شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۵، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱
صفحات ۴۴۸-۴۳۵

تاثیر غلظت‌های مختلف اوره و فسفات بر رشد جلبک قرمز *Hypnea musciformis* در شرایط پرورشی فضای باز

مهدی شهرکی[۱]، علی ارشدی[۲*]، جواد میردار هریجانی[۳]

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، سیستان و بلوچستان، ایران
۲. استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، سیستان و بلوچستان، ایران
۳. دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، سیستان و بلوچستان، ایران

تاریخ ارسال: ۱۴۰۰/۰۴/۱۳ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۲۹**

چکیده

جلبک‌های دریایی از نظر بوم شناسی یا اکولوژیک با اهمیت اند و از نظر اقتصادی کاربرد فراوانی دارند. کربن غیر آلی، نیتروژن و فسفر عناصر اصلی مورد نیاز جلبک دریایی برای فتوسنتز و رشد هستند. در این تحقیق تاثیر غلظت‌های مختلف کودهای اوره و فسفات به صورت توام در چهار تیمار با نسبت‌های (P:N) مختلف اوره به فسفات شامل: تیمار یک= ۰/۲:۲، تیمار دو= ۰/۴:۴، تیمار سه= ۰/۶:۶ و تیمار چهار= ۰/۸:۸ میلی‌گرم بر لیتر، به‌همراه تیمار شاهد (تیمار پنجم) در سه تکرار، بر رشد ماکروجلبک قرمز *Hypnea musciformis* مورد ارزیابی قرار گرفت. جمع‌آوری نمونه جلبک در ناحیه جزر و مدی سواحل دریای عمان و در زمان جزر بیشینه انجام شد. جلبک مذکور به مدت ۴۵ روز در ۴ تیمار حاوی غلظت‌های مختلف محیط کشت اوره و فسفات در مخازن ۴۰ لیتری پلاستیکی شفاف و آبگیری با ۴۰ لیتر آب فیلتر شده دریا، کشت گردید. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در روز چهل و پنجم بیشترین میزان در صد رشد روزانه مربوط به تیمار ۲ به میزان ۰/۰۴±۳/۳ گرم در روز و کمترین میزان در صد رشد روزانه در تیمار شاهد در هفته آخر با در صد رشد روزانه ۰/۰۲±۲/۱۹ گرم در روز مشاهده شد ($p<0/05$). همچنین تیمارهای سه و چهار با در صد رشد روزانه به ترتیب ۰/۰۱±۲/۸۷ و ۰/۰۱±۲/۸ گرم در روز افزایش معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد داشتند ($p<0/05$). نتایج نشان دادکه رشد این جلبک در شرایط پرورشی فضای باز تحت تاثیر غلظت‌ها و نسبت‌های مختلف مواد مغذی اوره و فسفات تغییر می‌کند و در غلظت ۴ و ۴/. میلی گرم در لیتر نیتروژن به فسفر و نسبت ۱:۱۰ بیشترین رشد جلبک به دست آمد. .

کلمات کلیدی: جلبک قرمز، *Hypnea musciformis*، اوره، فسفات، نرخ رشد روزانه.

* نویسنده مسئول: علی ارشدی
Email: arshadi@uoz.ac.ir

Journal of Fisheries
Vol. 75, No. 3, Autumn 2022
pp. 419-448

Effect of Different Concentrations of Urea and Phosphate on Growth of Red Seaweed *Hypnea musciformis* in an Out-door culture system

Mehdi Shahraki[1], Ali Arshadi[2*], Javad Mirdar Harijani[3]

1. MSc Graduated, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Sistan and Baluchistan, Iran
2. Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Sistan and Baluchistan, Iran
3. Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Sistan and Baluchistan Iran

Received: 13-Jul-2021 **Accepted: 20-Mar-2022**

Abstract
Seaweeds are ecologically important and have many applications economically. Inorganic carbon, nitrogen and phosphorus are the main elements needed for photosynthesis and growth of seaweed. Different concentrations of urea and phosphate as fertilizers with the ratio of 1:10 urea to phosphate (P: N = treatment one = 0.2: 2, treatment two = 0.4: 4, treatment three = 6: 0.6 and treatment four = 0.8: 8 mg/l) made treatments and compared to control (without nutrient, as fifth treatment), and their effects on growth of red macro algae, *Hypnea musciformis* were evaluated in triplicates. Algae sampled from the tidal area of the Oman Sea offshore at the time of the maximum tide and cultured to get optimum biomass for running the experiment. The algae were inoculated into experimental units and cultured for 45 days. A transparent plastic tank containing 40 liters of filtered seawater considered as the experimental unit. At the end of the experiment, the highest and lowest daily growth rate recorded in treatments 2 and control at the rates of 3.3±0.04 and 2.19 ± 0.02 g/day, respectively ($p < 0.05$). These rates in third and fourth treatments were 2.87 ± 0.01 and 2.8 ± 0.01 g/day, respectively, and had a significant increase on growth of algae in comparison to the control ($p < 0.05$). The results indicated that the concentrations of urea and phosphate rates and their ratios in the medium affecting on growth of this alga under outdoor conditions, and at the concentration of 0.4: 4 mg/l and ratio of 1/10 of phosphate to urea algae had the highest growth.

Key words: Red algae, *Hypnea musciformis*, Urea, Phosphate, Daily growth rate.

Corresponding author: Ali Arshadi Email: arshadi@uoz.ac.ir

۱. مقدمه

جلبک‌ها از اهمیت بوم شـــناختی، تجاری، صـــنعتی زیادی برخوردار بوده، بطوری که کاربردهای فراوانی در زندگی انسـان دارند از جمله صـنایع آرایشـی، بهداشـتی دارویی، غذایی، صنایع تصفیه فاضلاب و اخیرا برای تامین سوخت زیستی استفاده می‌شوند (FAO, 2020). جلبک‌ها دارای مواد معدنی ضروری، پروتئین قابل هضم (که مقدار بالای آن قابل مقایسه با سایر گیاهان است)، ویتامین‌های A ، E، C، B_{12}، B_2 چربی نسـبتا کم (اما مقدار متناسـب اسـید چرب غیر اشـباع امگا ۳) و ریز مغذی‌ها (سـدیم، پتاسـیم، منیزیم، روی، کلسـیم، آهن، مس، ید و سـایر عناصر کمیاب) هستند (Tanna and Mishra, 2019). با اینکه پرورش جلبک‌های دریایی به یک صـنعت جهانی تبدیل است، اما عمده جلبک‌ها در آسیا بخصوص جنوب و شـرق آسـیا پرورش می یابند، به طوری که چین ۶۰ درصد تولید جهانی جلبکی را به خود اختصاص می دهد. طبق آمار فائو میزان تولید جلبک‌های دریایی در سـال ۲۰۱۸ حدود ۳۲/۴ میلیون تن بود و عمده جلبک های تجاری پرورش یافته شـامل *Undaria pinnatifida*، *Porphyra spp.*، *Hypnea*، *Gracilaria*، *Agardhiella* و *Caulerpa spp.* بودند (FAO, 2020).

عوامل اصـلی و موثر بر رشـد جلبک‌ها شـامل عوامل زیست محیطی (نور، دما، pH، مواد مغذی و شوری)، شرایط فیزیکی (تلاطم)، عوامل زیستی، گونه‌های جلبک و شکل و نوع ظروف و روش کشـت اند. این عوامل بر فعالیت فتوسنتزی، تولید زیتوده، ترکیب فیزیولوژیک و بیوشیمیایی جلبک‌ها اثر می‌گذارند (Tebbani *et al.*, 2014). هنگامی که شـرایط محیطی جلبک‌ها پایین‌تر از حد مطلوب باشـد واکنش جلبک‌ها تغییر الگوی متابولیتی اسـت. لذا زمانی که جلبک‌ها تحت شرایط استرس محیطی باشند ترکیبات مواد مغذی تولیدی آنها تغییر می‌نماید (Saha *et al.*, 2013). جلبک‌ها توانایی جذب مواد مغذی نیتروژن و فسـفردار را به منظور فتو سنتز، تولید رنگدانه، چربی و پروتئین دارند. کمبود یا مازاد مواد مغذی می‌تواند نقش بازدارندگی برای رشد جلبک و کارایی آن در جذب مواد مغذی داشته باشد (Kong *et al.*, 2010). بسـیاری از مطالعات تایید کرده‌اند که محدودیت‌های منابع نیتروژن و فسفر می‌تواند ترکیبات بیوشـیمیایی مانند کربوهیدرات، پروتئین، رنگدانه‌ها، میزان چربی، ترکیبات اسـیدهای چرب، و نیز فعالیت فتوسـنتزی جلبک‌ها را تغییر دهد (Fan *et al.*, 2014). کمبود مواد مغذی نیتروژن‌دار و فسـفردار همزمان منجر به کاهش شدید رشد جلبک‌ها می‌گردد، لذا نیاز به تحقیقات جهت یافتن شـرایط بهینه برای رشـد جلبک‌ها به منظور بهینه کردن شرایط ضروری است. به‌گونه‌ای که علاوه بر تعادل الگوی متابولیتی حاصـل، میزان رشـد جلبک نیز، از نظر اقتصـادی و در مجموع تولید کل زی توده، در حد قابل قبولی باشد (Markou and Nerantzis, 2013).

نیتروژن یک درشـت مغذی ضـروری برای رشـد ریزجلبک است و نقش مهمی در ساخت پروتئین، لیپید و کربوهیدرات دارد. به طور کلی، غلظت نیتروژن به طور قابل توجهی بر رشد ریزجلبک‌ها و ترکیبات بیو شیمیایی آن‌ها تأثیر می گذارد. در عین حال، کاهش نیتروژن در محیط کشـت باعث کاهش رشـد با افزایش همزمان بازده لیپید می شود. ریزجلبک‌ها می‌توانند نیتروژن را به شکل نیترات، نیتریت، اوره و آمونیوم جذب کنند. با این حال، نیترات در مقایسه با نمک‌های آمونیوم به طور گسترده ای برای کشـت ریزجلبک‌ها اسـتفاده می‌شـود، زیرا پایدارتر است و احتمال تغییر pH کمتر است. علاوه بر این، غلظت آمونیاک بیشتر از ۲۵ میکرومولار برای ریزجلبک‌ها سمی اسـت، بنابراین، معمولاً نیترات در محیط های کشـت اسـتفاده می‌شـود (Procházková *et al.*, 2013). با این حال، محدودیت نیتروژن در محیط کشـت می‌تواند تولید زیست توده را کاهش و تولید لیپید را افزایش دهد. فسفر ترکیب ضـروری دیگری اسـت که نقش مهمی در رشـد جلبک، تولید چربی، تولید اسـیدهای چرب و فرآیندهای متابولیکی و فتوسنتز دارد. فسفر یک ماده مغذی ضروری برای رشـد جلبک‌ها اسـت و نیاز آن در گونه‌های مختلف متفاوت است. فسفر کمی کمتر از ۱ درصد از کل زیتوده جلبکی را تشکیل می‌دهد و تقریباً ۰/۰۳-۰/۰۶ درصد در

محیط برای حفظ رشد جلبک مورد نیاز است. جلبک‌ها می‌توانند فسفر را به شکل پلی‌فسفات یا ارتوفسفات جذب کنند تا رشد، محتوای تغذیه‌ای سلول و محافظت سلولی جلبک در برابر سمیت فلزات را افزایش دهند (Yaakob *et al*., 2021).

جلبک قرمز *Hypnea musciformis* به دلیل دارا بودن کاراجینان[1] که از خانواده سولفاته خطی پلی ساکارید بوده و قسمتی از دیواره سلولی جلبک است، از نظر اقتصادی بسیار مهم هستند. خواص کاراجینان بسیار شبیه به آگار است، ولی قدرت ژلاتین شدن کمتری دارد. از این ماده برای تهیه بستنی، شکلات، پاستیل، پودینگ، سس، ماست و آبمیوه و همچنین در صنایع بهداشتی و آرایشی برای ساخت خمیر دندان، شامپو و انواع لوسیون‌ها استفاده می‌شود. افزودن کاراجینان باعث می‌شود برای نگهداری این مواد احتیاجی به سردخانه یا یخچال نباشد (Martins *et al*., 2011). جنس هیپنهآ ۵۳ گونه در سراسر جهان دارد که در ایران حدود ۱۰ گونه از آن گزارش شده است. تمامی این ۱۰ گونه در سواحل سیستان و بلوچستان یافت می‌شوند (Gharanjik *et al*., 2011). گونه‌های مختلف این جنس در مناطق جزر و مدی آب های گرم دریایی حضور دارند. جلبک قرمز جنس هیپنهآ به سبب دارا بودن رنگیزه‌ای سبز رنگ به نام کلروفیل a و b اغلب به رنگ سبز دیده می‌شوند. جلبک‌های قرمز اگر در معرض تابش اشعه مستقیم خورشید قرار گیرند، رنگ قرمز خود را از دست داده و به رنگ سبز در می‌آیند، رنگدانه فیکواریترین[2] مسئول رنگ قرمز این جلبک است. رنگ جلبک قرمز گونه *Hypnea musciformis*، متمایل به سبز یا قرمز متمایل به ارغوانی است که احتمالاً تحت تأثیر نور و سطوح مواد مغذی است. ارتفاع این جلبک به ۲۰-۱۰ سانتی‌متر و قطر آن به ۱/۵-۱ میلی‌متر می‌رسد که به صورت توده متراکم با انشعابات نامنظم زیاد قلابی شکل دیده می‌شود. به طوریکه انتهای بسیاری از محورها و شاخه‌های اولیه منبسط شده و دارای قلاب باز شده یا پیچک مانند است که اغلب به دور محورهای جلبک‌های دیگر پیچ خورده است (Abbott, 1999; Sargazi *et al*., 2016).

در سایر نقاط دنیا مطالعات مختلفی توسط محققان در خصوص بررسی نرخ رشد و حذف مواد مغذی مختلف مانند آمونیوم، نیترات، فسفات (به صورت ترکیب نیترات و یا حضور همزمان هر دو کود) در داخل آزمایشگاه یا در پساب مزارع ماهی و میگو انجام شده است (Buapet *et al*., 2008; Rabiei *et al*., 2014). مطالعه مشابهی در خصوص بررسی غلظت مناسب نیترات بر رشد جلبک *U. lactuca* توسط Kumari و همکاران (۲۰۱۴) انجام شده است. در این بررسی، جلبک مذکور در محیط کشت نیترات ۱/۴ برابر کشت اولیه افزایش رشد داشته است. Abkenar و همکاران (۲۰۰۴) با پرورش ماکروجلبک‌ها در استخرهای خاکی به روش غنی سازی با کود اوره مشاهده نمودند که جلبک *Ulva fasciata* رشد ندا‌شته است. Roohi (۲۰۱۴) جلبک‌های *U. rigida* و *Padina australis* را جهت حذف زیستی کودهای معدنی (نیترات، فسفات، فسفات آمونیوم) و کود آلی (مرغی) در آزمایشگاه مورد بررسی قرار داده است. بر این اساس درصد نرخ رشد ویژه جلبک *U. rigida* در روز هفتم برابر ۲/۳۴ ± ۷/۸۷ بدست آمده است. در مطالعه Shakouri و Balouch (۲۰۱۷) نیز جهت تعیین غلظت مطلوب، رشد جلبک *U. rigida* در غلظت‌های مختلف کودهای نیترات و فسفات به صورت جداگانه در مخازن ۴۰ لیتری پلاستیکی شفاف بررسی شد. طبق نتایج این مطالعه بیشترین نرخ رشد روزانه جلبک *U. rigida* در تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات و فسفات بود. در مطالعه Zarrinmehr و همکاران (۲۰۲۰) اثر تیمار فسفر بر سرعت رشد و ترکیبات بیوشیمیایی جلبک دریایی طلایی-قهوه‌ای *Isochrysis galbana* بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد که محرومیت فسفر (صفر میلی گرم در لیتر) باعث کاهش رشد سلول، محتوای

[1] Carrageenan
[2] Phycoerythrin

رنگدانه‌ها و پروتئین‌ها می‌شود لذا غلظت فسفر به طور قابل توجهی بر سرعت رشد و ترکیبات بیوشیمیایی جلبک *I. galbana* تاثیر می‌گذارد. با توجه به اینکه جلبک‌های مختلف تحت شرایط محیطی متفاوت دارای رشد یکسانی نخواهند بود و با توجه به اهمیت اقتصادی این جلبک‌ها در زمینه‌های غذایی و دارویی، ضرورت اطلاع از نیازمندی‌های زیستی و شرایط بهینه رشد جهت تولید پرورشی ارزانتر احساس می‌گردد. از اینرو بدون آسیب به ذخایر طبیعی این جلبک‌های با ارزش، با تغییر برخی از عناصر غذایی در شرایط مصنوعی پرورشی می‌توان به میزان رشد مطلوب دست یافت. لذا، این مطالعه به بررسی طول دوره مناسب پرورش و تاثیر غلظت‌های مختلف اوره و فسفات بر رشد جلبک قرمز *Hypnea musciformis* در شرایط پرورشی فضای باز کارگاهی پرداخته شد.

۲. مواد و روش‌ها

۲،۱. تهیه جلبک و شرایط انجام آزمایش

نمونه‌های جلبک قرمز *Hypnea musciformis* استفاده شده در این آزمایش از ساحل صخره‌ای دریا بزرگ چابهار به موقعیت جغرافیایی ۶۰° و ′۳۷ طول شرقی، ۲۵° و ′۱۷ عرض شمالی پس از اتمام فصل مونسون (اواسط شهریور ماه ۱۴۰۰) و در زمان جزر کامل توسط دست و کاردک جمع‌آوری گردید (شکل ۱). تال‌های سالم در محل جمع آوری با آب دریا جهت زدودن شن و ماسه شسته شدند. اپی‌فیت‌ها و سایر جلبک‌ها از تال‌ها جداسازی گردید. جلبک‌های شسته شده در ظرف پلاستیکی دربدار به همراه آب دریا به کارگاه تکثیر و پرورش آبزیان مرکز تحقیقات آبهای دور چابهار منتقل گردید. به منظور حذف مجدد اپی‌فیت‌ها و اجسام خارجی، با آب‌شور اتوکلاو شده دریا، که مدت ۲۴ ساعت قبل آماده گردیده بود، شسته شدند. با توجه به اینکه تال‌های جلبک قرمز هیپنهآ بسیار متراکم است، محلی مناسب برای تخمریزی، سیر تکاملی مراحل زندگی و همزیستی بسیاری از سخت‌پوستان و پرتاران با این جلبک است. لذا، جلبک‌ها به‌مدت ۵-۲ دقیقه در آب‌شیرین قرار گرفتند. پس از آن جلبک‌ها به مدت ۷ روز در مخزن ۵۰۰ لیتری آب دریای کلرزدایی شده و تمیز با هوادهی بوسیله سنگ هوا قرار داده شدند (Sherrington *et al*., 2013; Kumari *et al*., 2014).

شکل ۱- تصویر جلبک دریایی قرمز *Hypnea musciformis* جمع آوری شده از ساحل دریا بزرگ چابهار (نگارنده)

جهت بررسی تاثیر غلظت مناسب کودهای اوره و سوپر فسفات تریپل به صورت توام، چهار تیمارآزمایشی با نسبت‌های ۱:۱۰ اوره به فسفات (P:N) یعنی تیمار اول: ۲ میلی‌گرم در لیتر اوره و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر فسفات، تیمار دوم: ۴ میلی‌گرم در لیتر اوره و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر فسفات، تیمار سوم: ۶ میلی‌گرم در لیتر اوره و ۰/۶

میلی‌گرم در لیتر فسفات و تیمار چهارم: ۸ میلی‌گرم در لیتر اوره و ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر فسفات، به‌همراه تیمار شاهد و هر کدام با سه تکرار در نظر گرفته شدند. پس از ضدعفونی و شستن مخازن ۳۰۰ لیتری پلی اتیلن شفاف، هر یک از مخازن تا نصف حجم با آب تمیز کلزدایی شده دریا آبگیری شدند. برای هر یک از تکرارها حدود ۳۰ گرم جلبک که با ترازوی دیجیتال (با دقت ۰/۱ گرم) و طول ۱۰±۱ میلی‌متر توزین و در داخل مخازن قرار داده شدند (شکل ۲).

شکل ۲- اندازه‌گیری طول و وزن جلبک دریایی قرمز در اولین روز مطالعه(نگارنده)

با توجه به شرایط فیزیولوژیک خاص جلبک‌قرمز از جمله دارا بودن رنگدانه کلروفیلی و فتوسنتز با نور کم و طول موج کمتر (James, 1990)، بیشترین پراکنش و مناسب‌ترین مکان رویشی جلبک قرمز در منطقه میان کشندی ساحل است. به همین دلیل از قرار دادن تیمارها در آفتاب اجتناب گردید و تمامی تیمارها به دلیل حساسیت به نور مستقیم، در سایه (نور غیر مستقیم حدود ۲۰۰۰ لوکس) و شرایط محیط باز نگهداری شدند. مخازن پرورشی توسط سنگ هوا از کف به طور ملایم هوادهی شدند. هر هفته کل تال‌های جلبک‌ها از مخازن مربوطه، به عنوان واحد آزمایش، برداشته شدند و در داخل سبدهای پلاستیکی قرار گرفتند و پس از تکان دادن، به مدت ۱۵ دقیقه روی پارچه تمیز در سایه قرار گرفتند تا آب اضافی آنها خارج شود. سپس با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شدند، پس از توزین جداگانه هر تیمار، اندازه طول تال جلبک‌ها به‌وسیله خط کش با دقت ۰/۱ سانتیمتر اندازه‌گیری و ثبت شدند. آب مخازن در زمان زیست سنجی، پس از شستشو، به‌طور کامل با آب تمیز وکلرزدایی شده تعویض و پس از اضافه کردن نسبت‌های مواد مغذی اوره و فسفات مورد مطالعه در هر تیمار جلبک‌ها در داخل آنها قرار گرفتند. در این آزمایش رشد جلبک‌ها به مدت چهل و پنج روز، از ۲۵ شهریور ماه تا ۱۰ آبان ماه پایش شد (Rabiei *et al.*, 2014).

۲,۲. نمونه برداری و زیست سنجی جلبک‌ها

برای محاسبه درصد نرخ رشد روزانه(DGR[1]) جلبک قرمز هیپنه‌آ از رابطه زیر استفاده گردید (Rabiei *et al.*, 2014):

درصد نرخ رشد روزانه= ((وزن نهایی تال‌های تازه جلبک (گرم)-وزن اولیه تال های تازه جلبک (گرم))÷ تعداد روزهای پرورش بین دو زیست سنجی)× ۱۰۰

[1] Daily Growth Rate

۲،۳. سنجش عوامل فیزیکی و شیمیایی آب در مخازن پرورشی

در طول دوره آزمایش دمای مخازن در هر روز صبح و ظهر ثبت گردید. برای تعیین شوری از دستگاه شوری سنج چشمی ATAGO ساخت ژاپن و برای تعیین pH از دستگاه pH متر WTW مدل 330i ساخت آلمان استفاده گردید. شوری و pH در شروع مطالعه و در پایان هر هفت روز ثبت شدند.

۲،۴. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

جهت بررسی تاثیرغنی سازی مواد مغذی نیترات و فسفات بر میانگین رشد زیتوده جلبک (گرم) در هر یک از تیمارها از آزمون آماری تجزیه واریانس یک طرفه ANOVA One Way استفاده شد. با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov از نرمال بودن داده‌ها اطمینان حاصل گردید. از آزمون Tukey جهت مقایسه بین میانگین تیمارها با سطح معنی دار ۹۵ درصد استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۶ استفاده شد.

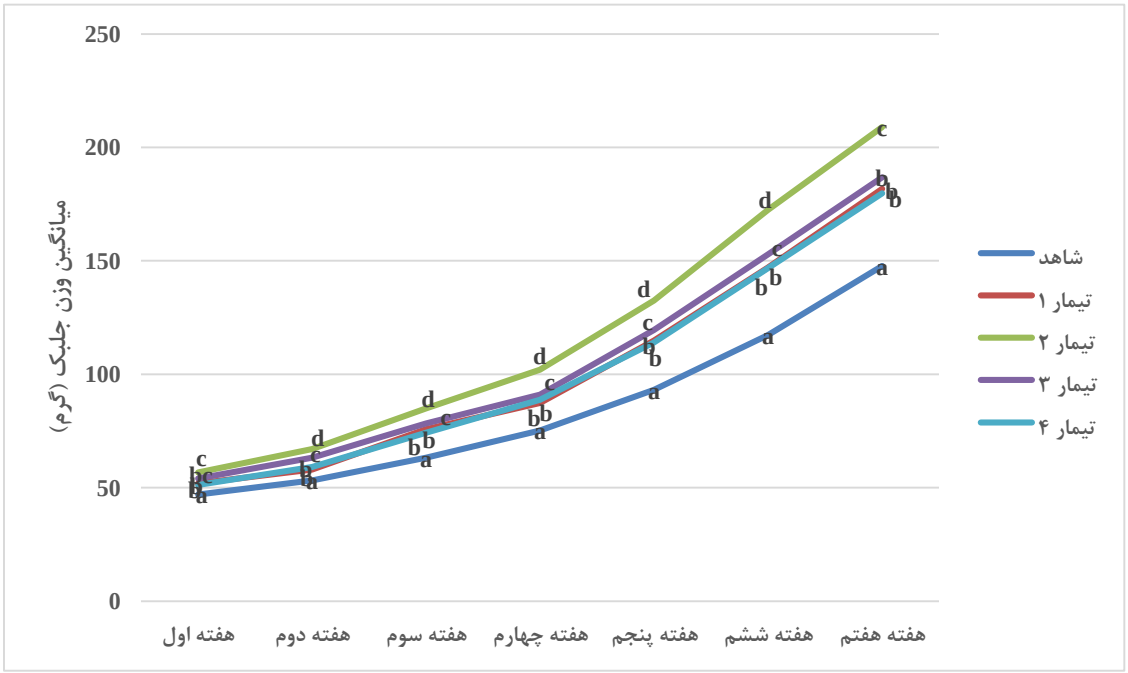
۳. نتایج

۳،۱. عوامل فیزیکی و شیمیایی آب

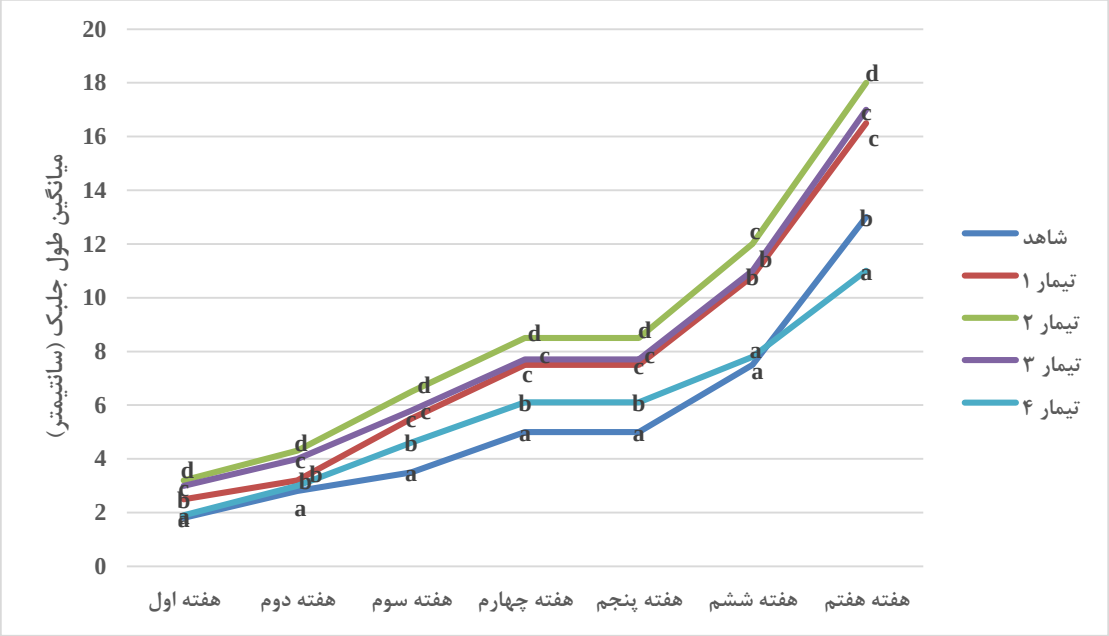
میانگین تغییرات دما ۳/۷۲±۳۴/۶۸ درجه سانتی‌گراد بود و تغییراتی بین با حداقل ۲۹ درجه سانتی‌گراد در آبان ماه و حداکثر ۳۷ درجه سانتی گراد در شهریور ماه داشت. میانگین تغییرات شوری ۳/۲۷±۴۲/۸۵ گرم در لیتر با حداقل شوری (در شروع هر هفته پرور شی) ۳۶ گرم در لیتر و حداکثر ۴۸ گرم در لیتر (در انتهای هر هفته پرورشی) بود. تغییرات pH از۷/۹ تا ۸/۷۵ با میانگین ۰/۴۹±۸/۳۶ اندازه گیری و ثبت شد.

۳،۲. شاخص‌های زیست سنجی

زیست‌سنجی هفتگی جلبک در تیمارهای مختلف طی ۷ هفته نشان داد (شکل‌های ۳، ۴ و ۵)که بیشترین و کمترین میزان رشد وزنی، طولی و درصد نرخ رشد روزانه در هفته آخر و به ترتیب در تیمار ۲ و شاهد صورت می‌گیرد ($p< ۰/۰۵$).



شکل ۳- نمودار میانگین وزن جلبک دریایی قرمز *Hypnea musciformis* در تیمارهای آزمایشی طی هفته‌های پرورش (n=۳؛ حروف متفاوت لاتین روی نمودارها نشانگرتفاوت معنی‌دار(p<۰/۰۵) بین تیمارهای مختلف در انتهای هر هفته است).

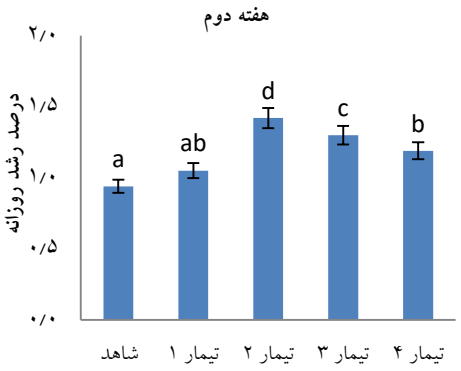


شکل ۴- نمودار میانگین طول جلبک دریایی قرمز *Hypnea musciformis* در تیمارهای آزمایشی طی هفته‌های پرورش (n=۳؛ حروف متفاوت لاتین روی نمودارها نشانگر تفاوت معنی‌دار(p<۰/۰۵) بین تیمارهای مختلف در انتهای هر هفته است).

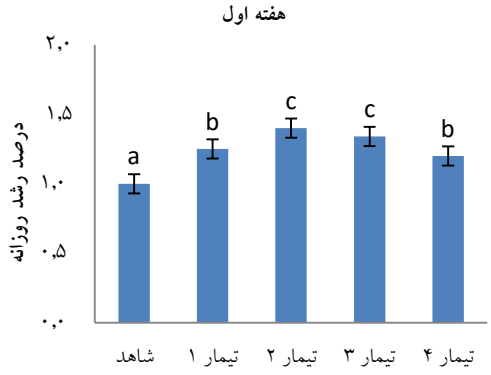
محاسبه درصد رشد روزانه جلبک هیپنه آ، به تفکیک در هفته‌های آزمایش در شکل ۵ ذکر شده است. نتایج حاصل از محاسبه درصد رشد روزانه جلبک هیپنهآ نشان داد که میزان درصد رشد روزانه تیمار دوم ۰/۰۴±۳/۳ درصد در هفته پایانی آزمایش اختلاف معناداری با سایر تیمارها و گروه شاهد داشت (p<۰/۰۵). همزمان با افزایش مقادیر اوره و فسفات کاهش در صد ر شد روزانه جلبک‌ها در تیمارهای سه و چهار با درصد رشد روزانه به ترتیب ۰/۰۱ ± ۲/۸۷ و ۰/۰۱ ± ۲/۸ مشاهده شد با این حال این کاهش رشد اختلاف معناداری با تیمار یک نداشت (p>۰/۰۵) اما با تیمار شاهد اختلاف معناداری نشان داد. تیمار شاهد در هفته اخر با درصد رشد روزانه ۰/۰۲ ± ۲/۱۹ کمترین میزان رشد را در این آزمایش نشان داد که با سایر تیمارهای آزمایشی اختلاف معناداری داشت (p<۰/۰۵). همچنین در صد ر شد روزانه تیمار دو از پایان هفته اول تا پایان هفته هفتم در مقایسه با سایر تیمارها و گروه شاهد بیشتر بود و دارای اختلاف معناداری با سایر تیمارها بود (p< ۰/۰۵). تیمار شاهد نیز در طول ۷ هفته آزمایش به طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمار های آزمایشی بود. تیمار ۱ با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر اوره و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر فسفات، تیمار ۳ با غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر اوره و ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر فسفات و تیمار ۴ با غلظت ۸ میلی‌گرم در لیتر اوره و ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر فسفات هیچ اختلاف معنی دای را با یکدیگر نشان نداد (p> ۰/۰۵) با این وجود از لحاظ آماری تیمار سه در مقایسه با تیمار یک و دو دارای درصد رشد روزانه بیشتری بود و تیمار یک نیز در مقایسه با چهار تیمار آزمایشی کمترین نرخ درصد رشد روزانه را نشان داد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری نهایی

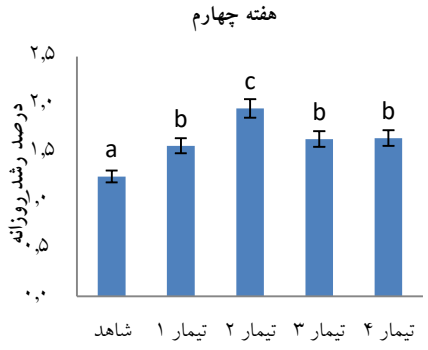
گونه های جلبک قرمز هیپنهآ به دلیل دارا بودن کاراژینان و ارزشمند بودن از نظر اقتصادی، در نقاط مختلف دنیا و در شرایط محیطی مناسب کشت می‌شوند. پرورش جلبک‌ها نسبت به گیاهان خشکی‌زی دارای مزایای زیادی از جمله می‌توان به توانایی پرورش آنها در سیستم‌های پایدار، برداشت آنها در طول سال، قابلیت هضم و مصرف تمام پیکره سلولی آنها و سهولت در



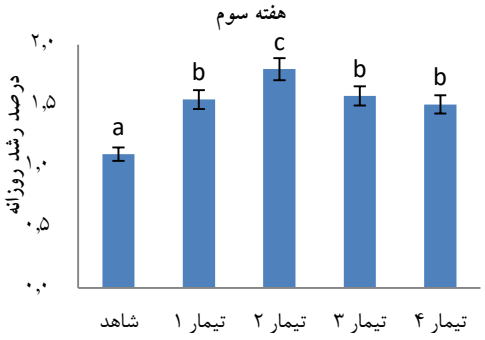
(الف)



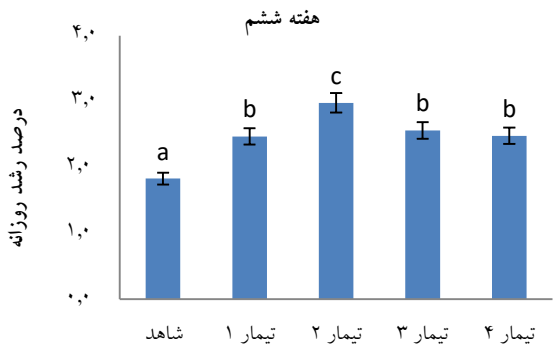
(ب)



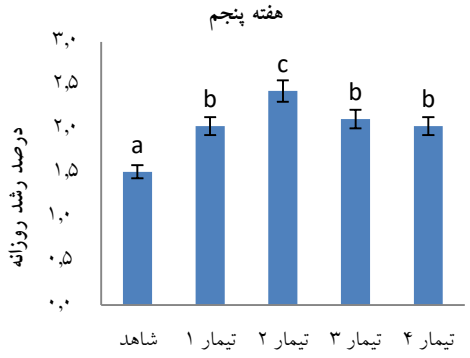
(پ)



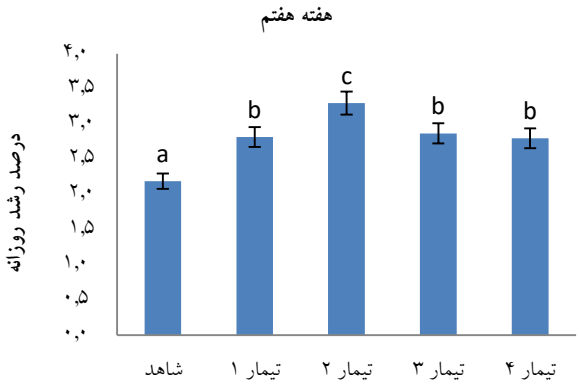
(ج)



(چ)



(د)



(ه)

شکل ۵- نمودارهای هفتگی میانگین درصد رشد روزانه جلبک دریایی قرمز *Hypnea musciformis* در تیمارهای آزمایشی طی ۷ هفته پرورش (n=۳؛ آنتنک‌ها نشان‌دهنده انحراف معیار و حروف متفاوت لاتین نشانگر تفاوت معنی‌دار(p<۰/۰۵) در تیمارهای مختلف است).

افزودن مواد مغذی مورد نیاز برای رشد آنها به محیط کشت اشاره کرد (Demirbas, 2010). یکی از مواردی که همواره محققان در زمینه کشت انبوه میکروجلبک‌ها به آن توجه فراوان دارند، دستیابی به رشد سریع و تولید زیاد است، تا بدین طریق تولید انبوه ماکروجلبک‌ها صرفه اقتصادی داشته باشد. در واقع بهینه سازی شرایط رشد، عامل اصلی در فناوری کشت انبوه جلبک‌هاست. بنابراین، جهت درک رفتار گونه‌های جلبکی تحت عوامل مختلف محیطی، تعیین شاخص‌های مختلف موثر در رشد جلبک ضروری است. جلبک‌های بزرگ در ناحیه جزر و مدی اغلب تغییرات گسترده و سریع دما، شوری، نور و مواد مغذی (نیترات و فسفات) را تجربه می‌کنند که بر فیزیولوژی آنها تأثیر می گذارد. مواد مغذی مورد نیاز جلبک‌ها به سه دسته عناصر درشت مغذی (نیتروژن، فسفر، کربن)، عناصر ریز مغذی (آهن، روی، مس، منگنز، مولیبدن و غیره) و ویتامین ها (ویتامین B_{12}، تیامین و بیوتین) تقسیم می شوند (Harrison and Hurd, 2001). کمبود نیتروژن و فسفر، رشد و تولید جلبک را در بیشتر محیط های طبیعی محدود می‌کنند. زمانی که نیتروژن و فسفر در عملیات آبزی پروری افزوده شوند، کربن محدودیت پیدا می‌کند. بنابراین، با هوادهی مخازن پرورش، محدودیت کربن تا حدودی بر طرف می‌شود. این سه عنصر در رشد جلبک‌ها مهم هستند (Buapet *et al*., 2008). نرخ رشد جلبک‌ها به شرایط محیطی از قبیل غلظت‌های ماده مغذی، دسترسی نور، دما و آشفتگی آب وابسته است. بسیاری از گونه‌های جلبک‌ها در غلظت‌های مختلف ماده مغذی رشد می‌کنند (Buapet *et al*., 2008). رشد و تولید جلبک‌ها تابع دامنه غلظت نیترات و فسفات در محیط‌های طبیعی و نیز در شرایط پرورش در خشکی است. مطالعات نشان داده است که نرخ رشد روزانه جلبک‌ها بر اساس گونه، شرایط رشد و دوره پرورش می تواند مختلف باشد (Neori *et al*., 2004).

دفعات و غلظت‌های کود دهی می‌تواند به طور مناسب تغییر داده شود. هر چند افزودن غلظت مناسب ماده مغذی و حفظ آن در تمام دوره تاثیر بیشتری دارد (Harrison and Hurd, 2001). در پژوهش حاضر، میزان کود پیش بینی شده در هر یک از تیمارها به صورت روزانه تجدید شد و تاثیر آنها بر شاخص‌های رشد جلبک دریایی قرمز *Hypnea musciformis* بررسی گردید. در تحقیق حاضر تغییرات شاخص‌های رشد طولی و وزنی در میان تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش نشان داد که، اضافه نمودن مقادیر مختلف اوره و فسفات به محیط پرورش جلبک قرمز هیپنه‌آ، منجر به افزایش رشد این جلبک در مقایسه با تیمار شاهد می‌گردد. همانطور که در نتایج آماری نشان داد، تیمار ۲ حاوی ۴ میلی‌گرم در لیتر اوره و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر فسفات از نظر رشد وزنی و طولی و همچنین در صد نرخ رشد روزانه بیشترین را در مقایسه با سایر تیمارهای دریافت کننده اوره و فسفات داشتند و سایر تیمارهای دریافت کننده اوره و فسفات نیز از لحاظ شاخص‌های رشد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند. از لحاظ آماری میزان شاخص‌های رشد و نرخ رشد روزانه در تیمار ۳ در مقایسه با تیمارهای یک و چهار مقادیر بیشتری را نشان داد. میزان مواد مغذی جزو عواملی هستند که تأثیر زیادی بر میزان شاخص‌های رشد دارند. نتایج مطالعه حاضر مبنی بر تاثیر مثبت اوره و فسفر بر نرخ رشد روزانه جلبک هیپنه‌آ با نتایج Sriwuryandari و همکاران در سال ۲۰۱۸ که در مطالعه خود به بررسی تاثیر نیتروژن و فسفر بر رشد و عملکرد جلبک (*Nannochloropsis* sp.) پرداخته بودند همسو بود. همچنین Martins و همکاران در سال ۲۰۱۰ تاثیر دسترسی به منابع مختلف نیتروژن (آب دریا غنی شده با نیترات، آمونیوم و اوره در غلظت‌های صفر تا ۳۰ میکرومولار) در چهار نوع از جلبک هیپنه‌آ نوع قهوه‌ای روشن و تیره و سبز روشن و تیره نرخ رشد را بررسی نمودند و نشان دادند که، در هر چهار نوع جلبک مورد آزمایش تیمارهای غنی‌سازی شده با اوره نرخ رشد بیشتری دارند، در این راستا سایر پژوهشگران نیز تاثیر نیترات و فسفات را بر رشد جلبک (*Selenastrum Gracile*) مورد بررسی قرار دادند و به همین نتایج رسیدند (Kesena, 2015; Shah and Abdullah, 2018).

نرخ رشد مهمترین راه برای بیان موفقیت پرورش جلبک است (Ghezelbash *et al*., 2008). عوامل محیطی و داخلی روی رشد و متابولیت‌های ثانویه جلبک‌ها ثاثیر می‌گذارند. افزایش مواد مغذی در محیط کشت باعث افزایش فرآیندهای فیزیولوژیک در جلبک‌ها می‌گردد که می‌تواند منجر به رشد بیشتر آنها شود. برای هر گونه از جلبک‌ها، تراکم بهینه‌ای برای هر کدام از مواد مغذی در محیط کشت وجود دارد (Yu and Yang, 2008). نتایج این آزمایش نشان داد با افزایش غلظت نیتروژن و فسفات تا حدی معین رشد جلبک هیپنهآ افزایش می‌یابد. مطالعه حاضر همچنین نشان داد که حضور مقادیر کافی از هر دو نوع عنصر اوره و فسفات (سوپر فسفات تریپل) در نسبت اوره و فسفات پائین برای دستیابی به حداکثر شدت شکوفایی مؤثر است.

نیتروژن و فسفر، رشد و تولید جلبک را در بیشتر محیط های طبیعی محدود می‌کنند. بطور طبیعی زمانی که میزان فسفر در آب افزایش می یابد میزان زیست توده جلبکی نیز افزایش می یابد. در کمتر از ۱۰۰ میکروگرم فسفر در لیتر ارتباط بین زیست توده و فسفر خطی است، در حالیکه در بالاتر از این سطح عوامل دیگری از قبیل نور بطور افزایشی بر زیست توده تأثیر می گذارند (Prairie *et al*., 1989). بطور متوسط هر ۱ میکروگرم فسفر می تواند ۱ گرم کلروفیل *a* را تولید نماید. از سوی دیگر، با توجه به موقعیت‌های اکولوژیکی تولیدکنندگان، نسبت بهینه N:P از ۴۲:۱ تا ۸/۵: ۱ بسیار متفاوت می باشد. گونه‌های تثبیت کننده نیتروژن مثل جلبک سبز-آبی اغلب نسبت بالای N:P را دارند. برای مثال شکوفایی جلبک *Trichodesmium* در نسبت N:P بین ۱۲۵:۱ تا ۴۲:۱ رخ می دهد. در حالیکه در جلبک‌های سبز نسبت N:P مقدار ۳۰:۱ و در دیاتوم ها این مقدار ۱۰:۱ و در Dinophyceae ۱۲:۱ است (Uhlmann and Albrecht, 1968). با توجه به اینکه منابع کربن و نیتروژن در محیط پرورش در افزایش میزان جذب سایر عناصر ضروری مهم است، بنابراین افزایش کلروفیل *a* ارتباط مستقیم به استفاده از منابع نیتروژن و فسفات‌ها دارد (Lau *et al*., 1997). Hessen در سال ۱۹۹۲ گزارش کرد که عدم تناسب بین نیتروژن به فسفر موجب کاهش رشد هم در جلبک‌ها و هم در موجودات مصرف کننده می شود. Buapet و همکاران در سال ۲۰۰۸ بیان نمودند که در گونه *Ulva reticulate* اضافه نمودن فسفر به تنهایی به محیط کشت جلبک بدون اضافه کردن منبع نیتروژن هیچگونه تأثیری در زیست توده نداشت که این مسئله مبین آن است که نسبت N:P بسیار مهم است.

در این بررسی از نسبت ۱۰ به ۱ اوره (به عنوان منبع نیتروژن) و سوپر فسفات تریپل (به عنوان منبع فسفات) استفاده گردید. Redfield، ۱۹۳۴ نسبت‌های ۱۰۵، ۱۴ و ۱ را به ترتیب برای کربن، نیتروژن و فسفر به منظور تولید بیوماس جلبک‌های دریایی را پشنهاد داد که توسط Uhlmann و Albrecht در سال ۱۹۶۸ در جلبک‌های آب شیرین نیز همین مقادیر را تعریف کردند. در صد نیتروژن در پیکره گیاهان مختلف متفاوت است و یک تا چهار در صد وزن خشک گیاهان را تشکیل می‌دهد و شناخته شده‌ترین نقش را در گیاهان به علت حضور در ساختار مولکولی پروتئین دارد. سوپرفسفات تریپل یکی از انواع سوپرفسفات است که حاوی ۴۶ درصد اکسید فسفر می‌باشد. تریپل سوپر فسفات (TSP) که به سوپرفسفات تغلیظ شده نیز معروف است منحصراً به‌عنوان کود استفاده می‌گردد. De Pauw and Pruder در سال ۱۹۸۶ بیان داشتند که ترکیبات شیمیایی محیط کشت جلبک‌ها به‌خصوص ارتوفسفات بر رشد و زیست‌توده جلبکی تاثیر معنی‌داری دارد، همچنین، Zarrinmehr و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که جلبک کلرو کوم (*Chlorococcum* sp.) در محیط کشت حاوی فسفر رشد مناسبی داشته است. با توجه به مطالب بیان شده در ارتباط با نقش اوره و فسفات در رشد جلبک‌ها می‌توان علت افزایش معنی‌دار رشد در تیمارهای دریافت کننده این عناصر را در مقایسه با گروه شاهد توجیه نمود. علاوه بر این تغییر در میزان مواد مغذی به ویژه مواد مغذی درشت همانند نیتروژن (که از عناصر اصلی تشکیل دهنده پروتئین‌ها محسوب می‌شود) تأثیر مستقیم بر سنتز

پروتئین‌ها دارد همچنین میزان سنتز پروتئین نیز نقش مهمی را در میزان نرخ رشد جلبک‌ها دارد لذا هر گونه تغییر درمیزان عناصر مغذی و در پی آن سنتز پروتئین‌ها اثر مستقیمی بر میزان رشد جلبک‌های دارد (Pratoomyot *et al*., 2005). Ross و همکاران در سال ۲۰۱۸ در بررسی خود بیان داشتند که افزودن اوره به محیط کشت جلبک خود سبب استفاده جلبک از سایر فرم‌های نیتروژن موجود در محیط کشت می‌گردد که این فرآیند به دلیل تسریع در جذب کربن توسط اوره می‌باشد (Ross *et al*., 2018). Choo و همکاران، در سال ۲۰۰۲ بیان داشتند که تبدیل اوره به آمونیوم از طریق فعالیت آنزیمی سبب تشکیل آمونیاک و یک مولکول کربن می‌شود. این تشکیل کربن خود فعالیت‌های فتوسنتزی را افزایش داده و ساخت کربوهیدرات را تسهیل می‌کند (Syrett and Leftley, 2016). این نظر یه افزایش کربن ازاد و در پی آن افزایش در استفاده از نیتروژن خود سبب افزایش رشد روزانه در محیط کشت حاوی اوره می‌گردد (Ross *et al*., 2018). نتایج آزمایش‌های غنی‌سازی با فسفر نیز که توسط Tõnno در دریاچه Vortsjarv انجام شد نشان داد که افزایش غلظت فسفر منجر به تحریک تثبیت نیتروژن و افزایش رشد وزنی جلبک می‌گردد. با وجود اینکه هر گونه جلبکی در جذب فرم خاصی از نیتروژن عملکرد متفاوتی دارد، باید در تحقیقات گسترده‌تری میزان نرخ رشد روزانه جلبک هیپنهآ را در منابع و فرم‌های دیگر نیتروژن مورد سنجش قرار داد.

۵. نتیجه‌گیری نهایی

در این مطالعه نشان داده شدکه پرورش جلبک قرمز در فضای باز امکان پذیر است. لذا تنظیم غلظت مناسب مواد مغذی مهم نیترات و فسفات، رشد این جلبک را نسبت به شرایط محیط طبیعی بیشترخواهد کرد، زیرا تمامی تیمارهای حاوی فسفات و اوره در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری رشد بیشتری را نشان دادند. بیشترین میزان نرخ رشد روزانه جلبک قرمز در محیط کشت حاوی ۴ میلی گرم در لیتر کود اوره و ۰/۴ میلی گرم کود سوپرفسفات تریپل به دست آمد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه زابل و پژوهانه با کد: UOZ-GR-5391 اجرا شد. لذا از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه زابل به خاطر حمایت مالی تشکر می‌شود.

۶. منابع

References

Abbott, I., 1999. Marine Red Algae of the Hawaiian Islands. Bishop Museum Press, Honolulu Hawaii, 465 p.

Abkenar, A.M., Amini rad, T., Haghpanah, A., Ataranfariman, G., Khodami, SH., 2004. Investigating the possibility of growing important and economical algae with emphasis on *Gracylaria* in natural areas and earthen ponds. Iran Fisheries Research and Training Organization, Far Waters Fisheries Research Center, Chabahar, 115 p.

Buapet, P., Hiranpan, R., Ritchie, R.J., Prathep, A., 2008. Effect of nutrient inputs on growth, chlorophyll, and tissue nutrient concentration of *Ulva reticulata* from a tropical habitat. *Science Asia* 34(34), 245-252.

Choo, K.S., Snoeijs, P., Pedersén, M., 2002. Uptake of inorganic carbon by *Cladophora glomerata* (chlorophyta) from the Baltic sea1. *Journal of phycology* 38(3), 493-502.

Demirbas, A., 2010. Use of algae as biofuel sources. *Energy conversion and management* 51(12), 2738-2749.

De Pauw, N., Pruder, G., 1986. Use and production of microalgae as food in aquaculture: practices, problems and research needs. Realism in Aquaculture: Achievements, Constraints, Perspectives. European Aquaculture Society, Bredene, Belgium, pp. 77-106.

Fan, J., Cui, Y., Wan, M., Wang, W., Li, Y., 2014. Lipid accumulation and biosynthesis genes response of the oleaginous *Chlorella pyrenoidosa* under three nutrition stressors. *Biotechnology for Biofuels* 7(17), 1-14.

FAO (the Food and Agriculture Organization of the United Nations)., 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome, 224 p.

Gharanjik, B.M., Wynne, M., Bangmei, X., Khajeh, S., Keyanmehr, H., Hosseini, M.R., 2011. The biomass of the medicinal red algae (*Rhodophyta*) in the intertidal zone of the Chabahar coasts. *Iranian Scientific Fisheries Journal* 20 (3), 103-114.

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

James, D., 1990. Summary of international production and demand for seaweed colloids. In Regional Workshop on the Culture and Utilization of Seaweeds, Cebu City (Philippines), pp. 27-31.

Harrison, P.J., Hurd, C.L., 2001. Nutrient physiology of seaweeds: application of concepts to aquaculture. *Cahiers de biologie marine* 42(1-2), 71-82.

Hessen, D.O., 1992. Nutrient element limitation of zooplankton production. American Naturalist, 140(5), 799-814.

Kesena, E.J., 2015. Determination of the Limiting Effects of Nitrate-Nitrogen (N03-N) and Phosphate-Phosphorus (P04=P) on the Growth of *Selenastrum gracile* in Laboratory Culture. *International Journal of Research Studies in Biosciences* (IJRSB) 5 (3), 1-7.

Kong, Q.X., Li, L., Martinez, B., Chen, P., Ruan, R., 2010. Culture of microalgae Chlamydomonas reinhardtii in wastewater for biomass feedstock production. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 160(1), 9-18.

Kumari, P., Kumar, M., Reddy, C.R.K., Jha, B., 2013. Nitrate and phosphate regimes induced lipidomic and biochemical changes in the intertidal macroalga *Ulva lactuca* (Ulvophyceae, Chlorophyta). *Plant and Cell Physiology* 55(1), 52-63.

Lau, P.S., Tom, N.F.Y., Wong, Y.S., 1997. Wastewater nutrients (N and P) removal by carrageenan and alginate immobilized *Chlorella vulgaris*. *Environmental Technology* 18(9), 945– 951.

Markou, G., Nerantzis, E., 2013. Microalgae for high-value compounds and biofuels production: a review with focus on cultivation under stress conditions. *Biotechnology Advances* 31(8), 1532- 1542.

Martins, A.P., Junior, O.N., Colepicolo, P., Yokoya N.S., 2011. Effects of nitrate and phosphate availabilities on growth, photosynthesis and pigment and protein contents in colour strains of *Hypnea musciformis* (Wulfen in Jacqu.) J.V. Lamour. (Gigartinales, Rhodophyta). *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy* 21(2), 340-348.

Martins, A.P., Yokoya, N.S., 2010. Intraspecific variations in colour morphs of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta) in relation to nitrogen availability. *Hoehnea* 37(3), 601-615.

Neori, A., Chopin, T., Troell, M., Buschmann, A.H., Kraemer, G.P., Halling, C., Shpigel, M., Yarish, C., 2004. Integrated aquaculture: rationale, evolution and state of the art emphasizing seaweed biofiltration in modern mariculture. *Aquaculture* 231(1), 361-391.

Prairie, Y.T., Duarte, C. M., Kalff, J., 1989. Unifying nutrient chlorophyll relationship in lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 46(7), 1176-1182.

Pratoomyot, J., Srivilas, P., Noiraksar, T., 2005. Fatty acids composition of 10 microalgae species. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 27(6), 1179-1187.

Procházková, G.; Brányiková, I.; Zachleder, V.; Brányik, T., 2013. Effect of nutrient supply status on biomass composition of eukaryotic green microalgae. *Journal of Applied Physiology* 26, 1359–1377.

Rabiei, R., Phang, S.M., Yeong, H.Y., Lim, P.E., Ajdari, D., Zarshenas, G., Sohrabipour, J., 2014. Bioremediation efficiency and biochemical composition of *Ulva reticulata* Forsskal (Chlorophyta) cultivated in shrimp (*Penaeus monodon*) hatchery effluent. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 13(3), 621-639.

Redfield, A.C., 1934. On the proportions of organic derivatives in sea water and their relation to the composition of plankton. James Johnstone memorial volume, University Press of Liverpool, pp. 176-192.

Roohi, Z., 2014. Evaluation of bioremediation potential and growth rate of algae by *Padina australis* and brown *Ulva rigida* green algae Organic and inorganic fertilizers. Master Science Thesis, Chabahar University of Daryanvardi and Marine Sciences, Faculty of Marine Sciences, 102 P. (In Persian).

Ross, M. E., Davis, K., McColl, R., Stanley, M.S., Day, J.G., Semião, A.J., 2018. Nitrogen uptake by the macro-algae *Cladophora coelothrix* and *Cladophora parriaudii*: influence on growth, nitrogen preference and biochemical composition. *Algal research* 30(-), 1-10.

Saha, S. K., Mc Hugh, E., Hayes, J., Moane, S., Walsh, D., Murray, P., 2013. Effect of various stress-regulatory factors on biomass and lipid production in microalga *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource Technology*128(-), 118-124.

Sargazi, F., Riahi, H., Sheidaeii, M., 2016. Morpholoy, anatomy and morphological diversity of Hypnea genus in the Persian Gulf. *Journal of plant research* (Iranian Journal of Biology) 29 (3), 522-531. (In Persian).

Shah, S.M.U., Abdullah, M.A., 2018. Effects of macro/micronutrients on green and brown microalgal cell growth and fatty acids in photobioreactor and open-tank systems. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 14(-), 10-17.

Shakouri, A., Balouch, G.M., 2017. The Effects of Nitrate and Phosphate on Growth of Algae, *Ulva rigida* in 40L Out-door Tanks. *Journal of Oceanography* 7(28), 29-36. (In Persian).

Sherrington, N.A., 2013. *Ulva lactuca* L. as an inorganic extractive component for Integrated Multi-Trophic Aquaculture in British Columbia: An analysis of potentialities and pitfalls. A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in the Department of Geography, University of Victoria,UK, 148 P.

Sriwuryandari, L., Priantoro, E.A., Sembiring, T., 2018. Effects of nutrient concentration in multi stage feeding of the growth of microalgae *Nannochloropsis* spp. *Teknologi Indonesia* 40(2), 76-86.

Syrett, P.J., Leftley, J.W., 2016. Nitrate and urea assimilation by algae. *Perspectives in experimental biology* 2(-), 221-234.

Tanna, B., Mishra, A., 2019. Nutraceutical potential of seaweed polysaccharides: structure, bioactivity, safety, and toxicity. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 18(3), 817–831.

Tebbani, S., Filali, R., Lopes, F., Dumur, D., Pareau, D., 2014. CO_2 Biofixation by Microalgae: Modeling, estimation and control. Wiley ISTE, United Kingdom, 192 P.

Tõnno, I., 2004. The impact of nitrogen and phosphorus concentration and N/P ratio on cyanobacterial dominance and N_2 fixation in some Estonian lakes. Tartu University Press.

Uhlmann, D. and Albrecht, E., 1968. Biogeochemische Faktoren der Eutrophier-ung von Trinkwassen-Talsperren. *Limnologica* (Berlin) 6(2), 225-245.

Yaakob, M.A., Mohamed, R.M.S.R., Al-Gheethi, A., Gokare, R.A., Ambati, R.R., 2021. Influence of Nitrogen and Phosphorus on Microalgae Growth, Biomass, Lipid, and Fatty Acid Production: An Overview. *Cells* 10(2), 393, 1-19.

Yu, J., Yang, Y.F., 2008. Physiological and biochemical response of seaweed *Gracilaria lemaneiformis* to concentration changes of N and P. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 367(2), 142-148.

Zarrinmehr, M. R., Farhadian, O., Paykan Heyrati1, F., Keramat, j., 2020. Effect of different phosphorus concentrations on the growth rate and biochemical composition of golden-brown alga *Isochrysis galbana*. *Journal of Plant Process and Function* 9(36), 413-424. (In Persian).