ۰۲۹	۴/۸
C18: 0	۰/۷ ۷۷	۰/ ۶۹۹	۲/ ۵۸۳	۴/ ۴۸۲۷	۰/ ۷۷۸	/۸۷۵ ۱	۷۷۴۱ ۰/	۵۶۵۲ ۰/	۱/ ۹۴۹	۲۱۰ ۲/	۰/ ۶۸۱	۱/۶
C18: 1n9	۱۱/۱۴	۱۰/۸۶	۲۹/۴۶	۳۲/ ۷۹	/۴۴۴ ۱۳	/۳۷۵ ۳	۴/۹۶۸	۷/ ۹۷۱	۱۹/۰۷	۰۶ ۲۳/	۱۳/۹۶	۳/۲

C18:1n7	۱/ ۰۵۵	۱/ ۰۹۹	۹۴۸ ۰/	۱/ ۰۸۶	۰۵۵ ۱/	/۱۲۵ ۱	۱/ ۶۷۷	۲/ ۰۲۹	۱/ ۳۴۹	۵۳۰ ۲/	۱/ ۳۶۳	۱/۱
C18:2n6cis	۱۱/۱۳۸	۱۵/۵۹	۵۴ ۱۶/	۱۱/۱۴	۱۸	۱۷/ ۳	۵/ ۰۳۲	۱۴/ ۴۹	۱۲/۱۴	۱۵/ ۴۱	۱۴/۱۲	۱۷/۵
C18:3n6	۲۲/۶۷	۲۳/ ۶۵	۸۹۶ ۶/	۱۴/۴۵	۱۸/۵	/۷۵ ۱۸	۲۲/ ۵۸	۱۱/ ۰۱	۱۸/۵۲	۱۳/ ۲۹	۶۹ ۱۲/	۱۹
C20:0	۳/۶۶۸	۳/ ۴۶۴	۲۹۲ ۱/	۱/ ۸۳	۲۲۲ ۲/	۰/۹۵	۴/ ۵۸۱	۰/ ۸۴	۱/ ۴۷۴	۱/ ۳۱۳	۰/ ۷۱۴	۰/۷
C18:3n6	۱/ ۲۹۱	۷/ ۳۹	۸۵۴ ۰/	۰/ ۹۱۴	۲/ ۵۵۵۵	۰	۰	۰/۷۸۲۶	۲۴۹۳ ۱/	۰۸۱۹ ۲/	۶۱۷ ۰/	۰
C20:1n9	۰/ ۲۲۲	۰	۰/۸۷۵	۰/ ۶۳۸	۰/ ۲۳۹	۰	۰	۰	۲۴۹۸ ۰/	۳۸۴۳ ۰/	۰/ ۱۲۶۵	۰
C18:4n3	۰/ ۲۲۳	۰	۷۷۱ ۰/	۱/۱۵	۰/ ۲۳۲	/۵۲۵ ۰	۰	۲۸۹۸ ۰/	۰/۱۷	۵۳۸ ۰/	۳۱۵ ۰/	۰/۴
C22:0	۰/۶	۱/ ۰۶۶	۰/ ۳۵	۰	۰/ ۵۳۲	۰	۰/ ۱۸۱	۰	۰/ ۱۳۵	۱۱۸ ۰/	۱۴۳ ۰/	۰
C20:3n6	۰	۰	۰	۰	۰	/۰۷۵ ۰	۰	۰	۰/ ۳۰۷	۰	۵۷۸ ۰/	۰/۰۸
C20:3n3	۳/۶۶۷	۰	۰	۰	۰/۲۵۶	۰/ ۳۳	۶	۰	۰	۰	۵۳۶ ۰/	۰/۱۵
C20:5n3	۰/۸۵۵۵	۰/ ۸۶۶۰	۰/ ۵۲	۰/ ۴۳	۰/۵۵	/۱۶۲ ۰	۱/۰۱۲۹	۱۷۳۹ ۰/	۰/۱۹۲۴	۱۴۴۱ ۰/	/۶۰۳۷ ۰	۰/۱۴
C20:4n6	۰/۳	۰/ ۶۳۳	۰	۰	۰/۴	۰	۰/۴۱۲۹	۰	۰/۵۹۹۷	۱۹۲۱ ۰/	۶۴۹ ۰/	۰
C22:5n6	۰/۴۶۶۶	۰/۱۱۳	۰/ ۸۳	۰/۰۶۹	۰/ ۵۸۹	/۳۷۵ ۰	۰/ ۲۳۹	۰	۰	۰/۱	۰/۱۱	۰/۳
C22:5n3	۰	۰/۱۳۳	۰	۰/ ۷۲	۰	۰/۲۵	۰	۹۵۶۵ ۰/	۰	۰	۰/۰۹۷	۰/۲
C22:6n3	۲/۸۸۸	۰/۵۷۳	۱۰/۱	۰/۹۸۳	۳/ ۴۸۳	۰/۸۵	۲/۱۹۳۵	۹۷۱۰ ۱/	۰	۷۹۱ ۰/	۰	۰/۸

جدول۹-۳ - درصد اسید چرب های مختلف در وزن تر جلبکها

اسید چرب	*Scenedesmus acuminatus*	*Pediastrum boryanum*	*Chlorella vulgaris*	*Pandorina morum*	*Scenedesmus obliquus*	Spirulina platensis	*Cyclotella meneghiniana*
SFA	۲۴/۸۷۷	۲۱/۶۶۲	۲۱/۸۱۲	۲۴/۲۹۵	۲۵/۰۰۹	۵۱/۶۳۷	
MUFA	۱۶/۳۶۲	۱۳/۴۲	۳۲/۱۲۷	۳۷/۶۸۶	۱۷/۶۸۳	۹/۳۲۶	
PUFA	۴۸/۹۴۸	۴۸/۹۴۸	۳۶/۵۱۱	۲۹/۸۵۶	۴۴/۵۶۵	۳۸/۶۱۷	

جدول۱۰-۳ - درصد اسید چرب های مختلف در وزن خشک جلبکها

اسید چرب	*Scenedesmus acuminatus*	*Pediastrum boryanum*	*Chlorella vulgaris*	*Pandorina morum*	*Scenedesmus obliquus*	Spirulina platensis	*Cyclotella meneghiniana*
SFA	۲۶/۳۷	۲۸/۷۹۵	۲۵/۸۴۳	۵/۹۴۷	۲۹/۵۱۱	۵۲/۳	
MUFA	۱۷/۹۶	۱۸/۸۵۵	۲۶/۰۶۶	۲۸/۶۲۳	۲۵/۷۶۷	۹/۱۹	
PUFA	۳۷/۲۴	۲۹/۶۷۴	۳۲/۱۷۸	۳۸/۵۴۷	۳۰/۳۰۵	۳۸/۰۷	

۹-۳- نتایج رطوبت و خاکستر در جلبکهای مختلف

نتایج نشان داد که میزان رطوبت در جلبک *Scenedesmus obliquus* بیشترین و در *Cyclotella meneghiniana* کمترین میزان بوده است همچنین میزان خاکستر نیز در جلبک *Chlorella vulgaris* حداکثر مقدارو در *Scenedesmus acuminatus* حداقل برآورد گردید (جدول ۱۱-۳) .

جدول ۱۱-۳- درصد اسید چرب های مختلف درخشک جلبکها

نام گونه	درصد رطوبت	درصد خاکستر
Scenedesmus acuminatus	۱۲/۶	۱/۶
Scenedesmus obliquus	۱۴/۰۶	۱۰/۰۶
Spirulina platensis	۱۳/۰۲	۸/۱۴۸
Chlorella vulgaris	۱۱/۷۹	۱۵/۱۳۶
Cyclotella meneghiniana	۱۱/۴۵	۸/۴۷۵

۱۰-۳- نتایج تغذیه دافنی ماگنا (*Daphnia magna*)با جلبکهای مختلف

نرخ فیلتر شدن ، بلعیدن و تغذیه دافنی ماگنا ازجلبکهای سبز و سیز- آبی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آن در شکلهای ۱۰-۳ ، ۱۱-۳ و۱۲-۳ آمده است . همانطوریکه مشاهده می شود نرخ فیلتر کردن دافنی ماگنا از جلبکهای *Ankistrodesmus falcatus* ، *Chlorella vulgaris*،*Oscillatoria agardhi* ، *Anabaena variabilis* و *Scenedesmus obliquus* به ترتیب ۱۸۲، ۱۳۲، ۶۲۱، ۱۷۵ و ۲۲۸۳ میکرولیتر بازای هر دافنی در ساعت ،نرخ بلعیدن به ترتیب ۶۰۱۵۲ ،۱۰۴۲۱ ،۶۵۱۱۵، ۶۶۷۲۴ ،۳۰۸۸۲ سلول بازای هر دافنی در ساعت ونرخ تغذیه دافنی ماگنا از جلبکهای فوق به ترتیب ۰/۰۱۰ ، ۰/۰۰۹۶ ، ۰/۰۰۱۴ ، ۰/۰۰۱۷ و ۰/۰۲۱۶ میلیگرم بازای هر دافنی در ساعت بوده است.

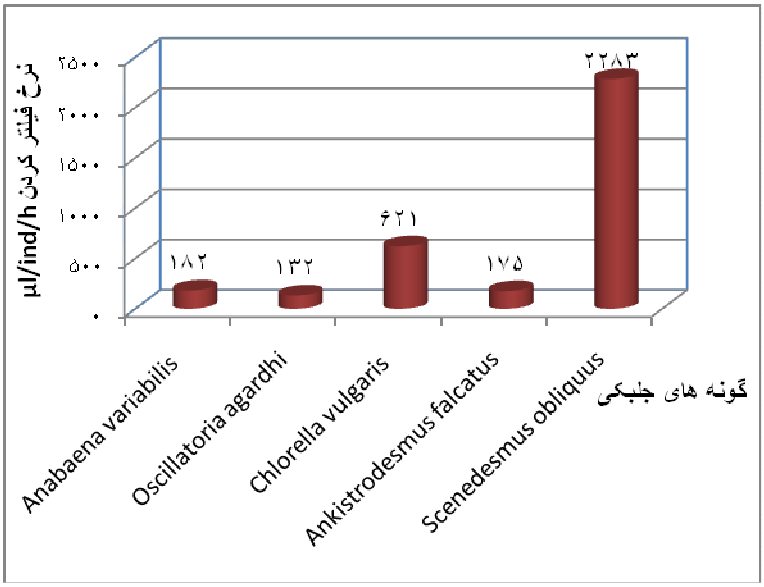
طبق آنالیز واریانس یکطرفه مقدار تغذیه دافنی بر حسب جلبکهای مختلف نشان می دهد که بین جلبک ها از نظر تغذیه برای دافنی اختلاف معنی دار آماری وجود دارد (siglevel = ۰/۰۰۰ ; F=۲۲۵/۳۹). طبق آزمون چند دامنه دانکن گروههای زیر دو به دو از نظر مقدار تغذیه دافنی با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند.

(*Ankistrodesmus-Oscillatoria*) ، (*Chlorella-Oscillatoria*)

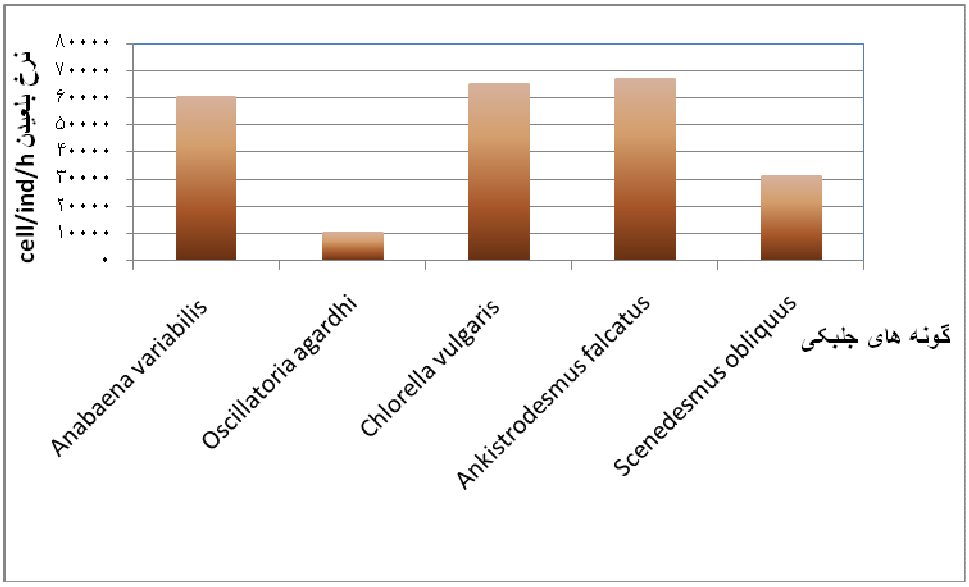
(*Ankistrodesmus-Anabaena*) ، (*Chlorella-Anabaena*)

(*Ankistrodesmus-Scenedesmus*) ، (*Chlorella-Scenedesmus*)

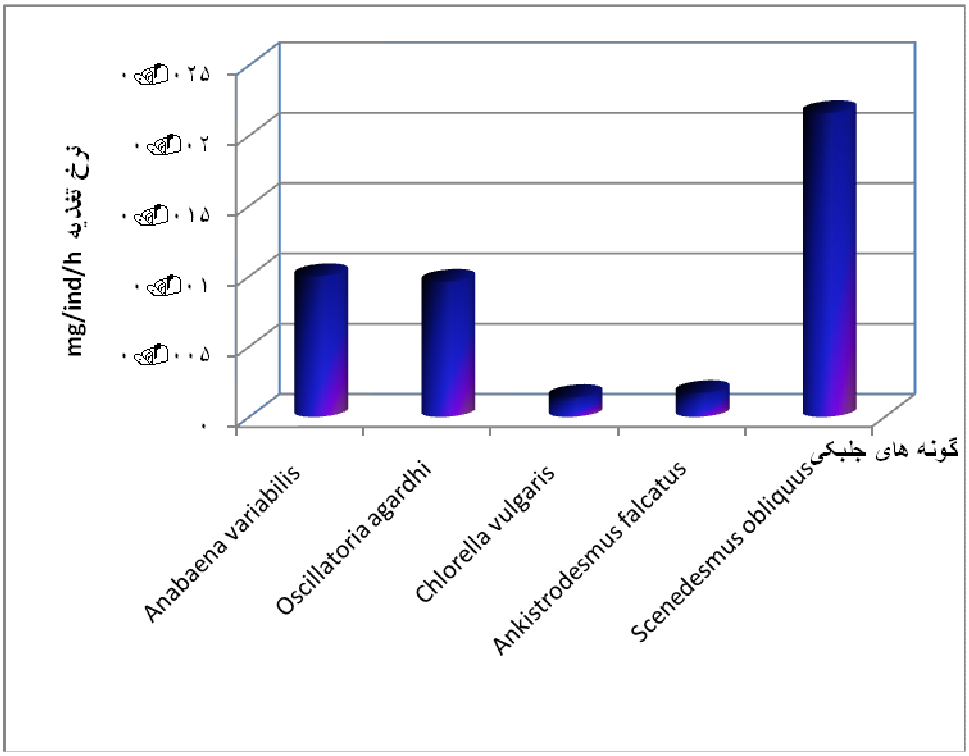
(*Anabaena-Scenedesmus*) ، (*Oscillatoria-Scenedesmus*)



شکل ۱۰-۳- نرخ فیلتر کردن دافنی از جلبک های مختلف



شکل ۱۱- ۳- نرخ بلعیدن دافنی از جلبک های مختلف



شکل ۱۲-۳- نرخ تغذیه دافنی از جلبکهای مختلف

۱۱-۳- نتایج تغذیه بچه ماهیان کپور نقره ای از جلبکهای مختلف

نتایج نشان داد که نرخ فیلتر کردن بچه ماهی از جلبک با افزایش درصد جلبکها کاهش می یابد و این مسئله در مورد نرخ بلعیدن کاملاً عکس می باشد. نرخ تغذیه بچه ماهیان با افزایش درصد غذا افزایش یافته و نرخ تغذیه با جلبک *Chlorella vulgaris* حد اقل و با جلبک *Cyclotella sp.* با ۴/۸ ، ۹/۶۶ ، ۱۷/۶۸ میلیگرم بازای هر گرم وزن بچه ماهی در ساعت به ترتیب در ۲ ، ۵ ، ۱۰ درصد از این جلبک نسبت به سایر گونه حداکثر بوده است (جدول شماره ۱۲-۳و شکل۱۳-۳).

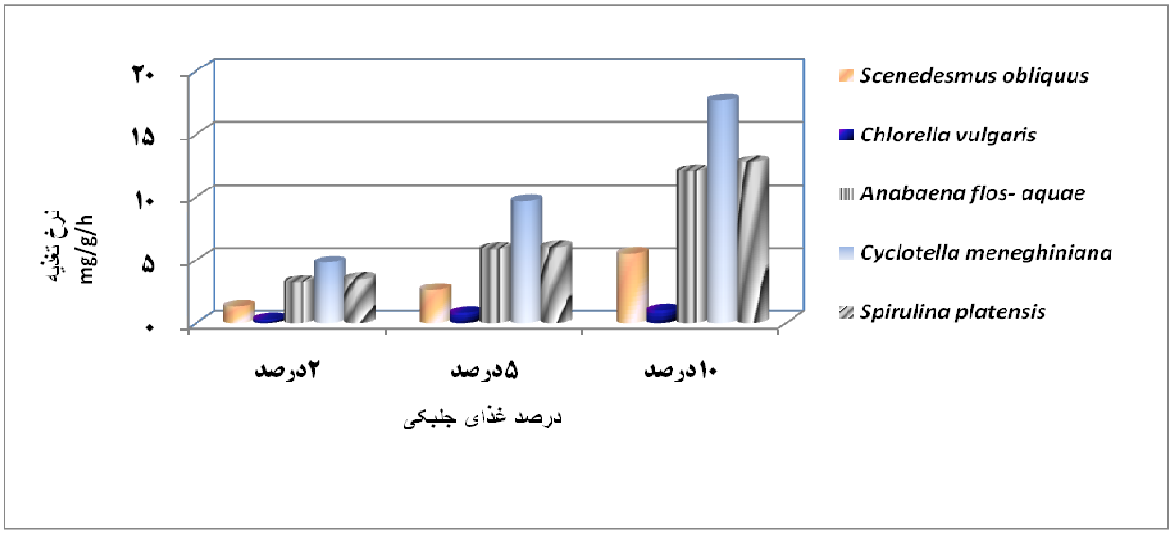
جدول شماره ۱۲-۳- نرخ فیلترکردن ، بلعیدن و تغذیه بچه ماهیان کپورنقره با جلبکهای مختلف

نام گونـــه	درصد جلبک	تعدادسلول در آغاز آزمایش (در میلی لیتر)	تعداد سلول درپایان آزمایش (درمیلی لیتر)	نرخ فیلترکردن (Ul/g/h)	نرخ بلعیدن(cell/g/h)	نرخ تغذیه mg/g/h
Sedesmus obliquus	۲	۱۹۱۴۷۲	۹۸۰۲۱	۱۴۵۳۱۲	۱۹۹۰۷۳۶۱	۱/۳۲۳
	۵	۴۰۱۵۲۱	۲۱۱۱۶۰	۱۲۸۸۴۶	۳۷۵۱۷۲۴۲	۲/۶۲۳
	۱۰	۸۸۴۵۱۴	۴۹۳۴۴۹۹	۱۱۹۱۱۷/۶	۷۸۶۹۹۴۰۱	۵/۵۱۱
Chlorella vulgari	۲	۱۳۲۴۹۱	۷۰۲۱۸	۱۳۲۲۵۰	۱۲۷۵۵۹۵۸	۰/۲۷
	۵	۲۹۲۵۱۲	۱۶۲۴۱۱	۱۲۷۶۸۶	۲۷۸۳۰۶۱۸	۰/۸
	۱۰	۵۲۸۴۱۶	۳۳۴۵۲۴	۱۲۳۰۶۷	۵۱۷۴۲۰۰۳	۱
Anabaena flos-aquae	۲	۱۷۵۳۷۵۰	۸۰۴۲۳۲	۱۶۲۴۲۲	۱۹۲۸۹۴۲۸۹	۳/۲۶
	۵	۳۶۸۵۰۱۱	۲۰۳۱۰۲	۱۲۶۷۴۰	۳۴۶۶۵۲۰۲۴	۵/۸۶
	۱۰	۸۵۴۳۲۰۹	۵۰۱۹۱۵۲	۱۰۸۶۳۵	۷۱۱۳۶۹۸۵۶	۱۲/۰۲
Cyclotella sp.	۲	۵۱۴۲۱	۲۸۰۰۲	۱۲۶۶۱۹	۴۸۰۴۶۶۷	۴/۸
	۵	۱۰۹۰۵۰	۶۰۰۲۰	۱۱۹۶۱۷	۹۶۷۷۲۹۰	۹/۶۸
	۱۰	۲۱۵۰۴۲	۱۲۵۸۰۰	۱۰۷۳۹۹/۸	۱۷۶۶۴۶۶۶	۱۷/۶۶

نتایج نشان می دهد که بین جلبک ها جهت تغذیه بچه ماهیان اختلاف آماری وجود دارد (Sig.Level = ۰/۰۰۰ ، F =۱۶۱۲/۴۹۲). این نتایج برای مقدار ۵ درصد تغذیه نیز اختلاف معنی داری را نشان داد (Sig.Level = ۰/۰۰۰ ، F = ۳۲۹۲۹/۷۳۹). در میزان ۱۰ درصد تغذیه بازهم اختلاف معنی دار می باشد (Sig.Level = ۰/۰۰۰ ، F = ۱۷۵۲۱/۶۴۰).

طبق آزمون چند دامنه دانکن هر چهار گونه در میزان ۲ ، ۵ ، ۱۰ درصد تغذیه برای بچه ماهیان اختلاف معنی دار دارند.

مقایسه آماری درصد های مختلف غذا نیز نشان داد که کلیه درصدهای مختلف از هر جلبک جهت تغذیه برای بچه ماهی سیلور کارپ باهم طبق آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون چند دامنه دانکن اختلاف معنی داری دارند.



شکل ۱۳-۳ - نرخ تغذیه بچه ماهی فیتوفاگ از جلبکهای مختلف

٤- بحث

٤-١- تجزیه و تحلیل جلبکهای مختلف در رشد ماهی فیتوفاگ و دافنی

طبق نتایج حاصله جلبک *Cyclotella* بهترین جلبک برای تغذیه ماهی فیتوفاگ می باشد . شرایط لازم برای کشت این جلبک محیط کشت F2 با آب دریای فیلتر شده یا محیط کشت مصنوعی دریا و یا محیط کشت Z-8 (Zinder) باآب تالاب می باشد ولیکن در میزان تولید انبوه تهیه آب دریا و یا آب تالاب انزلی بسختی میسر خواهد بود. در این بررسیها دریافته شدکه اقتصادی ترین حالت برای رشد آن محیط کشت F2 با محیط کشت مصنوعی دریا می باشد هر چند که بیشترین رشد را نسبت به آب دریا یا آب تالاب انزلی نخواهد داشت .

جلبکهای *Anabaena flos-aquae* و *Spirulina platensis* از نرخ تغذیه کمتری نسبت به سیکلوتلابرای این ماهی برخوردار است .باید ذکر کرد که اذیاد جلبکهای سبز-آبی رشته ای در آب استخرها گاها باعث بلوم های سمی و کاهش شدید اکسیژن می شود. جلبکهای سبز- آبی بعلت داشتن لایه ژلاتینی غیر قابل حل باعث طعم ماندگی و ماندگی در گوشت ماهی ایجاد می نمایند. از طرفی ازدیاد زیاد جلبکهای سبز-آبی در آب باعث عدم رشد سایر گونه های جلبکی در آب استخرها می شوند. لذا جلبکهای سیکلوتلا و سندسموس میتوانند برای تغذیه این ماهیان و شرایط استخر مطلوبتر باشند.

جلبک بعدی که بیشترین تأثیر را در رشد ماهی فیتوفاگ نشان داد جلبک *Scenedesmus obliquus* بوده که بهترین محیط کشت برای آن Z-8 (Zinder) بوده است که از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه می باشد.

ویتامین C و ویتامین D از مهمترین آنتی اکسیدانها در سیستمهای زیستی به شمار می آیند . وجود این ویتامین ها در جلبک آن را جهت تغذیه لاروهای ماهی و میگو بسیار ارزشمند می نماید زیرا مقاومت آنها را در مقابل تنش های محیطی افزایش داده و از مرگ و میر لاروها بسیار می کاهد. بتا کاروتن پیش ماده وثتامثن A است لذا دانستن میزان این ویتامین علاوه بر اینکه به همراه ویتامین D در استخوانسازی نقش دارد ارزنده است .(Brown et al.,1999).طبق نتایج حاصله ویتامین E در جلبک اسپیرولینا بیش از سایرین آسیب می بیند.

در این مطالعه جلبک تر *Scenedesmus obliquus* دارای بیشترین ویتامین C می باشد که پس از خشک شدن یا کنسانتره شدن حدود ۸۰ درصد ویتامین آن حفظ شده است . اما اکثر جلبکها پس از کنسانتره شدن بیش از ۹۰ در صد ویتامین C و A در آنها حفظ شده است . میزان ویتامین E پس از کنسانتره شدن کاهش می یابد.میزان ویتامین E در جلبک خشک *Pandorina buryanum* و *Scenedesmus acuminatus* به ترتیب بیشترین مقدار بوده است نتایج نشان می دهد که میزان این ویتامین در میکروجلبک *Scenedesmus acuminatus* کنسانتره شده بیش از سایر جلبکها می باشد. کلروفیل a و b و چرب کل و رطوبت جلبک *Scenedesmus obliquus* بیش از سایر جلبکها بود. میزان چربی کل پس از کنسانتره شدن در اکثر جلبکها به میزان ناچیزی تغییر یافته ومیزان پروتئین

درجلبک *Spirulina platensis* بیش از سایر جلبکها بوده و میکروجلبکها پس از کنسانتره و خشک شدن از نظرمیزان پروتئین تغییرزیادی نیافته اند.

کپور نقره ای درحد زیادی فیتوپلانکتون ، مقادیر کمی از مژه داران و روتیفرها را هضم می کند. این نشان می دهد که ماهی فیتوفاگ بیوماس قابل دسترسی را در استخر ماهی مصرف می کند و یک رژیم همه چیز خوار و فیتوپلانکتون خوار دارد.

در این مطالعات پدیاستروم بدلیل بزرگتر بودن و همچنین اسپیرولینا نسبیت به سیکلوتلا و اسپیرولینا از اهمیت کمتری برخوردار بودند زیرا رشد خیلی زیادی به ماهیان ندادند هر چند که پدیاستروم و اسپیرولینا نیز فیلتر و بلعیده شدند اما میزان فیلتر شدن پدیاستروم به علت بزرگ بودنش کمتر از سایر جلبکها بوده است .

Xie,1999 طی مطالعات خود بر روی پرورش سیلور کارپ در قفس بزرگ در دریاچه هیپر تروف دانگو چین دریافت که فیتوپلانکتون غالب در پیش روده این ماهی سیکلوتلا با ۷۷/۸ و سپس کریپتوموناس با ۹/۵۷ درصد بوده است . جنسهای فیتوپلانکتونی بزرگ در روده ۲۰-۸ میکرون بودند ولیکن آنها قادرند ذرات کوچکتر از ۱۰- ۴/۵ میکرون را نیز جمع آوری نمایند که کوچکتر از سوراخهای فیلتر آن می باشد. وی پیشنهاد نمود که ترشح موکوس ممکن است در جمع آوری ذرات کوچک نقش مهمی داشته باشد.

انتخاب غذا به شکل و اندازه غذا بستگی دارد. وقتی جلبکها فراوان باشد سیلور کارپ بطور اجتناب ناپذیری تغذیه می نماید .بطور کلی سیلور کارپ بطور غیر انتخابی سیانوباکترها را مصرف می کند. دیاتومه ها را نسبت به جلبکهای سبز ، اگلنوئید و سیانوباکترها ترجیح می دهد. حضور سیلوکارپ بطور قابل توجهی کلروفیل a را کم می نماید و تولید فیتوپلانکتون کوچکتر از ۲ میکرون زیاد می شود.

این ماهی ندرتا جلبکهای بزرگتر مانند *Oscillatoria agardhii* ، *Anabaena flos-aquae*و *melosira distorts* را برداشت می کند.

تهامی در سال ۱۳۹۱تغذیه بچه ماهیان فیتوفاگ در استخر های پرورشی و آکواریوم را با تاکید بر ارزش غذایی فیتوپلانکتونها بررسی نمود و بیان نمود وی بیان نمودپلانکتونهایی که از نظر سایز کمتر از ۱۰ میکرون بوده‌اند دارای تراکم بیشتری در محتویات روده بودند و فیتوپلانکتونهای درشت سایز نیز در محتویات روده دارای تراکم بسیار کمتری نسبت به آب استخر بودند و نیز نسبت کلرلا در محتویات روده بسیار کمتر از نسبت آن در آب استخر بوده است که دلیل‌این‌امررامی‌توان‌ریزسایز بودن جلبک کلرلا و در نتیجه عبور از فواصل بین خارهای آبششی دانست.

همچنین طبق نتایج ایشان ارتباط مستقیمی بین تعداد موجودات آب استخر و محتویات روده این بچه ماهیان به چشم می‌خورد و مقدار تغذیه بچه ماهیان از جلبک Scenedesmusبیشتر از جلبک Cholorellaبوده است و دلیل این امر را می‌توان اندازه کلرلا دانست که معمولاً کوچکتر از Scenedesmusبوده و از فضای بین تیغه‌های آبشش خارج می‌گردد.

طبق مطالعات تهامی ، ۱۳۹۱ اساسی در هضم غذایی ماهیان فیلتر کننده براساس انواع غذاهای ذکر شده در بالا وجود داشته و بیشترین اختلاف در هضم جلبکهای سبز و سیانوباکتر قابل رویت است و در نتیجه پیشنهاد می‌گردد که مطالعات بیشتری روی چگونگی کوددهی و نسبت استفاده از کودها در جهت غنی‌تر نمودن آب استخر از فیتوپلانکتونهای راحت هضم‌تر صورت گیرد تا بتوان بازدهی بیشتری در پرورش ماهیان فیتوفاگ داشت.

مطالعات با دافنی و مژه داران نشان داد که نرخ رشد و تکثیر وقتی که از جلبک *Chlorella* تغذیه می کند کم است (Infante and Litt,1985 و Skogstad et al.,1987).

مطالعات Ryther(1954) و MCMahonans and Rigler(1965) نشان داد که *Chlorella vulgaris* نسبت به سایر جلبکهای سریع الرشد ، رشد آرامی را در دافنی ماگنا ایجاد می نماید.

چندین گزارش از جلبکهای سبز- آبی که به میزان ناچیزی بعنوان غذا مورد استفاده قرار می گیرند وجود دارد (Arnold ,1971). محققینی چون Infante and Abella(1985) بیان نمودند که دافنی هنگامی که ازرشته های Oscillatoria تغذیه می نماید از نظر اندازه و میزان نرخ جنین کاهش را نشان می دهد. محققین دیگری دریافتند که جلبکهای سبز- آبی متابولیت های سمی تولید میکنند (Porter and Orcutt,1980).آنها همچنین بیان نمودند که جلبک سمی *Anabaena flos-aquae* ممکن است به دافنی ماگنا رشد انفرادی دهد امابقاء و نرخ بلعیدن را کاهش می دهد. محققینی چون G-Toth et al.,(1987) بر روی محتویات روده *Daphnia galeata* و *D.cuculata* مطالعه نمودند و توجه نمودندکه در محتویات روده جلبکهای سبز ـآبی مشاهده می گردد ، لذا بیان نمودند که این جلبکها توسط این دافنی ها هضم نشده اند.

طبق نتایج حاصله جلبک سبز *Scenedesmus obliquus* نسبت به سایر جلبکهای سبز (*Ankistrodesmus falcatus* و *Chlorella vulgaris* از نرخ تغذیه بالاتری برای دافنی ماگنا برخوردار بوده است.جلبکهای سبز – آبی نرخ تغذیه کمتری نسبت به *Scenedesmus obliquus* داشته اند. در مورد نقش جلبکهای مختلف در مبحث قبلی باندازه کافی بحث شد که از تکرار آنها خود داری می شود.در همین زمینه فلاحی (۱۳۷۲ و۱۳۷۸) در مطالعات خود بر روی تالاب انزلی بیان نمود که هنگامی که سیانوفیت ها به شکوفایی می رسند کلادوسرها کاهش می یابند .

۲-٤- برآورد هزینه محیط کشت های مختلف

۱-۲-٤- کشت جلبک سیکلوتلا

این جلبک در محیط کشت F2به همراه نمک آب دریا پرورش داده می شود که هزینه آن در حال حاضر (بهمن ۱۳۹۱) برای تولید یک مترمکعب از جلبک در حدود ۱۵۰۰ تومان می باشد که البته این رقم قیمت محیط کشت بوده و برای هزینه تمام شده جلبک می بایست هزینه کارگری و برق و آب هم به آن اضافه شود .

۲-۲-٤- کشت جلبک سندسموس

در خصوص جلبک سندسموس اوبلیکوس بهتر است از محیط کشت زایندر استفاده شود . قیمت این محیط کشت در حال حاضر (بهمن ۱۳۹۱) برای یک متر مکعب کشت جلبک ۵۰۰۰ تومان برآورد گردید.

برای این جلبک از محیط کشت TRML هم می توان استفاده کرد که اندکی سرعت رشد کمتر از محیط کشت زایندر می باشد . قیمت محیط کشت آن برای یک یک متر مکعب در حدود ۹۸۷ تومان می باشد .

۳-۳-٤- کشت جلبک اسپیرولینا

در رابطه با جلبک اسپیرولینا باید بیان نمود که قیمت بستگی به محیط کشت آن دارد اگر از محیط کشت زاروک بدون هیچگونه تغییری استفاده شود محیط کشت آن فقط برابر با ۱۳۸ هزار تومان برای یک متر مکعب خواهد بود .

اگر اسپیرولینا را در محیط کشت با NaHCO3 ۸ گرم در لیتر بجای ۱۸ گرم در لیتر کشت شود هزینه محیط کشت آن هر متر مکعب ۸۷۸۰۰ تومان خواهد بود .

اگر از محیط کشت جردن برای کشت اسپیرولینا استفاده شود هزینه محیط آن بازای هر متر مکعب ۱۱۴۱۰۵ هزار تومان برآورد شد. .

اگر از محیط کشت زایندر و نمک دریا استفاده شود هزینه محیط کشت بازای هرمترمکعب ۳۵ هزار تومان خواهد بود

٤-۲-٤- محیط کشت کلرلا ولگاریس

برای کشت جلبک کلرلا از محیط زایندر ، F2 ، BBM و ساتو استفاده می شود . که قیمت همه آنها در مورد جلبکهای دیگر ذکر شد. و محیط کشت BBM نیز تقریبا معادل زایندر می باشد.

پیشنهادها

۱ - تغذیه ماهیان فیتوفاگ در محیطهای پرورشی (استخر) با کنسانتره جلبکهای ذکر شده مورد آزمون قرار گیرد و از نظر اقتصادی ارزیابی شود

۲- مطالعات بر روی مواد معدنی و سایر ارزشهای غذایی این جلبکها نیز بررسی گردد

۳- مطالعات بیشتری بر روی سایر میکروجلبکهای ارزشمند برای این ماهی و سایر ماهیان از جمله ماهیان زینتی انجام شود.

۴- مطالعات در خصوص بهینه کردن محیط کشت ها صورت گیرد

منابع

- اچ. هاف و تری ، دابلیو. اسنل . ترجمه قباد آذری تاکامی و محمد امینی چرمهینی. ۱۳۸۹. تکثیر و پرورش غذای زنده .چاپ اول . انتشارات دانشگاه تهران .

- اسماعیلی ساری، ع.(۱۳۷۹). مبانی مدیریت کیفی آب درآبزی پروری. تهران: موسسه تحقیقات شیلات ایران.۲۶۳ ص.

-پروانه ، ویدا . ۱۳۷۱. کنترل کیفی و آزمایشهای شیمیائی مواد غذائی. انتشارات دانشگاه تهران . ۳۳۰ صفحه.

- تهامی ،فاطمه سادات . ۱۳۹۱. بررسی تغذیه بچه ماهیان فیتوفاگ در استخر های پرورشی و آکواریوم با تاکید بر ارزش غذایی فیتوپلانکتونهای . مؤسسه تحقیقات شیلات ایران .

- فلاحی ، م . ۱۳۷۲. بررسی پراکنش زئوپلانکتونهای تالاب انزلی (آبکنار). پایان نامه دانشجویی واحد تهران شمال . ۱۹۸ ص .

- فلاحی ، م . ۱۳۷۷. گزارش پایانی پروژه بررسی آزمایشگاهی اثر شوینده ها (آلکیل سولفونات بنزن خطی) بر روی تغییر جمعیت برخی پلانکتونهای تالاب انزلی – مؤسسه تحقیقات شیلات ایران . ۵۷ ص .

- فلاحی ، م. ۱۳۷۸. گزارش پروژه هیدرولوژی و هیدروبیولوژی تالاب انزلی . انتشارات مؤسسه تحقیقات شیلات ایران .

- فلاحی ، م .۱۳۸۴ . کشت و پرورش جلبک و بررسی جنبه های اقتصادی آن با تأکید بر جلبکهای سبز و سبز-آبی.مؤسسه تحقیقات شیلات ایران . ۱۰۹ ص.

-محمدجانی ، طاهره . ومریم ، فلاحی . ۱۳۶۷ . شناسایی پلانکتون های گیاهی مرداب انزلی. مر کز تحقیقات شیلات استان گیلان .

-AOAC. 1998. Official Methods of Analysis. 16th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA.USA. Association of Analytical Communities.

- AhmadzadeniaY, Nazeradl K, Ghaemmaghami S, Hejazi M, Zamanzad Ghavidel S, Hassanpour S, Chaichisemsari M. 2011.Effect of replacing fishmeal with spirulina on carcass composition of rainbow trout. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science, 6(6): 66-71.

–Arnold,D.E.1971.Ingestion,assimilation, survival. And reproduction by Daphnia pulex fed seven species of blue-green algae . Limnol.Oceanogr.16,906-920.

–Al–Batshan HA, Al–Mufarrej SI, Al–Homaidan AA, Qureshi MA (2001) Enhancement of chicken macrophage phagocytic function and nitrite production by dietary Spirulina platensis. Immunopharmacol Immunotoxicol 23(2):281–289

–Barnabé, G. 1990. Harvesting micro-algae. In: Aquaculture, Volume I. Barnabé, (Ed.). Ellis Horwood, New York, pp 207-212.

–Borowitzka,M.A.and L.J.Borowitzka.1988.Micro-Algal Biothechnology . Cambridge university press.New York.port chester Melbourne Sydney.

−Brown, S., Birtwistle, J., Roe, L.**,** *et al* (1999) The unhealthy lifestyle of people with schizophrenia. *Psychological Medicine*, 29**,** 697 -701.

−Ciferri, O. 1983. Spirulina, the edible microorganism. Microbiol. Rev 47:551-578

−COHEN, Z. 1997. The chemicals of Spirulina. In: Vonshak, A., Ed. Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology,cell-biology and biotechnology. Taylor and Francis. London. pp. 175 – 204.

−Desvilettes, C., Bourdier, G. and Breton, J.C. 1994. Lipid class and fatty acid composition of planktivorous larval pike (*Esox lucius*) living in a natural pond. Aquat. Living Res. 7: 67–77.

−Felfoldy,L.J.M.,1962.On the rol of pH and inorganic carbon sources in photosynthes in unicellular algae.Acta Biol.Hung.,Vol.13.pp.207-214.

−Fernandes-Casalderry,A;Ferrando,M.D and Andreu-Moliner,E.1994. Effect sublethal concentration of pesticides on the feeding behavior of Daphnia magna Ecotoxicol. Environ. Safe . , 27:82-89.

−FEDKOVIC, Y., ASTRE, C., PINGUET, F., GERBER, M., YCHOU, M., and PUJOL, H .1993 .Spiruline et cancer. In: Doumenge, F., Durand-Chastel, H., Toulemont, A., eds. Spiruline algue de vie. Musée Océanographique. Bulletin de l΄Institut Océanographique Monaco. Numéro special

− Folch, J.M., Less, M. and Sloane-Stanley, G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 226: 497–509.

−Fox, E.,1983. Extending the Boolean and Vector Space Models of Information.120-12;117 Retrieval with P-Norm Queries and Multiple Concept Types, Ph.D. thesis, Cornell University, 1983.

-Gouveia, L., Gomes, E., and Empis, J. (1997) Use of Chlorella vulgaris in rainbow trout,Oncorhynchus mykiss, diets to enhance muscle pigmentation. Journal of Applied Aquaculture, 7, 61–70.

−Gould,T.,1951.The grazing rate of marine copepods,J.Mar.Bid.Assoc.U.K.Vol 26.pp.595-706.

−Guillard, R.R.L. and Ryther, J.H. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* Cleve. *Can. J. Microbiol.* **8:** 229-239.

−Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. pp 26-60. *In* Smith W.L. and Chanley M.H (Eds.) *Culture of Marine Invertebrate Animals*. Plenum Press, New York, USA.

−G-TOTH,L.; Zankai,N.P. and Messner, O.M.1987.Alga consumption of four dominant planktonic crustaceans in lake Balaton (Hungery).Hydrobiologia 145,323-332

−Hampl, A., Jimsek, J. and Simtek, D., 1983. Growth morphology of the filtering apparatus of silver carp (Hypophthalmichthys molitrix). II. Microscopic anatomy. Aquacu/ture 31: 153-158.

−Infante,A. and S.E.B.Abella.1985. Inhibition of Daphnia by Oscillatoria in lake Washington. Limnol.Oceanogr.,30,1046-1052.

-Infante,A.and A.H.Litt.,1985.Differences between two species of Daphnia in the use of species of alga in lake Washington. Limnol. Oceanogr.,30,1053-1059.

- Jourdan P., 2001. Manual of small scale Spirulina culture, Antenna Technologies. p. 15.

−Kanno,T,2005. Chlorella vulgaris and Chlorella vulgaris Extract (CVE): The Powerful Japanese Medicinal Green Algae as a Biological Response Modifier (Woodland Publishing, 2005).

−Kim,B.H.; Choi,M.K. and Takamuro,N.2003.Gurnal of freshwater Ecology.Vol.18(2003):1-7

-Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R.1985. Determination of Total Ca-rotenoids and Chlorophylls A and B of Leaf in Different Solvents.Biol. Soc. Trans. 11. 591-592 (1985).

−Marian,T. ;Krasznai,T. and J.Olah.1986. Characteristic Karyology , biological and morphological markers of silver carp , bighead carp and their hybrids, Aqua.Hungr. (Szarvas).Vol.5.15-30.

-May,L.1987. Culturing freshwater, planktonic rotifers on Rhodomonas minuta var nannoplanctica skuja and stichococcus bacillaris Nageli.J. Plankton Res.,9.1217-1223.

−McMahon,J.W. and Rigler,F.H.1965.Feeding rate of Daphnia magna straus in different foods labeled with radioactive phosphorus. Limnol.Oceanogr.,10,105- 113.

-Miller,w.E.;J.C.Greene.and T.Shiro Yama. 1978. The selenastum capricornatum printz algal assay bottle test . EPA-600/9-78-018:1-126.

-Nelson,J.H.;D.L.Steeman.1978.Diatom diversity as a function of insecticidal treatment with controlled release formulation of chlorpyrifos, Bull. Environ.contam. Toxical .15: 630.

-Ordog,V.1981. Apparatus for laboratory algal bioassay . Int. Revueges , Hydrobiol. 67: 127-136.

-Paixa,J.A. and Campos,J.M.2003. Determination of Fat Soluble Vitamins by Reversed-Phase HPLC Coupled with UV Detection: A Guide to the Explanation of Intrinsic Variability Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies Volume 26, N0.4,pp.641-663.

−Porter,K.G. and J.D.Orcutt.,.1980. Nutritional adequacy of green and blue-green algae for Daphnia .In keerfoot ,C.(ed.) , Evolution Hanover , pp.268-281.

-Ramakrishnan, C.M., Haniffa, M.A., Manohar, M., Dhanaraj, M., Arockiaraj, A.J.,Seetharaman, S., Arunsingh, S.V., 2008. Effects of probiotics and Spirulina on survival and growth of juvenile common carp (Cyprinus carpio). Isr. J. Aquac. -Bamidgeh. 60, 128–133.

-Reynolds,Y.H.;E,J.Middlebrooks;D.B.Porcella,and W.J.Germany.1975.Effects of temperature on growth constants of selenastrum capricornutum.J.water pollut.Control. Fed 47:p.2420-2436.

−Ryther,J.H.1954.Inhibitory effects of phytoplankton upon the feeding of Daphnia magna with reference to growth , reproduction and survival Ecology, 35,522-533.

−Schwartz, J., FLYNN, E., and SHKLAR, G. 1990. The effect of carotenoids on the antitumor immune response invivo and in vitro with hamster and mouse immune effectors. In: Bendich, A., Chandra, R., Gerard, K., Cerami, A., Takaku, F.,Eds. Micronutrients and immune functions – Cytokines and metabolism. New York Academy of Sciences; pp. 92-109. Vyboronov 1989

−Skogstad,A.;L. Granskage. and D.Klaveness . 1987. Growth of freshwater ciliates offered planktonic algae as food . J. plankton Res .,9,503-512.

−Smith, D.W. 1989. The feeding selectivity of silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* Val. Journal of Fish Biology 34:819-828.

−Smith, L.L., Fox, J.M. and Granvil, D.R. 1993a. Intensive algae culture techniques. In: CRC Handbook of mariculture. Volume 1. Crustacean Aquaculture, 2nd Edition. McVey J.P. (Ed.). CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA, pp 3-13.

- Spataru, P., Wohlfarth, G. W. and Hulata, G., 1983. Studies on the natural food of different fish species in intensively mamued polycuhure ponds. Aquaculnee 35: 283-398.

−Stewart,W.D.P.,1974.Algal physiology and biochemistry. Botanical monographs .Vol.10.Univ .Calif.Press.989.

-Toyub, M.A., Miah, M.I. and Habib,M.A.B. 2010. Growth Performance of Hypophthalmichthys molitrix and Barbodes gonionotus. Fingerlings by Feeding Microalgae Cultured on Fertilizer Factory Effluent Bangladesh J. Sci. Ind. Res. 45(4), 315-322, 2010.315-322.

−Vonshak, A. 1986. In: A. Richmond (ed.), Handbook of microalgal mass culture. CRC Press, Boca Raton, FL. WWW.fardayesabzeiranian.com. p. 117.

-Xie,P.1999.Gut content of Silver carp, Hypophthalmichthys molitrix, and the disruption of a centric diatom , Cyclotella, on passage through the esophagus and intestine.Aquaculture Journal.Vol.180(1999):295-305.

Abstract:
According to the importance of micro-algae in aquatic feed such as fish in this study have been investigated Preparation of useful algae powder or concentrate for breeding silver carp , their impact on the growth of silver carp , rate per unit area and estimate n economic Development. Different algal species were isolated from hydrothermal fish farms, then were purified and mass culture .
The next step microalgae were dried and powdered by spray dryer and were examined the fish feeding on them. During this study, 6 species of chlorophyt(*Scenedesmus obliquus*, *Scenedesmus acuminatus*, *Chlorella vulgaris*, *Pediastrum boryanum*, *Pandorina morum*, *Ankistrodesmus falcatus*) ,3 species of cyanophyta (*Anabaena flos-aquae*, *Oscillatoria agardhi* and *Spirulina platensis*) and 1 species of Bacillariophta (*Cyclotella meneghiniana* were isolated from.Green algae and Blue -green algae were cultured in Zaindr medium, diatoms were cultured in Zaindr medium but with water of Anzali logoon and also in F2 medium with artificial sea water and spirulina was cultured in Zarouk medium.
Microalgae were cultures then concentrated.Then the impact was examined on fish silver carp 2 to 3 grams. The results showed that *Cyclotella* has a greater role in the growth of silver carp *and Anabaena floes aquae* and *Spirulina platensis* tend to growth less than *cyclotella*. *Scenedesmus obliquus* and *Scenedesmus acuminatus* were respectively next algae that showed the greatest impact on fish growth. *Scenedesmus obliquus* feed rate was greater than any other algae for Daphnia.
Key words: Micro-algae , algal concentrate, Silver carp

Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION – Inland Waters Aquaculture Research Center

---

Project Title : Preparation instructions micro-algae cultivate and concentrate it for use in silver carp feed and training necessary
Approved Number: 4-73-12-88091
Author: Maryam Fallahi
Project Researcher : Maryam Fallahi
Collaborator(s) *:* A. A. Motalebi; H. Saberi; A. Daday Ghandi; M. Sharifian; S. H. Khodaparast; S. M. Salavatian: F. Mahisefat; SH. Behmanesh ;A. Danesh; A.Valipour; A.Ghenaatparast; K.Khedmati; R.Roufchaii; M. H. Toloii; O. Eimeni, R. Shabanpour; S. E. Safavi
Advisor(s): –
Supervisor: Yazdan Moradi
Location of execution : Gilan province
Date of Beginning : 2010
Period of execution : 2Years & 3 Months
Publisher : ***Iranian Fisheries Research Organization***
Date of publishing : ***2014***

All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION - Inland Waters Aquaculture Research Center

Project Title :

Preparation instructions micro-algae cultivate and concentrate it for use in silver carp feed and training necessary

Project Researcher :

Maryam Fallahi

Register NO.

43694