# پاسخ سیانوباکتر *Nostoc calcicola* به غلظت‌های مختلف فسفر محیط در روزهای مختلف کشت

**فاطمه خواجه‌پور*[۱]، سید عباس حسینی[۱]، رسول قربانی نصرآبادی[۱]، بهاره شعبانپور[۱]**

۱- گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران، صندوق پستی: ۳۸۶-۴۹۱۶۵

تاریخ دریافت: ۱۰ مهر ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: ۱۸ بهمن ۱۳۹۴

**چکیده**

در این تحقیق اثر فسفر بر میزان زی توده، کلروفیل آ، کاروتنوئید کل، پروتئین کل و کربوهیدرات سیانوباکتر *Nostoc calcicola* در روزهای مختلف کشت در آزمایشگاه کشت جلبک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مورد بررسی قرار گرفت. سیانوباکتر نوستوک تحت سه سطح فسفر ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ (میکروگرم در لیتر) در سه تکرار برای ۱۲ روز در آزمایشگاه کشت جلبک مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج نشان داد که میزان فسفر محیط بر روی میزان زی توده، کلروفیل‌آ و کاروتنوئید کل *Nostoc calcicola* در برخی از روزهای کشت اثر معنی‌داری داشته است. در بررسی میزان تغییرات پروتئین کل و کربوهیدرات، نتایج نشان داد که میزان پروتئین برای هر گرم وزن خشک این جلبک از آغاز کشت تا روز ۱۲ برای هر سه تیمار با افزایش همراه بوده است. با افزایش فسفر محیط، محتوی پروتئین زی‌توده افزایش یافته به‌طوریکه در روزهای ۶، ۸ و ۱۰ کشت اختلاف بین تیمار ۴۰۰ میکروگرم فسفر در لیتر با دو سطوح دیگر معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) بوده است. در بررسی روند تغییرات پروتئین در طول روزهای کشت مشاهده شد که میزان پروتئین در تیمار با ۱۰۰ میکروگرم فسفر در لیتر در روز ۶ کشت به حداکثر مقدار خود (۲۰/۱۰±۳۷۲/۴ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) رسیده و برای تیمار ۲۰۰ میکروگرم فسفر در لیتر (۳۴/۰۵±۳۸۶/۳۳ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) در روز ۸ کشت به‌دست آمده است و سپس تا روز ۱۲ کشت روند نزولی نشان داده است، در تیمار ۴۰۰ میکروگرم فسفر در لیتر حداکثر میزان پروتئین ۳۹±۴۳۴/۴۷ میلی‌گرم در گرم ماده خشک بوده و این مقدار مربوط به روز ۶ کشت بود و میزان پروتئین تا روز ۱۰ کشت با دو تیمار دیگر به‌طور معنی‌داری بیشتر بوده است. میزان کربوهیدرات در هر سه سطح فسفر تا روز ۱۲ افزایش معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) را نشان داده است، اما در بین سطوح فسفر در روزهای کشت اختلاف معنی‌داری را نشان نداده است. نتایج مشاهده حاضر نشان داد که می‌توان با تغییر میزان فسفر محیط رشد و محتوی برخی از ترکیبات بیوشیمیایی سیانوباکتر *N. calcicola* را کنترل نمود.

**کلمات کلیدی:** *Nostoc calcicola*، کاروتنوئید کل، پروتئین، کربوهیدرات، فسفر.

* عهده‌دار مکاتبات (✉).fatemekhajepour@yahoo.com

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06 ]

[ DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.7.7 ]

**مقدمه**

ریزجلبک‌ها موجودات تک‌سلولی فتوسنتز کننده‌ای هستند که در حضور نور خورشید، دی‌اکسیدکربن را به مواد آلی تبدیل می‌کنند. آن‌ها منبع انرژی، ویتامین‌های ضروری، اسیدهای چرب غیر اشباع، منبع غنی از آمینواسیدهای ضروری و رنگدانه‌های مختلف می‌باشند که به‌طور گسترده در آبزی‌پروری بکار می‌روند (Demirbas, 2009). ریزجلبک‌ها با داشتن میزان زیاد پروتئین که در برخی گونه‌ها تا بیش از ۵۰ درصد وزن تر را تشکیل می‌دهد و بدلیل فراوانی و ترکیب آمینواسیدهای آن‌ها، به عنوان منبع پروتئینی مد نظر قرار گرفته‌اند (Schwenzfeier *et al.*, 2011). همچنین ریزجلبک‌ها علاوه بر کلروفیل که رنگدانه اصلی شرکت کننده در فرآیند فتوسنتز آن‌ها است دارای انواع دیگر از رنگدانه‌ها هستند که توانایی جذب طیف وسیعی از نور را دارا می‌باشند. این رنگدانه ها در سیانوباکترها شامل کاروتنوئیدها و فایکوبیلی‌پروتئین‌ها هستند (Reis *et al.*, 1998). کاروتنوئیدها رنگدانه‌هایی هستند که به عنوان رنگ مجاز در غذاها، پیش ساز ویتامین A در غذای انسان، دام، آبزی، تهیه فرآورده‌های مولتی ویتامین و همچنین فرآورده‌های آرایشی و بهداشتی در مقادیر بسیار زیاد مصرف می‌شود (Del Campo *et al.*, 2007). اخیراً گونه *N. calcicola* از سیانوباکترها در شمال ایران گزارش شده است که منبع غنی از کاروتنوئیدها است. مقدار این رنگدانه‌ها در این گونه از جلبک از منابع غنی آن‌ها که تاکنون اعلام شده بود، بیشتر است. جنس نوستوک از نظر پراکنش در اکوسیستم‌های آب شیرین و شور وجود دارد و تحمل بالایی در برابر تغییرات محیطی دارد و در مناطق وسیع با شرایط مختلف پراکنش دارد. نوستوک به عنوان غذای سالم با پروتئین بالا، غنی از رنگدانه‌های و اسیدهای چرب غیراشباع است. گونه‌های این جنس دارای انواع آمینواسیدهای ضروری، کاروتنوئیدها و کلروفیل است. علاوه براین ترکیبات پایه، ویتامین‌های C، B و انواع مواد معدنی را در خود دارد (Hashtroudi *et al.*, 2013).

نوستوک از جمله سیانوباکترهایست که در شکوفای جلبکی در اکوسیستم‌های آبی نقش دارد. بنابراین مطالعه بر روی نیاز اکولوژیکی این گونه‌ها می‌توانند در کنترل و محدود کرده رشد این گونه در شرایط خاص کمک کنند. از طرفی، علم زیست فناوری به دنبال یافتن محرک‌هایی مؤثر جهت افزایش نرخ رشد و محتوای ترکیبات مختلف بیوشیمیایی در جلبک‌ها است (Balat, 2010). مطالعه بر روی تأثیر عوامل فیزیکوشیمیایی بر رشد و ترکیبات شیمیایی موجود در جلبک می‌تواند با هدف تعیین بهترین شرایط کشت برای به‌دست آوردن بیشترین میزان ترکیبات شیمیایی در ریزجلبک‌ها به عنوان غذای زنده در آبزی‌پروری و یا سایر اهداف انجام شود. فاکتورهای محیطی بویژه نور، دما و وضعیت غذایی نظیر میزان فسفر و نیتروژن، بر فتوسنتز، زی توده و ترکیبات شیمیایی ریزجلبک‌ها تاثیرگذارند. در واقع این اثرات بر روی الگو و مسیر فعالیت متابولیسم سلولی تأثیر گذار می‌باشد. در بین این ترکیب‌ها اغلب، تغییر کربوهیدرات‌ها، لیپیدها، آمینواسیدها، نوکلئیک اسیدها، رنگدانه‌ها و پروتئین‌ها با تغییر شرایط محیطی ریزجلبک گزارش شده است. جلبک‌ها در پاسخ به انواع استرس‌های محیطی موادی (نظیر پلی‌ساکاریدها، کاروتنوئیدها، اسیدهای چرب اشباع، ویتامین‌ها، گلیسرول و تعدادی از آنتی‌اکسیدانت‌ها) تولید می‌کنند

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06 ]
[ DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.7.7 ]

که به عنوان مکانیسم دفاعی برای جلوگیری از تخریب سلولی عمل می‌کند. نتایج چنین مطالعات می‌تواند مسیرهای سنتز ماکرومولکول‌ها را در سلول را نشان دهد. فسفر از عناصر ضروری برای ریزجلبک‌ها می‌باشند که نقش مهمی در سنتز پروتئین و چربی‌ها دارند (Zhao *et al.*, 2009).

مطالعه تأثیر سطوح فسفر بر روی سیانوباکترها و گونه‌های با ارزش آن‌ها بسیار محدود است. Markou در سال ۲۰۱۲ تغییر ترکیبات شیمیایی بیومس *Spirulina platensits* در مقادیر مختلف فسفر را نشان داد. Marco و Uros (۱۹۸۸) تغییرات رشد آنابنا و اسیلاتوریا در شرایط کمبود فسفر در کشت بسته نشان دادند. با توجه به مطالب فوق، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر فسفر بر روی زی توده تولید شده، کلروفیل آ، کاروتنوئیدها کل، پروتئین کل و کربوهیدرات در سیانوباکتر *N. calcicola* در روزهای مختلف کشت می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### تهیه استوک و آماده‌سازی اتاق کشت

به منظور انجام تحقیق، استوک ریزجلبک *Nostoc calcicola* از گروه فیتوشیمی دانشگاه شهید بهشتی تهیه و در محیط کشت $Z_8$ کشت داده می‌شود. ترکیب اصلی و مقدار مواد برای تهیه این محیط کشت در جدول ۱ نشان داده شده است(Miller *et al.*, 1978).

قبل از شروع کشت، اتاق کشت با استفاده از لامپ‌های فرابنفش به مدت نیم ساعت استریل شده است. تمامی وسایل شیشه‌ای در آون ۱۸۰درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت خشک و استریل می‌شوند. ارلن مایرهای حاوی محیط کشت مایع در دستگاه اتوکلاو کاملاً استریل می‌شوند.

### شرایط کشت

کشت ریزجلبک‌ها در شدت نوری ۱۰٪±۳۰۰۰ لوکس، دوره نوری (تاریکی : روشنایی) ۱۲: ۱۲ و دمای ثابت ۲±۲۵ در محیط کشت Zehnder $_8$ با غلظت‌های مختلف فسفر (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر لیتر) انجام می‌شود. در طول دوره کشت (روزهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲) تغییرات رشد، کلروفیل‌آ، کاروتنوئید کل، پروتئین کل و کربوهیدرات بررسی می‌شود. برای تنظیم فسفر از افزودن فسفات هیدروژن دی پتاسیم ($K_2HPO_4$) استفاده می‌شود.

### تعیین میزان رشد

ابتدا سلول‌ها به کمک صافی (معمولاً ۵۰ میلی‌لیتر از حجم محیط کشت) از محیط کشت (کاغذ واتمن شماره ۱) جدا می‌شود. سپس سلول‌ها با آب مقطر شستشو داده می‌شوند. وزن خشک توده زیستی با حذف آب توده زیستی حاصل از مرحله قبل با استفاده از حرارت در دمای ۶۰ تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌دست می‌آید (Lee and Shen, 2006).

### اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئید کل

برای تعیین کلروفیل آ و کاروتنوئید کل، ۵۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون جلبکی را از کاغذ صافی ۰/۴۵ میکرون (سی/جی اف) عبور داده و به روش Aminot و Rey (۱۹۹۹) اندازه‌گیری شد.

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06 ]

[ DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.7.7 ]

جدول ۱: ترکیبات و مقدار محیط کشت $Z_8$

| اسامی | مقدار بر حسب گرم | |
|---|---|---|
| | محلول ۱: در ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر | |
| $NaNO_3$ | ۷/۴۶ | |
| $Ca(No_3)_2+H_2O$ | ۹/۵ | |
| $MgSo_4+7H_2O$ | ۵/۲ | |
| | محلول ۲: در ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر | |
| $K_2HPO_4$ | ۳/۹ | |
| $Na_2CO_3$ | ۳/۶ | |
| | محلول ۳: ۵ میلی‌لیتر محلول $FeCl_3$ + ۵ میلی‌لیتر محلول EDTA +۴۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر | |
| $FeCl_3 + 6H_2O$ | ۳۵۱۵/۱ | ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر |
| HCl | ۱/۵ میلی‌لیتر | |
| EDTA | ۲/۱۵۱۹ | ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر |
| | محلول ۴: در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر | |
| $Na_2SiO_3+9H_2O$ | ۰/۰۲۵ | |
| $H_3BO_3$ | ۱/۵۵ | |
| $MnCl_2+4H_2O$ | ۰/۱۱۵ | |
| $(NH_4)Mo_7O_{27}+4H_2O$ | ۰/۰۴۴ | |
| KBr | ۰/۰۶ | |
| KI | ۰/۰۴۲ | |
| $ZnSO_4+7H_2O$ | ۰/۱۴۳ | |
| $Co(No_3)_2+6H_2O$ | ۰/۰۷۲ | |
| $CuSO_4+5H_2O$ | ۰/۰۵۳ | |
| $Al_2(SO_4)_3+18H_2O$ | ۰/۲۴ | |
| $LiCl+H_2O$ | ۰/۰۲۵ | |

## تعیین میزان پروتئین کل

برای سنجش غلظت پروتئین کل نمونه از روش برادفورد (Kochert, 1978) استفاده می‌شود.

در ابتدا پروتئین نمونه‌ها استخراج و آماده‌سازی می‌شود.

۱. آماده‌سازی معرف برادفورد

برای تهیه محلول برادفورد، مقدار ۱۰ میلی‌گرم برلیانت بلو $G_{250}$ در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد حل گردیده و حداقل یک ساعت عمل همزنی به منظور حل شدن کامل انجام می‌شود. سپس ۱۰ میلی‌لیتر اسیدفسفریک ۸۵ درصد قطره قطره به محلول اضافه گردیده و محلول از کاغذ صافی واتمن عبور داده خواهد شد. در پایان حجم کل به وسیله آب مقطر به یک لیتر رسانده می‌شود.

۲. استخراج پروتئین

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06 ]

[ DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.7.7 ]

به منظور استخراج پروتئین، میزان جلبک استخراج شده از ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت در ۲۰- درجه سانتی‌گراد انجماد می‌شود، سپس استخراج پروتئین به روش Meijer و Wijffels (۱۹۹۸) انجام می‌شود.

## اندازه‌گیری کربوهیدرات

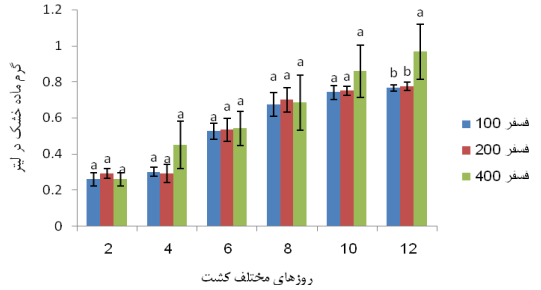
استخراج کربوهیدرات به روش Schneegurt و همکاران (۱۹۹۴) و اندازه‌گیری آن به روش انترون (Gerhardt, 1994) انجام می‌شود. در این روش برای تهیه منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف گلوکز استفاده می‌شود و میزان جذب نوری محلول‌ها در طول موج ۵۷۸ نانومتر در دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت می‌شود.

## تجزیه و تحلیل داده‌ها

در این تحقیق از طرح کاملاً تصادفی در قالب اسپیلت پلات در زمان (جمع‌آوری شده در روزهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰و ۱۲ کشت) با ۱ عامل فسفر در محیط کشت ۳ سطح (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم فسفر در لیتر) در ۳ تکرار انجام شد. برای مقایسه میانگین پارامترها برای تعیین اثر فسفر در هر روز به طور مستقل و روزهای مختلف کشت به‌طور همزمان برای هر سطح فسفر از آزمون های واریانس یکطرفه و چند دامنه ای دانکن در سطح معنی‌دار ۵ درصد صورت گرفت.

## نتایج

بررسی میزان ماده خشک تولیده شده *Nostoc calcicola* در روزهای مختلف کشت نشان داد که با میزان زی توده تولید شده در سه تیمار فسفر تا روز ۱۰ کشت با هم اختلاف معنی‌داری ندارد اما در روز ۱۲ میزان ماده خشک تولید شده در تیمار ۴۰۰ میکروگرم فسفر در لیتر به‌طور معنی‌داری از دو تیمار دیگر بیشتر بوده است (شکل ۱).




شکل ۱: اثر سطوح فسفر (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم فسفر در لیتر) بر زی توده تولید شده *N. calcicola* در روزهای مختلف کشت

همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغییرات کلروفیل‌آ از آغاز کشت تا روز ۱۲ روند افزایش را نشان داده است این افزایش در هر سه تیمار فسفر مشاهده شده است. به‌طوریکه میزان آن از ۲/۰۲ میلی‌گرم در ماده خشک در روز ۲ کشت به ۳/۹۴ میلی‌گرم در ماده خشک در روز ۱۲ به‌طور متوسط برای هر سه سطح فسفر افزایش یافت. اثر فسفر بر میزان کلروفیل فزاینده بوده به‌طوریکه تیمار ۴۰۰ میکروگرم فسفر در لیتر میزان کلروفیل‌آ بیشتری را در روزهای ۶ و ۸ کشت نشان داده که با سطوح دیگر فسفر دارای اختلاف معنی‌داری ($P<0/05$) بوده است (جدول ۲).

نتایج حاصل در مورد پاسخ کاروتنوئید کل مشابه با کلروفیل‌آ بوده با این تفاوت که فقط در روز ۶ کشت اثر سطح ۴۰۰ میکروگرم فسفر با دو سطح دیگر بر روی این رنگدانه معنی‌دار بوده و باعث افزایش میزان کاروتنوئید کل گردیده است (جدول ۲).

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06 ]
[ DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.7.7 ]

در بررسی میزان تغییرات پروتئین کل و کربوهیدرات، نتایج تحقیق نشان داد که میزان پروتئین بر هر گرم وزن خشک این جلبک از آغاز کشت تا روز ۱۲ برای هر سه تیمار فسفر روند افزایش را نشان داده است. در بررسی اثر فسفر، مشاهده شده است که افزایش سطح فسفر با افزایش سطح پروتئین همراه بود و در روزهای ۶، ۸ و ۱۰ کشت، اختلاف بین تیمار ۴۰۰ میکروگرم فسفر در لیتر با تیمار ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم فسفر در لیتر معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) بوده است اما بین تیمار ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم فسفر در لیتر اختلاف معنی‌دار نبوده است (جدول ۲). میزان پروتئین برای تیمار ۱۰۰، حداکثر مقدار (۲۰/۱۰±۳۷۲/۴ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) مربوط به روز ۶ کشت و برای تیمار ۲۰۰ میکروگرم فسفر در لیتر (۳۴/۰۵±۳۸۶/۳۳ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) در روز ۸ کشت به‌دست آمده است و سپس تا روز ۱۲ کشت روند نزولی نشان دادند، در حالی که در تیمار ۴۰۰ میکروگرم فسفر در لیتر حداکثر میزان پروتئین ۳۹±۴۳۴/۴۷ میلی‌گرم در گرم ماده خشک بوده و این مقدار مربوط به روز ۶ کشت بود و میزان پروتئین تا روز ۱۰ کشت با دو تیمار دیگر به‌طور معنی‌داری بیشتر بوده است.

در بررسی تغییرات کربوهیدرات در هر سه سطح فسفر، کربوهیدرات از آغاز کشت تا روز ۱۲ افزایش معنی ($P<۰/۰۵$) را نشان داده است. مقایسه میزان کربوهیدرات در تیمارهای فسفر در روزهای مختلف کشت اختلاف معنی‌داری را نشان نداد اما همواره تیمار ۴۰۰ میکروگرم فسفر در لیتر دارای میزان کربوهیدرات کمتری نسبت به دو تیمار دیگر بوده است (جدول ۲).

جدول۲: ترکیبات شیمیایی سیانوباکتر *N. cacicola* رشد یافته در سه غلظت فسفر در روزهای مختلف کشت

| پارامترها (میلی‌گرم در گرم ماده خشک) | فسفر (میکروگرم در لیتر) | روز ۲ | روز ۴ | روز ۶ | روز ۸ | روز ۱۰ | روز ۱۲ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| کلروفیل آ | ۱۰۰ | ۲/۱۸±۰/۲۴ $^{c}$ | ۲/۱۲±۰/۰۲ $^{c}$ | ۲/۸۴±۰/۱۸ $^{b}$ | ۳/۶±۰/۲۲ $^{a}$ | ۳/۸۸±۰/۱۶ $^{a}$ | ۳/۷۳±۰/۱۳ $^{a}$ |
| | ۲۰۰ | ۱/۹۹±۰/۱۸ $^{c}$ | ۲/۱۵±۰/۱۵ $^{c}$ | ۳/۰۳±۰/۰۳ $^{b}$ | ۳/۹۲±۰/۲۲ $^{ac}$ | ۳/۹۸±۰/۳۹ $^{a}$ | ۳/۸۹±۰/۴۸ $^{a}$ |
| | ۴۰۰ | ۱/۸۸±۰/۱۱ $^{d}$ | ۲/۳۳±۰/۳۲ $^{c}$ | ۳/۵±۰/۲۷ $^{b}$ | ۴/۴۶±۰/۱۱ $^{a}$ | ۴/۳۹±۰/۱۴ $^{a}$ | ۴/۱۹±۰/۱ $^{a}$ |
| کاروتنوئید کل | ۱۰۰ | ۵/۱۱±۰/۱۴ $^{d}$ | ۵/۱۹±۰/۰۱ $^{d}$ | ۵/۸۴±۰/۱۶ $^{c}$ | ۶/۹۳±۰/۲۶ $^{a}$ | ۶/۶۵±۰/۱۲ $^{ab}$ | ۶/۶۳±۰/۱۱ $^{b}$ |
| | ۲۰۰ | ۵/۰۸±۰/۱۶ $^{d}$ | ۵/۲۸±۰/۰۹ $^{d}$ | ۵/۸۷±۰/۱۳ $^{c}$ | ۷/۲۱±۰/۲۹ $^{a}$ | ۶/۸۵±۰/۳۵ $^{ab}$ | ۶/۴۹±۰/۱۲ $^{b}$ |
| | ۴۰۰ | ۴/۹۸±۰/۰۹ $^{e}$ | ۵/۲۱±۰/۰۳ $^{e}$ | ۶/۲۱±۰/۱۸ $^{d}$ | ۷/۲۸±۰/۱ $^{a}$ | ۶/۹۶±۰/۰۸ $^{b}$ | ۶/۶۶±۰/۲ $^{c}$ |
| پروتئین کل | ۱۰۰ | ۲۲۹/۲۷±۳۰/۴۷ $^{d}$ | ۲۹۵/۱۳±۳۰/۷۱ $^{c}$ | ۳۷۲/۴±۲۰/۱ $^{a}$ | ۳۵۷/۲±۷/۶ $^{ab}$ | ۳۲۵/۵۳±۲/۱۹ $^{bc}$ | ۳۲۰/۴۷±۵/۸ $^{bc}$ |
| | ۲۰۰ | ۲۳۳/۰۷±۳۶/۵۱ $^{d}$ | ۲۸۸/۸±۲۳/۷ $^{c}$ | ۳۵۳/۴±۲۱/۱۵ $^{ab}$ | ۳۸۶/۳۳±۳۴/۰۵ $^{a}$ | ۳۱۵/۴±۱۳/۷ $^{bc}$ | ۳۲۵/۵۳±۱۸/۷۴ $^{bc}$ |
| | ۴۰۰ | ۲۴۴/۴۷±۱۹/۵ $^{d}$ | ۳۱۱/۶±۱۰/۰۵ $^{c}$ | ۴۳۴/۴۷±۳۹ $^{a}$ | ۴۳۱/۹۳±۷/۹۱ $^{a}$ | ۳۵۴/۶۷±۱۲/۲۱ $^{b}$ | ۳۴۵/۸±۱۰/۰۵ $^{bc}$ |
| کربوهیدرات | ۱۰۰ | ۴۵۴/۵±۳۴/۴ $^{d}$ | ۵۷۹/۶±۸/۶۷ $^{c}$ | ۶۰۷/۵±۷/۱۴ $^{bc}$ | ۶۲۸/۲±۳۲/۲۱ $^{ab}$ | ۶۶۸/۷±۳۹/۳۴ $^{a}$ | ۶۷۳/۲±۱۵/۵ $^{a}$ |
| | ۲۰۰ | ۴۶۶/۲±۲۹/۷۴ $^{d}$ | ۵۴۹/۹±۵۳ $^{c}$ | ۶۲۶/۴±۳۰/۴۲ $^{ab}$ | ۵۹۹/۴±۱۴/۲۸ $^{bc}$ | ۶۷۴/۱±۲۱/۸۲ $^{a}$ | ۶۸۳/۱±۳۹/۹۵ $^{a}$ |
| | ۴۰۰ | ۴۵۰/۹±۳۹/۷۷ $^{c}$ | ۵۵۰/۸±۵۰ $^{b}$ | ۶۲۵/۵±۴۰/۵۲ $^{ab}$ | ۵۹۴/۹±۶/۷۹ $^{ab}$ | ۶۰۲/۱±۵۶/۱۸ $^{ab}$ | ۶۴۰/۸±۴۸/۰۲ $^{a}$ |

داده‌ها مربوط به میانگین سه تکرار از آزمایش± انحراف معیار می‌باشد.

حروف کوچک معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ را در هر ردیف نشان می‌دهد.

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06 ]

[ DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.7.7 ]

## بحث

به خوبی مشخص شده است که سطوح مواد غذایی باعث تغییر ترکیب شیمیایی زی توده می‌شود. موجودات که تحت غلظت‌های مختلف قرار می‌گیرند استراتژی سوخت وسازشان تغییر می‌کنند و برخی ترکیبات را می‌سازند و یا ذخیره می‌کنند که بتوانند با شرایط جدید سازگار شوند (Dean *et al*., 2008). میکروارگانیسم‌ها تأثیر پذیری بالایی نسبت به تغییرات جزئی شرایط محیط دارند. بنابراین در این مطالعه سعی شده عوامل محیطی نظیر رژیم نوری، دما و هوادهی ثابت باشد تا بتوان به بهترین نتایج دست یافت.

نتیجه حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که میزان زی توده تولید شده، کلروفیل آ، کاروتنوئید کل و کربوهیدرات سیانوباکتر *Nostoc calcicola* به ازای هر گرم ماده خشک در روزهای مختلف کشت با روند افزایشی همراه بوده است. میزان پروتئین تا چند روز بعد از آغاز کشت افزایش و سپس روند نزولی نشان می‌دهد. که در تیمار با ۴۰۰ میکروگرم فسفر در لیتر حداکثر مقدار پروتئین و در مدت زمان کوتاه‌تری حاصل می‌شود. روند کربوهیدرات در طول دوره کشت صعودی بوده و فسفر تاثیری واضحی بر میزان کربوهیدرات نشان نداد. نتایج این تحقیق با مطالعه Khuantrairong وTraichaiyaporn (۲۰۰۹) که بر روی جلبک سبز *Cladophora* sp انجام گرفت مطابقت دارد. همچنین Celekli و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که افزودن فسفر با افزایش میزان کاروتنوئید در جلبک سبز-آبی *Spirulina platensis* می‌گردد. Ji و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که در کشت *Tetraselmis sp* سطوح فسفر بر میزان کربوهیدرات تأثیر گذار نبوده است. بر خلاف یافته‌های این تحقیق، Buapetو همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که افزایش فسفر تأثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل آ در علف دریایی *Ulva reticulate* ندارد. همچنین Dean و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند سطوح فسفر اثر معنی‌داری بر روی کربوهیدرات دارند. در این مطالعه اختلاف غلظت فسفر تیمارهای، شاید به اندازه‌ای زیاد نبوده که اثر معنی‌داری را بر روی کربوهیدرات نشان دهد. هر چند ما در این مطالعه میزان فسفر مصرف شده توسط ریز جلبک را در روزهای مختلف کشت مورد بررسی قرار نداده‌ایم اما اختلاف در میزان برخی از ترکیبات در سطوح مختلف فسفر اهمیت میزان این عنصر را نشان می‌دهد.

Marco و Orus (۱۹۸۸) بیان کردند سطوح پایئن فسفر به‌طور زیادی میزان اسید نوکلئیک را کاهش می‌دهد. Reddy و Sarada (۱۹۸۲) رابطه بین کاهش فسفر و کاهش سطح ATP سلول را بیان کرد. و در نتیجه کاهش تقسیم سلولی و در نهایت رشد و در نهایت کاهش رنگدانه ها و پروتئین را به همراه دارد. و این خود می‌تواند مهم‌ترین دلیل برای کاهش رشد، پروتئین و رنگدانه‌ها ی در سیانوباکتر مورد مطالعه در غلظت پایین‌تر فسفر باشد.

با توجه به بومی بودن سیانوباکتر *N. calcicola*، تاکنون مطالعات زیادی بر روی این گونه صورت نگرفته است. در حالی که این گونه می‌تواند کاندید مناسبی برای تولید انبوه رنگدانه باشد. از طرفی، علم زیست فناوری بدنبال بهینه‌سازی شرایط کشت برای حداکثر تولیدات با ارزش می‌باشد. بنابراین با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان بیان کرد که با افزایش میزان فسفر محیط می‌تواند به عنوان یک فاکتور مؤثر بر افزایش میزان تولید کاروتنوئید باشد و جمع‌آوری زی

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06 ]
[ DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.7.7 ]

توده در روزهای ۸، ۱۰ و ۱۲ کشت با بیشترین مقدار رنگدانه‌ها همراه است از طرفی، با کاهش محتوی فسفر محیط کشت می‌توان به زی‌توده با بالاترین مقدار کربوهیدرات دست یافت که این ترکیب به عنوان ماده اولیه برای تولید بیواتانول بسیار مورد توجه است.

## سپاسگزاری

بدین وسیله نویسندگان مقاله از سرکار خانم دکتر زینب شریعتمداری گروه فیتوشیمی دانشگاه شهید بهشتی تهران بخاطر راهنمایی در طول مطالعه تقدیر به‌عمل می‌آورند.

## منابع

1. Aminot, A., Rey, F., 1999. Determination of chlorophyll a by spectroscopic methods. ICES Techniques in Marine Environmental Sciences, 1-15.
2. Balat, H., 2010. Prospects of biofuels for a sustainable energy future: a critical assessment. Energy Education Science and Technology Part A, 24(2), 85-111.
3. Buapet, P., Hiranpan, R., Ritchie R.J., Prathep, A., 2008. Effect of nutrient inputs on growth, chlorophyll, and tissue nutrient concentration of *Ulva reticulata* from a tropical habitat, Science Asia, 34, 245-252.
4. Celekli, A., Yavuzatmaca M., Bozkurt, H., 2009. Modeling of biomass production by *Spirulina platensis* as function of phosphate concentrations and pH regimes. Bioresour. Technol, 100, 3625–3629.
5. Dean, A.P., Estrada, B., Nicholson, J.M., Sigee, D.C., 2008. Molecular response of Anabaena flos-aquae todifferingconcentrations ofphosphorus: a combinedFourier transform infrared and X-ray microanalytical study. Phycol. Res, 56(3), 193–201.
6. Del Campo, J.A., García-González, M., Guerrero, M.G., 2007. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. Applied Microbiology and Biotechnology, 74, 1163-1174.
7. Demirbas, A., 2009. Production of biodiesel from algae oils. Energy Sources Part A Recovery Utilization and Environmental Effects, 31, 163–8.
8. Gerhardt, P., Murray, R.G.E., Wood, W.A., Krieg, N.R., 1994. Methods for General and Molecular Bacteriology, ASM, Washington, DC.
9. Hashtroudi, M.S., Shariatmadari, Z., Riahi, H., and Ghassempour, A.R., 2013. Analysis of Anabaena vaginicola and Nostoc calcicola from Northern Iran, as rich sources of major carotenoids. Food Chemistry, 136, 1148–1153.
10. Ji, C.F., Yu, X.J., Chen, Z.A., Xue, S., Legrand, J., Zhang, W., 2011. Effects of nutrient deprivation on biochemical compositions and photohydrogen production of Tetraselmis subcordiformis. Int J Hydrog Energ, 36, 5817–5821.
11. Khuantrairong, T., Traichaiyaporn, S., 2009. Production of biomass, carotenoid and nutritional values of *Cladophora* sp. (Kai) by cultivation in mass culture, *Phycologia,* 48, 60
12. Kochert, G., 1978. Protein determination by dye binding. In: Hellebust, J.A., Craigie, J.S. (Eds.), Handbook of Physiological Methods: Physiological and Biochemical Methods. Cambridge University Press, London, 90–93.
13. Lee, Y.K., Shen, H., 2006. Basic culturing techniques. In: Richmond A (Ed.) *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. 3rd edn., Blackwell Publishing Company, Oxford.
14. Marco, E., Orus, M.I., 1988. Variation in Growth and Metabolism with Phosphorus Nutrition in two Cyanobacteria. J. Plant.Physiol. 132, 339-344.
15. Markou, G., 2012. Alteration of the biomass composition of *Arthrospira (Spirulina) platensis* under various amounts of limited phosphorus. Bioresource Technol, 116, 533–535.
16. Meijer, E.A., Wijffels, R.H., 1998. Development of a fast, reproducible and effective method for the extraction and quantification of proteins of micro-algae. Biotechnol Tech, 12, 353–358.
17. Miller, D.E., Green, J.C. and Shiroyama, T., 1978. The *Selenastrum capricornatum* Printz algal assay bottle test. Experimental Design, application and Data Interpretation Protocol. Environmental Protection Agency, U.S. 126p.
18. Reddy, T.R.K., Sarada, K., 1982. UV irradiation protection by Cysteine and ATP in *Anabaena doliolum.* Phykos., 21, 108-114.
19. Reis, A., Mendes, A., Lobo-Fernandes, H., Empis, J.A., and Maggiolly Novais, j., 1998. Production, extraction and purification of

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06 ]
[ DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.7.7 ]

phycobiliprotein from Nostoc sp. Bioresource Technology, 66, 181 – 187.
20. Schneegurt, M.A., Sherman, D.M., Nayar, S., Sherman, L.A., 1994. J. Bacteriol. 176, 1586.
21. Schwenzfeier, A., Wierenga, P.A., Gruppen, H., 2011. Isolation and characterization of soluble protein from the green microalgae. Tetraselmis sp. Bioresource Technol, 102, 9121-9127.
22. Zhao, Y.F., Yu, Z.M., Song, X.X., Cao, X.H., 2009. Biochemical compositions of two dominant bloom-forming species isolated from the Yangtze River Estuary in response to different nutrient conditions. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 368, 30–36.

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06 ]

[ DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.7.7 ]