بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد چهارم، شماره اول، بهار ۱۳۹٤
http://japu.gau.ac.ir

# اثرات سطوح مختلف نیترات بر رشد و محتوای اسید چرب دو گونه از ریز جلبک‌های آب شیرین (*Desmodesmus cunaetus* و *Haematococcus* sp.)

* مهدی نادری‌فارسانی[1]، سعید مشکینی[2]، رامین مناف‌فر[2] و مهدی بنایی[3]
[1]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه ارومیه، [2]استادیار پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی، دانشگاه ارومیه، [3]استادیار گروه شیلات، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء بهبهان
تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۲٦ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۸

## چکیده

نیتروژن به‌عنوان یکی از نوترینت‌های غذایی مهم جلبک‌های تک‌سلولی است که تغییر در غلظت آن تأثیر معنی‌داری در میزان رشد و ارزش غذایی جلبک‌های تک سلولی می‌گذارد. در این مطالعه تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات (۰، ۰/٦۲، ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ میلی‌مولار نیترات) بر میزان رشد و محتوای اسید چرب دو ریز جلبک تک سلولی هماتوکوکوس (*Haematococcus* sp.) و دسمودسموس کوناتئوس (*Desmodesmus cunaetus*) در یک دوره پرورشی ۱۲ روزه در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد در محیط کشت BM (Bold Medium) در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفت. بالاترین تراکم سلول جلبکی (۱۰^۵×۱۸/۱۱ سلول در میلی‌لیتر) و نرخ رشد (۰/۰۹±۰/۲۲ در روز) در هماتوکوکوس در غلظت ۲/۵ میلی‌مولار نیترات و بالاترین تراکم سلول جلبکی (۱۰^۵×۳٦/۰۰ سلول در میلی‌لیتر) و نرخ رشد (۰/۰۹±۰/۳۱ در روز) در دسمودسموس کوناتئوس در غلظت ۱/۲۵ میلی‌مولار نیترات مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نیترات میزان اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع (Polyunsaturated fatty acid) PUFA افزایش و اسیدهای چرب اشباع (Saturated fatty acids) SFA کاهش یافت. در مقابل با کاهش غلظت نیترات میزان اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع کاهش و اسیدهای چرب اشباع افزایش می‌یابد.

***واژه‌های کلیدی:*** اسیدهای چرب، نرخ رشد ویژه، نیترات

*مسئول مکاتبه: me.nf1987@yahoo.com

**مقدمه**

جلبک‌ها گروه بزرگی از موجودات ساده هستند که نقش مهمی در اکوسیستم‌های آبی و زنجیره‌های غذایی ایفا می‌کنند. تثبیت نیتروژن، فسفر و کربن از مهمترین نقش‌های طبیعی و ذاتی این گروه از موجودات است (مورنو- گاردیو، ۲۰۰۸). هدف اولیه پرورش ریزجلبک‌ها تأمین غذای زئوپلانکتون‌ها و لارو آبزیان می‌باشد. به‌علاوه، این موجودات میکروسکوپی به‌دلیل دارا بودن ترکیبات با ارزش همانند: بتاکاروتن، آستاگزانتین، ویتامین و اسیدهای چرب درصنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی و غذایی کاربرد فراوانی یافته‌اند (اسپکتوروا و همکاران، ١٩٨٦؛ برووویتزکا، ۱۹۹۷؛ برون و همکاران، ۱۹۹۹؛ مایزلز و همکاران، ۲۰۰۳). امروزه از جدیدترین کاربردهای جلبک‌ها استفاده از آن‌ها برای تولید سوخت زیستی (Biodiesel) و تولید آنتی‌بیوتیک‌ها است (راتلدگ و کوهن، ۲۰۰۸).

رشد و ارزش غذایی ریزجلبک‌ها تحت تأثیر عوامل مختلفی همانند غلظت مواد مغذی و شرایط فیزیکوشیمیایی قرار دارد (سیف‌آبادی و همکاران، ۲۰۱۱). نیتروژن از مهم‌ترین مواد مغذی موردنیاز است که نقش مهمی را در رشد و تولید ترکیباتی همانند: اسیدهای آمینه، اسید نوکلئیک و کلروفیل ایفا می‌کند. بنابراین تغییر در غلظت نیتروژن تغییراتی را در میزان رشد و وضعیت بیوشیمیایی ریزجلبک به همراه دارد. ریزجلبک‌ها پاسخ‌های فیزیولوژیکی متفاوتی را به غلظت‌های مختلف نیتروژن نشان می‌دهند. به‌طور مثال در شرایط کمبود نیتروژن ترکیبات غنی از کربن همانند چربی‌ها و پلی‌ساکاریدها تجمع پیدا کرده و میزان پروتئین‌ها کاهش می‌یابد (لی و همکاران، ۲۰۰۸؛ ملیندا و همکاران، ۲۰۱۱؛ ریچت و همکاران، ۲۰۱۲). علاوه‌بر این، غلظت‌های متفاوت نیتروژن منجربه تغییراتی در میزان اسیدهای چرب می‌شود. به‌عنوان مثال، کاهش غلظت نیتروژن، میزان اسیدهای چرب اشباع و اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه را افزایش و محتوای اسیدهای چرب با چند پیوند دو گانه غیراشباع را کاهش می‌دهد (هالسی و همکاران، ۲۰۱۰؛ ریسمانی- یزدی و همکاران، ۲۰۱۲) بنابراین به‌منظور تولید محصولاتی با ارزش غذایی بالا خصوصا از نظر اسیدهای چرب می‌توان از استرس مواد غذایی (نیتروژن، فسفر و آهن) استفاده کرد (خوزین و کوهن، ٢٠٠٦؛ لی و همکاران، ۲۰۰۸؛ اردق و همکاران، ۲۰۱۱). تغییر در غلظت نیتروژن موثرترین و کم‌هزینه‌ترین راهکار برای تغییر میزان اسیدهای چرب می‌باشد (چیستی، ٢٠٠٦؛ سینگ و همکاران، ۲۰۱۱) پراتمویت و همکاران (۲۰۰۵) گزارش دادند که ارزش غذایی جلبک‌های تک سلولی به‌ویژه اسیدهای چرب به شدت تابع محیط کشت و مرحله رشد تصاعدی می‌باشد. هماتوکوکوس یک ریزجلبک تک سلولی تاژک‌دار که

به‌صورت آزاد و شناور در سطح آب‌های شیرین مرداب‌ها و دریاچه‌ها زندگی می‌کند. هماتوکوکوس به‌دلیل تولید آنتی اکسیدان قوی به نام آستاگزانتین به‌صورت متراکم پرورش داده می‌شود و به‌عنوان رنگدانه‌های غذایی در جیره غذایی آبزیان و صنایع دارویی کاربرد دارد (لرنتز و سیویسکی، ۲۰۰۰). دسمودسموس جلبک سبز تک سلولی متعلق به خانواده سندسماسه (*Scenedesmaceae*) و از رده کلروفیسا (*Chlorophyceae*) می‌باشد که در زنجیره غذایی و در تغذیه زئوپلانکتون‌ها و ماهی‌ها اهمیت دارد. همچنین از این ریزجلبک به‌عنوان شاخص زیستی برای مطالعات اکولوژیکی، فیزیولوژیکی و میزان مواد مغذی آب‌ها استفاده می‌شود (هگوالد، ۱۹۷۷). بنابراین با توجه به اهمیت اقتصادی این جلبک‌ها در زمینه‌های غذایی، دارویی، ویتامینی و غیره، ضرورت ایجاد امکان رشد سریعتر و ارزان‌تر جلبک‌ها همواره وجود دارد. از این‌رو با تغییر بعضی از عناصر غذایی می‌توان رشد و تراکم سلولی و کیفیت ریزجلبک‌ها را از نظر ارزش غذایی به حداکثر خود به‌خصوص در مقادیر انبوه رساند. بنابراین می‌بایست مطالعاتی در زمینه تأثیر میزان این عناصر بر رشد و ترکیبات بدنی واریته‌ها و گونه‌های بومی کشورمان صورت گیرد تا بتوان گامی در جهت خود کفایی و رفع مشکلات آبزی‌پروری کشور برداشت. به‌همین خاطر در این تحقیق، تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات بر روی دو گونه از ریزجلبک‌های آب شیرین آذربایجان غربی مورد مطالعه قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

ریزجلبک‌های هماتوکوکوس و دسمودسموس کوناتئوس از پژوهشکده آرتمیا و آبزیان دانشگاه ارومیه تهیه شدند. پرورش جلبک‌ها در ارلن مایرهای ۵۰۰ میلی‌لیتر حاوی محیط کشت BM (کوبایوشی و همکاران، ۱۹۹۱) نمونه‌های جلبکی در pH برابر ۷/۵–۷ و در میزان روشنایی ۱۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه، با روشنایی مداوم که توسط لامپ فلورسنت ایجاد شده بود و در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. برای جبران آب تبخیر شده هر سه روز مقداری محیط کشت به محیط اضافه گردید. نمونه‌های فوق پس از رسیدن به مرحله رشد تصاعدی، سانتریفیوژ و بیومس جلبک تک‌سلولی از محیط کشت جدا شد و به محیط‌های کشت جدید با غلظت‌های مختلف نیترات (۰، ۰/۶۲، ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ میلی‌مولار نیترات) که از قبل تهیه شده بودند (برای تهیه تیمارهای مختلف نیترات از نیترات سدیم استفاده گردید) منتقل شدند، به طوری‌که غلظت اولیه آزمایش در هر ارلن به $۳/۲\times۱۰^{۵}$ سلول در هر میلی‌لیتر رسید. دوره آزمایش ۱۲ روز در نظر گرفته شد. شرایط پرورش جلبک

به روش شرح داده شده در مرحله قبل تنظیم گردید و در طول دوره استرس میزان رشد جلبک‌ها به‌صورت روزانه و با استفاده از لام هموسیتومتری و با روش مارتینز و همکاران (٢٠٠٠) بررسی شد. میزان رشد ویژه با استفاده از رابطه گیلارد، (١٩٧٣) $\mu(day^{-1}) = (Ln(N_2-N_1)/\ \Delta t$ محاسبه شد که در آن $N_2$ تعداد سلول‌های جلبک در انتهای آزمایش و $N_1$ تعداد سلول‌های جلبک در ابتدای آزمایش و $\Delta t$ مدت زمان انجام آزمایش است. زمان دو برابر شدن (DT) ریزجلبک‌ها با استفاده از رابطه $DT= Ln\ 2/\mu$ محاسبه شد (آموری و ایکیدا، ١٩٨٤).

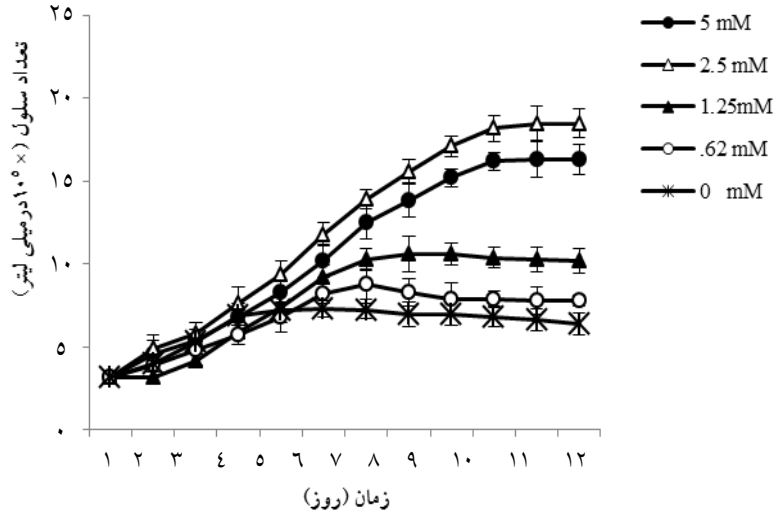
**بررسی اسیدهای چرب نمونه‌های جلبکی:** برای بررسی اسیدهای چرب، ابتدا ٠/٥ گرم از نمونه جلبکی در لوله‌های شیشه‌ای درب‌دار مخصوص ریخته، به هرکدام از آن‌ها پنج میلی‌لیتر محلول متانول/ تولوئن (با نسبت حجمی ٢:٣) و ٠/١ میلی‌لیتر محلول استاندارد داخلی (حاوی چرب حل شده در ایزواکتان ((N-٦)٢:٢٢) اضافه گردید. سپس پنج میلی‌لیتر مخلوط تازه تهیه شده استیل‌کلراید/ متانول (با نسبت حجمی ١:٢٠) به‌عنوان عامل استریفیکاسیون اضافه شد. درب ظروف محکم بسته و مواد مخلوط شدند و در حمام آبی ١٠٠ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک ساعت جوشانده شدند و هر ده دقیقه یکبار تکان داده شدند. بعد از اینکه لوله‌ها سردشدند به هر یک پنج میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر شده و پنج میلی‌لیتر هگزان اضافه گردید. لوله‌ها به‌مدّت پنج دقیقه با دور ٣٠٠٠g سانتریفیوژ شده و فاز بالایی به لوله‌های جدید منتقل شدند و در نهایت از طریق فیلتر سولفات سدیم آبگیری و به بالن‌های گلابی‌شکل انتقال داده شدند و توسط روتاتور در دمای ٣٥ درجه سانتی‌گراد تغلیظ گردیدند. سپس در ٠/٥ میلی‌لیتر ایزواکتان حل شدند و به شیشه‌های کوچکی انتقال داده شدند و تا زمان تزریق در فریزر نگهداری شدند. (مدل دستگاه Agilent 7890A، نام ستون Agilcnt j8wDB-225Ms، دمای شروع ١٠٠ درجه سانتی‌گراد و دمای پایانی ٢٢٠ درجه سانتی‌گراد و سرعت ٣ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه) در نهایت درصد هر اسید چرب نسبت به کل اسیدهای چرب هر نمونه با اندازه‌گیری سطح زیر منحنی‌های هر اسید چرب به‌دست آمد (لپاگی و روی، ١٩٨٤).

آنالیز آماری داده با تجزیه آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) محاسبه شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن در سطح معنی‌دار ٥ درصد استفاده شد آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ١٨ انجام گردید.

## نتایج

نتایج آنالیز واریانس یک طرفه، تأثیر تیمارهای مختلف نیترات بر تراکم سلول، میزان رشد ویژه و زمان دو برابر شدن این دو ریز جلبک در جدول‌های ۱ و ۲ و شکل‌های ۱ و ۲ ارایه شده است. نتایج نشان داد که غلظت مختلف نیترات تأثیر معنی‌داری ($P<0/05$) بر فاکتورهای ذکر شده دارد.

بیشینه میانگین تراکم سلولی ($18/11\times10^5\pm1/0\times10^5$ سلول در هر میلی‌لیتر) در ریز جلبک هماتوکوکوس در ۲/۵ میلی‌مولار نیترات به‌دست آمد. میانگین تراکم سلولی در تیمار ۱/۲۵ میلی‌مولار به پایین کاهش یافت و در تیمار فاقد نیترات به کمترین مقدار خود رسید ($7/20\pm0/44\times10^5$ سلول در هر میلی‌لیتر) که نشان‌دهنده رشد منفی زی توده جلبکی در این غلظت می‌باشد (شکل ۱). نتایج نشان داد که بیشترین میزان رشد ویژه (۰/۰۹±۰/۲۲ در روز) در تیمار ۲/۵ میلی‌مولار نیترات و بیشترین زمان دوبرابر شدن جمعیت (۷/۷ در روز) در تیمار فاقد نیترات به‌دست آمد (جدول ۱).



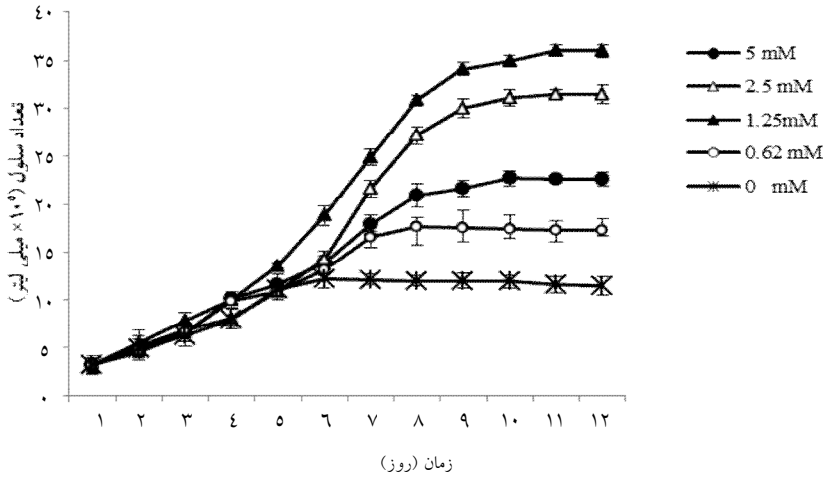

**شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف نیترات بر تراکم سلولی هماتوکوکوس در روزهای مختلف**

**جدول ١- میانگین تراکم سلولی، میزان رشد ویژه و زمان دو برابر شدن جمعیت ریزجلبک هماتوکوکوس کشت داده شده در سطوح مختلف نیترات (٠، ٠/٦٢، ١/٢٥، ٢/٥ و ٥ میلی‌مولار نیترات)**

| غلظت نیترات (میلی‌مولار) | حداکثر تراکم سلولی (تعداد سلول در هر میلی‌لیتر ×$10^5$) | نرخ رشد ویژه (در روز) | زمان دو برابر شدن (روز) |
|---|---|---|---|
| ٠ | ٧/٢٠ ± ٠/٤٤ $^{d}$ | ٠/٠٩ ± ٠/٠١ $^{c}$ | ٧/٧٠ ± ١/٠٠$^{a}$ |
| ٥ | ١٦/٢١ ± ٠/٦٨ $^{b}$ | ٠/٢ ± ٠/٠٦ $^{a}$ | ٣/٤٥ ± ٠/٩٠$^{c}$ |
| ٢/٥ | ١٨/١١ ± ١/٠١ $^{a}$ | ٠/٢٢ ± ٠/٠٩$^{a}$ | ٣/٠١ ± ٠/٨٦$^{c}$ |
| ١/٢٥ | ١٠/٦١ ± ٠/٩٢ $^{c}$ | ٠/١٣ ± ٠/٠٥$^{b}$ | ٥/٣٣ ± ٠/٨٤$^{b}$ |
| ٠/٦٢ | ٨/١١ ± ٠/٨٦$^{d}$ | ٠/١١ ± ٠/٠٧$^{bc}$ | ٦/٣٠ ± ٠/٨٤$^{b}$ |

بیشینه میانگین تراکم سلولی ($10^5$×٠/٩١±٣٦/٠٠ سلول در هر میلی‌لیتر) ریز جلبک دسمودسموس کوناتئوس مربوط به تیمار ١/٢٥ میلی‌مولار نیترات بود. تراکم سلولی در تیمار بیشینه نیترات (٥ میلی‌مولار نیترات) و غلظت پایین نیترات (٠/٦٢ و ٠ میلی‌مولار نیترات) کاهش یافت که نمایانگر رشد منفی زی‌توده جلبکی در این غلظت می‌باشد.

نتایج نشان داد که بیشترین میزان رشد ویژه (٠/٠٩±٠/٣١ در روز) و کوتاهترین زمان دو برابر شدن جمعیت (٢/٢٣ در روز) در تیمار ١/٢٥ میلی‌مولار نیترات به‌دست آمد. همچنین کاهش غلظت نیترات از ٠/٦٢ تا ٠ میلی‌مولار نیترات باعث طولانی شدن زمان دو برابر شدن توده جلبکی شد.




**شکل ٢- تأثیر سطوح مختلف نیترات بر تراکم سلولی دسمودسموس کوناتئوس در روزهای مختلف**

**جدول ۲- میانگین تراکم سلولی، میزان رشد ویژه و زمان دو برابر شدن جمعیت ریزجلبک دسمودسموس کوناتئوس کشت داده شده درسطوح مختلف نیترات (۰، ۰/۶۲، ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ میلی‌مولار نیترات)**

| غلظت نیترات (میلی‌مولار) | حداکثر تراکم سلولی (تعداد سلول در هر میلی‌لیتر ×۱۰^۶) | نرخ رشد ویژه (در روز) | زمان دو برابر شدن (روز) |
|---|---|---|---|
| ۰ | ۱۲/۱۱ ± ۰/۰۴۷$^{e}$ | ۰/۱۷ ± ۰/۰۶$^{e}$ | ۴/۰۷ ± ۰/۵۷$^{a}$ |
| ۵ | ۲۲/۷۲ ± ۰/۸۷$^{c}$ | ۰/۲۴ ± ۰/۰۵$^{c}$ | ۲/۸۸ ± ۰/۳۶$^{ab}$ |
| ۲/۵ | ۳۱/۵۱ ± ۰/۶۸$^{b}$ | ۰/۲۸ ± ۰/۱$^{b}$ | ۲/۴۷ ± ۰/۲۸$^{b}$ |
| ۱/۲۵ | ۳۶/۰۰ ± ۰/۹۱$^{a}$ | ۰/۳۱ ± ۰/۰۹$^{a}$ | ۲/۲۳ ± ۰/۲۴$^{b}$ |
| ۰/۶۲ | ۱۷/۵۰ ± ۰/۶۶$^{d}$ | ۰/۲۱ ± ۰/۰۸$^{d}$ | ۳/۳۱ ± ۰/۲۱$^{ab}$ |

**نتایج آنالیز اسیدهای چرب:** نتایج مربوط به تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات بر محتوای اسید چرب جلبک هماتوکوکوس نشان داد که کاهش غلظت نیترات موجب افزایش میزان اسیدهای چرب اشباع و کاهش اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع می‌شود. به طوری‌که بیشترین میزان اسیدهای چرب اشباع (۰/۶۶±۳۲/۶۴ درصد) و کمترین میزان اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع (۱/۱۲±۱۹/۱۹ درصد) در تیمار فاقد نیترات مشاهده شد. بالعکس، افزایش غلظت نیترات منجر به بالا رفتن میزان اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع نسبت به اسیدهای چرب اشباع شد. در غلظت ۵ میلی‌مولار نیترات بیشترین میزان اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع (۰/۲۹±۲۷/۶۴ درصد) و کمترین میزان اسیدهای چرب اشباع (۰/۷۶±۲۴/۳۲ درصد) ثبت گردید. این در حالی است که بیشترین میزان اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه (Monounsaturated fatty acid) (۰/۳۳±۲۱/۱۹ درصد) در غلظت ۱/۲۵ میلی‌مولار نیترات به‌دست آمد.

بیشینه میانگین اسیدهای چرب اشباع (۰/۸۶±۳۱/۵۴ درصد) و اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه (۱/۱۲±۲۳/۰ درصد) در جلبک دسمودسموس کوناتئوس در تیمار فاقد نیترات مشاهده شد. این در حالی است که در غلظت‌های بالا میزان اسیدهای چرب اشباع و اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه کاهش و میزان اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع افزایش پیدا کرد به طوری‌که بیشترین میزان اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع (۰/۱۹±۲۵/۳۱ درصد) در غلظت ۵ میلی‌مولار نیترات به‌دست آمد.

**جدول ٣- درصد کل اسیدهای چرب جلبک تک سلولی ریزجلبک هماتوکوکوس کشت داده شده در سطوح مختلف نیترات (٠، ٠/٦٢، ١/٢٥، ٢/٥ و ٥ میلی‌مولار نیترات)**

| اسید چرپ | ٠ میلی‌مولار | ٠/٦٢ میلی‌مولار | ١/٢٥ میلی‌مولار | ٢/٥ میلی‌مولار | ٥ میلی‌مولار |
|---|---|---|---|---|---|
| C١٤:٠ | ٠/٧٢ ± ٠/٠٨$^{b}$ | ٠/٥٤ ± ٠/٠٩$^{b}$ | ١/١٤ ± ٠/٠٦$^{a}$ | ٠/٥٧ ± ٠/٠١$^{b}$ | ٠/٤٩ ± ٠/٠٢$^{b}$ |
| C١٦:٠ | ٢٨/٠١ ± ١/٣٩$^{a}$ | ٢٧/١١ ± ٠/٢٢$^{a}$ | ٢٤/٣٢ ± ٠/٣٩$^{b}$ | ٢٢/٥١ ± ٠/٤٢$^{c}$ | ٢١/٣٨ ± ٠/٢١$^{a}$ |
| C١٨:٠ | ١/٢١ ± ٠/٠٣$^{a}$ | ٢/٠٣ ± ٠/٤٠$^{a}$ | ١/١٢ ± ٠/١٦$^{a}$ | ١/٤١ ± ٠/٠٩$^{a}$ | ١/٤١ ±٠/١٣$^{a}$ |
| C٢٠:٠ | ١/٠٧ ± ٠/٦٢$^{a}$ | ٠/٦٢ ± ٠/٠٢$^{ab}$ | ٠/٣٣ ± ٠/٠٣$^{b}$ | ٠/٢٢ ± ٠/٦٣$^{b}$ | ٠/٤٢ ± ٠/٠٥$^{b}$ |
| C٢٢:٠ | ٠/٤٨ ± ٠/٠٧$^{a}$ | ٠/١٨ ± ٠/٠٣$^{c}$ | ٠/٣٧± ٠/١٢$^{bc}$ | ٠/٢٣ ± ٠/٠٧$^{c}$ | ٠/٢٨ ±٠/٠٢$^{bc}$ |
| C٢٤:٠ | ١/١٥ ± ٠/٤٢$^{a}$ | ٠/٤٣ ± ٠/٠٧$^{b}$ | ٠/٢٧ ± ٠/٠٧$^{b}$ | ٠/١٢ ± ٠/٠٦$^{b}$ | ٠/٣٧ ± ٠/٠٢$^{b}$ |
| SFA | ٣٢/٦٤ ± ٠/٦٦$^{a}$ | ٣٠/٨٨± ١/٢٢$^{a}$ | ٢٧/٥١± ٠/٩٧$^{b}$ | ٢٥/٠١ ± ١/٠٦$^{c}$ | ٢٤/٣٢ ± ٠/٧٦$^{c}$ |
| C١٤:١n٥ | ٢/٦١ ± ٠/٦٢$^{b}$ | ١/٨٣ ± ٠/٣٦$^{b}$ | ٥/٧٣ ± ٠/٦٢$^{a}$ | ٢/٣٨ ± ٠/٢٢$^{b}$ | ٢/٨٦ ± ٠/٣٢$^{b}$ |
| C١٦:١n٧ | ٠/٧٢ ± ٠/١٧$^{b}$ | ٠/٦٣ ± ٠/١٢$^{b}$ | ٢/٩٩ ± ٠/٤٢$^{a}$ | ٠/٨٩ ± ٠/٤٢$^{b}$ | ٢/٠٦ ± ٠/٦٩$^{a}$ |
| C١٨:١n٩ | ٧/٥٢ ±١/٠٨$^{b}$ | ٩/٤٥ ± ٢/٤٢$^{a}$ | ٥/٦١ ± ٠/٧١$^{c}$ | ٨/٥١ ±١/٠٣$^{b}$ | ٦/٧٣ ± ٢/ ٢١$^{bc}$ |
| C١٨:١n٧ | ٧/١٩ ± ٢/ ٢٤$^{ab}$ | ٥/٩٧ ±٠/١٩$^{b}$ | ٦/٣٥ ± ٠/٧٢$^{b}$ | ٧/٨٧ ± ١/١٠$^{a}$ | ٧/١٦ ±١/٤٢$^{ab}$ |
| C٢٠:١n٩ | ٠/٢٣ ± ٠/٠٢$^{b}$ | ٠/١٦ ± ٠/٠٦$^{b}$ | ٠/٢١ ± ٠/٠٤$^{ab}$ | ٠/٥١ ± ٠/٠٥$^{a}$ | ٠/١٨ ±٠/٠٩$^{b}$ |
| C٢٢:١n٩ | - | - | - | - | - |
| C٢٤:١n | ٠/٣ ± ٠/٠٤$^{b}$ | ٠/٣٣ ±٠/٠٢$^{b}$ | ٠/٣٤ ± ٠/٠٢$^{b}$ | ٠/١ ± ٠/٠٣$^{a}$ | ٠/٢٤ ± ٠/٠٩$^{b}$ |
| MUFA | ١٨/٥٢ ± ١/١$^{c}$ | ١٨/٣٧ ± ٠/٨٢$^{c}$ | ٢١/١٩ ± ٠/٣٣$^{a}$ | ٢٠/٢٤ ± ٠/٤٦$^{b}$ | ١٩/٢٢ ± ٠/٦٦$^{bc}$ |
| C١٨:٢n٦ | ٧/٦٦ ± ٠/٤٦$^{b}$ | ١٠/٦٦ ± ٠/٢٦$^{a}$ | ١٠/٧٨ ± ٠/٨٢$^{a}$ | ١٠/٢ ± ٠/٢٦$^{a}$ | ١١/٤٣ ± ٠/٢٣$^{a}$ |
| C١٨:٣n٣ | ٩/٠٤ ± ٠/ ٦$^{c}$ | ٩/٨٨ ± ٠/٢٦$^{bc}$ | ١٠/٨٠ ± ٠/٢٣$^{b}$ | ١٣/٣٨ ± ٠/٤٦$^{a}$ | ١٤/٦١ ± ٠/٩٢$^{a}$ |
| C٢٠:٢n٦ | - | - | - | - | - |
| C٢٠:٤n٦ | - | - | - | - | - |
| C٢٠:٣n٣ | ١/٢٥ ±٠/٠٧$^{a}$ | ٠/٣٣ ± ٠/٠٤$^{b}$ | ٠/٢٨ ± ٠/٠٢$^{b}$ | ٠/٨٢ ± ٠/٠٨$^{ab}$ | ٠/٦١ ± ٠/٠٩$^{ab}$ |
| C٢٠:٥n٣ | ٠/٣٤ ± ٠/٠٧$^{bc}$ | ٠/٤٦ ± ٠/٠٥$^{b}$ | ٠/٢١ ±٠/٠٧$^{c}$ | ٠/١٩ ± ٠/٠٢$^{c}$ | ٠/٨٣ ± ٠/٠٨$^{a}$ |
| C٢٢:٦n٣ | ٠/٩٢ ±٠/٠٦$^{a}$ | ٠/٣٤ ± ٠/٠١$^{b}$ | ٠/١٦ ± ٠/٠٢$^{c}$ | ٠/١٣ ± ٠/٠٥$^{c}$ | ٠/١٨ ± ٠/٠٩$^{bc}$ |
| PUFA | ١٩/١٩ ± ١/١٢$^{d}$ | ٢١/٦٧ ± ٠/٧٦$^{c}$ | ٢٢/٢٢ ± ٠/٥٣$^{c}$ | ٢٤/٧٢ ± ٠/٩٦$^{b}$ | ٢٧/٦٤ ± ٠/٢٩$^{a}$ |

**جدول ٤- درصد کل اسیدهای چرب جلبک تک سلولی ریزجلبک دسمودسموس کونـاتئوس کشـت داده شـده در سطوح مختلف نیترات (۰، ۰/٦۲، ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ میلی‌مولار نیترات)**

| اسید چرب | ۰ میلی‌مولار | ۰/٦۲ میلی‌مولار | ۱/۲۵ میلی‌مولار | ۲/۵ میلی‌مولار | ۵ میلی‌مولار |
|---|---|---|---|---|---|
| C۱٤:۰ | ۰/۲٦ ± ۰/۰۱$^{b}$ | ۰/٤۸ ± ۰/۰۲$^{b}$ | ۱/٤۳ ± ۰/۰٦$^{a}$ | ۰/۳۲ ± ۰/۰۹$^{b}$ | ۰/٦٤ ± ۰/۰۸$^{b}$ |
| C۱٦:۰ | ۲٦/۰۱ ± ۷/٤۲$^{a}$ | ۲۵/۷۲ ± ۰/۲۲$^{ab}$ | ۲٤/٦٤ ± ۰/۹۰$^{b}$ | ۲۲/۸۱ ± ۰/۳۳$^{c}$ | ۲۱/۹۹ ± ۰/۲۰$^{c}$ |
| C۱۸:۰ | ۰/۹۸ ± ۰/۰۹$^{b}$ | ۱/۰۱ ±۰/۱۳$^{b}$ | ۰/۵۱ ± ۰/۰٦$^{d}$ | ۱/۱٦ ± ۰/۱٦$^{a}$ | ۰/٦۱ ± ۰/٤۱$^{c}$ |
| C۲۰:۰ | ۱/۱۵ ± ۰/۳۷$^{a}$ | ۰/۹۱ ± ۰/۰۱$^{b}$ | ۰/۲٤ ± ۰ /۰٤$^{d}$ | ۰/۹۲ ± ۰/۰۷$^{b}$ | ۰/۵٦ ± ۱/۳٤$^{c}$ |
| C۲۲:۰ | ۲/۱ ± ۰/۱۹$^{a}$ | ۱/۵۳ ± ۰/۰٦$^{a}$ | ۱/۸ ± ۰/۰۲$^{a}$ | ۱/٦٤ ± ۰/۱۳$^{a}$ | ۱/۵۱ ± ۰/۱۵$^{a}$ |
| C۲٤:۰ | ۱/۰٤ ± ۰/۰٤$^{a}$ | ۰/۲٤ ± ۰/۰٤$^{c}$ | ۰/۲۲ ± ۰/۰۲$^{c}$ | ۰/۱۷ ± ۰/۰۱$^{c}$ | ۰/٦٤ ± ۰/۱٤$^{b}$ |
| SFA | ۳۱/۵٤ ± ۰/۸٦$^{a}$ | ۲۹/۸۹ ± /۸۲$^{b}$ | ۲۸/۸٤ ± ۰/۵۷$^{b}$ | ۲۷/۰۲ ± ۰/۷٦$^{c}$ | ۲۵/۹۵ ± ۰/۳٦$^{c}$ |
| C۱٤:۱n۵ | ۱/٤۰ ± ۰/۱۰$^{bc}$ | ۱/۰۷ ± ۰/۰۵$^{c}$ | ۲/۸۳ ± ۰/۰۱$^{a}$ | ۲/۷۱ ± ۰/۰٦$^{a}$ | ۲/۱۰ ± ۰/۷۱$^{ab}$ |
| C۱٦:۱n۷ | ۰/۱۲ ± ۰/۰۱$^{b}$ | ۰/۳٦ ± ۰/۰۳$^{b}$ | ۱/۱۵ ± ۰/۰۳$^{a}$ | ۰/۵۱ ± ۰/۰۱$^{b}$ | ۰/۳۷ ± ۰/۳۳$^{b}$ |
| C۱۸:۱n۹ | ۱۰/٦٤ ±۰/۰۲$^{a}$ | ۱۰/۳۵ ± ۱/۰۲$^{a}$ | ۸/۳٤ ± ۰/٤۰$^{b}$ | ۷/۹۰ ± ۲/٤۲$^{b}$ | ٦/۷٦ ± ۰/۵۸$^{c}$ |
| C۱۸:۱n۷ | ۱۰/۳۹ ± ۰/ ۷۹$^{a}$ | ۹/۳۵ ± ۰/۱۱$^{a}$ | ۷/٤۵ ± ۰/۱۱$^{b}$ | ۹/۷۵ ± ۱/۱۰$^{a}$ | ۱۰/۱۲ ± ۰/۷۹$^{a}$ |
| C۲۰:۱n۹ | ۰/۱۵ ± ۰/۰۵$^{d}$ | ۰/٦٤ ± ۰/۰۱$^{b}$ | ۰/۷۹ ± ۰/۰٤$^{a}$ | ۰/٤۳ ± ۰/۰۳$^{c}$ | ۰/۱۵ ± ۰/۰۹$^{d}$ |
| C۲۲:۱n۹ | - | - | - | - | - |
| C۲٤:۱n | - | ۰/۳۳ ± ۰/۰۲$^{b}$ | ۰/۵۱ ± ۰/۰۲$^{a}$ | ۰/۱ ± ۰/۰۳$^{d}$ | ۰/۲٤ ± ۰/۰۹$^{c}$ |
| MUFA | ۲۳/۰۰ ± ۱/۱۲$^{a}$ | ۲۲/۱۰ ± ۰/۵۲$^{ab}$ | ۲۱/۰۷ ± ۰/۷۲$^{b}$ | ۲۱/ ٤ ± ۰/۸۸$^{b}$ | ۱۹/۷٤ ± ۰/۵٦$^{c}$ |
| C۱۸:۲n٦ | ٤/۷۹ ± ۰/۲٦$^{c}$ | ٦/٦۱ ± ۰/۲۳$^{b}$ | ۷/۵۰ ± ۰/۸۲$^{b}$ | ۷/۸۱ ± ۰/۲٦$^{b}$ | ۱۰/۷ ± ۱/۱۳$^{a}$ |
| C۱۸:۳n۳ | ۸/۵۲ ± ۰/ ٤٦$^{c}$ | ۱۰/۵۲ ± ۰/۰۳$^{b}$ | ۱۲/۹۲ ± ۰/۲۳$^{a}$ | ۱۳/۵۱ ± ۰/۰۲$^{a}$ | ۱۰/٤۵ ± ۰/۷٤$^{b}$ |
| C۲۰:۲n٦ | - | - | - | - | - |
| C۲۰:٤n٦ | - | - | - | - | - |
| C۲۰:۳n۳ | ۲/۳۲ ±۰/۱۰$^{ab}$ | ۱/۲۹ ± ۰/۱٤$^{bc}$ | ۰/۲۸ ± ۰/۰۲$^{c}$ | ۱/۲۹ ± ۰/۰٤$^{bc}$ | ۳/۰۱ ± ۲/۱۰$^{a}$ |
| C۲۰:۵n۳ | ۱/۲۲ ± ۰/۱۹$^{a}$ | ۰/۳٤ ± ۰/۰۳$^{b}$ | ۰/۲۱ ±۰/۰۷$^{b}$ | ۰/۰٤ ± ۰/۰۲$^{b}$ | ۰/۸۳ ± ۰/۰۸$^{ab}$ |
| C۲۲:٦n۳ | ۰/۱٦ ±۰/۰۲$^{a}$ | ۰/۳٤ ± ۰/۰۱$^{a}$ | ۰/۰۹ ± ۰/۰۲$^{a}$ | ۰/۰۷ ± ۰/۰۰۲$^{a}$ | ۰/۳۲ ± ۰/۰۵$^{a}$ |
| PUFA | ۱۷/۰۱ ± ۱/۰۳$^{e}$ | ۱۹/۱ ± ۰/٤٦$^{c}$ | ۲۱/۰۰ ± ۰/۸۳$^{c}$ | ۲۲/۷۲ ± ۰/۷۳$^{b}$ | ۲۵/۳۱ ± ۰/۱۹$^{a}$ |

## بحث

نیتروژن از عمده‌ترین عناصر شیمیایی موردنیاز رشد جلبک‌ها محسوب می‌شود. قابلیت دسترسـی نیتروژن برای ریزجلبک‌ها هم در محیط‌های طبیعی و هم شرایط پرورشی تأثیر بسزایی بر رشد و میزان بیومس ریزجلبـک‌هـا دارد. یافتـه‌هـای ایـن پـژوهش نشـان داد کـه دو ریزجلبـک همـاتوکوکوس و

دسمودسموس کوناتئوس در تیمارهای مختلف از نیترات، دارای نرخ رشد متفاوتی می‌باشند. مناسب‌ترین میزان تراکم سلولی، میزان رشد ویژه و زمان دو برابر شدن جمعیت هماتوکوکوس و دسمودسموس به‌ترتیب در تیمار ٢/٥ و ١/٢٥ میلی‌مولار نیترات به‌دست آمد. هم‌چنین تیمارهای ٠/٦٢ و ٠ میلی‌مولار نیترات بازدارنده رشد در هر دو ریزجلبک می‌باشند.

غلظت مناسب نیترات برای سایر ریز جلبک‌ها بسته به گونه جلبک و شرایط پرورشی متفاوت است. به‌طور مثال غلظت مناسب نیترات برای جلبک پاولوا ویدیریس (*Pavlova viridis*) ٦/٢ میلی‌مولار (لی و همکاران، ٢٠٠٥)، کلرلا مینوتیسما (*Chlorella minutissima*) ٧٠٠ میلی‌گرم در لیتر (اردق و همکاران، ٢٠١١) نانو کلروپسیس (*Nannochloropsis* sp.) ١٥٠ تا ٦٠٠ میکرو مولار (هوو و گا، ٢٠٠٦) آنکیستردسموس کونولوتس (*Ankistrodesmus convolutes*) ٣ میلی‌مولار (چو و همکاران، ١٩٩٤) گزارش شده است. تعدادی از محققان گزارش داده‌اند که بالا رفتن غلظت نیتروژن منجربه افزایش میزان کلروفیل، بهبود فرآیند فتوسنتز و در نتیجه منجربه افزایش سنتز پروتئین سلولی و نهایتا تقسیم سلولی و افزایش تراکم می‌شود (سولونکو و همکاران، ٢٠٠٨؛ اردق و همکاران، ٢٠١١) هرچند هو و گا (٢٠٠٦) گزارش دادند که نرخ رشد در غلظت‌های بالای نیتروژن به‌دلیل تأثیر بر نسبت C:N و N:P موجب کندی رشد در نانوکلروپسیس می‌شود. ازطرف دیگر افزایش نیتروژن در محیط کشت، منجربه تحریک فعالیت یکسری از آنزیم‌ها همانند ردوکتاز و نیتریت ردوکتاز در سلول و تولید آمونیوم و نیتریت می‌شود که این ترکیبات برای سلول‌ها سمی بوده و باعث کاهش رشد در جلبک‌ها می‌گردد (جفنز و همکاران، ١٩٩٣).

بسیاری از محققین تغییر در محتوای اسیدهای چرب ریزجلبک‌ها در واکنش به غلظت‌های مختلف نیتروژن را گزارش کرده‌اند (چو و همکاران، ١٩٩٧؛ لی و همکاران، ٢٠٠٥؛ نیگما و همکاران، ٢٠١١؛ پال و همکاران، ٢٠١١). نتایج مطالعات ما نیز نشان داد که کاهش غلظت نیتروژن در محیط کشت هماتوکوکوس سبب افزایش اسیدهای چرب اشباع و کاهش اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع گردید. در ریز جلبک دسمودسموس افزایش غلظت نیتروژن منجربه بالا رفتن میزان اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع و کاهش اسیدهای چرب اشباع و اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه شد. در حالی‌که کاهش غلظت نیترات در این ریز جلبک نتایج عکس را نشان داد. تأثیر غلظت‌های مختلف نیتروژن بر اسیدهای چرب جلبک‌های تک سلولی اغلب پیچیده و در گونه‌های مختلف اغلب نتایج متفاوتی را به‌همراه دارد. برای مثال هو و گا (٢٠٠٦) گزارش دادند که در ریزجلبک نانو کلروپسیس

غلظت‌های پایین نیترات منجربه افزایش میزان ایکوزاپنتانوئیک اسید (eicosapentaenoic acid) می‌شود. در حالی‌که سولونکو و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که کاهش غلظت نیتروژن منجربه افزایش آراشیدونیک اسید (arachidonic acid) در ریزجلبک پاریتوکلوریس اینسیکا (*Parietochloris insica*) می‌شود. علاوه‌بر این، کمبود نیتروژن در محیط کشت ریزجلبک نئوکلرویس الئوباندن (*Neochloris oleoabundan*) میزان اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع را به‌میزان ۵۰ درصد کاهش و برخی از اسیدهای چرب گروه اسیدهای چرب اشباع همانند اولئیک اسید را تا ۵ برابر افزایش داد (ریسمانی- یزدی، ۲۰۱۲) این یافته‌ها با نتایج ما در ارتباط با تأثیر تیمارهای مختلف نیتروژن بر محتوای اسیدهای چرب مطابقت دارد به‌نظر می‌رسد که تجمع تری گلیسریدها (به‌ویژه اسیدهای چرب اشباع و اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه) در شرایط نامساعد همانند کمبود نیتروژن ابزاری مناسب برای سازگاری در این شرایط باشد (چو و همکاران، ۱۹۹۷؛ پال و همکاران، ۲۰۱۰). بر اساس نتایج به‌دست آمده در بین تیمارهای مختلف نیترات، غلظت ۵ میلی‌مولار نیترات در هر دو ریز جلبک می‌تواند شرایط بهینه رشد و ارزش غذایی ریز جلبک‌ها را تأمین کند هر چند بیشترین میزان رشد در این تیمار مشاهده نگردید بنابراین به‌طور کلی می‌توان بیان نمود که بین ارزش غذایی ریزجلبک از نظر محتوای اسیدهای چرب و میزان رشد ارتباط چندانی مشاهده نشد و به‌نظر می‌رسد مسیر مکانیسم رشد جلبک‌ها در تعادل با ارزش غذایی آن‌ها نیست و مطالعات بیشتری در این زمینه لازم می‌باشد.

## منابع


1. Borowitzka, M.A. 1997. Microalgae for aquaculture: opportunities and constraints. Applied Phycology. 5: 393-401.
2. Brown, M.R., Mular, M., Miller, I., Farmer, C. and Trenerry, C. 1999. The vitamin content of microalgae used in aquaculture. Applied Phycology. 11: 247-255.
3. Chisti, Y. 2006. Microalgae as sustainable cell factories. Environmental Engineering Management. 5: 261-274.
4. Chu, W.L., Phang, S.M. and Goh, S.H. 1997. Environmental effects on growth and biochemical composition of *Nitzschia inconspicua* Grunow. Applied Phycology. 8: 389-396.
5. Chu, W.L., Phang, S.M., Goh, S.H. and Blakebrough, N. 1994. Environmental effects on growth and biochemical composition of *Ankistrodesmus convolutus*. P16-27, In: Phang, S.M., Lee, Y.K. Borowit-zka, M. and Whitton, B. (ed.), Proceeding of the Asia-Pacific Conference on Algal Biotechnology, University

of Malazya, Kuala Lumpur.
6.Guillard, R.D. 1973. In: Stein (ed.), Handbook of physiological methods. Cambridge University Press, Cambridge, Pp: 289-312.
7.Halsey, K.H., Milligan, A.J. and Behrenfeld, M.J. 2010. Physiological optimization underlies growth rate- independent chlorophyll specific gross and net primary production. Photosynthesis Research. 103: 125-37.
8.Hegewald, E. 1997. Taxonomy and phylogeny of Scenedesmaceae. Algae. 12:235-246.
9.Hu, H. and Gao, K. 2006. Response of growth and fatty acid compositions of *Nannochlo-rop sis* sp. to environmental factors under elevated $CO_2$ concentration. Biotechnology. 28: 987-992.
10.Jeanfils, J., Canisium, M.F. and Burlion, N. 1993. Effect of nitrate concentrations on growth and nitrate uptake by free-living and immobilized *Chlorella vulgaris* cells. Applied Phycology. 5: 369-374.
11.Khozin, I. and Cohen, Z. 2006. The effect of phosphate starvation on the lipid and fatty acid composition of the fresh water eustigmatophyte *Monodus subterraneus*. Phytochem- istry. 67: 696-701.
12.Kobayashi, M.K., Kakizono, T. and Nagai, S. 1991. Astaxanthin production by a microalgae *Haematcoccus pluialis,* accompanied with morphological changes in acetate media. *Fermentation* and *Bioengineering.* 71: 335-339.
13.Lepage, G. and Roy, C.C. 1984. Improved recovery of fatty acid through direct transeterification without prior extraction or purification. Lipid Research. 25: 1391-1396.
14.Li, M., Gong, R., Rao, X., Liu, Z. and Wang, X. 2005. Effects of nitrate concentration on growth and fatty acid composition of the marine microalgae *Pavolva viridis* (Prymne- siophyceae). Annals of Microbiology. 55(1): 51-55.
15.Li, Y., Horsman, M., Wang, B., Nan, W. and Lan, C.Q. 2008. Effect of nitroge source on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans*. Microbiology Biotechnology. DOI 10.1007/s00253-008-1681-1.
16.Lorentz, R.T. and Cysewski, G.R. 2000. Commercial potential for *Haematococcus* micr-oalgae as a natural source of astaxanthin. Trends Biotechnology. 18: 160-167.
17.Martinez, M.R., Chakroff, C.L. and Pantastico, J.F. 2000. Direct phytoplankton counting techniques using the haemacytometer. Agriculture. 55: 43-50.
18.Melinda, J. Griffiths., Robert, P., Hille, V., Susan, T.L. and Harrison. 2011. Lipid productivity, settling potential and fatty acid profile of 11 microalgal species grown under nitrogen replete and limited conditions. Applied Phycology. Doi 10i. 1007/S10811-011-9723.
19.Meireles, L.C., Catarina, A., Guedes, A.C. and Malcata, F.X. 2003. Lipid class composition of the microalgae *Pavlova lutheri*: Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic acids. Agriculture Food Chemistry. 51: 2237-2241.

20. Moreno-Garrido, I. 2008. Microalgae immobilization: Current techniques and uses. Bio resource Technology. 99: 3949-3964.
21. Nigam, S., Rai, M.P. and Sharma, R. 2011. Effect of Nitrogen on Growth and Lipid Content of *Chlorella pyrenoidosa*. Biochemistry and Biotechnology. 7(3): 126-131.
22. Omori, M. and Ikeda, T. 1984. Methods in marine zooplankton ecology. John Wiley and Sonsininc, New York. 322p.
23. Ördög, V., Wendy. A., Stirk., Bálint. P., Staden, J.V. and Lovász, C. 2011. Changes in lipid, protein and pigment concentrations in nitrogen-stressed *Chlorella minutissima* cultures. Applied Phycology. doi 10.1007/S10811-011-9711-2.
24. Pal, D., Khozin-Goldberg, I., Cohen, Z. and Boussiba, S. 2011. The effect of light, salinity, and nitrogen availability on lipid production by *Nannochloropsis sp.* Microbiology and Biotechnology. 90(14): 29-1441.
25. Pratoomyot, J., Srivilas, P. and Noiraksar, T. 2005. Fatty acids composition of 10 microalgae species Songklanakarin. Science Technology. 27(6): 1179-1187.
26. Ratledge, C. and Cohen, Z. 2008. Microbial and algal oils: Do they have a future for biodiesel or as commodity oils? Technology. 20(7): 155-160.
27. Recht, L., Zarka, A. and Boussiba, S. 2012. Patterns of carbohydrate and fatty acid changes under nitrogen starvation in the microalgae *Haematococcus pluvialis* and *Nannochloropsis sp.* Microbiology and Biotechnology. DOI 10.1007/S002-53-012-3940-4.
28. Rismani-Yazdi, H., Haznedaroglu1, B.Z., Hsin, C. and Peccia, J. 2012. Transcriptomic analysis of the oleaginous microalga *Neochloris oleoabundans* reveals metabolic in sights into triacylglyceride accumulation. Biotechnology for Biofuels. Doi.: 10.1186/1754-6834-5-74.
29. Seyfabadi, J., Ramezanpour, Z. and Amini Khoeyi, Z. 2011. Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. Applied Phycology. 23: 721-726.
30. Singh, A., Nigam, P.S. and Murphy, J.D. 2011. Renewable fuels from algae: an answer to debatable land based fuels. Bio resource Technology. 102: 10-16.
31. Solovchenko, A.E., Khozin-Goldberg, I., Cohen, Z., Didi-Cohen, S. and Merzlyak, M.N. 2008. Effects of light intensity and nitrogen starvation on growth, total fatty acids and arachidonic acid in the green microalga *Parietochloris incisa*. Applied Phycology. 20: 245-251.
32. Spektorova, L.V., Goronkova, O.I., Nosova, L.P., Albitskaya, O.N. and Danilova, G. 1986. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake and lipid accumulation of a freshwater microalgae *Scenedesmus* sp. Bio resource Technology. 101: 5494-5500.