اثر تیمار فسفر بر سرعت رشد و ترکیبات بیوشیمیایی جلبک دریایی طلایی-قهوه ای *Isochrysis galbana*

محمد جواد زرین مهر[۱]، امیدوار فرهادیان*[۱]، فاطمه پیکان حیرتی[۱] و جواد کرامت[۲]

[۱]گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، [۲]گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۸/۱۱)

چکیده

فسفر به عنوان یکی از درشت مغذی‌های اصلی بوده و نقش مهمی در انتقال انرژی، سنتز فسفولیپید و اسیدنوکلئیک و ترکیبات بیوشیمیایی در سلول‌های ریزجلبک دارد، همچنین نقش مهمی در تشکیل و انتقال انرژی متابولیتی در ATP و NADPH ایفا می‌کند. در این تحقیق اثر غلظت‌های مختلف فسفر به شکل فسفات (صفر، ۲، ٤، ۸ و ١٦ میلی‌گرم در لیتر) بر میزان رشد و ترکیب بیوشیمیایی جلبک دریایی *Isochrysis galbana* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد محرومیت فسفر (صفر میلی گرم در لیتر) باعث کاهش رشد سلول، محتوای رنگدانه‌ها و پروتئین‌ها می‌شود. در حالی که مقدار کربوهیدرات و چربی *I. galbana* با افزایش غلظت فسفر، افزایش یافته است. بیشترین میزان کربوهیدرات، پروتئین و چربی در جلبک *I. galbana* به ترتیب ۲۳/۵، ٣٤/٦ و ٣٦/٢ درصد وزن خشک در غلظت‌های فسفر صفر، ۸ و صفر میلی‌گرم در لیتر بود. همچنین با افزایش غلظت فسفر، اسیدهای چرب C16: 0 از ٣٣/٩٦ درصد و C18: 0 از ٢٣/٤٠درصد در غلظت صفر فسفر (شرایط محرومیت) به ترتیب به میزان ۲۷/۷۵ و ١٤/٣٧ درصد در جلبک پرورش داده تحت شرایط فسفر ١٦ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافتند. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که غلظت فسفر به طور قابل توجهی بر سرعت رشد و ترکیبات بیوشیمیایی جلبک *I. galbana* تاثیر می‌گذارد.

واژه‌های کلیدی: اسید چرب، ترکیبات بیوشیمیایی، فسفر، *Isochrysis galbana*.

مقدمه

ریزجلبک‌ها (Microalgae) موجودات زنده تک سلولی هستند و ویژگی‌هایی همچون نرخ رشد سریع، توانایی تبدیل انرژی نور به ترکیبات بیوشیمیایی، تثبیت دی‌اکسیدکربن و مصرف مواد آلی، معدنی، مواد درشت مغذی و ریز مواد مغذی را دارا هستند و به همین دلیل کاربردهای فراوانی دارند (Daneshvar *et al*., 2018a). در حال حاضر، ریزجلبک‌ها به صورت گسترده در آبزی‌پروری به عنوان غذای زنده مورد استفاده قرار می‌گیرند (Hemaiswarya *et al*., 2011). علاوه بر این، ریز جلبک‌ها ریز مغذی‌ها، ویتامین‌ها و ترکیبات زیست فعال مناسبی دارند که به عنوان مکمل‌های غذایی، برای انسان مورد مصرف هستند (Becker, 2004). عوامل اصلی و موثر بر رشد ریزجلبک‌ها شامل عوامل زیست‌محیطی (نور، دما، pH، مواد مغذی و شوری)، شرایط فیزیکی (تلاطم)، عوامل زیستی، گونه‌های جلبک و شکل ظروف کشت می‌باشد. این عوامل بر فعالیت فتوسنتزی، تولید زی‌توده، ترکیب فیزیولوژیکی و

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: omfarhad@cc.iut.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.8.1]

بیوشیمیایی ریزجلبک‌ها اثر می‌گذارند (Tebbani *et al.*, 2014).

ترکیبات آلی سازنده سلولی ریزجلبک‌ها، شامل تولیدات غذایی و حیاتی با ارزش از جمله رنگدانه‌ها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات ها، چربی و اسیدهای چرب هستند (Spolaore *et al.*, 2006)، مواد مغذی و فاکتورهای محیطی می‌تواند اثر بسیار مهمی روی بیوسنتز متابولیت‌های جلبک‌ها بگذارد. دستکاری این عوامل مانند تغییر در میزان مواد مغذی می‌تواند باعث افزایش محتوای تولیدات زیستی سلولی شود اما ممکن است باعث کاهش رشد سلولی نیز گردد (Hu, 2004).

فسفر به شکل فسفات نقش مهمی در انتقال انرژی در سلول‌های جلبکی، سنتز فسفولیپید و اسیدنوکلئیک دارد، همچنین نقش مهمی در تشکیل و انتقال انرژی متابولیتی در ATP و NADPH ایفا می‌کند (El-Sheek and Rady, 1995). نیاز به فسفر در بین گونه‌های مختلف از ریزجلبک ها بررسی شده است و گزارش گردیده که غلظت بهینه فسفات برای حداکثر تولیدی زی‌توده جلبک مقادیری از ۰/۰۰۱ تا ۰/۱۷۹ گرم بر لیتر است (Shelef and Soeder, 1980). فسفر به شکل های مختلف مورد استفاده جلبک ها قرار می‌گیرد، که از انواع آن می توان فسفر آلی، فسفر معدنی و فسفر باند شده با دیگر ترکیبات را نام برد. برخی ترکیبات شناسایی شده در ریز جلبک ها می توان به ارتوفسفات‌ها، فسفات مونواستر، فسفات دی استر، پیرو فسفات، تری و تترا پلی فسفات ها و فسفونات ها اشاره کرد. بیشترین فرم فسفر قابل دسترس برای ریزجلبک ها به شکل فسفات می‌باشد (El-Sheek and Rady, 1995). بر اساس منابع کمبود فسفر، باعث افزایش تجمع چربی در برخی جلبک‌ها می‌گردد. در تحقیقی Kamalanathan و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند در شرایط محدودیت فسفری، مقدار چربی جلبک *Chlamydomonas reinhardtii* افزایش و با در دسترس قرار دادن فسفر در اختیار جلبک، این مقدار کاهش پیدا می‌کند. همچنین نرخ تنفس در شرایط بدون فسفر افزایش پیدا کرد.

یکی از مسایل مهم در کشت ریزجلبک ها برداشت حداکثر زی‌توده و بیشترین میزان ترکیبات ذخیره ی انرژی به صورت همزمان می‌باشد (Li *et al.*, 2008). بسیاری از مطالعات تایید کرده‌اند که محدودیت‌های منابع نیتروژن و فسفر می‌تواند ترکیبات بیوشیمیایی مانند کربوهیدرات، پروتئین، رنگدانه ها، میزان چربی، ترکیبات اسیدهای چرب، و نیز فعالیت فتوسنتزی ریزجلبک‌ها را تغییر دهد (Fan *et al.*, 2014; Solovchenko *et al.*, 2013).

Isochrysis galbana گونه جلبک دریایی طلایی–قهوه‌ای رنگ متداولی است که به صورت گسترده به عنوان غذای زنده در آبزی‌پروری مورد استفاده قرار می‌گیرد (Tzovenis *et al.*, 2003). این جلبک از شاخه Haptophyta، رده Prymnesiophyceae، راسته Isochrysidales، جنس *Isochrysis* می‌باشد. جلبک *I. galbana*، تک‌سلولی بیضی‌شکل با دو تاژک است، سلول‌ها به رنگ قهوه‌ای – طلایی هستند و طول ۵–٦ میکرون و عرض ۲/۵–۳ میکرون دارند و بدون دیواره‌سلولی هستند. این گونه به دلیل اینکه در زیستگاه های دریایی با درجه تحمل شوری ۲۲ تا ۳۵ گرم در لیتر یافت می شود به طور اصلی در آبزی‌پروری دریایی و همچنین به عنوان غذای زنده برای موجودات دریایی مانند نرم‌تنان، سخت‌پوستان و زئوپلانکتون‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد؛ همچنین به دلیل اندازه کوچک برای مصرف و هضم مناسب هستند (Sánchez *et al.*, 2013). در آبزی‌پروری *I. galbana* دارای رشد سریع و کشت آسان می‌باشد که تحمل شرایط مختلف محیطی را نیز دارد (Van Bergeijk *et al.*, 2010).

در این پژوهش ریزجلبک دریایی *I. galbana* در غلظت های مختلف فسفر به شکل فسفات در محیط کشت والن (Walne's medium) پرورش یافت. پارامترهای رشدی این گونه در غلظت‌های مختلف فسفات مورد بررسی قرار گرفت. تغییرات در ترکیبات بیوشیمیایی مانند رنگدانه ها، کربوهیدرات ها، پروتئین ها، چربی ها و اسیدهای چرب در غلظت‌های مختلف فسفات نیز بررسی شدند.

مواد و روش‌ها

آماده سازی گونه ی ریزجلبک و محیط کشت: استوک اولیه جلبک طلایی–قهوه ای *I. galbana* از پژوهشکده اکولوژی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.8.1]

خلیج فارس، بندر عباس، استان هرمزگان تهیه گردید. برای پیش کشت این جلبک از ارلن مایر دو لیتری حاوی محیط کشت والن (Walne's medium) در شرایط آزمایشگاهی استفاده گردید. برای تهیه محیط کشت والن یک میلی لیتر از محلول پرمصرف و یک میلی لیتر محلول کم مصرف مورد استفاده قرار گرفت. ترکیبات محلول پرمصرف شامل $NaNO_3$ (۱۰۰/۰ گرم)، EDTA ($C_{10}H_{16}N_2O_8$) (۴۵/۰ گرم)، H_3BO_3 (۳۳/۶ گرم)، $NaH_2PO_4.4H_2O$ (۲۰/۰ گرم)، $FeCl_3.6H_2O$ (۱/۳ گرم)، $MnCl_2.4H_2O$ (۰/۳۶ گرم) که در حجم یک لیتر آب مقطر ساخته شده است و ترکیبات محلول کم مصرف که شامل عناصر کم مصرف فلزی $ZnCl_2$ (۲/۱ گرم)، $CoCl_3.6H_2O$ (۲/۱ گرم)، $(NH4)_2\ 6MO_7O_2.4H_2O$ (۰/۹ گرم)، تیامین (۰/۲ گرم) و سیانوکوبالامین (۰/۰۱ گرم) که در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به صورت محلول مورد استفاده قرار گرفته است (Walne,1966).

آب‌مقطر مورد نیاز برای تهیه محیط کشت و محلول‌های شیمیایی مورد نیاز، ابتدا با استفاده از کاغذ صافی نصب شده روی دستگاه صافی پمپ خلأ، فیلتر شد و سپس در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در فشار ۱/۲ بار اتوکلاو گردید و برای انجام آزمایش‌ها از آب دریا به صورت طبیعی با شوری ۳۵ گرم در لیتر استفاده شد.

روش انجام آزمایش: جلبک *I. galbana* در محیط کشت والن با غلظت‌های صفر، ۲، ٤، ۸ و ۱٦ میلی گرم در لیتر فسفر از ماده‌ی مغذی فسفردار با ترکیب NaH_2PO_4 کشت داده شد. آزمایش در ارلن مایر پنج لیتری در سه تکرار در یک طرح کاملاً تصادفی به مدت ۱۳ روز انجام گرفت. غلظت اولیه جلبک ۲×۱۰^۵ سلول در هر میلی‌لیتر برای تلقیح استفاده شد. کشت جلبک در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، شوری ۳۵ گرم در لیتر ودوره‌ی نوری ۱۲ ساعت تاریکی ۱۲ ساعت روشنایی با شدت نور ۸۰ میکرومول فوتون بر مترمربع برثانیه با نورسنج مدل (LI COR-LI–۱۸۹) تنظیم شد. کشت جلبک به طور مداوم هوادهی با غلظت CO_2 ۰/۰٤ درصد انجام شد (Daneshvar *et al*., 2018a).

اندازه‌گیری میزان رشد ریزجلبک: اندازه گیری میزان رشد ویژه جلبک ها بر اساس تعداد است. بنابراین، برای اندازه‌گیری میزان رشد ویژه، تعداد سلول های جلبک (تراکم سلولی جلبک) با نمونه برداری ۳ میلی لیتر نمونه از هر واحد آزمایشی (ارلن آزمایش) و تثبیت در ۰/۱ میلی لیتر محلول لوگول آیودین انجام گردید. شمارش سلولی جلبک به وسیله لام هموسایتومتر به وسیله میکروسکوپ (Olympus optical CHK, made in Taiwan) با بزرگ نمایی×٤۰، بر اساس روش Martinez و همکاران (۱۹۷۵) تعیین گردید. هر نمونه در سه تکرار شمارش و از میانگین تراکم سلولی برای هر تکرار استفاده شد.

اندازه‌گیری رنگدانه‌ها: اندازه‌گیری کلروفیل *a*، *b* و کل کاروتنوئید نمونه‌ها با روش شرح داده شده توسط Parsons و همکاران (۱۹۸٤) انجام شد. ابتدا دو میلی‌لیتر از نمونه مورد نظر به وسیله سانتریفوژ برداشت شد سپس سه نوبت با آب مقطر شستشو داده شد. ۱/٦ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به آن اضافه و بلافاصله با دستگاه ورتکس به مدت ۳۰ ثانیه تکان داده شد. بعد از ۱۵ دقیقه محتوای بالایی نمونه سانتریفوژ شده را جدا نموده و به درون یک کیووت یا سل اسپکتروفتومتر منتقل شد. مقدار جذب نمونه‌ها بدون تاخیر با دستگاه اسپکتروفتومتری (مدلJenway 6400) در طول موج‌های ٦٦۳، ٦٤٦ و ٤۷۰ نانومترخوانده شد. برای محاسبه مقدار کلروفیل و کل کاروتنوئید از فرمول‌های زیر استفاده گردید.

$$Chl_a = ۱۲/۲۱A_{٦٦۳} - ۲/۸۱A_{٦٤٦} \quad (۱)$$

$$Chl_b = ۲۰/۱۳A_{٦٤٦} - 5.03A_{٦٦۳} \quad (۲)$$

$$C_t = (۱۰۰۰A_{٤۷۰} - ۳/۲۷C_a - ۱۰٤C_b)/۱۹۸ \quad (۳)$$

در اینجا Chl *a* =کلروفیل *a*، Chl *b* = کلروفیل *b*، C_t = کل کاروتنوئید و A مقدار جذب در طول موج مورد نظر می باشد.

اندازه‌گیری محتوای پروتئین: درصد پروتئین نمونه های جلبک با استفاده از روش Rausch (۱۹۸۱)، با تغییرات جزئی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. زیست توده‌ی خشک جلبک (۱۰ میلی گرم) در ۱۰ میلی لیتر NaOH ۰/۵ مولار قرار گرفت.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.8.1]

سپس یک دقیقه ورتکس و مخلوط گردیدند و به مدت ۳۰ دقیقه در سونیکیتور قرار داده شد. پس از آن نمونه‌ها به مدت ۱۲۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد درآون نگهداری گردید، سپس برای جدا کردن محتوای بالایی، نمونه ها به مدت ۵ دقیقه با دور٦۰۰۰ توسط سانتریفوژ (Heraeus Biofuge made in Germany) شد. محتوای پروتئین استخراج شده در محتوای بالایی با استفاده از روش Bradford (۱۹۷٦) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.۰/۱ میلی لیتر از محلول استخراج شده به ۳ میلی لیتر از محلول برادفورد (۵۰ میلی‌گرم Coomassie Brilliant blue، ۲۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد و ۵۰ میلی لیتراسید فسفریک ۸۵ درصد) اضافه گردید. مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس جذب پروتئین با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر درطول موج ۵۹۵ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. آلبومین سرم گاوی (Bovine Serum Albumin) به عنوان محلول استاندارد مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری محتوای کربوهیدرات: محتوای کربوهیدرات نمونه‌های جلبک با استفاده از روش فنول و سولفوریک اسید تعیین گردید. به این منظور ۱۰ میلی گرم زیست توده خشک جلبک در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر قرار گرفت، سپس ۰/۵ میلی لیتر از نمونه با ۲/۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۹٦ درصد و ۰/۵ میلی لیتر فنول ۵ درصد مخلوط گردید و به مدت ۵ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۰-۱۰۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. سپس مقدار جذب نوری محلول در طول موج ٤۹۰ نانومتر محاسبه گردید. محتوای کربوهیدرات با توجه به استاندارد گلوکز اندازه‌گیری شد (Dubois *et al.*, 1956).

اندازه‌گیری محتوای چربی: میزان چربی زیست توده جلبک توسط Daneshvar وهمکاران (b۲۰۱۸) شرح داده شده است. ۵ میلی لیتر کلروفرم و۲/۵ میلی لیتر متانول (۲: ۱، V / V) به ۰/۱ گرم پودر خشک جلبک اضافه گردید، سپس مخلوط به مدت یک دقیقه ورتکس و پس از آن به مدت ۳۰ دقیقه در سونیکیتور قرار داده شد. فاز مایع (لایه کلروفرم و متانول) از فاز جامد (زیست توده جلبک) جدا گردید. این روش با ۲/۵ میلی لیتر کلروفرم و ۱/۲۵ میلی لیتر متانول تکرار شد، سپس حلال‌ها از روش اول و دوم با هم مخلوط شدند، سپس ٤ میلی لیتر NaCl ۱درصد اضافه شد. مخلوط به مدت ۵ دقیقه برروی شیکر(۸۰ دور در دقیقه) قرار گرفت، سپس محتوا به مدت ۵ دقیقه در ۷۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. لایه سبز تیره حاوی چربی استخراج شده می‌باشد، که کلروفرم حلال پرانی و درصد چربی از طریق وزن کردن اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری محتوای اسیدهای چرب متیل استری (FAME): برای تجزیه و تحلیل ترکیبات اسید چرب از روش اصلاح شده Levine و همکاران (۲۰۱۱) استفاده شد. استخراج چربی از پودر خشک جلبک (بیوماس اولیه) برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب متیل استری (FAME) انجام شد. نمونه های استخراج شده به دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) (مدل Agilent Technologies 7890A) تزریق گردید. دمای ستون به مدت ۰/۵ دقیقه در دمای ٤۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد، سپس دما با سرعت ۲۵ درجه سانتی گراد بردقیقه به دمای ۱۹۵ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. پس از آن درجه حرارت با سرعت ۸ درجه سانتی‌گراد بردقیقه به ۲۰۵ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. دمای آشکارساز و تزریق کننده در دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد. از گاز هلیوم با سرعت جریان ۳۰/۳٤ سانتی‌متر بر ثانیه به عنوان گاز حامل استفاده گردید. برای اندازه‌گیری از یک ستون ۱۰ میلی متر (DB-WAX، با قطر داخلی ۰/۱ میلی متر و ضخامت ۰/۱ میکرومتر) استفاده شد. از هپتادکانویک‌اسید، (سیگما) با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر به عنوان استاندارد داخلی (Internal Standard) استفاده گردید.

آنالیز آماری: تیمارهای آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در محیط کشت حاوی جلبک مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور آنالیز آماری داده‌ها از آزمون واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی داری ۵ درصد انجام گرفت. از نرم افزار آماری SPSS ورژن ۲۲ برای انجام کارهای آماری استفاده شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.8.1]

نتایج و بحث

نتایج حاصل از انالیز واریانس یک طرفه اثر غلظت‌های مختلف فسفر (صفر، ۲، ٤، ۸ و١٦ میلی‌گرم بر لیتر) بر فراسنجه های زیست توده، کلروفیل، کارتنوئید، کربوهیدرات، پروتئین و چربی در ریزجلبک *I. galbana* در جدول ۱ نشان داده شده است.

ویژگی‌های رشد سلولی ریز جلبک تحت تیمارهای فسفر: تعداد سلول های اولیه جلبک ۲×۱۰^{۵} سلول بر میلی لیتر به صورت معنی‌داری تحت شرایط مختلف فسفر در طی دوره ی ۱۳ روزه تغییر یافت (شکل ۱). تعداد سلول حداقل $۳/۵۷\times۱۰^{٦}$ و حداکثر $۹/۲۵\times۱۰^{٦}$ به ترتیب در صفر و ۸ میلی گرم بر لیتر فسفر بدست آمد. رشد ریزجلبک‌ها دارای ۵ مرحله مختلف از جمله: فاز تاخیر، رشد تصاعدی، کاهش، فاز ثابت و مرگ می‌باشد (Blair *et al.*, 2014). در این مطالعه رشد ریز جلبک در عدم حضور فسفر تا روز هفتم به صورت آهسته رشد ادامه داشته و سپس کاهش یافته است. Kamalanathan و همکاران (۲۰۱۵) در گزارشی مشابه، بیان نمودند رشد ریزجلبک *Chlamydomonas reinhardtii* در غیاب فسفات تا روز ٦ پرورش رشد آهسته بوده و سپس کاهش رشد دیده شده است. این میزان رشد سلولی می تواند به دلیل وجود ذخیره ی فسفر در سلول ها می باشد. در غلظت کم فسفر (۲ میلی گرم در لیتر)، سرعت رشد *I. galbana* به میزان قابل توجهی پایینتر از سطوح بالاتر فسفر بود. در تحقیق El-Kassas (۲۰۱۳) بر روی اثر غلظت‌های متفاوت فسفات بر میزان رشد جلبک *Picochlorum* sp. با کاهش ۵۰ و ۱۰۰ درصدی میزان فسفات به ترتیب ۳۵ و ٤٥/٤ درصد کاهش در میزان رشد جلبک مشاهده شد. در این تحقیق رشد ریزجلبک *I. galbana* در تیمارهای با ٤، ۸ و ١٦ میلی گرم در لیتر فسفر تا حدودا روز ۹ دوره رشد، روند افزایشی نشان داد. تنوع در ریزجلبک ها موجب تغییر در ترکیبات زیست شیمیایی داخل سلولی می گردد. از این رو، برخی از گونه‌ها با فسفر و برخی از گونه‌ها با نیتروژن محدود می‌گردند. استوکیومتری موجودات به طور متقابل به شیمی محیط متصل می شوند، نیتروژن به فسفر در نسبت ردفیلد (Redfield, 1934) ١:١٦ می‌باشد. کمبود هر یک از مواد مغذی در داخل سلول می‌تواند منجر به ایجاد استرس گردد از اینرو ترکیبات داخل سلولی متفاوتی نیز ایجاد می گردد. فسفر نقش کلیدی در انتقال انرژی متابولیکی دارد همچنین به عنوان یک عامل ساختاری ضروری در نوکلئوتید ها و مولکول های فسفولیپید در تمام سلول‌های زنده می‌باشد، به طور گسترده‌ای گزارش شده است که رشد سلول‌های ریزجلبک‌ها تحت تأثیر محدودیت یا گرسنگی کامل مواد مغذی ضروری قرار می‌گیرد (Pinto *et al.*, 2003).

تاثیر غلظت‌های مختلف فسفر بر رنگدانه‌ها: اثر غلظت های مختلف فسفر بر محتوای رنگدانه‌های اصلی بررسی شده است. میزان کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کاروتنوئیدها در ریزجلبک *I. galbana* بر اساس میلی‌گرم در لیتر ($p < 0.05$) در شکل ۲ نشان داده شده است. محدودیت ترکیبات فسفر منجر به کاهش میزان رنگدانه‌های سلولی می‌گردد. با کاهش غلظت فسفر از ٤ تا صفر میلی‌گرم، غلظت کلروفیل *a* به ترتیب از ٠/٦٦ و ٠/١٨ میلی‌گرم بر لیتر و کلروفیل *b* به ترتیب از ٠/٥٢ تا ٠/١٦ میلی‌گرم بر لیتر کاهش یافت. حداقل و حداکثر کاروتنوئید کل در صفر و ۸ میلی‌گرم فسفر به ترتیب ٠/٨٤ و ٠/٠٣ میلی‌گرم در لیتر بود. این نتایج در توافق با El-Sheek and Rady (۱۹۹۵) می باشد، آنها بیان کردند میزان محتوای کلروفیل ریزجلبک *Picochlorum* sp. در دوره محدودیت فسفر کاهش می‌یابد. همچنین مشاهده کردند این شرایط منجر به کاهش میزان رشد و محتوای پروتئینی و همچنین افزایش میزان کربوهیدرات می‌گردد. کاهش مقدار رنگدانه‌ها در هنگام توقف رشد در پاسخ به عدم توانایی تولید مولکول‌های انرژی (ATP و NADPH) است که باعث می گردد سنتز کلروفیل سلول ها تحت شرایط کمبود فسفر با مشکل روبرو گردد. رنگدانه کلروفیل دارای نیمه عمرکوتاه مدت است.

ترکیب بیوشیمیایی *I. galbana* در غلظت‌های مختلف فسفر: کربوهیدرات‌های ریزجلبک‌ها دارای ویژگی‌های متعددی هستند، سیتوپلاسم ریزجلبک‌ها عمدتا حاوی نشاسته است.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.8.1]

جدول ۱ - تجزیه واریانس زیست توده، کلروفیل، کارتنوئید، کربوهیدرات، پروتئین و چربی در تیمارهای مختلف آزمایشی

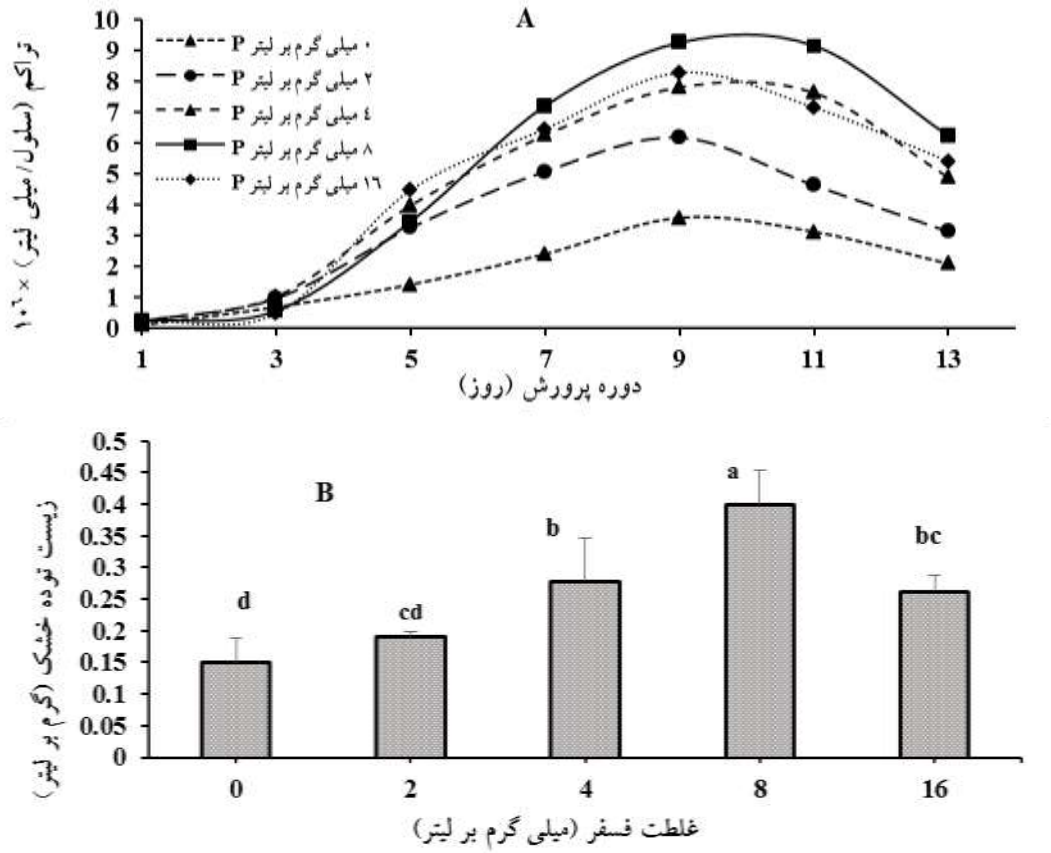
پارامتر	تیمار	مجموع مربعات	درجه ازادی	میانگین مربعات	فاکتور F	سطع معنی‌داری
زیست توده خشک	درون گروهی	۰/۱۱۱	٤	۰/۰۲۸	۱٤/۷۲۳	۰/۰۰۱
	بین گروهی	۰/۰۱۹	۱۰	۰/۰۲		
	کل	۰/۱۲۹	۱٤			
کلروفیل a	درون گروهی	۰/٤۱۱	٤	۰/۱۰۳	۲۱/۷۲۷	۰/۰۰۲
	بین گروهی	۰/۰٤۷	۱۰	۰/۰۰۵		
	کل	۰/٤۵۹	۱٤			
کلروفیل b	درون گروهی	۰/۲۳۹	٤	۰/۰٦۰	۷/۷۰٦	۰/۰۰٤
	بین گروهی	۰/۰۷۸	۱۰	۰/۰۰۸		
	کل	۰/۳۱۷	۱٤			
کاروتنوئید	درون گروهی	۱/۳۳۷	٤	۰/۳۳٤	۳۷/۵۲۸	۰/۰۰۱
	بین گروهی	۰/۰۸۹	۱۰	۰/۰۰۹		
	کل	۱/٤۲٦	۱٤			
کربوهیدرات	درون گروهی	۲۰۵/۰۰٤	٤	۵۱/۲۵۱	۵/۵۵۲	۰/۰۱۳
	بین گروهی	۹۲/۳۰۸	۱۰	۹/۲۳۱		
	کل	۲۹۷/۳۱۲	۱٤			
پروتیین	درون گروهی	۹۹/٤۵۸	٤	۲٤/۸۷۱	۱٦/۰۳۰	۰/۰۰۱
	بین گروهی	۱۹/۵۱۵	۱۰	۱/۵۵۲		
	کل	۱۱۵	۱٤			
چربی	درون گروهی	۵٤۰/۱۲۰	٤	۱۳۵/۰۳۰	۵۸/۲۷۳	۰/۰۰۲
	بین گروهی	۲۳/۱۷۲	۱۰	۲/۳۱۷		
	کل	۵۳٦/۲۹۲	۱٤			

این درشت مولکول‌ها گزینه مناسبی برای تولید بیواتانول هستند (Yuan *et al.*, 2018). علاوه بر این، آنها به دلیل عدم وجود لیگنین به راحتی در ساختار سلولی، هیدرولیز می شوند (Markou *et al.*, 2012). برای رسیدن به زیست توده ریزجلبکی که حاوی بیشترین محتوای کربوهیدرات، پروتئین و چربی باشد، غلظت مطلوب فسفر در محیط کشت باید تعیین شود. سلول‌های رشد یافته در شرایط فقدان فسفر بالاترین میزان کربوهیدرات را ۵۳/ ۲۳ درصد را نشان دادند. شکل ۳ (A) روند تغییرات میزان کربوهیدرات در میان تیمارها با افزایش غلظت‌های مختلف فسفر از ۲ تا ۱٦ میلی‌گرم در لیتر به تدریج روند کاهشی در محتوای کربوهیدرات از ۱٦/٤۸ به ۱۲/٦۵ درصد نشان داد.

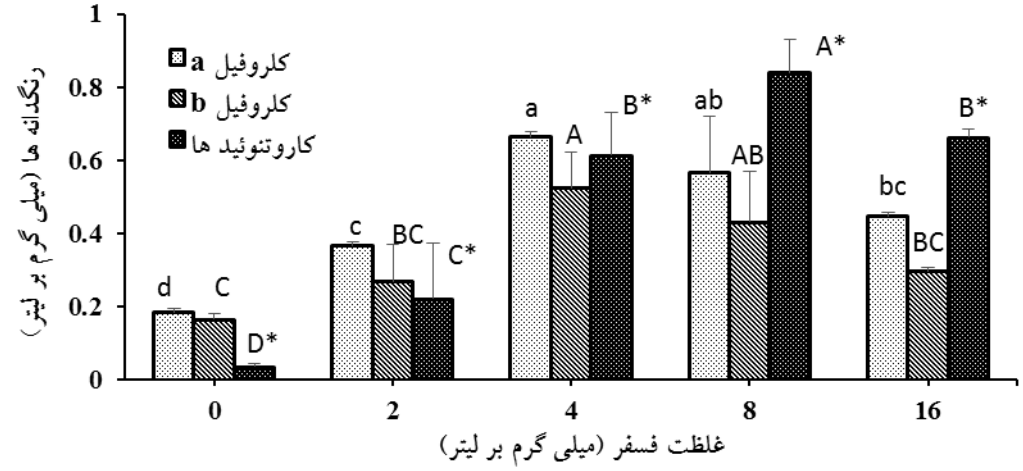
تأثیر غلظت فسفر بر محتوای پروتئین در شکل 3 (B) نشان داده شده است. درصد پروتئین انباشته شده در غلظت-های مختلف فسفر از ۲۰/۱٤ تا ۳٤/۵٦ درصد از وزن سلولی متغیر بود. حداکثر محتوای پروتئین (۳٤/۵٦ درصد) در غلظت ۸ میلی گرم در لیتر فسفر به دست آمد، اما به طور معنی‌داری بیشتر از واحدهای آزمایشی با غلظت ٤ و ۱٦ میلی‌گرم در لیتر فسفر بود. Kilham و همکاران (۱۹۹۷) در گزارشی به بررسی محدودیت فسفر بر میزان رشد، فتوسنتز و برخی پروسه‌های متابولیکی جلبک تک سلولی *Ankistrodesmus falcatus* پرداختند. آنها پیشنهاد کردند میزان محتوای کلروفیل و پروتئین در طول مدت پرورش جلبک در شرایط مذکور کاهش و میزان کربوهیدرات در سلول‌های جلبکی افزایش می‌یابد. همچنین بیان نمودند نسبت پروتئین به کربوهیدرات کمتر از ۱/۲ نشان دهنده استرس مواد مغذی در سلول های جلبکی است،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.8.1]



شکل ۱- اثر میانگین (± انحراف معیار) غلظت‌های مختلف فسفر(صفر، ۲، ٤، ۸ و١٦ میلی‌گرم بر لیتر) برروی میزان رشد (تعداد سلول) (A) و زیست توده خشک (B) جلبک *I. galbana* در طی یک دوره رشد ۱۳ روزه.



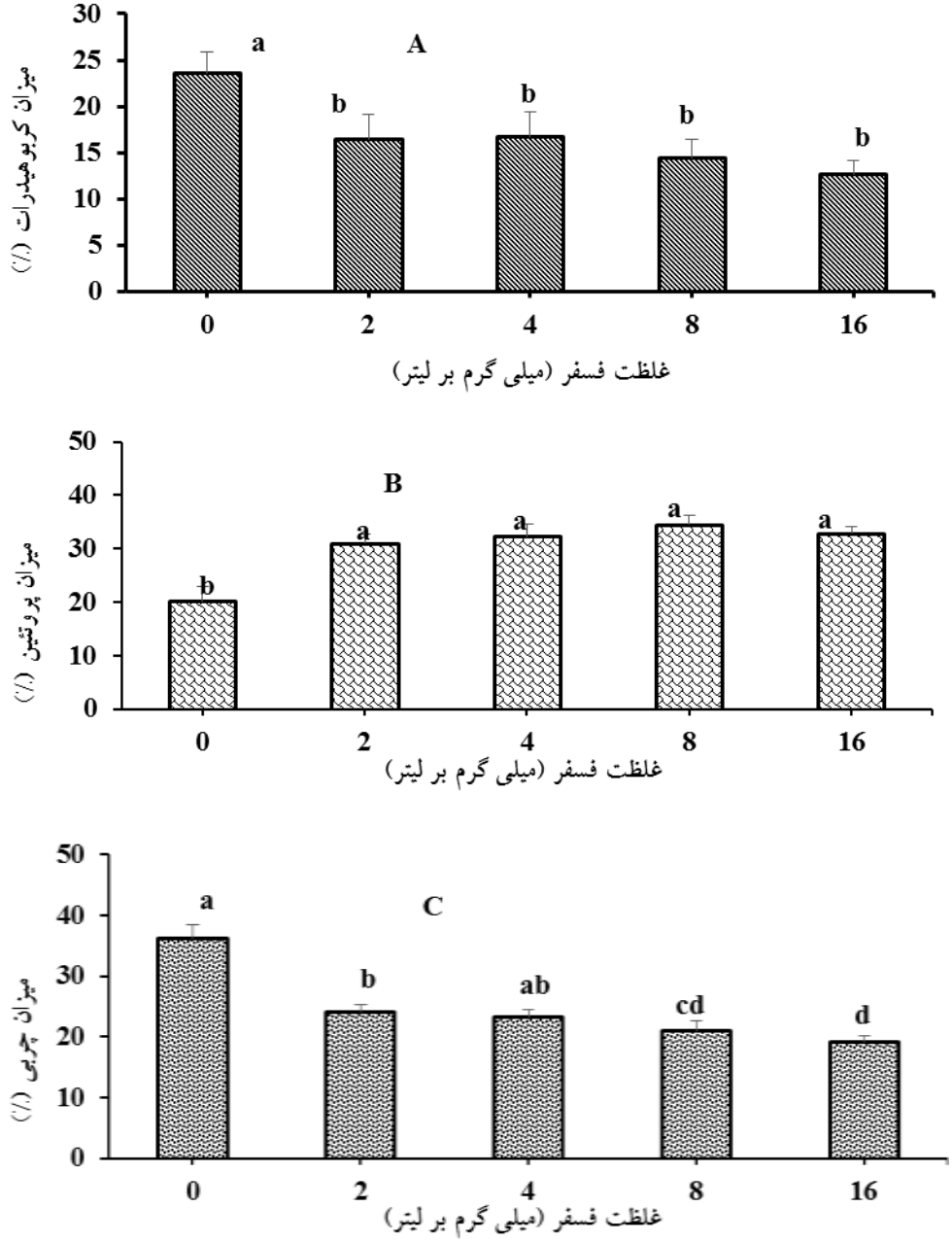
شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف فسفر برروی رنگدانه‌های جلبک *I. galbana* . مقادیر به عنوان میانگین ± انحراف معیار می باشند. حروف مختلف انگلیسی نشان دهنده تفاوت معنی‌داری بین تیمارها (P < ۰ / ۰۵) می‌باشد. ستونها با هر یک از حروف کوچک، حروف بزرگ و حروف بزرگ ستاره دار به صورت مستقل با یکدیگر مقایسه شده‌اند.

همچنین نسبت پروتئین به CHO در شرایط کمبود فسفر و بدون محدودیت فسفری در سلول های جلبکی به ترتیب ١/٦٤ و ۳/۷۹ می باشد.

مقادیر کل محتوای چربی به ترتیب ۳٦/۲، ۲٤/۰، ۲۳/۲،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.8.1]



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف فسفر بر ترکیبات بیوشیمیایی جلبک *I. galbana* (A) محتوای کربوهیدرات (درصد از وزن خشک)، (B) محتوای پروتئین (درصد از وزن خشک)، (C) محتوای چربی (درصد از وزن خشک). مقادیر به عنوان میانگین ± انحراف معیار می‌باشند. حروف مختلف نشان دهنده اختلاف معنی‌داری میان تیمارها (P<۰/۰۵) می‌باشد.

۲۱/۰ و ۱۹/۱ درصد در واحد آزمایشی به ترتیب با غلظت های ۰، ۲، ٤، ۸ و ۱٦ میلی‌گرم بر لیتر فسفر بود. نتایج نشان داد که کاهش غلظت فسفر در محیط کشت سبب افزایش قابل توجهی در میزان چربی‌ها می‌شود شکل 3 (C). Dahmen و همکاران (۲۰۱٤) در مطالعه خود برروی *Picochlorum* sp. گزارش داد که بیشترین میزان چربی بترتیب در اثر گرسنگی فسفات و مکمل سدیم کربنات به دست می‌آید. در تحقیقی Piorreck و همکاران (۱۹۸٤) گزارش کردند، در محدودیت های مواد مغذی، سنتز چربی به سمت ذخیره سازی تری گلیسرید اشباع می‌رود. آنها اعلام کردند که نیتروژن و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.8.1]

جدول ۲- پروفایل اسید چرب متیل استری ریزجلبک *I. galbana* در غلظت های متفاوت فسفر (صفر، ۲، ٤، ۸ و ١٦ میلی گرم در لیتر). مقادیر ارائه شده به صورت میانگین ± انحراف معیار می باشند. حروف معنی‌داری در هر ردیف به صورت مجزا با هم مقایسه شدند.

ترکیب اسید چرب (درصد)	صفر(میلی‌گرم در لیتر)	۲ (میلی‌گرم در لیتر)	٤ (میلی‌گرم در لیتر)	۸ (میلی‌گرم در لیتر)	١٦ (میلی‌گرم در لیتر)
C14:0	۱۰/٦۳±۰/۷۸ b	۱۳/۰۵±۰/۹٦ a	۱٤/۱۳±۱/۰٤ a	۱٤/۳۹±۱/۰٦ a	۱٤/۷۹±۱/۰۹ a
C16:0	۳۳/۹٦±۲/۵۰ a	۳۰/۳٦±۲/۲۳ ab	۲٦/٦۳±۱/۹٦ bc	۲۳/۹۰±۱/۷٦ c	۲۷/۷۵±۲/۰٤ bc
C16:1	۵/۰۲±۰/۳۷ b	٤/۱۵±۰/۳۱ c	٦/۷۹±۰/۵۰ a	۷/۱٤±۰/۵۳ a	۷/۱۱±۰/۵۲ a
C18:0	۲۳/٤۰±۱/۷۲ a	۱۷/۵۹±۱/۲۹ b	۱۳/۷۵±۱/۰۱ c	۱۰/٤٤±۰/۷۷ d	۱٤/۳۷±۱/۰٦ c
C18:1n-9	۱۸/۷۰±۱/۳۸ c	۲۵/۷۹±۱/۹۰ b	۲٦/۲٦±۱/۹۳ b	۳۰/۷۵±۲/۲٦ a	۲٤/۳۸±۱/۷۹ b
C18:2n-6	٤/۷۹±۰/۳۵ c	۵/۰۰±۰/۳۷ c	٦/۹۳±۰/۵۱ ab	۷/۷۳±۰/۵۷ a	٦/۱٦±۰/٤۵ b
C18:3n-3	۳/۵۰±۰/۲٦ b	٤/۰٦±۰/۳۰ b	۵/۵۱±۰/٤۱ a	۵/٦٤±۰/٤۲ a	۵/٤٤±۰/٤۰ a
∑ SFA[1]	٦۷/۹۹±۵/۰۰ a	٦۱/۰۰±٤/٤۹ ab	۵٤/۵۱±٤/۰۱ bc	٤۸/۷۳±۳/۵۹ c	۵٦/۹۱±٤/۱۹ b
∑ MUFA[2]	۲۳/۷۲±۱/۷۵ c	۲۹/۹٤±٤/٤۹ b	۳۳/۰۵±٤/۰۱ b	۳۷/۹۰±۳/۵۹ a	۳۱/٤۹±٤/۱۹ b
∑ PUFA[3]	۸/۲۹±۰/٦۱ c	۹/۰٦±۰/٦۷ c	۱۲/٤٤±۰/۹۲ ab	۱۳/۳۷±۰/۹۸ a	۱۱/۵۹±۰/۸۵ b

مقادیر به عنوان میانگین ± انحراف معیار می‌باشند. حروف مختلف نشان دهنده اختلاف معنی‌داری میان تیمارها (P<۰/۰۵) می‌باشد.

SFAs[1]: اسیدهای چرب اشباع، MUFAs[2]: اسیدهای چرب تک غیراشباع و PUFAs[3]: اسیدهای چرب چند غیر اشباع

همچنین فسفر در توسعه فسفولیپیدها شرکت می‌کند. در مطالعات انجام شده روی موجودات زنده دیگر، از جمله گیاهان بالاتر، برخی محققان جایگزینی فسفولیپیدهای غشایی توسط گلیکولیپیدهای بدون فسفر و چربی های بتائین تحت محدودیت فسفات را تایید کرده‌اند (Andersson *et al.*, 2003). به طور کلی تحت شرایط محدودیت مواد مغذی در زمانی که منبع انرژی (نور) و کربن (دی‌اکسیدکربن) در دسترس و مکانیزم‌های سلولی برای فتوسنتز فعال باشند، انباشته شدن چربی در ریزجلبک‌ها صورت می‌گیرد (Courchesne *et al.*, 2009).

اثر غلظت های مختلف فسفر بر محتوای اسید چرب متیل استری: مشخصات اسیدهای چرب و محتوای نسبی اسیدهای چرب اشباع (Saturated Fatty Acids)، اسیدهای چرب غیراشباع تکی و غیراشباع چندگانه (Monounsaturated Fatty Acids و Polyunsaturated Fatty Acids) در جدول ۲ ارائه شده است. تجزیه و تحلیل کروماتوگرافی گازی (GC) هفت اسید چرب در ریزجلبک *I. galbana* نشان داد که در میان آنها، اسیدهای چرب با طول زنجیره ی از C14 تا C18 غالب بودند. خواص این اسیدهای چرب ریزجلبک‌ها برای تولید سوخت زیستی به خوبی شناخته شده است (Singhasuwan *et al.*, 2015). با افزایش میزان فسفر از صفر تا ١٦ میلی‌گرم در لیتر مقادیر C16: 0 از ۳۳/۹٦٪ و C18: 0 از ۲۳/٤۰٪ به ترتیب به ۲۷/۷۵ و ۱٤/۳۷٪ کاهش یافته‌اند. در تحقیقی مشابه که بر روی جلبک *Picochlorum* sp صورت گرفت در شرایط محرومیت کامل فسفر میزان اسیدهای چرب اشباع به میزان دو برابر بیشتر از شرایط کنترل بود، همچنین بیان نمودند تغییر در میزان اسیدهای چرب وابسته به محیط کشت و همچنین ذخیره فسفر سلولی در شرایط محدودیت و همچنین شرایط بهینه فسفر می‌باشد. در مطالعه حاضر، در شرایط محرومیت کامل فسفر مقادیر اسیدهای چرب چند غیر اشباع به صورت معنی‌داری ($P < 0/05$) کمتر از شرایط وجود فسفر در محیط کشت می‌باشد. در گزارشی مشابه تحقیق حاضر Dahmen-Ben Moussa و همکاران (۲۰۱۷) بیان نمودند با افزایش میزان فسفر در محیط کشت ریزجلبک *Tetraselmis marina* میزان اسیدهای چرب اشباع کاهش و میزان اسیدهای چرب غیراشباع به طور همزمان افزایش می‌یابد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.8.1]

همچنین نتایج نشان داد که در غلظت‌های پایین‌تر و بالاتر از ۸ میلی گرم بر لیتر فسفر مقادیر MUFA و PUFA نسبت به گروه شاهد بالاتر است. اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه نقش مهمی در سازگاری دمایی، تنظیم سیالیت غشاء و نفوذپذیری و انتقال اکسیژن و الکترون در متابولیسم سلولی و بافتی ایفا می‌کنند (Cardozo *et al.*, 2007).

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش پاسخ فیزیولوژیک *I. galbana* تحت غلظت های مختلف فسفر مورد مطالعه قرار گرفت. غلظت کم (صفر و ۲ میلی گرم در لیتر) و زیاد (۱۶ میلی گرم در لیتر) فسفر باعث ایجاد تنش در *I. galbana* شد. در غلظت‌های بیشتر و کمتر از ۸ میلی گرم در لیتر، رشد سلول، محتوای رنگدانه‌ها، پروتئین فسفر کاهش می‌یابد. افزایش غلظت فسفر از صفرتا ۸ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش تعداد سلول می‌گردد، اما در غلظت‌های بالاتر فسفر (۱۶ میلی‌گرم در لیتر) تراکم و تعداد سلولها کاهش می‌یابد. تمام رنگدانه های فتوسنتزی به دلیل محرومیت فسفر کاهش یافت. با توجه به تجزیه و تحلیل اسید چرب متیل استری (FAMEs) غلظت ۸ میلی گرم بر لیتر فسفر، کمترین میزان SFAs را موجب شد. نتایج این مطالعه نشان داد که سرعت رشد و ترکیب بیوشیمیایی *I. galbana* با تغییر غلظت فسفر به میزان قابل توجهی تغییر می‌یابد، که با توجه به هدف پرورش، ریزجلبک‌ها در صنعت آبزی پروری، تهیه سوخت زیستی و تصفیه فاضلاب کارخانه‌های صنایع غذایی می‌تواند از آن بهره‌برداری گردد.

منابع

Andersson, M.X., Stridh, M.H., Larsson, K.E., Liljenberg, C. and Sandelius, A.S. (2003) Phosphate-deficient oat replaces a major portion of the plasma membrane phospholipids with the galactolipid digalactosyldiacylglycerol. FEBS letters 537: 128-132.

Dahmen-Ben Moussa I, Chtourou H, Karray F, Sayadi S, Dhouib A (2017) Nitrogen or phosphorus repletion strategies for enhancing lipid or carotenoid production from *Tetraselmis marina*. Bioresoure Technology 238:325–332.

Becker, W. (2004) 18 Microalgae in Human and Animal Nutrition, Handbook of microalgal culture. Biotechnology and Applied Phycology 312.

Blair, M.F., Kokabian, B. and Gude, V.G. (2014) Light and growth medium effect on *Chlorella vulgaris* biomass production. Journal of Environmental Chemical Engineering 2: 665-674.

Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Cardozo, K.H., Guaratini, T., Barros, M.P., Falcão, V.R., Tonon, A.P., Lopes, N.P., Campos, S., Torres, M.A., Souza, A.O. and Colepicolo, P. (2007) Metabolites from algae with economical impact. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 146: 60-78.

Courchesne, N.M.D., Parisien, A., Wang, B. and Lan, C.Q. (2009) Enhancement of lipid production using biochemical, genetic and transcription factor engineering approaches. Journal of Biotechnology 141: 31-41.

Dahmen, I., Chtourou, H., Jebali, A., Daassi, D., Karray, F., Hassairi, I., Sayadi, S., Abdelkafi, S. and Dhouib, A. (2014) Optimisation of the critical medium components for better growth of *Picochlorum* sp. and the role of stressful environments for higher lipid production. Journal of the Science of Food and Agriculture 94: 1628-1638.

Daneshvar, E., Antikainen, L., Koutra, E., Kornaros, M. and Bhatnagar, A. (2018a) Investigation on the feasibility of *Chlorella vulgaris* cultivation in a mixture of pulp and aquaculture effluents: Treatment of wastewater and lipid extraction. Bioresource Technology 255: 104-110.

Daneshvar, E., Zarrinmehr, M.J., Hashtjin, A.M., Farhadian, O. and Bhatnagar, A. (2018b) Versatile applications of freshwater and marine water microalgae in dairy wastewater treatment, lipid extraction and tetracycline biosorption. Bioresource Technology 268: 523-530.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.T. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry 28: 350-356.

El-Kassas, H.Y. (2013) Growth and fatty acid profile of the marine microalga *Picochlorum* sp. grown under nutrient stress conditions. The Egyptian Journal of Aquatic Research 39: 233-239.

El-Sheek, M. and Rady, A. (1995) Effect of phosphorus starvation on growth, photosynthesis and some metabolic processes in the unicellular green alga *Chlorella kessleri*. Phyton 35: 139-151.

Fan, J., Cui, Y., Wan, M., Wang, W. and Li, Y. (2014) Lipid accumulation and biosynthesis genes response of the oleaginous *Chlorella pyrenoidosa* under three nutrition stressors. Biotechnology for Biofuels 7: 17.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.8.1]

Hemaiswarya, S., Raja, R., Kumar, R.R., Ganesan, V. and Anbazhagan, C. (2011) Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture. World Journal of Microbiology and Biotechnology 27: 1737-1746.

Hu, Q. (2004) Environmental effects on cell composition. Blackwell Science Ltd.: Oxford, UK pp. 83–93.

Kamalanathan, M., Gleadow, R. and Beardall, J. (2015) Impacts of phosphorus availability on lipid production by *Chlamydomonas reinhardtii*. Algal Research 12: 191-196.

Kilham, S., Kreeger, D., Goulden, C. and Lynn, S. (1997) Effects of nutrient limitation on biochemical constituents of *Ankistrodesmus falcatus*. Freshwater Biology 38: 591-596.

Levine, R.B., Costanza-Robinson, M.S. and Spatafora, G.A. (2011) *Neochloris oleoabundans* grown on anaerobically digested dairy manure for concomitant nutrient removal and biodiesel feedstock production. Biomass and Bioenergy 35: 40-49.

Li, Y., Horsman, M., Wang, B., Wu, N. and Lan, C.Q. (2008) Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans*. Applied Microbiology and Biotechnology 81: 629-636.

Markou, G., Angelidaki, I. and Georgakakis, D. (2012) Microalgal carbohydrates: an overview of the factors influencing carbohydrates production, and of main bioconversion technologies for production of biofuels. Applied Microbiology and Biotechnology 96: 631-645.

Martinez, M., Chakroff, R. and Pantastico, J. (1975) Note: direct phytoplankton counting techniques, using the haemacytometer, Philippine Agriculturist 59:43 – 50.

Moussa, I.D., Chtourou, H., Karray, F., Sayadi, S. and Dhouib, A. (2017) Nitrogen or phosphorus repletion strategies for enhancing lipid or carotenoid production from *Tetraselmis marina*. Bioresource Technology 238: 325-332.

Parsons, T., Maita, Y. and Lalli, C. (1984) Determination of chlorophylls and total carotenoids: spectrophotometric method, Parsons, TR, Y.Maita and CM Lalli. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, Oxford. 101-112.

Pinto, E., Sigaud-kutner, T.C., Leitao, M.A., Okamoto, O.K., Morse, D. and Colepicolo, P. (2003) Heavy metal–induced oxidative stress in algae. Journal of Phycology 39: 1008-1018.

Piorreck, M., Baasch, K. and Pohl, P. (1984) Biomass production, total protein, chlorophylls, lipids and fatty acids of freshwater green and blue-green algae under different nitrogen regimes. Phytochemistry 23: 207-216.

Rausch, T. (1981) The estimation of micro-algal protein content and its meaning to the evaluation of algal biomass I. Comparison of methods for extracting protein. Hydrobiologia 78: 237-251.

Redfield, A. C. (1934) On the proportions of organic derivatives in sea water and their relation to the composition of plankton. In James Johnstone Memorial Volume, pp. 176–192. Liverpool University Press.

Sánchez, Á, Maceiras, R., Cancela, Á. and Pérez, A. (2013) Culture aspects of *Isochrysis galbana* for biodiesel production. Applied Energy 101: 192-197.

Shelef, G., Soeder, C.J. (1980). Algae Biomass: production and use. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam pp. 315-341.

Singhasuwan, S., Choorit, W., Sirisansaneeyakul, S., Kokkaew, N. and Chisti, Y. (2015) Carbon-to-nitrogen ratio affects the biomass composition and the fatty acid profile of heterotrophically grown *Chlorella* sp. TISTR 8990 for biodiesel production. Journal of Biotechnology 216: 169-177.

Solovchenko, A., Solovchenko, O., Khozin-Goldberg, I., Didi-Cohen, S., Pal, D., Cohen, Z. and Boussiba, S. (2013) Probing the effects of high-light stress on pigment and lipid metabolism in nitrogen-starving microalgae by measuring chlorophyll fluorescence transients: studies with a Δ5 desaturase mutant of *Parietochloris incisa* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). Algal Research 2: 175-182.

Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. and Isambert, A. (2006) Commercial applications of microalgae. Journal of Bioscience and Bioengineering 101: 87-96.

Tebbani, S., Filali, R., Lopes, F., Dumur, D. and Pareau, D. (2014) CO_2 Biofixation by Microalgae: Modeling, estimation and control. Wiley ISTE, United Kingdom.

Tzovenis, I., De Pauw, N. and Sorgeloos, P. (2003) Optimisation of T-ISO biomass production rich in essential fatty acids: II. Effect of different light regimes on the production of fatty acids. Aquaculture 216: 223-242.

Van Bergeijk, S., Salas-Leiton, E. and Cañavate, J. (2010) Low and variable productivity and low efficiency of mass cultures of the haptophyte *Isochrysis aff. galbana* (T-iso) in outdoor tubular photobioreactors. Aquacultural Engineering 43: 14-23.

Walne, P. R. (1966) Experiments on the large-scale culture of the larvae of *Ostrea edulis*. Journal Fish Invest Min Agric Fish London, Ser. 2: 25-53.

Yuan, Y., Liu, H., Li, X., Qi, W., Cheng, D., Tang, T., Zhao, Q., Wei, W. and Sun, Y. (2018) Enhancing Carbohydrate Productivity of *Chlorella* sp. AE10 in Semi-continuous Cultivation and Unraveling the Mechanism by Flow Cytometry. Applied Biochemistry and Biotechnology 185: 419-433.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.8.1]

Effect of different phosphorus concentrations on the growth rate and biochemical composition of golden-brown alga *Isochrysis galbana*

Mohammad Javad Zarrinmehr[1], Omidvar Farhadian[1*], Fatemeh Paykan Heyrati[1], Javad Keramat[2]

1Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan 84156, Iran
2 Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, 84156, Iran
(Received: 08/12/2018, Accepted: 02/11/2019)

Abstract

Phosphorus is one of the critical macronutrients that plays an important role in energy transfer, phospholipid and nucleic acids synthesis, and biochemical compounds in microalgal cells. It plays an important role in the formation and transfer of metabolic energy to ATP and NADPH structures. In this study, the effect of different phosphorus (NaH_2PO_4) concentrations (0, 2, 4, 8 and 16 $mg.L^{-1}$) was investigated on growth rate and biochemical composition of *Isochrysis galbana*. The results showed that phosphorus deprivation decreased cell growth, pigments and protein contents, whilst carbohydrate and lipids were increased along with phosphorus concentration increaments. The highest carbohydrate, protein and lipid content was observed as, 23.5, 34.6 and 36.2 % in phosphorus concentrations of 0, 8, 0 $mg.L^{-1}$, respectively. By increasing the concentration of phosphorus from 0 to 16 mg. L^{-1}, the content of C16: 0 (33.96%) and C18: 0 (23.4%) were decreased to 27.75% and 14.37%, respectively. The results of this study indicated that phosphorus concentration can significantly affect the growth rate and biochemical compositions of *I. galbana*.

Key words: Biochemical composition, Fatty acids, *Isochrysis galbana*, Phosphorus.
:

Corresponding author, Email: omfarhad@cc.iut.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.8.1]