استفاده از پساب ثانویه شهری به‌عنوان محیط کشت جایگزین برای پرورش ریزجلبک *Tetraselmis suecica*

علیرضا افشاری[1*]، مازیار یحیوی[2]، میرمسعود سجادی[3]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس، بندرعباس، پست الکترونیکی: ali_afshari32@yahoo.com

۲- استادیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس، بندرعباس، پست الکترونیکی: maziar_yahyavi@yahoo.com

۳- استادیار گروه زیست دریا، دانشکده علوم پایه، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، پست الکترونیکی: mmsajjadi@hotmail.com

** نویسنده مسوول*

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۲۸ *تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۲۷*

© نشریه علمی ـ پژوهشی اقیانوس‌شناسی ۱۳۹۳، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس‌شناسی است.

چکیده

در این تحقیق قابلیت کشت و پرورش ریزجلبک *Tetraselmis suecica* در پساب ثانویه شهری و تعیین بهترین غلظت پساب جهت رشد و نیز ارزیابی اثرات پالایشی این ریزجلبک از طریق بررسی میزان حذف ازت و فسفر پساب، مورد تحقیق قرار گرفت. ریزجلبک *Tetraselmis suecica* در شرایط ثابت آزمایشگاهی با تراکم‌های یکسان (۱×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر) در تیمارهای ۲۵۰ میلی‌لیتری محتوی حجم‌های متفاوت پساب شهری (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد) جهت مطالعه میزان رشد به‌مدت ۲۱ روز، و نیز با سه تراکم اولیه (۵×۱۰^{۵} سلول در میلی‌لیتر به‌عنوان تراکم پایین، ۱×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر به‌عنوان تراکم متوسط و ۲×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر به‌عنوان تراکم بالا) در ۲۵۰ میلی‌لیتر پساب به‌منظور بررسی اثرات پالایشی آن به‌مدت ۱۴ روز پرورش داده شد. اگرچه تعداد سلول‌ها در همه تیمارها افزایش یافت، اما نرخ رشد در تیمارهای ۴۰ و ۶۰ درصد بیشتر و با نرخ رشد در محیط شاهد (محیط کشت F/2) قابل قیاس بود ($P<۰/۰۵$). همچنین بررسی اثرات پالایشی این ریز جلبک، میزان حذفی برابر با ۸۰٪ درصد نیترات و ۷۱/۸٪ درصد فسفات و ۵۶/۳٪ نیتریت را از پساب تحت آزمایش نشان داد. لذا می‌توان جهت پرورش ریزجلبک تتراسلمیس سواسیکا، از پساب ثانویه شهری به‌عنوان محیط کشت جایگزین استفاده نمود. همچنین توانایی این ریزجلبک در کاهش ازت و فسفر پساب امکان کاربرد آن را جهت تصفیه پساب‌ها نشان می‌دهد، به‌طوری که تراکم‌های بالاتر میزان حذف ازت و فسفر بیشتر و نتایج رضایت‌بخش‌تری را حاصل نمودند.

کلمات کلیدی: *ریزجلبک تتراسلمیس سواسیکا (Tetraselmis suecica)، تراکم سلولی، حذف نیتروژن و فسفر، پساب ثانویه شهری.*

۱. مقدمه

پلانکتون تولیدکنندگان مهم مواد آلی و پایه‌ی زنجیره‌های غذایی در محیط‌های آبی هستند. این توانایی به‌علت داشتن کلروفیل است. ریزجلبک‌ها موجودات فتواتوتروف محسوب می‌شوند و از طریق فتوسنتز غذا و انرژی تولید می‌کنند (Pulz and Gross, 2004). ریزجلبک‌ها نظر به مزیت‌هایی چون کیفیت بالای تغذیه‌ای، اندازه مناسب برای اندازه دهان آبزیان در مراحل لاروی، رفتارهای حرکتی مطلوب، قابلیت غنی‌سازی و انتقال مواد مغذی، به‌عنوان منبع غذایی در پرورش تجاری گونه‌های مختلف جانوران آبزی ضروری و غیرقابل صرف نظر کردن هستند. همچنین آنها در تغذیه و تولید انبوه زئوپلانکتون‌هایی چون روتیفر، کوپه پود و آرتمیا که مورد تغذیه مراحل لاروی بسیاری از آبزیان هستند نیز کاربرد دارند. همچنین باید توجه نمود که دوره لاروی به‌علت عدم توسعه کامل فیزیولوژیکی بدن، دوره حساسی است و تغذیه لاروهای آبزیان پرورشی، به‌خصوص در مرحله‌ی حساس ابتدایی یکی از تنگناهای اصلی محدود کننده پرورش تجاری است. غذاهای فرموله شده (پلت غذایی) عموماً ارائه دهنده تمامی نیازهای تغذیه‌ای لاروها نبوده و منجر به رشد و بقای ضعیف در لاروها می‌شوند (Sorgeloos and Lavens, 1996). از سوی دیگر افزایش جمعیت و مصرف روزافزون منابع، منجر به تولید ضایعات و پساب بیشتری توسط بشر گردیده است. پساب‌ها به‌دلیل مواد تشکیل‌دهنده‌ی آن‌ها (مدفوع انسانی و حیوانی، شوینده‌ها، ضایعات کشتارگاهی و ...) دارای مقادیر بالایی از مواد ریزمغذی همچون نیتروژن و فسفر هستند که رهاسازی آنها در آب‌های طبیعی می‌تواند منجر به یوتروف شدن آب‌ها گردد. از این رو است که تصفیه پساب‌ها به طریقی که خود منجر به معضل جدیدی نشود، سالهاست که مورد تحقیق و پژوهش قرار دارد (Martinez et al., 2000). نیتروژن و فسفر از مواد مغذی پرنیاز و از ارکان اصلی مورد نیاز ریزجلبک‌ها برای رشد و شکوفایی هستند. مطالعات گذشته بر روی سایر ریزجلبک‌ها این قابلیت پساب‌ها و نیز توانایی ریزجلبک‌ها را در پالایش و درنتیجه رشد در این محیط‌ها اثبات نموده است. تتراسلمیس سواسیکا *(T. suecica)* از جمله جلبک سبز (Prasinophyaceae) متحرک است که در مراکز تکثیر میگو، پرورش دوکفه‌ای‌ها و ماهیان دریایی کاربرد دارد. بدیهی است استفاده از محیط کشت ارزان و ساده پساب ثانویه به‌جای محیط‌های کشت معمول آن همچون محیط‌های گران قیمتی مانند F/2 می‌تواند نقش موثری در کاهش قیمت تولید داشته باشد. هدف از آزمایشات انجام شده در این تحقیق، بررسی قابلیت رشد ریزجلبک تتراسلمیس سواسیکا *(T. suecica)* در پساب ثانویه شهری و تعیین بهترین غلظت پساب جهت رشد آن بوده است همچنین قابلیت پالایش این ریزجلبک نیز از طریق بررسی میزان حذف ازت و فسفر پساب طی دوره پرورش مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

پساب ثانویه شهری مورد استفاده در این تحقیق از تصفیه خانه فاضلاب بندرعباس تهیه گردید. این پساب پس از مرحله ته نشینی اولیه به‌عنوان محیط کشت جایگزین جمع‌آوری و سپس برای از بین بردن هرگونه آلودگی میکروبی و باکتریایی و همچنین اطمینان از عدم وجود هر گونه میکروارگانیسم، در داخل اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه و در فشار ۱/۵ اتمسفر قرار داده شد تا استریل گردد (Suva, 1999). سپس پساب استریل شده از طریق مجاورت با هوای محیط خنک گردید. به‌منظور تهیه تیمارهای مورد نظر از آب دریا استفاده شد. بدین منظور آب دریا ابتدا فیلتر (با فیلترهای ۱ و ۰/۵ میکرون و اشعه ماورای بنفش) و سپس استریل گردید. شوری آن نیز با افزودن مقدار مشخص آب مقطر به میزان مورد نظر کاهش یافت.

سری اول آزمایشات: استوک استریل ریزجلبک تتراسلمیس سواسیکا *(T. suecica)* از مرکز تکثیر میگو و ماهیان دریایی کلاهی وابسته به اداره کل شیلات هرمزگان تهیه گردید. سپس در ارلن ۷۰۰ میلی‌لیتری محتوی محیط کشت F/2 پرورش داده شد و پس از آنکه به حداکثر رشد خود رسید سلول‌های ریز جلبکی با کمک لام هماسیتومتر و میکروسکوپ دو چشمی المپیوس شمارش گردید و پس از سه بار شمارش، میزان ۱×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر به‌منظور بررسی میزان رشد ریزجلبک به هر کدام از ارلن‌های حاوی ۲۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت که حاوی ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰٪ پساب ثانویه شهری بود، تلقیح گردید. شایان ذکر است که از محیط کشت F/2 که با همین میزان سلول ریزجلبکی تلقیح شده بود به‌عنوان شاهد استفاده شد تا میزان رشد این ریزجلبک تحت شرایط مشابه شوری، شدت نور و دما به‌مدت ۲۱ روز بررسی شود (Tam and Wong, 1996).

سری دوم آزمایشات: در این مرحله از آزمایشات شمارش ریزجلبک‌ها و آماده‌سازی پساب به روش مورد اشاره انجام شد و سه تراکم متفاوت فیتوپلانکتونی شامل ۵×۱۰^{۵} سلول در میلی‌لیتر به‌عنوان تراکم پایین، ۱×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر به‌عنوان تراکم متوسط و ۲×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر به‌عنوان تراکم بالا به ارلن‌های محتوی ۲۵۰ میلی‌لیتر پساب ثانویه شهری به‌منظور بررسی قابلیت حذف ازت و فسفر توسط ریزجلبک تتراسلمیس سواسیکا (*T. suecica*) تلقیح و به مدت ۱۴ روز پرورش داده شد. از پساب ثانویه شهری استریل شده و بدون فیتوپلانکتون نیز به‌عنوان شاهد استفاده شد. تمام تیمارها دارای سه تکرار بودند (Lau et al., 1994).

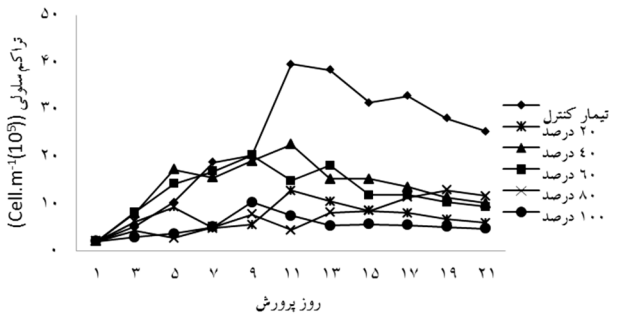
همان‌طور که اشاره شد تمامی تیمارها و تکرارها تحت شرایط یکسان دمایی (۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد) و روشنایی ۵۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس توسط لامپ‌های فلورسنت سفید با فاصله ۱۵-۱۰ سانتی‌متری به‌صورت روشنایی دائمی در یک دوره ۲۱ روزه برای بررسی میزان رشد و دوره ۱۴ روزه برای بررسی میزان حذف ازت و فسفر کشت داده شدند (Koening and Demacedo, 2004). جهت تامین نیازهای گازی و جلوگیری از رسوب‌گذاری و به‌منظور شناوری فیتوپلانکتون‌ها و همچنین ایجاد سطح تماس بیشتر با پساب و دریافت مطلوب‌تر نور، هوادهی در تمام طول دوره برای همه تیمارها به‌طور یکسان و مداوم برقرار بود.

شمارش به‌صورت یک روز در میان با برداشت نمونه‌هایی به میزان برابر از تمامی تیمارها و تکرارها با استفاده از لام هماسیتومتر و میکروسکوپ انجام شد. جهت محاسبه‌ی میزان حذف ازت و فسفر نیز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در فواصل زمانی سه روزه از هر تیمار ۴۵ میلی‌لیتر نمونه جمع‌آوری گردید. سپس نمونه‌ها جهت جداسازی و حذف اثر و اختلال رنگ سبز فیتوپلانکتون‌ها بر روی عملکرد دستگاه اسپکتروفتومتر به میزان ۳۰۰۰ دور در دقیقه و مدت زمان ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند (Lau et al., 1994). غلظت فسفات و شکل‌هایی از نیتروژن مانند نیتروژن نیتریتی و نیتروژن نیتراتی توسط روش‌های استاندارد اندازه‌گیری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ماورای بنفش تعیین گردید (APHA, 1995). اندازه‌گیری pH پساب نیز با استفاده از یک دستگاه pH متر پرتابل اندازه‌گیری و ثبت می‌شد. همه نمونه‌گیری‌ها در دوره نوری و زمان مشابهی از روز صورت گرفتند.

این تحقیق شامل ۱۰ تیمار که همگی دارای سه تکرار بودند و به‌صورت طرح کاملا تصادفی انجام شد. کلیه برداشت‌ها از تیمارها به‌صورت تصادفی انجام و از آزمون واریانس یک‌طرفه (One way-ANOVA) و تست دانکن در سطح ۹۵ درصد و نرم افزار SPSS و Exel جهت تجزیه و تحلیل آماری و رسم نمودارها استفاده گردید.

۳. نتایج

رشد: بیشترین میزان رشد در تیمار شاهد و در روز یازدهم پرورش به میزان $۳۹/۵\times۱۰^{۵}$ سلول در میلی‌لیتر مشاهده گردید. پس از آن بیشترین میزان سلول در تیمار ۴۰٪ و ۶۰٪، به‌ترتیب در روزهای یازدهم و نهم پرورش و به میزان $۲۲/۵\times۱۰^{۵}$ و $۲۰/۲\times۱۰^{۵}$ مشاهده شد ($P<۰/۰۵$) (نمودار ۱ و جدول ۱).

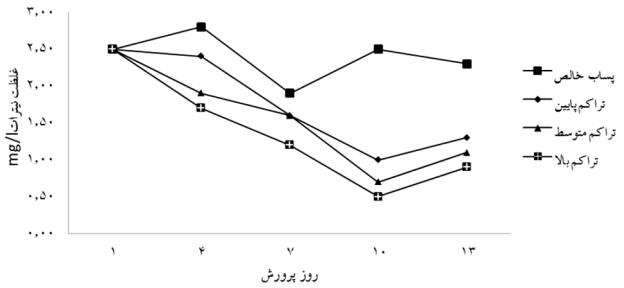


نمودار ۱: مقایسه رشد سلولی ریزجلبک تتراسلمیس سواسیکا (*T. suecica*) در تیمارهای مورد بررسی در طی دوره ۲۱ روزه پرورش (۳ =n)

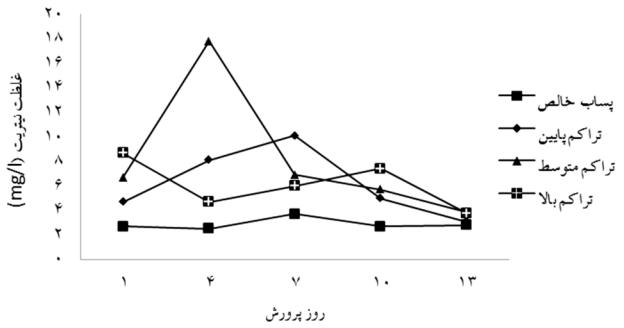
نیترات: میزان نیترات در تمامی تیمارها به استثنای تیمار شاهد، از روز اول تا روز دهم پرورش کاهش یافت. سپس از روز ده تا سیزده پرورش افزایش میزان نیترات مشاهده گردید. کمترین میزان نیترات پساب نیز در روز دهم و به میزان ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر در تیمار با تراکم بالا مشاهده گردید که برابر با ۸۰٪ حذف بود. پس از آن کمترین مقدار نیترات در تراکم متوسط به میزان ۰/۷ میلی‌گرم در لیتر (برابر با ۷۲٪ حذف) و تراکم پایین به میزان ۱ میلی‌گرم در لیتر (برابر با ۶۰٪ حذف در روز دهم) مشاهده شد. میزان نیترات در تیمار شاهد تقریبا ثابت بود ($P<۰/۰۵$) (نمودار ۲).

نیتریت: میزان نیتریت در تمامی تیمارها، کمترین مقدار را در روز سیزده پرورش نشان داد، به عبارتی بیشترین حذف برای هر کدام از تیمارها در انتهای پرورش مشاهده گردید. کمترین میزان نیتریت مشاهده شده در بین همه تیمارها در روز سیزدهم پرورش

و در تراکم بالا و به میزان ۳/۸ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد که برابر با ۵۶/۳٪ حذف بود. میزان نیتریت در تیمار شاهد تقریبا ثابت بود (P<۰/۰۵) (نمودار ۳).

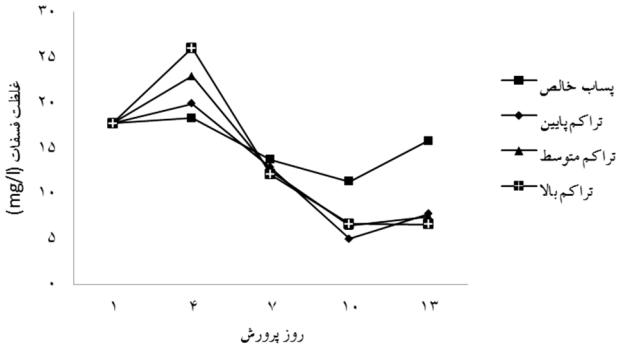


نمودار ۲: مقایسه میزان حذف غلظت نیترات در تیمارهای مورد بررسی طی دوره ۱۴ روزه (n= ۳)



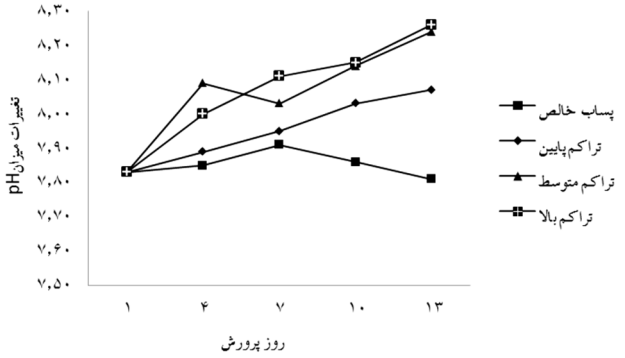
نمودار ۳: مقایسه میزان حذف غلظت نیتریت در تیمارهای مورد بررسی طی دوره ۱۴ روزه (n=۳)

فسفات: میزان فسفات در همه تیمارها طی روزهای اول تا چهارم پرورش با افزایشی ناگهانی همراه بود. سپس میزان آن در همه تیمارها تا روز دهم کاهش یافت. اگرچه پس از آن میزان فسفات در تراکم‌های پایین و متوسط افزایش پیدا نمود، اما کاهش در تیمار با تراکم بالا تا روز آخر پرورش ادامه داشت. کمترین میزان فسفات در تیمار با تراکم پایین و در روز دهم پرورش و به میزان ۵/۰۱ میلی‌گرم در لیتر که برابر با ۷۱/۸٪ حذف بود مشاهده گردید. پس از آن بیشترین حذف در تراکم متوسط و تراکم بالا به میزان ۶۳/۵٪ و ۶۲/۴٪ مشاهده شد. میزان فسفات در تیمار شاهد نیز تغییراتی مشابه سایر تیمارها را نشان داد؛ هرچند این تغییرات با شدت کمتری همراه بود. پایین‌ترین میزان فسفات در تیمار شاهد در روز دهم و به میزان ۱۱/۳۳ میلی‌گرم در لیتر که برابر با ۳۶/۲٪ حذف بود مشاهده شد (P<۰/۰۵) (نمودار ۴).



نمودار ۴: مقایسه میزان حذف غلظت فسفات در تیمارهای مورد بررسی طی دوره ۱۴ روزه (n= ۳)

اسیدیته: بررسی مقدار pH (که در ابتدای دوره پرورش در تمامی تیمارها به مقدار یکسان ۷/۸۳ بود) نشان داد که با افزایش تراکم سلولی، pH نیز افزایش می‌یابد، به‌طوری که بیشترین مقدار آن در تراکم بالا به‌میزان ۸/۲۶ در روز سیزده پرورش و کمترین میزان آن نیز در همان روز در تیمار شاهد و به میزان ۷/۸۱ ثبت گردید (نمودار ۵).



نمودار ۵: مقایسه مقدار pH در تیمارهای مورد بررسی طی دوره ۱۴ روز

۴. بحث و نتیجه‌گیری

افزایش تعداد سلول‌های تتراسلمیس سواسیکا (*T. suecica*) کشت داده شده در تمامی تیمارهای مورد مطالعه (۲۰٪، ۴۰٪، ۶۰٪، ۸۰٪ و ۱۰۰٪) پساب ثانویه شهری بندرعباس، نشان‌دهنده‌ی تطبیق‌پذیری و قابلیت رشد و پرورش این ریزجلبک ارزشمند در پساب ثانویه شهری است. بر اساس نتایج به‌دست آمده میزان رشد برای دو تیمار ۴۰ و ۶۰ درصد تصاعدی است و نمی‌توان فاز تاخیری را در نمودار رشد آنان مشاهده نمود.

جدول ۱: میزان رشد سلول ($cell.m^{-1}\times10^5$) جلبک تتراسلمیس سواسیکا *(Tetraselmis suecica)* کشت داده شده در تیمارهای مختلف در روزهای مختلف آزمایش طی مدت ۲۱ روز (n=۳ ، میانگین ± انحراف از معیار).

تیمار / روز پرورش	شاهد	٪۲۰	٪۴۰	٪۶۰	٪۸۰	٪۱۰۰
۳	۵/۲±۱/۲۵^{ab}	۶/۲±۱/۸۹^{ab}	۸/۰±۱/۵۰^{a}	۸/۲±۰/۷۶^{a}	۴/۲±۲/۰۲^{b}	۲/۹±۲/۶۸^{b}
۵	۱۰/۳±۱/۰۴^{c}	۹/۲±۰/۲۸^{c}	۱۷/۲±۰/۷۶^{a}	۱۴/۲±۱/۰۴^{b}	۲/۷±۰/۳۰^{d}	۳/۶±۱/۶۲^{d}
۷	۱۸/۷±۲/۵۶^{a}	۴/۸±۰/۷۶^{b}	۱۵/۵±۰/۵۰^{a}	۱۶/۸±۳/۷۸^{a}	۵/۰±۰/۸۲^{b}	۵/۰±۲/۲۳^{b}
۹	۲۰/۲±۴/۵۰^{a}	۵/۵±۳/۹۰^{b}	۱۹/۰±۱/۰۰^{a}	۲۰/۲±۶/۵۲^{a}	۷/۷±۱/۲۵^{b}	۱۰/۳±۲/۰۸^{b}
۱۱	۳۹/۵±۱۳/۱۰^{a}	۱۲/۷±۱/۸۹^{bc}	۲۲/۵±۴/۷۶^{b}	۱۴/۸±۱۰/۶۸^{bc}	۴/۴±۰/۵۲^{c}	۷/۴±۲/۶۷^{c}
۱۳	۳۸/۳±۲۱/۹۱^{a}	۱۰/۵±۳/۰۴^{b}	۱۵/۲±۰/۷۶^{b}	۱۸/۱±۱۶/۳۸^{b}	۸/۱±۱/۵۵^{b}	۵/۳±۱/۹۶^{b}
۱۵	۳۱/۳±۲۲/۷۲^{a}	۸/۵±۰/۸۶^{b}	۱۵/۲±۲/۲۵^{ab}	۱۱/۸±۳/۰۱^{b}	۸/۵±۱/۸۰^{b}	۵/۶±۱/۱۵^{b}
۱۷	۳۲/۸±۳/۲۱^{a}	۸/۰±۱/۵۰^{bc}	۱۳/۵±۲/۲۹^{b}	۱۱/۸±۲/۵۶^{b}	۱۱/۳±۴/۷۲^{b}	۵/۴±۲/۱۵^{c}
۱۹	۲۸/۰±۵/۷۶^{a}	۶/۷±۱/۶۰^{b}	۱۱/۳±۲/۹۲^{b}	۱۰/۳±۴/۳۴^{b}	۱۲/۸±۶/۲۱^{b}	۵/۰±۲/۲۹^{b}
۲۱	۲۵/۳±۳/۲۱^{a}	۵/۹±۰/۹۴^{b}	۱۰/۱±۲/۲۶^{b}	۹/۳±۴/۷۵^{b}	۱۱/۶±۶/۴۲^{b}	۴/۷±۲/۵۱^{b}

اعداد دارای حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌داری دارند ($P<0/05$)

تیمار ۴۰٪ در روز یازدهم به حداکثر رشد خود (برابر با $22/5\times10^5$ سلول در میلی‌لیتر) رسید و تیمار ۶۰٪ نیز در روز نهم به حداکثر رشد خود دست یافت. سپس کاهش میزان رشد برای تیمار ۶۰٪ و ۴۰٪ مشاهده گردید. کاهش میزان رشد برای تیمار ۴۰٪ به شکل واضح‌تر و تقریبا بدون امکان در نظرگیری فاز ایستایی یا سکون بود (Sorgeloos and Lavens, 1996). در بیان علت افت و کاهش رشد، دلایل مختلفی بیان می‌شود، از جمله این دلایل محدودیت نوری است که اغلب به‌دلیل معضل خودسایگی در تراکم بالای آلگی حادث می‌شود، که ممکن است عامل منفی مهم و تاثیرگذاری بر تقسیم سلولی و رشد باشد (Fogg, 1975). البته در این تحقیق به‌علت هوادهی مداوم که منجر به ایجاد اختلاط مناسب و در نتیجه ایجاد فرصت اخذ نور برای سلول‌ها هنگام آمدن به سطح یا کناره‌های محیط کشت است، اثر آن قابل توجه نخواهد بود. همچنین محدود شدن دی اکسید کربن یا کربن معدنی در دسترس در محیط کشت متراکم و فشرده آلگی می‌تواند عامل کلیدی محدود کننده‌ی دیگری باشد. کاهش مواد مغذی و نامطلوب شدن نسبت نیتروژن به فسفر به‌دلیل جذب سریع و اولیه نیتروژن نیز می‌تواند علت افت تکثیر سلولی و رشد باشد. از دیگر عوامل می‌توان به حضور و انباشت مواد خود بازدارنده مانند کلرلین (Chlorellin) در کشت‌های بسیار متراکم آلگی اشاره کرد. البته یک کشت مطلوب ریزجلبک باید بتواند در حداقل زمان، مواد مغذی را حذف و یا به عبارت دیگر جذب نماید تا قبل از اینکه تجمع مواد خود بازدارنده به سطوح سمی و مضر برسد، حداکثر رشد حاصل شده باشد. این امر با نتایج این مطالعه همخوانی داشت و نشان داد که مقادیر اولیه آلگ تلقیحی به‌صورت معنی‌داری بر کارایی حذف نیتروژن و فسفر موثر است (Lau et al., 1994). برای سایر تیمارها حتی محیط شاهد می‌توان فاز تاخیری را در سه و یا پنج روز اول مشاهده نمود. این امر احتمالا نشان‌دهنده‌ی زمان مورد نیاز برای آداپتاسیون، رفع تنش، تنظیم فعالیت متابولیکی و سطوح آنزیمی است که معلول انتقال به محدوده و محیط جدید است (Tam et al., 1994). از سوی دیگر باید توجه نمود آب دریا (آب شور طبیعی دریا) محیط کشت پیچیده‌ای محتوی بیش از ۵۰ عنصر شناخته شده و تعدادی ترکیبات آلی است. این محتوای ارزشمند به‌خصوص دارای مواد مغذی کم نیاز حیاتی مهمی است که می‌تواند در تعادل محیط کشت موثر باشد (Harrison and Berges, 2004). این ارزشمندی آب دریا شاید بتواند توضیح دهنده پیشرو بودن تیمار ۴۰ و ۶۰٪ نسبت به ۲۰٪ باشد از سوی دیگر تیمار ۸۰٪ دارای مقدار کمتر و تیمار ۱۰۰٪ فاقد آب دریا است که این امر نیز می‌تواند دلیل مشاهده رشد کمتر ریزجلبک‌ها در آنها باشد.

کمترین میزان نیترات پساب نیز در روز دهم و به میزان ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر در تیمار با تراکم بالا مشاهده گردید که برابر با ۸۰٪ حذف بود. بیشترین میزان حذف نیتریت نیز به میزان ۵۶/۳٪ در تراکم بالا و در روز چهاردهم مشاهده گردید ($P<0/05$). حذف مواد مغذی توسط سلول‌های ریزجلبکی مطابق با تراکم سلولی و فعالیت متابولیکی آن‌ها است. گرفتن نیتروژن و جذب آن توسط ریزجلبک‌ها طی فعالیت‌های متابولیکی از فرآیندهای اصلی است. افزایش مقدار نیتروژن در سلول‌ها، موازی با افزایش محتوای پروتئین سلولی است (Fabregas et al., 1989). در این تحقیق نیز افزایش رشد سلول‌ها نشان دهنده‌ی افزایش پروتئین سلولی در ازای جذب نیترات پساب (در کنار حضور نور، کربن، نسبت مطلوب N:P و...) در سلول‌ها و در نتیجه کاهش غلظت نیترات بود. نیترات عموماً به‌عنوان منبع نیتروژن توسط

ریزجلبک‌ها ترجیح داده می‌شود (منبع نیتروژن در محیط F/2 و بریسترول نیز نیترات است) و مطالعات نشان داده است جذب نیترات مقدم بر جذب نیتریت است. همان‌طور که اشاره شد تلقیح ریزجلبک‌ها به محیط کشت جدید (پساب) توام با بروز تنش برای سلول‌های ریزجلبکی است و معمولا آنها نیازمند زمان برای آداپتاسیون، رفع تنش، تنظیم فعالیت متابولیکی و سطوح آنزیمی خود هستند (Tam et al., 1994). افزایش غلظت نیترات، نیتریت و فسفات در روزهای ابتدایی پرورش نیز می‌تواند به‌علت تنش ایجاد شده و مرگ و متلاشی شدن برخی از سلول‌های ریزجلبکی باشد. در این تحقیق غلظت باقیمانده نیترات در تیمارهای فیتوپلانکتونی کاهش زیادی را در روز دهم نشان داد (۸۰٪ حذف برای تراکم بالا)، در صورتی که کاهش نیتریت تا روز آخر پرورش ادامه داشت که این امر می‌تواند نشان‌دهنده‌ی تمایل فیتوپلانکتون‌ها به جذب نیترات نسبت به نیتریت باشد (Tam et al., 1994). حذف نیتروژن تحت دو عامل مصرف جهت رشد (جذب مستقیم سلولی) و واجذبی (ته‌نشینی) است. البته کاهش آمونیاک و افزایش نیترات در محیط کشت پساب ریزجلبک نمی‌تواند منحصرا مرتبط با تبدیل نیتروژن باشد. مکانیسم‌های غیربیولوژیک دیگری همچون تهی‌سازی توسط هوا[1]، جذب و رسوب نیز قادر به حذف آمونیاک هستند. به‌نظر می‌رسد در سامانه‌هایی که به‌شدت هوادهی می‌شوند مکانیسم تهی‌سازی توسط هوا بسیار مهم است. بنابراین فرایندهای حذف مواد مغذی شامل رسوب، تهی‌سازی هوایی و جذب توسط توده الگی خواهد بود (Martinez et al., 2000). افزایش میزان نیترات در انتهای دوره پرورش را می‌توان به‌علت رسیدن ریزجلبک‌ها به مرحله‌ی انتهایی رشد و در نتیجه مرگ و انهدام سلول‌های ریزجلبکی و آزاد شدن مقداری از نیترات جذب شده بیان نمود. به‌علاوه، در خصوص افزایش میزان فسفات در انتهای دوره پرورش می‌توان همین دلیل را بیان نمود.

بیشترین میزان حذف فسفات نیز به میزان ۷۱/۸٪ و مربوط به تیمار با تراکم پایین در روز دهم بود. کاهش فسفات در تیمارهای فیتوپلانکتونی به دو صورت جذب مستقیم سلول‌ها تحت شرایط هوازی و ته‌نشینی امکان‌پذیر است. گرفتن فسفات توسط فیتوپلانکتون‌ها مانند گرفتن نیتروژن به زی‌توده فیتوپلانکتونی وابسته است. سلول‌های فیتوپلانکتونی به‌خوبی قادرند فسفر را ذخیره کنند و هنگامی که غلظت فسفات در محیط طبیعی پایین باشد این مقدار اضافی را مورد استفاده قرار دهند که به ادامه رشد سلول کمک می‌کند (Fogg, 1975). افزایش فسفات در چهار روز اول این پژوهش می‌تواند در اثر ذخیره کردن آن در سلول‌های فیتوپلانکتونی باشد که با تعداد سلول‌های فیتوپلانکتونی و تلقیح اولیه تیمارها مطابقت دارد. البته بالا رفتن میزان pH در تیمارها به ته‌نشینی فسفات به‌صورت فسفات کلسیم کمک می‌کند، زیرا ته‌نشینی فسفات، پدیده‌ای مهم در pH حدود ۸ و بالاتر است. افزایش pH نشان‌دهنده‌ی بالا رفتن قلیائیت و در نتیجه کاهش آمونیوم است و همچنین می‌تواند منجر به کاهش فسفات گردد که این امر به بالا رفتن کارایی حذف مواد مغذی کمک می‌کند. کاهش میزان فسفات در تیمار شاهد نیز می‌تواند به‌علت ته‌نشینی آن باشد.

میزان pH در دوره پرورش روند صعودی نشان داد و بیشترین میزان آن در تراکم‌های بالاتر و در روزهای پایانی مشاهده گردید. در کشت‌های الگی pH معمولا به‌دلیل جذب فتوسنتزی دی اکسید کربن افزایش می‌یابد. در صورت عدم تامین دی اکسید کربن مقادیر pH بالای ۱۰ نیز غیر معمول نیست و اگر دی اکسید کربن محدود باشد و بی‌کربنات به‌عنوان منبع کربن استفاده شود pH می‌تواند به میزان ۱۱ یا بالاتر هم برسد (Oswald, 1988). مشخص شده است که رشد *Chlorella vulgaris* در کشت‌های محتوی نیتروژن آمونیاکی معمولا تغییراتی را در مقدار pH ایجاد می‌کند که در مرحله‌ی رشد لگاریتمی سلول‌ها، pH اسیدی و در زمانی که سلول‌ها در مرحله تاخیر یا سکون قرار دارند، pH قلیایی خواهد شد. این در حالی است که در این تحقیق هم‌زمان با رشد ریزجلبک تتراسلمیس سواسیکا (*T. suecica*) مقدار pH نیز افزایش یافته است. این امر می‌تواند به‌علت هوادهی ثابت باشد که منجر به خالی شدن پساب از آمونیاک و در نتیجه ایجاد محیط قلیایی می‌گردد (Przytocka-Juisak et al., 1977).

ریزجلبک تتراسلمیس سواسیکا (*T. suecica*) قادر به رشد در پساب ثانویه شهری است. بیشترین میزان رشد در تیمار ۴۰٪ با تراکم $۲۲/۵\times۱۰^{۵}$ سلول در میلی‌لیتر و تیمار ۶۰٪ با تراکم $۲۰/۲\times۱۰^{۵}$ سلول در میلی‌لیتر بوده است بنابراین رشد بهتر در غلظت‌های متوسط مشاهده گردید. همچنین با توجه به نتایج تحقیقات مشابه و بالاتر بودن قابل توجه نرخ رشد ریزجلبک تتراسلمیس سواسیکا *(T. suecica)* در این پژوهش می‌توان از کشت این ریزجلبک در پساب ثانویه شهری برای پرورش نیمه

[1] air stripping

متراکم آبزیان استفاده نمود (Koening and Demacedo, 2004). ریزجلبک تتراسلمیس سواسیکا (*T. suecica*) جهت رشد خود از مواد مغذی پساب شهری استفاده می‌نماید و با جذب این مواد در سلول‌های خود سبب کاهش غلظت آنها در پساب می‌گردد. سلول‌های فیتوپلانکتونی ابتدا نیترات را جذب می‌کنند و سپس در صورت عدم وجود نیترات کافی، نیتریت را به نیترات تبدیل و از آن استفاده می‌نمایند، زیرا ابتدا کاهش در غلظت نیترات اتفاق افتاده است.

تراکم سلولی در میزان حذف ازت و فسفر پساب شهری تاثیرگذار است، چنان‌که در تراکم های متوسط و بالا درصد حذف بیشتری به‌دست آمده است و از آنجایی که ریزجلبک تتراسلمیس سواسیکا (*T. suecica*) قادر به حذف ۸۰٪ درصد نیترات و ۷۱/۸٪ درصد فسفات پساب شهری بود می‌توان از این گونه فیتوپلانکتونی به‌عنوان جایگزین فرآیند تصفیه ثانویه پساب شهری استفاده نمود.

۵. سپاسگزاری

شایسته است از کمک‌های بی‌دریغ جناب آقای دکتر طاهری زاده و جناب آقای مهندس عبدالعلیان در پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و نیز مساعدت اداره کل شیلات هرمزگان سپاسگزاری و تشکر گردد.

منابع

APHA., 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater 19 th edition. American Public Health Association. 83-113 p.

Fabergas, J.; Abalde, J.; Herrero, C., 1989. Biochemical composition and growth of the marine microalga *Dunaliella tertiolecta* with different ammonium nitrogen concentrations as chloride, sulphate, nitrate and carbonate. Aquaculture, 83: 289-304.

Fogg, G.E., 1975. Algal cultures and phytoplankton ecology. The university of Wisconsin press, 175 pp.

Harrison, P.J.; Berges, J.A., 2004. Marine culture media. Hong Kong University and Wisconsin-Milwaukee University Press, 21-34.

Koening, L.M.; Demacedo, J.S., 2004. Urban secondary sewage: an alternatve medium for the culture of *Tetraselmis chuii* (Prasinophyceae) and *Dunaliella viridis* (Chlorophyceae). Brazilian Archives of Biology and Technology, 47(3): 451-459.

Lau, P.S.; Tam, N.F.Y.; Wong, Y.S., 1994. Effect of algal density on nutrient removal from primary settled waste water. Environmental Pollution, 89: 59-66.

Martinez, M.E.; Sanchez, S.; Jimenez, J.M.; Yoysfi, F.E.; Munoz, L., 2000. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. Bioresource Technology, 73: 263-272.

Oswald, W.J., 1988. Micro-algae and waste-water treatment. Cambridge University press, 305–328.

PrzytockaJusiak, M.; Miynarczyk, A.; Kulesza, M.; Mycielski, R., 1977. Properties of *Chelorella vulgaris* strain adapted to high concentration of ammonium nitrogen. Acta Microbial, 26: 185-197.

Pulz, O.; Gross, W., 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. Applied Microbiology and Biotechnology Journal, 65(6): 635-648.

Sorgeloos, P.; Lavens, P., 1996. Manual on the Production and use of Live Food for Aquaculture. FAO, 361 pp.

Suva, F., 1999. Technical guidance on pearl hatchery development in the Kingdom of Tonga. FAO, 116 pp.

Tam, N.F.Y.; Lau, P.S.; Wong, Y.S., 1994. Wastewater Inorganic N and P Removal by Immobilized *Chlorella vulgaris*. Water Science and Technology, 30: 369-374.

Tam, N.F.Y.; Wong, Y.S., 1996. Effect of ammonia concentrations on growth of *Chlorella vulgaris* and nitrogen removal from media. Bioresource Technology, 57: 59-66.