

بررسی رشد ریز جلبک *Chlorella sp* در محیط کشت Conway و TMRL در آب‌های مختلف

چکیده

ریز جلبک کلرلا از جلبک‌های سبز فتوسنتز کننده میباشند که در آبی‌پروری، تحقیقات و بسیاری از علوم دیگر به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد. محیط کشت کانوی نسبت به محیط کشت TMRL بسیار غنی‌تر است و همچنین آب فاضلاب دارای مقادیر نیترات و فسفات است؛ لذا جهت بررسی اثرات محیط کشت و نوع آب، رشد میکرو جلبک کلرلا در دو نوع محیط کشت کانوی و TMRL در سه نوع آب (آب دریا، فاضلاب استریل و فاضلاب غیر استریل) مورد آزمایش قرار گرفت. رشد این میکرو جلبک در ۶ تیمار و ۳ تکرار برای هر تیمار مورد آزمایش قرار گرفت. ریز جلبک تحت شرایط زیستی یکسان (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، شوری ۵ پی پی تی، شدت نوری ۲۵۰۰ لوکس) قرار داده شد. به‌طور روزانه تراکم جلبک‌ها بررسی شدند. نتایج آماری نشان داد که بین هر سه تیمار اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بیشترین تراکم مربوط به تیمار دارای محیط کشت TMRL در آب فاضلاب استریل و کمترین تراکم مربوط به تیمار فاضلاب غیر استریل بود. نتایج نشان دادند که در آب دریا رشد میکرو جلبک در محیط کانوی بیشتر است، درحالی‌که در فاضلاب استریل شده رشد این میکرو جلبک در محیط TMRL بیشتر از محیط کشت کانوی است، لذا فاضلاب به دلیل وجود مواد مغذی مانند نیترات و فسفات محیط مناسب و غنی برای کشت این ریز جلبک می‌باشد.

واژگان کلیدی: کلرلا، آبی‌پروری، فاضلاب، ریز جلبک.

شبنم باقری^۱

سیده زهرا معصومی زاده^{۲*}

۱. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
۲. گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

*مسئول مکاتبات

zmasoomi@yahoo.com

کد مقاله: ۱۳۹۵۰۴۰۳۴۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۱/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۲۵

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی

ارشد است.

مقدمه

میکرو جلبک‌ها اولین ارگانیزم‌های فتوسنتز کننده هستند که اکسیژن آزاد می‌کنند. آن‌ها به‌سرعت رشد کرده و بیومس آن‌ها در مدت ۲۴ ساعت دو برابر می‌شود. آن‌ها در مدت ۳/۵ ساعت به‌طور انفجاری و بسیار زیادی رشد می‌کنند (Zhou, 2014). میکرو جلبک‌ها می‌توانند رنج وسیعی از متابولیک‌های ارزشمندی مانند چربی، قند و ترکیبات فعال زیستی تولید کنند (Andersen, 2013). کلرلا یکی از مشهورترین ریز جلبک‌ها است که ساکن آب‌های شیرین می‌باشد. کلرلا مشابه گیاهان از فعال‌ترین موجودات فتوسنتز کننده و دارای تراکم بالای کلروفیل است. از عصاره کلرلا در تهیه لوازم‌آرایشی بهداشتی با توجه به پلی ساکاریدهای موجود در آن در داروسازی استفاده می‌گردد. (صفری و همکاران، ۱۳۹۰). کلرلا از گونه‌های مهم شاخه جلبک‌های سبز کلروفیتا بوده که در استخرهای پرورشی ماهی و اکوسیستم‌های آبی مورد تغذیه روتیفر، انواع لارو آبزیان و بعضی ماهیان فیتوپاگ قرار می‌گیرد، همچنین در سیستم آبی‌پروری از نظر دارویی، استخراج مواد نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد (فلاحی و صلواتیان، ۱۳۸۴). بخشی از خواص درمانی کلرلا در بدن مربوط به مقدار زیاد کلروفیل و ساختمان دیواره سلولی مخصوصاً مواد متشکله این دیواره سلولی است. این جلبک سلامتی و قدرت دفاعی پوست بدن را بهبود می‌بخشد (صفری و همکاران، ۱۳۹۰). تحقیقات نشان داده که مصرف دارویی کلرلا باعث تقویت سیستم ایمنی بدن شده و با استفاده از نتایج امیدارکننده آن، در درمان سرطان انسانی مورد بررسی قرار گرفته است. کلرلا به‌طور خاص از عمل سرکوب سیستم ایمنی ناشی از استرس و تشکیل زخم معده جلوگیری و محافظت



می‌کند (Janczyk *et al.*, 2007). نیتروژن دومین عنصر فراوانی است که ۶ تا ۱۰ درصد وزن خشک جلبک کلرلا را تشکیل می‌دهد. این عنصر بین ۱ تا ۱۰ درصد وزن خشک سلول‌های جلبکی را تشکیل می‌دهد (Grobbelaar, 2013). اغلب گونه‌های میکرو جلبکی می‌توانند از نیتروژن ارگانیک و یا غیر ارگانیک استفاده کنند. برای نیتروژن غیر آلی میکرو جلبک‌های یوکاریوتی فقط از نیترات، نیتريت و آمونیوم یا آمونیاک استفاده می‌کنند و سیانوباکتریها پروکاریوت‌هایی هستند که می‌توانند از نیتروژن اتمسفر استفاده کنند و به‌صورت آمونیاک از آن استفاده کنند (Cae *et al.*, 2013). با توجه به نیاز میکرو جلبک‌ها به منابع نیتروژنی، پساب می‌تواند منبع مناسبی جهت رشد میکرو جلبک‌ها باشد.

افزایش جمعیت و مصرف روزافزون منابع، منجر به تولید ضایعات و پساب بیشتری توسط بشر گردیده است، به‌طوری‌که پساب‌ها و چگونگی دفع آن‌ها از چالش‌های بشر در عصر جدید می‌باشد. پساب‌ها به علت مواد تشکیل‌دهنده آن (فضولات انسانی و حیوانی، شوینده‌ها، ضایعات کشتارگاهی و...) دارای مقادیر بالایی از مواد مغذی همچون نیتروژن و فسفر می‌باشد و رهاسازی در آب‌های طبیعی می‌تواند منجر به بوتریفیکاسیون (انباشته شدن آب‌ها از منابع غذایی) آن‌ها گردد. از این‌رو است که تصفیه پساب‌ها به طریقی که خود معضل جدیدی نشود مهروموم‌هاست موردتحقیق و پژوهش قرار دارد. کاربرد ریز جلبک‌ها برای تصفیه پساب دارای مزایای متعددی است که از مهم‌ترین آن‌ها به عدم ایجاد خطرات زیست‌محیطی با تکیه بر اصول اکوسیستم‌های طبیعی، عدم ایجاد آلودگی ثانویه در صورت استفاده از بیومس تولیدی و توانایی ریز جلبک‌ها در بازچرخش مؤثر مواد مغذی موجود در پساب‌های ثانویه اشاره کرد (Martinez *et al.*, 2000). بسیاری از گونه‌های جلبکی به آلودگی‌های موجود در پساب مقاوم هستند و سریعاً در محیطی غنی از نیتروژن و فسفر مستقر می‌شوند و با استفاده از این مواد جهت رشد می‌توانند موجب حذف نیتروژن و فسفر پساب گردند و این نشان می‌دهد که سیستم پرورش میکرو جلبک‌ها می‌تواند به‌عنوان جایگزین فرایند تصفیه ثانویه پساب به‌منظور حذف مواد مغذی از آن‌ها بکار گرفته شود (Wong and Cheung, 1985; Tam and Wong, 1996). میکرو جلبک‌ها برای انجام فعالیت‌های خود نیترات و فسفات‌ها را مصرف کرده و با انجام فرایند فتوسنتز اکسیژن آزاد می‌کنند و اکسیژن آزادشده به باکتری‌های هوازی کمک می‌کند تا در تجزیه مواد خام فاضلاب‌ها فعال باشند. این فاضلاب‌ها عمدتاً از ضایعات صنعتی و شهری می‌باشد و دارای ترکیبات آلی و معدنی بسیاری هستند که در آن‌ها حل شده‌اند (افشاری، ۱۳۹۱).

مواد مغذی موجود در فاضلاب باعث رشد سریع میکرو جلبک‌ها شده و این عمل باعث تصفیه فاضلاب می‌شود. از طرفی محیط کشت‌های غنی مانند کانوی باعث افزایش سرعت رشد شده ولی در مقیاس زیاد مقرون‌به‌صرفه نیستند. در این مقاله سعی شده است جایگزینی محیط کشت غنی با فاضلاب و محیط کشت ساده TMRL موردبررسی قرار گیرد. همچنین جهت بررسی رشد میکرو جلبک در شرایط میکروبی و استریل، رشد میکرو جلبک در فاضلاب استریل و فاضلاب غیر استریل بررسی شد.

لذا با توجه به اهمیت تصفیه فاضلاب و لزوم فراهم کردن شرایط و محیط غذایی غنی برای رشد سریع میکرو جلبک‌ها و مقرون‌به‌صرفه بودن محیط کشت، رشد این میکرو جلبک در محیط کشت غنی کانوی و محیط ساده TMRL در سه نوع آب (آب دریا، فاضلاب استریل و غیر استریل) موردبررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جهت انجام این آزمایش در اسفند ۱۳۹۳ از تصفیه‌خانه فاضلاب غرب اهواز واقع در چونبیه، آب فاضلاب تصفیه‌شده، تهیه‌شده و به آزمایشگاه انتقال داده شد و در دستگاه اتوکلاو استریل گردید. جهت بررسی رشد ریز جلبک کلرلا، دو محیط کشت کانوی و TMRL (طبق جدول ۱ و ۲) تهیه شدند. در هر محیط کشت سه نوع آب مورداستفاده قرار گرفت که شامل: ۱) (آب دریا ۲) آب فاضلاب استریل شده (۳) آب فاضلاب غیر استریل بودند (جمعاً ۶ تیمار که هر تیمار نیز ۳ تکرار داشته است). کلیه تیمارهای جلبکی با ۱۰ درصد استوک جلبکی تهیه شدند و تحت شرایط زیستی یکسان (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، شوری ۵، شدت نوری ۲۵۰۰ لوکس و دوره نوری ۱۶:۸) قرار داده شدند. هوادهی با

استفاده از پمپ‌های هوا به صورت شبانه‌روزی صورت گرفت. شوری آب فاضلاب توسط دستگاه شوری سنج اندازه‌گیری شد و با توجه به اینکه شوری استوک کلرلا ۲۵ بود، لذا شوری استوک کلرلا در ۵ مرحله از شوری ۲۵ به شوری ۵ کاهش داده شد.

جدول ۱: محیط کشت TMRL (Gopinathan, 1993).

محلول	مواد	مقدار
A	نیترات پتاسیم	۱۰ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر
B	ارتوفسفات سدیم	۱ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر
C	کلرید آهن	۰/۳ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر
D	سیلیکات سدیم	۰/۱ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر

جدول ۲: محیط کشت Conway (Gopinathan, 1993).

محلول	مواد	مقدار
A	نیترات پتاسیم	۱۰۰ گرم
	ارتوفسفات سدیم	۲۰ گرم
	EDTA(Na)	۴۵ گرم
	اسید بوریک	۳۳/۴ گرم
	کلرید آهن	۱/۳ گرم
B	کلرید منگنز	۰/۳۶ گرم
	آب مقطر	۱ لیتر
	کلرید روی	۴/۲ گرم
	کلرید کبالت	۴/۰ گرم
	سولفات مس	۴/۰ گرم
C	مولیبدات آمونیوم	۱/۸ گرم
	آب مقطر	۱ لیتر
	ویتامین تیامین	۲۰۰ میلی‌گرم
C	ویتامین سیانوکوبالامین	۲۰۰ میلی‌گرم
	آب مقطر	۲۰۰ میلی‌گرم

محلول‌های A، B و C محیط کشت کانوی در سه ظرف جداگانه تهیه شده و سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول A و ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول B و ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول C در یک لیتر آب دریا حل شد.

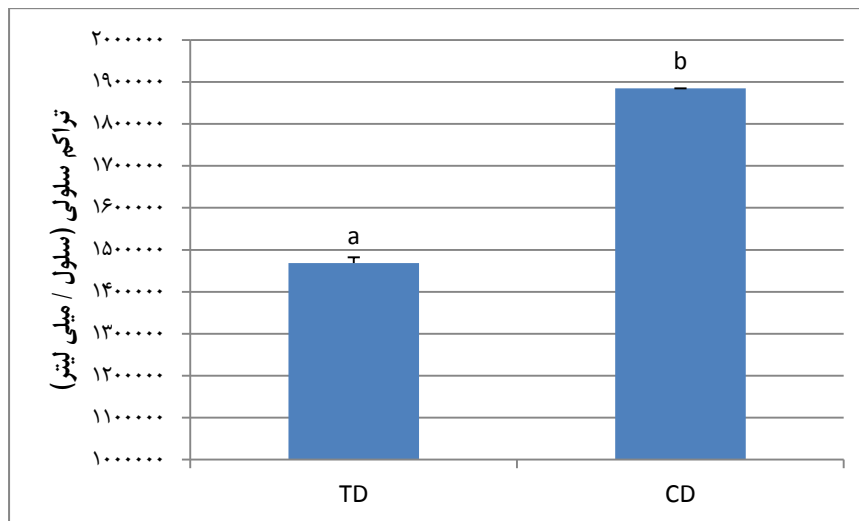
روزانه از تمام تیمارها نمونه‌برداری شده و از طریق تعیین افزایش تراکم سلولی با استفاده از لام نئوبار با ۳ تکرار شمارش گردید. میزان تراکم با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{تعداد کل سلول شمارش‌های شده} \times 10 = \frac{\text{تعداد کل سلول شمارش‌های شده}}{\text{تعداد بلوک‌ها}} \quad (4) \quad (\text{Banerjee et al., 2011})$$

در این بررسی تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS ورژن ۱۹ انجام شد و میانگین تیمارها به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه (آزمون دنباله‌ای LSD در One Way ANOVA) با یکدیگر مقایسه شدند که وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد تعیین گردید همچنین در رسم نمودارها و جداول از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

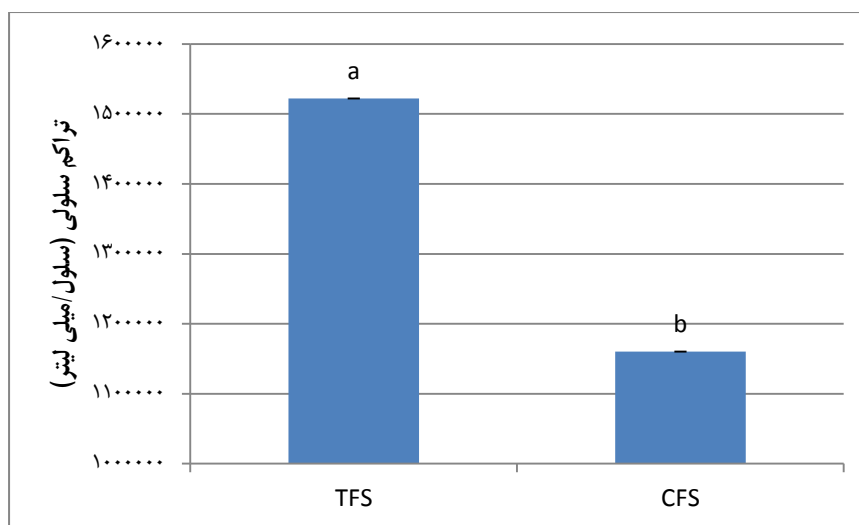
نتایج

نتایج آزمون LSD (اشکال ۱ تا ۳) نشان داد بین محیط کشت TMRL و کانوی در آب‌های دریا و فاضلاب استریل اختلاف معنی‌داری وجود دارد، درحالی‌که بین این دو محیط کشت در آب فاضلاب غیر استریل اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین محیط کشت TMRL و کانوی به‌طور جداگانه در هر سه آب اختلاف معنی‌داری دارند. همان‌طور که در اشکال مشاهده می‌شود بین هر سه آب دریا، فاضلاب استریل و فاضلاب غیر استریل اختلاف معنی‌داری وجود دارد.



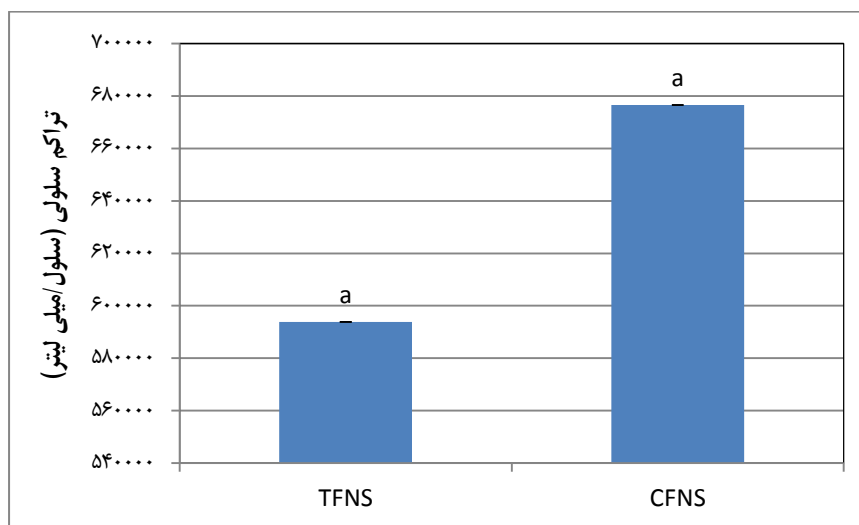
شکل ۱: مقایسه حداکثر رشد ریز جلبک *Chlorella sp* در محیط کشت Conway و TMRL در آب دریا در ۱۳۹۳. (TD: محیط کشت TMRL در آب دریا، CD: محیط کشت کانوی در آب دریا).

شکل ۱ نشان داد رشد میکرو جلبک کلرلا در محیط کشت کانوی در آب دریا بیشتر از محیط کشت TMRL بوده است ($P < 0.05$).



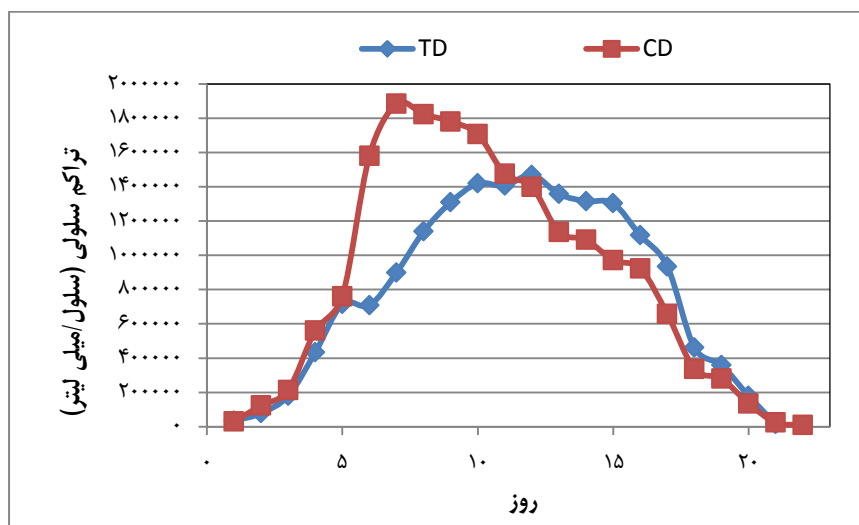
شکل ۲: مقایسه حداکثر رشد ریز جلبک *Chlorella sp* در دو محیط کشت TMRL و Conway در آب فاضلاب استریل در ۱۳۹۳. (TFS: محیط کشت فاقد ویتامین در آب فاضلاب استریل، CFS: محیط کشت کانوی در آب فاضلاب استریل).

شکل ۲ نشان داد که رشد میکرو جلبک کلرلا در محیط کشت کانوی و TMRL در فاضلاب استریل اختلاف معنی داری داشته ($P < 0.05$) و رشد میکرو جلبک در محیط کشت کانوی بسیار کمتر از محیط کشت TMRL بوده است.



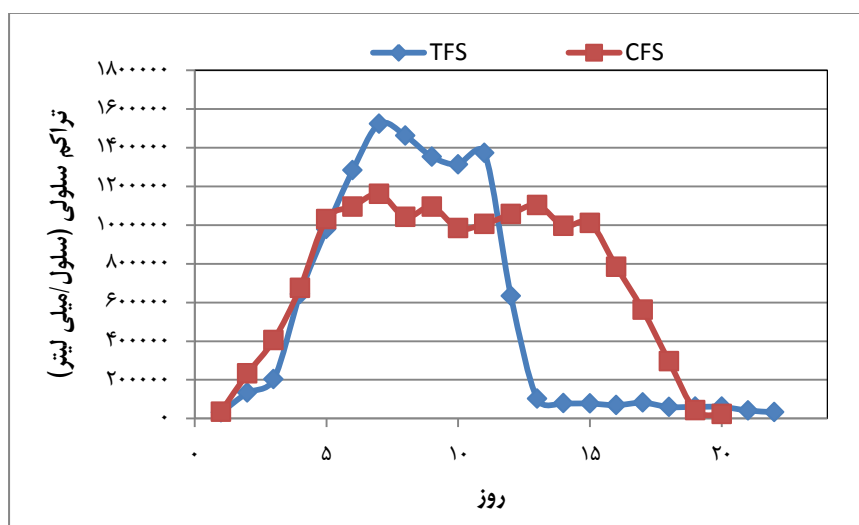
شکل ۳: مقایسه حداکثر رشد ریز جلبک *Chlorella sp* در دو محیط کشت TMRL و Conway در آب فاضلاب غیر استریل در ۱۳۹۳. (TFNS: محیط کشت فاقد ویتامین در آب فاضلاب غیر استریل، CFNS: محیط کشت کانوی در آب فاضلاب غیر استریل).

شکل ۳ نشان داد اگرچه رشد کلرلا در محیط کانوی کمی بیشتر از محیط کشت TMRL است، ولی اختلاف معنی‌داری در رشد این میکرو جلبک در فاضلاب غیر استریل در دو محیط کشت کانوی و TMRL وجود ندارد ($P > 0.05$).



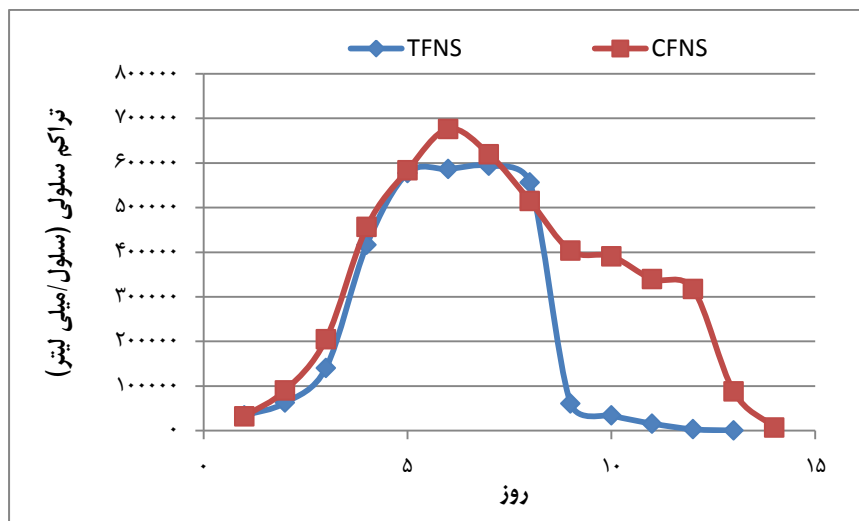
شکل ۴: مقایسه منحنی رشد ریز جلبک *Chlorella sp* در دو محیط کشت Conway و TMRL در آب دریا در ۱۳۹۳.

شکل ۴ نشان داد که رسیدن به حداکثر تراکم در محیط کشت کانوی در زمان کمتری نسبت به محیط کشت TMRL در آب دریا صورت می‌گیرد و رشد این میکرو جلبک در محیط کشت کانوی بسیار بیشتر از محیط کشت TMRL است (در شکل ۱ اختلاف معنی‌دار نشان داده شده است ($P < 0.05$)). زمان ماندگاری در دو محیط کشت یکسان بوده است.



شکل ۵: مقایسه منحنی رشد ریز جلبک *Chlorella sp* در دو محیط کشت Conway و TMRL در آب فاضلاب استریل در ۱۳۹۳.

شکل ۵ نشان داد که رشد کلرلا در فاضلاب استریل در محیط کشت TMRL بیشتر از محیط کشت کانوی بوده است (در شکل ۲ وجود اختلاف معنی دار نشان شده است ($P < 0.05$)) اما زمان ماندگاری در محیط کشت کانوی بیشتر از محیط کشت TMRL بوده است.



شکل ۶: مقایسه منحنی رشد ریز جلبک *Chlorella sp* در دو محیط کشت TMRL و Conway در آب فاضلاب غیر استریل در ۱۳۹۳.

شکل ۶ نشان داد که اختلاف معنی داری در رشد کلرلا در دو محیط کشت در فاضلاب غیر استریل وجود ندارد ($P > 0.05$).

بحث و نتیجه گیری

پساب‌ها به علت مواد تشکیل دهنده آن (فضولات انسانی و حیوانی، شوینده‌ها، ضایعات کشتارگاهی و...) دارای مقادیر بالایی از مواد مغذی همچون نیتروژن و فسفر میباشند و جلبک‌ها می‌توانند این ریزمغذی‌ها را مصرف کرده و رشد خود را افزایش دهند (Mahmut, 2003). در این زمینه تحقیقات زیادی توسط محققان انجام گرفته که نشان می‌دهد سرعت رشد میکروارگانیسم‌ها در محیط‌های پساب بالا می‌باشد و دلایل آن را در دسترس بودن مواد مغذی مورد نیاز میکروارگانیسم‌ها می‌دانستند (Azab, 2000; Vasconcelos, 2001). در تحقیق همان‌طور که در شکل ۱ ارائه شده است بین دو محیط کشت کانوی و TMRL در آب دریا اختلاف معنی داری وجود دارد و محیط کشت کانوی رشد بسیار بالاتری نسبت به محیط کشت TMRL داشته است. صلواتیان و همکاران (۱۳۸۵) بر رشد ریز جلبک *Nanochloropsis oculata* نشان دادند که رشد ریز جلبک نانوکولورپسیس در محیط کشت کانوی بسیار بالاتر از محیط کشت TMRL است و وجود اختلاف معنی دار بین این دو محیط کشت را اثبات کردند. نتایج تحقیق حاضر نشان داده که محیط کشت کانوی با TMRL اختلاف معنی داری دارد که این به دلیل غنی بودن محیط کشت کانوی نسبت به TMRL است، زیرا این محیط کشت دارای ریزمغذی‌ها و ترکیبات مفید دیگری مانند EDTA(Na)، اسید بوریک، کلرید منگنز، کلرید روی، کلرید کبالت، سولفات مس، مولیدات آمونیوم است. همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود در آب فاضلاب استریل، محیط کشت کانوی و محیط کشت TMRL دارای اختلاف معنی داری هستند و محیط کشت TMRL نتیجه بهتری را برای رشد نشان داده است، در صورتی که انتظار می‌رود کلرلا در محیط کشت کانوی که بسیار غنی است تراکم بیشتری نسبت به TMRL داشته باشد. دلیل این امر این است که احتمالاً پساب به قدری مغذی بوده که توانسته است مواد مورد نیاز رشد را تأمین کند. ضمناً هرگونه میکرو جلبکی

مقدار مشخصی از فسفات‌ها و نیترات‌ها را نیاز دارند، در صورتی که مقدار مواد مغذی در محیط بیش از حد مجاز باشند این مواد به‌عنوان محدودکننده رشد شناخته شده و کاهش رشد را به همراه دارند. لذا این نتایج نشان می‌دهد که فاضلاب می‌تواند به‌عنوان یک محیط کشت نسبتاً غنی برای رشد ریز جلبک‌ها باشد. در تحقیقی که Eyster و همکاران (۱۹۵۸) بر روی غلظت‌های مختلف فسفر و نیتريت انجام دادند مشخص گردید. غلظت بالاتر از حد استاندارد می‌تواند باعث کاهش رشد در جلبک *Chlorella vulgaris* شود، بدین معنی که غلظت‌های بالاتر می‌تواند به‌عنوان عامل منفی در رشد بوده و رشد میکرو جلبک در فاز لگاریتمی روند کاهشی داشته باشد (Sen, et al., 2005). همچنین Yusuf و Nabb (۱۹۹۷) بر روی فیتوپلانکتون‌های غالب در تالاب‌های نواحی گرمسیری مطالعه کردند. در آزمایش‌های خود میزان غلظت نیتروژن و فسفر را تغییر می‌دادند تا مطمئن شوند که نیتروژن و فسفر کدام یک عامل محدودکننده می‌باشد و با تغییر مقادیر این دو ریزمغذی در محیط کشت بهترین نسبت و مقادیر بین این دو را تعیین کردند و ثابت کردند که این دو ریزمغذی بیشتر از حد مجاز می‌تواند عامل کاهش رشد را داشته باشد. در شکل ۳ نتایج آماری نشان داد در آب فاضلاب غیر استریل هیچ اختلاف معنی‌داری بین دو محیط کشت TMRL و کانوی وجود ندارد، این بدین معنی می‌باشد که محیط کشت کانوی با وجود اینکه دارای مواد غذایی بیشتری است، ولی در محیط غیر استریل تأثیری در افزایش رشد کلرلا نداشته است. آب این دو نوع محیط کشت از نوع فاضلاب غیر استریل بوده است و دارای انواع میکروارگانیسم‌ها و باکتری‌ها و عوامل آلوده‌کننده می‌باشد که می‌تواند باعث کاهش رشد جلبک کلرلا شده باشد. تمامی تیمارهای این آب نسبت به دیگر تیمارهای آب‌های دیگر رشد کمتری داشته‌اند. ریز جلبک‌ها می‌توانند از طریق افزایش pH، افزایش غلظت اکسیژن محلول در دمای محیط و یا ترشح متابولیک‌های مهارکننده و یا فعال‌کننده اثرات دیگری بر روی باکتری‌ها داشته باشند. به‌طور مشابه بعضی باکتری‌ها رشد ریز جلبک‌ها را با تولید متابولیک‌های خارج سلولی که اثر منفی بر آن‌ها دارند مهار می‌کنند (Munoz and Guieysse, 2006). ریز جلبک‌ها اندازه بزرگ‌تری نسبت به باکتری‌ها دارند و در نتیجه رشد آن‌ها کندتر از باکتری‌ها است، بنابراین حذف مواد آلوده‌کننده در پساب‌ها اغلب توسط میزان اکسیژن تولیدشده توسط ریز جلبک‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد، زیرا به دلیل رشد کندتر ریز جلبک نسبت به باکتری‌ها اکسیژن تولیدی جواب‌گوی نیاز جلبک‌ها نیست و همین باعث شده که در پساب غیر استریل که دارای باکتری‌ها متفاوتی هستند رشد میکرو جلبک‌ها به مقدار قابل‌ملاحظه‌ای کاهش یابد (Munoz and Guieysse, 2006). با توجه به این که پساب‌ها دارای آلاینده‌هایی هستند و ریز جلبک‌ها نسبت به باکتری‌های آلاینده حساس‌تر هستند و رشد آن‌ها در حضور ترکیبات آلاینده با تأخیر انجام می‌گیرد. فلزات سنگین مهارکننده فعالیت‌های فتوسنتزی هستند که قادر به ایجاد تغییرات مورفولوژی در شکل و اندازه ریز جلبک‌ها می‌باشد، به‌عنوان مثال تجزیه و تخریب سالیسیلات‌ها توسط ریز جلبک *Chlorella sorokiniana* در حضور ۲ میلی‌گرم در لیتر از کاتیون Cu^{2+} به‌طور کامل مهار می‌شود. ریز جلبک‌ها به حضور آلوده‌کننده‌های آلی نیز حساس هستند. با این حال رشد ریز جلبک‌ها توسط ترکیبات و آلوده‌کننده‌های مختلف و ناشناخته‌ای در پساب غیر استریل مهار شده و یا اینکه باعث کاهش رشد آن‌ها شود (Munoz and Guieysse, 2006; Hoffman, 1998).

به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد کلرلا در محیط کشت کانوی و در آب دریا بیشترین رشد را داشته است (شکل ۱). محیط کشت TMRL در فاضلاب استریل نقش بهتری در رشد کلرلا داشته و محیط کشت کانوی در این آب به‌صورت محدودکننده عمل کرده است. لذا می‌تواند از فاضلاب به‌عنوان یک محیط کشت نسبتاً غنی برای رشد ریز جلبک‌ها استفاده کرد. اشکال ۲ و ۳ نشان دادند که استریل کردن فاضلاب نقش تعیین‌کننده‌ای در رشد ریز جلبک داشته است، به‌طوری‌که اگر فاضلاب استریل شود رشد میکرو جلبک در فاضلاب بیشتر از محیط کشت غنی کانوی می‌باشد، در صورتی که فاضلاب استریل نشود رشد کلرلا در دو محیط کشت اختلاف معنی‌داری نداشته و احتمالاً به دلیل وجود انواع میکروارگانیسم‌های آلوده‌کننده و متابولیک‌های آنان رشد ریز جلبک محدود می‌شود. شکل ۴ نشان داد که محیط کشت غنی کانوی باعث می‌شود کشت در زمان کمتری به حداکثر تراکم برسد. شکل ۵ نشان داد که اگرچه رشد در فاضلاب استریل در محیط کشت TMRL بیشتر از کانوی است اما زمان ماندگاری کشت در محیط کشت کانوی بیشتر بوده است. شکل ۶ نیز نشان داد اگرچه رشد کلرلا در دو محیط کشت در فاضلاب غیر استریل اختلاف معنی‌داری نداشته است، اما ماندگاری کشت در محیط کشت کانوی بیشتر از TMRL بوده است.

به‌طور کل استریل کردن محیط تأثیر معنی‌داری بر رشد ریز جلبک داشته و می‌تواند از فاضلاب استریل شده به‌عنوان محیط کشت غنی برای رشد ریز جلبک‌ها استفاده نمود.

منابع

- افشاری، ع.، ۱۳۹۱. بررسی میزان اسید چرب در چهار گونه ریز جلبک نانوکلوپسیس، تتراسلمیس، کلرلا، کیتوسروس به‌عنوان سوخت زیستی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه واحد علوم و تحقیقات خوزستان، سال ۱۳۹۱. صفحات ۲۰-۵.
- صفری، ر.، ابطحی، ب. و طیبی، پ.، ۱۳۹۰. بررسی اثرات بازدارندگی عصاره جلبک *Chlorella vulgaris* روی باکتری *Bacillus subtilis* در محیط کشت آزمایشگاهی، مجله علمی پژوهشی علوم و فناوری غذایی، سال سوم، شماره ۲ (تابستان ۹۰): صفحات ۲۷-۳۳.
- صلواتیان، س.م.، آذری تاکامی، ق.، کیوان، ا.، وهاب‌زاده، ح. و رجیبی نژاد، ر.، ۱۳۸۵. ارزیابی رشد و زی‌توده جلبک *Nannochloropsis oculata* در محیط کشت‌های مختلف. مجله علوم دریایی ایران، دوره پنجم، شماره ۱ و ۲، صفحات ۴۳-۵۳.
- فلاحی، م. و صلواتیان، س.م.، ۱۳۸۴. بررسی اثر غلظت‌های مختلف عنصر منیزیم بر میزان رشد و بیوماس جلبک سبز *Chlorella vulgaris*. پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، شماره ۷۲، صفحات ۹-۱۳.
- معصومی زاده، س.، ز.، ۱۳۸۳. بررسی روند رشد برخی فیتوپلانکتون‌های بومی استان خوزستان در شرایط آزمایشگاهی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، ۲۵۰ ص.

Andersen, R. A., 2013. The microalgal cell. In A. Richmond & Q. Hu (Eds.), *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology* (3–20pp). Oxford: John Wiley & Sons

Azab, M. S., 2000. Reuse of wastewater of food industry for the production of fungal biomass and enzymes for the bio treatment of wastewater Egypt J. Biotechnology, 7:163-179.

Banerjee, S., Hew, Khatoon, W. E., H. and Shariffi, M., 2011. Growth and proximate composition of tropical marine *Chaetoceros calcitrans* and *Nannochloropsis oculata* cultured outdoors and under laboratory condition. African Journal of Biotechnology. 10(8): 1375-1383

Cai, T., Park, S. Y. and Li, Y., 2013. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 19, 360–369. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2012.11.030>

Eyster, H. C., Brown, T. E. and Tanner, H. A., 1958. Mineral requirements for *Chlorella pyrenoidosa* under autotrophic and heterotrophic conditions.

Gopinathan, C. P., 1993. Hand book on aqua farming live feed. Publ: The Marin Products Expiry Development Authority, 61pp.

Grobbelaar, J. U., 2013. Inorganic algal nutrition. In A. Richmond & Q. Hu (Eds.), *Handbook of Microalgal Culture* (123–133 pp.). Oxford: John Wiley & Sons.

Hoffman, J. P., 1998. Wastewater treatment with suspended and non suspended algae. *Journal of Phycology*, 34: 757-763.

Janczyk, P., Frank, H. and Souffrant, W. B., 2007. Nutritional value of *Chlorella vulgaris*: Effects of ultrasonic and electro portion on digestibility in rats. *Animal Feed Science and Technology*, 163–169.

Mahmut, O., 2003. Enhancing phosphate removal from wastewater by using poly electrolytes and clay injection. *Hazardous Material*, 100(1-3): 227- 236.

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

Munoz, P. and Guieysse, B., 2006. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. *Water Research*, 40: 2799-2815.

Sen, B., Alp, M. T. and Kocer, M. A. T., 2005. Studies on Growth of Marine Microalgae in Batch Culture: I. *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta). Asian Journal of Plant Sciences: 646-638.

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

Vasconcelos, V. M., 2001. Cyan bacterial diversity and toxicity in wastewater treatment plant. Water research, 35: 1354-1357.

Wong, M. H. and Cheung, Y. H., 1985. Heavy metal contents of Macro brachium hainanense fed with waste-grown *Chlorella pyrenoidosa*. Agriculture Wastes, Vol, 13, Issue 1 (available online 2003).

Yusuf, F. M. and Mc, Nabb, C. D., 1997. The effects of phosphorus and nitrogen addition on phytoplankton dominance in tropical ponds. Aquaculture, 28: 591-597.

Zhou, W., 2014. Potential applications of microalgae in wastewater treatments. In J. Liu, Z. Sun, & H. Gerken (Eds.), *Recent Advances in Microalgal Biotechnology* (1-9pp.). Foster City, CA: OMICS Group ebook.