University of Guilan with collaboration of Iranian Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 9, No. 3, 2023, pages: 15-31
DOI: 10.22124/janb.2024.25289.1214

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Evaluation of the possibility of Spirulina *Spirulina platensis* culture in the deep aquifer well, Seistan, Southeastern Iran

Abdolali Rahdari[1*], Ali Khosravanizadeh[1], Sahel Pakzad Toochaei[2], Roghayeh Karami[2]
1- Department of Aquatic Sciences, Hamoun International Wetland Institute, Research Institute of Zabol, Zabol, Iran
2- Department of Natural Ecosystems, Hamoun International Wetland Institute, Research Institute of Zabol, Zabol, Iran

Received 18 July 2023 Revised 14 September 2023 Accepted 16 September 2023

KEYWORDS
Deep aquifer well
Growth indices
Pigment concentration
Seistan

ABSTRACT

Introduction: Nowadays, Spirulina algae is considered as a food supplement and even a healthy and useful food for human and is available in different forms such as powder, tablets, chips, etc. In addition to human consumption, Spirulina is used in aquaculture for feeding the larval stages of crustaceans and some other types of aquatic animals, to prepare livestock and poultry feed, and for cosmetic and industrial purposes. This study was carried out to evaluate the water capacity of the country's first deep aquifer well located in the Seistan region for the cultivation of *Spirulina platensis*.

Materials and methods: Six treatments including deep aquifer well water with high salinity of 25, 12.5, and 5 ppt (Seistan deep aquifer well without changing salinity, deep water diluted with distilled water to 12.5 ppt salinity and 5 ppt) and tap water with high salinity of 25, 12.5 and 5 (prepared from Urmia Lake salt) were prepared. Spirulina algae was cultivated under standard conditions including temperature 30 ± 2 °C, light 37 µmol/m^2/s; 16 hours light and 8 hours darkness for 21 days. At the end of the test period, the growth indicators and pigment concentration of the produced algae were measured, and by comparing the data obtained in different treatments, the ability of deep aquifer well water to grow Spirulina algae was determined.

Results and discussion: The results showed that the highest biomass was obtained in the treatment of tap water and Urmia salt (2.91 ± 0.14 g/L) and the growth

rate in the treatments containing deep aquifer water was lower than the other treatments.

Conclusions: The cultivation of Spirulina in the water of deep well (No. 1 Seistan) has a low efficiency compared to tap water, and it is necessary to modify and change its composition in some way so that Spirulina can be cultivated in with proper efficiency.

Conflicts of interest: Authors have no conflict of interest to declare for the publication of the present work.

Acknowledgments: The authors thank the Research Institute of Zabol for funding this study (PR-RIOZ-1401-9571-1).

---

*Corresponding author: Rahdari67@gmail.com; Rahdari57@uoz.ac.ir

دانشگاه گیلان با مشارکت انجمن آبزی‌پروری ایران

تغذیه آبزیان

سال نهم، شماره سوم، مهر ۱۴۰۲، صفحات ۳۱-۱۵

DOI: 10.22124/janb.2024.25289.1214

"مقاله پژوهشی"

ارزیابی قابلیت پرورش جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) در آب چاه ژرف سیستان

عبدالعلی راهداری[1*]، علی خسروانی زاده[1]، ساحل پاکزاد توچایی[2]، رقیه کرمی[2]

۱- گروه علوم آبزیان، پژوهشکده تالاب بین المللی هامون، پژوهشگاه زابل، زابل، سیستان و بلوچستان

۲- گروه اکوسیستم های طبیعی، پژوهشکده تالاب بین المللی هامون، پژوهشگاه زابل، زابل، سیستان و بلوچستان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۲۸ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۶/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۲۵

چکیده

امروزه جلبک اسپیرولینا به عنوان یک مکمل غذایی و حتی غذای سالم و مفید برای انسان مطرح و به صور مختلفی مانند پودر، قرص، چیپس و غیره در دسترس است. علاوه بر کاربرد مصرف انسانی، جلبک اسپیرولینا در آبزی‌پروری برای تغذیه مراحل نوزادی سخت پوستان و برخی دیگر از انواع آبزیان، تهیه خوراک دام و طیور و مصارف آرایشی و صنعتی کاربرد دارد. این مطالعه به منظور ارزیابی قابلیت آب نخستین چاه ژرف کشور واقع در منطقه سیستان برای پرورش جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) انجام شد. ۶ تیمار شامل آب چاه ژرف با شوری‌های ۲۵ و ۱۲/۵ و ۵ ppt (به ترتیب آب استحصالی از چاه یک سیستان بدون تغییر شوری، آب ژرف رقیق شده با آب مقطر تا شوری‌های ۱۲/۵ و ۵ ppt) و آب معمولی با شوری‌های ۲۵ و ۱۲/۵ و ۵ ppt (تهیه شده از نمک دریاچه ارومیه) در نظر گرفته شد. جلبک اسپیرولینا به مدت ۲۱ روز در شرایط استاندارد شامل دمای ۲ ± ۳۰ درجه سانتی‌گراد، نور ۳۷ میکرمول بر متر مربع بر ثانیه؛ ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی پرورش داده شد. در پایان دوره آزمایش، شاخص‌های رشد و غلظت رنگدانه‌های جلبک تولیدی سنجش شد و با مقایسه داده‌های حاصله در تیمارهای مختلف، قابلیت آب چاه ژرف سیستان برای پرورش جلبک اسپیرولینا تعیین شد. بیشترین زی‌توده در تیمار آب معمولی و نمک ارومیه به دست آمد (۰/۱۴ ± ۲/۹۱ گرم در لیتر) و میزان رشد در تیمارهای حاوی آب ژرف کمتر از دیگر تیمارها بود. بنابراین، پرورش اسپرولینا در آب چاه ژرف شماره یک سیستان کارایی پایینی نسبت به آب معمولی دارد و لازم است ترکیب آن به نحوی اصلاح و تغییر داده شود تا اسپرولینا با کارایی مناسب در آن قابل پرورش باشد.

کلمات کلیدی

چاه ژرف

شاخص‌های رشد

غلظت رنگدانه

سیستان

نویسنده مسئول: Rahdari67@gmail.com; Rahdari57@uoz.ac.ir

مقدمه

در سالیان گذشته، نزولات آسمانی کاهش یافته و جریان آب رودخانه هیرمند به عنوان مهمترین شاهرگ حیاتی تأمین آب سیستان و تالاب بین‌المللی هامون به شدت کاهش یافته است که موجب بروز بحران آب در منطقه سیستان شده است. مشکلات آلودگی هوا، بیماری‌های تنفسی، بیکاری، مهاجرت و حاشیه‌نشینی و تنگناهای جدی اجتماعی-اقتصادی بخشی از مشکلاتی است که هر روز مردم منطقه سیستان با آن دست به گریبان هستند. در چنین شرایطی که سیستان بیش از هر زمان دیگری درگیر مشکل تأمین آب است، دو رویکرد کلی برای خروج از بحران وجود دارد: مدیریت مصرف آب و معرفی منابع جدید آب. در استان سیستان و بلوچستان با سرانه مصرف ناچیز آب مصرفی، طرح مدیریت مصرف به حل پایدار مشکل کمک نمی‌کند و لازم است منابع جدید آب برای مصارف شرب و کشاورزی شناسایی و تأمین شوند تا امنیت زندگی مردم منطقه برقرار ماند. برای تأمین نیاز آبی سیستان به صورت پایدار، به استفاده از آب‌های ژرف توجه شده است. آب‌های ژرف به منابع آب‌های پنهان در لایه‌های ژرف زمین گفته می‌شود که در سازنـدهای زمین‌شناسی، سفره‌های آب زیرزمینی را تشکیل داده و می‌توانند تجدیدپذیر یا تجدیدناپذیر باشند.

معاونت علمی ریاست جمهوری با همکاری شرکت‌های دانش بنیان و بر اساس آخرین استانداردهای دنیا، اکتشاف و حفر آبخوان‌های مختلف در چاه ژرف شماره ۱ سیستان را تا عمق ۳۰۰۰ متری در سال ۱۳۹۷ به سرانجام رسانده است. در این چاه تجدیدپذیر، امکان تولید ۱۵۰۰ مترمکعب آب در روز فراهم شد. دمای آب این چاه در سطح زمین ۸۷ درجه سانتی‌گراد است که شرایط تولید انرژی زمین گرمایی را نیز دارد. به علاوه، ایجاد و توسعه کشت‌های گلخانه‌ای، آبزی‌پروری و آبیاری گیاهان شورپسند مرتعی، گزینه‌هایی برای استفاده از گرما و آب استحصالی از چاه ژرف سیستان به حساب می‌آیند.

در کنفرانس جهانی غذای سازمان ملل متحد، از جلبک اسپیرولینا به عنوان «بهترین غذای آینده» یاد شده است (Patel and Goyal, 2013). امروزه جلبک اسپیرولینا به دلیل اینکه دارای ترکیباتی از قبیل اسیدهای چرب اشباع نشده امگا ۳ و ۶ و کاروتن است، مصارف دارویی نیز پیدا کرده است (Alonso and Maroto, 2000). فیکوسیانین، کلروفیل، آلو فیکوسیانین، بتا-کاروتن، لوتئین، گزانتین و غیره از رنگدانه‌هایی هستند که از این جلبک استخراج می‌شوند. دارای خواص ضد اکسیدانی و ضدسرطانی است و به همین دلیل این جلبک ارزش بالایی دارد (Colla et al., 2007). بنابراین، اسپیرولینا به دلیل ترکیبات متعددی که دارد، کاربردهای فراوانی پیدا کرده است. بهینه‌سازی شرایط رشد و تولید جلبک اسپیرولینا باعث می‌شود که فرآورده‌هایی با ارزش افزوده بیش‌تر و هزینه کم‌تر فراهم شوند (Mirón et al., 2003; Habib et al., 2008). فرآورده‌های تولید شده از جلبک اسپیرولینا در صورتی می‌توانند در بازار مصرف جایگاه داشته باشند که تولید آنها از نظر اقتصادی مقرون به صرفه باشد (Chojnacka and Noworyta, 2004; Saleh et al., 2011). به همین دلیل، یافتن منابع و راه‌کارهای مناسب برای پرورش این گونه حائز اهمیت است.

همان‌طور که پیشتر اشاره شد، چاه‌های ژرف منابع آبی نوظهوری در منطقه سیستان و کشـور ایران به حساب می‌آیند که یکی از کاربری‌های آنها و یا یک کاربری جانبی آنها می‌تواند پرورش آبزیانی با ارزش اقتصادی بالا باشد. با توجه به ویژگی‌های خاص آب استحصالی از این چاه، بررسی‌های متنوعی روی آن انجام شده است که مطالعه حاضر در راستای ارزیابی قابلیت آب چاه ژرف جهت پرورش جلبک اسپیرولینا بود.

تاکنون راجع به قابلیت پرورش جلبک اسپیرولینا در آب چاه ژرف سیستان مطالعه‌ای انجام نشده است. لذا می‌توان به مطالعات انجام شده در دیگر منابع آبی اشاره کرد. اثر جایگزینی پودر جلبک اسپیرولینا *Spirulina platensis* به جای جلبک کیتوسروس *Chaetoceros muelleri* بر رشد و بقای میگوی سفید غربی *Litopenaeus vannamei* برای تغذیه مراحل لاروی زوا و مایسیس بررسی شده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده، ترکیب ریزجلبک کیتوسروس با اسپیرولینا برای تغذیه مراحل نوزادی میگوی سفید غربی پیشنهاد شده است (Gharibi et al. 2014).

اثر هم زدن با هوا و هم زدن با چرخش ظرف کشت بر میزان تولید زی‌توده اسپیرولینا در ۵ محیط کشت متفاوت (زاروک، جردن، اف ۲، شولسر و نیز نمک دریا) بررسی شد. بر اساس نتایج این مطالعه، تنش، اثر زیادی بر رشد و تولید زی‌توده اسپیرولینا دارد و با کاهش تنش، راندمان تولید صنعتی زی‌توده در کشت اسپیرولینا افزایش می‌یابد (Sheikhi Nejad et al. 2015).

مطالعه‌ای با هدف بررسی توانایی گونه *S. platensis* برای رشد در محیط‌های با شوری متفاوت (۳ µs/cm، ۱۵۰۰ و ۳۴۰۰۰) و ترسیب کربن در غلظت‌های مختلف CO_2 (۰/۰۳، ۲، ۵ و ۱۰ درصد) انجام شده است. نتایج این مطالعه نشان داد جلبک اسپیرولینا بالاترین نرخ تثبیت کربن و همین طور تولید زی‌توده را در آب طبیعی (شهر بیرجند) تحت غلظت ۱۰٪ دی اکسید کربن نشان داده است (Shabani et al. 2016).

از ضایعات خرما در تولید محیط کشت مناسب برای افزایش تولید رنگدانه ارزشمند فایکوسیانین از جلبک استفاده شد. عصاره خرما از صفر تا ۲ گرم در لیتر به محیط کشت استاندارد زاروک سبب افزایش تولید فایکوسیانین در این محیط شد. علاوه بر آن، انجام این تیمار سبب افزایش خطی خاصیت ضداکسایشی شد. عصاره خرما با دارا بودن مقادیر بالایی از قندهای ساده و ریزمغذی‌ها می‌تواند منبع مناسبی برای غنی‌سازی محیط کشت جلبک اسپیرولینا به منظور افزایش هر چه بیشتر تولید رنگدانه ارزشمند فایکوسیانین و خاصیت ضداکسایشی عصاره حاصل از جلبک اسپیرولینا باشد (Tavakoli and Vali Aftari, 2018).

امکان پرورش جلبک *S. platensis* توسط غنی‌سازی آب خلیج فارس با منابع نیتروژنی و کربنی مطالعه شده است. در این مطالعه، تیمارهای آزمایشی شامل آب دریا (شاهد)، آب دریای غنی‌شده با اوره، آب دریای غنی‌شده با بی‌کربنات سدیم و آب دریای غنی‌شده با اوره و بیکربنات سدیم بود. نتایج نشان داد که افـزایش تولید زی‌توده در تیمار آب دریای غنی شده با اوره و بیکربنات سدیم حـداکثر بود. محـققان نتیجـه گرفـته‌اند که با غنی‌سازی آب خلیج فارس و با توجه به موقعیت جغرافیایی می‌توان از سواحل دریا برای پرورش جلبک *S. platensis* استفاده کرد (et al. 2020 Mortazavi).

Gharibi و همکاران (۲۰۱۹) تولید انبوه جلبک اسپیرولینا (*S. platensis*) را به منظور استفاده در غذای میگو بررسی کردند. بر اساس نتایج آنها، میزان تولید توده خشک جلبک اسپیرولینا در یک تن آب ۳۰-۲۵ گرم و میزان پروتئین پودر جلبک در این پژوهش ۷۲-۵۰٪ محاسبه شد. تأثیر سطوح مختلف نمک و کربوهیدرات برای بررسی گونه *S. platensis* در محیط‌های میکسوتروفیک و اتوتروفیک به منظور افزایش تولید رنگدانه‌ها مطالعه شد. بر اساس نتایج حاصل، میزان مواد مؤثره جلبک در تیمارهای آزمایشی، امکان کاربرد این گونه در صنایع غذایی (رنگ، اسانس، آرد، غذای دام) و دارویی (داروهای مکمل غذایی و درمانی) وجود دارد (Rasouli and Parsa, 2019).

اثر عصاره هیدروالکلی جلبک *S. platensis* بر روی جدایه‌های میکروسپوروم کنیس بررسی شد. در این مطالعه، جلبک *S. platensis* کشت شده ایرانی در محلول هیدروالکلی حل شد. اثر ضد قارچی غلظت های مختلف از عصاره جلبک با روش انتشار در آگار بر روی جدایه‌های میکروسپوروم کنیس بررسی شد. نتایج نشان داد که تمام جدایه‌های میکروسپوروم کنیس نسبت به عصاره هیدروالکلی *S. platensis* حساس بودند، به طوری که قطر هاله عدم رشد برای تمام آنها بین ۰/۵ تا ۱۹ میلی‌متر بود. بیشترین اثر بازدارندگی مربوط به غلظت ۱۶۰ میلی-گرم/دیسک عصاره جلبک بود. همچنین، نتایج نشان داد که تربینافین، به عنوان کنترل مثبت، با تمام غلظت‌های مورد استفاده عصاره جلبک تفاوت معنی دار داشت. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش و افزایش مقاومت روز افزون قـارچ‌های بیمـاری‌زا نسبت به ضدقارچ‌های رایج درمانی پیشنهاد شد با تحقیقات بیشتر روی جلبک *S. platensis* بتوان از ترکیبات ضد میکروبی این جلبک در درمان بیماری‌های عفونی از جمله قارچ ها بهره جست (Jangi et al. 2019).

مشکلات آبی شدید منطقه سیستان در اثر قطع جریان آب رود هیرمند، شغل آبزی‌پروری را که در دو دهه قبل به خوبی در منطقه ترویج و مورد استقبال مردم قرار گرفته بود و از توسعه خوبی برخوردار بود، به طور کامل تحت‌الشعاع قرار داده است. حذف این شغل درآمدزا، اثرات اقتصادی و اجتماعی نامطلوب بر منطقه سیستان گذاشته است. لذا، به جای حذف یک حرفه جاافتاده و مفید، باید گزینه‌های جایگزینی برای ادامه فعالیت آبزی‌پروری جستجو کرد. چاه ژرف سیستان که وابستگی به کشور دیگری ندارد، منبع آبی قابل اطمینانی است که بخشی از آن می‌تواند در آبزی‌پروری و پرورش گونه‌های ذیقیمت استفاده شود. از طرفی، یافتن کاربری‌های مختلف برای آب چاه ژرف، ضرورت انجام چنین مطالعاتی را ایجاب می‌کند.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایش و تیمارهای تحقیق

برای مقایسه میزان رشد جلبک اسپیرولینا (*S. platensis*) در آب ژرف با آب معمولی، ۶ تیمار با مشخصات زیر در نظر گرفته شد (جدول ۱):

جدول ۱ تیمارهای آزمایشی پرورش جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) در آب چاه ژرف سیستان

Table 1 Experimental treatments of Spirulina (*Spirulina platensis*) culture in Seistan deep aquifer well

Treatment	Symbol	Specifications
Jarf 25	T_1	Water extracted from the Seistan deep aquifer well- salinity 25 ppt (no change in salinity)
Jarf 12.5	T_2	Seistan deep aquifer well water diluted with distilled water- salinity 12.5 ppt
Jarf 5	T_3	Seistan deep aquifer well water diluted with distilled water- salinity 5 ppt
Water 25	T_4	Distilled water and salt of Urmia lake- salinity 25 ppt
Water 12.5	T_5	Distilled water and salt of Urmia lake- salinity 12.5 ppt
Water 5	T_6	Distilled water and salt of Urmia lake- salinity 5 ppt

سنجش فراسنجه‌های فیزیکوشیمیایی آب

پس از تهیه تیمارهای مختلف (جدول ۱)، فراسنجه‌های شوری و pH با دستگاه‌های پرتابل و سایر فراسنجه‌های آب شامل سختی کل، قلیائیت، نیترات، فسفات، نیتریت، سولفات، منیزیوم، منگنز، روی و مس کل توسط دستگاه پالین تست (Palintest™ 8000, Tyne & Wear, U.K.) و مقدار عناصر سدیم و پتاسیم توسط دستگاه فلیم فتومتر (Elico Technologies CL 361, Hyderabad, India) اندازه‌گیری شدند. در فلیم فتومتر، ابتدا استانداردهای لازم هر یون با استفاده از محلول‌های استاندارد (Chem-Lab NV, Zedelgem, Belgium) تهیه و سپس، غلظت آنها در دستگاه قرائت شد.

پرورش جلبک

پرورش جلبک با استفاده از محیط کشت زاروک (شرکت ایران آلجی، ایران؛ جدول ۲) در شرایط محیطی کنترل شده و استاندارد از قبیل دمای ۳۰-۲۸ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۳۷ میکرمول بر متر مربع بر ثانیه (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی؛ تنظیم با تایمر) در آزمایشگاه‌های پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون انجام شد. ظروف کشت با اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد سترون (استریلیزه) شدند. در طی دوره پرورش، هوادهی به نحوی انجام شد که از رسوب جلبک‌ها جلوگیری شود. هر ظرف با ۴۵۰ میلی‌لیتر آب مورد نظر و ۵۰ میلی‌لیتر استوک (تهیه شده از پارک علم و فناوری زاهدان) و در زمانی که استوک اولیه در فاز خطی رشد باشد (تراکم ۳۰۰۰-۲۰۰۰ یاخته در میلی‌لیتر) انجام شد. مقدار pH همه تیمارها در طی دوره آزمایش و هر سه روز یک مرتبه اندازه‌گیری شد. مدت دوره ۲۱ روز و هر تیمار چهار تکرار داشت.

اندازه گیری متغیرهای مورد بررسی

میزان رشد

میزان رشد جلبک در طول دوره با دو روش اندازه‌گیری شد. در روش اول از محیط همگن پرورش، ۳ نمونه توسط میکروسمپلر برداشت و شمارش جلبک‌ها با لام سدویک رافتر (Sedgewick Rafter Counting Chamber) و عکس‌برداری با میکروسکوپ نوری (Euromex, GE 3035, Holland) مجهز به دوربین (Euromex, CMEX, Holland) با بزرگنمایی ۴۰ انجام شد. با توجه به بزرگ بودن اندازه جلبک اسپرولینا، شمارش با لام هموسایتومتر امکان‌پذیر نبود. به همین دلیل از لام سدویک استفاده شد؛ به این ترتیب که از قسمت‌های مختلف لام عکس گرفته می‌شد و بعد با شمارش تعداد جلبک‌ها در خانه‌های متعدد، تعداد متوسط محاسبه می‌شد. در روش دوم میزان جذب نوری در طول موج ۶۸۰ نانومتر با کمک اسپکتروفتومتر قرائت شد (Hopkins et al. 2019).

شاخص‌های مقدار رشد ویژه (SGR)، زمان دو برابر شدن (DT)، تعداد تقسیم در روز (K) و بیشینه یاخته تولید شده (R) با استفاده از روابط ۱ تا ۴ محاسبه شدند

Omori and Ikeda, 1984; James and Al-) (Khares, 1986):

رابطه ۱ $SGR = (\ln N2 - \ln N1 / T2 - T1) * 100$

رابطه ۲ $DT = \ln 2 / SGR$

رابطه ۳ $K = SGR / \ln 2$

رابطه ۴ $R = N2 - N1$

در این روابط، N1 تعداد یاخته‌های جلبک در زمان T1 و N2 تعداد یاخته‌ها در زمان T2 می باشد.

Table 2 Zarrouk's Medium (chemical elements and their amount for one liter)

جدول ۲ فرمول زاروک (عناصر شیمیایی و میزان آنها برای یک لیتر)

Name	Amount
Bicarbonate of Soda ($NaHCO_3$)	16.8 g/L
Dipotassium phosphate (K_2HPO_4)	0.5 g/L
Sodium nitrate ($NaNO_3$)	2.5 g/L
Potassium sulfate (K_2SO_4)	1 g/L
Table salt without iodine (NaCl)	1 g/L
Magnesium sulfate heptahydrate ($MgSO_4.7H_2O$)	0.2 g/L
Calcium chloride dihydrate ($CaCl_2.2H_2O$)	0.04 g/L
Iron (II) sulfate heptahydrate ($FeSO_4.7H_2O$)	0.01 g/L
EDTA	0.08 g/L
Solution A	1 mL/L
Solution B	1 mL/L

Solution A: Boric acid 2.86 g/L, manganese chloride 4 hydrates 1.81 g/L, zinc sulfate 7 hydrates 0.22 g/L, sodium molybdate 2 hydrates 0.39 g/L, copper sulfate 5 hydrates 0.079 g/L.

Solution B: One of the most important elements in this category is cobalt, which is essential for making vitamin B_{12} needed by algae.

میزان زی‌توده

برای اندازه‌گیری زی‌توده (بیوماس)، ابتدا لوله‌های آزمایش کاملاً شسته و تمیز شده و به مدت یک ساعت در آون با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد خشک و وزن لوله‌های خشک اندازه‌گیری شد. هر ۷ روز یک بار از ظروف کشت کاملاً همگن و یکنواخت، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون جلبکی برداشته و به لوله‌های آزمایش منتقل شد. نمونه‌ها در ۳۵۰۰ g به مدت ۸ دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول رویی از لوله‌ها خارج و یک بار دیگر این عمل با آب مقطر انجام شد تا نمک باقی‌مانده از لوله خارج شود. لوله حاوی زی‌توده جلبکی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از این مدت، مجدداً لوله‌ها وزن شد. وزن لوله‌ها در هر مرحله توسط ترازو با دقت ۰/۱ میلی‌گرم اندازه‌گیری شد.

استخراج کلروفیل a و اندازه‌گیری مقدار آن

از هر ظرف کشت جلبک یک نمونه ۵ میلی‌لیتری برداشت و به مدت ۶ دقیقه در سرعت ۳۵۰۰ g سانتریفیوژ شد. محلول روی پلت خارج و ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ به آن افزوده شد. لوله‌ها به مدت ۲ دقیقه چرخانده (ورتکس) شدند تا زی‌توده جلبکی در معرض استون قرار گیرد و استخراج انجام شود. سپس، لوله‌ها برای اجتناب از نور درون فویل پیچیده و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال گذاشته شدند. بعد از این مدت، مجدداً به روش قبلی سانتریفیوژ شدند (Jin et al. 2003). مقدار جذب نمونه‌ها توسط

اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۷ و ۶۶۳ نانومتر قرائت و غلظت کلروفیل a با رابطه زیر محاسبه شد (Lichtenthaler and Wellburn, 1983; Lichtenthaler, 1987):

$$\text{Chlorophyll a } (\mu g/mL) = 12.21\ A663 - 2.81\ A647$$ رابطه ۵

در این روابط A663 و A647 به ترتیب میزان جذب در طول موج های ۶۶۳ و ۶۴۷ نانومتر هستند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نرم‌افزار SPSS 22.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. ابتدا نرمال بودن توزیع داده‌ها و همگنی واریانس‌ها به ترتیب از طریق آزمون‌های Kolmogorov-Smirnov و Levene`s بررسی شد. همچنین، برای مشخص کردن اختلاف بین میانگین‌ها، از آزمون واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) استفاده شد. مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون Duncan در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد.

نتایج

ترکیب آب

برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ترکیب آب تیمارهای مختلف این آزمایش در جداول ۳ و ۴ ارائه شده است.

تغییرات pH

به طور کلی، pH همه تیمارها در پایان دوره نسبت به ابتدا افزایش داشت و از مقدار ۹ در ابتدای دوره به ۰/۱۶ ± ۱۰/۳ در تیمار یک تا ۰/۲۱ ± ۱۰/۹۲ در تیمار سه رسید. کم‌ترین مقادیر pH در طی دوره مربوط به تیمار یک بود و در عین حال کمترین نوسان در همین تیمار مشاهده شد. بیشترین مقدار pH در بین همه تیمارها و مراحل نمونه‌برداری، ۰/۱۷ ± ۱۲/۱ در روز ۹ تیمار ۶ بود. در این تیمار روند به شدت صعودی از روز اول تا روز ۹ وجود داشت و پس از آن مجدداً روند کاهشی پیدا کرد و بیشترین نوسانات در همین تیمار ملاحظه شد (شکل ۱).

جذب نوری

میزان جذب نوری در تیمارهای مختلف در طی دوره پرورشی در شکل ۲ نشان داده شده است. مقدار جذب نوری در همه تیمارها تا روز ۲۱ روند افزایشی داشت. بیشترین مقدار جذب نوری در روز ۲۱ و در تیمار ۵ و کمترین مقدار در این روز در تیمار ۲ مشاهده شد ($p<0/05$). الگوی مهم قابل مشاهده در این نمودار بیشتر بودن جذب نوری در تیمارهای فاقد آب ژرف (۵ و ۶) نسبت به تیمارهای ۱ و ۲ است که حاوی ۱۰۰ و ۵۰٪ آب ژرف بودند.

رشد

مقدار رشد تا روز ۷ پرورش در تیمار ۳ بیش از دیگر تیمارها بود، به‌طوری که در روز ۷ به میزان معنی‌دار بیش از دیگر تیمارها بود ($p<0/05$)، اما در روزهای بعد تا پایان دوره رشد این تیمار کاهش پیدا کرد. از طرف دیگر، به طور کلی میزان رشد در تیمارهای حاوی آب ژرف کمتر از دیگر تیمارها بود (شکل ۳). بیشترین تراکم یاخته‌ای cell/mL ۳۵۰×۱۰^{۳} در تیمار ۵ به دست آمد.

وزن خشک

وزن خشک به‌دست آمده در روز ۷ پرورش در تیمار ۱ نسبت به همه تیمارها بجز تیمار ۵ به طور معنی‌دار بیشتر بود ($p<0/05$)، ولی در روز ۱۴ اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p>0/05$). در پایان دوره بیشترین زی‌توده در تیمار ۴ به دست آمد (۰/۱۴ ± ۲/۹۱ گرم در لیتر) که البته اختلاف معنی داری با بقیه تیمارها بجز تیمار ۲ نداشت. نکته قابل توجه در این شکل، روند تغییرات وزن خشک بود، به طوری که در تیمارهای ۱، ۴، ۵ و ۶ از روز ۷ تا ۲۱ روند افزایشی بود، در حالی که در تیمارهای ۲ و ۳ چنین روندی وجود نداشت.

Table 3 Some physicochemical properties and water compositions of treatments used in the study of *Spirulina platensis* cultivation in Seistan deep aquifer well

جدول ۳ برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و ترکیبات آب تیمارهای استفاده شده در مطالعه پرورش جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) در آب چاه ژرف سیستان

Treatment	Total hardness (as $CaCO_3$ mg/L)	Alkalinity (as $CaCO_3$ mg/L)	Sulphate (mg/L)	Nitrite (mg/L)	phosphate (mg/L)	Nitrate (mg/L)
T_1	4000.5 ± 30.12	39.45 ± 1.58	434.11 ± 22.68	0.006 ± 0.0003	1.68 ± 0.02	1.22 ± 0.016
T_2	1998.34 ± 41.22	20.71 ± 2.31	220.27 ± 19.47	0.004 ± 0.0002	0.8 ± 0.03	0.71 ± 0.014
T_3	804.22 ± 17.41	6.85 ± 1.2	85.15 ± 6.2	0.002 ± 0.0003	0.34 ± 0.05	0.25 ± 0.017
T_4	196.67 ± 15.11	104.8 ± 2.36	362.56 ± 20.78	0.003 ± 0.0004	0.11 ± 0.01	3.16 ± 0.011
T_5	98.55 ± 8.33	55.11 ± 1.45	179.98 ± 15.26	0.002 ± 0.0001	0.07 ± 0.001	1.61 ± 0.09
T_6	38.25 ± 2.74	22.25 ± 0.95	70.1 ± 4.32	ND	0.02 ± 0.004	0.8 ± 0.05

Table 4. The amount of elements in the water of the treatments used in the study of the cultivation of *Spirulina platensis* in Seistan deep aquifer well

جدول ۴ مقدار عناصر موجود در آب تیمارهای استفاده شده در مطالعه پرورش جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) در آب چاه ژرف سیستان

Treatment	Mg (mg/L)	Mg (as $CaCO_3$ mg/L)	Mn (mg/L)	K (mg/L)	Na (mg/L)	Zn (mg/L)	Total Cu (mg/L)
T_1	69.32 ± 5.92	286.8 ± 18.17	0.0074 ± 0.0004	33.1 ± 2.23	1481.77 ± 12.31	0.018 ± 0.004	3.8 ± 0.31
T_2	35.65 ± 3.14	148.65 ± 12.22	0.0038 ± 0.0002	17.11 ± 1.5	755.32 ± 30.14	0.009 ± 0.003	2.2 ± 0.25
T_3	15.22 ± 1.85	58.15 ± 4.47	0.002 ± 0.0001	7.1 ± 1.08	289.24 ± 22.45	0.003 ± 0.001	0.8 ± 0.03
T_4	29.82 ± 1.68	123.77 ± 10.48	0.0073 ± 0.0009	6 ± 0.85	1641.45 ± 11.22	ND	0.57 ± 0.03
T_5	15.1 ± 1.17	60.581 ± 5.22	0.0038 ± 0.0005	3.2 ± 0.97	900.2 ± 45.19	ND	0.29 ± 0.01
T_6	7.2 ± 0.55	25.12 ± 2.66	0.002 ± 0.0001	1.1 ± 0.08	300.7 ± 25.19	ND	0.12 ± 0.02

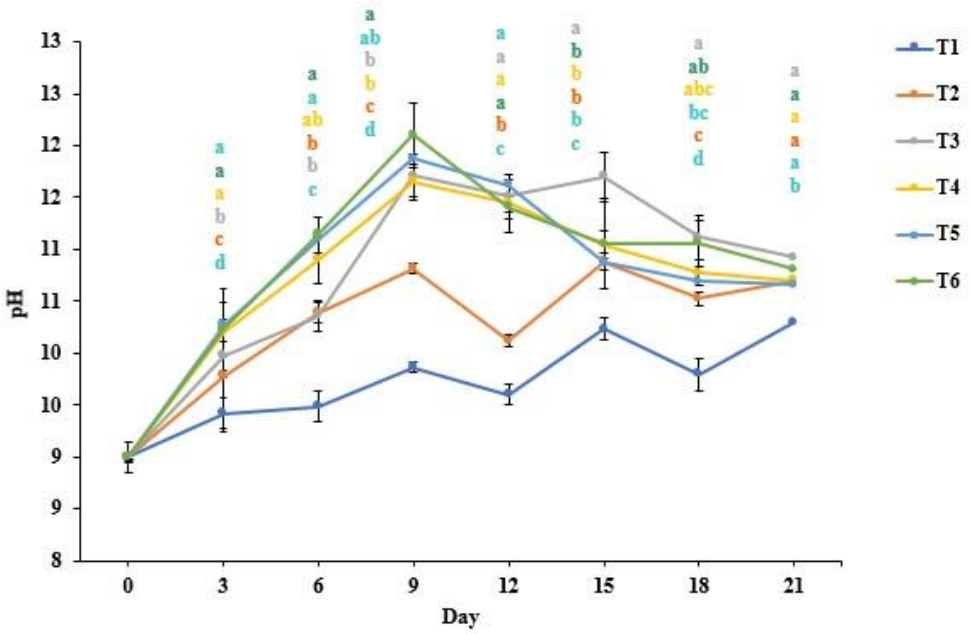

Figure 1. pH changes of different treatments during the 21-day period of *Spirulina platensis* cultivation in Seistan deep aquifer well (different letters indicate significant difference (p<0.05)).

شکل ۱ تغییرات pH تیمارهای مختلف در طول دوره ۲۱ روزه پرورش جلبک *Spirulina platensis* در آب ژرف سیستان (حروف مختلف نشان دهنده اختلاف معنی دار (p<۰/۰۵) است).

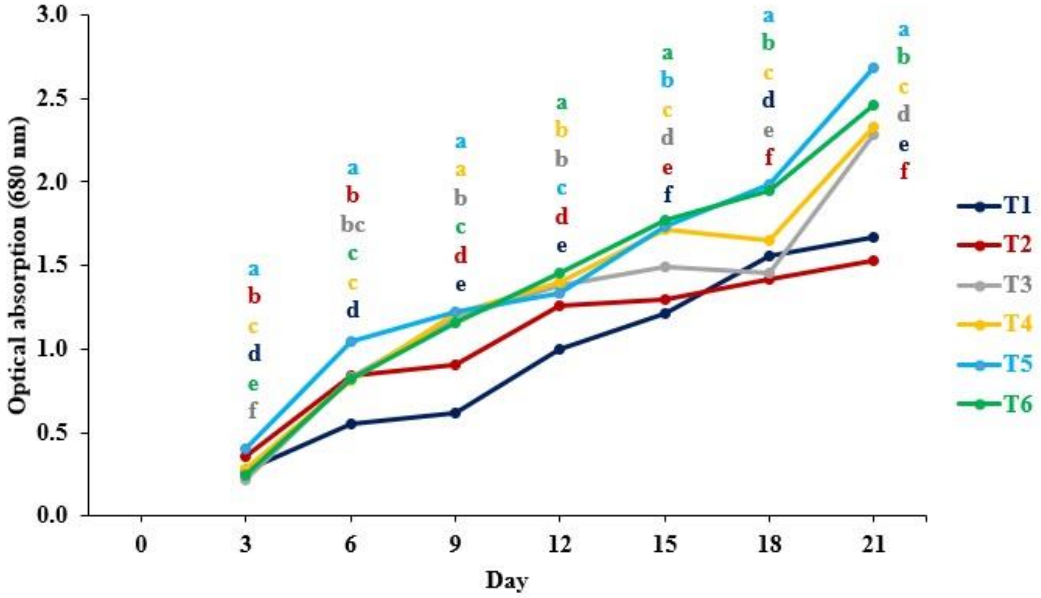

Figure 2. The amount of optical absorption (OD) of different treatments during the 21-day period of growing *Spirulina platensis* in Seistan deep aquifer well (different letters indicate significant differences (p<0.05)).

شکل ۲ میزان جذب نوری (OD) تیمارهای مختلف در طول دوره ۲۱ روزه پرورش جلبک *Spirulina platensis* در آب ژرف سیستان (حروف مختلف نشان دهنده اختلاف معنی دار (p<۰/۰۵) است).

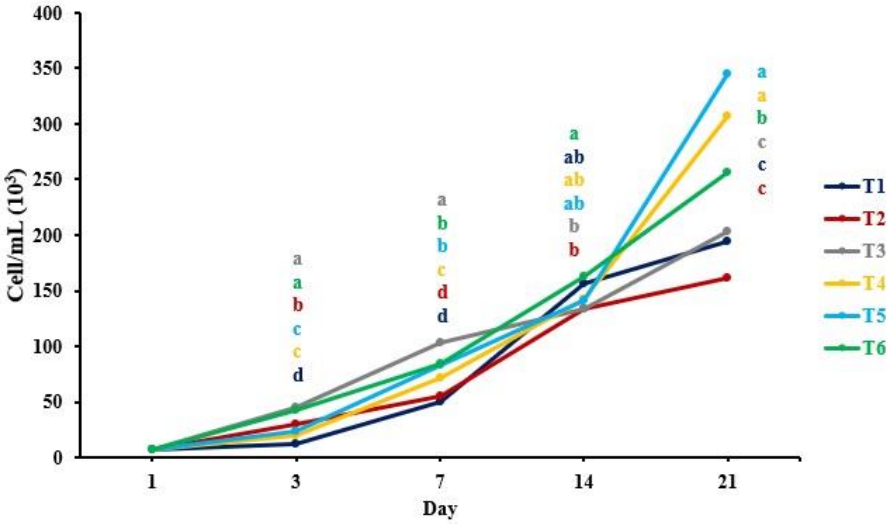

Figure 3 The amount of growth of *Spirulina platensis* algae under different treatments during the 21-day cultivation period in Seistan deep aquifer well (different letters indicate significant differences (p<0.05)).

شکل ۳ مقدار رشد جلبک *Spirulina platensis* تحت تیمارهای مختلف در طول دوره ۲۱ روزه پرورش در آب ژرف سیستان (حروف مختلف نشان دهنده اختلاف معنی دار (p<۰/۰۵) است).

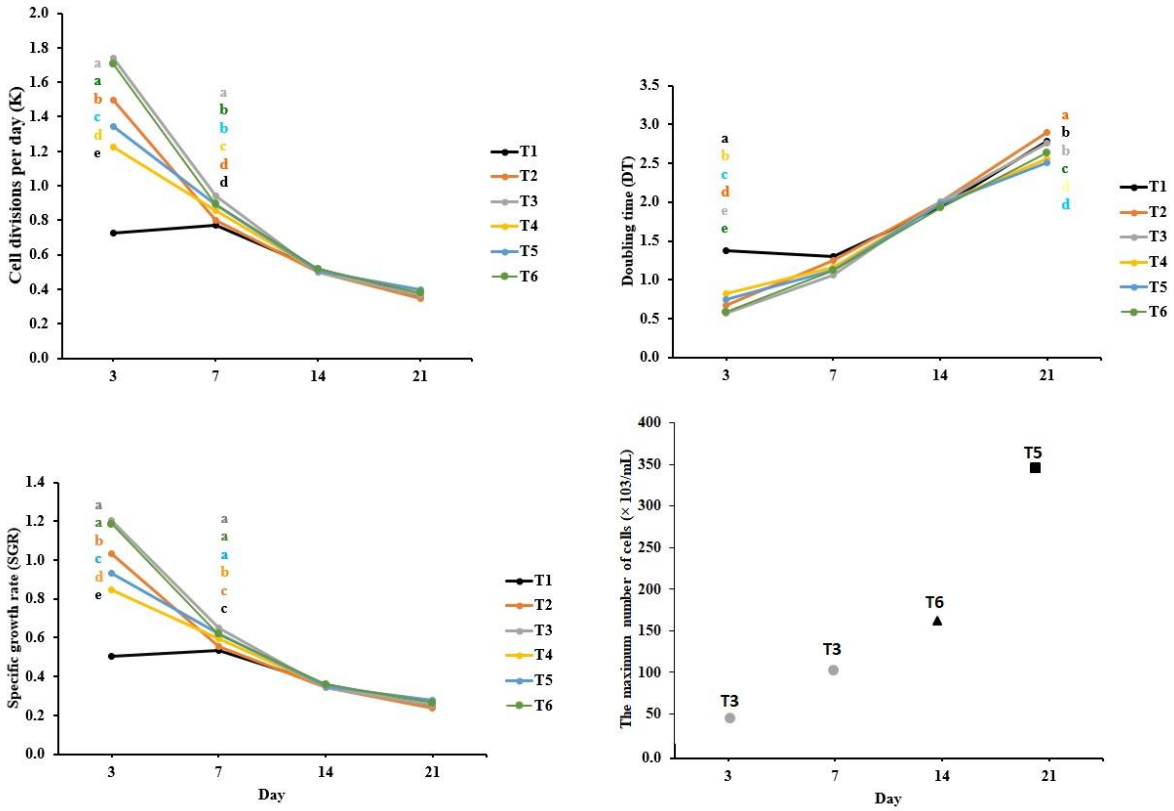

Figure 4. Number of cell divisions per day (K), Doubling time indices (DT), specific growth (SGR), maximum cells produced during the 21-day cultivation period of *Spirulina platensis* in Seistan deep aquifer well (letters Different indicates a significant difference (p<0.05).

شکل ۴ مقدار شاخص‌های تعداد تقسیم یاخته‌ای در روز (K)، زمان دو برابر شدن (DT)، رشد ویژه (SGR) و بیشینه یاخته تولید شده (طی دوره پرورش ۲۱ روزه جلبک *Spirulina platensis* در آب ژرف سیستان (حروف مختلف نشان دهنده اختلاف معنی دار (p<۰/۰۵) است).

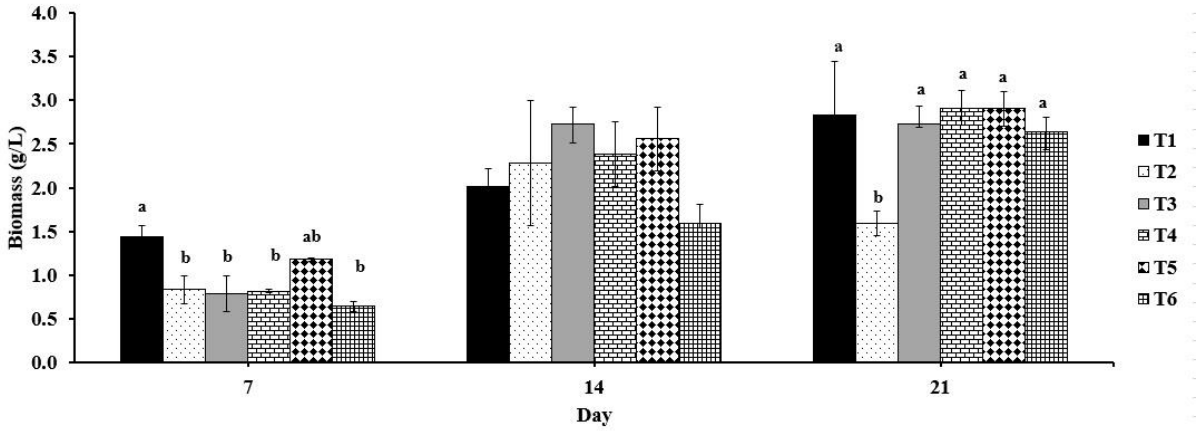

Figure 5. The amount of dry mass produced during the 21-day breeding period of *Spirulina platensis* in Seistan deep aquifer well (different letters on each bar indicate a significant difference (p<0.05)).

شکل ۵ مقدار وزن خشک زی توده تولیده شده طی دوره پرورش ۲۱ روزه جلبک *Spirulina platensis* در آب ژرف سیستان (حروف مختلف روی هر میله نشان دهنده اختلاف معنی دار (p<۰/۰۵) است).

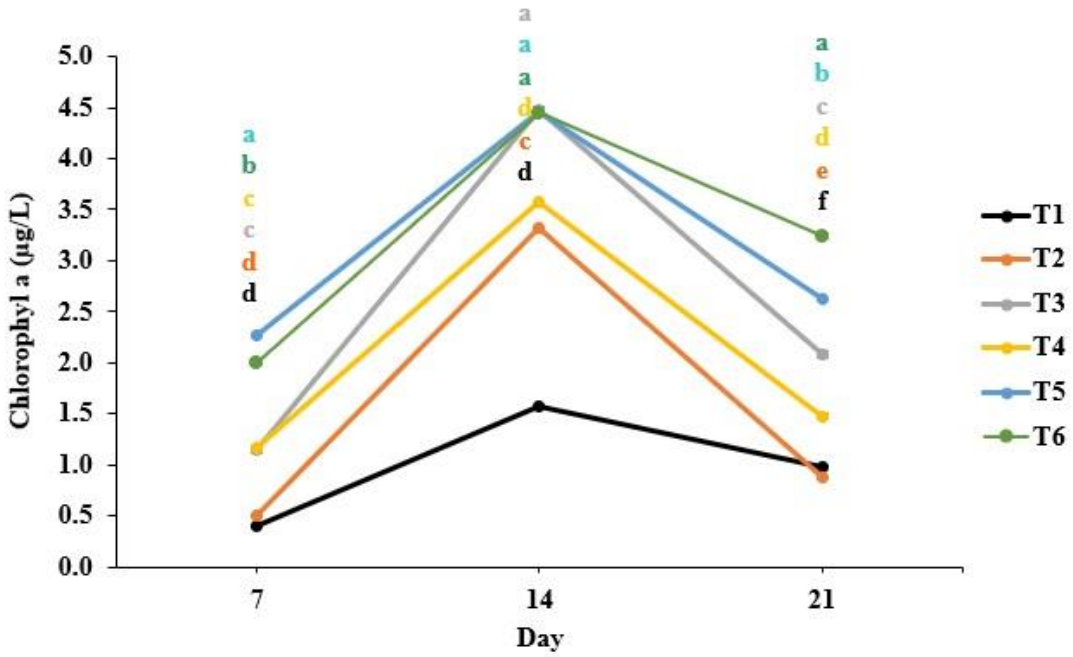

Figure 6. Chlorophyll a level of different treatments during the 21-day period of growing *Spirulina platensis* algae in Seistan deep aquifer well (different letters indicate significant differences (p<0.05)).

شکل ۶ میزان کلروفیل a تیمارهای مختلف طی دوره ۲۱ روزه پرورش جلبک *Spirulina platensis* در آب ژرف سیستان (حروف مختلف نشان دهنده اختلاف معنی دار (p<۰/۰۵) است).

شکل اسپرولینا

در روز سوم تیمار اول اسپیرولینای خرد شده و شکسته که به ذرات ریز تبدیل شده بودند، به مقدار زیاد مشاهده می‌شد ولی در دیگر تیمارها چنین وضعیتی وجود نداشت (شکل ۷).

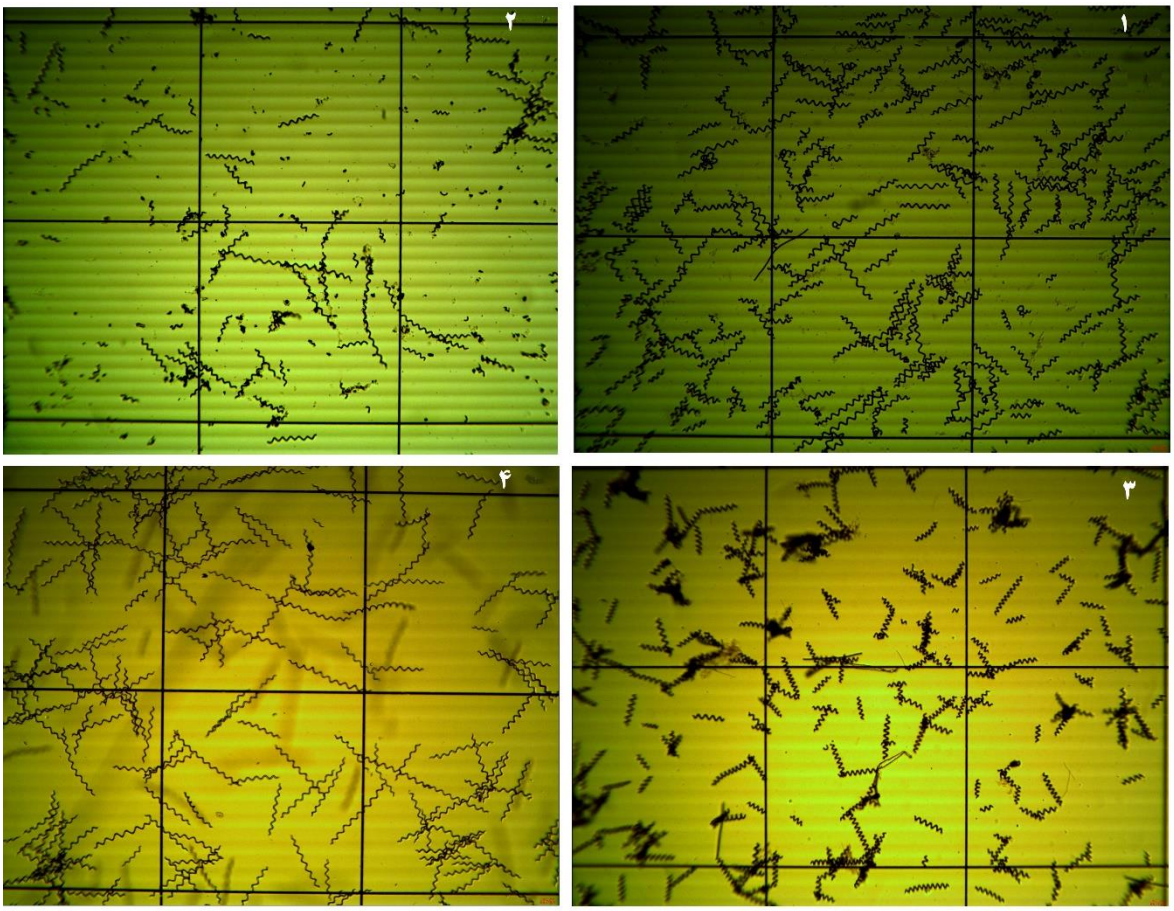

Figure 7. The appearance structure of Spirulina algae during the 21-day period of cultivation of *Spirulina platensis* algae in Seistan deep aquifer well. 1: third day of treatment 6, 2: third day of treatment 1, 3: day 21 of treatment 6 and 4: day 21 of treatment 1.

شکل ۷ ساختار ظاهری جلبک اسپرولینا طی دوره ۲۱ روزه پرورش جلبک *Spirulina platensis* در آب ژرف سیستان. ۱: روز سوم تیمار ۶، ۲: روز سوم تیمار ۱، ۳: روز ۲۱ تیمار ۶ و ۴: روز ۲۱ تیمار ۱.

بحث

در این مطالعه هدف صرفاً مقایسه میزان تولید اسپیرولینا در آب ژرف و آب حاوی نمک دریاچه ارومیه نبود، بلکه تمرکز اصلی بر این مسئله بود تا قابلیت آب ژرف سیستان برای تولید این جلبک مهم ارزیابی شود.

بیشترین میزان تراکم یاخته‌ای طی این مطالعه در تیمار ۵ به دست آمد (۳۵۰۰۰۰ cell/mL) که میزان شوری ppt ۱۲/۵ بود. در مطالعه Ghaeni (۲۰۰۸) بیشترین تراکم سلولی (۴۰۰۰۰۰ cell/mL) در شوری ppt ۱۵ حاصل شد. در کشت ریزجلبک اسپیرولینا، عوامل متعددی بر رشد یاخته‌های آن تأثیر می‌گذارند. مواد معدنی متعدد از جمله فسفات پتاسیم، سولفات پتاسیم، سدیم (کربنات سدیم، بی کربنات سدیم، نیترات سدیم و کلرید سدیم)، فسفر (فسفات پتاسیم)، کلسیم (کلرید کلسیم)، منیزیم (سولفات منیزیم هیدراته)، آهن (سولفات آهن هیدراته) و EDTA، برای رشد اسپیرولینا لازم است و باید در محیط کشت وجود داشته باشد (Batista et al. 2019). در مطالعه حاضر، برای همه تیمارها از محیط کشت زاروک استفاده شد. علاوه بر این، محیط‌های تهیه شده برای کشت جلبک حاوی این مواد مغذی بودند که در جداول ۳ و ۴ مقادیر آنها ارائه شده است. وجود و دسترسی به مواد مغذی، به خصوص نیتروژن و کربن، از عوامل مهمی است که بر رشد یاخته ای و ترکیب بیوشیمیایی یاخته‌های ریزجلبک تأثیر می‌گذارد. ریزجلبک‌ها و موجودات زنده فوتوتروف ظرفیت درون سلول یاخته‌ای قابل‌توجهی برای ذخیره نیتروژن به صورت نیتروژن محلول و مولکول‌های آلی دارند و از این طریق میزان رشد و نمو بر اساس مقدار جذب نیتروژن تنظیم و محدود شود (Chow, 2012). یکی از دلایل کم بودن رشد جلبکی در آب ژرف که تقریباً یک سوم تیمارهای ۴ و ۵ (حاوی نمک دریاچه ارومیه) بود را می‌توان کمبود نیترات

آن قلمداد کرد. نیترات یک منبع نیتروژنی رایج و معمول برای کشت ریزجلبک‌هاست، به طوری که ریزجلبک‌ها می‌توانند نیتـرات مـوجود در محیط را در زی‌توده خود تغلیظ کنند (Martinez et al. 2017). بجز نیترات، مقدار مورد نیاز دیگر مواد مغذی از طریق محیط کشت زاروک و نیز ترکیب آب قابل تأمین بود. بنابراین، نمی‌توان تفاوت در میزان رشد و کم بودن آن در تیمارهای آب ژرف را به مواد مغذی نسبت داد. به نظر می‌رسد آب ژرف ویژگی‌های خاصی از نظر تعادل یونی و برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی داراست که رشد جلبک اسپیرولینا در آن کمتر از آب معمولی است. علاوه بر این، در تیمارهای آب ژرف به خصوص هر چه مقدار آن بیشتر بود (مانند تیمار یک)، رسوب زیادی شکل می‌گرفت. میزان رسوب در طی دوره به تدریج افزایش می‌یافت. این رسوبات علاوه بر اینکه می‌تواند مواد مغذی را از دسترس جلبک خارج کند، با رسوب روی جداره ظروف کشت، میزان نفوذ نور را نیز به شدت کاهش می‌دهد. رسوبات حتی هوادهی را دچار مشکل می‌کرد و لازم بود به طور مرتب راه مسدود شده هوادهی باز شود. همین موارد را می‌توان دلیل کاهش رشد اسپیرولینا در تیمارهای آب ژرف دانست.

یکی از فراسنجه‌هایی که می‌تواند فعالیت سیانوباکترها را محدود کند، pH است که بر رشد فیزیولوژیک و میزان تولید زی‌توده این جلبک‌ها تأثیر دارد. میزان بهینه pH برای اسپیرولینا ۹ تا ۱۰ (Fagiri et al. 2013)، ۹/۵ تا ۱۰ (Shi et al. 2016) و ۹/۵ تا ۱۰/۵ (Richmond, 1992) بیان شده است. در این مطالعه، مقدار pH از ابتدا تا انتهای دوره روند افزایشی داشت و در محدوده ۱۰/۸۵-۹/۷۱ قرار داشت. با افزایش pH میزان رشد افزایش پیدا می‌کند و از یک حد معین به بعد رشد کاهش می‌یابد (Shi et al. 2016). در مطالعه حاضر، هر چند روند کاهش رشد با تغییرات pH مشاهده نشد ولی احتمالاً نسبت به حالت بهینه رشد، تأثیر منفی pH بیشتر از ۱۰ اتفاق افتاده است. در مطالعه Sheikhi Nejad و همکاران (۲۰۱۵) مقدار pH در طی دوره کشت در هم زدن با چرخش ظرف کشت، به طور مداوم افزایش پیدا کرد، ولی در کشت های هم زدن با هوا pH از روز هفتم تغییر نکرد و در حدد ۱۰/۱ ثابت ماند. Panedy و همکـــاران (۲۰۱۰) دامنـه بـهینه pH بـرای رشـد *S. maxima* را ۹ تا ۹/۵ تعیین کردند و بیان داشتند در این دامنه ۱/۴۶ گرم در لیتر زی‌توده طی ۲۵ روز حاصل می‌شود. در مطالعه Kumaresan و همکاران (۲۰۲۰) pH بهینه برای رشد گونه *S. platensis* ۹/۵ بود و بیشتر زی‌توده (۲/۵۶ گرم در لیتر) در این pH به‌دست آمد.

همان طور که نشان داده شد، جلبک‌ها در تیمار آب ژرف از ابتدای دوره دچار شـکستگی و خرد شـدگی زیادی می‌شدند و ساختار ظاهری آنها نیز به‌تدریج از حالت مارپیچی خارج و تمایل به خطی بودن پیدا می‌کرد. مشابه این وضعیت، در مطالعه Ghaeni (۲۰۰۸) در تیمار با شوری ۴۰ ppt فاصله پیچ‌های اسپیرولینا زیاد و درازای یاخته‌ها بلندتر و قطر مارپیچ کمتر از آب های کم شور و یا شیرین بود. ساختار اسپیرولینا توسط شدت نور و دما تنظیم می‌شود. نور قوی و دمای بیشتر ممکن است ساختار مارپیچی را فشرده‌تر کند و حالت مارپیچی را کاهش دهد و بالعکس (Vonshak et al. 2000). در این مطالعه شدت نور و دما بین تیمارها یکسان بود، ولی میزان و نـوع شوری تفاوت داشت. شوری یکی از فراسنجه‌های اصلی مؤثر بر رشد ریزجلبکهای دریایی است و با تغییر شوری، تغییرات در ریخت شناسی و فیزیولوژی این جلبک‌ها اتفاق می‌افتد (Kumaresan et al. 2020). بنابراین، تفاوت در شکل اسپرولینا را می‌توان به ترکیب آب نسبت داد، به طوری که در تیمار آب ژرف حالت مارپیچی اسپیرولینا کم شده و کشیده می‌شود که کاملاً برعکس تیمار حاوی آب معمولی است. علاوه بر این، شوری از فراسنجه‌های بسیار مؤثر بر میزان رشد است. Cassan و همکاران (۲۰۱۱) و Kumaresan و همکاران (۲۰۲۰) شوری بهینه (NaCl) برای گونه *S. platensis* را به ترتیب ۷/۸۱ و ۷/۱ گرم در لیتر تعیین کردند.

نتیجه گیری نهایی

بر اساس نتایج این مطالعه، فراسنجه‌های رشد اسپیرولینا در آب ژرف نسبت به آب معمولی کمتر و ضعیف‌تر بود. بنابراین، پرورش جلبک اسپیرولینا در آب چاه ژرف شماره یک سیستان با کیفیت مشاهده شده در این مطالعه، قابل توصیه نیست. لازم است مطالعاتی در راستای اصلاح و تغییر ترکیب آب ژرف انجام شود تا کارایی رشد اسپیرولینا در آن بهبود یابد.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از طرح پژوهشی با شماره PR-RIOZ-1401-9571-1 می‌باشد و هزینه انجام آن توسط پژوهشگاه زابل تأمین شده است.

منابع

Alonso, D.L., Maroto, F.G. 2000. Plants as 'chemical factories' for the production of polyunsaturated fatty acids. Biotechnology Advances 18: 481-497. doi: 10.1016/S0734-9750(00)00048-3.

AOAC. 1990. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists Inc., Washington DC, USA. 1263 p.

Batista, A.P., Niccolai, A., Bursic, I., Sousa, I., Raymundo, A., Rodolfi, L., Biondi, N., Tredici, M.R. 2019. Microalgae as functional ingredients in savory food products: application to wheat crackers. Foods 8: 611-630. doi: 10.3390/foods8120611.

Chojnacka, K., Noworyta, A. 2004. Evaluation of *Spirulina* sp. growth in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures. Enzyme and Microbial Technology 34: 461-465. doi: 10.1016/j.enzmictec.2003.12.002.

Chow, F. 2012. Nitrate assimilation: the role of in vitro nitrate reductase assay as nutritional predictor. In: Agricultural and Biological Sciences. Applied photosynthesis, In Tech, 105-120.

Colla, L.M., Furlong, E.B., Costa, J.A. 2007. Antioxidant properties of *Spirulina* (*Arthospira*) *platensis* cultivated under different temperatures and nitrogen regimes. Brazilian Archives of Biology and Technology 50: 161-167. doi: 10.1590/S1516-89132007000100020.

Fagiri, Y.M.A., Salleh, A., El-Nagerabi, S.A.F. 2013. Influence of chemical and environmental factors on the growth performance of *Spirulina platensis* strain SZ100. Journal of Algal Biomass Utilization 4: 7-15.

Ghaeni, M. 2008. The effect of live mass of spirulina and its dry product on biological indicators of green tiger shrimp larvae (*Penaeus semisulcatus*). Doctoral Dissertation of Islamic Azad University, Science and Research Unit, 107 p.

Gharibi, G., Javaheri Baboli, M., Khosrow Aein, J. 2014. Study of *Spirulina platensis* meal effect in diet for growth and survival of *Litopenaeus vannamei* larvae. Journal of Marine Science and Technology 12: 25-34. (In Persian).

Gharibi, Gh., Ezhdehakosh, A., Dashtian Nasab, A., Yeganeh, V., Ghavampour, A. 2019. Mass production of *Spirulina platensis* microalgae for use in shrimp food. New Technologies in Aquaculture Development 13: 49-56. (In Persian).

Habib, M., Ahsan, B., Parvin, M.A., Huntington, T., Hasan, M.R. 2008. A review on culture, production and use of *Spirulina* as food for humans and feed for domestic animals and fish. FAO Fisheries and Aquaculture Circular, Report No. 1034. Rome, Italy.

Hopkins, T.C., Sullivan Graham, E.J., Schwilling, J., Ingram, S., Gómez, S.M. Schuler, A.J. 2019. Effects of salinity and nitrogen source on growth and lipid production for a wild algal polyculture in produced water media. Algal Research 38: 101406. doi: 10.1016/j.algal.2018.101406.

James, C.M., Al-Khars, A.M. 1986. Studies on the production of planktonic copepods for aquaculture. Syllogeus 58: 333-340.

Jangi, M., Eidi S., Ghodrati Azadi, H. 2019. Effects of Iranian *Spirulina platensis* extract on *Microsporum canis* isolates. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine 24: 10-17. (In Persian).

Jin, E.S., Feth, B. Melis, A. 2003. A mutant of the green algae *Dunaliella salina* constitutively accumulates zeaxanthin under all growth conditions. Biotechnology and Bioengineering 81: 115-124. doi: 10.1002/bit.10459.

Kumaresan, G., Sivakumar, K., Fradlin Singh, R.L. 2020. Effect of abiotic

factors on the growth of *Spirulina platensis* strains. Plant Archives 20: 4259-4263.

Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350-382. doi: 10.1016/0076-6879(87)48036-1.

Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions 11: 591-592. doi: 10.1042/bst0110591.

Martinez, A.T., Ruiz-Dueñas, F.J., Camarero, S., Serrano, A., Linde, D., Lund, H., Vind, J., Tovborg, M., Herold-Majumdar, O. 2017. Oxidoreductases on their way to industrial biotransformations. Biotechnology Advances 35: 815-831. doi: 10.1016/j.biotechadv.2017.06.003.

Mirón, A.S., García, M.C.C., Gómez, A.C., Camacho, F.G., Grima, E.M., Chisti, Y. 2003. Shear stress tolerance and biochemical characterization of *Phaeodactylum tricornutum* in quasi steady-state continuous culture in outdoor photobioreactors. Biochemical Engineering Journal 16: 287-297. doi: 10.1016/S1369-703X(03)00072-X.

Mortazavi, M.H., Ganjkhanlou. M., Zali, A., Nematallahi. M.A. 2020. Cultivation possibility of *Spirulina platensis* algae in Persian Gulf water. Journal of Aquaculture Sciences 7: 189-194.

Omori, M. Ikeda, T. 1984. Methods in Zooplankton Ecology. John Wiley and Sons, New York, USA, 332 p.

Pandey, J.P., Tiwari, A., Mishra, R.M. 2010. Evaluation of biomass production of *Spirulina maxima* on different reported media. Journal of Algal Biomass Utilization 1: 70-81.

Patel, S., Goyal, A. 2013. Current and prospective insights on food and pharmaceutical applications of *Spirulina*. Current Trends in Biotechnology and Pharmacy 7: 696-707.

Rasouli, Z., Parsa, M. 2019. Feasibility and optimization of pigments production in *Spirulina platensis* mixotrophic culture. Journal of Marine Biology 11: 37-50. (In Persian).

Ravelonandro P.H., Ratianarivo, D.H., Joannis-Cassan, C. 2011. Improvement of the growth of Arthrospira *Spirulina platensis* from Toliara (Madagascar): effect of agitation, salinity and CO2 addition. Food and Bioproducts Processing 89: 209-216. doi: 10.1016/j.fbp.2010.04.009.

Richmond, A. 1992. Mass culture of cyanobacteria. In: Mann, N., Carr, N., Eds. *Photosynthetic prokaryotes.* 2nd ed. Plenum Press, New York and London, 181-210.

Saleh, A.M., Dhar, D.W., Singh, P.K. 2011. Comparative pigment profiles of different *Spirulina* strains. Research in Biotechnology 2: 67-74.

Shabani, M., Sayad, M.H., Rezaie, M. 2016. Spirulina, a new way to remove greenhouse gases in the arid and semiarid climate of Iran. Modares Journal of Biotechnology 7: 20-30. (In Persian).

Sharma, G., Kumar, M., Ali, M., Jasuja, N. 2014. Effect of carbon content, salinity and pH on *Spirulina platensis* for phycocyanin, allophycocyanin and phycoerythrin accumulation. Journal of Microbial & Biochemical Technology 6: 202-206. doi: 10.4172/1948-5948.1000144.

Sheikhi Nejad, A., Lababpour, A., Moazami, N. 2015. Increasing cyanobacteria Spirulina production with mixing and chemical composition of culture medium. 28: 344-353. (In Persian).

Shi, W., Li, S., Li, G., Wang, W., Chen, Q., Li, Y., Ling, X. 2016. Investigation of main factors affecting the growth rate of *Spirulina*. Optik 127: 6688-6694. doi: 10.1016/j.ijleo.2016.04.125.

Tavakoli, M., Vali Aftari, R. 2018. In vitro effects of dates waste on phycocyanin production by Spirulina algae and

evaluation of antioxidant activity. Journal of food Science and Technology (Iran) 15: 25-31. (In Persian).

Vonshak, A., Cheung, S.M., Chen, F. 2000. Mixotrophic growth modifies the response of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* (Cyanobacteria) cells to light. Journal of Phycology 36: 675-679. doi: 10.1046/j.1529-8817.2000.99198.x.

Walter, A., Carvalho, J.C.D., Soccol, V.T., Faria, A.B.B.D., Ghiggi, V., Soccol, C.R. 2011. Study of phycocyanin production from *Spirulina platensis* under different light spectra. Brazilian Archives of Biology and Technology 54: 675-682. doi: 10.1590/S1516-89132011000400005.