مجله شیلات
سال اول، پیش‌شماره دوم، شهریور ۸۶

بررسی اثرات شوری های مختلف بر میزان تراکم سلولی جلبک *Nannochloropsis oculata*

سیدمحمد صلواتیان[1] و رضا رجبی‌نژاد[2]

[1]موسسه تحقیقات شیلات ایران، پژوهشکده آبزی‌پروری (آبهای داخلی)، بندرانزلی- بخش اکولوژی منابع آبی، آزمایشگاه پلانکتون،
[2]دانشگاه آزاد اسلامی- واحد بندرانزلی

چکیده

در این تحقیق کشت نیمه انبوه جلبک *Nannochloropsis oculata* در پائیز و زمستان سال ۱۳۸۲ در کارگاه تکثیروپرورش میگوی گمیشان وابسته به مرکز تحقیقات شیلاتی استان گلستان مورد بررسی قرار گرفت. برای کلیه تیمارها از محیط کشت جلبکی F/2 استفاده شد و شوری‌های مختلف بر اساس لگاریتمی محاسبه سپس در شوری‌های ۲۰، ۲۲/۵، ۲۵، ۲۸/۵ و ۳۲ گرم در لیتر مورد آزمایش قرار گرفت . تلقیح اولیه با تراکم سلولی 5×10^{6} سلول به ازاء هر میلی‌لیتر بود و پس از یک دوره ٦ روزه شمارش سلول‌های جلبکی با لام نئوبار و میکروسکوپ دو چشمی نیکون انجام و میزان جذب نور در طول موج ۷۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. براساس نتایج حاصله بیشترین و کمترین میزان تراکم سلولی در شوری‌های ۲۰ و ۲۸/۵ گرم در لیتر به‌ترتیب برابر با 75×10^{6} و 38×10^{6} عدد سلول در هر میلی‌لیتر در پایان روز ششم به‌دست آمد. میزان جذب نور در طول موج ۷۵۰ نانومتر در شوری ۲۰ و ۲۸/۵ گرم در لیتر به‌ترتیب اعداد ۱/۰۷۷ و ۰/۵۰۸ بود. انجام آزمون کروسکال- والیس نشان داد که در تعداد جلبک‌های شمارش شده در شوری‌های متفاوت اختلاف معنی‌دار آماری وجود ندارد ($P<0.05$, Sig=0.217). با اجرای این پروژه مشخص گردید که شوری ۲۰ گرم در لیتر برای پرورش جلبک *Nannochloropsis oculata* در شرایط آزمایشگاهی بیشترین بازدهی را داشت.

واژه‌های کلیدی : شوری، *Nannochloropsis oculata* ، تراکم سلولی

مقدمه

جلبک *Nannochloropsis oculata* یکی از جلبک‌های تک سلولی با میانگین قطر دو میکرون است که به شاخه Chlorophyta (Eustigmatophyceae) تعلق دارد و در گذشته تحت عنوان کلرلای دریایی[1] نامیده می‌شد. اساس ساختار و طبقه‌بندی آن توسط دانشمند ژاپنی بنام Maruyama و همکاران (۱۹) تعیین گردید و از آن پس تحت عنوان نانوکلروپسیس موسوم شد. ارزش غذایی بالا، مقادیر بالای ویتامین B_{12} و اسید چرب اکوزاپنتانوئیک اسید[2] ($20:5\omega^3$,EPA) به‌میزان ۳۰/۵ درصد از کل اسیدهای چرب سلول فیتوپلانکتونی (٦، ٢٦ و ١٤) اهمیت و نقش ارزشمند آن‌را در تغذیه لارو ماهیان و زئوپلانکتون‌های مورد تغذیه ماهیان دریایی بارز می‌سازد. این جلبک از اواخر دهه ۱۹۸۰ میلادی تاکنون به همراه جلبک‌هایی نظیر جنس‌های *Chlorella*، *Chaetocerous*، *Isochrysis*، *Dunaliella* و *Tetraselmis* در مراحل اولیه پرورش لاروی ماهیان دریایی جهت تغذیه، غنی‌سازی روتیفرها و نیز بوجود آوردن آب سبز[3] در تانک‌های هچری استفاده گردیده است (۳۰، ۱۷ و ۱۸).

اندازه مناسب، سهولت پرورش، غیرسمی بودن، مواد مغذی مناسب و ... از عوامل مهم انتخاب این گونه در پرورش دوران لاروی آبزیان است. این گونه بطور مستقیم برای تغذیه روتیفرهای آب شور با نام *Brachionus plicatilis*، آرتمیا *Artemia salina*، دافنی‌ها *Daphnia pulex*، *Moina macrocopa*، لارو میگوهای پنائیده و نیز بطور غیرمستقیم در پرورش

1- Marine Chlorella
2- Ecosapentaenoic Acid
3- Green water

سیم قرمز (*Pagrus major*) (۹ و ۲۳)، کفال ماهیان (Mugilidae)، خامه ماهی (*Chanos chanos*) و سرخو ماهیان (Lutjanidae) (۳۱) مورد استفاده قرار می‌گیرد. از عمده‌ترین مشکلاتی که در پرورش فیتوپلانکتون‌ها در مقیاس انبوه وجود دارد و مانع از جایگزینی آن به‌عنوان منبع تامین کننده EPA به جای روغن ماهی می‌گردد هزینه بالای تولید، تجهیزات، زمان زیاد و تهیه محیط کشت و از سویی دیگر پمپاژ و ضدعفونی کردن آب مناطق ساحلی دریا و در مناطق دور از ساحل هزینه بالای افزودن نمک‌های ساختگی در محیط کشت می‌باشد (۲۵).

تنش شوری ممکن است اولین عامل تنش شیمیایی باشد که موجودات زنده در طول تکامل با آن مواجه شده‌اند. خاک‌های شور در کره زمین پدیده‌ای طبیعی هستند، زیرا نزدیک به ۷۵ درصد سطح این سیاره خاکی را دریاهایی پوشانده‌اند که غلظت نمک آنها زیاد بوده و حاوی یون‌های سدیم، کلر، پتاسیم و منیزیم می‌باشند. بنابراین، وجود خاک‌های شور نباید پدیده هایی غیرطبیعی تلقی شوند (۱).

براساس تعریف Shannon و Grieve (۲۷)، شوری عبارت از حضور بیش از اندازه نمک‌های قابل حل و عناصر معدنی در محلول آب و خاک می‌باشد که منجر به تجمع نمک در ناحیه ریشه شده و گیاه در جذب آب کافی از محلول خاک با اشکال روبرو می‌شود.

بسیاری از عوامل محیطی نظیر خاک و آب با یکدیگر عمل کرده و بر واکنش یک گیاه نسبت به شوری اثر می‌گذارد. دما و رطوبت نسبی مهمترین عوامل اقلیمی موثر بر واکنش‌های گیاه در برابر شوری می‌باشند. رطوبت زیاد احتمالاً با کاهش شدت تعرق، تحمل به شوری را افزایش می‌دهد. تحمل به شوری در روشنایی شدید نیز کاهش می‌یابد (۱۲). غلظت‌های کم اکسیژن همراه با شوری در کاهش رشد تحت شرایط شوری همیاری دارند (۵). بنابراین، فیتوپلانکتون‌ها تنوع زیادی از تطابق به شوری را نشان می‌دهند، بطوری‌که طیف وسیعی از تحمل به شوری در آنها وجود دارد (۲۸). هدف از اجرای این تحقیق تعیین شوری بهینه در محیط کشت F/2 برای پرورش جلبک تک سلولی نانوکلروپسیس اکیولاتا در کشت نیمه انبوه در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

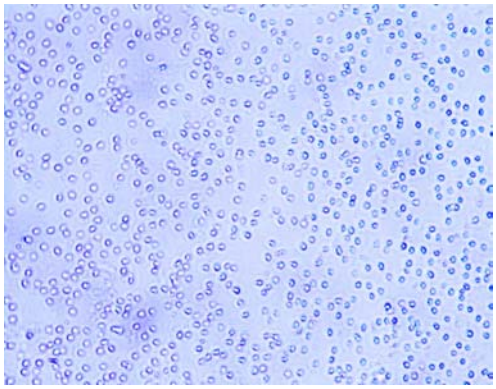
مواد و روشها

این تحقیق در کارگاه تکثیروپرورش میگوی گمیشان واقع در استان گلستان در طی فصول پائیز و زمستان سال ۱۳۸۲ انجام پذیرفت. جلبک *نانوکلروپسیس آکیولاتا* برای اولین بار در سال ۱۳۸۰ به‌منظور تامین غذای زنده برای پرورش ماهیان دریایی, از کشور کویت به مرکز تحقیقات شیلاتی استان خوزستان وارد گردید و در پائیز سال ۱۳۸۲ برای تغذیه لارو ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) به این کارگاه منتقل شد.

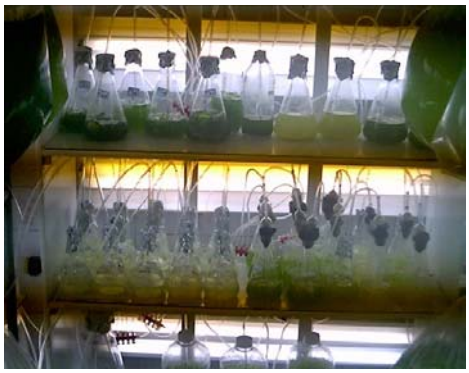
پس از ضد عفونی کردن لوازم و تجهیزات آزمایشگاهی و محیط پرورش توسط سیستم UV، فور (Oven)، اتوکلاو و نیز محلول‌هایی نظیر فرمالین، Deconex، آب ژاول و کلر، کنترل شرایط محیطی به‌منظور تامین اقدامات لازم برای رشد جلبک به‌عمل آمد. بدین منظور درجه حرارت به‌میزان ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد (۲٤)، نور۳۵۰±۳۵۰۰ لوکس (۲۹)، pH ۸/۵–۶/۵ (۲۲)، شوری‌های مختلف با غلظت‌های ۲۰، ۲۲/۵، ۲۵، ۲۸/۵ و شاهد ۳۲ گرم در لیتر با تبخیر آب دریای خزر و در صورت لزوم افزودن نمک‌های مصنوعی دریایی تامین گردید.

کنترل بیولوژیکی محیط پرورش در طی شبانه روز با ۱٤ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی و هوادهی به نحوی که با ایجاد تلاطم در ستون آبی زمینه لازم برای گردش مواد مغذی و توده سلول جلبکی فراهم شود در تیمارهای مختلف آزمایشگاهی تامین و کنترل گردید. ذخیره جلبکی ابتدا در محیط کشت آگاری F/2 بصورت رسوب جلبکی حفظ و پس از تهیه مقدار ۲۵۰ سی‌سی از محیط کشت مایع F/2 (۱۱)، آن‌را به‌مدت ۳۰ دقیقه تحت فشار ۱/٦ اتمسفر در اتوکلاو قرار داده و سپس جهت استریل کردن نهایی به مدت ۳۰–٤۵ دقیقه در معرض اشعه UV قرار گرفت. تلقیح اولیه با تراکم سلولی ۵×۱۰^{٦} سلول به ازاء هر میلی‌لیتر انجام و پس از یک دوره شش روزه شمارش سلول‌های جلبکی با لام توما بوسیله میکروسکوپ معکوس (Invert) صورت گرفت و میزان

جذب نور در طول موج ۷۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد.



شکل ۱- جلبک ***Nannochloropsis oculata*** (×٤٠٠)



شکل ۲- نمایی از سیستم فایکولاب جلبکی

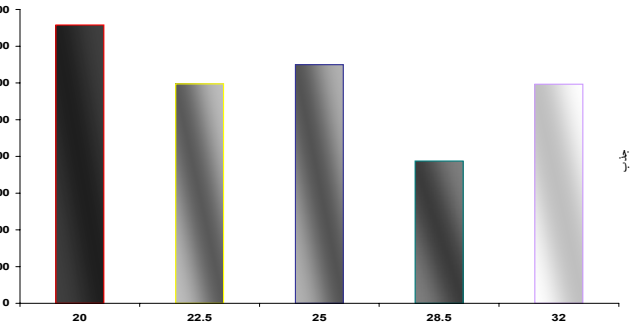
شکل ۳- کشت آزمایشگاهی جلبک در ظروف مختلف

نتایج

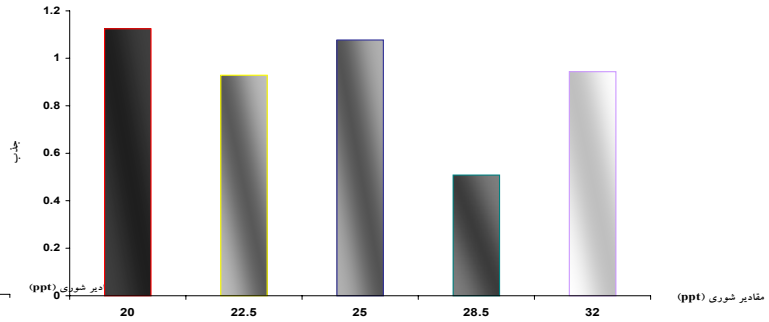
تراکم سلول جلبکی در محیط کشت آزمایشگاهی[1] بعد از شش روز مورد بررسی و شمارش قرار گرفت. بر این اساس حداکثر مقدار در شوری ۲۰ گرم در لیتر در روز ششم به میزان ۷۵×۱۰^{٦} و حداقل تراکم سلولی در شوری ۲۸/۵ گرم در لیتر به میزان ۳۸×۱۰^{٦} عدد سلول جلبکی به ازاء هر میلی لیتر بدست آمد. در پایان روز ششم روند افزایش تراکم سلولی متوقف و در روز هفتم با روند کاهشی مواجه شد. از اینرو حداکثر و حداقل تراکم سلول جلبکی در روز هفتم و در شوری‌های ۲۰ و ۲۸/۵ گرم در لیتر به‌ترتیب به‌میزان ٦٤×۱۰^{٦} و ۳۲×۱۰^{٦} عدد به ازاء هر میلی‌لیتر به‌دست آمد. آزمون ناپارامتریک کروسکال- والیس شمارش نهایی جلبکی براساس شوری‌های مختلف حاکی از آن است که تفاوت آماری معنی‌داری در بین شوری‌های مختلف وجود ندارد (Chi-Square = 5.767; Asymp.Sig = 0.217) و آزمون چند دامنه دانکن بیان می‌کند که شمارش سلول جلبکی در شوری‌های ۲۰ و ۲۸/۵ در یک گروه واقع نشده‌اند.

میزان جذب نور در طول موج ۷۵۰ نانومتر در شوری‌های ۲۰ و ۲۸/۵ گرم در لیتر به‌ترتیب برابر با ۱/۰۷۷ و ۰/۵۰۸ بود و انجام آزمون آنالیز واریانس یکطرفه مقدار جذب براساس شوری‌های مختلف حاکی از آن است که اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد (F=8.288; Sig=0.003) و آزمون چند دامنه دانکن بیان می‌کند که شوری ۲۸/۵ با سایر مقادیر اختلاف داشته و در یک گروه همگن واقع نشده است. نمودارهای یک و دو به‌ترتیب تراکم سلول جلبکی و میزان جذب را در محیط کشت آزمایشگاهی F/2 با شوری‌های مختلف نشان می‌دهد.

1- Indoor



شکل ٤- تعداد جلبک *Nannochloropsis oculata* در شوری‌های مختلف



شکل ٥- مقایسه، میزان جذب در شوری‌های مختلف

بحث

استفاده از جلبک نانوکلروپسیس آکیولاتا بدلیل دارا بودن مقادیر بالای ویتامین B_{12} و EPA که به‌ترتیب در افزایش سرعت تکثیر روتیفرها و تامین مواد مغذی مورد نیاز لاروها و بچه ماهیان نورس ماهیان دریایی نقش بسزایی ایفاء می‌کند از اهمیت بالایی برخوردار است (١٤ و ٢٦). میزان اندک مواد مغذی موجود در محیط کشت F/2 و کاهش سریع محیط کشت از مواد مغذی بواسطه مصرف آنها توسط جلبک‌ها دو عامل مهم و تاثیرگذار در کاهش تراکم سلولی آن بوده است. Kanematsu و همکاران ابراز داشتند که کاهش تراکم سلول جلبک نانوکلروپسیس در اثر مصرف آن بوسیله پروتوزوئر *Paraphysomonas Sp.* و از بین رفتن دیواره سلول جلبکی توسط باکتری‌های *Cytophaga Sp.* بوده که انجام تست آنتی بیوتیکی می‌تواند مانع از بروز این مشکل گردد (١٥). بنظر می‌رسد که در این تحقیق نوسانات بوجود آمده در طی دوره پرورش جلبکی تا حدی با رشد باکتری‌ها و پروتوزوئرها در محیط کشت مرتبط بود چرا که به‌دلیل عدم وجود امکانات مناسب جهت استریلیزاسیون محیط و مناسب نبودن مکان برای پرورش جلبک، آلوده شدن محیط‌های کشت به موجودات مزاحم، خارج از تصور نیست.

شوری نیز نظیر EC به مقدار نمک‌های محلول در آب بستگی داشته و اهمیت ویژه‌ای برای آبزی‌پروری با استفاده از آب شور دریایی برای پرورش ماهی و میگو و همچنین جلبک‌ها دارد. تغییر در میزان نمک بطور قابل ملاحظه‌ای تولید سیستم پرورش ماهی و جلبک را تحت تاثیر قرار می‌دهد (٢).

تفاوت نوع املاح می‌تواند در بروز نوسانات تراکم سلول جلبکی در شوری‌های مختلف موثر باشد. بدین‌ترتیب که برای تنظیم شوری مطلوب نیاز به این بود که در برخی موارد از نمک‌های مصنوعی دریایی استفاده گردد با عنایت به اینکه نوع املاح موجود در دریای آزاد با دریاهای داخل سرزمینی نظیر دریای خزر متفاوت است چنین بنظر می‌رسد تغییرات نوع املاح می‌تواند عاملی تاثیر گذار در ایجاد تغییرات تراکم سلول جلبکی باشد.

حداقل طول دوره پرورش جلبک نانوکلروپسیس برای رسیدن به حداکثر تراکم سلولی شش روز است و پس از این دوره به‌یل کاهش میزان اسیدهای آمینه موجود در محیط کشت از تراکم سلول جلبکی و کیفیت غذایی آن کاسته شده بنابراین بنظر می‌سد که بهترین زمان برداشت جلبک در روز ششم پس از تلقیح باشد چون علاوه بر تامین رشد مناسب، سبب افزایش درصد باقیماندگی لارو ماهیان دریایی نیز می‌گردد (٧).

طولانی بودن دوره پرورش جلبک نانوکلروپسیس عاملی مؤثر در افزایش هزینه ناشی از پرورش آن است، بنابراین گزینش گونه‌ای مناسب که علاوه بر تامین تمامی نیازهای غذایی لاروها از طول دوره پرورش کوتاهی هم برخوردار باشد و به سادگی مورد تغذیه روتیفرها هم قرار گیرد در کاهش میزان هزینه بسیار مؤثر است. چنین بنظر می‌رسد این جلبک با اندازه مناسب و امکان پرورش انبوه و نیمه انبوه در محیط‌های آزمایشگاهی و بیرونی[1] می‌تواند

1- Outdoor

گزینه مناسب در شرایط کشور برای پرورش لارو ماهیان دریایی باشد (۳).

برای بررسی نقش محدود کننده هر یک از عناصر در محیط کشت باید با ثابت نگهداشتن یک عامل و تغییر عامل دیگر، بهترین میزان و نسبت را در محیط کشتها مشخص ساخت (٤) .

شوری میزان انرژی لازم برای حفظ شرایط طبیعی سلول را افزایش می‌دهد، در نتیجه مقدار انرژی کمتری برای نیازهای رشد باقی می‌ماند (۱۰).

Zekri و Parsons اعتقاد داشتند که شوری از طریق کاهش هدایت روزنه‌ای موجب کاهش میزان فتوسنتز می‌گردد (۳۲). Munns و Termaat نیز عنوان کردند که در شرایط شدید شوری ظرفیت کوبوکسیلاسیونی و انتقال الکترون کاهش می‌یابند که مهمترین دلایل کاهش فتوسنتز می‌تواند باشد (۲۰). البته توافقی در مورد کاهش میزان فتوسنتز در اثر شوری وجود ندارند، به‌طوری‌که Delane و همکاران معتقد بودند که کاهش فتوسنتز بعنوان یک اثر ثانویه به دلیل خسارت به سیستم فتوسنتزی بوحود می‌آید (۸). Lakshmi و همکاران معتقدند که شوری زیاد موجب کاهش میزان فتوسنتز و افزایش تنفس می‌شود، ولی ممکن است هر دو فرایند در اثر شوری کاهش یابند (١٦).

تنظیم اسمزی به‌عنوان یک سازگاری مهم به شوری در نظر گرفته می‌شود، زیرا به حفظ فشار تورمی و حجم سلول کمک می‌کند. با استفاده از این سازوکار، سلول‌های گیاهان غلظت برخی از عناصر از جمله سدیم و پتاسیم را در واکوئل خود و نیز بعضی متابولیت‌ها را در سیتوسول افزایش می‌دهند و بدین ترتیب با کاهش پتانسیل اسمزی سلول فشار تورمی را در سطح بالا حفظ می‌کنند و باعث تنظیم اسمزی در داخل سیتوپلاسم و اندامک‌هایی چون کلروپلاست می‌شوند (۱۳ و ۲۱).

تشکر و قدردانی

از ریاست محترم پژوهشکده آبزی پروری کشور (آبهای داخلی) جناب آقای دکتر خانی پور جهت هماهنگی‌های لازم، ریاست وقت محترم مرکز تحقیقات شیلاتی استان گلستان آقای مهندس امینی، آقای مهندس بینایی، مجری و همکاران محترم بخش تکثیر و پرورش آن مرکز و استاد ارجمند جناب آقای دکتر Sethi کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

منابع

۱-یارنیا، م.، ۱۳۷۵. بررسی اثر تاریخ کاشت بر رشد و عملکرد ارقام سورگوم علوفه‌ای. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشکده آزاد اسلامی واحد جیرفت.

۲-حیدری شریف‌آباد، ح.، ۱۳۸۰. گیاه و شوری. موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع.

۳-صلواتیان، م.، رجبی‌نژاد، ر.، ۱۳۸۳. کشت انبوه جلبک نانوکلروپسیس *Nanochloropsis oculata* جهت تغذیه لارو ماهیان کفال خاکستری *Mugill cephalus* در منطقه گمیشان. مجموعه مقالات اولین همایش علمی- پژوهشی علوم شیلاتی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۵۹ صفحه.

٤-صلواتیان، م.، آذری‌تاکامی، ق.، کیوان، الف.، وهاب‌زاده، ح.، و رجبی‌نژاد، ر.، ۱۳۸۵. ارزیابی رشد و بیوماس جلبک نانوکلروپسیس اکیولاتا در محیط کشت‌های مختلف. مجله علوم دریایی ایران، دوره پنجم، شماره ۱ و ۲، بهار و تابستان ۱۳۸۵. صفحات ۹-۱۰.

5.Aceves, N.E., Stolzy, L.H., and Mehuys, G.R., 1975. Combined effects of low oxygen and salinity on germination of semi-dwarf Mexican wheat. Argon J. 67:530-532.

6.Brown , M .R., Garland, C.D., Jameson, S.W., Leroi, J.M., 1993. The gross and amino acid compositions of
batch and semi-continues cultures of *Isochrysis Sp.* (Clon T.Iso), *Pavlova lutheri* and *Nannochloropsis oculata*. J. Appl. Phycol.5, 285-296.

7.Brown, M.R., Mular, M., Miller, I., Farmer, C., and Trenerry, C., 1999. The vitamin content of micro algae used in aquaculture. J. Applied physiology 11:247-255.

8.Delane, R.H., Greenway, H., Munns, R., and Gibbs. J., 1988. Ion concentration and carbohydrate status of elongating leaf tissue of barley growing at high external NaCL. J. Exp Bot. 33:557-573.

9.Fugita , S., 1973. Importance of Zooplankton mass culture in producing marine fish seed for sish farming. Bull. Plankton Soc. Ypn. 20: 49-53.

10. Greenway, H., and Munnes, R., 1980. Mechanisms of salt tolerance in no halophytes. Ann. Rev. Plant physiol.31:149-190.
11. Guillard, R.R.L., and Ryther, J.H., 1962. Studies on marine Planktonic diatoms.I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (cleve) Gran. Canadian Journal of Microbiology, 8, 229-39.
12. Hale, M.G., and Orcutt, D.M., 1987. The Physiology of plants under stress. Academic, New York.
13. Hanson, A.D., Hoffman, N.E., and Samper, C., 1986. Identifying and manipulating metabolic stress-resistance traits. Hort Sci. 21:1313-1317.
14. Hirayma, R.R.L, Funamoto, H., 1983. Supplementary effect of several nutrients on nutritive deficiency of bakers yeast for population growth of the rotifer Brachionus plicatilis Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 49: 505-510.
15. Kanematsu, M., Maeda, M., Yoseda, K., and Yoneda, H., 1989. Methods to repress the growth of *Nannochloropsis* grazing microflagellatae. Nippon suisan. Gakkaishi .55:1349-1352.
16. Lakshmi, A., Ramanjulu. S., Veranjaneyulu, K., and Sudhakar, C., 1996. Effect of NaCL on photosynthesis parameters in two cultivars of mulberry.Photosynth.32:285-289.
17. Lubzens, E, Gibson, O, Zomra, O., and Sukenik, A., 1995. Potential advantages of frozen algae (*Nannochloropsis Sp.*) for rotifer (*Brachionus plicatilis*) culture. Aquaculture.133, 295-310.
18. Lubzens,E., Minkooff, G., Barr, Y., and Zmora, O., 1997. Mariculture in Israel past achievements and future directions in rising rotifers as food for marine fish larvae. Hydrobiologia.358, 13-20.
19. Maruyama, I., Nakamura, T., Matsubayashi, T., Ando, Y., and Maeda, T., 1986. Identification of the alga known as "Marine *Chlorella*"as a member of the eustigmatophyceae, Jpn, J . Physiol. 34, 319-325.
20. Munns, R.,and Termaat, A., 1986. Whole plant response to salinity. Aust. J. Plant Physiol.13:143-160.
21. Morgan, J.M., 1984. Osmoregulation and water stress in higher plant. Ann. Rev. Plant Physiol.35:299-319.
22. Murray. S., Scherfig, J.C., and Dixon, P., 1971. Evalution of algal assay procedures; PAAP batch test.J .Water pollut.control.Fed .1991-2003.
23. Nash, C., Kuo, C.M., and Connel, M., 1974. Operational procedures for redring larvae of the grey Mullet (*Mugil cephalus*). Aquaculture. 3: 15-24.
24. Rennolds, J.H., Middlebrooks, E.J., Procella, D.B., and Grenney, W.J., 1975. Effects of temperature on growth constants of *Selenastrum capricornutum*. J. water pollut. Control.Fed 47: 242-0-2436.
25. Rodolfi, L., Zittelli, G., Barsanti, C., Rosati, L.G., and Tredici, M.R., 2003. Growth medium recycling in *Nannochloropsis SP.* Mass cultivation. Biomolecular Engineering .20: 243-248.
26. Scott, J.M.,1981. The vitamin B_{12} requirement of the marine rotifer *Brachionus plicatilis* J. Mar. Biol. Ass. U.K. 61: 988-994.
27. Shannon, M.C., and Grieve, C.M., 1999. Tolerance of vegetable crops to salinity. Scientia Hort. 78:5-8.
28. Shannon, M.C., and Francois, L.E., 1996. Sustainable management practices related to salinity control in tree and crops.U.S. Salinity LAB. U. SD.A.
29. Stewart, W.D.P.,1974. Algal physiology and biochemistry. Botanical monographs, Vol.10.Univ. Calif. Press. 989.
30. Sukenik, A., Zmora, O., Carmeli, Y. 1993. Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on Lipid composition: II. *Nannochloropsis sP*. Aquaculture. 117 (3-4), 313-326.
31. Watanabe, W.O., 2001. Species profile Mutton snapper *Lutganus analis*, Southern regional Aquaculture center (SARC) publication No. 725.
32. Zekri, M., and Parsons, L.R., 1990. Comparative effects of NaCL and polyethylene glycol on root distribution, growth and stomata conductance of Sour orange seedlings. Plant and soil. 129:137-143.

Study of different salinity effect on cells density of *Nannochloropsis oculata*

M. Salavatian[1] and R. Rajabei Nejhad[2]
[1]Iranian Fisheries Research Organization
Ecology Dept., Inland Water Aquaculture Institute, Bandar Anzali,
[2]Islamic Azad University, Anzali Branch, Iran

Abstract

This study was conducted to consider the semi-intensive culture of *Nannochloropsis oculata* at Gomishan workshop located in the Golestan Province in the autumn 2003 and winter 2004. All experiments were done in f/2 medium and cell abundance was provided in five different logarithmic scale salinity 20, 22.5, 25, 28.5, and 32 grams per liter. The initial density was 5×10^6 cells ml^{-1} and at the end of the sixth day the number of *Nannochloropsis oculata* was counted by a Neo-Bar Lam and microscope; light absorption in 750nm was determined by Spectrophotometer method. According to this study at the end of the sixth day, 20 and 28.5 grams per liter salinity with 75×10^6 and 38×10^6 respectively have maximum and minimum cell abundance. In media culture with salinity of 20 and 28.5ppt, absorption rate was calculated 1.077 and 0.508 respectively. There was no significant difference ($P<0.05$, Sig=0.217) in the different salinities (Kroscal-Valis test). This study indicated the salinity of 20gram per liter is an effective salinity for the culture of the mentioned micro algae.

Keywords: *Nannochloropsis oculata*; Salinity; cells density; Iran