Journal of Aquaculture Development
Vol. 19, No. 4, 2026, Pages: 27-38
DOI: 10.71901/jad-2025-4-852

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Effect of nitrogen to phosphorus ratio on growth rate and biomass production in microalgae *Chlorella vulgaris*

Rahmati, R.[1*], Safari, R. [1], Farabi, S.M.V.[1]

1- Agricultural Research, Education and Extension Organization, Iranian Fisheries Science Research Institute
Caspian Sea Ecology Research Center, Sari, Iran

Received: 6 June 2024 **Accepted: 13 July 2025**

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-12-08]

[DOI: 10.71901/jad-2025-4-852]

Abstract

Introduction: *Chlorella vulgaris* is so useful microalgae that plays a role in the food chain and is used in various fields of food, medicine, aquatic food and biofuel. Considering the importance of this microalgae, its cultivation is of great importance along with economic efficiency.

Materials and Methods: This study was conducted with the aim of increasing the specific growth rate , dry biomass weight of chlorella and total chlorophyll accumulation, in the laboratory environment and standard chlorella cultivation conditions in a completely randomized design with a variable ratio of nitrogen to phosphorus at 4 levels (N/P: 2,6,10 and 28) in 3 replications during 7 days.

Results and Discussion: The results obtained from the calculation of growth rate and performance indicies in this test indicated a significant difference between the treatments (p<0/05). The highest average of all three indicies was observed in the treatment with a ratio of 28. The target in cultivating a specific microalgae species is to determine the optimal N/P ratio in the culture medium, which is critically important. Increasing this ratio, as tested in studies like the present one, leads to a higher protein percentage and enhanced pigment production.

Conclusion: The results of this study showed that increasing the ratio of nitrogen to phosphorus by 28/1 compared to the lower ratios, in especially economic culture medium had positive effects on growth rate, biomass production and chlorophyll accumulation, which can be used in larger scales.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, nitrogen to phosphorus ratio, specific growth rate, dry biomass, Total chlorophyll

* *Corresponding Author: rahmati764@gmail.com*

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-12-08]

[DOI: 10.71901/jad-2025-4-852]

نشریه توسعه آبزی‌پروری، سال نوزدهم، شماره چهام، زمستان ۱۴۰۴، صفحه های ۳۸-۲۷
DOI: 10.71901/jad-2025-4-852

"مقاله پژوهشی"

تاثیر نسبت نیتروژن به فسفر بر نرخ رشد و تولید زیست توده در ریز جلبک *Chlorella vulgaris*

رحیمه رحمتی[1]*، رضا صفری[1]، سید محمد وحید فارابی[1]

۱- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری ، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۴/۲۳

چکیده

کلرلا ولگاریس (*Chlorella vulgaris*) از ریز جلبک های بسیار مفیدی است که در زنجیره غذایی نقش داشته و در زمینه‌های مختلف غذایی، دارویی، غذای آبزیان و سوخت زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به اهمیت این گونه جلبکی، کشت آن با توجه به صرفه اقتصادی از اهمیت بالایی برخوردار است. این مطالعه با هدف افزایش نرخ رشد ویژه ، وزن زیست توده خشک و تجمع کلروفیل کل، در محیط آزمایشگاه و شرایط استاندارد کشت کلرلا، در یک طرح کاملاً تصادفی با یک متغیر نسبت نیتروژن به فسفر در ۴ سطح (نسبت هایN/P : ۲، ۶، ۱۰ و ۲۸) در ۳ تکرار به مدت ۷ روز انجام گرفت. نتایج به دست آمده از محاسبه شاخص‌های نرخ و عملکرد رشد در این آزمون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بود ($p<0/05$) . بیشترین میانگین هر سه شاخص در تیمار با نسبت ۲۸ مشاهده شد. هدف مورد نظر در کشت یک گونه ریز جلبک، در تعیین نسبت مناسب نیتروژن به فسفر در محیط کشت مصرفی بسیار حائز اهمیت است، زیرا بالا بردن این نسبت البته به صورت آزموده شده نظیر مطالعه حاضر منجر به بالا رفتن درصد پروتئین و تولید رنگدانه می‌گردد. نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش نسبت نیتروژن به فسفر به میزان ۲۸/۱ در مقایسه با نسبت‌های کمتر، در محیط کشت‌های به ویژه اقتصادی، اثرات مثبتی بر نرخ رشد، تولید زیست توده و تجمع کلروفیل کل داشت که می‌تواند در مقیاس‌های بیشتر نیز مورد استفاده قرارگیرد.

کلمات کلیدی: *Chlorella vulgaris*، نسبت نیتروژن به فسفر، نرخ رشد ویژه، زیست توده خشک، کلروفیل کل

* عهده‌دار مکاتبات: rahmati764@gmail.com

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-12-08]

[DOI: 10.71901/jad-2025-4-852]

مقدمه

زیست توده ریز جلبک‌ها که تجمعی از ماکرومولکول‌های فعال زیستی مانند لیپید، پروتئین، کربوهیدرات و رنگدانه می‌باشند، توجه زیادی را از سوی محققان به خود جلب کرده‌اند. زیرا این ماکرومولکول‌ها هم در صنعت و هم در تحقیقات پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Leong *et al.*, 2018). ریزجلبک‌ها در حقیقت راکتورهای زیستی می‌باشند که با ورود مواد مغذی به محیط ، متابولیت های اولیه و ثانویه تولید می‌کنند (Markou and Nerantzis, 2013). بهترین شرایط مورد نیاز کشت در هر گونه جلبک از طریق تغییرات فیزیکی مانند دوره نور، شدت نور و شیمیایی نیتروژن، شوری و فسفات محیط کشت به صنعت معرفی می‌شود (Akbarnejad *et al.*, 2019). *Chlorella vulgaris* یک سویه ریز جلبک خوراکی بی خطر است که معمولاً به عنوان مکمل غذایی یا ماده خام در بسیاری از محصولات غذایی و همچنین جهت استخراج اسیدهای چرب غیر اشباع یا رنگدانه ها، مورد استفاده قرار می‌گیرد (Caporgno *et al.*, 2019)، تولید تجاری ریز جلبک ها اغلب پر هزینه است، زیرا به مقادیر قابل توجهی آب و مواد مغذی نیاز دارد. تولید مقرون به صرفه کلرلا هم از نظر تغذیه (انسان، دام، طیور و آبزیان) و هم تولید بیواتانول بسیار حائز اهمیت است (Dragone *et al.*, 2011). *کلرلا ولگاریس* جهت رشد بهینه به مواد مغذی خاصی از جمله نیتروژن ، فسفر و کربن احتیاج دارد. رشد خوب در کشت ریز جلبک‌ها به تعادل مناسب بین مواد غذایی بستگی دارد (Ganjian *et al.*, 2012). رشد متعادل و تامین مواد مغذی در نسبت های مناسب می‌تواند چالش برانگیز باشد، به علاوه افزایش یا کاهش بیش از حد این مواد می‌تواند بر رشد جلبک موثر باشد (Figueroa-Torres *et al.*, 2021). یکی از مهم ترین راه‌های افزایش تولید زیست توده جلبکی، تغییر نسبت ترکیبات محیط کشت است. از آنجایی که غلظت نیترات و فسفات از مهم ترین عوامل تعیین کننده سرعت رشد ریزجلبک ها می باشد، نسبت بین این دو ترکیب در محیط کشت بسیار مهم است (Chu *et al.*, 2013). تغییر محتوای نیترات و فسفات در محیط کشت منجر به تغییر نرخ نیتروژن به فسفر و تغییر خصوصیات رشد جلبک خواهد شد (Figler *et al.*, 2021). بسیاری از محققان نسبت بهینه نیتروژن به فسفر و میزان تولید زیست توده را در گونه‌های مختلف شناسایی کرده‌اند و نتایج آنها نشان داده است که این نسبت برای هر گونه متفاوت است. Liu و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که تغییر در ساختار جمعیت جلبک‌ها بیشتر از سایر مواد مغذی تحت تأثیر تغییر نسبت نیتروژن به فسفر است. نسبت نیتروژن به فسفر بیشتر از غلظت مواد مغذی ساختار جمعیت جلبک ها را تغییر می‌دهد. دستکاری این نسبت جهت تعیین غلظت و نسبت مناسب آن‌ها می‌تواند به کشت غالب جلبک و نیز تولید صنعتی آن گونه به صورت گسترده در محیط باز کمک کند (Stockenreiter *et al.*, 2016). همچنین می‌توان با استفاده از یک محیط کشت عمومی با حداقل ترکیبات ولی با نسبت بهینه نیتروژن به فسفر از رشد بیشتر جلبک به ویژه جلبک های خوش خوراک و کاربردی چون کلرلا بهره برد. این مطالعه با هدف افزایش نرخ رشد و تولید زیست توده کلرلا، تجمع کلروفیل و تعیین نسبت مناسب نیتروژن به فسفر در یک محیط کشت عمومی و اقتصادی با در نظر گرفتن نسبت‌های آزموده در

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-12-08]

[DOI: 10.71901/jad-2025-4-852]

مطالعات گذشته به صورت آزمایشگاهی بر ریزجلبک *Chlorella vulgaris* انجام شده است تا از نتایج آن در کشت نیمه صنعتی این جلبک نیز بهره گرفته شود.

مواد و روش‌ها

آماده سازی و کشت جلبک *Chlorella vulgaris*

استوک جلبک *کلرلا ولگاریس* از فایکولب پژوهشکده اکولوژی دریای خزر ساری تهیه شد. کشت جلبک در ابتدا با استفاده از محیط کشت BB (Stein, 1973) برای تهیه حجم اولیه مورد نیاز و به دنبال آن محیط کشت عمومی (TMRL) با حضور بی‌کربنات سدیم (۰/۱۵ گرم در لیتر) در ظروف ۲۵۰ میلی‌لیتری انجام شد. زیست توده اولیه جلبک ۰/۱ گرم در لیتر وزن خشک در تمامی ظروف تیمارها بود. شرایط کشت شامل دما: ۲۳ درجه سانتی‌گراد، pH=6/8، نور سفید با شدت نور ۳۰۰۰ لوکس و دوره نوری ۱۶:۸ تاریکی: روشنایی بود، تمامی ظروف نیز به طور مداوم هوادهی شد.

طرح آزمایش

این آزمایش در یک طرح کاملاً تصادفی با یک متغیر نسبت نیتروژن به فسفر در ۴ سطح (نسبت های N/P : ۲، ۶، ۱۰ و ۲۸) در ۳ تکرار به مدت ۷ روز انجام گرفت که نسبت ۱۰ با توجه به نوع محیط کشت مصرفی در تیمارها به عنوان تیمار شاهد در نظرگرفته شده‌است (Magyar *et al*., 2024; Molazadeh *et al*., 2019). وزن زیست توده خشک کلرلا در انتهای زمان آزمایش اندازه‌گیری شد، همچنین غلظت کلروفیل کل نیز در نمونه ها اندازه‌گیری شد.

اندازه گیری رشد سلولی

تراکم سلول جلبک با اندازه‌گیری جذب نوری (OD_{750}) با استفاده از اسپکتروفتومتر UV-Vis ارزیابی شد. نتیجه با استفاده از یک منحنی کالیبراسیون، که OD_{750} را به زیست توده مرتبط می‌کند، به غلظت زیست توده تبدیل شد که فرمول زیر برای این تبدیل به دست آمد و استفاده شد:

$$\text{Biomass } (g.l^{-1}) = 0.0703 \times OD_{750} + 0.0013$$

اندازه گیری ضریب رشد ویژه

ضریب رشد ویژه با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Stein, 1973):

$$SGR\ (d^{-1}) = (\ Ln\ B_n - Ln\ B_0)/\ (T_n - T_0)$$

B_n زیست توده جلبکی در روز n، B_0 زیست توده جلبکی در ابتدای کشت، T_n-T_0 مدت زمان کشت جلبک

اندازه‌گیری کلروفیل کل (کلروفیل a و b)

۵۰ میلی‌لیتر از نمونه با استفاده از فیلتر Blue Whatman (DP 150) فیلتر شد و نمونه توزین شد. ۵۰ میلی‌لیتر استون ۱۰۰٪ به ۱ گرم ماده برای استخراج رنگدانه اضافه شد. سپس نمونه به مدت ۱ دقیقه در دور ۱۰۰۰×g (نیروی گریز از مرکز نسبی) همگن شد و از فیلتر Blue Whatman عبور داده شد. آنگاه به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۲۵۰۰× g شد. جذب نوری در طول موج‌های ۶۶۲ و ۶۴۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت رنگدانه از فرمول های زیر استفاده شد:

$$C_a = 11.75\ A_{662} - 2.350 A_{645}$$

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-12-08]

[DOI: 10.71901/jad-2025-4-852]

$C_b = 18.61\ A_{645} - 3.960A_{662}$

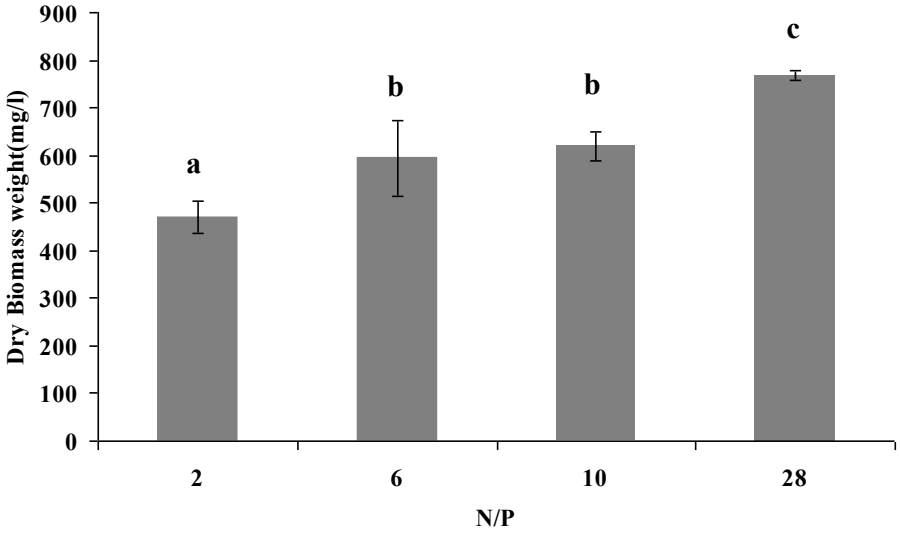
C_a مقدار کلروفیل a و C_b مقدار کلروفیل b در میکروگرم بر گرم وزن جلبک تازه است (Lichtenthaler and Wellbum, 1983).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS (Version 18) انجام شد. کلیه داده‌های نرمال به وسیله تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و تست تکمیلی Tukey برای مقایسه میانگین‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفتند. همچنین از آزمون همبستگی پیرسون (Pearson) نیز جهت بررسی رابطه نسبت نیتروژن به فسفر با هر یک از شاخص‌ها استفاده شد.

نتایج

نتایج به دست آمده در این مطالعه حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در همه شاخص‌ها بود ($p<0/05$). میانگین وزن زیست توده خشک (میلی‌گرم در لیتر)، غلظت کلروفیل کل (میلی‌گرم در لیتر) و نرخ رشد ویژه (در روز) به ترتیب در تیمار با نسبت ۲، ۳۵/۰۷ ± ۴۷۰، ۰/۱۰ ± ۳/۹۵ و ۰/۱۲ ± ۰/۲۵۷، در تیمار با نسبت ۶، ۵۹۴±۷۸/۵۲، ۵/۶۶±۰/۱۹ و ۰/۰۲۲± ۰/۲۹۶، در تیمار شاهد با نسبت ۱۰، ۶۲۰±۳۰/۱۹، ۶/۰۷ ۰±/۱۸ و ۰/۰۰۸ ± ۰/۳۰۴ و در تیمار با نسبت ۲۸، ۱۰/۶۹ ±۷۶۸ ، ۰/۰۶۰ ± ۶/۹۳ و ۰/۰۰۲± ۰/۳۴۰ بود. آزمون تکمیلی توکی در پارامتر کلروفیل کل هر ۴ تیمار را از هم مجزا ساخت ($p<0/05$) (شکل ۲)، اما در پارامترهای وزن زیست توده خشک و نرخ رشد ویژه اختلاف معنی‌داری میان تیمارهای با نسبت ۶ و ۱۰ نشان نداد ($p>0/05$) (اشکال ۱ و ۳). آزمون همبستگی پیرسون حاکی از ارتباط قوی و معنی‌دار نسبت نیتروژن به فسفر با هر یک از شاخص‌های وزن زیست توده خشک ($p<0/01$)، غلظت کلروفیل کل ($p<0/01$) و نرخ رشد ویژه ($p<0/01$) بود.



شکل ۱: میانگین وزن زیست توده خشک در تیمارهای مختلف طی دوره کشت

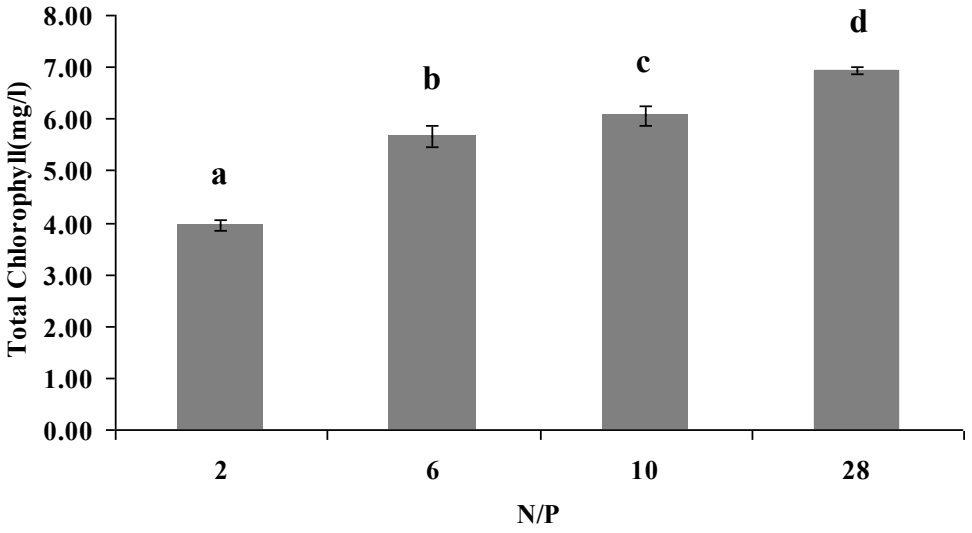
Figure 1:The average dry biomass weight in different treatments during the cultivation period

(حروف انگلیسی متفاوت حاکی از اختلاف معنی‌دار می‌باشد)

(Different English letters indicate a significant difference)

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-12-08]

[DOI: 10.71901/jad-2025-4-852]

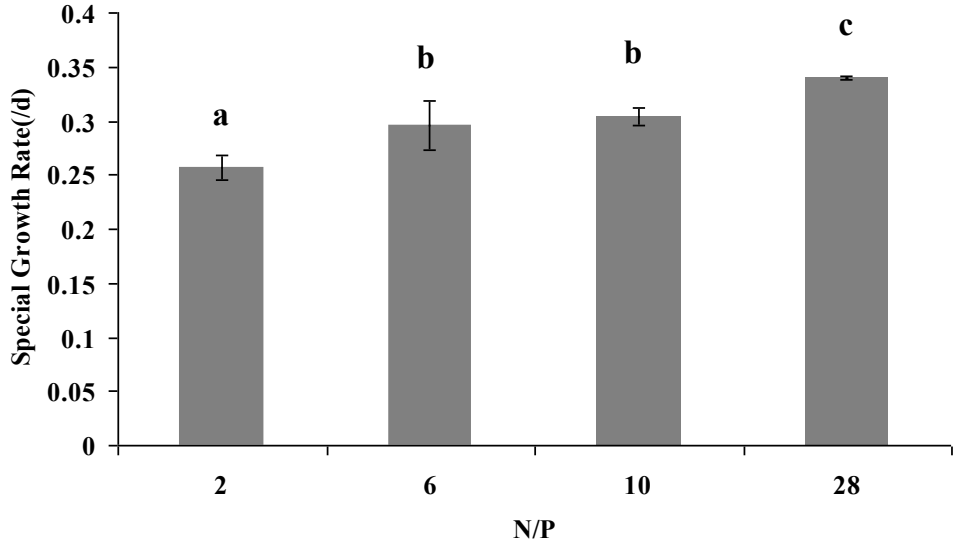


شکل ۲: میانگین غلظت کلروفیل در تیمارهای مختلف طی دوره کشت

Figure 2:The average chlorophyll concentration in different treatments during the cultivation period

(حروف انگلیسی متفاوت حاکی از اختلاف معنی‌دار می‌باشد)

(Different English letters indicate a significant difference)



شکل ۳: میانگین نرخ رشد ویژه در تیمارهای مختلف طی دوره کشت

Figure 3:The average specific growth rate in different treatments during the cultivation period

(حروف انگلیسی متفاوت حاکی از اختلاف معنی‌دار می‌باشد)

(Different English letters indicate a significant difference)

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-12-08]

[DOI: 10.71901/jad-2025-4-852]

بحث

مطالعات گذشته نشان داده اند که تغییر در غلظت نیترات در درجه اول و تغییر در فسفات، دوره نوری و سایر مواد مغذی به میزان کمتر منجر به تغییر در رشد و متابولیت های جلبکی می‌شود (Saha *et al*., 2013). نیتروژن و فسفر عناصر مغذی اصلی و محدود کننده برای رشد ریزجلبک‌ها هستند (Li *et al*., 2022)، زیرا این عناصر درصد بالایی از ترکیبات سلولی را تشکیل می‌دهند در حالی که سایر عناصر در سطوح پایین‌تری در این ترکیبات قرار می‌گیرند (Fried *et al*., 2003). مواد مغذی به ویژه ترکیبات نیتروژن و فسفر تأثیر زیادی بر رشد و تولید پروتئین و رنگدانه در جلبک‌ها دارند (Ribeiro *et al*., 2013). نیتروژن به عنوان یک عنصر حیاتی و جزئی از ماکرومولکول‌های بیولوژیکی به خصوص پروتئین‌ها، نقش ضروری در کشت ریز جلبک‌ها دارد. سنتز پروتئین، کربوهیدرات و چربی در ریز جلبک‌ها تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نیتروژن قرار می‌گیرد (Pancha *et al*., 2014). در مطالعه حاضر افزایش نسبت نیتروژن به فسفر اثر مثبتی بر پارامترهای رشد ریز جلبک *کلرلا ولگاریس* نشان داد، به گونه‌ای که تیمار با نسبت (N/P=28) بیشترین نرخ رشد (۰/۳۴)، بیشترین تولید زیست توده خشک (۷۶۸) و بیشترین غلظت کلروفیل کل (۶/۹۳) را داشت. تحقیقات نشان داده‌است که تغییر در غلظت نیتروژن می‌تواند بر نرخ رشد ریز جلبک‌ها تاثیر بگذارد. غلظت مناسب نیتروژن برای رشد بیشتر موجب تولید زیست توده بیشتر نیز خواهد شد. مقدار و کیفیت زیست توده هم بسیار مرتبط با نرخ رشد جلبکی است، لذا نرخ رشد بیشتر (۰/۳۴) مقدار زیست توده را در زمان کوتاه‌تری افزایش می‌دهد (Yaakob *et al*., 2021). کلروفیل که از ترکیبات فعال زیستی و مهم ریز جلبک‌ها است (Sarkar *et al*., 2020)، غنی از نیتروژن و ترکیبات در دسترس زیستی می‌باشد و به عنوان منبع درون سلولی نیتروژن، در زمان کاهش آن در محیط، برای رشد و تولید زیست توده بیشتر، مورد استفاده قرار می‌گیرد (Li *et al*., 2008). افزایش غلظت کلروفیل در نرخ بالاتر نیتروژن به فسفر مربوط به دسترسی بیشتر نیتروژن است، در واقع مقدار کلروفیل کل شاخصی برای نیتروژن در دسترس است. Huang و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که مقدار کلروفیل آ و ب در *کلرلا ولگاریس* همراه با افزایش نرخ ازت به فسفر بیشتر می‌شود که با نتایج به دست آمده در این مطالعه مطابقت دارد (۶/۹۳ در تیمار با نسبت ۲۸). در مطالعه Li و همکاران (۲۰۰۸) مشخص شد که غلظت های بالاتر نیتروژن در محیط کشت منجر به افزایش نرخ تقسیم سلولی و در نتیجه تولید زیست توده بالاتر شد، در مطالعه حاضر نیز افزایش غلظت نیتروژن تاثیر مثبتی بر تولید زیست توده بیشتر داشته است (۷۶۸ در تیمار با نسبت ۲۸). یافته ها نشان داده اند که سطح تلقیح ابتدایی در محیط کشت و نرخ ازت به فسفر، بیشترین تاثیر را بر رشد ریز جلبک در مقایسه با سایر پارامترها دارد (Singh *et al*., 2023). Yang و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که نسبت‌های خاص ازت به فسفر باعث افزایش نرخ رشد در *کلرلا ولگاریس* در مقایسه با نسبت‌های نامتعادل می‌شود. نسبت نامتعادل N/P منجر به کاهش تدریجی نرخ واقعی فتوسنتز در یک کشت طولانی خواهد شد (Qian *et al*., 2024). نرخ بهینه ازت به فسفر جهت کشت ریزجلبک *کلرلا ولگاریس*

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-12-08]

[DOI: 10.71901/jad-2025-4-852]

بسته به فاکتورهایی نظیر سویه، شرایط رشد و هدف مورد نظر کشت (تولید زیست توده یا تولید چربی) می‌تواند متفاوت باشد (Liu *et al*., 2011) که در مطالعه ما با توجه به هدف افزایش تولید زیست توده، افزایش این نسبت در محیط کشت مورد آزمون قرارگرفت. به طورکلی محدودیت ازت و فسفر یا نرخ ازت به فسفر، نسبت به هر یک از آن ها به تنهایی تاثیر بیشتری بر ترکیب بیوشیمیایی ریز جلبک ها دارد (Ross *et al*., 2018). همراه با ضرورت نیتروژن برای سنتز پروتئین و تشکیل کلروفیل، فسفر نیز در انتقال انرژی شرکت می‌کند. غلظت فسفات در محیط یکی از عواملی است که میزان رشد و تراکم سلولی ریزجلبک ها را تعیین می‌کند. فسفر به عنوان یک مولکول سیگنال دهنده عمل کرده و به انتقال انرژی، جذب نیترات و تنفس کمک می‌کند. همچنین محدودیت فسفر می‌تواند منجر به تغییر مورفولوژی سلولی و همچنین کاهش تولید زیست توده در *کلرلا ولگاریس* شود (Smith *et al*., 2010). در تحقیقات Chu و همکاران (۲۰۱۳)، تولید زیست توده در شرایط کمبود نیتروژن با مقدار کافی منبع فسفر مشابه محیط کشت شاهد بود که نشان دهنده اهمیت نسبت نیتروژن به فسفر در محیط کشت جلبک ها است. در مطالعه حاضر مشاهده شد که تیمار با نسبت ۶ و تیمار شاهد با نسبت ۱۰ تفاوت معنی‌داری در تولید زیست توده خشک و نرخ رشد ویژه نشان ندادند، Hoa و Nhe (۲۰۲۰) تاثیر ۴ نسبت متفاوت نیتروژن به فسفر را بر رشد و تراکم ۵۲ گونه جلبک آزمایش نمودند و دریافتند که تراکم جلبکی در نسبت ۶:۱ بیشتر از سایر نسبت ها بود. ورود، تبدیل و حذف مواد مغذی در چرخه های ازت و فسفر جهت حفظ تعادل اکولوژیک موثر است. همان گونه که محدودیت و کاهش غلظت نیتروژن و فسفر می تواند بر تولید زیست توده و نرخ رشد موثر باشد، غلظت بیش از حد نیتروژن نیز منجر به رشد محدود به دلیل عدم تعادل مواد مغذی و اثر سمی یون آمونیوم، کاهش محتوای کلروفیل و افزایش تجمع کربوهیدرات می شود. همچنین افزایش غلظت فسفر هم بیش از حد آستانه، فعالیت فتوسنتزی را محدود می‌کند. برهم کنش غلظت نیتروژن و فسفر در محلول‌های مواد مغذی پیچیده و تاثیرگذار است (Bouwman *et al*., 2009). نتایج به دست آمده از پژوهش های پیشین و مطالعه حاضر نشان داده است که هدف مورد نظر در کشت یک گونه ریز جلبک،که در این مطالعه *کلرلا ولگاریس* انتخاب شده است، در تعیین نسبت مناسب نیتروژن به فسفر در محیط کشت مصرفی بسیار حائز اهمیت است، زیرا بالا بردن این نسبت البته به صورت متعادل و آزموده شده نظیر مطالعه حاضر منجر به بالا رفتن درصد پروتئین و تولید رنگدانه می‌گردد که افزایش زیست توده و غلظت بیشتر کلروفیل در تیمار با نسبت بیشتر گواه آن است، اما طبق برخی مطالعات گذشته نظیر (Saha *et al*., 2013; Zhu *et al*., 2014) ، نسبت پایین تر نیتروژن به فسفر بر تولید چربی و اسیدهای چرب غیر اشباع موثر خواهد بود، لذا از آنجائیکه این مطالعه به هدف تولید زیست توده بیشتر و استفاده از محیط کشت ارزان تر در ابعاد نیمه صنعتی توجه داشته، نتایج معنی‌داری از افزایش نسبت نیتروژن به فسفر به میزان ۲۸/۱ به دست آورده است.

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داده است که می‌توان با استفاده از یک محیط کشت عمومی با

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-12-08]

[DOI: 10.71901/jad-2025-4-852]

حداقل ترکیبات ولی نسبت نیتروژن به فسفر ۲۸/۱، زیست توده بیشتری از ریز جلبک *کلرلا ولگاریس* با صرف زمان و انرژی کمتر به دست آورد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از حمایت مالی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی و موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور که امکان انجام پژوهش را فراهم آوردند، قدردانی می‌کنند. نویسندگان همچنین از همکاری آقای مجید ابراهیم زاده (دستیار فنی آزمایشگاه) نیز تشکر می‌نمایند.

منابع

1. Akbarnejad, M., Rajabi Eslami, H., Javaheri Baboli, M., Shamsaei Mehrjan, M. and Filizadeh, Y., 2019. Effects of nitrogen deficiency and light intensity on fatty acid composition of Chaetoceros calcitrans. *Journal of Aquaculture Development*, *13* (4), pp.1-12. [In Persian]
2. Bouwman, A.F., Beusen, A.H.W. and Billen, G., 2009. Human alteration of the global nitrogen and phosphorus soil balances for the period 1970-2050. *Global Biogeochemical Cycles*, *23*(4), GB0A04, DOI: 10.1029/2009GB003576
3. Caporgno, M.P., Haberkorn, I., Bocker, L. and Mathys, A., 2019. Cultivation of *Chlorella protothecoides* under different growth modes and its utilization in oil/water emulsion. *Bioresource Technology*, *288,* pp.121476. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.121476
4. Chu, F.F., Chu, P.N., Cai, P.J., Li, W.W., Lam, P.K. and Zeng, R.J., 2013. Phosphorus plays an important role in enhance biodiesel productivity of *Chlorella vulgaris* under nitrogen deficiency. *Bioresource Technoogy*, *134*, pp.341-346. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.01.131
5. Dragone, G., Femandes, B., Abreu, A., Vicente, A. and Teixeira, J., 2011. Nutrient limitation as a strategy for increasing starch accumulation in microalgae. *Applied Energy*, *88*(10), pp.3331-3335. DOI: 10.1016/j.apenergy.2011.03.012
6. Figler, A., Marton, K., B-Beres, V. and Bacsi, I., 2021. Effects of nutrient content and nitrogen to phosphorous ratio on the growth, nutrient removal and desalination properties of the green algae Coelastrum morus on a laboratory scale. *Energies*, *14*(8), pp.2112. DOI:10.3390/en14082112
7. Figueroa-Torres, G.M., Pittman, J.K. and Theodoropoulos, C., 2021. Optimization of microalgae cultivation via nutrient-enhanced strategies: the biorefinery paradigm. *Biotechnology for Biofuels*, *14*, pp.1-16, DOI: 10.1186/s13068-021-01912-2
8. Fried, S., Mackie, B. and Nothwehr, E. 2003. Nitrate and phosphate levels positively affect the growth of algae species found in Perry Pond. *Tillers*, *4*, pp.21-24.
9. Ganjian Khenari, A., Shakouri, M., Ghasemnejad, M., Ganjian Khenari, F. and Farabi, S.M.V., 2012. Investigating the effect of sodium bicarbonate on the growth of chlorella microalgae in TMRL culture medium. *Journal of Aquaculture Development*, *6*(2), pp.57-65. [In Persian]
10. Hoa, N.V. and Nhi, D.T., 2020. Determination of an appropriate ratio of N/P for optimization of algal development in fertilizer ponds. *Aquaculture*, *Aquarium, Conservation and Legislation*, *13*, pp.3727-3742.
11. Huang, Y., Lou, C., Luo, L. and Wang, X.C., 2021. Insight into nitrogen and phosphorus coupling effects on mixotrophic Chlorella vulgaris growth under stably controlled nutrient conditions. *Science of the Total Environment*, *752*(3), pp.141-147. DOI:10.1016/j.scitotenv.2020.141747
12. Leong, W.H., Lim, J.W., Lam, M.K.,

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-12-08]

[DOI: 10.71901/jad-2025-4-852]

Uemura, Y., Ho, C.D. and Ho, Y.C., 2018. Co-cultivation of activated sludge and microalgae for the simultaneous enhancements of nitrogen rich wastewater bioremediation and lipid production. *Journal of Taiwan Institute of Chemical Engineers Citation Style*, *87*, pp.216-224. DOI: 10.1016/j.jtice.2018.03.038

13. 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 algae *Neochloris oleoabundans*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *81*(4), pp.629-636. DOI:10.1007/s00253-008-1681-1
14. Li, M., Li, Y., Zhang, Y., Xu, Q., Iqbal, M.S., Xi, Y. and Xiang, X., 2022. The significance of phosphorus in algae growth and the subsequent ecological response of consumers. *Freshwater Biology*, *37*(1), pp.57-69. DOI: 10.1080/02705060.2021.2014365
15. Lichtenthaler, H.K. and Wellburn, A.R., 1983. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transaction*, *603*, pp.591-592. DOI: 10.1042/bst0110591
16. Liu, Y., Li, L. and Jia, R., 2011. The optimum resource ratio (N:P) for the growth of Microcystis aeruginosa with abundant nutrients. *Procedia Environmental Sciences*, *10*, pp.2134-2140. DOI: 10.1016/j.proenv.2011.09.334
17. Liu. C., Shi, X., Fan, F., Wu, F. and Lei, J., 2019. N:P ratio influences the competition of Microcystis with its picophytoplankton counterparts, Mychonastes and Synechococcus, under nutrient enrichment conditionsm. *Journal of Freshwater Ecology*, *34*(1), pp.445-454. DOI: 10.1080/02705060.2019.1622604
18. Markou, G. and Nerantzis, E., 2013. Microalgae for high value compounds and biofuels production: a review with focus on cultivation under stress conditions. *Biotechnology Advancesm*, *31*(8), pp.1532-1542. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2013.07.011
19. Magyar, T., Nemeth, B., Tamas, J. and Tamas Nagy, P., 2024. Improvement of N and P ratio for enhanced biomass productivity and sustainable cultivation of *Chlorella vulgaris* microalgae. *Heliyon*, *10*(1), pp.e23238. DOI:10.1016/j.heliyon.2023.e23238
20. Molazadeh, M., Danesh, S.H., Ahmadzadeh, H. and Pourianfar, H.R., 2019. Influenc of CO2 concentration and N:P ratio on *Chlorella vulgaris*-assisted nutrient bioremediation, CO2 biofixation and biomass production in a lagoon treatment plant. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical engineers*, *96*, pp.114-120. DOI: 10.1016/j.jtice.2019.01.005
21. Pancha, I., Chokshi, K., George, B., Ghosh, T., Paliwal, C., Maurya, R. and Mishra, S., 2014. Nitrogen stress triggered biochemical and morphological changes in the microalgae Scenedesmus sp. CCNM1077. *Bioresource Technology*, *156*, pp.146-154. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.01.025
22. Qian, W., Yang, Y., Chou, S., Ge, S., Li, P., Wang, X., Zhuang, L-L. and Zhang, J., 2024. Effects of N/P ratio on attached microalgae growth and the differentiated metabolism along the depth of biofilm. *Environmental Research*, *240*(2), pp.117428. DOI: 10.1016/j.envres.2023.117428
23. Ribeiro, A., Tesima, K., Souza, J. and Yokoya, N., 2013. Effects of nitrogen and phosphorus availabilities on growth, pigment, and protein contents in Hypnea cervicornis J. Agardh (Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, *25*(4), pp.1151-1157. DOI:10.1007/s10811-012-9938-6
24. Ross, M.E., Davis, K., McColl, R., Stanley, M.S., Day, J.G. and Semiao, A.J., 2018. Nitrogen uptake by the macro-algae Cladophora coelothrix and Cladophora parriaudii: influence on growth, nitrogen preference and biochemical composition. *Algal*

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-12-08]

[DOI: 10.71901/jad-2025-4-852]

Research, *30*, pp.1-10. DOI:10.1016/j.algal.2017.12.005

25. Saha, S.K., McHugh, E., Hayes, J., Moane, S., Walsh, D. and Murray, P., 2013. Effect of various stree-regulatory factors on biomass and lipid production in microalgae Haematococcus pluvialis. *Bioresource Technology*, *128*, pp.118-124. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.10.049
26. Sarkar, S., Manna, M.S., Bhowmick, T.K. and Gaven, K., 2020. Extraction of chlorophylls and carotenoids from dry and wet biomass of isolated Chlorella thermophila: Optimization of process parameters and modeling by artificial neural network. *Process Biochemistry*, *96*(1), pp.58-72. DOI: 10.1016/j.procbio.2020.05.025
27. Singh, V., Verma, M., Chivate, M.S. and Mishra, V., 2023. Machine learning-based optimization of microalgae biomass production by using wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *11*(6), pp.11387. DOI: 10.1016/j.jece.2023.111387
28. Smith, V.H., Sturm, B.S., deNoyelles, F. and Billings, S.A., 2010. The ecology of algal biodiesel production. *Trends in Ecology and Evolution*, *25*(5), pp.428-437.DOI:10.1016/j.tree.2009.11.007
29. Stein, J.R., 1973. Handbook of phycological methods: culture methods and growth measurements. In: Handbook of phycological methods, Cambridge University Press, Cambridge, 448 P.
30. Stockenreiter, M., Haupt, F., Seppala, J., Tamminen, T. and Spilling, K., 2016. Nutrient uptake and lipid yield in diverse microalgal communities grown in wastewater. *Algal Research*, *15*, pp.77-82. DOI:10.1016/j.algal.2016.02.013
31. Yaakob, M.A., Mohamed, R.M.S.R., Al-Gheethi, A., Aswathnarayana Gokare, R. and Ambati, R.R., 2021. Influence of nitrogen and phosphorus on microalgal growth, biomass, lipid and fatty acid production: an overview. *Cells*, *10*(2), pp.393. DOI:10.3390/cells10020393
32. Yang, M., Zhang g, J., Xu, X., Hu, Q., Sommerfeld, M. and Chen, Y., 2011. Life- cycle analysis on biodiesel production from microalgae: Water footprint and nutrient balance. *Bioresource Technology*, *102*(1), pp.159-165. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.07.017.
33. Zhu, S., Huang, W., Xu, J., Wang, Z. and Xu, J., 2014. Metabolic changes of starch and lipid triggered by nitrogen starvation in the microalgae Chlorella zofingiensis. *Bioresource Technology*, *152*, pp.292-298. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.10.092

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-12-08]

[DOI: 10.71901/jad-2025-4-852]