

تأثیر تنش شوری و اشعه فرابنفش UV-C و UV-B بر فاکتورهای رشد، چربی کل و محتوای اسید چرب ریز جلبک *Dunaliella salina*

فخری قزلباش^۱، لطیفه پوراکبر^{۱*}، ناصر آق^۲، صابر خداینده^۳

^۱گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

^۲پژوهشکده آرتمیا و آبزی پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

^۳گروه زیست‌شناسی دریا، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۰۸

چکیده

ریزجلبک *Dunaliella salina* (ریزجاندار یوکاریوتی بی‌نظیری می‌باشد که دامنه تحمل بالایی در برابر نوسانات محیطی از جمله شوری، دما و نور دارد. هدف از این تحقیق بررسی اثر شوری و اشعه فرابنفش بر فاکتورهای رشد و محتوای اسید چرب ریز جلبک *Dunaliella salina* بود. آزمایش‌ها تحت تیمارهای مختلف شوری ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ گرم در لیتر و تابش‌های نور فرابنفش UV (B,C) به‌طور مجزا و تلفیقی با ۳ تکرار به‌مدت ۱۱ روز صورت گرفت. روند رشد جلبک و زی‌توده کل تولید شده تحت تنش‌های مختلف، با شمارش تعداد سلول جلبک به‌صورت یک روز در میان توسط لام هموسیستمتر مورد بررسی قرار گرفت. پروفایل اسیدهای چرب جلبک‌ها تحت تیمارهای اعمال شده توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و چربی کل با استفاده از دستگاه سوکسله تعیین شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده طی دوره کشت، روند رشد جلبک در اکثر تیمارهای اعمال شده تحت تنش‌های شوری بالا و پرتو UV C و UV B نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری کمتر بود ($P \leq 0.05$). بیش‌ترین تراکم سلولی در تیمار شاهد ۲/۰۴ میلیون سلول در میلی‌لیتر و ۱/۹۸ میلیون سلول در میلی‌لیتر در تیمار UVB-۱۵۰ در روز هفتم به‌دست آمد. برخلاف بالا بودن تراکم سلولی در نمونه کنترل، بیش‌ترین میزان وزن تر مربوط به تیمار UVC تحت شوری ۲۰۰ گرم در لیتر مشاهده شد. از نظر مقادیر اسیدهای چرب بین تیمارها اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P \leq 0.05$). جلبک پرورش یافته تحت تیمار UVB-۲۰۰ دارای بیش‌ترین میزان PUFA-n۳ (۲۰/۰۵٪) و مجموع اسیدهای چرب بلند زنجیره چند غیر اشباع PUFA (۳۲/۰۵٪) بود در حالی که بیش‌ترین مقدار اسیدهای چرب PUFA(n۶) (۱۳/۹۶٪) در تیمار UVC-۱۵۰ به‌دست آمد. بیش‌ترین مقدار اسیدهای چرب اشباع (SFA) در جلبک‌های کشت شده تحت شوری ۲۵۰ گرم در لیتر بدون اشعه فرابنفش برآورد شد. با توجه به یافته‌های تحقیق می‌توان چنان عنوان کرد که تشعشعات فرابنفش و شوری بالا رشد جلبک را کاهش می‌دهند ولی باعث ارتقای سنتز اسیدهای چرب بلند زنجیره غیر اشباع می‌شوند.

کلید واژگان: ریزجلبک، تنش، شوری، اسیدهای چرب

مقدمه

ریز جلبک‌ها به عنوان منابع مهم تولید ترکیبات بیوشیمیایی با ارزش از جمله رنگدانه، پروتئین و لیپیدها محسوب می‌شوند که در صنایع مختلف غذایی، پزشکی، بهداشتی، آرایشی و تولید سوخت زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Mata et al., 2010). تک‌سلولی‌ها و گیاهان عالی سهم بسیاری در تولید سالانه کاروتنوئیدها را به خود اختصاص می‌دهند. اسیدهای چرب غیر اشباع حاصل از ریز جلبک‌ها نظیر دکوزاهگزانوئیک اسید (DHA)، ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و آراشیدونیک اسید (AA) برای موجودات زنده از جمله لاروهای آبزیان ضروری می‌باشد (Dhanam et al., 2013). ریز جلبک‌ها به واسطه ویژگی‌های کلیدی از جمله اندازه کوچک، هضم آسان، رشد سریع، مقاومت نسبت به شرایط سخت و توان تولید ترکیبات بیوشیمیایی، در صنعت آبزی پروری از جایگاه خاصی برخوردارند (FAO, 2007). جلبک‌های میکروسکوپی *Dunaliella*، *Spirulina* sp. و *Haematococcus* sp. به طور گسترده در پرورش میگو، ماهیان دریایی و ماهیان زینتی استفاده می‌شوند (Reshma et al., 2010). نتایج به دست آمده از جلبک‌ها، درصد بالایی از تولید متابولیت‌های اولیه و ثانویه از جمله تولید ۷۰-۵۰ درصد پروتئین، ۳۰ درصد لیپید، بیش از ۴۰ درصد گلیسرول، ۱۴-۸ درصد کاروتن و مقدار زیادی از انواع ویتامین‌ها را نشان می‌دهد (Priyadarshani and Rath, 2021). جلبک سبز تک سلولی *Dunaliella salina* متعلق به راسته ولوکالس (Volvocales) می‌باشد که با توجه به خصوصیات ریخت‌شناختی، این جلبک به دلیل فقدان دیواره سلولی و متحرک و شورپسند بودن، جزء جلبک‌های با اهمیت در صنعت آبزی پروری محسوب می‌شود (Tran et al., 2014; Oren, 2005). این جلبک می‌تواند تحت شرایط محدود کننده از قبیل شوری زیاد، دمای بالا و یا کاهش مواد مغذی مقادیر زیادی بتا کاروتن تولید کند (Raja et al., 2007). به جز ویژگی‌های منحصر به فرد جلبک‌های تک سلولی که اشاره شد، معیارهای مختلف دیگری نیز وجود دارد که در انتخاب انواع جلبک سبز جهت کشت، مورد توجه قرار می‌گیرد که میزان حجم زی‌توده تولید شده در واحد زمان در شرایط رشد طبیعی جلبک، انواع اسیدهای چرب تولید شده، میزان تحمل در برابر تنش‌های محیطی مانند دما، تابش، شوری و امکان رقابت با سایر گونه‌های جلبکی

و میکروارگانیسم‌های محیط از مهم‌ترین موارد می‌باشد (Thurakit et al., 2018). همچنین می‌توان به مقاومت در برابر انواع آلودگی‌های محیطی و امکان استفاده از مواد مغذی مانند فسفر و نیتروژن موجود در زه آب کشاورزی، سهولت برداشت و فرآوری زی‌توده، سهولت آنالیز، استخراج و خالص‌سازی چربی نیز اشاره نمود (Mata, 2010). در زمینه کشت جلبک‌ها، مهندسی متابولیک با تغییر شرایط فیزیکی (طیف نوری و شدت نور) و شیمیایی (مانند نیتروژن و شوری) محیط کشت در قالب طرح‌های آزمایشگاهی سعی داشته است که با دستیابی به عوامل تحریک‌کننده مؤثر جهت افزایش محتوای ترکیبات با ارزش، بهترین شرایط مورد نیاز جهت کشت انواع مختلف جلبک‌ها را فراهم کند (Liska et al., 2004). بنابراین لازم است برای ایجاد شرایط مناسب، رفتار گونه‌های مختلف تحت شرایط محیطی گوناگون ارزیابی شود. بیشتر جلبک‌های میکروسکوپی، تحت شرایط تنش، مقادیر بالایی لیپید تولید می‌کنند. همچنین قرار گرفتن طولانی مدت در برابر تابش شدید باعث تبدیل و تجمع انرژی نورانی طی فرآیند فتوسنتز به صورت ذخایر چربی می‌شود (Huerlimann et al., 2010). به عنوان مثال در بررسی جلبک *D. tertiolecta* تحت غلظت شوری بالا، محتوای لیپید تا ۷۰٪ افزایش نشان داده است (Moghimi et al., 2020). از طرفی، آنالیز نرخ رشد مهم‌ترین معیار برای سنجش میزان توانایی بقا و سازگاری جلبک نسبت به شرایط محیط کشت آزمایشگاهی و طبیعی به شمار می‌آید (Pandit et al., 2017). مطالعات نشان داده است که جلبک‌ها پاسخ‌های متفاوتی را در طول موج‌های مختلف نور از خود نشان می‌دهند و می‌توان با تاباندن طول موج بهینه برای گونه‌های مختلف جلبکی در کوتاه‌ترین زمان، بیش‌ترین تولید را برداشت کرد (Sanchez and Voltolina, 2002). امروزه یافتن شرایط تنش‌زای محیطی خاص که منجر به ایجاد شرایط القاکننده تولید و تجمع زیاد متابولیت‌های ثانویه با ارزش در ریز جلبک شود از موارد با ارزش در زمینه بیوتکنولوژی ریز جلبک به حساب می‌آید. تنش شوری یکی از عوامل محیطی اصلی مؤثر بر مسیرهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مربوط به رشد و بقای ریز جلبک‌ها محسوب می‌شود (Ismail et al., 2018; Gogna et al., 2021). ریز جلبک‌ها برای به حداقل رساندن آسیب‌های ناشی از تنش شوری، بسیاری از مکانیسم‌های فیزیولوژیکی،

Pavlova lutheri را بررسی کردند و نشان دادند تابش نورفرابنفش C در دوز ۱۵۰ (میلی ژول بر متر مربع) باعث افزایش میزان استرول ها و آنتی اکسیدان های مختلف در ریز جلبک گردید. تابش UV، منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو می شود که به نوبه خود منجر به ایجاد خلل در فرآیندهای فیزیولوژیکی سلول می شود. ROS های تولید شده در نتیجه اشعه UV عبارتند از: آنیون پروکسید، هیدروژن پروکسید و رادیکال هیدروکسیل. احتمال ایجاد رادیکال های آزاد در مراکز فتوسنتزی بیشتر است (Costa et al., 2000). ROS ها می توانند با مولکول های زیستی مثل پروتئین ها، لیپیدها و مواد ژنتیکی وارد واکنش شوند که در نهایت منجر به جهش مواد ژنتیکی، پراکسیداسیون لیپید و واسرشته شدن پروتئین ها شوند و در اثر اختلال در متابولیسم طبیعی جلبک، منجر به مرگ سلولی می شود (Penny cooke et al., 2004).

در تحقیق حاضر نرخ رشد، میزان چربی کل و ترکیب اسیدهای چرب در ریزجلبک *D. salina*، تحت تأثیر طول موج های مختلف فرا بنفش شامل UV-C و UV-B به صورت مجزا، همزمان و تحت شرایط شوری های مختلف ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ گرم در لیتر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

کشت جلبک دونالیا سالینا (*Dunaliella salina*): ابتدا حجم اولیه جلبک *D. salina* از پژوهشگاه آرتیمیا و آزبی پرووری ارومیه تهیه شد. کشت اولیه در شوری ۱۵۰ گرم در لیتر با استفاده از محیط کشت گیلارد (F/2) (Guillard and Ryther, 1962) و افزودن محلول ویتامین B_{۱۲} و B_۱ به مدت یک هفته در شرایط آزمایشگاهی تحت هوادهی شدید و شرایط آزمایشگاهی (دمای ۲۵±۲ درجه سانتی گراد و شدت روشنایی ۲۰۰۰ لوکس و تابش پیوسته) صورت گرفت. کلنی های تولید شده ابتدا از محیط کشت جامد (آگار) به محیط کشت مایع در حجم کم (لوله های آزمایش ۱۵ میلی لیتری) و بعد از دو هفته به ارلن های ۵۰۰ میلی لیتری و در نهایت در ظروف ۱۰ لیتری کشت انبوه داده شدند. با توجه به تیمارهای شوری بالای محیط کشت (۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ گرم در لیتر) برای افزایش زی توده اولیه از روش Fisher و همکاران (۱۹۹۶) از کشت دو مرحله ای استفاده گردید. در این روش، ابتدا جلبک مزبور در شوری بهینه (۱۵۰ گرم در

متابولیک و مولکولی را فعال می کنند (Wang et al., 2018). این مکانیسم ها شامل تولید و تجمع انواع مختلف متابولیت های اولیه و ثانویه از قبیل لیپیدها و پروتئین ها، ترکیبات فنولی و کربوهیدرات ها می باشد که به عنوان مولکول های ذخیره برای حفظ و بقای ریزجلبک ها و نیز تولید ترکیبات آنتی اکسیدانی کاربردهای فراوان در صنایع غذایی و صنعت دارویی دارند (Anand et al., 2019). علاوه بر شوری سایر عوامل زیست محیطی از جمله تنش نور و روشنایی نیز باعث تولید و انباشتگی متابولیت های با ارزش در جلبک ها می باشد. با توجه به تشدید روز افزون تشعشعات ماورای بنفش در سطح کره زمین، بررسی نقش این عوامل تنش زا بر خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی جلبک دونالیا سالینا حائز اهمیت می باشد. سیستم فتوسنتزی ریزجلبک ها به محیط های مختلف استرس اشعه UV بسیار حساس است. افزایش قابل توجه ROS داخل سلولی، پراکسیداسیون لیپیدی و اکسیداسیون پروتئین در سلول های ریز جلبکی پس از قرار گرفتن در معرض UV-C در مطالعات تأیید شده است و ممکن است مکانیسم های فیزیولوژی و بیوشیمی سلول به طور مستقیم یا از طریق واکنش های حساس از قبیل گونه های اکسیژن (ROS) تولید شده تحت تابش UV آسیب ببینند (Al-Rashed et al., 2016). اشعه فرابنفش خورشیدی به طور قابل توجهی بر یکپارچگی ساختاری و عملکرد زیستی کلی سلول های ریزجلبک تأثیر می گذارد. اجزاء اصلی سلولی مانند DNA، پروتئین ها و لیپیدها عمده ترین اهداف تابش UV می باشند (Rastogi et al., 2019). تحقیقات زیادی در خصوص بررسی کاربرد و فواید اثرات اشعه UV-B و UV-C روی میکروجلبک ها صورت گرفته است. گزارش شده است که کاروتنوئیدهای خاصی در خارج از غشای تیلاکوئیدی سیستم سلولی انباشته می شوند که تنها پس از قرار گرفتن در معرض محیط خاص استرسی مانند اشعه UV سنتز می گردند (El-Baky et al., 2004). نتایج نشان داده است تابش UV-C می تواند به عنوان ابزاری مفید برای القای لیپیدها به ویژه اسیدهای چرب اشباع و تولید کاروتنوئید در چندین سویه ریز جلبک خصوصاً ریزجلبک دونالیا استفاده شود (Salama Faruq Ahmed et al., 2013; Ahmed et al., 2015). و همکارانش (۲۰۱۷) تأثیر تابش فرابنفش C در محدوده دوز ۲۵۰-۵۰ (میلی ژول بر مترمربع) بر میزان استرول جلبک

جلبک، نمونه‌ها بعد از سانتریفیوژ در فالكون‌های ۱۵ میلی‌لیتر استریل شده که قبلاً وزن شده بودند، منتقل و توزین شدند. قسمتی از نمونه‌ها جهت نگهداری و مراحل استخراج و آنالیز اسید چرب به فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل گردید.

آنالیز اسیدهای چرب: مقدار ۴۰۰ میلی‌گرم از نمونه به درون لوله آزمایش درب‌دار منتقل شدند. سپس محلولی شامل HSO_2 ۲/۵ درصد در متانول ۹۸ درصد به نسبت ۷/۷، ۴۰/۱ (تهیه گردید و ۲ میلی‌لیتر از محلول به هر ظرف اضافه شد. درب لوله‌های آزمایش شامل نمونه‌ها، محکم بسته شده و به مدت یک ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. بعد از سرد شدن در دمای اتاق، ۱ میلی‌لیتر هگزان به همراه ۱/۵ میلی‌لیتر NaCl ۰/۹ درصد به نمونه اضافه شد تا اسید چرب متیل‌استر آن (FAME) استخراج شود. سپس نمونه به مدت ۱۰ دقیقه با ۴۰۰۰ در دقیقه، سانتریفیوژ و بخش فوقانی محلول شامل هگزان و متیل‌استر برداشت شد. این مرحله ۳ مرتبه تکرار شد تا حداکثر استخراج متیل‌استر از نمونه‌ها صورت گیرد. سپس توسط دستگاه تقطیر در خلاء، حلال محلول جدا شده و متیل‌استر خالص جهت تزریق به دستگاه کروماتوگرافی گازی آماده گردید (Miquel and Browse, 1992).

برای تحلیل داده‌ها آزمون آماری واریانس دو طرفه استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگوروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) بررسی شد. نتایج به صورت مقادیر میانگین و خطای استاندارد ($\text{Mean} \pm \text{SE}$) گزارش شد. اختلاف بین تیمارها با استفاده از آزمون توکی در سطح آماری $P \leq 0.05$ انجام شد. تمام آنالیزها در نرم‌افزارهای اکسل نسخه ۲۰۱۰ و SPSS نسخه ۱۶ صورت گرفت.

نتایج

براساس نتایج، تراکم سلولی در روز هفتم به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت و در گروه شاهد 2.04×10^4 سلول در میلی‌لیتر ثبت شد که به طور معنی‌داری از سایر تیمارها بیشتر بود و کمترین تعداد سلول در تیمار شوری ۲۰۰ قسمت در هزار تحت اشعه UVB+UVC با اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P \leq 0.05$) (جدول ۱). تراکم سلولی در

تا مراحل نهایی رشد لگاریتمی کشت داده شد. سپس تغلیظ جلبک توسط سانتریفیوژ (۲۵۰۰ دور در دقیقه) به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. در ادامه، جلبک تغلیظ یافته در مقادیر مساوی به شرایط شوری‌های بالاتر در ظروف ۱۰ لیتری حاوی محیط کشت و آب شور اتوکلاو شده (دما ۱۲۱/۵ درجه سانتی‌گراد و زمان ۱۵ دقیقه) منتقل شدند. کشت جلبک در ۱۲ تیمار (هر یک با ۳ تکرار) تحت شوری‌های مختلف ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ گرم در لیتر و با تابش‌های مختلف فرابنفش UV-B ۰/۴۲ میلی‌وات بر سانتی‌متر مربع UV-C ۰/۰۱ میلی‌وات بر سانتی‌متر مربع و تابش هم‌زمان UV-C, UV-B ۰/۴۴ میلی‌وات بر سانتی‌متر مربع، با دوره روشنایی و تاریکی ۱۶:۸ کشت داده شدند. تابش نور فرابنفش از روز دوم آغاز و اجازه داده شد که جلبک به مدت ۲۴ ساعت تحت تابش نور معمولی قرار بگیرد. ظروف حاوی جلبک هر یک روز در میان به مدت ۱ ساعت و ۳۰ دقیقه (در کل ۷۵ ساعت تابش فرابنفش) به مدت ۱۱ روز تحت تیمار قرار گرفتند.

بررسی میزان رشد و تراکم سلولی: به منظور شمارش تعداد سلول در جلبک *D. salina*، پس از تثبیت توسط محلول لوگول، از لام نئوبار (هموسیتومتر) و میکروسکوپ نوری استفاده شد (Hejazi and Wijffels, 2003). شمارش سلولی جلبک *D. salina* برای تمام تیمارها از روز اول صورت گرفت. بدین منظور ۱ میلی‌لیتر از نمونه جلبکی برداشته شد و توسط لام نئوبار طبق رابطه ۱ شمارش شد. شمارش نمونه‌ها یک روز در میان جهت بررسی میزان تراکم انجام شد:

رابطه ۱

تعداد کل سلول‌ها = میانگین تعداد سلول‌های شمارش شده

در ۴ مربع $\times$ (درصد رقت) $\times 10000$

بعد از پایان دوره ۱۱ روزه تیماردهی، تغلیظ نمونه‌ها به وسیله سانتریفیوژ انجام گرفت. مدت زمان سانتریفیوژ نمونه‌ها با توجه به شوری تیمارها متفاوت بود به طوری که سانتریفیوژ شاهد با شوری ۱۵۰ (گرم در لیتر) با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت و زی‌توده رسوب شده تنها یک مرتبه با آب مقطر شستشو داده شد ولی سانتریفیوژ نمونه‌ها تحت تیمار شوری‌های بالاتر به دلیل معلق ماندن جلبک‌ها در محیط و عدم ته‌نشینی کامل، با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه برای ۱۰ دقیقه انجام شد. سپس جهت حذف نمک، ۲-۳ بار شستشو داده شد. جهت محاسبه زی‌توده ریز

جدول ۱- رشد و تراکم ریزجلیک *Dunaliella Salina* تحت تیمارهای مختلف شوری و فرا بنفش (تعداد سلول‌ها بر حسب 10^4 می‌باشد)

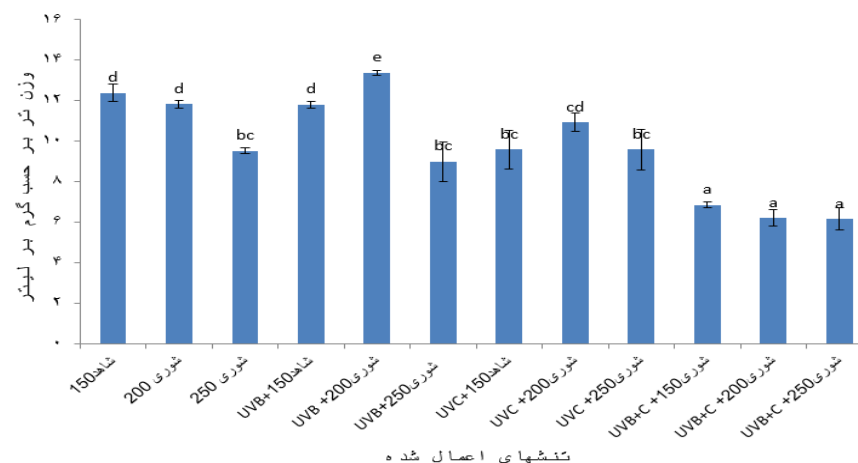
نمونه‌ها	روز ۱	روز ۳	روز ۵	روز ۷	روز ۹	روز ۱۱
شاهد	$148 \pm 0/0$	$173 \pm 7/1$	$187/75 \pm 1/1$	$204/25 \pm 2/4$	$198/00 \pm 1/5$	$174/75 \pm 2/2$
شوری ۲۰۰	$148 \pm 0/0$	$19 \pm 2131/25$	$142/50 \pm 1/5$	$180/25 \pm 3/3$	$156/00 \pm 3/0$	$132/00 \pm 3/0$
شوری ۲۵۰	$148 \pm 0/0$	$121/25 \pm 1/1$	$121/25 \pm 2/1$	$160/00 \pm 2/2$	$142/00 \pm 2/2$	$113/00 \pm 1/7$
UVB-۱۵۰	$148 \pm 0/0$	$145/25 \pm 1/5$	$163/00 \pm 1/1$	$198/25 \pm 3/0$	$179/50 \pm 3/0$	$158/00 \pm 1/7$
UVB-۲۰۰	$148 \pm 0/0$	$131/25 \pm 0/7$	$141/25 \pm 1/1$	$190/00 \pm 1/5$	$163/50 \pm 1/5$	$150/00 \pm 3/0$
UVB-۲۵۰	$148 \pm 0/0$	$123/00 \pm 0/0$	$137/00 \pm 1/7$	$188/50 \pm 3/1$	$150/75 \pm 1/9$	$143/50 \pm 2/2$
UVC-۱۵۰	$148 \pm 0/0$	$136/75 \pm 4/1$	$161/50 \pm 2/2$	$187/50 \pm 1/5$	$148/25 \pm 1/8$	$137/50 \pm 0/8$
UVC-۲۰۰	$148 \pm 0/0$	$132/25 \pm 3/7$	$154/75 \pm 0/4$	$178/50 \pm 1/5$	$156/50 \pm 3/1$	$151/75 \pm 1/8$
UVC-۲۵۰	$148 \pm 0/0$	$121/25 \pm 2/1$	$110/50 \pm 2/2$	$165/50 \pm 2/2$	$142/00 \pm 2/2$	$117/50 \pm 3/1$
UVB+UVC-۱۵۰	$148 \pm 0/0$	$120/50 \pm 0/4$	$153/50 \pm 0/8$	$152/00 \pm 3/4$	$146/50 \pm 3/1$	$132/00 \pm 0/0$
UVB+UVC-۲۰۰	$148 \pm 0/0$	$119/75 \pm 1/1$	$143/00 \pm 1/7$	$150/00 \pm 0/0$	$142/50 \pm 1/5$	$126/00 \pm 3/0$
UVB+UVC-۲۵۰	$148 \pm 0/0$	$116/50 \pm 0/8$	$127/00 \pm 4/5$	$144/50 \pm 2/2$	$135/75 \pm 0/7$	$116/50 \pm 1/7$

نمونه کنترل نسبت به سایر نمونه‌ها بیش‌ترین مقدار را نشان داد به‌طوری‌که در روز هفتم، شمارش نمونه کنترل با تعداد $10^4 \times 204/25$ سلول در میلی‌لیتر و نمونه تیمار شده در شرایط UVB+UVC-۲۰۰ کمترین میزان را نشان داد. در سایر تیمارها نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P \leq 0/05$). شکل ۱ وزن تر محاسبه شده برای نمونه‌های تیمار در شوری ۲۰۰ و ۲۵۰ گرم در لیتر و پرتو فرابنفش C+B، C و B روز هفتم نشان داده شده است. اختلاف معنی‌دار بین تیمار ۲۰۰-UVB نسبت به سایر نمونه‌ها مشاهده شد ($P \leq 0/05$). اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای شوری ۲۵۰ با UVC-۲۵۰، UVB-۲۵۰ و UVC-۱۵۰ مشاهده نشد ($P \leq 0/05$). در مقایسه با نمونه کنترل تیمار UVB-۲۰۰ بیش‌ترین میزان وزن تر و تیمارهای UVB+UVC و تیمارهای هم‌زمان UVB+UVC با شوری‌های ۲۰۰ و ۲۵۰ مقادیر کمتری را نشان دادند.

با توجه به یافته‌های تحقیق در تمام تیمارها میزان اسید چرب C۱۶:۰ (اسید پالمیتیک) نسبت به سایر اسیدهای چرب به مقادیر بیش‌تری سنتز شده است. در بین تیمارها این اسید چرب در شوری ۲۵۰ بیش‌ترین مقدار و در تیمار UVC+۲۰۰ کم‌ترین درصد را به‌خود اختصاص داد. بین نمونه شاهد و تیمارهای UVC+۲۰۰، UVB+۲۵۰ و UVC+۲۵۰ اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد در حالی‌که در بقیه تیمارها نسبت به نمونه شاهد اختلاف معنی‌دار بود ($P \leq 0/05$). مقدار اسید چرب لینولئیک در تیمارهای UVB-۲۰۰ و UVC-۱۵۰ و

شوری ۲۵۰ گرم در لیتر به‌طور معنی‌داری از تیمار شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی بیش‌تر بود همچنین مقادیر لینولئیک اسید فقط در تیمارهای UVB-۲۰۰ و UVB+UVC در مقایسه با تیمار شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بودند ($P \leq 0/05$) (جدول ۲). بیش‌ترین میزان اسید چرب اشباع شده (SFA)، در شوری ۲۵۰ گرم در لیتر ۵۲/۷۵ درصد و تیمار ۱۵۰-UVB+UVC ۵۱/۸۳ درصد مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد (۳۷/۷۳ درصد) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بودند ($P \leq 0/05$).

اسیدهای چرب غیر اشباع تک پیوندی (MUFA) در تیمار UVB-۲۰۰ بیش‌ترین (۳۸/۲۰) و در UVB+UVC-۲۰۰ کم‌ترین (۱۶/۸۷) درصد را به‌خود اختصاص دادند که در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر و کمتر بودند ($P \leq 0/05$). بالاترین غلظت PUFA در تیمارهای UVB-۲۰۰ و UVB+UVC-۲۰۰ مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار بودند ($P \leq 0/05$). مقادیر PUFA (n-۶) و PUFA (n-۳) به‌ترتیب در تیمارهای UVC-۱۵۰ و UVB+UVC-۲۰۰ به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد مقادیر بیش‌تر بودند ($P \leq 0/05$). بیش‌ترین مقدار چربی کل در تیمارهای شوری بالا بدون پرتو فرابنفش و هم‌زمان تحت پرتو فرابنفش به‌دست آمد که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند ($P \leq 0/05$) (جدول ۳).



شکل ۱- میزان وزن تری توده کل تولیدشده در تیمارهای اعمال شده در روز ۷ رشد (حروف لاتین غیر مشابه در نمودار نشانه معنی‌دار بودن می‌باشد)

جدول ۲- نتایج مربوط به انواع اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع گزارش شده در تیمارهای اعمال شده شوریه‌های ۲۰۰ و ۲۵۰ گرم در لیتر و تیمارهای UV C,B,C+B. (میانگین اسیدچربها برحسب درصد وزن تر نمونه‌ها محاسبه شده است)

تیمارها	C18:3n3	C18:2n6cis	C18:1n7	C18:0	C18:In9	C17:0	C16:In7	C16:0	C14:In5	C14:0
شاهد ۱۵۰	۱۷/۹۲±۰/۳۲g	۱۱/۱۴±۰/۲۷def	۳/۶۷±۰/۵۳abc	۱۳/۱۸±۰/۲cd	۳/۸۱±۰/۳۲b	۷/۷۷±۰/۳۳e	۲/۷۱±۰/۱۶ab	۲۲/۱۳±۰/۲۰a	۱۰/۵۰±۰/۲۷e	۴/۰۲±۰/۱۷cd
شوری ۲۰۰	۹/۷۷±۰/۲۴c	۹/۴۰±۰/۲۷ab	۲/۷۷±۰/۲۳a	۱۵/۸۴±۰/۱۶f	۴/۶۰±۰/۲۴bcd	۴/۸۹±۰/۳۲b	۲/۶۳±۰/۲۲ab	۲۶/۲۱±۰/۱۶c	۹/۸۶±۰/۲۱e	۵/۴۶±۰/۱۵f
شوری ۲۵۰	۱۱/۲۴±۰/۱۷b	۱۲/۳۰±۰/۳۴g	۲/۸۵±۰/۳۷a	۱۳/۹۱±۰/۱۸de	۵/۰۳±۰/۴۷cde	۷/۹۶±۰/۳۲d	۲/۰۷±۰/۲۱a	۳۵/۷۰±۰/۱۸f	۴/۸۹±۰/۳۴c	۴/۰۶±۰/۲۲cd
UVB-150	۱۵/۷۵±۰/۱۷f	۱۰/۳۲±۰/۳۲bcd	۳/۹۵±۰/۳۹bc	۱۲/۸۶±۰/۳۳c	۴/۳۹±۰/۱۷bc	۱۰/۴۳±۰/۱۹e	۳/۸۷±۰/۲۲cd	۲۸/۲۲±۰/۳۲d	۲/۳۲±۰/۲۲b	۴/۹۰±۰/۱۷df
UVB-200	۲۰/۰۵±۰/۱۷h	۱۲/۰۰±۰/۲۲fg	۳/۴۴±۰/۳۲abc	۱۴/۱۸±۰/۲۲e	۴/۳۸±۰/۱۷bc	۱۰/۶۳±۰/۱۶e	۴/۱۸±۰/۲۲cd	۲۶/۲۳±۰/۲۲c	۲/۲۱±۰/۱۶b	۲/۷۱±۰/۱۶ab
UVB-250	۱۳/۸۶±۰/۳۷e	۹/۶۱±۰/۳۲abc	۲/۸۳±۰/۴۷a	۱۳/۹۷±۰/۲۲de	۳/۹۲±۰/۴۷b	۰/۰۰	۲/۶۰±۰/۱۹ab	۲۲/۳۰±۰/۲۲a	۹/۶۹±۰/۱۷e	۵/۱۶±۰/۲۷ef
UVC-150	۱۵/۲۱±۰/۲۳f	۱۳/۹۶±۰/۳۲h	۴/۹۴±۰/۳۲d	۱۷/۷۰±۰/۱۹g	۵/۳۷±۰/۱۶de	۷/۲۷±۰/۲۲d	۳/۸۷±۰/۴۳cd	۲۵/۶±۰/۱۹bc	۴/۱۴±۰/۱۶c	۱/۹۴±۰/۲۲a
UVC-200	۵/۴۶±۰/۱۶a	۹/۷۵±۰/۲۷abc	۴/۱۴±۰/۴۲cd	۱۷/۲۵±۰/۱۶g	۵/۵۱±۰/۲۷de	۶/۰۳±۰/۲۷c	۴/۳۲±۰/۱۶cd	۲۱/۶۷±۰/۱۶a	۱۲/۴۹±۰/۱۶f	۸/۷۰±۰/۳۵g
UVC-250	۶/۹۹±۰/۱۶b	۹/۸۰±۰/۲۲abc	۳/۱۳±۰/۳۲ab	۱۹/۰۶±۰/۱۹h	۵/۷۶±۰/۳۲ef	۵/۹۰±۰/۳۲c	۳/۵۰±۰/۱۶bc	۲۲/۱۳±۰/۱۹a	۱۰/۱۳±۰/۱۶e	۵/۱۰±۰/۱۹ef
UVB+UVC 150	۱۵/۵۲±۰/۲۲f	۹/۰۴±۰/۱۶a	۵/۰۳±۰/۲۸d	۸/۶۲±۰/۲۲b	۲/۱۰±۰/۲۷a	۱۱/۹۰±۰/۲۲f	۵/۳۷±۰/۲۳e	۳۴/۶۶±۰/۲۲e	۲/۶۱±۰/۱۶b	۳/۱۷±۰/۲۷bc
UVB+UVC 200	۲۳/۴۷±۰/۱۶i	۱۰/۵۲±۰/۳۲cde	۳/۵۱±۰/۱۶abc	۷/۵۹±۰/۲۲a	۰/۰۰	۲/۹۶±۰/۳۷a	۴/۶۱±۰/۱۶e	۲۴/۹۵±۰/۲۲b	۱/۱۶±۰/۲۷a	۱/۹۰±۰/۳۲a
UVB+UVC 250	۱۵/۵۰±۰/۳۲f	۱۱/۴۰±۰/۳۲efg	۳/۹۲±۰/۲۷bc	۱۷/۵۴±۰/۳۲g	۶/۶۲±۰/۳۲f	۵/۶۱±۰/۲۷bc	۲/۹۴±۰/۳۲ab	۲۵/۹۹±۰/۳۲c	۶/۰۳±۰/۳۲d	۴/۴۵±۰/۱۶de

جدول ۳- نتایج مربوط به اسیدهای چرب اشباع شده (SFA) اسیدهای چرب غیر اشباع تک پیوندی (MUFA) و اسیدهای چرب غیر اشباع چند پیوندی (PUFA) تحت تیمارهای مختلف برحسب میلی گرم

بر گرم وزن تر

mg Lipid/g dry wt.	Sum SFA	Sum MUFA	Sum PUFA	PUFA N-6	PUFA N-3	تیمارها
۵۵/۶±۰/۳۲ ^b	۳۷/۷۳±۰/۸۲ ^b	۳۰/۰۶±۰/۲۷ ^f	۲۹/۰۶±۰/۵۸ ^f	۱۱/۱۴±۰/۲۷ ^{def}	۱۷/۹۲±۰/۱۹ ^g	شاهد ۱۵۰
۱۰۲/۴±۰/۲۴ ^e	۴۱/۱۵±۰/۸۲ ^{cd}	۳۱/۰۹±۰/۲۷ ^g	۱۹/۱۷±۰/۳۲ ^b	۹/۴۰±۰/۳۲ ^{abc}	۹/۷۷±۰/۱۹ ^C	شوری ۲۰۰
۹۶/۸±۰/۴۷ ^{de}	۵۲/۷۵±۰/۶۲ ^g	۲۳/۷۱±۰/۳۴ ^{cd}	۲۳/۵۴±۰/۷۳ ^c	۱۲/۳۰±۰/۲۷ ^g	۱۱/۲۴±۰/۲۷ ^d	شوری ۲۵۰
۲۹/۲±۰/۱۷ ^a	۴۷/۹۳±۰/۸۱ ^f	۲۳/۰۱±۰/۳۲ ^c	۲۶/۰۷±۰/۷۳ ^{de}	۱۰/۳۲±۰/۴۷ ^{bcd}	۱۵/۷۵±۰/۲۷ ^f	UVB-۱۵۰
۳۷/۲±۰/۱۷ ^a	۴۳/۹۵±۱/۱۶ ^e	۲۴/۰۰±۰/۲۲ ^d	۳۲/۰۵±۰/۷۳ ^g	۱۲/۰۰±۰/۳۲ ^{fg}	۲۰/۰۵±۰/۳۲ ^h	UVB-۲۰۰
۶۴/۸±۰/۴۷ ^c	۳۱/۳۹±۰/۹۷ ^a	۲۹/۰۹±۰/۳۲ ^e	۲۳/۴۷±۰/۷۳ ^c	۹/۶۱±۰/۳۵ ^{abc}	۱۳/۸۶±۰/۲۷ ^e	UVB-۲۵۰
۵۰/۴±۰/۱۶ ^b	۴۰/۱۸±۱/۱۶ ^{bc}	۳۰/۶۵±۰/۳۲ ^{fg}	۲۹/۱۷±۰/۶۸ ^f	۱۳/۹۶±۰/۳۲ ^h	۱۵/۲۱±۰/۱۶ ^f	UVC-۱۵۰
۵۳/۲±۰/۲۷ ^b	۴۱/۹۲±۱/۲۶ ^{bcd}	۳۸/۲۰±۰/۲۷ ⁱ	۱۵/۲۲±۰/۵۸ ^a	۹/۷۵±۰/۲۷ ^{abc}	۵/۴۶±۰/۳۷ ^a	UVC-۲۰۰
۶۹/۲±۰/۳۲ ^c	۳۸/۸۹±۱/۲۷ ^{bc}	۳۵/۸۲±۰/۲۲ ^h	۱۶/۷۹±۰/۵۸ ^a	۹/۸۰±۰/۲۲ ^{abc}	۶/۹۹±۰/۳۷ ^b	UVC-۲۵۰
۳۰/۴±۰/۲۷ ^a	۵۱/۸۳±۱/۳۲ ^g	۲۱/۶۳±۰/۱۶ ^b	۲۴/۵۶±۰/۶۳ ^{cd}	۹/۰۴±۰/۱۹ ^a	۱۵/۵۲±۰/۲۷ ^f	UVB+UVC ۱۵۰
۶۵/۶±۰/۰۵ ^c	۲۹/۸۱±۱/۲۷ ^a	۱۶/۸۷±۰/۳۲ ^a	۳۳/۹۹±۰/۴۴ ^h	۱۰/۵۲±۰/۲۲ ^{cde}	۲۳/۴۷±۰/۲۲ ⁱ	UVB+UVC ۲۰۰
۴۱/۶±۰/۳۲ ^{ab}	۴۲/۶۷±۱/۲۶ ^{de}	۳۰/۴۳±۰/۳۲ ^{fg}	۲۶/۹۰±۰/۵۳ ^e	۱۱/۴۰±۰/۳۲ ^{efg}	۱۵/۵۰±۰/۲۲ ^f	UVB+UVC ۲۵۰

حروف لاتین غیر مشابه در هر ردیف نشانه معنی دار بودن می باشد

بحث

جلبک سبز *Dunaliella salina* می‌تواند با کمک مکانیسم‌های خاصی به‌عنوان یک ارگانیسم مقاوم، به شوری‌های بالا سازگار شود. با توجه به نتایج مکانیسم‌های تحمل شوری و تنش اشعه فرابنفش در جلبک *D. salina*، دو ویژگی برای اسیدهای چرب در این مطالعه شامل تحریک قابل توجهی در سنتز اسیدهای چرب چند غیر اشباع (PUFA) تحت شرایط نور فرابنفش خصوصاً تابش فرابنفش UV-B و ترکیب UVB+UVC و افزایش وزن سلولی در شرایط شوری بالا و شدت تابش‌های UV اعمال شده مشاهده شد. نتایج نشان داد که *D. salina* در شرایط شوری ۱۵۰ گرم در لیتر (تیمار شاهد) نسبت به سایر تیمارها رشد بهتری داشته است به‌طوری‌که حداکثر رشد در روز هفتم (حدود ۲/۰۴ میلیون سلول در هر میلی‌لیتر) به‌دست آمد که نسبت به سایر تیمارهای اعمال شده اختلاف معنی‌دار بود. شوری و شدت تابش نور، دو تنش زیست‌محیطی هستند که به‌صورت شبانه‌روزی و فصلی شرایط زیستی جلبک دونالیا را تحت تأثیر قرار می‌دهند که در این حالت باید ریز جلبک بتواند این تغییرات سریع را به گونه‌ای کنترل کند تا به ساختار سلولی و خصوصاً دستگاه فتوسنتزی آسیب وارد نشود. معنی‌دار بودن تعداد سلول‌ها تحت تیمارهای مختلف اعمال شده نشان‌دهنده سازگاری و توانایی ثبات ساختار سلولی و بقای آن‌ها تحت تنش‌های مختلف است (Fazeli et al., 2006; Narvaez-Zapata et al., 2011). تحقیقات نشان داده است که شوری در غلظت کم برای برخی از عملکردهای متابولیک مفید است و رشد ریزجلبک‌ها را افزایش می‌دهد و شوری در غلظت‌های بالا ممکن است رشد را مهار کند و مرگ سلولی را به‌دنبال داشته باشد (Pandit et al., 2017; Rezayian et al., 2019). نتایج مشابه در تحقیق حاضر نیز تحت شوری‌های ۱۵۰ و ۲۵۰ گرم در لیتر مشاهده شد. کاهش رشد و تراکم ریزجلبک در شوری ۲۵۰ با مطالعات متعددی که به رابطه افزایش غلظت NaCl و کاهش رشد تأکید داشته‌اند، هم‌خوانی دارد (Ji et al., 2018b; Singh et al., 2018). Hounslow و همکاران (۲۰۲۱) کاهش نرخ رشد را در ریزجلبک *Chlamydomonas reinhardtii* تحت شوری بالا گزارش کردند و یکی از دلایل کاهش رشد را تأثیر شوری بالا بر عمل‌کرد متابولیسم‌های سلولی و اختلال در رشد

سلول بیان داشتند. با توجه به افزایش وزن تر نمونه‌ها در تیمار UV-B تحت شوری ۲۰۰ گرم در لیتر، می‌توان نتیجه گرفت که افزایش نرخ رشد ویژه لزوماً به‌معنای افزایش میزان اسید چرب و احتمالاً سایر فرآورده‌های متابولیکی در یک جلبک نیست به‌طوری‌که با وجود افزایش نرخ رشد در نمونه‌های شاهد، داده‌ها نشان‌دهنده افزایش سنتز ترکیبات بیوشیمیایی در نمونه‌های تیمار تحت تنش‌های نور فرابنفش خصوصاً تابش UV-B نسبت به تیمار شاهد بوده است. ریزجلبک جهت مقابله با تنش شروع به سنتز و ذخیره متابولیت‌های ثانویه نظیر انواع اسیدهای چرب غیر اشباع، پروتئین و سایر ترکیبات می‌کند که انباشتگی این متابولیت‌ها باعث افزایش وزن نمونه می‌گردد. در این راستا گزارش‌هایی نیز مبنی بر تأیید نتایج به‌دست آمده وجود دارد که می‌توان به موارد زیر اشاره کرد. Goyal و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه خود در زمینه جلبک *Dunaliella salina* نشان دادند که این جلبک می‌تواند تنش شوری بالا را تحمل کند و مقادیر زیادی لیپید و زی‌توده تولید کند. Jimbo و همکاران (۲۰۲۰) در ریزجلبک *D. tertiolecta* تحت غلظت شوری بالا، افزایش محتوای لیپید را تا ۷۰٪ گزارش کردند. از آن‌جا که بیش‌ترین میزان اسیدهای چرب و محتوای چربی کل در تنش مربوط به نور UVB و ترکیب UVB+UVC مشاهده شد، تأثیر این تنش در تولید و مقابله جلبک از طریق تولید و افزایش محتوای چربی در نتایج مربوط به اسیدهای چرب قابل مشاهده است. Ahmed و همکاران (۲۰۱۵) و Sharma و همکاران (۲۰۱۴) تابش UVC را به‌عنوان یکی از عوامل مؤثر برای القای لیپیدها به ویژه اسیدهای چرب غیر اشباع معرفی کرده‌اند. مطالعات انجام شده در ریزجلبک *Tetraselmis* sp. (Tetraselmis sp.) نشان داده است که استرس اکسیداتیو از جمله اشعه UVC القاء شده و تجمع فیتوسترول باعث تحریک تجمع لیپیدها به‌ویژه اسیدهای چرب غیر اشباع و کاروتنوئیدها می‌شود. گزارش هم‌زمان این تحقیق توسط Sharma و همکاران (۲۰۱۴) تجمع بالای اسیدهای چرب ۳-ω مانند اسید ایکوزاپنتانوئیک (EPA) تحت شرایط UVC در جلبک *Tetraselmis* sp. را نشان داد. در تحقیق حاضر اثری از اسیدهای چرب بلند زنجیره غیر اشباع مانند EPA و DHA در نمونه‌ها مشاهده نشد ولی اسیدهای چرب لینولیک و لینولئیک در تیمارهای UVB تحت شوری ۲۰۰، شوری

میزان SFA در شوری ۲۵۰ گرم در لیتر (۵۲/۷۵ درصد) در مقایسه با شاهد (۳۷/۷۳ درصد) مشاهده شد در حالی که مقادیر PUFA در شوری‌های ۲۰۰ و ۲۵۰ گرم در لیتر به طور معنی‌داری نسبت به کنترل کاهش داشته است. یکی از دلایل اختلاف معنی‌دار بین تیمارها و نمونه شاهد در میزان PUFA، القای استرس اشعه فرا بنفش در تشکیل آنتی‌اکسیدان در ریز جلبک‌ها می‌باشد که باعث افزایش سنتز PUFA می‌شود (Liang et al., 2006). از طرفی کاهش میزان اسیدهای چرب PUFA در تیمارهای اعمال شده شوری‌های ۲۰۰ و ۲۵۰ گرم در لیتر UVC و UVB نسبت به نمونه شاهد می‌تواند به دلیل پراکسیداسیون غشای سلولی تحت استرس شوری و تابش باشد که با نتایج Lavajoo و Taherizadeh (۲۰۱۶) که بیان داشته‌اند اشعه فرابنفش با استفاده از پراکسیداسیون لیپید می‌تواند با کاهش میزان چربی، بر یکپارچگی سلول‌های ریزجلبکی تأثیر بگذارد، مطابقت دارد. علاوه بر استرول‌ها، تابش UVC باعث القاء سایر متابولیت‌های ارزش‌نظیر انواع میکوسپورین‌ها، انواع کاروتنوئیدها، ترکیبات فنولی و اسیدهای چرب می‌گردد (Faruq, 2017) این ترکیبات نقش غالب در ترمیم آسیب غشایی سلول ریزجلبک‌ها را دارند. لازم به ذکر است بعضی از این ترکیبات در شرایط شوک اسمزی بسیار کم تولید شده‌اند و این نشان‌دهنده نقش اصلی آن‌ها در فعالیت ترمیم غشای سلولی آسیب دیده و حفظ یکپارچگی غشاهای تیلاکوئید می‌باشد. اشعه UVB بر روی DNA، ساختمان و عمل غشاهای زیستی، فتوسنتسم‌ها، پروتئین‌ها، رنگدانه‌های فتوسنتزی و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهان تأثیر می‌گذارند (He et al., 2002) و در نتایج به‌دست آمده نیز باعث کاهش رشد سلولی در تیمارها شد. با توجه به افزایش مقادیر وزن تر در تیمارهای UVB که بیانگر افزایش سنتز متابولیت‌های ثانویه بود و داده‌های مربوط به تنوع انواع اسیدهای چرب سنتز شده و معنی‌دار بودن درصد اسیدهای چرب کل، می‌توان بیان داشت که ریزجلبک با سنتز اسیدچرب‌های غیر اشباع و تغییر در متابولیسم‌های مربوطه در برابر تنش‌های اعمال شده مقاومت نشان داده است (Jansen, 2002). افزایش اسیدهای چرب غیر اشباع تک پیوندی می‌تواند به دلیل کاهش غلظت نیتروژن در محیط کشت باشد (He et al., 2002). اسیدهای چرب غیر اشباع و اسیدهای چرب اشباع به‌ویژه در غشای اندامک‌ها به‌عنوان مونومرهای

۲۵۰ و ترکیب UVB و UVC تحت شوری ۲۰۰ گرم در لیتر افزایش معنی‌داری نشان دادند. Teh و همکاران (۲۰۲۱) در مطالعه روی جلبک *Chlorella vulgaris* تحت تنش شوری، افزایش میزان اسیدهای چرب C18:1n و C18:2n را گزارش کردند. اسیدهای چرب C18:1n و C18:2n به‌راحتی توسط آنزیم‌های ۶-3/ω- FAD (fatty acid desaturase) به C18:3n تبدیل می‌شود که یک تعدیل‌کننده حیاتی در رشد و پاسخ به استرس محسوب می‌شود. به‌طور کلی، لینولنیک اسید به‌عنوان یک پیش‌ساز مسیر اکسی لیپین شامل اسید جاسمونیک (Jasmonic acid (JA) عمل می‌کند (Gognam et al., 2021). جاسمونات یک تنظیم‌کننده رشد محسوب می‌شود که با تأثیر بر سنتز پروتئین، متابولیسم اسیدهای چرب و مقاومت در برابر استرس، رشد و تکثیر جلبک‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Christov et al., 2001). تجمع لیپیدها، به‌ویژه لیپیدهای خنثی، نقش مهمی در حفظ و نگهداری یکپارچگی غشاء در پاسخ به استرس شوری دارند و باعث کاهش فشار اسمزی و تراوایی غشاء سلول می‌شود (Ji et al., 2018). Soufiane Fal و همکاران (۲۰۲۲) در بررسی تغییرات متابولیک ریز جلبک *C. reinhardtii* تحت تنش شوری نشان دادند که افزایش شوری منجر به افزایش محتوای متیل استر اسیدهای چرب و اسیدهای چرب غیر اشباع نسبت به شاهد می‌گردد که در اکثر موارد با یافته‌های به‌دست آمده در این تحقیق به‌جز جلبک‌هایی که تحت تیمارهای شوری ۲۰۰ گرم در لیتر در مجاورت UVB و UVB+UVC تکثیر یافتند که بیش‌ترین غلظت اسیدهای چرب غیر اشباع در آن‌ها یافت شد، مطابقت دارد. کاهش میزان اسیدهای چرب غیر اشباع در سایر تیمارها در تحقیق حاضر ممکن است به دلیل مکانیسم سازگاری و مقاومت ریزجلبک *Dunaliella salina* در برابر تنش‌های اعمال شده باشد. Thanapa و همکاران (۲۰۱۹) در بررسی اثر تنش‌های ناشی از نمک بر پروفایل اسیدهای چرب در ریزجلبک *Chlamydomonas reinhardtii* نشان دادند که استرس ناشی از NaCl در روز هفتم از دوره تیمار به‌طور قابل ملاحظه‌ای SFA را نسبت به کنترل افزایش داده است. همچنین میزان PUFA با افزایش شوری در روز ۷ نسبت به نمونه کنترل کاهش نشان داد که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد به‌طوری‌که در نتایج به‌دست آمده، بیش‌ترین

غشایی عمل می‌کنند (Soufiane et al., 2022). مطالعات نشان داده است که کاهش PUFA و تقسیم‌بندی SFA با زنجیره بلند، توانایی سلول در تولید اندامک‌های جدید را تحت تنش‌های مختلف مهار می‌کند، در نتیجه تکثیر سلولی نیز محدود می‌شود (Wan Afifudeen et al., 2002; Jump, 2021). لازم به ذکر است که تغییر شرایط محیطی در تیمارها باعث تنوع اسیدهای چرب، تفاوت در میزان وزن نمونه‌های تحت تیمار و مقدار چربی کل ریزجلبک می‌شود که در این صورت علاوه بر تأثیر بر تولید چربی و میزان رشد، کیفیت لیپید ریزجلبک‌ها را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد.

نتایج سایر تحقیقات نقش عواملی از جمله روش استخراج (Lee et al., 2010)، مدت زمان دوره کشت ریزجلبک (Salim et al., 2013) و تأثیر شرایط محیط آزمایشگاهی مانند شدت نور، شدت هوادهی، انتخاب نوع محیط کشت را نباید نادیده گرفت (Takagi et al., 2006; Li et al., 2008). براساس نتایج به‌دست آمده از این تحقیق می‌توان بیان کرد که تشعشعات فرا بنفش و شوری بالای ۱۵۰ گرم در لیتر، رشد جلبک را کاهش می‌دهند ولی باعث ارتقای سنتز اسیدهای چرب بلند زنجیره غیر اشباع می‌شود.

منابع

- Ahmed F., Zhou W., Schenk P.M. 2015. *Pavlova lutheri* is a high-level producer of phytosterols. *Algal Research* 10(4), 210-217.
- Anand V., Kashyap M., Samadhiya K., Ghosh A., Kiran B. 2019. Salinity driven stress to enhance lipid production in *Scenedesmus vacuolatus*: a biodiesel trigger? *Biomass Bioenergy* 127(4), 105252.
- Azachi M., Sadka A., Fisher M., Goldschlag P., Gokhman I., Zamir A. 2002. Salt induction of fatty acid elongase and membrane lipid modifications in the extreme halotolerant alga *Dunaliella salina*. *Plant physiology* 129(3), 1320-1329.
- Bai X., Naghdi F.G., Ye L., Lant P., Pratt S. 2014. Enhanced lipid extraction from algae using free nitrous acid pretreatment. *Bioresource Technology* 159(4), 36-40.
- Christov C., Pouneva I., Bozhkova M., Toncheva T., Founadzieva S., Zafirova T. 2001. Influence of temperature and methyl jasmonate on *Scenedesmus uncrassulatus*. *Biologia Plantarum* 44(3), 367-371.
- Dhanam D.S., Dhandayuthapani K. 2013. Original Research Article Optimization of-Carotene production by Marine Microalga-*Dunaliella salina*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 2(3), 37-43.
- FAO. 2007. Manual on the production and use of Live Food for Aquaculture. New York, UN. 361 p.
- Faruq A., Peer M. 2017. UV-C radiation increases sterol production in the microalga *Pavlova lutheri*. *Phytochemistry* 139(4), 25-32.
- Fazeli M.R., Tofighi H., Samadi N., Jamalifar H., Fazeli A. 2006. Carotenoids accumulation by *Dunaliella tertiolecta* (Lake Urmia isolate) and *Dunaliella salina* (ccap 19/18 and wt) under stress conditions. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 14(3), 146-150.
- Fisher M., Pick U., Zamir A. 1994. A salt-induced 60-kilodalton plasma membrane protein plays a potential role in the extreme halotolerance of the alga *Dunaliella*, *Journal of Plant Physiology* 106(4), 1359-1365.
- Gaubert J., Payri C.E., Vieira C., Solanki H., Thomas O.P. 2019. High metabolic variation for seaweeds in response to environmental changes: a case study of the brown algae *Lobophora* in coral reefs. *Scientific Reports* 9(9), 1-12.
- Gogna M., Choudhary A., Mishra G., Kapoor R., Bhatla S.C. 2020. Changes in lipid composition in response to salt stress and its possible interaction with intracellular Na-K ratio in sunflower *Helianthus annuus L.* *Environmental and Experimental Botany* 20(5), 104-147.
- Gogna M., Choudhary A., Mishra G., Kapoor R., Bhatla S.C. 2021. Changes in lipid composition in response to salt stress and its possible interaction with intracellular Na⁺-K⁺ ratio in sunflower *Helianthus annuus L.* *Environmental and Experimental Botany* 178(5):104147.
- Goyal A. 2007. Osmoregulation in *Dunaliella*, Part I: Effects of osmotic stress on photosynthesis, dark respiration, and glycerol metabolism in *Dunaliella tertiolecta* and its salt-sensitive mutant (HL 25/8). *Plant Physiology and Biochemistry* 45(2), 696-704.
- He M., Ding N.Z. 2020. Plant unsaturated fatty acids: multiple roles in stress response. *Front. Plant Science* 11(9), 1-15.
- He Y.Y., Hader D.P. 2002. UV-B-induced formation of reactive oxygen species and oxidative damage

- of the cyanobacterium *Anabaena* sp.: protective effects of ascorbic acid and N-acetyl-L-cysteine. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 66(2), 115-124.
- Hejazi M., Wijffels R. 2003.** Effect of light intensity on β -carotene production and extraction by *Dunaliella salina* in two-phase bioreactors. *Biomolecular Engineering* 20(6), 171-175.
- Hounslow E., Evans C.A., Pandhal J., Sydney T., Couto N., Pham T.K., Gilmour D.J., Wright P.C. 2021.** Quantitative proteomic comparison of salt stress in *Chlamydomonas reinhardtii* and the snow alga *Chlamydomonas nivalis* reveals mechanisms for salt-triggered fatty acid accumulation via reallocation of carbon resources. *Biotechnol. Biofuels* 14(1), 1-25.
- Huang J.J.H., Cheung P.C. K., 2011.** UV-A treatment increases the degree of unsaturation in microalgal fatty acids and total carotenoid content in *Nitzschia closterium* (Bacillariophyceae) and *Isochrysis zhangjiangensis* (Chrysophyceae). *Food Chemistry Journal* 129(3), 783-791.
- Huerlimann R., De Nys R., Heimann K. 2010.** Growth, lipid content, productivity, and fatty acid composition of tropical microalgae for scale-up production. *Biotechnology and Bioengineering* 107(2), 245-257.
- Ismail M.M.S., Piercey-Normore M.D., Rampitsch C. 2018.** Proteomic analyses of the cyanobacterium *Arthrospira* (*Spirulina*) platensis under iron and salinity stress. *Environmental and Experimental Botany* 147(3), 63-74.
- Ji C., Mao X., Hao J., Wang X., Xue J., Cui H., Li R. 2018a.** Analysis of bZIP transcription factor family and their expressions under salt stress in *Chlamydomonas reinhardtii*. *International Journal of Molecular Sciences* 19(1), 1-19.
- Ji X., Cheng J., Gong D., Zhao X., Qi Y., Su Y., Ma W. 2018b.** The effect of NaCl stress on photosynthetic efficiency and lipid production in freshwater microalga-*Scenedesmus obliquus* XJ002. *Science of the Total Environment* 633(3), 593-599.
- Jimbo H., Takagi K., Hirashima T., Nishiyama Y., Wada H. 2020.** Long-chain saturated fatty acids, palmitic and stearic acids, enhance the repair of photosystem II. *International Journal of Molecular Sciences* 21(2), 2-9.
- Jump D.B. 2002.** The biochemistry of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Journal of Biological Chemistry* 277(11), 8755- 8758.
- Lavajoo F., Taherizadeh M. 2016.** Determination of the growth rates of *Spiroulina* and *Chaeatoceros* algae in urban waste sewage and their capability to deplete nitrate and phosphate content in the sewage. *Journal of Applied Sciences & Environmental Management* 20(3), 691-699.
- Lee J.Y., Yoo C., Jun S.Y., Ahn C.Y., Oh H.M. 2010.** Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. *Bioresource Technology* 101(1), 75-77.
- Li Y., Horsman M., Wang B., Wu N., Lan C. 2008.** Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans*. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 81(4), 629-636.
- Liang Y., Beardall J., Heraud P. 2006.** Effects of nitrogen source and UV radiation on the growth, chlorophyll fluorescence and fatty acid composition of *Phaeodactylum tricornutum* and *Chaetoceros muelleri* (Bacillariophyceae). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biolog* 82(3), 161-172.
- Liska A.J., Shevchenko A., Pick U., Katz A. 2004.** Enhanced photosynthesis and redox energy production contribute to salinity tolerance in *Dunaliella* as revealed by homology-based proteomics. *Journal of Plant Physiology* 136(1), 2806-2817.
- Mata T.M., Martins A.A., Caetano N.S. 2010.** Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14(1), 217-232.
- Miquel M., Browse J. 1992.** *Arabidopsis* mutants deficient in polyunsaturated fatty acid synthesis biochemical and genetic characterization of a plant oleoyl- phosphatidylcholine desaturase. *The Journal of Biological Chemistry* 267(3), 1502-1509.
- Narvaez-Zapata J. A., Rojas-Herrera R., Lopez-Uc Y., Sanchez-Estudillo L. 2011.** Different physiological responses influenced by salinity in genetically related *Dunaliella salina* isolates. *Biotechnology Letters* 33(5), 1021-1026.
- Oren A. 2005.** A hundred years of *Dunaliella* research: 1905-2005. *Saline Systems* 11, 2.
- Pandit P.R., Fulekar M.H., Karuna M.S.L. 2017.** Effect of salinity stress on growth, lipid productivity, fatty acid composition, and biodiesel properties in *Acutodesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris*. *Environmental Science and Pollution Research* 24(5), 13437-13451.
- Priyadarshani I., Rath, B. 2012.** Commercial and industrial applications of micro algae. A review. *Journal of Algal Biomass Utilization* 3(4), 89-100.

- Raja R., Hemaiswarya S., Rengasamy R. 2007.** Exploitation of *Dunaliella* for β -carotene production. *Applied Microbiology and Biotechnology* 4(3), 517-523.
- Reshma R., Devi K.C., Kumar S.D., Santhanam P., Perumal P., Krishnaveni N., Kim M. K. 2021.** Enhancement of pigments production in the green microalga *Dunaliella salina* (PSBDU05) under optimized culture condition. *Bioresource Technology Reports* 14(4), 100672.
- Rezayian M., Niknam V., Faramarzi M.A. 2019.** Antioxidative responses of *Nostoc ellipsosporum* and *Nostoc piscinale* to salt stress. *Journal of Applied Phycology* 31(1), 157-169.
- Salama E.S., Kim H.C., Abou-Shanab R.A.I., Ji M.K., Oh Y.K., Kim S.H., Jeon B.H. 2013.** Biomass, lipid content, and fatty acid composition of freshwater *Chlamydomonas mexicana* and *Scenedesmus obliquus* grown under salt stress. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 36(6), 827–833.
- Salim S., Shi Z., Vermue M.H., Wijffels R.H. 2013.** Effect of growth phase on harvesting characteristics, auto flocculation and lipid content of *Ettlia texensis* for microalgal biodiesel production. *Bioresource Technology* 138(1), 214-221.
- Sanchez-Saavedra M.P., Voltolina D. 2002.** Effect of photon fluence rates of white and blue-green light on growth efficiency and pigment content of three diatom species in batch culture. *Ciencias Marinas* 28(3), 273-279.
- Sharma K., Li Y., Schenk P.M. 2014.** UV-C-mediated lipid induction and settling, a step change towards economical microalgal biodiesel production. *Green Chemistry Journal* 16(7), 3539-3548.
- Sharma N., Fleurent G., Awwad F., Cheng M., Meddeb-Mouelh F., Budge S.M., Germain H., Desgagne-Penix I. 2020.** Red light variation an effective alternative to regulate biomass and lipid profiles in *Phaeodactylum tricornutum*. *Applied Sciences* 10(7), 25-31.
- Singh R., Upadhyay A.K., Chandra P., Singh D.P. 2018.** Sodium chloride incites reactive oxygen species in green algae *Chlorococcum humicola* and *Chlorella vulgaris*: implication on lipid synthesis, mineral nutrients, and antioxidant system. *Bioresource Technology Journal* 270(2), 489-497.
- Soufiane Fal. A.B., Abderahim A., Reda Rabie A.C., Abelaziz Smouni B., Hicham E.L., Arroussi A. (2022).** Salt induced oxidative stress alters physiological, biochemical and metabolomic responses of green microalga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Heliyon Journal* 8(1), 1-11.
- 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.
- Takagi M., Karseno, Yoshida T. 2006.** Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglycerides in marine microalgae *Dunaliella* cells. *Bioscience and Bioengineering* 101(3), 223-226.
- Teh K.Y., Loh S.H., Aziz A., Takahashi K., Effendy A.W.M., Cha T.S. 2021.** Lipid accumulation patterns and role of different fatty acid types towards mitigating salinity fluctuations in *Chlorella vulgaris*. *Scientific Reports*. 11(1), 1–12.
- Thanapa A., Yolani S., Hitoshi I., Thanit P., Sophon S., Hakuto K., Rungaroon W.S. 2019.** Enhanced Lipid Production and Molecular Dynamics under Salinity Stress in Green Microalga *Chlamydomonas reinhardtii* (137C). *Marine Drugs Journal* 17(8), 484-499.
- Thurakit T., Pumas C., Pathom-aree W., Pekkoh J., Peerapornpisal Y. 2018 .** Enhancement of Biomass, Lipid and Hydrocarbon Production from Green Microalga, *Botryococcus braunii* AARL G037, by UV-C Induction, *Chiang Mai Journal of Science* 45 (7), 2637-2651.
- Tran D., Doan N., Louime C., Giordano M., Portilla S. 2014.** Growth, antioxidant capacity and total carotene of *Dunaliella salina* DCCBC15 in a low cost enriched natural seawater medium. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 30(1), 317-322.
- Wan Afifudeen, C.L., Loh, S.H., Aziz, A., Takahashi, K., Effendy, A.W.M., Cha, T.S. 2021.** Double-high in palmitic and oleic acids accumulation in a non-model green microalga, *Messastrum gracile* SE-MC4 under nitrate-repletion and -starvation cultivations. *Scientific Reports* 11(2), 1-14.
- Wang N., Qian Z., Luo M., Fan S., Zhang X., Zhang L. 2018.** Identification of salt stress responding genes using transcriptome analysis in green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *International Journal of Molecular Sciences* 19(11), 1-16.

The effect of salinity, UV-C, UV-B irradiation stress on the growth, fatty acid and lipid class composition in *Dunaliella salina*

Fakhri Ghezelbash¹, Latifa Purakbar^{1*}, Naser Agh², Saber Khodabandeh³

¹Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.

²Artemia & Aquaculture Research Institute, Urmia University, Urmia, Iran.

³Department of Marine Biology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

*Corresponding author: l.pourakbar@urmia.ac.ir

Received: 28. Jan.2023

Accepted: 15. May.2023

Abstract

Dunaliella salina microalgae is a unique eukaryotic microorganism that has a high range of tolerance against environmental fluctuations including salinity, temperature, and light. The aim of this study was to determine the growth factors and content of fatty acids in *D. salina* under salinity and ultraviolet conditions. The experiments were conducted at three different salinities (150, 200 and 250 ppt) under UVB and UVC irradiations in 3 replicates. Algae growth rate and total algae biomass were measured by counting the number of cells every alternate day for 11 days by hemacytometer. The fatty acids profile was measured by gas chromatography and the amount of total fat using a soxhlet device. The growth rate of algae in most of the treatments under high salinity stress, UVB and UVC irradiation was significantly lower compared to the control group ($P \leq 0.05$). The highest cell counts were detected in the control one (2.4 million cells/ml) and UVB-150 treatment (1.98 million cells/ml) on day 7. But despite the higher cell count in the control group, the highest fresh wet weight of algae was obtained in the UVC-200 ppt/salinity group. Substantial differences were detected in the fatty acids profile between the treatments ($P \leq 0.05$). Algae cultured under UVB-200 contained the highest PUFA-n3 (20.05%) and the sum of PUFA (32.05%), while the highest PUFA-n6 (13.96%) was found in the UVC-150 group. Algae cultured at 250 ppt salinity without UV irradiation had the highest level (52.75%) of saturated fatty acids (SFA). It was concluded that UV irradiations and high salinity suppresses the growth but improves the synthesis of polyunsaturated fatty acids.

Keywords: Microalgae, Stress, Salinity, Fatty acids