تولید ریزجلبک دریایی نانوکلروپسیس (*Nannochloropsis* sp.) با بکارگیری نمک‌های معدنی تجاری

غلامرضا رفیعی*، کامران رضایی توابع، نازنین معتمدی

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

*نویسنده مسئول ghrafiee@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۳/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۰

چکیده

جلبک‌ها در مراحل لاروی نقش مهمی در پرورش آبزیان آب‌های شیرین و شور و نیز در تولید ترکیبات مانند پروتیین‌ها، اسیدهای چرب غیر اشباع و رنگدانه‌ها دارند. بنابراین، بسیاری از محققان سعی دارند با ارایه فرمول‌بندی‌های خاص، روند تولید این ریز فعال‌های زیستی را بهبود بخشند. این مطالعه به‌منظور بررسی رشد (تولید بیومس) ریزجلبک دریایی نانوکلروپسیس (*Nannochloropsis* sp.) به روش کشت توده‌ای با استفاده از نمک‌های متنوع مبتنی بر فرمول کشت گیاهان خاک‌زی در شرایط هیدروپونیک و با به‌کار بردن نمک‌های تجاری کشاورزی در مقایسه با نمک‌های معدنی با درجه آنالتیک، مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور، چهار محیط کشت جدید مبتنی بر غلظت‌های مختلفی از فرمول کوپر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد، با ترکیبات معدنی مختلف ساخته شد و با عملکرد محیط شاهد (F/2)، مقایسه شدند. رشد ریزجلبک نانوکلروپسیس در محیط کشت تولیدی با به‌کارگیری غلظت ۲۵ درصد، با تولید $۲/۰۰۱ \times ۱۰^{۶} \pm ۲۳/۴۵ \times ۱۰^{۶}$ (سلول در میلی‌لیتر) نسبت به محیط F/2 با تولید $۱/۲۰۲ \times ۱۰^{۶} \pm ۱۷/۱۵ \times ۱۰^{۶}$ (سلول در میلی‌لیتر) اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P > ۰/۰۵$). نتایج نشان داد که به‌کارگیری فرمولی در حد ۲۵ درصد از محیط کشت کوپر می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب یا فرمول‌بندی و اقتصادی (۹۴ درصد ارزانتر) جدید برای کشت جلبک دریایی نانو کلروپسیس در مقیاس وسیع باشد.

واژگان کلیدی: ریزجلبک دریایی نانوکلروپسیس، محیط‌های کشت، تولید اقتصادی، نمک‌های معدنی، زیست‌توده.

مقدمه

پیش‌بینی می‌شود که میزان رشد تولید آبزیان از سال ۲۰۱۲ تا ۲۰۲۱ به میزان ۳۳ درصد افزایش یابد (FAO, 2018). برای رسیدن به این میزان تولید، نیاز روز افزون به افزایش تولید غذای اولیه آبزیان می‌باشد. در این زمینه، جلبک‌ها به‌عنوان غذای آغازین لارو آبزیان و یا زئوپلانکتون‌ها به‌عنوان غذای زنده مصرفی آن‌ها محسوب می‌شوند (Jad-Allah EI Nabris, 2012). در آبزی‌پروری تولید غذای زنده یکی از چالش‌های پیش‌روی پرورش‌دهندگان است، بنابراین تولید جلبک با ترکیبات تغذیه‌ای خاص اهمیت زیادی دارد. در بیشتر موارد تولید بسیار بالای ریزجلبک از طریق فرمول‌های موجود محیط کشت مانند F/2 (Guillard, 1975)، به‌خصوص در کشت ریزجلبک در مقیاس وسیع هزینه زیادی دارد. بین ۴۰-۳۰ درصد (حداکثر ۷۰ درصد) از هزینه‌های راه‌اندازی تفریخگاه‌ها آبزیان دریایی، به کشت ریزجلبک مربوط است (Heasman *et al*., 2001). محیط کشت پایه برای پرورش جلبک‌های دریایی به‌طور کلی از آب دریا تشکیل شده است که توسط مواد معدنی یا نوترینت‌ها با درجه و کیفیت آنالتیی بهسازی می‌شوند. اصطلاح "نوترینت" به‌طور معمول برای هر عنصر یا ترکیب لازم برای رشد ریزجلبک به‌کار می‌رود. نوترینت‌های شیمیایی با درجه‌بندی آنالتیک شامل بزرگ مغذی‌ها و ریزمغذی‌ها، گران‌ترین ترکیبات لازم برای تولید محیط کشت جلبک‌ها هستند (Molina *et al*., 2003).

در طول چند دهه گذشته، پژوهش‌های زیادی به‌منظور توسعه فرمول‌های جدید کشت گونه‌های مختلف ریزجلبک به‌منظور جایگزینی مواد معدنی با درجه آنالتیک و به‌کارگیری کودهای کشاورزی به عنوان نوترینت انجام شده است. در این راستا مقایسه

نمک‌های تجاری، دریایی و غیردریایی و تاثیر آن‌ها بر رشد جلبک‌هایی مانند*Pavlova salina* و *Dunaliella tertiolecta* نشان داده است که آب دریا اثر بهتری در رشد این جلبک دارد و تنظیم یون‌ها از طریق نمک‌های تجاری مشکل می‌باشد (Barakoni *et al*., 2015). کشت جلبک کلرلا *Chlorella vulgaris* در محیط‌های کشت مختلف نشان داد که نوع محیط کشت می‌تواند در تراکم و ترکیب بیوشیمیایی جلبک نقش داشته باشد (Chia *et al*., 2013). همچنین تاثیر محیط‌های کشت مختلف بر رشد و ترکیب شیمیایی جلبک‌های مختلف مانند *Tetraselmis* sp. و *Nannochloropsis* sp. در محیط کشت‌های مختلف مانند Conway، F/2 ، Walne حاکی از نیاز به تنظیم یونی و تنظیم نسبت بین یون‌ها برای رسیدن به یک محیط کشت ایده‌آل است. ترکیب یونی محیط کشت و نیز نوع نمک مصرفی نقش مهمی را در تولید و ترکیب بیوشیمیای جلبک‌ها دارد (Coutteau, 1996, 2003; Kanlis *et al*., 2004; Bae and Hur, 2011; Jad-Allah EI Nabris, 2012; Loong *et al*., 2013). بنابراین برای کاهش هزینه‌های پرورش جلبک، فرمول‌بندی محیط کشت مبتنی بر بهره‌گیری از نمک‌های ارزان و یا کودهای کشاورزی با حفظ ترکیب غذایی، زمان رسیدن به حاکثر رشد و کاهش طول دوره پرورش یا تولید زی‌توده ضرورت دارد.

یکی از جلبک‌هایی که در تولید آبزی‌پروری دارای اهمیت است، جلبک نانوکلروپسیس *Nannochloropsis* sp. تک سلولی، غیر متحرک، با حدود ۵-۲ میکرومتر اندازه سلولی است که جزو جلبک‌های سبز طلایی است و به رده، *Eustigmatophyceae* تعلق دارد (Rodofi *et al*., 2003). این جلبک یکی از ارزشمندترین فیتوپلانکتون‌ها در زمینه بیوتکنولوژی دریایی بوده و منبع با ارزشی از محصولات طبیعی مختلف مانند ویتامین E (Durmaz, 2007)، کلروفیل α، و رنگدانه‌های شناخته شده Zeaxanthin، Canthaxanthin و Astaxanthin، است (Lubián *et al*., 2000). به علت محتوای بالای اسیدهای چرب مختلف در آن نیز، به‌عنوان ماده خام اولیه برای تولید بیودیزل‌ها به کار می‌رود (Chisti, 2007).

با توجه به نیاز کشور در بخش‌های مختلف صنعتی به‌خصوص در تولید آبزیان، تولید جلبک‌های دریایی با به‌کارگیری دانش بومی و بهره‌گیری از مواد اولیه تولید داخلی ضروری است. در این پژوهش سعی شد از فرمول ارایه شده برای کشت گیاهان در بخش هیدروپونیک با توجه به نسبت‌های مواد معدنی مشخص در فرمول، با استفاده از ترکیبات نیتروژن‌دار ارزان قیمت و تغییر در مواد به‌کار گرفته شده، امکان تولید و کشت جلبک دریایی مورد ارزیابی قرار گیرد. با تغییر درصدهایی از مواد مصرفی، این فرمول‌بندی تغییر و امکان رسیدن به فرمول‌بندی مناسب به‌عنوان محیط کشت جدید مورد بررسی قرار گرفت. بنابراین در این پژوهش، امکان تولید جلبک دریایی نانوکلروپسیس (*Nannochlolorpsis* sp.) با ارایه فرمول‌بندی جدید و به‌کارگیری آن‌ها به‌عنوان محیط کشت بررسی و با محیط کشت استاندارد F/2 مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

تهیه کشت مادری ریزجلبک دریایی نانوکلروپسیس: جلبک نانوکلروپسیس (*Nanochloropsis* sp.) از مرکز تحقیقات نرمتنان خلیج فارس، بندرلنگه تهیه و به آزمایشگاه تکثیر و پرورش آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران منتقل شد. برای افزایش تراکم جلبکی و تولید حجم اولیه، ابتدا محیط کشت آب شور، در ظرف پنج لیتری پلاستیکی حاوی ۳ لیتر آب چاه با به‌کارگیری نمک دریایی تا شوری در حد ۲۴ گرم در لیتر تنظیم شد. محیط اولیه کشت به مدت ۲۴ ساعت در معرض هوادهی شدید و در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد و نور طبیعی اتاق قرار گرفت، سپس مواد معدنی مربوط به تهیه محیط کشت F/2 (Guillard, 1975) با استفاده

جدول ۱- میانگین تعداد سلول در میلی لیتر در زمان استوک‌گیری و ورود به تیمارها.

نام ریزجلبک	تعداد سلول در میلی لیتر در زمان استوک گیری	تعداد سلول در میلی لیتر ورودی به هر تیمار
ایزوکرایسیس	$۳/۵ \times ۱۰^{۶}$	$۰/۲۱ \times ۱۰^{۶}$

جدول ۲- مقدار عناصر مصرفی در کود های بکار رفته در تیمار های مختلف (گرم در لیتر).

غلظت / نوع بارورکننده	۱۰۰٪ تیمار ۲	۷۵٪ تیمار ۳	۵۰٪ تیمار ۴	۲۵٪ تیمار ۵
کود الیت آبی	۰/۵۰	۰/۳۷۵	۰/۲۵	۰/۱۲۵
دی آمونیوم فسفات	۰/۲۷۴	۰/۲۰۵۵	۰/۱۳۷	۰/۰۶۸۵
سولفات پتاسیم	۰/۲۰۹	۰/۱۵۶۷۵	۰/۱۰۴۵	۰/۰۵۲۲۵
سولفات آمونیوم	۰/۸۳۴	۰/۶۲۵۵	۰/۴۱۷	۰/۲۰۸۵
اوره	۰/۱۰۵	۰/۰۷۸۸۵	۰/۰۵۲۵	۰/۰۲۶۲۵

از نمک‌های آزمایشگاهی مرک به آب اضافه شد. به مدت سه هفته در این محیط کشت جلبک پرورش داده شد تا تراکم مورد نیاز جلبک برای انجام آزمایش فراهم شود (Perumal *et al*., 2015). در شروع آزمایش، از محیط‌های کشت ریزجلبک اولیه، به مقدار ۶۰ میلی‌لیتر برداشت شد تا تراکم لازم برای رشد جلبک در تیمارهای تحت آزمایش فراهم شود و به هر لیتر محیط کشت، یا واحدهای آزمایش تلقیح شد و به مدت سه هفته کشت داده شد. برای افزایش لوکس نوری در حد ۲۵۰۰ از لامپ‌های LED استفاده شد. در طول دوره آزمایش، از جلبک‌ها پنج بار نمونه‌برداری شد (جدول ۱) (Perumal *et al*., 2015).

طرح آزمایش و تیمارها: این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی شامل پنج تیمار و سه تکرار انجام شد. ابتدا با به‌کارگیری کود الیت کشاورزی و سایر مواد معدنی، مبتنی بر غلظت مواد در کود، درصدهای مختلفی از فرمول کوپر (تیمار ۵) ۲۵، (تیمار ۴) ۵۰، (تیمار ۳) ۷۵ و ۱۰۰ (تیمار ۲) تهیه شد (Rafiee *et al*., 2002) و به‌عنوان محیط کشت برای کشت جلبک تعیین گردید (جدول ۲) و با محیط F/2 که با استفاده از نمک‌های ازمایشگاهی تهیه شد، به‌عنوان شاهد مورد مقایسه قرار گرفت (جدول ۳). لازم به ذکر است قبلاً درصد عناصر تشکیل دهنده کود الیت اندازه‌گیری شد (جدول۲). نمک‌ها و مواد به‌کار رفته در این پژوهش، با ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۱ میلی‌گرم وزن شدند (Perumal *et al*., 2015). محلول ویتامینه مورد مصرف با استفاده از ویتامین های انسانی گروه B (ب کمپلکس و B_{12}) ساخته شد و به تمام تیمارها با توجه به دوز F/2 اضافه شد.

شرح آزمایش: مدت آزمایش بر اساس پیش آزمایش ها، ۲۰ روز در نظر گرفته شد. در این مدت تلاش بر آن بود که چهار تا پنج بار نمونه‌گیری برای تعیین تراکم جلبکی و خصوصیات فیزیکی آب، انجام گیرد. پیش از تلقیح ریزجلبک‌ها به محیط‌های کشت، ابتدا شوری به‌وسیله دستگاه شوری‌سنج و pH با دستگاه پی‌اچ‌متر مدل (BANTE Instruments, Benchtop pH/mV Meter 210) ثبت شد و تغییرات از زمان ورود ریزجلبک تا زمان خروج آن‌ها ثبت گردید. شوری آب در واحدهای آزمایش ثابت و حدود گرم در لیتر بود. روی سر هر ظرف پرورشی دو منفذ تعبیه شده بود که یکی از منافذ برای عبور لوله هواده و منفذ دیگر برای کاهش فشار و خروج هوا بود. در مدت ۲۰ روز، هیچ ماده مغذی به تیمارها وارد نشد و تغییری در خصوصیات سنجشی اعمال نشد. شمارش جلبک‌ها با نمونه‌گیری از آب و برداشت ۱۰ میکرولیتر نمونه با سمپلر و قرار دادن نمونه روی لام نئوبارزیر میکروسکوپ انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: برای مقایسه میانگین متغییرها بین تیمارهای آزمایش از آنالیز واریانس یک طرفه (One Way-ANOVA) در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ استفاده شد. برای تعیین سطح معنی‌دار

جدول ۳- درصد مواد تشکیل دهنده در یک گرم کود الیت آبی.

نوع ماده	فسفات	سولفات	کربنات	بی کربنات	کلسیم	منیزیم	سدیم	پتاسیم	نیترات	آهن	بور	مس	روی	نیتریت
درصد	۱۱/۳۹	۴/۱۳	صفر	۸	۱۴	۳/۴۱۶	۳	۳۴	۱۹/۷	۰/۳	۱/۸۴	۰/۳	۰/۲	۰/۰۶

بودن در بین میانگین‌ها از تست دانکن استفاده شد. داده‌های pH ابتدا به غلظت H^+ تبدیل و بعد مورد ارزیابی قرار گرفت. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۶ صورت گرفت.

نتایج

شمارش ریز جلبک نانوکلروپسیس در روزهای چهارم (D4)، هشتم (D8)، دوازدهم (D12)، هفدهم (D17) و بیستم (D20) صورت گرفت. نتایج نشان داد که زمان اثر معنی‌داری روی رشد جلبکها دارد (P<۰/۰۵). بر اساس نتایج (جدول ۵) اختلاف معنی‌داری بین تراکم سلولی جلبک بین تیمارها مشاهده شد (*P*<۰/۰۵). داده‌های شمارش و رشد سلول‌های ریزجلبک نانوکلروپسیس در روزهای چهارم، هشتم، دوازدهم، هفدهم و بیستم نشان داد که از روز چهارم تا روز بیستم در همه تیمارها رشد جلبک محسوس است. در روز چهارم تیمار F/2 بالاترین میزان رشد را نشان داداز روز هشتم تا پایان مدت آزمایش، تیمار با غلظت ۲۵ درصد کوپر بالاترین میزان رشد را به‌خود اختصاص داد. برای ریزجلبک نانوکلروپسیس حداکثر تراکم در طول مدت آزمایش در روز بیستم و به ترتیب برای تیمارهای ۲۵درصد کوپر با تولید (۲۳/۴۵۰×۱۰^۶ ± ۲/۰۰۱×۱۰^۶ سلول در میلی‌لیتر) و محیط F/2 با تراکم (۱/۲۰۲۰۸۱×۱۰^۶ ±۱۷/۱۵ ×۱۰^۶ سلول در میلی‌لیتر) به‌دست آمد.

بعد از تیمار ۲۵ درصد و F/2، در سایر تیمارها بیشترین تعداد جلبک در تیمار با غلظت ۵۰ درصد در روز دوازدهم، تیمار با غلظت ۷۵ درصد در روز هفدهم و در تیمار با غلظت ۱۰۰ درصد در روز بیستم مشاهده شد. هرچند تولید در محیط با غلظت ۲۵ درصد چهار میلیون سلول بیش‌تر از محیط F/2 بود، با این حال، اختلاف معنی‌داری بین این دو محیط مشاهده نشد (*P*<۰/۰۵). روند تغییرات تیمارها نسبت به هم و در روزهای مورد مطالعه در شکل ۱ نشان داده شده است، ه در پایان روز بیستم، به غیر از تیمارهای ۲۵ درصد و محیط F/2، سایر تیمارها وارد فاز کاهشی خود شدند.

در پژوهش حاضر، هیچ کنترلی بر pH در مدت آزمایش انجام نشد، میزان pH در تیمار با غلظت ۲۵ درصد از روز اول تا روز بیستم روند کاهشی داشت (جدول ۶). به‌طور کلی از روز چهارم بعد از ورود جلبک تا روز بیستم بین تیمار شاهد، تیمار با غلظت ۲۵ درصد و تیمارها با غلظت‌های ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد، اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (*P*<۰/۰۵).

در محیط با غلظت‌های ۱۰۰ ، ۷۵ و ۵۰ درصد از روز چهارم تا روز هفدهم pH کاهش، و در روز بیستم افزایش یافت. میزان pH در تیمار با غلظت ۱۰۰ درصد در روز هفدهم ۶/۸۰±۰/۱۴، و در مدت بیست روز آزمایش ۰/۱۴ ± ۶/۸۳ بود که کم‌ترین مقادیر ثبت شده برای pH بود. همچنین، میزان pH برای تیمار شاهد در روز بیستم به ۰/۰۸ ± ۸/۷۱ رسید. در این تیمار در روز هفدهم حداکثر میزان را داشت و به میزان ۸/۸۰±۰/۳۸ رسید.

بحث

نتایج نشان داد که تولید ریزجلبک نانوکلروپسیس با به‌کارگیری محیط کشت‌های استاندارد، فرمول‌های جدید و غلظت‌های مختلف نمک‌های تجاری-کشاورزی امکان پذیر است و رشد آن با رشد و تولید بیومس در محیط کشت F/2 تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. تنظیم مواد معدنی مورد نیاز جلبک از جمله عوامل مهم در عملکرد رشد ریزجلبک‌ها می‌باشد (Xin *et al.*, 2010). از مهم‌ترین

جدول ۴- غلظت عناصر تشکیل دهنده فرمول کوپر برای کشت گیاهان در سیستم آبکشت.

نوع ماده	فسفات	سولفات	کلسیم	منیزیم	سدیم	پتاسیم	نیتروژن	آهن	بور	مس	روی	منگنز
مقدار (میلی گرم در لیتر)	۶۲	۸۰	۱۷۰	۵۰	۵۰	۳۰۰	۲۵۰	۱۲	۰/۰۱	۰/۳	۰/۱	۲

شاخص‌های رشد، حداکثر رشد یا تراکم سلولی می‌باشد. تراکم سلولی بالا امکان کاربردهای کشت انبوه را برای تولیدات آبزی‌پروری، بیودیزل و یا اهداف دارویی فراهم می‌کند (Chen *et al*., 2011; Quinn *et al*., 2012). در این مطالعه ریزجلبک نانوکلروپسیس حداکثر تراکم را در روز بیستم و به ترتیب در محیط با غلظت ۲۵ درصد و محیط F/2 نشان داد و از شمارش در روز هشتم تا روز بیستم، همواره محیط با غلظت ۲۵ درصد تراکم بالاتری نسبت به F/2 داشت، در روز چهارم بعد از ورود جلبک، تراکم جلبک در محیط F/2 بیش‌تر بود، که دلیل آن را می‌توان به تغییر در منابع نیتروژنی و فسفاتی نسبت داد. کشت اولیه این ریزجلبک‌ها در محیط F/2 صورت گرفت. رشد کمتر در روز چهارم در تیمار ۲۵ درصد را می توان به سلول‌ها به دوره تطابق‌پذیری (Conditioning) جلبک به محیط جدید نسبت داد (Valenzuela-Espinoza *et al*., 1999).

زمان رسیدن به حداکثر تراکم سلولی در محیط با غلظت ۲۵ درصد و محیط شاهد در روزهای هفدهم تا بیستم بعد از ورود جلبک بود که با نتایج کشت‌های داخل سالنی (محیط Conway، با استفاده از نمک های معدنی با درجه آنالتیک) و کشت‌های خارج از سالن (محیط TMRL، با استفاده از مواد شیمیایی ارزان قیمت)، برای ریزجلبک *Nannochloropsis oculata* مطابقت دارد. طول دوره کشت (یعنی زمان رسیدن به بیشینه تراکم سلولی) برای گونه‌های مختلف ریزجلبک‌های دریایی حدود شش تا هفت روز در شرایط بهینه کشت، عنوان شده است، که نتایج حاصل از تراکم سلولی با نتایج سایر پژوهشگران اختلاف زیادی را نشان داد (Valenzuela-Espinoza *et al*., 1999).

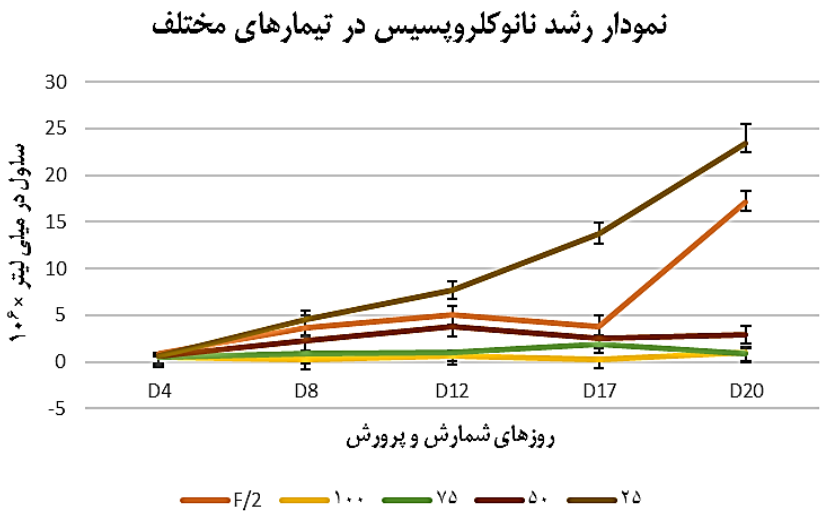
حداکثر تراکم سلولی در هر محیط کشت به معنی مناسب بودن شرایط برای رشد و تکثیر جلبک است. باید توجه داشت که حداکثر تراکم سلولی تنها یکی از ویژگی‌های تعیین عملکرد رشدی در ریزجلبک‌ها می‌باشد. در برخی از کاربردهای تجاری و صنعتی (مثل تصفیه فاضلاب)، جنس‌هایی از ریزجلبک‌ها با میزان رشد سریع‌تر، نسبت به آن‌هایی که حداکثر تراکم سلولی را داشته‌اند، ترجیح داده می‌شوند. در این بررسی، اثر محیط کشت در کاهش زمان رسیدن به حداکثر تراکم سلولی در محیط با غلظت ۲۵ درصد و محیط شاهد معنی‌دار نبود و در هر دو محیط، بیش‌ترین میزان تولید در روز بیستم به‌دست آمد و تنها یک تفاوت از نظر میزان تولید در این دو محیط مشاهده شد؛ که تولید در محیط با غلظت ۲۵ درصد تقریباً چهار میلیون سلول در میلی‌لیتر، از محیط F/2 بیش‌تر نشان داد.

ریزجلبک نانوکلروپسیس در محیط رقیق شده حاوی کودهای کشاورزی رشد بهتری نسبت به محیط F/2 نشان داد که با نتایج Barakoni و همکاران (۲۰۱۵) برای رشد ریزجلبک دونالیلا ترتیولکتا در محیط رقیق‌شده حاوی کودهای کشاورزی مطابقت دارد. نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش‌هایی که به‌کارگیری کودهای کشاورزی برای رشد و افزایش بیوماس جلبک نانوکلروپسیس اوشنیکا تولید بالایی را در بر نداشته است، مطابقت ندارد (Kanlis *et al*., 2004; Bae and Hur, 2011; Jad-Allah El Nabris, 2012). علت این تناقض را می‌توان به عدم فرمول‌بندی و عدم متعادل ساختن نسبت‌های یونی در به‌کارگیری این کودها نسبت داد. در این آزمایش نسبت عناصر تشکیل دهنده یون‌ها در تیمارهای آزمایشی یکسان بود. دلیل مطلوبیت F/2 برای ریزجلبک‌ها نسبت نیتروژن به فسفر کم (۱۶:۱) بیان

جدول ۵- میانگین (میانگین± S.D.) تعداد سلول در میلی لیتر در تیمارهای ریزجلبک نانوکلروپسیس در طول دوره آزمایش.

روز / تیمارها	روز چهارم	روز هشتم.	روز دوازدهم	روز هفدهم	روز بیستم
۱	۰/۸۵۷ × ۱۰^۶ ± ۰/۱۰۶ ×۱۰^۶b	۳/۶۷ × ۱۰^۶ ± ۱/۷۹۶ ×۱۰^۶ab	۵/۰۱ ×۱۰^۶ ± ۰/۹۷۶ ×۱۰^۶bc	۳/۸۴ × ۱۰^۶ ± ۱/۱۰۳ ×۱۰^۶a*	۱۷/۱۵ × ۱۰^۶ ± ۱/۲۰۲ ×۱۰^۶a*
۲	۰/۵۱ × ۱۰^۶ ± ۰/۰۴۲ ×۱۰^۶a*	۰/۲۳۳ × ۱۰^۶ ± ۰/۰۲۴ ×۱۰^۶a*	۰/۶۷۲ × ۱۰^۶ ± ۰/۴۳۶ ×۱۰^۶a*	۰/۲۸ × ۱۰^۶ ± ۰/۰۵۶ ×۱۰^۶a	۱/۰۶۷ × ۱۰^۶ ± ۰/۴۵۷ ×۱۰^۶a
۳	۰/۵۸× ۱۰^۶ ± ۰/۰۱۴ × ۱۰^۶a	۰/۸۵۳ × ۱۰^۶ ± ۰/۰۶۶ ×۱۰^۶a	۱/۰۴ × ۱۰^۶ ± ۰/۱۴۱ ×۱۰^۶a	۱/۹ × ۱۰^۶ ± ۰/۵۶۶ ×۱۰^۶a	۰/۹۲ × ۱۰^۶ ± ۰/۶۷۹ ×۱۰^۶a
۴	۰/۵۹ × ۱۰^۶ ± ۰^a	۲/۲۶ ± ۰/۶۲۲ ×۱۰^۶ab	۳/۷۳ ×۱۰^۶ ± ۱/۱۴۶ ×۱۰^۶a	۲/۵۲ × ۱۰^۶ ± ۰/۰۲۸ ×۱۰^۶a	۲/۹۵ × ۱۰^۶ ± ۰/۹۱۹ ×۱۰^۶a
۵	۰/۶۲۵ × ۱۰^۶ ± ۰/۰۳۵ ×۱۰^۶a	۴/۵۳ × ۱۰^۶ ± ۰/۴۶۷ ×۱۰^۶b	۷/۷۲ × ۱۰^۶ ± ۰/۹۶۲ ×۱۰^۶c	۱۳/۷ × ۱۰^۶ ± ۱/۱۹۳ ×۱۰^۶a	۲۳/۴۵ × ۱۰^۶ ± ۲/۰۰۱ × ۱۰^۶a

*حروف انگلیسی یکسان در بالای اعداد در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۰/۰۵ است.



شکل ۱- نمودار روند تغییرات تراکم سلولی (میانگین سلول در میلی لیتر ± S.D.) ×۱۰^۶) ریزجلبک ایزوکرایسیس در طول دوره پرورش در تیمارهای مختلف.

شده است. در این پژوهش نسبت نیتروژن به فسفر (۱ : ۳/۶۸) و بسیار بالا بود و نتایجی بهتری را از محیط کشت F/2 در پی داشت، که بیانگر حضور سایر یون‌ها و عوامل دیگر ب ا توجه به سطح تحمل ریزجلبک باشند. در پژوهش Barakoni و همکاران (۲۰۱۵)، در جلبک دونالیلا (*D. tertiolecta*) همانند نانوکلروپسیس نتایج رشدی بهتری در محیط‌های رقیق شده حاوی بارورکننده‌های کشاورزی به‌دست آمد. این موضوع می‌تواند به دلیل عدم حضور یک دیواره سلولی سخت در این گونه‌ها باشد. زیرا به آن‌ها اجازه تحمل فشار اسمزی خارج سلولی و طیف گسترده‌ای از نور را می‌دهد. همچنین بالاتر بودن تراکم سلولی برای این ریزجلبک در محیط رقیق شده نسبت به F/2، می‌تواند به دلیل تفاوت نیاز غذایی این جنس به نسبت‌های مختلف و غلظت‌های مختلف یون‌ها باشد. برخی از پژوهش‌ها نشان می‌دهد که این جلبک، می‌تواند طیف گسترده‌ای از نسبت‌های P/N را تحمل کند.

در این تحقیق، حداکثر بیومس سلولی در نسبت نیتروژن به فسفر ۱/ ۳/۶۸ به‌دست آمد که تحمل دامنه‌ای گسترده‌تری از نسبت‌های مختلف P/N را در جلبک نانوکلروپسیس نشان می‌دهد (Barakoni *et al.*, 2015). در مطالعه حاضر، ترکیب شیمیایی جلبک مورد ارزیابی قرا نگرفت، بسیاری از پژوهش‌ها نشان می‌دهند که تراکم سلولی به‌دست آمده مطابقت چندانی با ترکیب شیمیایی جلبک ندارد، یعنی تغییر در میزان نور، دما، pH و ترکیب یونی محیط کشت از عوامل مهمی هستند که در میزان پروتیین، چربی کل و سایر خصوصیات جلبک تاثیرگذارند.

از آن جایی که نیتروژن یک عنصر اصلی برای

جدول ۶- روند تغییرات pH در تیمارهای ریزجلبک ایزوکرایسیس در طول مدت آزمایش (میانگین + S.D.).

زمان / تیمار	روز اول	روز چهارم	روز هشتم	روز دوازدهم	روز هفدهم	روز بیستم
۱	۸/۴۶ ± ۰/۰۲^{d}	۸/۴۳ ± ۰/۰۲^{d}	۸/۵۸ ± ۰/۰۹^{c}	۸/۵۸ ± ۰/۰۲^{c}	۸/۸۰ ± ۰/۳۸^{c}	۸/۷۱ ± ۰/۰۸^{c}
۲	۷/۰۳ ± ۰/۰۲^{a*}	۷/۰۴ ± ۰/۰۷^{a}	۷/۰۳ ± ۰/۱۱^{a}	۷ ± ۰/۱۰^{a}	۶/۸۰ ± ۰/۱۴^{a}	۶/۸۳ ± ۰/۱۴^{a}
۳	۷/۱۴ ± ۰/۰۴^{a}	۷/۲۱ ± ۰/۰۶^{a}	۷/۱۶ ± ۰/۱۱^{a}	۷/۱۰ ± ۰/۱۳^{a}	۶/۸۷ ± ۰/۱۳^{a}	۶/۸۹ ± ۰/۱۱^{a}
۴	۷/۷۳ ± ۰/۰۲^{b}	۷/۶۰ ± ۰/۰۲^{b}	۷/۲۰ ± ۰/۰۲^{a}	۷/۰۳ ± ۰/۰۲^{a}	۶/۸۷ ± ۰/۰۳^{a}	۶/۹۲ ± ۰/۰۷^{a}
۵	۸/۱۳ ± ۰/۰۲^{c}	۸/۱۹ ± ۰/۰۰^{c}	۸/۱۶ ± ۰/۰۲^{b}	۷/۹۸ ± ۰/۰۲^{b}	۷/۷۲ ± ۰/۰۹^{b}	۷/۵۴ ± ۰/۰۴^{b}

*حروف انگلیسی یکسان در بالای اعداد در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد.

کشت جلبک می‌باشد و در محیط‌های دریایی غلظت آن کم است، غلظت و تنوع منابع نیتروژنی در محیط کشت، شرایط مناسبی را بایستی برای رشد ریزجلبک‌ها فراهم کند. در این پژوهش نسبت عناصر در غلظت‌های مختلف محیط کوپر یکسان بود، ولی احتمالاً سطوح بالاتر عناصر در محیط‌های با غلظت بالاتر در تیمارهای آزمایشی منجر به نتایج ضعیف‌تر نسبت به محیط ۲۵ درصد و F/2 شد. مطالعات سطوح بالاتر نیتروژن و آمونیوم برای برخی از ریزجلبک‌های دریایی سمی بیان کرده‌اند (Berges *et al.*, 2001). بنابراین عملکرد رشد نامطلوب ریزجلبک‌ها در محیط‌های با غلظت‌های بالا و نیز رقیق‌سازی و کاهش غلظت، ممکن است نیتروژن مناسب را در محیط کشت فراهم نکند.

در چهار غلظت به‌کار رفته در پژوهش حاضر، اوره همراه با سولفات آمونیوم و دی آمونیوم فسفات به‌عنوان منبع نیتروژن اضافی در غلظت بهینه، حضور داشت و می‌توان رشد مطلوب ریزجلبک نانوکلروپسیس در محیط با غلظت ۲۵ درصد، را به تنظیم نسبت‌های نیتروژن آمونیاکی، نیتریتی و نیتراتی نسبت داد. برتری آمونیوم نسبت به انواع دیگر منابع نیتروژنی از جمله نیترات در برخی پژوهش‌ها تایید شده و عملکرد بهینه آن را به فرم احیایی آن، نسبت داده‌اند (Jad-Allah El Nabris, 2012). گزارش شده شده است که آمونیوم توسط *Isochrysis* aff. *galbana* زمانی که با هم به محیط کشت اضافه شوند هشت برابر سریع‌تر از نیترات، مصرف می‌شود و زمانی که غلظت آمونیوم به‌عنوان منبع اصلی نیتروژن حضور دارد، به علت غیر فعال شدن آنزیم nitrate reductase، جذب نیترات در حضور آمونیوم؛ متوقف می‌شود (Valenzuela-Espinoza *et al.*, 1999).

بیان شده که کاهش pH در غلظت‌های مختلف محیط کوپر، می‌تواند بر تولید جلبک اثر داشته باشد (Gu *et al.*, 2016)، در صورتی که Valenzuela-Espinoza و همکاران (۱۹۹۹) افزایش میزان pH را از اولین روز تا روز هفتم آزمایش را گزارش کرده‌اند و دلیل آن را کاهش غلظت آمونیم و افزایش غلظت آمونیاک دانستند. Jad-Allah El Nabris (۲۰۱۲)، دلیل افزایش pH را افزایش جذب CO_2 در محیط همزمان با افزایش تراکم بیان کرده‌اند. در این پژوهش نیز تیمار شاهد (F/2) نتایجی مشابه یافته‌های قبلی در مورد pH را نشان داد (Valezuela- spinozza *et al.*, 1999; Jad- Allah El Nebris, 2012). در حال حاضر امکان ارایه دلیلی برای توجیه نتایج به‌دست آمده از pH برای محیط‌های حاوی نمک‌های تجاری در غلظت‌های مختلف وجود ندارد و به آزمایش ها و بررسی‌های بیش‌تری نیاز است.

کود الیت آبی رنگ به‌کار گرفته شده در مطالعه حاضر، عناصر کمیاب ضروری مانند گوگرد، منیزیم، آهن، بور، مس و روی را در بر داشت و در غلظت ۷۵ درصد برای ایزوکرایسیس در محدوده بهینه بودند (میزان این عناصر در محیط با غلظت ۲۵ درصد، گوگرد (۶۲/۰۱۱)، منیزیم (۴/۲۷)، آهن (۰/۳۷۵)، مس (۰/۳۷۵) و روی (۰/۲۵) میلی‌گرم در لیتر بود). بیان شده است که گوگرد، منیزیم و آهن اثرات قابل

توجهی بر متابولیسم و فیزیولوژی ریزجلبک ها دارند (Wang and Lan, 2010). مس برای واکنش‌های فتوسنتزی و فعالیت‌های آنزیمی ریزجلبک ضروری می‌باشد.

در این پژوهش، حداکثر تراکم سلولی در میزان غلظت مس (۰/۳۷۵ میلی‌گرم در لیتر) به‌دست آمد که با نتایج برخی پژوهش‌ها (Bae and Hur, 2011) در تضاد می‌باشد. نتایج این پژوهش‌ها گواه بر این است که مس مؤثرترین عامل در رشد نانوکلروپسیس است و بهترین تولید ریزجلبک در غلظت ۰/۰۵۸۸ میلی‌گرم در لیتر (به صورت $CuSO_4 . 5H_2O$) بوده است. با کاهش غلظت مس و در غلظت ۰/۰۱۹۶ میلی‌گرم در لیتر، کاهش شدید تراکم سلولی مشاهده شده است. با این حال، Okauchi و همکاران (۲۰۰۸) ادعا کردند که روی و کبالت تأثیر بیش‌تری نسبت به مس را بر رشد نانوکلروپسیس *N. oculata* دارند.

در زمان تهیه فرمول‌های کشت جلبک، ویتامین B_{12} به آب دریا اضافه می‌شود. آب دریا به‌طور طبیعی حاوی ویتامین‌های لازم برای رشد ریزجلبک‌ها می‌باشد. بیوتین، تیامین و B_{12} دارویی اضافه شده به محیط کشت، به عنوان ویتامین‌های لازم برای رشد و افزایش محتوای لیپیدی در ریزجلبک‌های دریایی در نظر گرفته شدند. (Loong *et al*., 2013). تحقیقات قبلی گزارش کرده‌اند که ریزجلبک‌های دریایی، در محیط حاوی ویتامین‌های غنی شده رشد می کنند، با توجه به نوع گونه ریزجلبک، گاهی غلظت بالا و گاهی نیز غلظت کم بیومس تولیدی را در این ارتباط نشان می‌دهند. ارزش غذایی متفاوت مورد نیاز برای ریزجلبک‌ها هنگام انتخاب ویتامین های مختلف در محیط، باید در نظر گرفته شود (Loong *et al*., 2013).

نتایج این پژوهش نشان داد که از نظر اقتصادی، استفاده از کودهای تجاری کشاورزی می‌تواند تا ۹۴ درصد (حدود ۱۶ برابر) در مقایسه با استفاده از نمک‌های معدنی با درجه آنالتیک (مانند نمک‌های برند مرک) برای تولید یک مترمکعب محیط کشت ریزجلبک‌های دریایی، صرفه اقتصادی داشته باشد. سایر محققان نشان دادند که محیط‌های حاوی کودهای کشاورزی مورد استفاده توسط آن ها، هشت برابر ارزان تر از محیط F/2 بوده است (Valenzuela-Espinoza *et al*., 1999; Simental and Sánchez-Saavedra, 2003). همچنین آماده‌سازی این محیط‌های کشت نیز، راحت‌تر صورت می‌گیرد (Jad-Allah El Nabris, 2012). تقریباً در تمام سواحل جنوبی کشور (خلیج‌فارس و دریای عمان)، تفریخگاه‌ها و سالن‌های مختلفی برای پرورش لارو ماهیان و سخت‌پوستان دریایی وجود دارد و ریزجلبک *Nannochloropsis oculata* مورد نیاز خود را از طریق کشت انبوه در مخازن بزرگ خارج از سالن تأمین می‌کنند. بنابراین، محیط کشت جدید ارایه شده در این پژوهش با استفاده از فرمول کوپر (غلظت ۲۵ درصد) می‌تواند به‌عنوان محیط کشت استاندارد، برای تولید ریزجلبک *N. oculata* نیز بکار برده شود.

این پژوهش نشان داد که از کودهای کشاورزی می‌توان به‌طور مؤثرتری در مقایسه با استفاده از نمک‌های با درجه آنالتیک برای کشت جلبک نانوکلروپسیس استفاده کرد. با این حال، این موضوع را باید در نظر گرفت که ترکیب محیط کشت نه تنها بر تولید سلول، بلکه بر ترکیب سلول‌ها و بازده محصول نیز تأثیر گذار است (Imamoglu *et al*., 2007).

با توجه به نتایج محیط کشت حاوی ۲۵ درصد کوپر با دارا بودن نسبت‌های مشخصی از عناصر در مقایسه با محلول F/2 نتایج مشابهی را در تولید جلبک ایزو کرایسیس نشان داد و می‌توان گفت که ارایه محیط کشتی با غلظت ۲۵ درصد از محلول کوپر یک فرمول‌بندی جدید است که با دارا بودن نسبت‌های مشخصی از عناصر می‌تواند رشد ریزجلبک نانوکلروپسیس را فراهم کند، بنابراین دستورالعملی ترکیبی از کودهای کشاورزی مانند اوره، سولفات آمونیوم، سولفات پتاسیم، کود الیت آبی، دی آمونیوم فسفات و محلول ویتامین‌ها به عنوان محیط کشت

جدید برای رسیدن به حد اکثر تراکم، قابل ارایه برای تولید انبوه جلبک نانو کلروپسیس بایستی لحاظ گردد.

منابع

Bae J.H., Hur B. 2011. Development of economical fertilizer- based media for mass culturing of *Nannochloropsis oceanica*. *Fisheries and Aquatic Sciences (FAS)* 14(4), 317-322.

Barakoni R., Awal S., Christie A. 2015. Growth performance of the marine microalgae *Pavlova salina* and *Dunaliella tertiolecta* using different commercially available fertilizers in natural seawater and inland saline groundwater. *Algal Biomass Utilization (JABU)* 6(1), 15-25.

Berges J.A., Franklin D.J., Harrison P.J. 2001. Evolution of artificial seawater medium: Improvement in enriched seawater, artificial water over the last two decades, *Applied Phycology* 37, 1138-1145.

Chen C.Y., Yeh. L., Aisyah R., Lee, D.J., Chang J. S. 2011. Cultivation, photo-bioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review. *Bioresource Technology* 102(1), 71-81.

Chia M.A., Lombardi A.T., Melãno, M.D.G G. 2013. Growth and biochemical composition of *Chlorella vulgaris* in different growth media. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 85(4), 1427-1438.

Chisti Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Journal of Biotechnology* 25(3), 294-306

Durmaz Y. 2007. Vitamin E (α-tocopherol) production by the marine microalgae *Nannochloropsis oculata* (Eustigmatophyceae) in nitrogen limitation. *Journal of Aquaculture* 272(1-4), 717-722.

Fábregas J., Toribio L., Abalde J., Cabezas A., Herrero C. 1987. Approach to biomass production of the marine microalgae *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butch using common garden fertilizer and soil extract as cheap nutrient supply in batch cultures. *Aquacultural Engineering* 6, 141-150.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture. 2012. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Fisheries and Aquaculture Department, Rome, Italy 209 p.

Gu X., Li K., Pang K., Ma Y., Wang, X. 2017. Effect of pH on the growth and NH_4-N uptake of *Skeletonema costatum* and *Nitzschia clostrium*. *Marine Pollution Bulletin* 124(2), 946-952.

Guillard R.L.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: Smith W.L., Chanley M.H. (Eds.), Culture of Marine Invertebrates Animals. Plenum Press, New York, pp. 29-60.

Imamoglu E., Sukan E.F.V., Dalay M.C. 2007. Effect of Different Culture Media and Light Intensities on Growth of *Haematococcus pluvialis*. *International Journal of Natural and Engineering Sciences* 1(3), 5-9.

Jad-Allah El Nabris K. 2012. Development of cheap and simple culture medium for the *Nannochloropsis sp.* based on agriculture grade fertilizers available in the local marketof Gaza Strip (Palestine). *Al Azhar University- Gaza (Natural Sciences)* 14, 61-67

Kanlis G., Elefteriadis E., Papadopoulos G., Arapoglou P., Krey G., Manos G. 2004. Environmental friendly fertilizers for the intensive production of high quality sea algae at a low cost. Paper presented at the 3rd European Conference on Pesticides and Related Organic Micropollutants in the Environment.

Khan S., Siddique R., Sajjad W., Nabi G., Hayat K.M., Duan P., Yao, L. 2017. Biodiesel production from algae to overcome the energy crisis. *HAYATI Journal of Biosciences* 24(4), 163-167.

Lananan F., Juso A., Ali N., Lam S.S., Endut A. 2013. Effect of Conway medium and F/2 medium on the growth of six genera of South China Sea marine microalgae. *Bioresource Technology* 141, 75-82.

Loong T.C., Wee L.L. Idris A. 2013. Comparison of Walne and F/2 Medium in cultivating *Tetraselmis sp.* And *Nannochloropsis sp.* For biomass and lipid production. International Conference on Industrial Engineering and Management Science (ICIEMS 2013).

Lubián L.M., Olimpio M., Ignacio M.G., Huertas I.E., Sobrino C., Manuel González-del V., Griselda P. 2000. *Nannochloropsis* (Eustigmatophyceae) as source of commercially valuable pigments. *Journal of Applied Phycology* 12(10), 249-255.

Molina G.E., Belarbi H., Acién Fernández F.G., Robles Medina A., Chisti Y. 2003. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnology Advances* 20, 491-515.

Okauchi M., Yamada T., Ozaki A. 2008. Optimum media for outdoor large-scale and indoor small-scale batch style culture of *Nannochloropsis oculata*. *Aquaculture Sciences* 56, 147-155.

Perumal S.A R.T., Pachiappan P. (Editors). 2015. Advances in Marine and Brackish water Aquaculture. Springer (India) Pvt. Ltd. is part of Springer science + Business Media (www. Springer.com). www. Ebook3000.com- Isolation and Culture of Microalga, 1- 15, 226 p.

Quinn J.C., Yates T., Douglas N., Weyer K., Butler J., Bradley T.H., Lammers P.J. 2012. *Nannochloropsis* production metrics in a scalable outdoor photobioreactor for commercial applications. *Bioresource Technology* 117, 164-171.

Rafiee G R., Saad C.R., Kamarudin M.S., Sijam K., Ismail M R., Yusoq K. 2002. Use of aquaculture wastewaters as nutrient solutions for growth of lettuce (*Lactuca Savita var longifolia*). Proceeding of Asia-Pacific Conference on marine Science and technology, Marine Science into the New Millennium, 12-16 may, Kuala Lumpur, Malaysia 1, 354-360.

Rangbar A., Kahkesh S., Zabayeh N.M. 2007. Growth figure of *Nannochlropsis oculata* in different stocks and outdoor culture. *Journal of Aquatic Sciences* 1(2), 11-21.

Simental J.A., Sánchez-Saavedra M P. 2003. The effect of agricultural fertilizer on growth rate of benthic diatoms. *Aquacultural Engineering* 27, 265-272.

Valenzuela-Espinoza E., Millán-Núñez R., Núñez-Cebrero F. 1999. Biomass production and nutrient uptake by *Isochrysis sp. galbana* (Clone T-ISO) culture with a low cost alternative to the f/2 medium. *Aquacultural Engineering* 20, 135-147.

Wang B., Lan C. 2010. Microalgae for Biofuel Production and CO_2 Sequestration. Energy Science, Engineering and Technology Series, Nova Science, New York, USA.

Xin L., Hong-ying H., Ke G., Ying-Xue S. 2010. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus sp. Bioresource Technology* 101(14), 5494-5500.

Production of marine microalgae *Nannochloropsis* sp. using commercial minerals

Gholamreza Rafiee*, Kamran Rezaei Tavabe, Nazanin Motamedi

Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
*Corresponding author: ghrafiee@ut.ac.ir

Received: 2020/6/4 Accepted: 2022/2/9

Abstract

Algae have the most important role in the production of fresh and marine aquatic animals especially at the stage of larvae culture due to their nutritional and also industrial components such as protein, unsaturated fatty acids, and pigments. Therefore, the researchers trying to improve the production of these micro-activated bio-cells with formulating the new media. This study, aims to investigate production of *Nannochloropsis* sp. (biomass production) under small scale and batch culture condition, using commercial agriculture fertilizers vs. and analytical grade salts for a period of 20 days. Five different culture media were formulated as treatments. Four concentrations (100, 75, 50 and 25%) of Cooper hydroponic culture media were tested and compared to F/2 medium that is commonly used for microalgae culture. Production of *Nannochloropsis sp.* Showed better results in 25% medium from eighth to twentieth days of experiment period. In the last day, cell production in treatment with 25% of copper formula ($23.45\times10^6\pm2.001\times10^6$ cell/ml) did not show any significant differences than F/2 medium ($17.15\times10^6\pm1.202\times10^6$ cell/ml) ($P>0.05$). The Medium 25% was also highly economic and capable for production of *Nannochloropsis* sp., since it showed almost 94% (sixteen times) cheaper than F/2 medium (excluding the cost of F/2 analytical grade vitamins) during formulation.

Keywords: *Nannochloropsis* sp., Algae medium, Economical production, Commercial salts, Biomass.