

## تولید انبوه جلبک نانوکلوپسیس اوکولاتا ( *Nanochloropsis* *oculata* ) به شیوه ی دوره ای



تهیه و تنظیم

مهندس اسمعیل پقه

مهندس مجتبی ذبایح نجف آبادی

دکتر منصور طرفی موزان زاده

رضا غلامی

پژوهشکده آبرزی پروری جنوب کشور-  
ایستگاه تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام  
خمینی (ره)

فروردین ۱۳۹۳

مقدمه

فیتوپلانکتون ها اساس زنجیره ی غذایی در اکوسیستم های آبی هستند و غذای لارو بسیاری از گونه های آبرزی از جمله ماهیان، سخت پوستان و دیگر غذاهای زنده نظیر روتیفر و آرمیا را تشکیل می دهند. مهمترین معیار ها برای انتخاب یک گونه فیتوپلانکتون جهت تولید انبوه شامل اندازه ی سلول، قابلیت تولید انبوه، هضم پذیری زیاد و قابلیت پذیرش برای گونه ی آبرزی پرورشی می باشند. گونه ی نانوکلوپسیس اوکولاتا دارای اندازه ی مناسب (۲ تا ۳ میکرومتر)، غنی از اسید های چرب ضروری به خصوص ایکوزاپنتائوویک اسید (۲ تا ۳ درصد وزن خشک)، رنگدانه های مفید و قابلیت هضم بسیار زیاد می باشد. همچنین ویژگی هایی نظیر رشد سریع، محتوی انرژی و چربی مناسب (۳۷ تا ۶۰ درصد وزن خشک)، قابلیت آداپته شدن زیاد با شرایط محیطی مختلف و مقاومت به آلودگی این گونه را برای پرورش در آبرزی پروری ایده آل نموده است.

### شرایط عمومی پرورش

۱-دما: ۲۴-۲۰ درجه سانتی گراد

۲-اسیدیته: ۸/۲-۸/۷

۳-شوری: ۲۵-۲۰

۴-شدت نور: ۵۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس

۵-دوره نوری: ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی

۶- تلاطم و هوادهی مناسب

۷-محیط کشت جهت پرورش:

الف-محیط کشت کانوی ( Conway medium) جهت پرورش در مرحله ی ذخیره سازی و بینابینی

ب- محیط کشت TMRL برای پرورش در بخش بیرونی

از محیط کشت کانوی و TMRL به میزان ۱ سی سی به ازای هر لیتر آب مورد استفاده قرار می گیرد.

بخش تولید جلبک شامل:

### ۱-آزمایشگاه

در بخش آزمایشگاه، خالص سازی جلبک، شمارش جلبک، استریل کردن ادوات و آب صورت می پذیرد

### ۲-بخش ذخیره سازی

پس از خالص سازی، جلبک در ارلن های ۱ تا ۲ لیتری با استفاده از محیط کشت کانوی کشت می شوند. این بخش به همراه بخش بینابینی در داخل ساختمان قرار دارند و با استفاده از لامپ مهتابی و یا پروژکتور نور در داخل ساختمان تنظیم می شود. همچنین با توجه به اینکه جلبک نانوکلوپسیس

سرمادوست است از دستگاه های تهویه و خنک کننده برای سرد کردن محیط در حد ۲۵ درجه سانتی گراد باید استفاده شود.

برای پرورش جلبک در بخش استوک باید همه ی وسایل و شیشه آلات و آب پرورش اتوکلاو (۱۲۰ درجه سانتی گراد و فشار ۲۰ پوند بر اینچ مربع) و ضدعفونی (کلر ۱۰ پی پی ام) شوند. از ورود افراد به این بخش باید جلوگیری شود و پرسنل نیز هنگام کار باید دست های خود را به دقت با الکل ۷۰٪ ضدعفونی کرده و با دستکش لاتکس کار کنند.



### ۳-بخش بینابینی

در این بخش جلبک ها در بشکه های ۱۰ لیتری کشت می شوند. از پروژکتور های پر قدرت جهت نورپردازی در این قسمت استفاده می شود.



۴-بخش بیرونی

این بخش در فضای آزاد بوده و شامل تانک های ۳۰۰ لیتری، ۲ تنی و ۱۰ تنی می باشد. دما و نور در این بخش قابل کنترل نیست.

روش های مختلفی برای پرورش تراکم



جلبک مورد استفاده قرار می گیرد که شامل:

۱- پرورش دوره ای (Batch culture)

۲- پرورش نیمه مداوم (Semi-continuous culture)

۳- پرورش مداوم (Continuous culture) می باشند.

روش پرورش جلبک به شیوه ی دوره ای:

پس از خالص سازی جلبک با روش های مختلف از جمله رقیق سازی پی در پی، کشت پلت آگار و یا جداسازی با پیپت موئین، سلول های جلبک خالص به لوله های آزمایش ۱۰ سی سی منتقل شده که حاوی محیط کشت کانوی می باشد. نسبت تلقیح با جلبک به نسبت ۱ به ۱۰ به میزان ۲۰ میلیون عدد در میلی لیتر می باشد که در تمام دوره ی کشت این مقادیر باید رعایت شود. در انکوباتور در دمای ۲۴ درجه سانتی گراد نگهداری شده و پس از ۳ هفته که به حد کافی رشد کردند به ارلن های ۱۰۰ سی سی به نسبت منتقل شده و در شرایط مناسب قرار داده شده تا رشد کنند. بعد از ۱۵ روز میتوان محتوی ارلن های ۱۰۰ سی سی را به ارلن های بزرگتر ۱ تا ۲ لیتری منتقل کرد و بعد از یک هفته تراکم جلبک نانوکلوپسیس به ۸۰ تا ۱۶۰ میلیون سلول در میلی لیتر رسیده که برای انتقال به بخش بینابینی آماده است. هر ارلن ۱ لیتری برای تلقیح یک بشکه ۱۰ لیتری در بخش بینابینی استفاده می شود و پس از یک هفته تراکم جلبک به میزان ۵۰ میلیون عدد در میلی لیتر رسیده که آماده انتقال به بخش بیرونی است. برای تلقیح یک تانک ۳۰۰ لیتری از ۳ عدد بشکه ۱۰ لیتری استفاده می

شود (۳ تا ۵ میلیون سلول در میلی لیتر) و پس از یک هفته تراکم جلبک به ۴۰ میلیون عدد در میلی لیتر خواهد رسید. در مرحله ی محتوی دو عدد تانک ۳۰۰ لیتری به تانک های ۲ تنی منتقل می شود (میزان ۳ تا ۵ میلیون سلول در میلی لیتر باید ذخیره سازی صورت گیرد) و بعد از یک هفته محتوی این تانک ها قابل انتقال به تانک های ۱۰ تنی خواهند بود. در نهایت جلبک موجود در تانک های ۱۰ تنی برای تغذیه ی بخش روتیفر و یا لاروی مورد استفاده قرار خواهد گرفت.

شکل شماتیک پرورش با روش دوره ای:

