



University of Tehran

Production of marine microalgae *Chaetoceros* sp. in different concentration of minerals to get a new specific culture medium

Gholamreza Rafiee^{1*} | Nazanin Motamedi¹ | Kamran Rezaei Tavabe³

1. Corresponding Author, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. nazi70.motamedi@gmail.com
2. Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. ghrafiee@ut.ac.ir
3. Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. krtavabe@ut.ac.ir

ARTICLE INFO

Article type:
Research Article

Article History:
Received: 26 Jun 2025
Revised: 16 September 2025
Accepted: 19 September 2025
Published online: 22 November 2025

Keywords:
Algae media,
Marine microalgae,
Biomass,
Ineral salts.

ABSTRACT

The essential role of algae in the aquaculture industry has been identified as directly feeding mollusks, crustaceans, and fish, and their economic production is of great importance in aquaculture, and efforts are being made to provide many formulations for their economic production as a culture medium. Therefore, in this study, the growth (biomass production) of the marine microalgae *Chaetoceros* sp. was evaluated by mass culture method and with different concentrations of minerals using commercial agricultural salts and compared with specific culture medium (F/2). For this purpose, four new culture media with four concentrations of minerals, 25, 50, 75 and 100 percent, were made with the same ratio of minerals. The microalgae *Chaetoceros* sp. showed maximum density in F/2 medium on the thirteenth day with a density of $10^6 \times 36.5 \pm 0.056568 \times 10^6$ cells/ml and during the thirteen days of the experiment with a mean density of $10^6 \times 276728 \times 323333.4 \pm 0.056568 \times 10^6$ cells/ml. In contrast, the treatment with 100% concentration on the eighth day produced 3.93×10^6 cells per ml $\pm 1.230365 \times 10^6$ and over a total period of thirteen days produced 3.013333×10^6 cells per ml $\pm 0.276728 \times 10^6$ ($P < 0.05$). These amounts on the thirteenth day were $10^6 \times 0.395979 \pm 10^6 \times 1.52$ in the 75% treatment, $10^6 \times 0.296984 \pm 10^6 \times 2.71$ in the 50% treatment, $10^6 \times 0.141421 \pm 10^6 \times 1.9$ in the 25% treatment. As a result, it can be said that the culture medium with 100% concentration and the same ratio of mineral elements can be used as specific medium for culture of this algae.

Cite this article: Rafiee, G.R., Motamedi, N., & Rezaei Tavabe, K. (2025). Production of marine microalgae *Chaetoceros* sp. in different concentration of minerals to get a new specific culture medium. *Journal of Fisheries*, 78 (4), 345-355. DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.401383.1466>



© The Author(s) **Publisher:** University of Tehran Press.
DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.401383.1466>



دانشگاه تهران

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

سایت نشریه: <https://jfisheries.ut.ac.ir>

شاپا الکترونیکی: ۲۴۲۳-۷۸۰۹

بررسی تولید ریز جلبک دریایی کتوسروس (*Chaetoceros* sp.) در غلظت‌های مختلف مواد معدنی برای رسیدن به یک محیط کشت جدید

غلامرضا رفیعی^{۱*} | نازنین معتمدی^۲ | کامران رضایی تواب^۳

۱. نویسنده مسئول، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشکدهگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: ghrafiee@ut.ac.ir

۲. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشکدهگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: nazi70.motamedi@gmail.com

۳. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشکدهگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: krtavabe@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۰۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۶/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۸

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۹/۰۱

کلیدواژه:

تولید زیست‌توده،

ریزجلبک دریایی،

محیط‌های کشت،

نمک‌های معدنی.

نقش ضروری جلبک‌ها در صنعت آبی‌پروری، به‌طور مستقیم برای تغذیه نرم‌تنان، سخت‌پوستان و ماهیان مشخص شده است و تولید اقتصادی آنها در آبی‌پروری دارای اهمیت زیادی است و سعی بر این است که فرمول‌بندی‌های جدیدی برای تولید اقتصادی آنها به‌عنوان محیط کشت ارائه شود. بنابراین در این پژوهش، رشد (تولید بیومس) ریزجلبک دریایی کتوسروس (*Chaetoceros* sp.) به روش کشت انبوه و با غلظت‌های متفاوتی از مواد معدنی و با بکار بردن نمک‌های تجاری کشاورزی با محیط کشت رایج که در حال حاضر در سالن‌های کشت جلبک (F/2) به‌کار می‌رود، مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین‌منظور، یک محیط کشت پایه ساخته شد و به‌عنوان ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد و سپس سه غلظت دیگر شامل ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد از آن با نسبت یکسانی از مواد معدنی تهیه شد. ریزجلبک کتوسروس حداکثر تراکم را در محیط F/2 در روز سیزدهم با تراکم $5.68 \times 10^6 \pm 0.36 \times 10^6$ سلول در میلی‌لیتر و در مدت بیست روز با میانگین $2.76728 \times 10^6 \pm 0.32333 \times 10^6$ سلول در میلی‌لیتر نشان داد. در مقابل، تیمار با غلظت صد درصد در روز سیزدهم با تولید $1.0 \times 10^6 \pm 0.5374 \times 10^6$ سلول در میلی‌لیتر و در کل مدت سیزده روز با میانگین تولید $2.76728 \times 10^6 \pm 0.13333 \times 10^6$ سلول در میلی‌لیتر، در رتبه دوم و بعد از تیمار F/2 قرار گرفت ($P \leq 0.05$). این مقادیر در روز سیزدهم در تیمار ۷۵ درصد $3.95979 \times 10^6 \pm 0.152 \times 10^6$ ، در تیمار ۵۰ درصد $2.96984 \times 10^6 \pm 0.271 \times 10^6$ و در تیمار ۲۵ درصد $1.41421 \times 10^6 \pm 0.19 \times 10^6$ بود. در نتیجه می‌توان گفت محیط کشت با غلظت صد درصد و با نسبت یکسان عناصر معدنی را می‌توان با توجه به هزینه مصرفی کمتر برای آماده کردن محیط کشت، برای تولید این جلبک به‌کار برد.

استناد: رفیعی؛ غلامرضا، معتمدی؛ نازنین، رضایی تواب؛ کامران (۱۴۰۴). بررسی تولید ریزجلبک دریایی کتوسروس (*Chaetoceros* sp.) در غلظت‌های مختلف مواد معدنی برای

رسیدن به یک محیط کشت اختصاصی. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۷۸ (۴)، ۳۴۵-۳۴۸. DOI: <https://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.401383.1466>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.401383.1466>



۱. مقدمه

فناوری تولید جلبک‌ها و استفاده مستقیم و یا غیر مستقیم آنها به‌عنوان غذای آبزیان دارای اهمیت زیادی است. برای تولید جلبک نیاز به فراهم آوردن مواد معدنی مورد نیاز آنها برای رشد است و تنها در برخی موارد از ویتامین‌های گروه B به‌خصوص کوبال آمین یا B₁₂ برای تحریک رشد بیشتر آنها استفاده می‌شود. بنابراین، با توجه به اینکه در آبی‌پروری، پایه‌گذاری تولید غذا متکی به تولید جلبک‌هاست و یک استراتژی مهم در تولید آبزیان تلقی می‌شود، تولید جنس‌هایی از ریزجلبک شامل *Chlorella*, *Tetraselmis*, *Chaetoceros*, *Skeletonema*, *Nanochloropsis*, *Phaeodactylum*, *Scenedesmus*, *Pavlova* و *Thalassiosira* در آبی‌پروری دریایی بسیار اهمیت دارد. فرآیند پرورش ریزجلبک شامل جداسازی گونه‌های مورد نیاز، آماده‌سازی محیط کشت مناسب و بقای توده پرورشی در مقیاس آزمایشگاهی، و همچنین مقیاس بزرگ و تحت کنترل شرایطی مانند نور، دما و هوادهی، و عرضه مداوم به آبی‌پروران در مراحل مختلف رشد است. تحت شرایط آزمایشگاهی، ظرف‌ها استریل شده و به‌طور کامل با آب دریایی فیلتر/سترون شده (با تنظیم شوری مناسب با شرایط جغرافیایی یا گونه جلبکی) و با مواد معدنی غنی و به‌عنوان محیط‌های کشت مختلف به کار می‌روند. با توجه به مقدار و نوع ترکیب مواد معدنی مصرفی، محیط‌های کشت مختلفی برای کشت جلبک معرفی شده است در این راستا می‌توان به محیط‌های کشت *Guillard and Ryther's F medium*, *Walne's medium* یا *TMRL medium* اشاره کرد (Becerra-Dórame et al., 2010). در مزارع پرورشی آبزیان، ظرف‌های حاوی محیط کشت با سوبه‌های خالص فیتوپلانکتون‌های مورد نظر که قبلاً در آزمایشگاه کشت داده شده‌اند، تلقیح می‌شوند و با هوادهی شدید و با وجود تابش نور طبیعی و یا لامپ‌های فلورسنت (به ترتیب) در یک محیط کنترل شده و در دمای مناسب (۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد، متناسب با شرایط جغرافیایی و گونه جلبکی)، شرایط محیطی و زیستی جهت رشد جلبک فراهم می‌شود. در این شرایط، معمولاً تراکم سلولی بین $10^6 \times 4-1/5$ میلیون سلول/میلی‌لیتر، را می‌توان به‌عنوان شکوفایی جلبکی در نظر گرفت و یا انتظار داشت. هنگامی که مواد مغذی به آب دریا اضافه می‌شود، شکوفایی فیتوپلانکتون‌ها در یک دوره چند روزه، در شرایط مناسب نور خورشید، به‌خوبی صورت می‌گیرد. با این حال، گاهی اتفاق می‌افتد که شکوفایی دیاتومه‌ها به‌علت کمبود تابش نور خورشید یا ماهیت آب دریایی موجود در مخازن، متوقف شود. جنس کتوسروس یکی از بزرگ‌ترین جنس‌های دیاتومه‌های پلانکتونی دریایی متعلق به رده *باسیلاریوفیسه* / و شامل چند صد گونه‌اند. آنها را می‌توان در محیط‌های دریایی و در دریاچه‌های آب شور، یافت. به‌علت خواص تغذیه‌ای عالی، گونه‌های جنس کتوسروس، به‌عنوان غذا در آبی‌پروری دوکفه‌ای‌ها و سخت‌پوستان در مدت مراحل لاروی، بسیار استفاده می‌شود (Becerra-Dórame et al., 2010).

اگرچه چندین نوع سیستم تولید در مقیاس بزرگ برای تولید ریزجلبک‌ها وجود دارد، ولی تولید آنها به‌دلیل مشکلاتی مانند هزینه‌های بالا با چالش‌هایی همراه است، و چندین روش برای کاهش هزینه‌ها، مانند رشد جلبک در فاضلاب/پساب صنعتی ارائه شده است، با این حال، اگر ریزجلبک‌ها به‌طور مستقیم برای صنایع غذایی، دارویی و یا لوازم آرایشی به کار روند، نیاز به نگهداری آنها در شرایط تمیز و عاری از آلاینده‌های زیست‌محیطی است. واضح است برای این صنایع، پساب غیرقابل استفاده بوده و نمی‌تواند برای رشد ریزجلبک‌ها به کار رود، زیرا آنها آلودگی‌ها را در خود ذخیره می‌کنند.

تغییرات فیزیولوژیک در جلبک به شرایط محیط رشد آنها بستگی دارد (Quinn et al., 2012; Valenzuela-Espinoza et al., 2002). این رفتار می‌تواند به‌عنوان یکی از ویژگی‌های زیست‌فناوری در نظر گرفته شود. بنابراین، دستکاری به‌منظور کنترل شرایط بیوشیمیایی و رشد؛ با تمرکز بر تنظیم ترکیبات خاص در محیط و با بهره‌وری بالاتر، یکی از اهداف مهم در کشت جلبک‌ها تلقی می‌شود. لذا، انتخاب یک محیط ارزان و امیدبخش، باید بتواند عملکرد تولید محصول ریزجلبک را برای منافع بزرگ نیز بهبود بخشد (Gim et al., 2016). در آبی‌پروری تولید غذای زنده یکی از چالش‌های پیش روی پرورش‌دهندگان ماهی است و در بیشتر موارد تولید بسیار بالای ریزجلبک از طریق فرمول‌های موجود محیط کشت، مانند *F/2* (Guillard, 1975)، هزینه زیادی را در بر دارد. گزارش شده است که ۳۰-۴۰ درصد (حداکثر تا ۷۰ درصد) از هزینه‌های راه‌اندازی سالن‌های تکثیر آبزیان دریایی مانند ماهی و میگو را هزینه‌های تأمین جلبک مورد نیاز تشکیل می‌دهد (Hemaiswarya et al., 2011). پس کاهش هزینه‌های تولید از طریق کاهش هزینه‌های تولید جلبک در آبی‌پروری دارای اهمیت زیادی است. بنابراین، هدف این پژوهش بکارگیری غلظت‌های مختلفی

از مواد معدنی و با نسبت یکسان مواد معدنی و با استفاده از نمک‌های معدنی تجاری با هدف رسیدن به یک فرمول‌بندی و ارائه محیط کشت ارزان‌تر برای تولید ریز جلبک کتوسروس بود.

۲. روش‌شناسی پژوهش

۲-۱. تهیه کشت مادری ریز جلبک دریایی کتوسروس

گونه ریزجلبکی به کار رفته در این پژوهش کتوسروس (*Chaetoceros* sp.) از مرکز تحقیقات نرم‌تنان خلیج فارس واقع در بندرلنگه واقع در جنوب کشور تهیه شد و به آزمایشگاه تکثیر و پرورش آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، واقع در کرج انتقال داده شد. برای افزایش استوک اولیه، ابتدا در ظرف پنج لیتری پلاستیکی به میزان سه لیتر آب نمک ۲۴ گرم در لیتر با استفاده از نمک دریای خلیج فارس تهیه و وارد شد. ظرف به مدت ۲۴ ساعت در معرض هوادهی شدید، دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد و نور طبیعی اتاق قرار گرفت. محیط کشت F/2 (Guillard, 1975) براساس کتاب آبی‌پروری پیشرفته در محیط‌های دریایی (et al., 2015) (Perumal)، با استفاده از نمک‌های آزمایشگاهی مرک تهیه و فرمول‌بندی شد و به ظروف کشت وارد و همان شرایط محیطی اولیه رعایت شد. در روز سوم از محیط‌های کشت ریزجلبک اولیه به میزان ۶۰ میلی‌لیتر برداشت شد و به هر لیتر محیط کشت (با غلظت‌های مختلف جدید) تلقیح شد (جدول ۳) و به مدت سه هفته کشت داده شد. از لامپ‌های LED زرد و سفید نیز، برای افزایش لوکس یا تابش نوری استفاده شد. در طول دوره آزمایش از جلبک‌ها پنج بار نمونه‌برداری شد (جدول ۱).

۲-۲. طرح آزمایش و تیمارها

این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و شامل پنج تیمار و سه تکرار راه‌اندازی شد و اثرات چند فرمول جدید به عنوان محیط‌های کشت جلبک در میزان تولید تعداد سلول‌های جلبکی مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا با بکارگیری کود الیت کشاورزی و سایر مواد معدنی، مبتنی بر غلظت مواد در کود کشاورزی، فرمول پایه ۱۰۰ درصد (تیمار ۲) ساخته شد و سپس درصدهای مختلفی از فرمول شامل ۲۵ (تیمار ۵)، ۵۰ (تیمار ۴)، ۷۵ (تیمار ۳) درصد ساخته شد (Rafiee et al., 2002) (جدول ۴) و با محیط F/2 که با استفاده از نمک‌های آزمایشگاهی تهیه شد، به عنوان شاهد مورد مقایسه قرار گرفت. لازم به ذکر است قبلاً درصد عناصر تشکیل‌دهنده کود الیت اندازه‌گیری شد (جدول ۲). نمک‌ها و مواد به کار رفته در این پژوهش، با ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۱ میلی‌گرم وزن شدند. محلول ویتامینه مورد مصرف با استفاده از ویتامین‌های انسانی گروه B (ب کمپلکس و B₁₂) ساخته شد و به تمام تیمارها با توجه به غلظت F/2 اضافه شد.

جدول ۱- غلظت عناصر تشکیل‌دهنده فرمول پایه برای کشت جلبک کتوسروس (٪۱۰۰)

نوع ماده	فسفات	سولفات	کلسیم	منیزیم	سدیم	پتاسیم	نیتروژن	آهن	بور	مس	روی	منگنز
مقدار (میلی گرم در لیتر)	۶۲	۸۰	۱۷۰	۵۰	۵۰	۳۰۰	۲۵۰	۱۲	۰/۰۱	۰/۳	۰/۱	۲

جدول ۲- درصد مواد تشکیل‌دهنده در یک گرم کود تجاری الیت قرمز مصرفی

نوع ماده	فسفات	سولفات	کربنات	بی‌کربنات	کلسیم	منیزیم	سدیم	پتاسیم	نیترات	آهن	بور	مس	روی	نیتريت
درصد	۱۷/۳۹	۴/۱۳	صفر	۸	۲۴	۳۴/۱۶	۳	۴۵	۱۹/۷	۰/۳	۱/۸۴	۰/۳	۰/۲	۰/۰۶

جدول ۳- میانگین تعداد سلول در میلی‌لیتر در کشت اولیه و سپس ورود به محیط کشت در تیمارهای مختلف

نام ریزجلبک	تعداد سلول در میلی‌لیتر در کشت اولیه	تعداد سلول در میلی‌لیتر ورودی به هر تیمار
کتوسروس	۱/۵×۱۰ ^۶	۰/۰۹×۱۰ ^۶

جدول ۴- عناصر و میزان آن‌ها (میلی گرم در لیتر) در غلظت‌های مختلف محیط‌های کشت‌های استفاده شده در این تحقیق (به جز تیمار شاهد)

نام عنصر	۱۰۰٪ تیمار ۲	۷۵٪ تیمار ۳	۵۰٪ تیمار ۴	۲۵٪ تیمار ۵
پتاسیم	۳۰۰	۲۲۵	۱۵۰	۷۵
نیترژن	۲۵۰	۱۸۷/۵	۱۲۵	۶۲/۵
گوگرد	۲۰۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰
منیزیم	۱۷۰/۵	۱۲۷/۸۷۵	۸۵/۲۵	۴۲/۶۲۵
کلسیم	۱۲۰	۹۰	۶۰	۳۰
فسفر	۸۰	۶۰	۴۰	۲۰
بی‌کربنات	۴۰	۳۰	۲۰	۱۰
سدیم	۱۵	۱۱/۲۵	۷/۵	۳/۷۵
بور	۹/۲	۶/۹	۴/۶	۲/۳
آهن	۱/۵	۱/۱۲۵	۰/۷۵	۰/۳۷۵
مس	۱/۵	۱/۱۲۵	۰/۷۵	۰/۳۷۵
روی	۱	۰/۷۵	۰/۵	۰/۲۵

۲-۳. نحوه انجام آزمایش

مدت آزمایش براساس پیش‌آزمایش‌ها و به‌دست آوردن رشد جلبک با استفاده از محیط کشت گیلارد یا F2، ۲۰ روز در نظر گرفته شد. در این مدت چهار تا پنج بار نمونه‌گیری برای تعیین تراکم سلول جلبکی و خصوصیات فیزیکی آب انجام گرفت. پیش از تلقیح ریزجلبک‌ها به محیط‌های کشت، ابتدا شوری به‌وسیله دستگاه شوری‌سنج و pH با دستگاه pH متر مدل (BANTE Instruments, Benchtop pH/mV Meter 210) ثبت شد و تغییرات از زمان ورود ریزجلبک تا زمان خروج آنها به‌همین صورت به ثبت رسید. شوری آب در واحدهای آزمایش ثابت و حدود ۲۴ گرم در لیتر بود. روی سر هر ظرف پرورشی دو منفذ تعبیه شده بود که یکی از منافذ برای عبور لوله هوا و منفذ دیگر برای کاهش فشار و خروج هوا بود. در مدت ۲۰ روز، هیچ ماده مغذی به تیمارها اضافه نشد و تغییراتی در خصوصیات سنجشی اعمال نشد. شمارش جلبک‌ها با نمونه‌گیری از آب و برداشت ۱۰ میکرولیتر نمونه با سمپلر (LABTRON ۱۰ میکرولیتری، ساخت ایران) و قرار دادن نمونه روی لام نئوبار (Counting chamber Neubauer improved, Bright lines, Germany) زیر میکروسکوپ انجام شد. شمارش ریزجلبک کتوسروس در روزهای ۴ (D4)، ۸ (D8)، ۱۳ (D13)، و ۲۰ (D20) با نمونه‌برداری و شمارش صورت گرفت.

۲-۴. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای تعیین تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایش از تجزیه واریانس یک‌طرفه (One way-ANOVA) در محیط نرم‌افزار SPSS (Version, 17) استفاده شد. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. داده‌های pH ابتدا به غلظت H^+ تبدیل و بعد میانگین‌ها تعیین شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۶ انجام شد. داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد در هر تیمار نشان داده شد.

۳- یافته‌های پژوهش

داده‌های آزمایش نشان داد که زمان اثر معنی‌داری را بر رشد و افزایش تراکم جلبک دارد ($P < 0.05$). طبق داده‌های جدول ۵، اختلاف معنی‌داری بین تراکم سلولی جلبک در طول دوره آزمایش در بین تیمارها مشاهده شد ($P < 0.05$). داده‌های مربوط به شمارش و رشد سلول‌های ریزجلبک کتوسروس در روزهای چهارم، هشتم، سیزدهم و بیستم نشان داد که از روز چهارم تا روز هشتم در همه تیمارها رشد جلبک محسوس است. در روز چهارم آزمایش، بعد از ورود جلبک، تیمار F/2 بالاترین میزان رشد را

نشان داد، با این حال، از روز هشتم تا روز سیزدهم آزمایش، تیمار با غلظت ۱۰۰ درصد نیز بعد از شاهد میزان رشد خوبی داشت. برای ریز جلبک حداکثر تراکم در طول مدت آزمایش در روز سیزدهم و به ترتیب برای تیمارهای شاهد (محیط F/2) و بعد در ۱۰۰ درصد به ترتیب با تراکم تولید $۰.۵۶۵۶۸ \times ۱۰^{-۶} \pm ۰.۵/۳۶ \times ۱۰^{-۶}$ سلول در میلی لیتر و $۰.۵۳۷۴۰ \times ۱۰^{-۶} \pm ۰.۳/۴۸ \times ۱۰^{-۶}$ سلول در میلی لیتر ثبت شد. از روز هشتم تا روز سیزدهم رشد جلبکی در تمام تیمارها مشاهده شد. در روز بیستم ریزش جلبکی در تمام تیمارها مشاهده شد و در تیمار غلظت ۱۰۰ درصد ۲ میلیون سلول کمتر از محیط F/2 بود.

جدول ۵- میانگین (میانگین + S.D) تغییرات تراکم یا تعداد جلبک در میلی لیتر محیط کشت در تیمارهای مختلف در طول دوره آزمایش.

تیمارها	میانگین $\pm$ SD روز چهارم
۱	$۰.۲۱۲۱۳۲ \times ۱۰^{-۶} \pm ۲/۷۵ \times ۱۰^{-۶}$
۲	$۰.۲۴۰۴۱۶ \times ۱۰^{-۶} \pm ۱/۶۳ \times ۱۰^{-۶}$
۳	$۰.۹۸۹۹۴ \times ۱۰^{-۶} \pm ۰.۵۳ \times ۱۰^{-۶}$
۴	$۰.۲۱۲۱۳۲ \times ۱۰^{-۶} \pm ۰.۹۵ \times ۱۰^{-۶}$
۵	$۰.۴۲۴۲۶ \times ۱۰^{-۶} \pm ۰.۸۳ \times ۱۰^{-۶}$

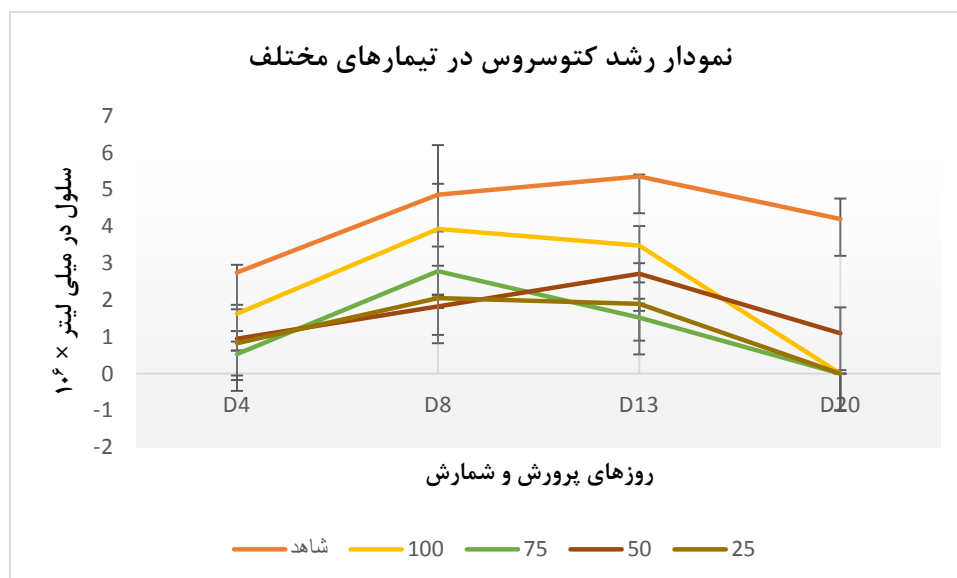
تیمارها	میانگین $\pm$ SD روز هشتم
۱	$۱/۳۵۷۶۴۵ \times ۱۰^{-۶} \pm ۴/۸۶ \times ۱۰^{-۶}$
۲	$۱/۲۳۰۳۶۵ \times ۱۰^{-۶} \pm ۳/۹۳ \times ۱۰^{-۶}$
۳	$۰.۶۷۸۸۸۲ \times ۱۰^{-۶} \pm ۲/۷۸ \times ۱۰^{-۶}$
۴	$۰.۳۲۵۹۶۹ \times ۱۰^{-۶} \pm ۱/۸۳ \times ۱۰^{-۶}$
۵	$۰.۷۰۷۱۰ \times ۱۰^{-۶} \pm ۲/۰۵ \times ۱۰^{-۶}$

تیمارها	میانگین $\pm$ SD روز سیزدهم
۱	$۰.۵۶۵۶۸ \times ۱۰^{-۶} \pm ۵/۳۶ \times ۱۰^{-۶}$
۲	$۰.۵۳۷۴۰ \times ۱۰^{-۶} \pm ۳/۴۸ \times ۱۰^{-۶}$
۳	$۰.۳۹۵۹۷۹ \times ۱۰^{-۶} \pm ۱/۵۲ \times ۱۰^{-۶}$
۴	$۰.۲۹۶۹۸۴ \times ۱۰^{-۶} \pm ۲/۷۱ \times ۱۰^{-۶}$
۵	$۰.۱۴۱۴۲۱ \times ۱۰^{-۶} \pm ۱/۹ \times ۱۰^{-۶}$

تیمارها	میانگین $\pm$ SD روز بیستم
۱	$۰.۵۶۵۶۸۵ \times ۱۰^{-۶} \pm ۴/۲ \times ۱۰^{-۶}$
۲	$۰.۵۳۷۴۰ \times ۱۰^{-۶} \pm ۳/۴۸ \times ۱۰^{-۶}$
۳	$۰.۳۹۵۹۷۹ \times ۱۰^{-۶} \pm ۱/۵۲ \times ۱۰^{-۶}$
۴	$۰.۲۹۶۹۸۴ \times ۱۰^{-۶} \pm ۲/۷۱ \times ۱۰^{-۶}$
۵	$۰.۱۴۱۴۲۱ \times ۱۰^{-۶} \pm ۱/۹ \times ۱۰^{-۶}$

*حروف انگلیسی یکسان در بالای اعداد در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در بین میانگینها در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

در پژوهش حاضر، هیچ کنترلی بر pH در مدت آزمایش، انجام نشد، میزان pH در تیمار با غلظت ۱۰۰ درصد دارای تغییرات جزئی بود و بین ۷/۰۷-۶/۸۴ متغیر بود (جدول ۶). به طور کلی از روز چهارم بعد از ورود جلبک تا روز بیستم بین تیمار شاهد، تیمار با غلظت ۱۰۰ درصد و تیمارها با غلظت های ۷۵ و ۵۰ ، ۲۵ درصد، اختلاف معنی داری مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$).



شکل ۱- نمودار تغییرات تراکم جلبک کتوسروس *Chaetoceros sp.* در تیمارهای مختلف در طول دوره آزمایش

جدول ۶- روند تغییرات pH در تیمارهای ریز جلبک کتوسروس *Chaetoceros sp.* در طول مدت آزمایش (میانگین ± S.D.)

تیمارها	زمان	شروع آزمایش	روز چهارم	روز هشتم	روز سیزدهم	روز بیستم
۱		۸/۳۱ ± ۰/۰۴	۹/۰۸ ± ۰/۰۷	۸/۷۱ ± ۰/۰۴	۸/۴۹ ± ۰/۰۵	۸/۴۶ ± ۰/۰۰
۲		۶/۸۵ ± ۰/۰۰	۶/۹۰ ± ۰/۰۲	۶/۸۴ ± ۰/۰۲	۶/۹۴ ± ۰/۰۸	۷/۰۷ ± ۰/۱۴
۳		۷/۱۰ ± ۰/۰۷	۷/۲۳ ± ۰/۰۵	۷/۲۳ ± ۰/۰۵	۷/۲۱ ± ۰/۰۷	۷/۴۵ ± ۰/۱۴
۴		۷/۴۸ ± ۰/۰۲	۷/۵۶ ± ۰/۰۰	۷/۲۲ ± ۰/۰۷	۷/۰۱ ± ۰/۰۹	۶/۹۶ ± ۰/۰۵
۵		۷/۹۴ ± ۰/۰۰	۸/۱۱ ± ۰/۰۴	۷/۹۲ ± ۰/۰۰	۷/۷۴ ± ۰/۰۵	۷/۴۰ ± ۰/۱۸
						ریزش

۴. بحث و نتیجه‌گیری نهایی

هدف از این پژوهش، مقایسه تولید ریز جلبک‌های دریایی با به‌کارگیری محیط کشت‌های استاندارد و فرمول‌های جدید با استفاده از نمک‌های تجاری بود. وجود مکمل‌ها و مواد مغذی از عوامل بسیار مهم در عملکرد رشد ریز جلبک‌ها محسوب می‌شوند (Xin et al., 2010). یکی از مهم‌ترین شاخص‌های رشد جلبک، میزان تراکم سلول جلبکی در محیط کشت است و هرچه این تعداد زیادتر باشد کاربردی‌تر خواهد بود، مثلاً برای تولید بیودیزل و یا دارو، ترکم سلولی جلبک بسیار مهم است (Chen et al., 2011; Quinn et al., 2012). در این پژوهش، حداکثر تراکم ریز جلبک کتوسروس مربوط به تیمار شاهد با تراکم به‌طور متوسط در طول مدت آزمایش بود. همچنین تیمار ۱۰۰ درصد با تولید $۵/۳۶۰۰۰ \times ۱۰^۶ \pm ۰/۰۵۶۵۶۸ \times ۱۰^۶$ سلول در میلی‌لیتر در روز سیزدهم و $۲/۲۶۰۰۰ \times ۱۰^۶ \pm ۰/۲۰۰۸۲۰ \times ۱۰^۶$ سلول در میلی‌لیتر به‌طور متوسط در کل دوره مورد بررسی بود و بعد از شاهد، بالاترین میزان تولید را تیمار ۱۰۰ درصد به‌خود اختصاص داد. در یک مطالعه تأثیر دو نوع محیط کشت گیلارد F/2 و Walne بر رشد و میزان کلروفیل ریز جلبک *Nanochloropsis oculata* در فوتوبیوراکتور لوله‌ای، در دو دوره ۱۵ روزه، توسط Naseri و همکاران، (۲۰۱۵)، در شهر ساری مورد بررسی قرار گرفت. با اینکه حداکثر تراکم در محیط کشت گیلارد $۵/۰۲ \pm ۰/۱۲ \times ۱۰^۶$ و در محیط والن $۴/۴۲ \pm ۰/۱۴ \times ۱۰^۶$ بود، به‌دلیل بالاتر بودن میانگین نرخ رشد ویژه در محیط والن (۰/۳ در روز) نسبت به گیلارد (۰/۲۵)

در روز)، محیط کشت والن برای این ریزجلبک، مناسب‌تر عنوان شد.

در این بررسی، ریزجلبک‌های تولید شده از نظر اندازه و نوع ترکیبات مورد بررسی قرار نگرفتند ولی تفاوت کمی در اندازه ریزجلبک‌های پرورش یافته در محیط حاوی کودهای کشاورزی در مقایسه با محیط شاهد و با بررسی مقدماتی در زیر میکروسکوپ مشاهده شد و جلبک‌های پرورش یافته در محیط حاوی مواد مغذی بیشتر، کمی بزرگ‌تر بودند. همان‌طور که پیش از این نیز ذکر شد، هنگامی که سلول‌ها به محیط جدید برای رشد وارد می‌شوند، یک دوره سازگاری رخ می‌دهد که در این دوره، آنها می‌توانند با استفاده از ذخایر درونی مثلاً فسفاتی که احتمالاً به‌صورت پلی‌فسفات در گرانول‌های سیتوپلاسمی خود دارند، زنده بمانند و تکثیر کنند. ذخیره پلی‌فسفاتی، رشد را تنظیم می‌کند و هنگامی که غلظت فسفات محدود شود، هیچ تقسیم سلولی انجام نمی‌شود، اما یک افزایش حجم در سلول‌ها زمانی که پلی‌فسفات برای ساخت DNA، RNA و پروتیین استفاده می‌شود، رخ می‌دهد. در این پژوهش، دوره رشد، جلبک کتوسروس از همبستگی بین غلظت مواد و اندازه سلولی پیروی نکرد و این موضوع احتمالاً به متفاوت بودن ساختار سلولی آنها اشاره دارد (Lananan et al., 2013).

دلیل مطلوبیت F/2 برای ریزجلبک‌ها را تنظیم نسبت نیتروژن به فسفر (۱/۱۶) و در غلظت کم، می‌دانند. در این پژوهش، نسبت نیتروژن به فسفر (۱/۱۲۵/۳) بود که در غلظت زیاد، برای رشد جلبک کتوسروس به‌نظر می‌رسد که قابل قبول نیست و یکی از عوامل رشد کمتر در محیط کشت صد درصد در مقایسه با محیط کشت F/2 می‌تواند باشد. ریزجلبک‌های کلرلا و نانوکروپسیس نتایج رشد بهتری را در محیط‌های رقیق شده حاوی بارورکننده‌های کشاورزی نشان داده‌اند که می‌تواند به‌دلیل عدم حضور یک دیواره سلولی سفت و سخت در این گونه‌ها باشد و به آنها اجازه می‌دهد فشار اسمزی خارج سلولی و طیف گسترده‌ای از نور را بهتر تحمل کنند (Wang and Lan, 2010; Rafiee et al., 2017)، همچنین بالاتر بودن تراکم سلولی برای این ریزجلبک‌ها در محیط کشت با غلظت بالاتر و در مقایسه با محیط کشت F/2، می‌تواند به‌دلیل نیاز تنظیم نسبت‌های N:P باشد (Valenzuela-Espinoza, 1999).

در محیط‌های کشت مختلف، تراکم سلولی مختلفی از جنس‌های ریزجلبک‌های به‌دست آمده است. از آنجا که نیتروژن یک ماده مغذی اصلی برای کشت جلبک‌ها محسوب می‌شود و محیط‌های دریایی از نظر غلظت مواد نیتروژن دار محدودند، این تفاوت را می‌توان به در دسترس بودن و تنوع منابع نیتروژنی در محیط‌های کشت مختلف نسبت داد. اشاره شده است که سطوح بالاتر نیتروژن و آمونیوم برای برخی از ریزجلبک‌های دریایی می‌تواند سمی باشد، و این مورد نیز می‌تواند دلیل دیگری بر عملکرد رشد نامطلوب ریزجلبک‌ها در محیط با غلظت‌های بالا باشند و از طرفی رقیق‌سازی و کاهش غلظت نیز، ممکن است تعادل لازم را ایجاد نکند (Berges et al., 2001). علاوه بر منبع نیتروژن و نسبت‌های مواد مغذی نیتروژن دار، تعادل محیط کشت به‌طور مستقیم به میزان pH نیز ارتباط دارد. در پژوهش حاضر، هیچ کنترل حفاظت شده pH در طول مدت آزمایش، انجام نشد، در نتیجه، با افزایش تراکم سلولی و جذب و ورود کربن دی‌کسید و نیز جذب یون‌ها و تغییرات غلظت آنها، pH نیز تغییراتی را در تیمارهای مختلف نشان داد. کتوسروس‌ها بالاترین میزان تولید و پایداری را (بعد از محیط شاهد) در محیط با غلظت ۱۰۰ درصد نشان دادند، علت این امر را ساختار دیواره سلولی بیان کرده‌اند. در آزمایش انجام شده در کشور اندونزی مشخص شده است که استفاده از محیط‌های کشت مختلف بر رشد، و محتوای پروتئینی و اسید چرب در ریزجلبک *Skeletonema sp.* تأثیرگذار بوده است (Walne, 2007; Yanu Endar et al., 2012).

اگر فرض شود که کودهای کشاورزی به‌عنوان مواد مغذی، یک منبع خوب برای پرورش دیاتومه‌ها باشند؛ می‌توانند به‌عنوان محیط‌های کشت غیر معمول، جایگزین محیط‌های کشت معمول ولی گران قیمت مانند F/2 شوند، ولی در فرموله کردن محیط‌های کشت غیر متعارف یا کودهای کشاورزی، قابلیت سلول‌های ریزجلبک برای استفاده ترجیحی از اشکال مختلف عناصر به‌عنوان مواد مغذی باید در نظر گرفته شود. سلول‌های ریزجلبک قادر به استفاده ترکیبات نیتروژنی آلی، به‌ویژه اسیدهای آمینه، اوره و پورین‌ها (purines)، به‌عنوان تنها منبع نیتروژن هستند (Fábregas et al., 1987; Neilson and Larsson, 2006). تنها منبع مهم فسفر معدنی (غیر ارگانیکی) برای جلبک‌ها، ارتوفسفات است، اگرچه به‌نظر می‌رسد که به‌طور گسترده‌ای توانایی استفاده از پلی‌فسفات‌ها و فسفات‌های آلی مختلف را نیز جلبک‌ها داشته باشند (Lingxiao Ren, 2017). دیاتومه‌ها برای ساخت دیواره حفاظتی خود (silica frustules)، نیاز به جذب سیلیکون به‌صورت اورتو سیلیک اسید (orthosilic acid) دارند (Darley, 1987). و Simental

Sánchez-Saavedra در سال ۲۰۰۳ در کشور مکزیک اثر کودهای کشاورزی را بر نرخ رشد دیاتومه‌های بنتیک مورد بررسی قرار دادند. محیط‌های کشت آزمایشی که برای سه دیاتومه (*Nitzschia laevis*, *Nitzschia thermalis* var. *minor* و *Navicula incerta*)، بکار رفتند، شامل نیترات، آمونیاک (*ammonia*) و اوره بود که این فرمول را می‌توان به‌عنوان یک منبع از مواد مغذی مناسب در نظر گرفت. فسفریک اسید و سدیم متاسیلیکات (بدون آب)، نمک‌های قابل استفاده توسط سلول‌های فیتوپلانکتون‌اند. نتایج این کار تأیید کرد که نوع منبع مغذی و مقدار آن، اثری بر تولید زیست‌توده ندارد و رشد آن را محدود نمی‌کند. در برخی از پژوهش‌ها نشان داده شده است که استفاده از کودهای کشاورزی مایع به‌عنوان محیط کشت برای تولید دیاتومه‌های بنتیک در آبزی‌پروری، می‌تواند نیازهای غذایی و شرایط محیطی را برای تولید سطح متوسطی از سه گونه از جلبک‌های تک سلولی فراهم کند (Simental and Sánchez-Saavedra, 2003).

در برخی از پژوهش‌ها، برتری کودهایی با درجه کشاورزی همراه با صرفه‌جویی در هزینه‌های تولید در مقایسه با مصرف محیط متعارف F/2، نشان داده شده است (Jad-Allah EI Nabris, 2012). نتایج مشابهی دیگری نیز این موضوع را تأیید می‌کند و قبلاً توسط Salas و همکاران (۱۹۹۲) گزارش شده است. در این گزارش تا ۹۸ درصد صرفه‌جویی هنگام استفاده از کودهای کشاورزی در مقایسه با محیط کشت F/2، به‌دست آمده است. سایر پژوهشگران نشان دادند که محیط‌های حاوی کودهای کشاورزی مورد استفاده توسط آنها، هشت برابر ارزان‌تر از محیط F/2 است (Valenzuela-Espinoza et al., 1999; Simental and Sánchez, 2003). بنابراین، کاربرد کودهای کشاورزی برای تولید محیط کشت جلبک‌های تک سلولی، علاوه بر صرفه‌جویی در هزینه تولید، می‌تواند به‌راحتی آماده شوند و در دسترس قرار گیرند (Jad-Allah EI Nabris, 2012).

۵. نتیجه‌گیری نهایی

این پژوهش نشان داد که از کودهای کشاورزی می‌توان به‌طور اقتصادی‌تری در مقایسه با استفاده از نمک‌های با درجه آنالیتیک برای کشت جلبک کتوسروس استفاده کرد. با این حال، این موضوع را باید در نظر گرفت که ترکیب محیط کشت نه تنها بر تولید سلول، بلکه بر ترکیب بیوشیمیایی سلول‌ها و بازده محصول نیز تأثیرگذار است (Imamoglu et al., 2007). تاکنون، گزارشی در زمینه استفاده از کودهای تجاری کشاورزی برای رشد جنس‌های ریزجلبکی دریایی در ایران به‌خصوص در کشت‌های استوک یا مادری در سالن، ارائه نشده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، می‌توان بیان کرد که ساخت محیط کشتی با غلظت پایه، یک فرمول‌بندی جدید است که با دارا بودن نسبت‌های مشخصی از عناصر می‌تواند رشد ریزجلبک کتوسروس را تأمین کند و قابل رقابت با فرمول F/2 نیز باشد. بنابراین، ارائه دستورالعملی شامل ترکیبی از کودهای کشاورزی مانند اوره، سولفات آمونیوم، سولفات پتاسیم، کود الیت آبی، دی‌آمونیم فسفات و محلول ویتامین‌های گروه ب، به‌عنوان محیط کشت جدید برای رسیدن به حداکثر تراکم قابل قبول برای تولید انبوه جلبک کتوسروس و ارائه محیط‌های کشت کارآمدتر امکانپذیر است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از سرکار خانم مهندس موسوی و آقای مهندس عاشوری کارشناسان گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند تشکر و قدردانی داریم.

References

- Becerra-Dórame, M., López-Elías, J.A., Martínez-Córdova, L.R. 2010. An alternative outdoor production system for the microalgae *Chaetoceros muelleri* and *Dunaliella* sp. during winter and spring in Northwest Mexico. *Aquacultural Engineering*, 43(1): 24-28. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2010.03.002
- Berges, J.A., Franklin, D.J., Harrison, J., 2001. Evolution of artificial seawater medium: Improvement in enriched seawater, artificial water over the last two decades, *Applied Phycology*, 37, 1138-1145. DOI: 10.1046/j.1529-8817.2001.01052.x

- Cheirsilp, B., Mandik, Y.I., Prasertsan, P. 2015. Evaluation of optimal conditions for cultivation of marine *Chlorella* sp. as potential sources of lipids, exopolymeric substances and pigments. *Aquaculture International* 24(1), 313-326. DOI: 10.1007/s10499-015-9927-2
- Chen, C.Y., Yeh, K.L., Aisyah, R., Lee, D.J., Chang, J.S., 2011. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review. *Bioresource Technology* 102(1), 71-81. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.06.159
- Chia, M. A., Lombardi, A.T., Melão, M D.G.G., 2013. Growth and biochemical composition of *Chlorella vulgaris* in different growth media. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 85(4), 1427-1438. DOI: 10.1590/0001-3765201393312
- Fábregas, J., Toribio, L., Abalde, J., Cabezas, A., Herrero, C., 1987. Approach to biomass production of the marine microalgae *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butch using common garden fertilizer and soil extract as cheap nutrient supply in batch cultures. *Aquacultural Engineering* 6(2), 141-150. DOI: 10.1016/0144-8609(87)90011-2
- Gim, G.H., Ryu, J., Kim, M.J., Kim, P.I., Kim, S.W., 2016. Effect of carbon source and light intensity on the growth and total lipid production of three microalgae under different culture condition. *Industrial Microbiology and Biotechnology*, 43, 605-616.
- Guillard, R.L L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: Smith, W. L., Chanley, M.H., (Eds.), Culture of Marine Invertebrates Animals. *Plenum Press, New York*, pp. 29-60.
- Hemaiswarya, S., Raja, R., Ravi Kumar, R., Ganesan, V., Anbazhagan, C., 2011. Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 27, 1737-1746. DOI: 10.1007/s11274-010-0632-z
- Imamoglu, E., Sukan, E.F.V., Dalay, M.C., 2007. Effect of Different Culture Media and Light Intensities on Growth of *Haematococcus pluvialis*. *International Journal of Natural and Engineering Sciences* 1(3), 5-9.
- Jad-Allah El Nabris, K. 2012. Development of cheap and simple culture medium for the *Nannochloropsis* sp. based on agriculture grade fertilizers available in the local market of Gaza Strip (Palestine). *Al Azhar University-Gaza (Natural Sciences)* 14, 61-67.
- Jad-Allah El Nabris, K. 2012. Development of cheap and simple culture medium for the *Nannochloropsis* sp. based on agriculture grade fertilizers available in the local market of Gaza Strip (Palestine). *Al Azhar University-Gaza (Natural Sciences)*, 14, 61-67
- Lananan, F., Juso, A., Ali, N., Lam, S S., Endut, A., 2013. Effect of Conway medium and F/2 medium on the growth of six genera of South China Sea marine microalgae. *Bioresource Technology* 141, 75-82. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.03.006
- Lingxiao Ren, Peifang Wang, Chao Wang, Juan Chen, Jun Hou, Jin Qian. 2017. Algal growth and utilization of phosphorus studied by combined mono-culture and co-culture experiments, *Environmental Pollution A* (220), 274-285. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.09.061
- Naseri, M.H., Khalesi, M.K., Jafarpour, S.A., Esmaeili A.Gh., Nemat Zade, G.A., 2015. The effect of culture media on growth and chlorophyll content of *Nannochloropsis oculata* in tubular photobioreactor. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)* 28(3), 636-646. (In Persian)
- Neilson and Larsson. 2006. The utilization of organic nitrogen for growth of algae. *Physiological Aspects* 48(4), 542-553. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1980.tb03302.x
- Perumal, S.A.R.T., Pachiappan, P. (Editors). 2015. Advances in Marine and Brackishwater Aquaculture. *Springer (India) Pvt. Ltd. is part of Springer science + Business Media (www. Springer.com)*. *www. Ebook3000.com-Isolation and Culture of Microalga*, 1- 15, p. 226.
- Prasetyo, Y., Apriliyadi, E., Hidajat, E., Novianti, F., 2009. Resistance to innovation: Case of appropriate technology implementation in rural agriculture communities. Available at SSRN 2101656.
- Quinn, J C., Yates, T., Douglas, N., Weyer, K., Butler, J., Bradley, T.H., Lammers, P.J., 2012. *Nannochloropsis* production metrics in a scalable outdoor photobioreactor for commercial applications. *Bioresource Technology* 117, 164-171. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.04.073

- Rafiee, G.R., Saad, C.R., Kamarudin, M.S., Sijam, K., Ismail, M.R., Yusoq, K., 2002. Use of aquaculture wastewaters as nutrient solutions for growth of lettuce (*Lactuca Savita* var *longifolia*). Proceeding of Asia-Pacific Conference on marine Science and technology, "Marine Science into the New Millennium" 12-16 may, Kuala Lumpur, Malaysia, 1, 354-360.
- Rousch, J.M., Bingham, S.E., Sommerfeld, M.R., 2003. Changes in fatty acid profiles of thermo-intolerant and thermo-tolerant marine diatoms during temperature stress. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 295(2), 145-156. DOI: 10.1016/S0022-0981(03)00293-4
- Sakarika, M., Kornaros, M., 2016. Effect of pH on growth and lipid accumulation kinetics of the microalgae *Chlorella vulgaris* grow heterotrophically under sulfur limitation. *Bioresource Technology* 219, 694-701. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.08.033
- Salas, L.S.M., Aranda, F.J.O., Pámanes, L.E.G., 1992. Efecto de la microalga *Pavlova lutheri* (Droop) cultivada con fertilizantes agrícolas en el crecimiento y supervivencia de larvas y postlarvas del mejillo'n *Mytilus edulis* (L). *Ciencias Marinas* 18(4), 57-74.
- Simental, J.A., Sánchez-Saavedra, M.P., 2003. The effect of agricultural fertilizer on growth rate of benthic diatoms. *Aquacultural Engineering* 27(4), 265-272. DOI: 10.1016/S0144-8609(02)00087-0
- Simental, J.A., Sánchez-Saavedra, M.P., 2003. The effect of agricultural fertilizer on growth rate of benthic diatoms. *Aquacultural Engineering* 27(4), 265-272. DOI: 10.1016/S0144-8609(02)00087-0
- Valenzuela-Espinoza, E., Millán-Núñez R., Núñez-Cebrero, F., 1999. Biomass production and nutrient uptake by *Isochrysis aff. galbana* (Clone T-ISO) culture with a low cost alternative to the f/2 medium. *Aquacultural Engineering* 20(3), 135-147. DOI: 10.1016/S0144-8609(99)00011-4
- Walne, P.R. 1970. Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria* and *Mytilus*. Fishery Investigation. London, Series 2, 24(5), 1-62.
- Wang, B., Lan, C. 2010. Microalgae for Biofuel Production and CO₂ Sequestration. *Energy Science, Engineering and Technology Series, Nova Science, New York, USA*.
- Xin, L., Hong-ying, H., Ke, G., Ying-xue, S., 2010. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus sp.* *Bioresource Technology* 101(14), 5494-5500. DOI: 1016/j.biortech.2010.02.016