





بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ





**دانشگاه ارومیه**

**دانشکده منابع طبیعی**

سال تحصیلی ۱۳۹۲-۱۳۹۱

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد مهندسی منابع طبیعی، تکثیر و پرورش آبزیان  
عنوان:

**تأثیر غلظت های مختلف نیتروژن و محیط های کشت متفاوت بر پروفایل اسیدهای چرب و محتوای  
پروتئین محلول دو گونه از ریز جلبک های آب شیرین**  
نگارنده:

**مهدی نادری فارسانی**

استاد راهنما:

جناب آقای دکتر سعید مشکینی

استاد مشاور:

جناب آقای دکتر رامین مناف فر

دی ماه ۱۳۹۱

حق چاپ برای دانشگاه ارومیه محفوظ است



خدایا

به من زیستنی عطا کن که در محظ مرگ در بی شمری

محظ ای که برای زیستن گذشته است، حسرت نخورم و مردنی عطا کن

که بر بیوگی اش سوگوار نباشم، بگذار تا آن را من خود انتخاب کنم

اما آن چنان که تو دوست می داری

دکتر علی شریعتی





## تقدیر و تشکر:

پاس خداوندی را که سخوران از ستودن او عاجزند و حسابگران از شمارش نعمت های او ناتوان و تلاشگران از ادای حق او در مانده اند. خزاران هزار مرتبه شکر پروردگار بلند مرتبه را که بنده حقیر را در تمام زندگی مشمول لطف و رحمت خویش قرار داده است. از اساتید ارجمندم که در طی تحقیق پایان نامه از حمایتها و راهنماییهای بی دریغ شان بهره مند بوده ام:

از استاد ارجمند و بزرگوارم جناب آقای دکتر سعید مشکینی که با راهنمایی های عالی و هوشمندانه و علمی خود بی دریغ و صادقانه همواره مرا مورد لطف خود قرار دادند کمال تشکر و سپاس گذاری را دارم. از جناب آقای دکتر رامین مناف فر که در اجرای این پایان نامه با کمال صبر و تحمل زحمت استاد مشاوره را تقبل فرموده و در تمام مراحل تحقیق مرا از راهنماییهای ارزنده خویش برخوردار فرموده اند صمیمانه سپاسگزارم. از جناب آقای دکتر ناصر آق و دکتر نصراله احمدی فر که قبول زحمت فرمودند و داوری این پایان نامه را بر عهده گرفتند صمیمانه تشکر می نمایم.

از تمامی کارشناسان پژوهشگاه تحقیقات آرتیمیا و آبریان و دوستان و همکلاسی های عزیزم که بنده را در مراحل علمی پایان نامه یاری کردند نهایت سپاس و تشکر را دارم.



تقدیم به پدرم، زیباترین تفسیر ایشار و سگیبایی:

او که تلاش و ایشارش تنم را توان بخشید و جانم را امید، او که باد سوزی و مهربانی پدرانه اش، همواره پشتیانم بوده، او که استقامت در برابر سختیها را از او آموختم، به او که وجودش برایم معنای بودن است، کلامش آیه محبت، صبر و بردباریش تکیه گاهم و قلب مهربانش دریای صفا و آرامش، او که درس چگونه زیستن را به من آموخت، او که تمام دردها و رنج‌ها را به دوش کشیده تا فرزندانش در آرامش باشند.

ای هستی وجود، بوسه ای از سر مهر بردستان مهربانت منیزم، دستانی که هرچین و چرکوش کواه صادقی است بر زحمت‌های بی دریغت.

دوام عمر با عزتت را از خداوند متعال خواستارم.

تقدیم به زیباترین عشق، خالص‌ترین مهر، مادر عزیزم:

آن نادره وجود که هر نفسم مدیون مهر و خداکاری اوست، عاشق‌ترین کبوتری که نامش در هزار سوی آسمان دلم به پرواز در می‌آید و یادش منفرح روحم می‌باشد. چه زیباست برای تو زیستن و در کنار تو ماندن، الفبای زندگی روز تو آموختن و صدای تو را در اعماق وجود شنیدن. او که لحظه لحظه زندگی و تمام هستی اش را به امید رسیدن فرزندانش به فردایی بهتر خدا کرد. عمرش با دوام و سایه پر مهرش پابنده باد. ای تندیس محبت تو را وجود تو را می‌تایم و وجودم را انار حاک پاست می‌کنم.

تقدیم به

خواهران و برادران عزیز تر از جانم که دعای خیرشان همیشه بدرقه راهم بوده و بی یاری آن نمی‌توانم این راه مکن نبود.

تقدیم به

آنان که علم می‌چینند تا طریق خدا پرستی را بهتر بیامانند



## چکیده:

تحقیقات مختلف اثبات نموده‌اند که رشد و محتوای بیوشیمیایی جلبک‌ها می‌تواند تحت تأثیر محیط کشت و غلظت مواد مغذی تغییر پیدا کند. نیتروژن به عنوان یکی از عناصر مهم محیط کشت جلبک‌های تک سلولی می‌باشد که جهت رشد، بقاء، میزان پروتئین، کلروفیل و اسیدهای چرب جلبک‌های تک سلولی ضروری می‌باشد. تاکنون تحقیقات متعددی ارتباط معنی‌داری را مابین میزان نیتروژن محیط کشت و تغییر در عوامل فوق نشان داده است. نظر به اهمیت جلبک‌ها به عنوان منبع غذایی و دارویی، تولید جلبک‌هایی با ارزش غذایی بالاتر یکی از اهداف محققان می‌باشد. بر این اساس هدف از این تحقیق بررسی غلظت‌های مختلف نیتروژن و محیط‌های کشت مختلف بر میزان رشد، کلروفیل، پروتئین‌های محلول و محتوای اسید-های چرب دو ریزجلبک هماتوکوکوس و دسمودسموس می‌باشد. بدین منظور این دو ریزجلبک در چندین محیط کشت مختلف (CHU, OHM, BM و A/B) و هم‌چنین مقادیر متفاوتی از میزان نیتروژن (۰.۲۵٪، ۰.۵۰٪ و ۲.۰۰٪) کشت داده شدند. محتوای پروتئین‌های محلول، اسیدهای چرب، تراکم جلبک‌ها و هم‌چنین مقادیر کلروفیل a و b در انتهای دوره در فاز رشد تصاعدی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج تحقیق نشان داد که در تیمارهای با سطوح مختلف نیتروژن میزان رشد در دو جلبک هماتوکوکوس و دسمودسموس در تیمارهای با ۲.۰۰٪ و ۱.۰۰٪ نیتروژن از شرایط بهتری برخوردار بود و در زمان ۷۲ ساعت پس از استرس اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها داشتند ( $p < 0.05$ ). بیشترین میزان رشد دو ریزجلبک هماتوکوکوس و دسمودسموس در محیط کشت BM بوده و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان دادند ( $p < 0.05$ ). کمترین میزان رشد این دو جلبک نیز در دو محیط کشت OHM و CHU مشاهده شد که از رشد کافی برخوردار نبودند. اما نتایج مربوط به میزان کلروفیل در تیمارهای با سطوح مختلف نیتروژن نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a و b مربوط به تیمار با ۲.۰۰٪ نیتروژن بوده که اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان می‌دهد ( $p < 0.05$ ). آنالیز آماری داده‌های مربوط به میزان کلروفیل a و b در محیط‌های کشت مختلف نیز نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل در جلبک هماتوکوکوس همانند رشد در محیط-کشت BM مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان می‌دهد ( $p < 0.05$ ). در جلبک دسمودسموس بیشترین میزان کلروفیل در دو محیط کشت A/B و BM مشاهده شد. بر اساس نتایج غلظت نیتروژن ۲.۰۰٪ در جلبک هماتوکوکوس دارای بیشترین میزان پروتئین می‌باشد و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ( $p < 0.05$ ). در جلبک دسمودسموس اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف نیتروژن

از نظر میزان پروتئین مشاهده نشد. اما نتایج محیط‌های کشت مختلف بر روی جلبک هماتوکوکوس نشان داد که محیط کشت BM و BBM نسبت به دو محیط کشت دیگری میزان پروتئین بالاتری را دارا می‌باشند. با تغییر محیط کشت و غلظت‌های متفاوت نیتروژن محتوای اسیدهای چرب نیز تغییر می‌یابد. نتایج این تحقیق نشان داد که با دستکاری محیط‌های کشت و خصوصاً مقادیر نیتروژن محیط کشت می‌توان کلیه فاکتورهای رشد و بقاء و ارزش غذایی جلبک‌های تحت پرورش را بصورت معنی‌داری تحت تاثیر قرار داده و اقدام به تولید محصولی با ارزش غذایی بالاتر نمود.

**کلمات کلیدی:** محیط کشت، نیتروژن، اسیدهای چرب، پروتئین، کلروفیل، رشد



فصل اول : مقدمه و کلیات

۳	۱ - مقدمه.
۶	۲-۱- کاربردهای مختلف جلبک های تک سلولی.....
۶	۲-۱-۱- جلبک ها منبع تولید غذا و انرژی.....
۳	۲-۲-۱- مصرف خوراکی در انسان.....
۷	۲-۲-۳- استفاده از جلبک ها در صنایع شیمیایی.....
۷	۲-۲-۴- تهیه آگار.....
۷	۲-۲-۵- تولید کاراژینین.....
۷	۲-۲-۶- کاربرد آلجینیک اسید.....
۸	۲-۲-۷- دیاتومیت .....
۸	۲-۲-۸- استفاده از جلبک به عنوان کود.....
۸	۲-۲-۹- کاربرد جلبک ها به عنوان علوفه.....
۹	۲-۲-۱۰- تصفیه فاضلاب ها.....
۹	۲-۲-۱۱- تغذیه آبزیان.....
۹	۲-۲-۱۲- تأمین اسیدهای چرب ضروری مورد نیاز آبزیان.....
۱۲	۳-۱- طبقه بندی جلبک ها.....
۱۷	۴-۱- عوامل تغذیه ای موثر در رشد جلبک ها.....
۱۸	۴-۱-۱- درشت مغذی ها.....
۲۲	۴-۲-۱- ریز مغذی ها.....



## فصل دوم : مرور منابع

- ۲۷ ..... ۲- مروری بر مطالعات انجام شده
- ۲۹ ..... ۱-۲- اهداف تحقیق

## فصل سوم: مواد و روشها

- ۳۳ ..... ۱-۳- لوازم و مواد اصلی مورد استفاده
- ۳۳ ..... ۲-۳- کشت جلبک
- ۳۳ ..... ۱-۲-۳- شرایط محیطی رشد جلبک ها
- ۳۴ ..... ۲-۲-۳- کشت جلبک در آزمایشگاه
- ۳۵ ..... ۳-۲-۳- استرس نیتروژن
- ۳۵ ..... ۴-۲-۳- انتقال به محیطهای کشت مختلف
- ۳۷ ..... ۵-۲-۳- شمارش جلبک ها
- ۳۸ ..... ۳-۳- اندازه گیری میزان کلروفیل
- ۳۹ ..... ۴-۳- استخراج پروتئینها و الکتروفورز
- ۳۹ ..... ۱-۴-۳- استخراج پروتئین
- ۴۰ ..... ۲-۴-۳- سنجش میزان پروتئین محلول
- ۴۰ ..... ۳-۴-۳- آماده سازی نمونه تزریقی پروتئین استخراج شده به ژل
- ۴۱ ..... ۴-۴-۳- طرز تهیه ژل SDS PAGE
- ۴۱ ..... ۵-۴-۳- مرحله آماده سازی ژل **Resolving** و **Stacking**
- ۴۲ ..... ۶-۴-۳- مرحله تزریق نمونه و **Running**
- ۴۲ ..... ۷-۴-۳- مراحل رنگ آمیزی ژل
- ۴۴ ..... ۵-۳- آنالیز اسیدهای چرب

## فصل چهارم : نتایج

- ۴۷ ..... ۴-۱- بررسی میزان کلروفیل a و b در سطوح مختلف نیتروژن در محیط کشت BM.
- ۵۰ ..... ۴-۲- بررسی میزان تراکم در سطوح مختلف نیتروژن در محیط کشت BM.
- ۵۱ ..... ۴-۳- تاثیر محیطهای کشت مختلف بر روی میزان کلروفیل a و b.
- ۵۴ ..... ۴-۴- بررسی میزان تراکم ریز جلبک هماتوکوکوس و دسمودسموس در محیطهای کشت مختلف.
- ۵۶ ..... ۴-۵- بررسی میزان پروتئینهای محلول.
- ۵۸ ..... ۴-۶- بررسی الکتروفورزی پروتئینهای محلول:
- ۶۱ ..... ۴-۶- بررسی میزان اسیدهای چرب ریز جلبک هماتوکوکوس و دسمودسموس.

## فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری

- ۶۹ ..... ۵-۱- بحث
- ۷۸ ..... ۵-۲- پیشنهادات

## منابع

- ۸۱ ..... منابع مورد استفاده

## پیوستها

- ۸۹ ..... پیوست

فصل اول:

مقدمه

Introduction

