بررسی نسبت ازت به فسفر در میزان رشد و رنگیزه‌های میکروجلبک *Chaetoceros calcitrans*

امیر جواد فارسونی [۱]
سیده زهرا معصومی زاده [۱*]

۱. گروه علوم و فناوری‌های زیستی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

* **نویسنده مسئول مکاتبات**
Zahramasoomi@iau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۲۷

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد است.

چکیده

میکروجلبک‌ها از مؤثرترین تولیدکنندگان اولیه در اکوسیستم‌های آبی بوده و نقشی کلیدی در چرخه عناصر مغذی دارند. نسبت نیتروژن به فسفر (N:P) یکی از مهم‌ترین عوامل تعیین‌کننده در رشد و سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی این موجودات است. *Chaetoceros calcitrans* یکی از جلبک‌های پرکاربرد در تغذیه لاروهای سخت‌پوستان و نرم‌تنان است و افزایش کیفیت زیست‌توده‌ی آن به‌طور مستقیم بر بقای لاروها اثرگذار است. استفاده از محیط‌های کشت با نسبت بهینه N:P می‌تواند محتوای پروتئین، اسیدهای چرب غیراشباع و رنگیزه‌ها را افزایش داده و ارزش تغذیه‌ای آن را بهبود بخشد. پژوهش حاضر با هدف تعیین نسبت بهینه نیتروژن به فسفر در رشد و تولید رنگیزه‌های میکروجلبک *C. calcitrans* انجام شد. آزمایش طی دوره ۱۵ روزه در بهار ۱۳۹۸ در شرایط کنترل‌شده با شدت نور ۲۵۰۰ ± ۱۲۰ لوکس (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی)، دمای ثابت ۲۵ ± ۲ درجه سانتی‌گراد و هوادهی مداوم انجام گردید. تیمارها شامل نسبت‌های متفاوت نیتروژن به فسفر (۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰) در محیط کشت TMRL بودند. نتایج نشان داد بیشترین تراکم سلولی و حداکثر میزان کلروفیل a و b در نسبت نیتروژن به فسفر ۱۰ (۱:۱۰) حاصل شد، در حالی که در نسبت‌های بالاتر (۲۰ و ۴۰) کاهش معنی‌داری در رشد و غلظت رنگیزه‌ها مشاهده گردید ($P<0.05$). با افزایش نسبت نیتروژن به فسفر، میزان کاروتنوئیدها افزایش یافت و بالاترین مقدار آن در تیمار ۱:۴۰ اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج، نسبت ۱:۱۰ به عنوان ترکیب بهینه برای دستیابی به بیشترین رشد و فعالیت فتوسنتزی *C. calcitrans* پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: میکروجلبک، نسبت نیتروژن به فسفر، رنگیزه، رشد سلولی، *Chaetoceros calcitrans*

مقدمه

ریزجلبک‌ها از اهمیت بوم‌شناختی، تجاری، صنعتی، دارویی و غذایی برخوردار بوده و دارای مواد معدنی ضروری، پروتئین قابل‌هضم (که مقدار بالای آن قابل‌مقایسه با سایر گیاهان است)، ویتامین‌های A، B_2، B_{12}، C و E و چربی نسبتاً کم (اما مقدار متناسب اسید چرب غیراشباع امگا ۳) و ریزمغذی‌ها (سدیم، پتاسیم، منیزیم، روی، کلسیم، آهن، مس، ید و سایر عناصر کمیاب) هستند (Moustafa and Saeed, 2014).

عوامل متعددی ازجمله عوامل غیرزیستی شامل دی‌اکسید کربن، اکسیژن و عناصری مانند نیتروژن، فسفر، کلسیم، آهن و مس و عوامل زیستی می‌تواند بر روی رشد جلبک‌ها موثر باشد (فرهادیان و همکاران، ۱۳۹۳). امروزه از جلبک‌های میکروسکوپی و ماکروسکوپی به‌طور اصلی در غذای دام و آبزیان پرورشی و همچنین به‌عنوان کودهای زیستی استفاده می‌شود. جلبک‌ها به دلیل منابع غذایی کاملی که برای لاروها در آغاز زندگی‌شان تولید می‌کنند بهترین گزینه برای استفاده در پرورش آبزیان هستند. تغذیه برای انسان، علوم پزشکی و دارویی، کشاورزی و حتی تصفیه آب ازجمله مصارف دیگر جلبک‌ها هستند (هدایتی‌فرد و همکاران، ۱۳۹۵). حضور کافی مواد مغذی در محیط کشت میکروجلبک‌ها با توجه به نوع جلبک و گونه آن در آب شیرین و شور می‌تواند تغییر کند. وجود اسیدهای چرب، کاروتنوئیدها، ویتامین‌ها و مواد مغذی مورد نیاز لاروها در جلبک‌ها بر اهمیت به‌کارگیری آنها می‌افزاید (Barsanti and Gualtier, 2016). از سوی دیگر

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-05]

زیســـت‌توده جلبکی را می‌توان طی فرآیندهای هیدرولیز و تخمیر برای تولید ســـوخت‌های زیســـتی و فرآورده‌هایی با قابلیت تولید انرژی تجدیدپذیر استفاده نمود (Demirbas and Demirbas, 2010). ریزجلبک‌ها برای رشد خود به نور، قند، دی‌اکسید کربن، آب، نیتروژن، فسفر و پتاسیم نیاز دارند و می‌توانند در مدت زمان کوتاهی انواع لیپیدها، هیدرات‌های کربن و پروتئین‌ها را به‌عنوان محصولات متابولیکی با مقادیر قابل ملاحظه تولید کنند (Koyande *et al*., 2019). فسفر نقش اساسی در رشد جلبک‌ها، فعالیت‌های متابولیسمی و بیولوژیکی دارد. تولیدکنندگان (جلبک‌ها و گیاهان) فســـفر محلول را جذب کرده و آن را با روش‌های مختلف به فســـفر آلی تبدیل می‌کنند. جلبک‌ها با دارا بودن آنزیم فسـفاتاز قادرند در بیرون سـلول خود مواد فسـفردار را هیدرولیز و جذب کنند. فسـفر در چربی‌های موجود در غشـا سـلولی، بسیاری از کوآنزیم‌ها، DNA، RNA و حتی ATP مشارکت دارد (Prairie *et al*., 2019). یون نیترات و آمونیوم اساسا برای ساخت اسـیدهای آمینه، پروتئین‌ها و اسـیدهای آمینه به کار می‌روند که درنتیجه رشـد بالای ریزجلبک‌ها را به دنبال دارد (Alobwede *et al*., 2019). با توجه به اهمیت فسفر و نیتروژن در رشد جلبک‌ها مطالعات متعددی در این زمینه انجام شده است . زرین مهر و همکاران (۱۳۹۹) اثرات تیمار فسفر بر سرعت رشد و ترکیبات بیوشیمیایی جلبک دریایی طلایی – قهوه‌ای *Isochrysis galbana* بررسی کردند که نتایج نشان داد محرومیت فسفر باعث کاهش رشد سلول، محتوای رنگدانه‌ها و پروتئین‌ها شد. نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت فسفر به‌طور قابل‌توجهی بر سرعت رشـد و ترکیب بیوشـیمیایی جلبک مؤثر بود. Bajwa و همکاران (۲۰۱۸)، در اسـترس کمبود و نیز غنی بودن محیط کشت از نیتروژن و فسفر را عامل محرک رشد ریز جلبک‌های Oleaginous ذکر کردند و Akbarnejad و همکاران (۲۰۲۰)، که غلظت نیتروژن (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) را عاملی بسیار مهم بر روی رشد و محتوی اسیدهای چرب دیاتومه‌ی *Chaetoceros calcitrans* ذکر کرد. نسبت و میزان حضور نیتروژن و فسفر در محیط کشت شاخصی مهم برای رشد جلبک‌ها محسوب می‌شود. تغییر در نسبت ازت به فسفر با تاثیر بر میزان رنگیزه‌های سلولی می‌تواند ضمن افزایش رشد، سرعت رشد جلبک‌ها را نیز افزایش دهد که شاخصی مهم افزایش رشد در مراکز تکثیر و پرورش آبزیان بخصوص میگو است که از این میکروجلبک استفاده می‌کنند. از طرفی تغییر نسبت نیتروژن به فسفر در حوضـــچه‌های تکثیر و پرورش ماهی و میگو ســـبب تغییر در گونه‌های فیتوپلانکتونی و تاثیر درکیفیت آب این مزارع و تاثیر بر زئوپلانکتون‌ها دارد. همچنین این نسـبت تاکنون در میکروجلبک *Chaetoceros calcitrans* بررســی نشــده اســت. ازاین‌رو هدف از مطالعه‌ی حاضر یافتن بهترین نسبت ازت به فسفر در میزان رشد و رنگیزه میکروجلبک *Chaetoceros calcitrans* بود.

مواد و روش‌ها

استوک اولیه‌ی تیمارهای میکروجلبکی بهار ۱۳۹۸ از مرکز تکثیر آبزیان بندر لنگه تهیه و به آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز (۱۳۹۸) انتقال داده شد. از محیط کشت گیلارد و آب دریا با شوری ppt ۲۵ (۹۰۰ میلی‌لیتر) استفاده شد. به ازای هر ۹۰۰ لیتر محیط کشت، ۱۰۰ میلی‌لیتر جلبک اضافه شد. جهت ساخت محلول‌های با نسبت‌های ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ نیتروژن به فسفر که به ترتیب تیمارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ بودند از محیط کشت TMRL استفاده شد. هر تیمار دارای سه تکرار بود. در طول این آزمایش محیط کشت TMRL تحت تیمار نوری ۱۲۰ ± ۲۵۰۰ لوکس قرار گرفت. دوره نوردهی ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود. هوادهی ۲۴ ساعته و با استفاده از پمپ آکواریوم و به کمک رابط‌های تنظیمی هوا انجام شد . دما در طول این آزمایش ثابت و ۲± ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. نمونه‌برداری در روزهای دوم، چهارم، ششم، هشتم، دهم، دوازدهم و چهاردهم انجام شد.

جهت شـمارش سـلول‌های جلبکی یک قطره از تیمار جلبکی به‌طور یکسـان روی لام هموسـیتومتر پخش و لایه‌ی نازکی تشـکیل شـد. سلول‌های موجود در مربع وسطی لام (دارای تقسیمات مضاعف) شمارش شد. بدین ترتیب که سلول‌های موجود در مربع کوچک‌تر (۴ تا در گوشـه و یکی در مرکز) شـمرده شـدند. این مربع مرکزی برخلاف دیگر مربع‌ها دارای ۲۵ خانه اسـت. تراکم سـلولی با اسـتفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-05]

تعداد کل سلول‌ها در ۲۵ مربع = تعداد سلول‌ها در ۵ مربع × ۵

تعداد کل سلول‌ها در ۱ میلی‌لیتر از محیط کشت = 10^4 × تعداد کل سلول‌ها در ۲۵ مربع (Haran، 1992).

از سانتریفیوژ با دورrpm ۸۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه جهت جداسازی جلبک‌ها از محیط کشت استفاده شد. استخراج کلروفیل از جلبک‌ها بر اساس روش Yang و همکاران (۱۹۹۸) انجام شد. ۱۰ میلی‌گرم جلبک با ۱۰ میلی‌لیتر از مخلوط استون – آب به نسبت (۴: ۱) هموژن و به مدت ۲ دقیقه تا زمان یکنواخت شدن هم زده شد. مخلوط به دست آمده با کمک دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار (Sigma3-30K) با دور ۵۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه و دمای ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. میزان کلروفیل‌ها در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۵۳، ۶۶۶ و ۴۷۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مدل DR2800 (آلمان) قرائت گردید و با استفاده از فرمول‌های زیر مقدار رنگیزه‌ها محاسبه شد (Yang *et al*., 1998).

$$\text{Chlorophyll a } (\mu g/ml) = 12.25\ A_{663} - 2.25\ A_{653}$$

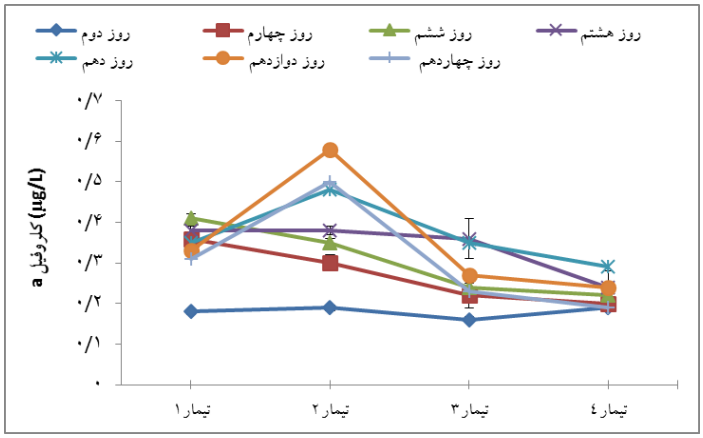
$$\text{Chlorophyll b } (\mu g/ml) = 20.31\ A_{653} - 2.25\ A_{666}$$

$$\text{Total Carotenoids } (\mu g/ml) = (1000\ A_{470} - 2.860\ \text{Chl a} - 12.29\ \text{Chl b})/245$$

برای مقایسه نتایج به دست آمده از نرم‌افزار SPSS 23 استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک بررسی شد. نتایج با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تکمیلی توکی مورد بررسی قرار گرفتند. تمام آنالیزهای آماری در سطح ۰/۰۵ انجام شد. نمودارهای نیز با استفاده از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۳ رسم گردید.

نتایج

بررسی تاثیر نسبت نیتروژن به فسفر در میزان رنگیزه کلروفیل a میکروجلبک کتوسروس در شکل ۱ نشان داده شده است. در روز دوم نمونه‌برداری، میزان کلروفیل بین ۴ تیمار اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). در روزهای چهارم و ششم تیمار ۱، در روز هشتم دو تیمار ۱ و ۳ و در روزهای دهم، دوازدهم و چهاردهم بالاترین میزان کلروفیل a در تیمار ۲ اندازه‌گیری شد. کمترین میزان کلروفیل در دوره‌ی مورد بررسی در تیمار ۴ اندازه‌گیری شد (P<۰/۰۵). تیمار ۴ کمترین میزان کلروفیل a را داشت. تیمار ۱ تا روز چهارم بالاترین میزان کلروفیل و تیمار ۲ در روزهای دهم تا چهاردهم بالاترین میزان کلروفیل را داشت(P<۰/۰۵). لازم به ذکر است در روزهای ششم و هشتم میزان کلروفیل در تیمار ۱ بدون اختلاف معنی‌دار با تیمار ۲ مقدار بالاتری داشت (P>۰/۰۵).

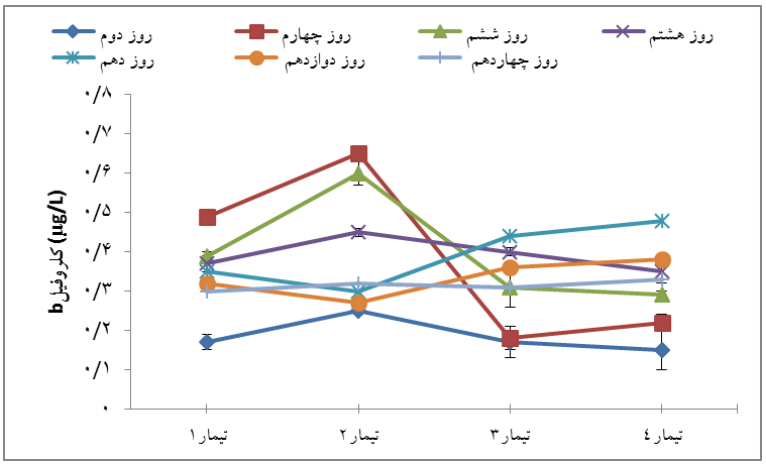


شکل ۱ : مقایسه تاثیر نسبت نیتروژن به فسفر در میزان رنگیزه کلروفیل a میکروجلبک *C. calcitrans*

(تیمار ۱ نسبت نیترات به فسفات ۵ ، تیمار ۲ : نسبت ۱۰، تیمار ۳: نسبت ۲۰، تیمار ۴: نسبت ۴۰)

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-05]

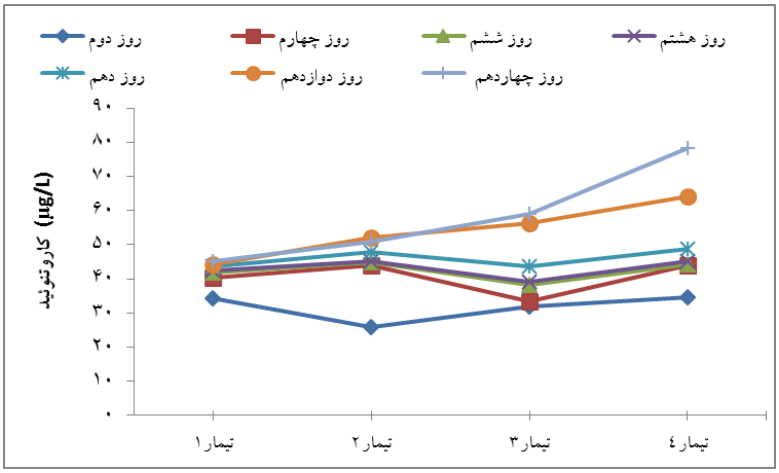
بررسی تاثیر نسبت نیتروژن به فسفر در میزان رنگیزه کلروفیل b میکروجلبک کتوسروس در شکل ۲ مشخص شده است. بالاترین میزان کلروفیل b در تیمار ۲ در روز چهارم اندازه‌گیری شد. تیمار ۱ تا روز هشتم بالاترین میزان کلروفیل b داشت و سپس میزان کلروفیل در هر دو تیمار روندی کاهشی نشان داد و در انتهای روز چهاردهم به کمترین میزان رسید. در روزهای چهارم و ششم تیمار ۲ و در روزهای دهم، دوازدهم و چهاردهم بالاترین میزان کلروفیل b در تیمارهای ۳ و ۴ اندازه‌گیری شد (P<۰/۰۵). از روز هشتم تیمار ۴ و ۳ در مقایسه با تیمارهای ۱ و ۲، میزان کلروفیل b بالاتری داشتند (P<۰/۰۵).



شکل ۲ : مقایسه تاثیر نسبت نیتروژن به فسفر در میزان رنگیزه کلروفیل b میکروجلبک *C. calcitrans*

(تیمار ۱ نسبت نیترات به فسفات ۵ ، تیمار ۲ : نسبت ۱۰، تیمار ۳: نسبت ۲۰، تیمار ۴: نسبت ۴۰)

در بررسی تاثیر نسبت نیتروژن به فسفر در میزان رنگیزه کارتنوئید روند تغییرات نشان داد میزان کاروتنوئید در تمام تیمارها روندی افزایشی داشت (P<۰/۰۵). بررسی تاثیر نسبت نیتروژن به فسفر در میزان کارتنوئید میکروجلبک کتوسروس در شکل ۳ نشان داده شده است. در تیمار ۱، میزان کاروتنوئید از ۳۴/۴۴ میکروگرم بر لیتر به ۴۵/۲۵ در روز چهاردهم رسید (P<۰/۰۵). در تیمار ۲، میزان کارتنوئید تا روز هشتم روندی افزایشی داشته و از ۲۵/۷۹ به ۵۱ میکروگرم بر لیتر رسید و سپس روندی کاهشی و افزایشی داشته و در انتهای دوره به ۵۱ میکروگرم بر لیتر رسید (P<۰/۰۵). در تیمار ۳، روند افزایشی میزان کارتنوئید از روز دوم تا روز چهاردهم ادامه داشت و به ۵۹/۱۳ میکروگرم بر لیتر رسید (P<۰/۰۵). در تیمار ۴، روند میزان کارتنوئید افزایشی بود و از میزان ۳۴/۷۷ به ۷۸/۳۲ میکروگرم بر لیتر در روز چهاردهم رسید (P<۰/۰۵).

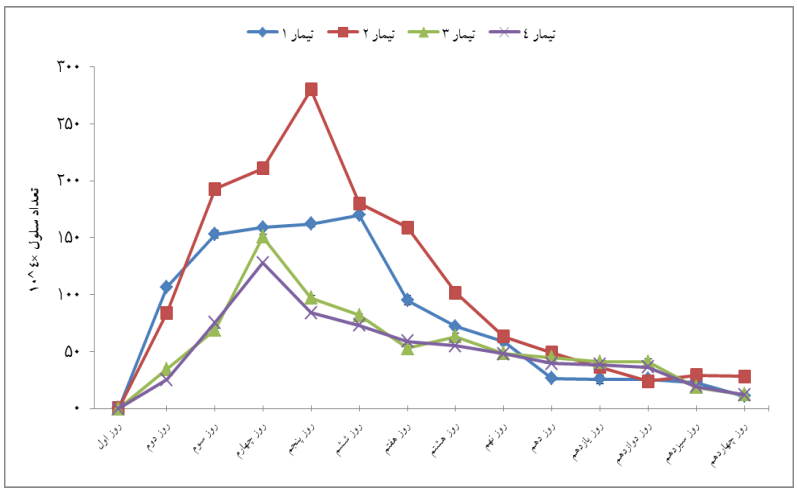


شکل ۳ : مقایسه تاثیر نسبت نیتروژن به فسفر در میزان کاروتنوئیدها در میکروجلبک *C. calcitrans*

(تیمار ۱ نسبت نیترات به فسفات ۵ ، تیمار ۲ : نسبت ۱۰، تیمار ۳: نسبت ۲۰، تیمار ۴: نسبت ۴۰)

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-05]

تغییرات تراکم سلول‌های میکروجلبک تحت تاثیر نسبت نیتروژن به فسفر در شکل ۴ نشان داده شده است. در روز اول تیمارهای ۱ و ۲، در روز دوم تیمار ۱، در روزهای سوم تا دهم تیمار ۲، در روزهای یازدهم و دوازدهم تیمار ۳ و در انتهای دوره و در روزهای سیزدهم و چهارم تیمار ۲ بالاترین تراکم سلول‌های میکروجلبکی را داشت.



شکل ۴ : بررسی تاثیر نسبت نیتروژن به فسفر بر روی تراکم سلول‌های میکروجلبک *C. calcitrans*

(تیمار ۱ نسبت نیترات به فسفات ۵ ، تیمار ۲ : نسبت ۱۰، تیمار ۳: نسبت ۲۰، تیمار ۴: نسبت ۴۰)

بحث و نتیجه‌گیری

تاثیر نسبت نیتروژن به فسفر بر رنگدانه‌های جلبکی

محتوای کلروفیل در جلبک‌های مختلف به‌شدت تحت تاثیر میزان فسفر موجود در محیط است و افزایش کلروفیل ارتباط مستقیمی به استفاده از منابع نیتروژن و فسفات‌ها دارد (Lau *et al.*, 1997). نتایج این تحقیق نشان داد افزایش نسبت نیتروژن به فسفر بر کلروفیل a در نسبت‌های ۲۰ و ۴۰ اثر منفی داشته ولی بر کاروتنوئیدها اثر مثبت داشته است. در نسبت نیترات به فسفات ۵، روند افزایش میزان کلروفیل a و b تا روز ششم و چهارم ادامه داشت اما در روز هشتم به بعد تولید کلروفیل a و b روندی کاهش داشت که نشان می‌دهد این نسبت نتوانسته است نیاز نیتروژنی و فسفر جلبک کتوسروس را برآورده سازد ($P< ۰/۰۵$). همچنین افزایش نسبت نیترات به فسفات بر میزان کلروفیل a روند افزایشی و سپس کاهشی معنی‌دار داشته است. در تیمارهای ۳ و ۴ نیز مشاهده شد به شکلی که در تیمار ۳ تا روز ۸ و در تیمار ۴ تا روز ۱۰ روند افزایش میزان کلروفیل a و سپس کاهش این پارامتر را داشتند ($P< ۰/۰۵$). بیشترین مقدار کلروفیل a در تیمار ۱:۱۰ و کمترین مقدار در تیمار ۱:۴۰ اندازه‌گیری شد. کلروفیل b نیز در همین تیمار بیشترین مقدار را نشان داد . افزایش کلروفیل‌ها در نسبت‌های متعادل N:P نشان‌دهنده‌ی کارایی بالای سیستم فتوسنتزی در شرایط تغذیه‌ای بهینه است. در شرایطی که نیتروژن کافی وجود ندارد، سنتز کلروفیل و پروتئین‌های فتوسنتزی کاهش می‌یابد و در نتیجه رشد و فتوسنتز محدود می‌شوند. با توجه به روند مشاهده شده، تیمار ۲ با روند افزایشی میزان کلروفیل تا انتهای دوره، بهترین نتیجه را داشت ($P< ۰/۰۵$). با توجه به داده‌ها نسبت‌های نیتروژن به فسفر بالاتر از ۱۰ (تیمارهای ۳ و ۴) به شکل بالقوه‌ای می‌تواند باعث بروز سمیت فسفات و کاهش رشد جلبک‌ها حتی در غلظت‌های پایین فسفر شود (Beck *et al.*, 2018). چنین نتیجه‌ای در مطالعه‌ی حیدری و همکاران (۱۳۹۰) که افزایش سطح نیترات به ۱۵۰ میلی‌مولار نیترات و آمونیوم را عامل کاهش رشد جلبک *Scenedesmus quadricauda* ذکر کردند، هم‌خوانی دارد.

El- Sheek و Rady (۱۹۹۵) نیز گزارش کردند که کمبود نیتروژن مستقیماً سبب افت غلظت کلروفیل در *Picochlorum sp.* می‌شود. از سوی دیگر، در تیمارهایی که نسبت نیتروژن به فسفر بسیار بالا بود، کاهش میزان کلروفیل ممکن است ناشی از مهار تولید

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-05]

ATP به‌دلیل محدودیت فسفر باشد، زیرا فسفر برای تشکیل فسفولیپیدهای غشایی و انتقال انرژی در زنجیره فتوسنتزی ضروری است. تاثیر کمبود فسفر و یا افزایش سطح نیتروژن بر روی رشد جلبک‌ها بر میزان کاهش کلروفیل در تیمارهای ۳ (نسبت نیترات به فسفات ۲۰) و تیمار ۴ (نسبت ۴۰) با سطح بالاتر نیترات و سطح پایین‌تر فسفردر مقایسه با تیمارهای ۱ (نسبت ۵) و تیمار ۲ (نسبت ۴۰) هم‌خوانی دارد ($P< ۰/۰۵$). کمبود فسفر سبب عدم توانایی تولید مولکول‌های انرژی (ATP و NADPH) شده که باعث می‌گردد سنتز کلروفیل متوقف شد که در مطالعه‌ی حاضر نیز کاهش سطح کلروفیل a و b با کاهش سطح فسفات همراه بود. گرگیج جاسکی و همکاران (۱۳۹۷) افزایش سطح نیتروژن به شکل نیتروژنی اوره، نیترات و پتاسیم با غلظت‌های ۰/۰۱۰، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵۰ مولار محیط زاروک را در افزایش کلروفیل a و کارتنوئید جلبک *Spirulina platensis* موثر دانستند که با توجه به کاهش میزان کلروفیل با تغییر نسبت نیتروژن به فسفر و کاهش سطح ، با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی ندارد که ممکن است ناشی از تفاوت در سطح مواد نیتروژنی و یا جلبک مورد بررسی باشد.

الگوی تغییرات کاروتنوئیدها برخلاف کلروفیل‌ها بود. با افزایش نسبت نیتروژن به فسفر، غلظت کاروتنوئیدها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0.05$) و در تیمار ۱:۴۰ به بیشترین مقدار رسید. افزایش کاروتنوئیدها در شرایط استرس تغذیه‌ای یا نوری پدیده‌ای شناخته‌شده است که به نقش حفاظتی این رنگیزه‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو نسبت داده می‌شود. در شرایطی که نسبت N:P بالا باشد، فعالیت فتوسنتزی کاهش یافته و واکنش‌های نوری ممکن است سبب تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شوند. درنتیجه سلول‌ها با سنتز کاروتنوئیدهای بیشتر، از سیستم‌های فتوسنتزی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند. Li و همکاران (۲۰۱۸) و Wang و همکاران (۲۰۱۵) نیز در پژوهش‌های خود نشان داده‌اند که افزایش نیتروژن یا کاهش فسفر می‌تولند منجر به افزایش معنی‌دار سنتز کاروتنوئیدها در میکروجلبک‌ها شود. بنابراین، افزایش این رنگیزه‌ها در تیمارهای غنی از نیتروژن در پژوهش حاضر می‌تواند نشانه‌ای از پاسخ سلولی به تنش تغذیه‌ای باشد. بر اساس شکل ۳، در هر چهار تیمار میزان روندی افزایشی را تا روز ۱۴ نگهداری داشت ($P< ۰/۰۵$). بالاترین میزان این رنگدانه در تیمار ۴ با بالاترین سطح نیتروژن اندازه‌گیری شد. به‌نظر می‌رسد افزایش نیتروژن در تیمارهایی با غلظت‌های بالای نیتروژن سبب بروز تنش در جلبک *C. calcitrans* شده است. این تنش باعث تولید رادیکال‌های آزاد شده و به دنبال آن کاروتنوئیدها به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابند (پاک‌نژادی و همکاران، ۱۳۹۷؛ Wang *et al*., 2015). به عبارت دیگر زمانی که کلروفیل a سلول‌ها کاهش می‌یابد، کاروتن‌ها افزایش یافته و کشت جلبک شروع به زرد شدن می‌کند که با توجه به روند افزایشی کاروتنوئیدها در هر چهار تیمار با گذشت زمان کاهش میزان کلروفیل در هر ۴ تیمار در انتهای دوره، روند کاهش کلروفیل a همزمان با روند افزایش کاروتنوئید در پاسخ با افزایش تنش کمبود مواد مغذی قابل مشاهده است ($P< ۰/۰۵$). در مطالعه‌ی Li و همکاران (۲۰۱۸) در بررسی تاثیر نیتروژن بر روی ذخیره چربی و میران کلروفیل‌های جلبک‌های *Dunaliella* و *Haematococcus* تنش محیطی ناشی از کمبود یا مقدار بسیار بالای نیتروژن را عامل افزایش کاروتنوئید ذکر کرد که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد.

تاثیر نسبت نیتروژن و فسفر بر رشد سلولی

از نظر تراکم سلولی، هر چهار تیمار پس از رسیدن به نقطه‌ی اوج تیمار ۱ (نسبت نیترات به فسفات ۵) در روز ۶، تیمار۲ (نسبت ۱۰) در روز ۵، تیمار ۳ (نسبت ۲۰) در روز ۴ و تیمار ۴ (نسبت ۴۰) در روز ۴)، تعداد سلول‌های جلبکی روندی کاهشی داشت ($P< ۰/۰۵$). با توجه به نتایج، بهترین نسبت N/P برای جلبک کتوسروس، در تیمار ۲ (نسبت ۱۰) بود که نشان می‌دهد جلبک *C. calcitrans* گونه‌ای غیرمقاوم به غلظت‌های بالای نیترات است. با توجه به این حساسیت که به فعالیت آنزیم‌های ردوکتاز (حیدری و همکاران، ۱۳۹۰) مربوط می‌شود، این گونه می‌تواند یک گونه‌ی مناسب برای زیست‌سنجی جلبکی جهت ارزیابی کیفیت آب باشد.

در تیمار ۱:۱۰، که تعادل نسبی بین عناصر نیتروژن و فسفر برقرار بود، رشد سلولی با سرعت بیشتری انجام شد. نیتروژن به‌عنوان عنصر اصلی تشکیل‌دهنده پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و کلروفیل، و فسفر به‌عنوان جزء کلیدی مولکول‌های ATP، ADP و فسفولیپیدها، هر دو نقش اساسی در تقسیم سلولی و فعالیت فتوسنتزی دارند. وجود نسبت متعادل از این دو عنصر، شرایط فیزیولوژیکی مطلوبی برای رشد فراهم می‌کند. در مقابل، در نسبت‌های بسیار بالا (۱:۲۰ و ۱:۴۰)، احتمال تجمع نیتریت یا آمونیوم به دلیل مصرف نامتوازن مواد مغذی وجود دارد، که می‌تواند با مهار آنزیم‌های نیتریت ردوکتاز و نیترات ردوکتاز، سبب کاهش رشد و حتی بروز سمیت تغذیه‌ای شود

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-05]

Liu و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی نسبت N:P بر روی رشد *Microcystis aeruginos* در بین نسبت‌های نیتروژن به فسفر ۱، ۱۶، ۴۰، ۱۰۰ و ۲۰۰، بهترین تراکم سلولی در نسبت نیتروژن به فسفر ۱۶ به دست آمد که مطابق با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر افزایش غلظت نیتروژن کاهش تراکم سلولی را به دنبال داشت.

زرین‌مهر و همکاران (۱۳۹۹)، در بررسی تاثیر سطوح ۰، ۲، ۴، ۸ و ۱۶ میلی‌گرم در لیتر فسفر بر روی سرعت رشد جلبک *Isochrysis galbana*، کاهش رشد را مرتبط با کاهش سطح فسفر دانستند. در مطالعه‌ی نوری و همکاران (۱۳۹۰) بر روی جلبک *.Nostoc sp*، حداکثر شکوفایی در دامنه نسبت فسفر به نیتروژن ۱: ۲/۵ تا ۱۰/۱ روی دارد و با افزایش بیشتر غلظت نیتروژن و بالاتر رفتن نسبت نیتروژن به فسفر درصد رشد کاهش یافت که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد. نوری و همکاران (۱۳۹۰) عنوان کردند هنگامی که فسفر به میزان بهینه وجود داشت جلبک با تثبیت نیتروژن در غلظت‌های پایین نیتروژن، به شکوفایی رسید که چنین روندی را نیز در مورد جلبک کتوسروس می‌توان محتمل دانست. فلاحی و همکاران (۱۳۹۴) در بررسی تاثیر نسبت نیتروژن به فسفر را در ۶ تیمار بررسی کردند نسبت فسفر ثابت و نسبت نیتروژن تغییر داده شد. در شکوفایی جلبک سبز- آبی *Anabaena flos- aquae* گزارش کردند که افزایش نسبت نیتروژن به فسفر تا ۱: ۵ و ۱: ۲۲ منجر به افزایش معنی‌دار رشد و شکوفایی جلبک در برابر شاهد نشد ولی نسبت‌های نیتروژن به فسفر ۱: ۷/۲۳، ۱: ۱۰/۴۵، ۱: ۱۵ و ۱: ۱۸/۱۵ افزایش رشد و شکوفایی جلبک را به دنبال داشت که نشان دهنده اهمیت نسبت نیتروژن به فسفر در رشد جلبک است که بیشترین رشد در نسبت ۱۸/۱۵ مشاهده گردید در مطالعه‌ی حاضر نیز قابل‌مشاهده است.

حیدری و همکاران (۱۳۹۰) بالاترین تراکم سلولی در غلظت ۱۵ میلی‌مولار و بیش‌ترین رشد جلبک سندسموس (*Scenedesmus quadricauda*) در غلظت ۵۰ میلی‌مولار آمونیوم و نیترات گزارش شد و مقادیر بالاتر و پایین‌تر (۲/۹، ۱۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار نیترات و آمونیوم) موجب کاهش یا توقف رشد گردید. هدایتی‌فرد و همکاران (۱۳۹۵) گزارش کردند زمانی که غلظت بکار رفته در محیط کشت غنی از نیتروژن برای سندسموس در محدوده بهینه‌ای باشد، بیشترین رشد را نشان داد اما غلظت‌های بالاتر نیترات کاهش رشد را به دنبال داشت که هر دو مطالعه با روند کاهش رشد با افزایش سطح نیتروژن ($P< ۰/۰۵$) هم‌خوانی دارد. از جنبه‌ی کاربردی، نسبت نیتروژن به فسفر ۱:۱۰ را می‌توان به‌عنوان مقدار بهینه برای تولید زیست‌توده‌ی باکیفیت و پربازده *C. calcitrans* معرفی کرد. در این نسبت، علاوه بر بیشترین تراکم سلولی، بیشترین محتوای کلروفیل و تعادل بین رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز حاصل شد. برداشت زیست‌توده در زمان حداکثر رشد می‌تواند از افت محتوای رنگیزه جلوگیری کرده و کیفیت تغذیه‌ای بالاتری برای مصارف آبزی‌پروری فراهم آورد. در مقابل، نسبت‌های بالاتر نیتروژن (به‌ویژه ۱:۴۰) گرچه سبب کاهش رشد شدند، اما منجر به افزایش معنی‌دار کاروتنوئیدها گردیدند.

در کل نتایج این یافته می‌تواند در تولید ترکیبات زیست‌فعال ارزشمند مانند آنتی‌اکسیدان‌ها و رنگیزه‌های طبیعی مورد استفاده قرار گیرد. درنتیجه، بسته به هدف تولید، نسبت N:P می‌تواند متفاوت تنظیم شود: نسبت‌های پایین‌تر برای رشد و تولید زیست‌توده، و نسبت‌های بالاتر برای تجمع رنگیزه‌ها. نتایج این پژوهش همچنین از نظر کاربردی در صنعت پرورش آبزیان اهمیت دارد. *C. calcitrans* یکی از جلبک‌های پرکاربرد در تغذیه لاروهای سخت‌پوستان و نرم‌تنان است و افزایش کیفیت زیست‌توده‌ی آن به‌طور مستقیم بر بقای لاروها اثرگذار است. استفاده از محیط‌های کشت با نسبت بهینه N:P می‌تواند محتوای پروتئین، اسیدهای چرب غیراشباع و رنگیزه‌ها را افزایش داده و ارزش تغذیه‌ای آن را بهبود بخشد. این یافته‌ها حاکی از آن است که تنظیم دقیق نسبت عناصر غذایی می‌تواند به عنوان ابزاری مؤثر برای کنترل مسیرهای متابولیکی جلبک‌ها و هدایت تولید آنها به سمت اهداف خاص (افزایش زیست‌توده یا تولید ترکیبات باارزش زیستی) مورد استفاده قرار گیرد. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که نسبت N:P نه تنها بر کمیت بلکه بر کیفیت زیست توده تأثیر تعیین‌کننده دارد و استفاده از نسبت‌های متعادل مانند ۱:۱۰، بهترین شرایط را برای رشد پایدار و کارایی زیستی فراهم می‌سازد.

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-05]

منابع

پاک‌نژادی، م.، ملک احمدی، ف.، سلطانی، ن. ۱۳۹۷. بررسی اثر مقادیر مختلف نیتروژن و pH بر تولید بیومس، محتوای لیپید و ترکیب اسید چرب در اسپیرولینا ماژور. مجله بوم‌شناسی آبزیان. ۸: ۳۰-۱۴.

حیدری، ص.، هادیان، ا.، محبوبی صوفیانی، ن. ۱۳۹۰. اثرات سطوح مختلف نیترات و آمونیوم در محیط کشت برای رشد جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda*. نشریه شیلات مجله منابع طبیعی ایران. ۶۴: ۴۹-۲۴.

زرین مهر، م.ج.، فرهادیان، ا.، پیکان حیرتی، ف.، کرامت، ج.۱۳۹۹. اثر تیمار فسفر بر سرعت رشد و ترکیبات بیوشیمیایی جلبک دریایی طلایی – قهوه‌ای *Isochrysis galbana*. فرآیند و کارکرد گیاهی. ۹: ۴۲۴-۴۱۳.

فرهادیان، ا.، صداقت، ر.، پولادی، م.، شرفی، ر. ۱۳۹۳. پراکنش و فراوانی فیتوپلانگتون در مصب رودخانه حله(خلیج فارس-ایران). بوم شناسایی کاربردی. سال سوم. شماره نهم. ۲۷-۱۵.

فلاحی، م.، فاطمی، م.ر.، ماشینچیان، ع.، نوری کوپائی، ا. ۱۳۹۴. تعیین نسبت ازت به فسفر در شکوفایی جلبک سبز –آبی *Anabaena flos-aquae* دریای خزر در محیط آزمایشگاه. علوم و تکنولوژی محیط‌زیست. ۱۷: ۷۳-۸۴.

گرگیج جاسکی، م.، یحیوی، م.، روحانی قادیکلایی، ک.، سالار زاده، ع. ۱۳۹۷. اثر منابع مختلف نیتروژنی بر میزان زیتوده و محتوی پروتئینی جلبک سبز- آبی اسپیرولیناپلاتنسیس (*Spirulina platensis*). مجله علمی شیلات ایران.۲۷: ۶۶-۵۷.

نوری، آ.، فلاحی، م.، فاطمی، م.ر.، ماشینچیان، ع. ۱۳۹۰. تاثیر نسبت ازت به فسفر و غلظت فسفر بر شکوفایی سیانوباکتر Nostoc sp. دریایی خزر در محیط آزمایشگاه. مجله شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزاد شهر. ۵: ۲۱-۱۱.

هدایتی فرد، م.، صفری، ر.، رضایی، م. ۱۳۹۵. تاثیر تغییرات غلظت مواد مغذی و شدت نور روی شاخص‌های رشد و تراکم میکروجلیک اقتصادی سندسموس sp *Scenedesmus*. نشریه فن‌آوری‌های نوین در توسعه آبزی‌پروری. ۱۰: ۱۴-۱.

Akbarnejad, M., Rajabi Islami, H., Javaheri Baboli, M., Shamsaie Mehrgan, M. and Filizadeh, Y. 2020. Effect of light and nitrogen concentration on the growth and lipid content of marine diatom, *Chaetoceros calcitrans. Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19: 986-993.DOI: 10.22092/ijfs.2018.117035

Alobwede, E. R., Leake, J., Pandhal, J. 2019. Circular economy fertilization: Testing micro and macro algal species as soil improvers and nutrient sources for crop production in greenhouse and field conditions. Geoderma 334.2019. 113–123

Bajwa, K., Bishnoi, N., Kirrolia, A. and Selvan, S. T. 2018. Evaluation of Nutrient Stress (Nitrogen, Phosphorus Regimes) on Physio-Biochemical Parameters of Oleaginous Micro algal Strains and SEM Study under Nutrient Stress. Int J Environ Sci Nat Res. 2018; 10(1): 555776. DOI: 10.19080/IJESNR.2018.10.555776

Barsanti, L. and Gualtieri, P. 2016. Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology, CRC Press, Taylor and Francis Group.320 pp

Beck WS, Hall EK .2018. Confounding factors in algal phosphorus limitation experiments. PLoS ONE 13(10): e0205684. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205684

Demirbas, A. and Demirbas, M.F. 2010. Algae energy: Algae as a new source of biodiesel. Springer, 199 pp.

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

Haran, M.P. 1992. Monual on shrimp hatechery operation and management (penaeus monodon). Publ: TASPARC. 114pp.

Koyande, A.K., Chew, K., Rambabu, K., Tao, Y., Chu, D., Show, P. 2019. Microalgae: A potential alternative to health supplementationfor humans. Food Science and Human Wellness 8 (2019) 16–24.

Lau, P.S., Tom, N.F.Y. and Wong, Y.S. 1997. Wastewater nutrients (N and P) removal by carrageenan and alginate immobilized *Chlorella vulgaris*. Environmental Technology, 18: 945–51.

Li, Y., Horsman, M., Wang, B., Wu, N. and Lan, C.Q. 2018. Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans*. Applied Microbiology and Biotechnology 81:629-636.

Liu, Y., Li, L., Jia, R. 2011. The Optimum Resource Ratio (N:P) For The Growth Of Microcystis Aeruginosa With Abundant Nutrients. Procedia Environmental Science, 10: 2134-2140.

Moustafa, Y.T.; Saeed, S.M. 2014. Nutritional evaluation of green macroalgae, *Ulva* sp. and related water nutrients in the Southern Mediterranean Sea coast, Alexandria shore, Egypt. 4th Conference of Central Laboratory for Aquaculture Research, 35-55

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-05]

Prairie, Y.T., Duarte, C. M. and Kalff, J. 2019. Unifying nutrient chlorophyll relationship in lakes. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science, 46:1176-1182.

Wang, H-T., Yao, C-H., Liu, Y-N., Meng, Y-Y., Wang, W-L., Cao, X-P., Xue, S. 2015. Identification of fatty acid biomarkers for quantification of neutral lipids in marine microalgae *Isochrysis zhangjiangensis*. Journal of Applied Phycology. 27(1): 249-255.

Yang C.M., Chang K.W., Yin M.H., Huang H.M. 1998. Methods for the determination of the chlorophylls and their derivatives. *Taiwania* 43, 116-122.

The investigation of proportion of (N/P) in the growth and pigments of *Chaetoceros calcitrans*

Amir Javad Farsooni [1]
Seyedeh Zahra Masoomizadeh [1*]

1. Department of biological sciences and technologies, Ahv. C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

[*]**Corresponding author:**
Zahramasoomi@iau.ac.ir

Received date: **December/14/2025**
Accepted date: **January/17/2026**

Abstract

Microalgae are among the most effective primary producers in marine ecosystems and play a key role in the cycles of nutrients. The proportion of nitrogen to phosphorus (N:P) is one of the prominent determining factors in the growth and synthesis of photosynthesis pigments in these micro-organisms. The present study aims to determine the ideal nitrogen-phosphorus proportion in the growth and production of pigments in *Chaetoceros calcitrans*. The experiment was conducted over a 15-day period under controlled conditions with light intensity of 2500 ± 120 lux (16 hours of light and 8 hours of darkness), constant temperature of 25 ± 2 °C and continuous aeration. Treatments contained different nitrogen-phosphorus proportions (5, 10, 20, 40) in TMRL culture. The results showed that maximum cellular density and chlorophyll a and b were found in N-P proportion of 10 (1:10), whereas a significant reduction ($P<0.05$) was perceived in the growth and concentration of pigments in higher proportions (20 and 40). With the increase of N-P proportion, the number of Carotenoids rose and its highest rate was measured in 1:40 treatment. On the basis of the results, 1:10 proportion is recommended as the ideal amount for the purpose of achieving the highest rate of growth and photosynthetic reactions in *C. calcitrans*.

Keywords: *Chaetoceros calcitrans*, Growth, Chlorophyll, Carotenoids, N/P proportion

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-05]