

## تأثیر کمبود یا فقدان فسفر بر رشد، ترکیبات بدنی و پروفایل اسیدهای چرب ریز جلبک آب شیرین *Desmodesmus* sp.

شقایق نوروزی<sup>۱</sup>، سیدپژمان حسینی شکرابی<sup>۲\*</sup>، هومن رجبی اسلامی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.  
<sup>۲</sup>مرکز تحقیقات ملی آبزیان آب‌های شور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بافق، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۰۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۳۰

### چکیده

در این مطالعه، تأثیر فقدان و کمبود فسفر (دی‌پتاسیم فسفات؛  $K_2HPO_4$ ) بر نرخ رشد، زی‌توده، محتوای بیوشیمیایی و پروفایل اسیدهای چرب ریز جلبک *Desmodesmus* sp. به مدت ۱۴ روز مورد بررسی قرار گرفت. بر این اساس، ریز جلبک *Desmodesmus* در محیط‌های کشت شامل فاقد فسفر (P0)، ۱۰ (P10)، ۲۰ (P20)، ۳۰ (P30) و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر (P40) کشت شدند. تیمار P40 به‌عنوان گروه شاهد، مقدار فسفر مورد نیاز در محیط کشت استاندارد BG11 را داشت. بر این اساس، بیشترین تراکم سلولی، نرخ رشد ویژه و تولید زی‌توده در روز چهاردهم به‌طور همزمان در تیمارهای P20، P30 و P40 ثبت شد که اختلاف معنی‌داری را با دو گروه دیگر نشان داد ( $P < 0.05$ ). علاوه بر این، بیشترین میزان کلروفیل *a* نیز در این سه گروه ثبت شد که افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه بدون فسفر نشان دادند ( $P < 0.05$ ). کمترین میزان کلروفیل *b* در P0 (۱/۶۲ میلی‌گرم در لیتر) در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی ثبت شد ( $P < 0.05$ ). آنالیز ترکیبات بدنی نشان داد که بیشترین میزان تولید چربی (۱۴/۹۳ میلی‌گرم در لیتر در روز) در تیمار P20 مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با سایر گروه‌های آزمایشی به جز P10 (۱۳/۱۷ میلی‌گرم در لیتر در روز) داشت ( $P < 0.05$ ). از سوی دیگر، بالاترین نرخ تولید پروتئین در گروه‌های P40 و P30 اندازه‌گیری شد ( $P < 0.05$ ) و بیشترین نرخ تولید کربوهیدرات (۱۰/۵۵ میلی‌گرم در لیتر در روز) در P40 بدون اختلاف معنی‌داری با P30 (۸/۸۷ میلی‌گرم در لیتر در روز) مشاهده شد. بالاترین میزان اسیدهای چرب اشباع در P0 (۴۷/۶۶ درصد از کل چربی) و بالاترین اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره در تیمارهای P40 (۳۰/۵۸ درصد از کل چربی) بدون اختلاف معنی‌دار با P30 (۲۹/۳۳ درصد از کل چربی) ثبت شد. براساس نتایج می‌توان بیان نمود که غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر غلظت مناسبی برای پرورش ریزجلبک *Desmodesmus* جهت تولید سوخت زیستی بوده درحالی که غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر غلظت مناسبی برای پرورش ریزجلبک جهت کاربرد در صنایع غذایی و خوراک آبزیان دارد.

**کلید واژگان:** استرس، اسیدهای چرب، ریزجلبک، چربی، کلروفیل

## مقدمه

اسیدهای چرب اشباع با کاهش غلظت فسفر در محیط کشت جلبک *Chlorella sp.* به طور معنی داری افزایش یافت. در حقیقت براساس مطالعات انجام شده، استفاده از استرس فقر مواد غذایی در پرورش ریزجلبک‌ها علاوه بر صرفه جویی در میزان مصرف برخی مواد مغذی گران (مانند فسفر و نیتروژن)، بر عکس سایر راهکارها همانند دستکاری ژنتیک، بکارگیری مواد شیمیایی و تغییر شرایط محیطی پرورش یک روش ارزان و کارآمد برای دستیابی به محصولات هدف است. در بحث بیوتکنولوژی ریزجلبک‌ها در کشور تاکنون مطالعات بسیار اندکی صورت گرفته است و یک خلاء اطلاعاتی در این زمینه وجود دارد. بنابراین در این پژوهش تأثیر محدودیت یا فقدان فسفر به عنوان یک درشت مغذی کلیدی در محیط کشت بر عملکرد رشد، تولید چربی، محتوای پروتئین، سطح رنگدانه‌ها و پروفایل اسیدهای چرب بر ریز جلبک *Desmodesmouss sp.* مورد ارزیابی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

**کشت ریزجلبک:** در این مطالعه به منظور پرورش این ریز جلبک از محیط کشت BG11 استفاده شد. مواد تشکیل دهنده این محیط کشت در جدول ۱ ارائه شده است. محیط کشت به وسیله حل کردن ترکیبات مورد نظر در آب مقطر آماده و به وسیله اتوکلاو در درجه حرارت ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۱۵ پاسکال به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو و در دمای اتاق خنک گردید.

**پرورش و نگهداری:** در این مطالعه ریزجلبک *Desmodesmouss sp.* تهیه شده از دانشگاه ارومیه ابتدا با تراکم  $1 \times 10^6$  در میلی لیتر به ظروف ۸ لیتری تلقیح شد. رشد روزانه جلبک‌ها تا رسیدن به مرحله تصاعدی صورت پذیرفت. ریز جلبک‌ها در سطوح مختلف فسفر (دی پتاسیم فسفات؛  $K_2HPO_4$ ) شامل محیط‌های کشت P0 (محیط عاری از فسفر)، P10 (۱۰ میلی گرم بر لیتر؛ ۲۵ درصد فسفر)، P20 (۲۰ میلی گرم بر لیتر؛ ۵۰ درصد فسفر)، P30 (۳۰ میلی گرم بر لیتر؛ ۷۵ درصد فسفر) و P40 (۴۰ میلی گرم بر لیتر، گروه شاهد) انتقال یافتند. در حقیقت طراحی تیمارها بدین صورت بود که میزان دی پتاسیم فسفات به عنوان منبع فسفر از محیط کشت استاندارد BG11 به ترتیب به نسبت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد در تیمارهای P10، P20، P30 و P40 حذف شد. مقدار فسفر در تیمار P40

امروزه ریزجلبک‌ها علاوه بر نقش اکولوژیک خود در بدنه‌های آبی، به عنوان تولیدکنندگان اولیه (Torres-Tiji et al., 2020)، به دلیل خصوصیات منحصر به فرد خود، کاربردهای گسترده‌ای در صنایع مختلف دارند. در بسیاری از نقاط جهان، تولید ریزجلبک‌ها و محصولات برپایه آن‌ها یکی از چرخه‌های مهم اقتصاد کشورها را تشکیل داده؛ از این رو صادرات این محصولات یکی از منابع عمده درآمدی آن‌ها محسوب می‌شود (Zhao et al., 2019). امروزه استفاده از میکروجلبک‌ها و محصولات برپایه آن‌ها در صنایع مختلف مانند داروسازی، مواد غذایی و آرایشی و بهداشتی و سوخت زیستی در حال رشد است. همچنین، در صنعت آبزی پروری، ریزجلبک‌ها به عنوان غذای زنده برای رشد و بقای لارو ماهیان، نرم‌تنان و میگوهای پرورشی مورد نیاز است (Xin et al., 2010; Yaakob et al., 2021).

دستکاری محیط کشت و شرایط پرورش ریزجلبک‌ها می‌تواند باعث تغییر در میزان زی توده و محتوای تولیدات زیستی آن‌ها شود (Su et al., 2016). در مطالعات گذشته ثابت شده که تغییر در مقدار فسفات و نیترات به عنوان اجزاء کلیدی محیط کشت جلبک‌ها منجر به تغییر در متابولیت جلبک‌ها و دستیابی به کیفیت یا کمیت خاصی از محصولات ریزجلبکی می‌شود (Markou, 2012). در این میان، فسفر نقش حیاتی در رشد، تولید چربی و اسیدهای چرب، انتقال انرژی (مانند ATP)، اجزاء ساختاری سلول (مانند DNA، RNA)، هدایت سیگنال‌های بین سلولی و فتوسنتز در ریز جلبک‌ها را برعهده دارد (Yaakob et al., 2021). میزان نیاز به فسفر به منظور رشد و سایر فعالیت‌ها زیستی در گونه‌های مختلف ریزجلبک متفاوت است. تغییر در سطح فسفر محیط کشت باعث می‌شود که متابولیت‌های مختلف از جمله کلروفیل، پروتئین و کربوهیدرات‌ها دچار تغییر شوند. برای مثال Markou و همکاران (۲۰۱۲) اثرات کمبود فسفر را در ریزجلبک اسپرویلینا (*Arthrospira platensis*) مورد مطالعه قرار دادند و بیان کردند که در شرایط کمبود فسفر میزان تجمع چربی و کربوهیدرات افزایش و در مقایسه میزان پروتئین کاهش می‌یابد. همچنین، تغییرات در کمیت و کیفیت اسیدهای چرب در شرایط کمبود فسفر در گونه‌های مختلف متفاوت است (Mandotra et al., 2016). برای مثال، Liang و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند میزان

۱۰ دقیقه با دور ۸۰۰۰ سانتیفریوژ شدند و محلول سطحی جمع‌آوری شده و سپس میزان کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کاروتنوئیدها بر اساس رابطه زیر محاسبه شد.

$$\text{Chlorophyll a (mg L}^{-1}\text{)} = 11.24 \times A_{661.6} - 2.404 \times A_{644.8}$$

$$\text{Chlorophyll b (mg L}^{-1}\text{)} = 20.13 \times A_{644.8} - 4.19 \times A_{661.6}$$

$$\text{Total carotenoids (mg L}^{-1}\text{)} = 1000 \times A_{470} - 1.9 \times \text{Chla} - 63.14 \times \text{Chlb} / 214$$

#### سنجش ترکیبات بدنی

**اندازه گیری محتوای پروتئین:** برای اندازه‌گیری میزان پروتئین، ۵۰ میلی‌گرم از زی‌توده خشک شده در ۲۰ میلی‌لیتر از بافر فسفات نمکی ۰/۲ مولار (۸ گرم NaCl، ۰/۲ گرم KCl، ۱/۴۴ گرم Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>، ۰/۲۴ گرم KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر حل شده و به‌وسیله اسید هیدروکلریک در pH=۷/۴ تنظیم و با آب به حجم ۱ لیتر رسانیده و در دمای اتاق نگهداری شد. در این شرایط از اولتراسونیک برای تخریب دیواره سلولی در تناوب‌های دو دقیقه‌ای با وقفه‌های ۵ ثانیه استفاده شد. محلول فوقانی با سرعت ۹۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه استفاده گردید. در نهایت محتوای پروتئین براساس روش Bradford (۱۹۷۶) محاسبه شد.

$$\text{Protein content (mg/g)} = \frac{C}{M}$$

که C: وزن پروتئین بر حسب میلی‌گرم و m: میزان زی‌توده بر حسب وزن خشک بر گرم (g DW) است.

$$\text{Protein productivity (mg/L/day)} = \frac{\text{Biomass productivity} \times \text{Protein content}}{100}$$

**اندازه‌گیری کربوهیدرات:** تعیین میزان کربوهیدرات با استفاده از روش فنول سولفوریک اسید انجام شد. در این روش، مقداری از زی‌توده با استفاده از اسید سولفوریک (۲٪ v/v) برای ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو گردید. سپس مخلوط از طریق اسید سولفویک ۱ مولار خنثی شد. در مرحله بعد با استفاده از سانتیفریوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور برای ۱۰ دقیقه جداسازی شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول فوقانی با ۱ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و سپس با ۱ میلی‌لیتر فنل (۵ درصد؛ w/v) و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۵ درصد مخلوط شد و بعد از خنک شدن میزان جذب آن در طول موج ۴۹۰ به‌وسیله اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد (Chandra et al., 2018). علاوه بر این، تولید کربوهیدرات

#### جدول ۱- ترکیبات محیط‌های کشت مختلف

مواد مغذی	BG11
NaNO <sub>3</sub>	۱/۵ g/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	۴۰ mg/l
MgSO <sub>4</sub>	۷۵ mg/l
Na <sub>2</sub> HCO <sub>3</sub>	۲۰ mg/l
CaCL <sub>2</sub>	۳۶ mg/l
CoCL <sub>2</sub>	۰/۰۵ μg/l
ZnSo <sub>4</sub>	۰/۲۲ μg/l
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	۲۰ mg/l
(NH <sub>4</sub> ) <sub>5</sub> Fe <sub>2</sub>	۶ mg/l
EDTA	۱ mg/l
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	۲/۸۶ μg/l
MnCl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	۱/۸۱ μg/l
Na <sub>2</sub> MOO <sub>4</sub>	۰/۳۹ μg/l
CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	۰/۰۷ μg/l
(NM <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> MO <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	۶ mg/l

به‌عنوان گروه شاهد برابر ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر معادل مقدار مورد نیاز در محیط کشت استاندارد BG11 بود. برای اندازه‌گیری میزان رشد در طول دوره فقر فسفر، زی‌توده هر تکرار سانتیفریوژ (۹۰۰۰ g برای ۱۵ دقیقه) و سه مرتبه با آب مقطر شستشو و به‌صورت روزانه چک شد. همچنین در مرحله سکون نیز زی‌توده کل هر تیمار برداشت و برای آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی و پروفایل اسیدهای چرب سانتیفریوژ شد.

**پارامترهای رشد:** تعیین میزان رشد در طول دوره پرورش با استفاده از لام نئوبار و محلول لوگول به‌منظور فیکس کردن ریزجلبک انجام شد. علاوه بر این، نرخ رشد ویژه در انتهای دوره پرورش بر اساس رابطه زیر محاسبه شد (Kozlova et al., 2017):

$$u = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1}$$

که در این رابطه N<sub>1</sub> و N<sub>2</sub> به‌ترتیب تعداد سلول در زمان t<sub>1</sub> و t<sub>2</sub> است.

**اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئید:** اندازه‌گیری محتوای کلروفیل با استفاده از روش Kozlova و همکاران (۲۰۱۷) انجام شد. بدین‌منظور، ۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون جلبکی برداشته و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دور ۸۰۰۰ سانتیفریوژ گردید تا رسوب کاملی به‌دست آید. سپس ۵ میلی‌لیتر استون ۱۰۰ درصد به آن اضافه کرده، و به‌مدت یک شب در دمای اتاق در تاریکی نگهداری شد. در مرحله بعد، نمونه‌ها به‌مدت

به وسیله رابطه زیر تعیین گردید:

$$\text{Carbohydrate productivity (mg/L/day)} = \frac{\text{Biomass productivity} \times \text{Carbohydrate content}}{100}$$

**اندازه گیری محتوای لیپید:** در این مطالعه ابتدا زی توده ریزجلبکی برداشت و سانتریفیوژ شد و سپس از طریق فریز درایر خشک شد. برای استخراج چربی، زی توده ریزجلبکی خشک شده به مخلوط کلروفرم: اتانول (۲:۱ v/v) اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد در مایکروویو قرار گرفت (Guldhe et al., 2014). این مخلوط با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۱ فیلتر و مواد زائد آن حذف شد.

بعد از جداسازی لایه آلی به منظور جرم سنجی محتوای لیپید تولید شده، مقدار مواد فیلتر شده را در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد خشک کرده و میزان لیپید از طریق رابطه زیر محاسبه شد (Singh et al., 2016):

$$\text{Lipid productivity (mg/L/day)} = \frac{\text{Biomass productivity} \times \text{Lipid content}}{100}$$

**آنالیز اسیدهای چرب:** به منظور تعیین اسیدهای چرب، ابتدا نمونه های تر جلبک وزن شدند و به لوله های شیشه ای درب دار انتقال یافتند در مرحله بعد به هر یک از آن ها حدود ۵ میلی لیتر محلول متانول / تولوئن (۲:۳ v/v) و ۰/۱ میلی لیتر محلول استاندارد داخلی (حاوی اسید چرب ۲۲:۲ (N-6) حل شده در ایزواکتان) اضافه شد. سپس ۵ میلی لیتر مخلوط تازه تهیه شده استیل کلراید/متانول (۷/۷ v/v) به عنوان عامل استریفیکاسیون اضافه گردید. درب ظروف محکم بسته و مواد با یکدیگر مخلوط شدند و در حمام آبی ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت جوشانده شدند و هر ۱۰ دقیقه یکبار تکان داده شدند. بعد از اینکه لوله ها سرد شدند به هر یک ۵ میلی لیتر آب دو بار تقطیر شده و ۵ میلی لیتر هگزان اضافه گردید. لوله ها به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شدند و فاز بالایی به لوله های دیگر منتقل گردیدند و در نهایت از طریق فیلتر سولفات سدیم آبیگری و به بالن های گلابی شکل انتقال داده شدند و توسط روتاری در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد تغلیظ گردیدند. سپس در ۰/۵ میلی لیتر ایزواکتان حل شده و به شیشه های کوچکی انتقال داده شدند و تا زمان تزریق در

فریزر نگهداری شدند. نمونه ها جهت تزریق به دستگاه گاز کروماتوگرافی آماده شدند. بدین منظور نمونه ها با ایزواکتان ۵۰۰ میکرولیتر رقیق شده و پس از تهیه محلول نهایی مقدار ۰/۴ از آن به دستگاه گاز کروماتوگرافی تزریق گردید. در نهایت درصد هر اسید چرب نسبت به کل اسیدهای چرب هر نمونه با اندازه گیری سطح زیر منحنی های هر اسید چرب به دست خواهد آمد (Lepage and Roy, 1984).

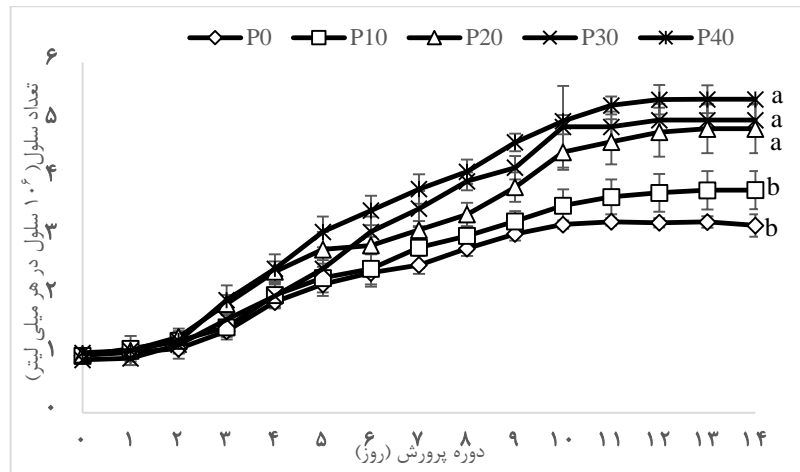
**تجزیه و تحلیل آماری:** آزمایش حاضر در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. ابتدا نرمال بودن داده های با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. بررسی آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و آزمون مقایسه میانگین توکی (Tukey' HSD test) انجام شد. تمام مفروضات آنالیز واریانس پیش از انجام تحلیل های آماری، مورد بررسی قرار گرفت و در صورت لزوم از تبدیل های مناسب استفاده شد. تمامی آزمون ها در سطح معنی داری کمتر از ۵ درصد تفسیر شد و نتایج نهایی به صورت Mean±SD گزارش گردید. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۳ استفاده شد.

## نتایج

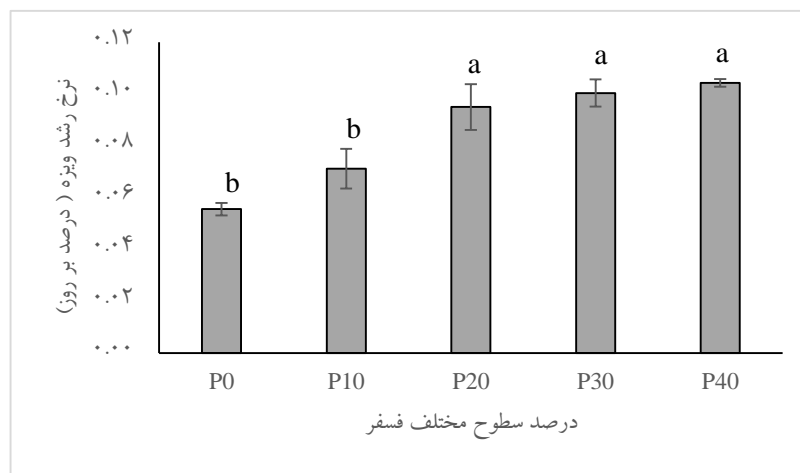
**اثر سطوح مختلف فسفر بر رشد:** تأثیر سطوح مختلف فسفر بر میزان رشد در طول دوره ۱۴ روز در شکل ۱ نشان داده شده است. بر این اساس، میزان تراکم سلولی در انتهای دوره پرورش در تیمارهای P20، P30 و P40 اختلاف معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد ( $P < 0.05$ ). در این مطالعه بیشترین و کمترین میزان رشد به ترتیب در تیمارهای فاقد فسفر (P0) و (P40) ثبت شد.

نرخ رشد ویژه *Desmodesmus sp.* کشت داده شده در سطوح مختلف فسفر در شکل ۲ ارائه شده است. بر اساس نتایج، بالاترین نرخ رشد ویژه در گروه های تیمار شده با محیط های کشت P20، P30 و P40 ثبت شد که اختلاف معنی داری را با گروه های P10 و فاقد فسفر (P0) به ثبت رسانید ( $P < 0.05$ ).

**میزان کلروفیل و کاروتنوئید:** تأثیر سطوح مختلف فسفر بر میزان کلروفیل و رنگدانه های در جلبک دسمودسموس در شکل ۳ ارائه شده است. بر اساس نتایج، میزان کلروفیل *a* در تیمارهای P30 و P40 اختلاف معنی داری را با گروه



شکل ۱- میانگین تغییرات تعداد سلول ریز جلبک *Desmodesmus sp.* تیمار شده با سطوح مختلف فسفر (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)



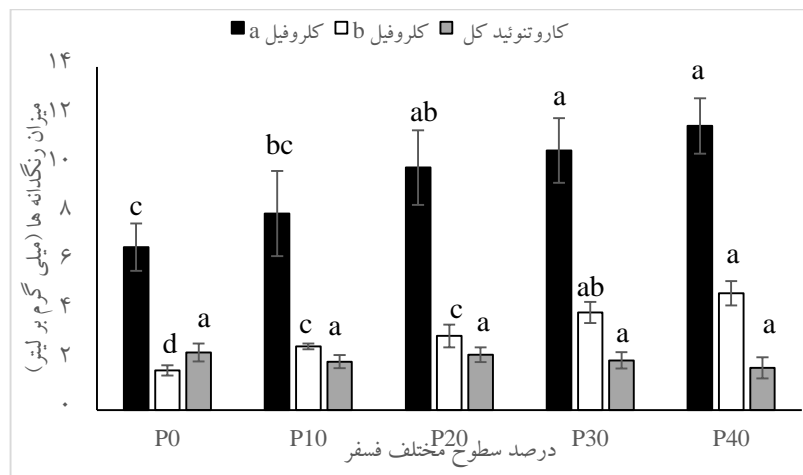
شکل ۲- میانگین نرخ رشد ریز جلبک *Desmodesmus sp.* تیمار شده با سطوح مختلف فسفر (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

های P0 و P10 نشان داد ( $P < 0.05$ ). علاوه بر این بالاترین میزان چربی در تیمار P20 ثبت شد که اختلاف معنی داری را در مقایسه با سایر گروه‌ها به جز P10 ثبت کرد ( $P < 0.05$ ). میزان تولید پروتئین در تمام گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی داری را با تیمار فاقد فسفر نشان داد ( $P < 0.05$ ), بالاترین مقادیر در تیمارهای P30 و P40 مشاهده شد که اختلاف معنی داری را با سایر گروه‌های آزمایشی نشان داد ( $P < 0.05$ ). علاوه بر این، بیشترین میزان تولید کربوهیدرات در تیمار P40 ثبت شد که اختلاف معنی داری را با سایر گروه‌های آزمایشی به جز P30 نشان داد ( $P < 0.05$ ).

**پروفایل اسیدهای چرب:** وضعیت پروفایل اسیدهای چرب در تیمارهای مختلف فسفر در جدول ۳ ارائه شده است. بر این اساس، بالاترین میزان اسید چرب C14:0 (مریستیک اسید) در تیمار P10 ثبت شد که اختلاف معنی داری را با

کنترل (شاهد) نشان دادند ( $P < 0.05$ ). بالاترین محتوای کلروفیل *a* در تیمار P40 و کمترین میزان در محیط عاری از فسفر ثبت شد. میزان کلروفیل *b* در ریز جلبک‌های پرورش داده شده در محیط‌های کشت P20، P30 و P40 اختلاف معنی داری را با گروه کنترل ثبت کرد ( $P < 0.05$ ). در واقع بالاترین میزان کلروفیل *b* در تیمار P40 ثبت شد که اختلاف معنی داری را با سایر گروه‌ها به جز P30 ثبت کرد ( $P < 0.05$ ). هرچند در این بررسی میزان کاروتنوئیدها در تمامی گروه‌ها مقدار مشابه بود ( $P > 0.05$ ).

**بررسی ترکیبات بدنی:** میزان تولید زی‌توده و سایر ترکیبات بدنی (پروتئین، چربی و کربوهیدرات) در ریز جلبک *Desmodesmus sp.* در جدول ۲ نشان داده شده است بر این اساس، بیشترین میزان تولید زی‌توده در تیمارهای P20، P30 و P40 مشاهده شد که تفاوت معنی داری را با گروه



شکل ۳- میزان کلروفیل و کاروتنوئید در ریز جلبک *Desmodium sp.* در سطوح مختلف فسفر (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) مقایسه درون گروهی است و ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار هستند ( $P > 0.05$ )

جدول ۲- وضعیت زی‌توده و ترکیبات بدنی در ریز جلبک *Desmodium sp.* در سطوح مختلف فسفر

تیمارها	میزان تولید زی‌توده (میلی‌گرم در لیتر در روز)	میزان تولید چربی (میلی‌گرم در لیتر در روز)	میزان تولید پروتئین (میلی‌گرم در لیتر در روز)	میزان تولید کربوهیدرات (میلی‌گرم در لیتر در روز)
P0	22/26 $\pm$ 2/15 <sup>b</sup>	9/30 $\pm$ 0/70 <sup>d</sup>	5/34 $\pm$ 0/73 <sup>d</sup>	5/19 $\pm$ 0/91 <sup>d</sup>
P10	31/63 $\pm$ 2/51 <sup>b</sup>	13/17 $\pm$ 0/61 <sup>ab</sup>	8/21 $\pm$ 0/34 <sup>c</sup>	5/87 $\pm$ 0/48 <sup>d</sup>
P20	38/16 $\pm$ 2/25 <sup>a</sup>	14/93 $\pm$ 0/80 <sup>a</sup>	11/98 $\pm$ 1/54 <sup>b</sup>	7/31 $\pm$ 0/41 <sup>bc</sup>
P30	40/60 $\pm$ 1/50 <sup>a</sup>	11/69 $\pm$ 0/64 <sup>bc</sup>	15/14 $\pm$ 0/64 <sup>a</sup>	8/87 $\pm$ 1/06 <sup>ab</sup>
P40	41/63 $\pm$ 1/51 <sup>a</sup>	10/83 $\pm$ 1/06 <sup>cd</sup>	16/28 $\pm$ 0/54 <sup>a</sup>	10/55 $\pm$ 0/87 <sup>a</sup>

اعداد در هر ردیف با حروف لاتین یکسان فاقد اختلاف آماری در سطح 0.05 می‌باشند.

جدول ۳- پروفایل اسیدهای چرب در ریز جلبک *Desmodium sp.* در سطوح مختلف فسفر

تیمارها	P0	P10	P20	P30	P40
C14:00	1/63 $\pm$ 0/12 <sup>a</sup>	2/16 $\pm$ 0/35 <sup>a</sup>	1/06 $\pm$ 0/14 <sup>b</sup>	0/81 $\pm$ 0/20 <sup>b</sup>	0/80 $\pm$ 0/30 <sup>b</sup>
C16:00	43/36 $\pm$ 2/95 <sup>a</sup>	37/20 $\pm$ 1/05 <sup>b</sup>	39/46 $\pm$ 1/17 <sup>ab</sup>	35/53 $\pm$ 1/28 <sup>b</sup>	34/86 $\pm$ 1/80 <sup>b</sup>
C18:00	1/83 $\pm$ 0/65 <sup>a</sup>	1/15 $\pm$ 0/42 <sup>a</sup>	1/20 $\pm$ 0/26 <sup>a</sup>	0/83 $\pm$ 0/35 <sup>a</sup>	0/90 $\pm$ 0/40 <sup>a</sup>
C20:00	0/83 $\pm$ 0/10 <sup>b</sup>	0/79 $\pm$ 0/18 <sup>b</sup>	1/32 $\pm$ 0/08 <sup>a</sup>	0/59 $\pm$ 0/10 <sup>b</sup>	0/55 $\pm$ 0/15 <sup>b</sup>
SFA	47/66 $\pm$ 3/02 <sup>a</sup>	41/30 $\pm$ 0/82 <sup>bc</sup>	43/05 $\pm$ 1/08 <sup>ab</sup>	37/77 $\pm$ 1/36 <sup>c</sup>	37/11 $\pm$ 2/15 <sup>c</sup>
C14: 1(n-5)	2/01 $\pm$ 0/18 <sup>ab</sup>	2/40 $\pm$ 0/14 <sup>a</sup>	1/70 $\pm$ 0/18 <sup>b</sup>	0/53 $\pm$ 0/20 <sup>c</sup>	0/43 $\pm$ 0/20 <sup>c</sup>
C16: 1 (n-7)	0/70 $\pm$ 0/14 <sup>b</sup>	1/30 $\pm$ 0/20 <sup>a</sup>	0/66 $\pm$ 0/11 <sup>b</sup>	0/60 $\pm$ 0/15 <sup>b</sup>	1/23 $\pm$ 0/10 <sup>a</sup>
C18: 1 (n-7)	32/79 $\pm$ 2/75 <sup>ab</sup>	30/93 $\pm$ 2/00 <sup>ab</sup>	36/76 $\pm$ 1/50 <sup>a</sup>	31/50 $\pm$ 2/78 <sup>b</sup>	30/30 $\pm$ 1/57 <sup>ab</sup>
C20: 1 (n-9)	0/20 $\pm$ 0/07 <sup>a</sup>	0/33 $\pm$ 0/10 <sup>a</sup>	0/39 $\pm$ 0/11 <sup>a</sup>	0/26 $\pm$ 0/05 <sup>a</sup>	0/33 $\pm$ 0/05 <sup>a</sup>
MUFA	25/70 $\pm$ 2/14 <sup>c</sup>	24/97 $\pm$ 1/54 <sup>ab</sup>	39/51 $\pm$ 2/53 <sup>a</sup>	32/89 $\pm$ 1/78 <sup>ab</sup>	32/32 $\pm$ 2/84 <sup>b</sup>
C18: 2 (n-6)	6/76 $\pm$ 1/09 <sup>c</sup>	9/04 $\pm$ 0/86 <sup>bc</sup>	6/51 $\pm$ 0/28 <sup>c</sup>	12/70 $\pm$ 2/71 <sup>ab</sup>	14/94 $\pm$ 1/33 <sup>a</sup>
C18: 3 (n-3)	8/41 $\pm$ 1/11 <sup>c</sup>	12/34 $\pm$ 1/34 <sup>ab</sup>	9/02 $\pm$ 1/41 <sup>bc</sup>	13/91 $\pm$ 0/91 <sup>a</sup>	11/62 $\pm$ 1/67 <sup>abc</sup>
C20: 4 (n-6)	1/48 $\pm$ 0/24 <sup>b</sup>	2/34 $\pm$ 0/98 <sup>ab</sup>	1/89 $\pm$ 0/86 <sup>ab</sup>	2/65 $\pm$ 1/18 <sup>ab</sup>	4/00 $\pm$ 0/85 <sup>a</sup>
PUFA	16/64 $\pm$ 1/98 <sup>c</sup>	23/71 $\pm$ 2/39 <sup>b</sup>	17/44 $\pm$ 1/14 <sup>c</sup>	29/33 $\pm$ 1/54 <sup>ab</sup>	30/58 $\pm$ 2/97 <sup>a</sup>

اعداد در هر ردیف با حروف لاتین یکسان فاقد اختلاف آماری می‌باشند ( $P > 0.05$ ).

رسانید ( $P < 0.05$ ). میزان اسید چرب C18:0 (استئاریک اسید) در تمامی گروه‌های آزمایشی از نظر آماری مقدار ثابتی بود ( $P > 0.05$ ). اسید چرب C20:00 (آراشیدیک اسید) در تیمار P20 اختلاف معنی‌داری را با سایر گروه‌های آزمایشی

سایر گروه‌های آزمایشی به جز محیط فاقد فسفر (P0) نشان داد ( $P < 0.05$ ). همچنین بالاترین مقدار C16:0 (پالمیتیک اسید) در تیمار فاقد فسفر ثبت شد که افزایش معنی‌داری را در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی به جز P20 به اثبات

اثر فقدان و محدودیت فسفات را بر رشد ریز جلبک *Porphyridium purpureum* به مدت ۱۶ روز بررسی کردند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که رشد و میزان زی‌توده با کاهش غلظت، به‌طور قابل توجهی در غلظت‌های فاقد فسفر و ۰/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت. علاوه بر این Xin و همکاران (۲۰۱۰) کاهش میزان فسفر و افت تقسیم سلولی و رشد را از دلایل اصلی کاهش میزان زی‌توده تولیدی در ریز جلبک *Scenedesmus* sp. عنوان کردند. از سوی دیگر، یکی از دلایل اصلی کاهش میزان رشد افت عملکرد ابزارهای درگیر در فرآیند فتوسنتز همانند کلروفیل‌ها است (Ghosh et al., 2019). کلروفیل‌ها رنگدانه‌های ضروری برای فرآیند فتوسنتز را فراهم می‌کنند. غلظت محدود فسفر در محیط کشت ریز جلبک‌ها می‌تواند بر توانایی سلول‌ها برای سنتز اسیدهای آمینه از جمله گلیسین و گلوتامات تأثیر بگذارد و سنتز اسید ۵-آمینولولینیک اسید (یک کتو آمینو اسید که در رشد و نمو و پاسخ‌های دفاعی نقش دارد) را محدود کند که به نوبه خود منجر به کاهش سطح کلروفیل در سلول می‌شود (Kim et al., 2013). علاوه بر این، کاهش در سطح کاروتنوئیدها ممکن است به دلیل عوامل محدودکننده در فعالیت دیمیریزاسیون ژرانیل فسفات باشد که در تولید کاروتنوئیدها نقش دارد (Richmond, 1986).

در مطالعه حاضر میزان کلروفیل *a* و *b* در تیمارهای فسفر به‌طور معنی‌داری با کاهش فسفر کاهش یافت و کمترین مقدار در گروه فاقد فسفر ثبت شد. همچنین میزان کاروتنوئیدها در تمامی گروه‌ها از نظر آماری مشابه بود. شرایط فقدان فسفر محتوای کلروفیل در ریز جلبک *Chlamydomonas reinhardtii* به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. براساس مطالعات انجام شده، تغییر در میزان مواد مغذی قادر است وضعیت بیوشیمیایی ریز جلبک‌ها را تحت تأثیر قرار دهد. در محیط‌هایی با سطوح پایین فسفر، میزان پروتئین به تدریج کاهش می‌یابد (Yaakob et al., 2021). فسفر جزء عناصر ضروری برای ساخت پروتئین‌ها است. محدود بودن فسفر در محیط کشت ریز جلبک‌ها می‌تواند بر تولید پروتئین‌ها که در فرآیندهای دیگر از جمله تقسیم سلولی نقش دارند، تأثیر بگذارد (Chandra et al., 2018). در این حالت که سلول‌ها قادر به تقسیم سلولی

نشان داد ( $P < 0.05$ ). بالاترین میزان اسیدهای چرب اشباع (SFA) در تیمار فاقد فسفر ثبت شد که اختلاف معنی‌داری را با سایر گروه‌های آزمایشی به جز P20 ارائه کرد ( $P > 0.05$ ). بیشترین میزان مریستولئیک اسید (C14:1) در تیمار P10 به ثبت رسید که اختلاف معنی‌داری را با سایر گروه‌های آزمایشی به جز محیط فاقد فسفر نشان داد ( $P < 0.05$ ). میزان پالمیتیک اسید (C16:1) در تیمارهای P10 و P40 بالاترین مقدار بود و اختلاف معنی‌داری را با سایر گروه‌های آزمایشی به ثبت رساند ( $P < 0.05$ ). میزان اسید اولئیک (C18:1) در تیمار P20 به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که تفاوت معنی‌داری را با P30 نشان داد ( $P < 0.05$ ). بالاترین مقادیر MUFA در تیمار P20 ثبت شد که اختلاف معنی‌داری را با گروه P40 و فاقد فسفر به ثبت رسانید ( $P > 0.05$ ). در مورد اسیدهای چرب بلند زنجیره بیشترین میزان اسید چرب لینولئیک (C18:2) در تیمار P40 به ثبت رسید که اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با گروه‌های P0، P10 و P20 نشان داد ( $P < 0.05$ ). همچنین بالاترین میزان C20:4 در تیمار P40 مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار فاقد فسفر ارائه کرد. میزان اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه در تیمار P40 فسفر، تفاوت معنی‌داری را با سایر گروه‌های آزمایشی به جز P30 ارائه کرد ( $P < 0.05$ ).

## بحث

فسفر برای رشد و سایر نقش‌های مختلف زیستی در محیط کشت ریزجلبک‌ها ضروری است (Yaakob et al., 2021). نتایج مطالعه حاضر نشان داد، کاهش میزان فسفر از حد استاندارد محیط کشت (۴۰ میلی‌گرم بر لیتر) منجر به کاهش شاخص‌های رشد و نرخ رشد ویژه ریز جلبک دسمودسموس شد و تراکم سلولی از ۵/۳ میلیون سلول در هر میلی‌لیتر در شرایط استاندارد به ۳/۲ سلول در هر میلی‌لیتر در محیط کشت فاقد فسفر رسید. در این مطالعه، با مطالعه روند تراکم سلولی در زمان‌های مختلف به‌نظر می‌رسد که ریزجلبک پرورش یافته در محیط فاقد فسفر، در ابتدای دوره رشد از فسفر داخلی به‌عنوان منبع فسفر استفاده کرده و پس از آن به دلیل اتمام فسفر سلولی و نبود فسفر در محیط کشت، توانایی رشد در روزهای پس از آن را از دست داده و وارد مرحله سکون شدند. به‌طور مشابه، Su و همکاران (۲۰۱۶)

کاهش میزان اسیدهای چرب چند اشباع (PUFA) شد. این در حالی است که Su و همکاران (۲۰۱۶) گزارش دادند که کمبود فسفر منجر به افزایش اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره شد. در خصوص اسیدهای چرب بایستی به این نکته اشاره نمود که روابط حاکم بر تولید و سوخت ساز اسیدهای چرب در درون سلول‌های یک موجود زنده بسیار پیچیده بوده و مستلزم مطالعات تکمیلی می‌باشد. به بیان دیگر، با توجه به مسیرهای متفاوت تبدیل و چرخه اسیدهای چرب در درون سلول‌های زنده معمولاً کاهش یا افزایش اسیدهای چرب خاص در درون سلول قابل پیش‌بینی نمی‌باشد (Sorgeloos *et al.*, 2001). به‌طور مثال، وقتی که موجود زنده تحت شرایط استرسی قرار می‌گیرد سلول زنده از مسیرهای ویژه دیگری جهت شکستن کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها، اسیدهای چرب مورد نیاز خود را تولید می‌کند و یا بالعکس. این مسیرهای فیزیولوژیک خود بر پیچیدگی آنابولیسم و متابولیسم اسیدهای چرب در ریزجلبک‌ها می‌افزاید.

### نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عملکرد رشد و فعالیت‌های فیزیولوژیکی ریز جلبک *Desmodemus sp.* تحت تأثیر سطوح مختلف فسفر قرار گرفت. بر این اساس، بالاترین نرخ رشد، تولید زی‌توده و میزان کلروفیل *a* در غلظت‌های بالای فسفر (۳۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر) به‌دست آمد. بیشترین میزان تولید چربی در تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد. این در حالی است که کشت ریزجلبک در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر منجر به افزایش قابل توجه در تولید کربوهیدرات و پروتئین در این تیمار شد. آنالیز اسیدهای چرب نشان داد بالاترین میزان SFA در P0 و بالاترین میزان PUFA در تیمار P40 (۳۰/۵۸ درصد از کل چربی) بدون اختلاف معنی‌دار با P30 ثبت شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این مطالعه می‌توان بیان نمود که کشت ریز جلبک *Desmodemus sp.* در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر یک گزینه مناسب جهت تولید سوخت زیستی می‌باشد. از طرف دیگر، استفاده از فسفر در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر (غلظت فسفر موجود در محیط کشت استاندارد BG11) به‌دلیل تولید بالای زی‌توده، پروتئین و میزان PUFA یک گزینه مناسب جهت استفاده در صنایع پزشکی، دارویی و خوراک آبزیان می‌باشد.

نیستند، نهایتاً میزان ذخیره چربی سلول افزایش پیدا می‌کند (Singh *et al.*, 2011). تحقیقات نشان داده است که در تعدادی از گونه‌ها پروتئین‌های داخل سلولی مانند روبیسکو می‌توانند به‌عنوان یک منبع جایگزین از پروتئین مورد استفاده قرار بگیرد (Ghosh *et al.*, 2020). در مطالعه حاضر میزان پروتئین در محیط‌های کشت با کمبود یا فقدان فسفر به‌شدت کاهش یافت. به‌طوری‌که مقدار پروتئین از ۱۶/۲۸ میلی‌گرم بر لیتر پروتئین به ۵/۲۴ میلی‌گرم بر لیتر در روز رسید. این در حالی است که بالاترین میزان پروتئین تولید شده در تیمارهای شامل ۳۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر فسفر ثبت شد. در راستای نتایج این مطالعه، محتوای پروتئین در ریزجلبک *C. vulgaris* از ۵۰ درصد به ۳۸/۱۶ درصد نسبت به گروه شاهد کاهش یافت. کاهش میزان پروتئین احتمالاً به محدودسازی آنزیم‌های دخیل در سنتز پروتئین در شرایط کمبود فسفر مربوط است (Mutlu *et al.*, 2011). از سوی دیگر، غلظت‌های محدود فسفر می‌تواند از طریق توزیع کربن به سمت مولکول‌های غنی از انرژی میزان چربی را افزایش دهد. در واقع استرس کمبود فسفر در محیط‌های کشت ریزجلبک سنتز کربوهیدرات را مسدود کرده و متابولیسم را به سمت تولید لیپید برای ذخیره انرژی هدایت کند (Anne-Marie *et al.*, 2020). تغییر در فاکتورهای محیطی و مواد مغذی ممکن است وضعیت اسیدهای چرب را نیز تغییر دهد (Qari and Oves, 2020). در مطالعه حاضر فقدان فسفر منجر به افزایش اسیدهای چرب (SFA) در ریزجلبک *Desmodemus sp.* شد این در حالی است که بالاترین میزان اسیدهای چرب تک غیر اشباع (MUFA) در تیمارهای با فسفر پایین ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر ثبت شد. همچنین بالاترین میزان اسیدهای چرب غیر اشباع (PUFA) در بالاترین غلظت فسفر (۴۰ میلی‌گرم بر لیتر) ثبت شد. هرچند واکنش اسیدهای چرب نسبت به غلظت-های مختلف مواد مغذی در گونه‌های مختلف، متفاوت است. برای مثال غلظت پایین فسفر در محیط کشت ریز جلبک *Selenastraceaeen Messastrum* منجر به افزایش فعالیت آنزیم دلتا ۶ غیراشباع کننده شد که نقش کلیدی در کاتالیز کردن C16 به C18 دارد (Anne-Marie *et al.*, 2020). همسو با نتایج این مطالعه، Qari و Oves (۲۰۲۰) نیز گزارش دادند که فقدان فسفر منجر به افزایش اسیدی‌های چرب اشباع و اسیدهای چرب تک غیر اشباع و



## منابع

- Anne-Marie K., Yee W., Loh S.H., Aziz A., Cha T.S. 2020.** Effects of excess and limited phosphate on biomass, lipid and fatty acid contents and the expression of four fatty acid desaturase genes in the tropical *Selenastracean Messastrum gracile* SE-MC4. *Applied biochemistry and biotechnology*, 190(4):1438-1456.
- 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(1-2), 248-254.
- Chandra R., Castillo-Zacarias C., Delgado P., Parra-Saldívar R. 2018.** A biorefinery approach for dairy wastewater treatment and product recovery towards establishing a biorefinery complexity index. *Journal of Cleaner Production* 183, 1184-1196.
- Ghosh A., Sarkar S., Gayen K., Bhowmick T. K. 2020.** Effects of carbon, nitrogen, and phosphorus supplements on growth and biochemical composition of *Podohedriella sp.* (MCC44) isolated from northeast India. *Environmental Progress & Sustainable Energy* 39 (4), 13378.
- Guldhe A., Singh B., Rawat I., Ramluckan K., Bux F. 2014.** Efficacy of drying and cell disruption techniques on lipid recovery from microalgae for biodiesel production. *Fuel* 128, 46-52.
- Kamalanathan M., Pierangelin M., Shearman L.A., Gleadow R., Beardall J. 2016.** Impacts of nitrogen and phosphorus starvation on the physiology of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Journal of Applied Phycology* 28(3), 1509-1520.
- Kim S.H., Liu K.H., Lee S.Y., Hong S.J., Cho B.K., Lee H., Choi H.K. 2013.** Effects of light intensity and nitrogen starvation on glycerolipid, glycerophospholipid, and carotenoid composition in *Dunaliella tertiolecta* culture. *PLoS One* 8(9), 72415.
- Kozlova T.A., Hardy B.P., Krishna P., Levin D.B. 2017.** Effect of phytohormones on growth and accumulation of pigments and fatty acids in the microalgae *Scenedesmus quadricauda*. *Algal Research* 27, 325-334.
- Lepage G., Roy C.C. 1984.** Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. *Journal of Lipid Research* 25(12), 1391-1396.
- Liang K., Zhang Q., Gu M., Cong W. 2013.** Effect of phosphorus on lipid accumulation in freshwater microalga *Chlorella sp.* *Journal of Applied Phycology* 25(1), 311-318.
- Mandotra S.K., Kumar P., Suseela M.R., Nayaka S., Ramteke P.W. 2016.** Evaluation of fatty acid profile and biodiesel properties of microalga *Scenedesmus abundans* under the influence of phosphorus, pH and light intensities. *Bioresource Technology* 201, 222-229.
- Markou G., Nerantzis E. 2013.** Microalgae for high-value compounds and biofuels production: a review with focus on cultivation under stress conditions. *Biotechnology Advances* 31(8), 1532-1542.
- Mutlu Y.B., Isçk O., Uslu L., Koç K., Durmaz Y. 2011.** The effects of nitrogen and phosphorus deficiencies and nitrite addition on the lipid content of *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae). *African Journal of Biotechnology* 10(3), 453-456.
- Qari H.A., Oves M. 2020.** Fatty acid synthesis by *Chlamydomonas reinhardtii* in phosphorus limitation. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 52(1), 27-38.
- Richmond A. 1986.** CRC Handbook of microalgal mass culture. CRC press, Boca Raton, PP: 520-528
- Singh P., Guldhe A., Kumari S., Rawa I., Bux F. 2015.** Investigation of combined effect of nitrogen, phosphorus and iron on lipid productivity of microalgae *Ankistrodesmus falcatus* KJ671624 using response surface methodology. *Biochemical Engineering Journal* 94, 22-29.
- Sorgeloos, P., Dhert, P., Candreva, P. 2001.** Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture*, 200(1-2), 147-159.
- Su G., Jiao K., Li Z., Guo X., Chang J., Ndikubwimana T., Lin L. 2016.** Phosphate limitation promotes unsaturated fatty acids and arachidonic acid biosynthesis by microalgae *Porphyridium purpureum*. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 39(7), 1129-1136.
- Torres-Tiji Y., Fields F.J., Mayfield S.P. 2020.** Microalgae as a future food source. *Biotechnology Advance* 41, 107536.
- 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.
- Yaakob M.A., Mohamed R.M.S.R., Al-Gheethi A., Ravishankar G.A., Ambati RR. 2021.** Influence of nitrogen and phosphorus on microalgal growth, biomass, lipid, and fatty acid production: an overview. *Cells* 10(2), 393.
- Zhao Y., Wang H.P., Han B., Yu X. 2019.** Coupling of abiotic stresses and phytohormones for the production of lipids and high-value by-products by microalgae: A review. *Bioresource Technology* 274, 549-556.

## Effect of phosphorus deficiency or starvation on the growth, body composition and fatty acid profile of freshwater microalgae, *Desmodesmus* sp.

Shaghyegh Norozi<sup>1</sup>, Seyed Pezhman Hosseini Shekarabi<sup>2\*</sup>, Houman Rajabi Islami<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

<sup>2</sup>National Research Center of Saltwater Aquatic Animals, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bafq, Iran.

\*Corresponding author: hosseini.pezhman@yahoo.com

Received: 21.Sep.2023

Accepted: 31.Oct.2023

### Abstract

In this study, the effect of lack and phosphorus deficiency (dipotassium phosphate;  $K_2HPO_4$ ) on the growth rate, biomass, biochemical content, and fatty acid profile of *Desmodesmus* sp. was investigated for 14 days. Accordingly, *Desmodesmus* microalgae were grown in culture media containing no phosphorus (P0), 10 (P10), 20 (P20), 30 (P30), and 40 mg/liter (P40). The P40 treatment was considered as a control group that had the amount of phosphorus required in the standard culture medium BG11. Based on the results, the highest cell density, specific growth rate, and biomass production were simultaneously recorded in the P20, P30, and P40 treatments on the 14<sup>th</sup> day of culture, which showed a significant difference from the other two groups ( $P<0.05$ ). In addition, the highest chlorophyll *a* was also recorded in these three groups, which showed a significant increase compared to the group without phosphorus ( $P<0.05$ ). The lowest chlorophyll *b* was recorded in P0 (1.62 mg/L) compared to other experimental groups ( $P<0.05$ ). The analysis of body composition showed the highest amount of lipid productivity (14.93 mg/liter per day) in P20 treatment, which has a significant difference with other experimental groups, except for P10 (13.17 mg/liter per day) ( $P<0.05$ ). The highest protein productivity rate was measured in P30 and P40 groups ( $P<0.05$ ) and the highest carbohydrate productivity rate (10.55 mg/L per day) was measured in P40 without significant difference with P30 (8.87 mg/l per day). The highest amount of saturated fatty acids was observed in P0 (47.66% of total fat) and the highest long-chain unsaturated fatty acids in P40 treatment (30.58% of total fat) without significant difference with P30 (29.33% of total fat). Based on the results, the concentration of 20 mg/liter of phosphorus is a suitable concentration for the cultivation of *Desmodesmus* sp. microalgae for the production of biofuel, while the concentration of 40 mg/liter of phosphorus is a suitable concentration for the cultivation of the microalgae for using in the food and aquafeed industries.

**Keywords:** Chlorophyll, Fatty acids, Lipid, Microalgae, Stress