

## استفاده از پساب مزارع سایت پرورش میگوی شور اول بندرعباس در کشت ریز جلبک دریایی

*Nannochloropsis oculata*محمد شمسانی<sup>۱</sup>، زهرا قاسمی<sup>۱\*</sup>، زهرا امینی خویی<sup>۲</sup>

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

۲- مرکز تحقیقات شیلات آبهای دور چابهار، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، چابهار، ایران

## چکیده

## نوع مقاله

## مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۲۰

تاریخ چاپ الکترونیکی:

۱۴۰۳/۱۲/۱۵

\*نویسنده مسئول:

z.ghasemi@hormozgan.ac.ir

استفاده از پساب آبزی پروری که غنی از مواد مغذی است به عنوان محیط رشد برای پرورش ریز جلبکها می تواند به کاهش وابستگی به محیط کشت های شیمیایی کمک کند. در مطالعه ای ۱۴ روزه، تأثیر جایگزینی محیط کشت استاندارد (کنترل) با پساب پرورش میگو به میزان ۱۰ درصد، ۲۵ درصد و ۵۰ درصد بر رشد سلولی ریز جلبک *Nannochloropsis oculata* بررسی شد. نتایج نشان داد که در روزهای ابتدایی (تا روز ششم)، غلظت های مختلف پساب موجب افزایش رشد سلولی بیشتری نسبت به محیط کنترل شدند. از روز هشتم تا دهم میزان رشد سلولی در غلظت ۱۰ درصد با ثبت ۲۱۹۰ سلول در میلی لیتر (روز ده)، مشابه محیط کنترل بود، اما در غلظت های بالاتر ۲۵ و ۵۰ درصد، کاهش معنی دار رشد سلولی مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). در روز دوازدهم، میزان رشد سلولی در غلظت پساب ۱۰ درصد، بیشتر از محیط کنترل بود ( $p < 0.05$ ). این موضوع نشان دهنده پتانسیل پساب مزارع پرورش میگو برای کشت ریز جلبک در غلظت های مختلف است، هرچند که بهینه سازی نسبت ها برای جلوگیری از اثرات منفی مواد سمی ضروری است. همچنین نتایج نشان داد که با گذشت زمان، توانایی پساب پرورش میگو برای تحریک رشد سلولی متفاوت است. به طور کلی، یافته ها به اهمیت استفاده از پساب به عنوان منبع کشت سلولی تأکید می کند و می تواند راهگشای بهینه سازی شرایط کشت و کاربردهای تجاری در فرآیندهای پرورش میکروارگانیسم ها باشد.

**کلید واژه ها:** پساب آبزی پروری، رشد سلولی جلبک، محیط کشت جایگزین، زیست پالایی

## مقدمه

تولید آبزیان به منظور تامین غذا و تغذیه بشر به سرعت در حال توسعه بوده و تولید جهانی آبزیان در سال ۲۰۲۰ به ۸۷/۵ میلیون تن رسید [۱]. با این حال، آبزی پروری های مستقر در خشکی به حجم زیادی از آب نیاز دارند تا بهره وری خود را حفظ کنند و حجم عظیمی از پساب های حامل مواد جامد معلق و آلاینده ها (فسفر، کربن، نیتروژن) را تولید می کنند [۳]. اگر این پساب ها به درستی مدیریت نشوند، منجر به مشکلات زیست محیطی بزرگ می گردند و موجب کاهش کیفیت و آلودگی آب های دریافت کننده می شوند [۴]. تولید آبزی پروری به شدت به برخی از متغیرهای محیطی (مانند بارندگی، دما، شوری و غیره) وابسته است و در برابر اثرات تغییرات آب و هوایی بسیار آسیب پذیر است [۵]. فن آوری های زیادی برای به حداقل رساندن آلودگی آب به کار گرفته شده است و یکی از آن فناوری ها که در حال توسعه است، زیست پالایی می باشد. زیست پالایی از میکروارگانیسم های طبیعی موجود برای تصفیه آب تخلیه شده از مواد مغذی استفاده می کند. ثابت شده است که زیست پالایی مقرون به صرفه تر از سایر فناوری ها برای پاکسازی پساب ها است [۶]. تصفیه فاضلاب موجب کاهش چشمگیر مقدار مواد کربنی (آلی) و در مواردی که آب های حساس درگیر هستند، ترکیبات نیتروژن (N) و فسفر (P) قبل از تخلیه است. وجود این مواد در غلظت های زیاد می تواند اثرات مضر بر سطوح غلظت اکسیژن محلول ( $O_2$ )، وضعیت تغذیه ای و در نهایت وضعیت سلامتی جانوران و گیاهان در آب داشته باشد [۷].

ریز جلبک‌ها به‌طور موثری از نیتروژن و فسفر موجود در فاضلاب برای رشد سلولی استفاده می‌کنند [۸]. ریز جلبک‌ها می‌توانند این مواد شیمیایی را جذب کرده و آن‌ها را به زیست توده تبدیل کنند که می‌توان از آن‌ها استفاده کرد. افزایش هزینه مورد نیاز برای کشت ریز جلبک یکی از مشکلات این صنعت است. این امر به دلیل استفاده مداوم از مواد شیمیایی گران قیمت مانند کودهای Conway یا Walne برای دوباره پر کردن مواد مغذی در محیط‌های رشد است [۹، ۱۰]. تولید زیست توده ریز جلبک و مواد مغذی آن به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر ترکیب کل مواد مغذی و غلظت مواد مغذی مناسب خواهد بود. بنابراین، برای تأمین نیازهای غذایی ریز جلبک‌ها در طول کشت، لازم است محیط کشت با درشت مغذی‌ها و ریز مغذی‌ها تغذیه شود. یکی از جایگزین‌های مناسب برای محیط‌های کشت، پساب آبرزی پروری، مانند پساب مزارع پرورش میگو است. ریز جلبک‌ها به‌عنوان عوامل امیدوارکننده‌ای برای بهبود کیفیت پساب در حالی که مواد مغذی را از پساب با هزینه کم و به شیوه‌ای دوستدار محیط زیست جمع‌آوری می‌کنند، شناخته شده‌اند [۱۱-۱۳].

سررده Nannochloropsis از ریز جلبک‌های دریایی تک‌سلولی و غیر متحرک متعلق به شاخه Heterokontophyta، رده Eustigmatophyceae و خانواده Eustigmataceae می‌باشد. سلول این ریز جلبک از نظر مورفولوژی ساده با قطر ۲ تا ۸ میکرومتر است و دارای پلاستیدهایی شبیه به سلول‌های گیاهی است. به‌طور کلی سرعت رشد بالا، محتوای چربی قابل توجه، ترکیب اسیدهای چرب مناسب، سازگاری محیطی خوب و مقاومت در برابر آلودگی صفات برتر در ریز جلبک برای تولید لیپید هستند. ریز جلبک Nannochloropsis sp. به‌عنوان یک ریز جلبک بالقوه دارای راندمان فتوسنتزی بالا، بهره‌وری چربی بالا و مناسب برای سیستم‌های کشت در فضای باز در مقیاس بزرگ است [۱۴-۱۶]. این ریز جلبک به دلیل بازدهی بالا در آژانس حفاظت محیط زیست ایالات متحده آمریکا (EPA) به‌عنوان یکی از امیدوارکننده‌ترین ریز جلبک‌ها برای تولید در نظر گرفته می‌شود [۱۷].

استفاده از فاضلاب آبرزی پروری غنی از مواد مغذی به‌عنوان محیط رشد برای توسعه ریز جلبک‌ها می‌تواند وابستگی به محیط کشت‌های شیمیایی را کاهش دهد. با این حال، در حال حاضر تحقیقات کمی در مورد اثر استفاده از پساب مزارع پرورش میگو بر عملکرد رشد ریز جلبک‌ها وجود دارد. بنابراین مطالعه حاضر با هدف تعیین عملکرد رشد سلولی ریز جلبک *Nannochloropsis oculata* با استفاده از پساب پرورش میگو به عنوان محیط کشت انجام می‌گیرد تا بتوان اطلاعات پایه‌ای را در این زمینه به دست آورد.

## مواد و روش‌ها

برای کشت ریز جلبک‌ها از آب تصفیه شده دریا، دریافت شده از یک واحد تکثیر میگو در بندر لنگه با شوری ۳۰ گرم در لیتر استفاده شد. همچنین استوک (بذر خالص) ریز جلبک *N. oculata* از یک کارگاه تکثیر ماهی زینتی در جزیره قشم تهیه شد. گونه ریز جلبک به وسیله میکروسکوپ نوری مورد بررسی و شناسایی قرار گرفت و آلودگی پروتوزوئرها یا زئوپلانکتون‌ها در آن‌ها مشاهده نشد. برای کشت ریز جلبک از محیط کشت استاندارد گیلارد استفاده شد. پساب مورد نیاز، از خروجی استخرهای سایت پرورش میگوی شور اول بندرعباس در ماه سوم پرورش تهیه شد. به منظور کشت ریز جلبک‌ها ابتدا آب دریا و پساب با استفاده از کاغذ واتمن تصفیه شده و سپس درون دستگاه اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه استریل گردید. ظروف کشت نیز با محلول‌های ضد عفونی شسته شد و در اتوکلاو قرار گرفت تا استریل شوند. دمای سالن کشت ریز جلبک‌ها ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره‌ی نوری شامل ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود که توسط لامپ‌های ال‌ای دی و تایمر تنظیم شد.

مطالعه حاضر در قالب پنج تیمار انجام شد که به شرح ذیل می‌باشد:

۱. تیمار اول شامل ۱۰۰ درصد محیط کشت استاندارد گیلارد (تیمار کنترل)

۲. تیمار دوم شامل ۹۰ درصد محیط کشت استاندارد و ۱۰ درصد پساب پرورش میگو

۳. تیمار سوم شامل ۷۵ درصد محیط کشت استاندارد و ۲۵ درصد پساب پرورش میگو

۴. تیمار چهارم شامل ۵۰ درصد محیط کشت استاندارد و ۵۰ درصد پساب پرورش میگو

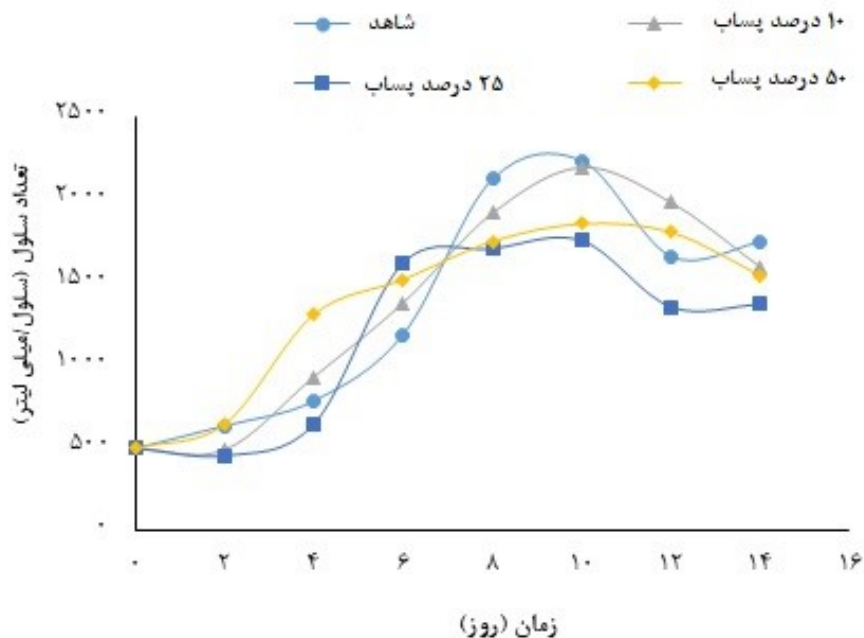
هر تیمار شامل ۴۰۰ سی سی آب (شامل محیط کشت یا پساب) بود که به آن‌ها مقدار ۱۰ سی سی بذر خالص ریزجلبک افزوده شد. تراکم سلولی ریزجلبک‌ها هر دو روز یکبار توسط لام هموسیتمتر و میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به پیش‌آزمایش‌های انجام شده و رسم نمودار رشد ریزجلبک، دوره ی رشد ۱۴ روز در نظر گرفته شد. پس از پایان دوره آزمایش، عملکرد رشد سلولی ریزجلبک مورد بررسی در پرورش با پساب مزارع پرورش میگو به‌عنوان جایگزین محیط کشت استاندارد در قالب تیمارهای مختلف و در سه تکرار مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

در این تحقیق برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS 16 و به منظور رسم نمودارها از Excel (۲۰۱۳) استفاده شد. ابتدا با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف (Kolmogorov-smirnov) نرمال بودن داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت. از آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) جهت مقایسه بین تیمارها استفاده شد. سپس به کمک آزمون Duncan مقایسه در سطح اطمینان ۹۵ درصد جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها انجام شد. داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه گردید.

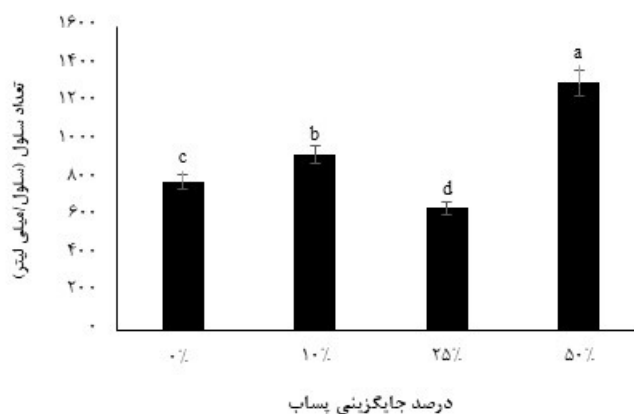
## نتایج

پس از پایان دوره آزمایش، عملکرد رشد ریزجلبک *N. oculata* که با استفاده از پساب مزارع پرورش میگو به‌عنوان جایگزین محیط کشت استاندارد پرورش داده شده بود در قالب تیمارهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت. شکل ۱ نشان‌دهنده تغییرات تعداد سلول‌های ریزجلبک با غلظت اولیه سلولی  $10^4 \times 500$  سلول بر میلی لیتر طی ۱۴ روز پرورش در محیط‌های کشت مختلف است. خطوط مختلف در شکل ۱، رشد در محیط کنترل (بدون پساب) و محیط‌های حاوی ۱۰، ۲۵ و ۵۰ درصد پساب را مقایسه می‌کنند. نتایج نشان می‌دهد افزودن پساب به محیط کشت به میزان ۱۰ درصد، غلظت بهینه پساب برای رشد *N. oculata* است و رشد در این غلظت در روزهای ۴ و ۶ از کنترل بیشتر بوده و در روز دهم برابر با کنترل بوده است.

شکل ۲ تعداد سلول‌های ریزجلبک *N. oculata* را پس از ۴ روز پرورش در شرایط آزمایشی مختلف نشان می‌دهد. تفاوت‌های مشاهده شده در تعداد سلول‌ها بین گروه‌های مختلف نشان‌دهنده تأثیر درصد پساب بر رشد سلولی است. رشد سلولی در غلظت پساب ۱۰ و ۵۰ درصد بالاتر از کنترل بود و غلظت ۲۵ درصد رشد کمتری را بعد از ۴ روز نشان داد. این تفاوت‌ها از نظر آماری معنادار بوده و نشان می‌دهد که درصد پساب بر رشد سلول‌ها تأثیر گذاشته است. بنابراین غلظت پساب ۵۰ درصد که بیشترین رشد را داشته است، شرایط بهتری برای رشد بعد از ۴ روز داشته است، در حالی که غلظت پساب ۱۰ درصد کمترین میزان رشد در دوره زمانی ۴ روزه را داشته است.

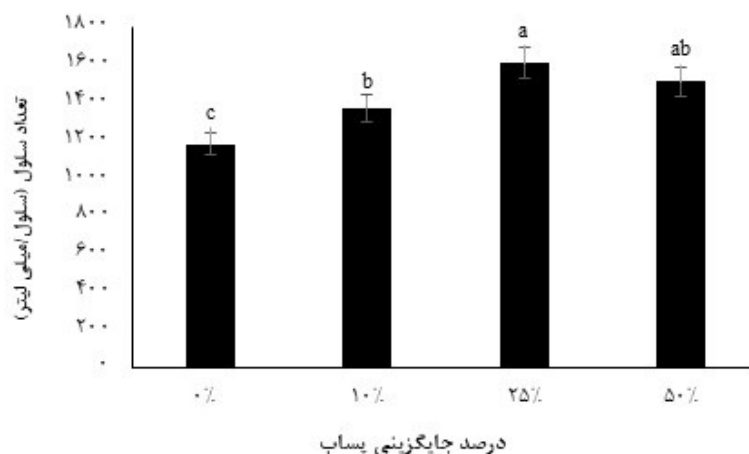


شکل ۱- تغییرات تعداد سلول‌های ریزجلبک *N. oculata* طی ۱۴ روز پرورش با نسبت‌های مختلف پساب به محیط کشت



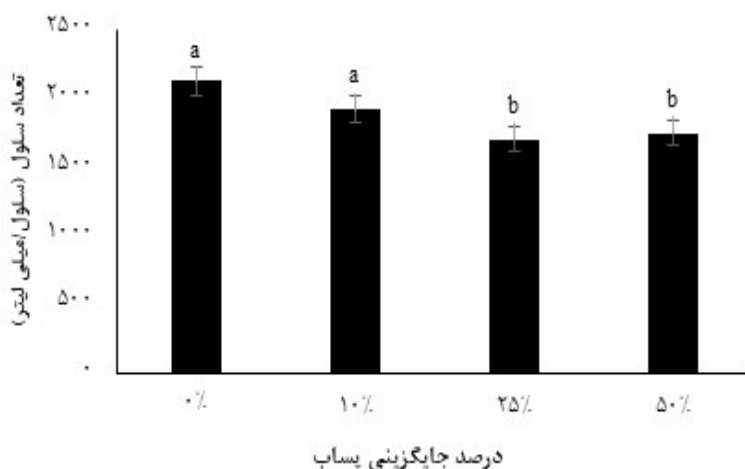
شکل ۲- تعداد سلول‌های ریزجلبک *N. oculata* پس از ۴ روز پرورش با نسبت‌های مختلف پساب به محیط کشت

شکل ۳ تعداد سلول‌های ریزجلبک *N. oculata* را پس از ۶ روز پرورش در شرایط آزمایشی مختلف نشان می‌دهد. بر این اساس، تعداد سلول‌ها در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است که نشان‌دهنده اثر مثبت پساب در تحریک رشد سلولی است. پس از ۶ روز پرورش، تفاوت‌های آماری معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی مختلف مشاهده گردید. تیمار ۲۵ درصد بیشترین تعداد سلول را نشان داد که غلظت بهینه پساب را در این بازه زمانی منعکس می‌کند. روند کلی افزایش تعداد سلول‌ها با افزایش غلظت پساب تا ۲۵ درصد مشاهده می‌شود، اما در تیمار ۵۰ درصد، روند رشد ریزجلبک کاهشی شد که ممکن است ناشی از اثر سمیت پساب در غلظت‌های بالاتر باشد.



شکل ۳- تعداد سلول‌های ریزجلبک *N. oculata* پس از ۶ روز پرورش با نسبت‌های مختلف پساب به محیط کشت

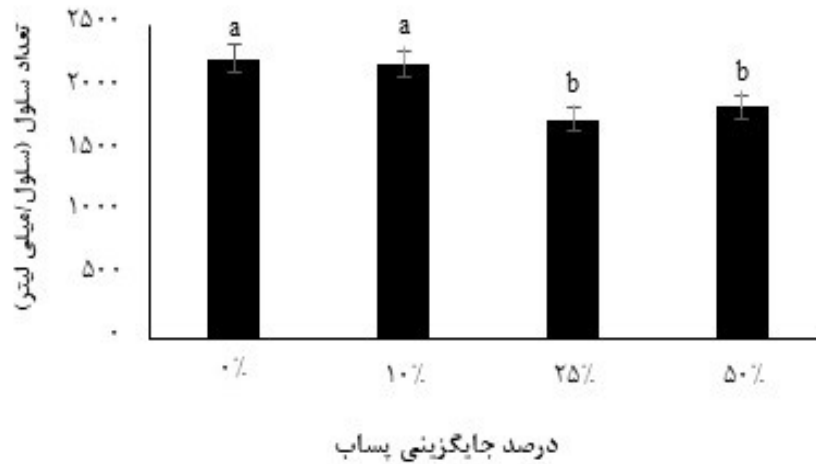
شکل ۴ تعداد سلول‌های ریزجلبک *N. oculata* را پس از ۸ روز پرورش در شرایط آزمایشی مختلف نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که رشد سلولی ریزجلبک در غلظت پساب ۱۰ درصد تفاوت معنی داری با کنترل نداشت. همچنین با وجود کاهش رشد سلولی در تیمارهای ۲۵ و ۵۰ درصد نسبت به تیمار کنترل، رشد سلولی در این دو غلظت نیز قابل توجه بود. میزان رشد سلولی در دو غلظت ۲۵ و ۵۰ درصد به ترتیب به  $1700 \pm 72$  و  $1745 \pm 67$  سلول در میلی لیتر بعد از ۸ روز رسید. در نهایت، این نمودار نشان می‌دهد که پساب تأثیر قابل توجهی بر رشد سلولی دارد و هر سه غلظت عملکرد رشد خوبی را داشته‌اند.



شکل ۴- تعداد سلول‌های ریزجلبک *N. oculata* پس از ۸ روز پرورش با نسبت‌های مختلف پساب به محیط کشت

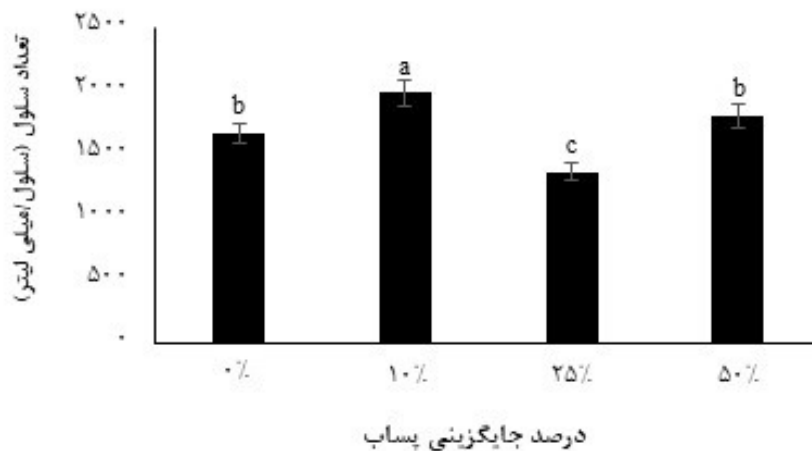
همانطور که شکل ۵ در دهمین روز افزودن پساب به محیط کشت نشان می‌دهد، روند رشد سلولی مشابه با روز هشتم بود. در گروه ۱۰ درصد، تعداد سلول‌ها تقریباً مشابه گروه کنترل است، اما در گروه‌های ۲۵ و ۵۰ درصد، به ترتیب کاهش معنی‌دار در تعداد سلول ریزجلبک مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). با وجود کاهش رشد سلولی در تیمارهای ۲۵ و ۵۰ درصد نسبت به کنترل، رشد سلولی در این دو غلظت، مجدد قابل توجه بود. میزان

رشد سلولی در دو غلظت ۲۵ و ۵۰ درصد پساب به ترتیب به  $1750 \pm 53$  و  $1850 \pm 79$  سلول در میلی لیتر بعد از ۱۰ روز رسید. در نهایت، این نمودار نشان می‌دهد که پساب، تأثیر قابل توجهی بر رشد سلولی دارد و هر سه غلظت عملکرد خوبی داشته‌اند.



شکل ۵- تعداد سلول‌های ریز جلبک *N. oculata* پس از ۱۰ روز پرورش با نسبت های مختلف پساب به محیط کشت

رشد سلولی ریز جلبک بعد از ۱۲ روز پرورش با تیمارهای آزمایشی نتایج جالبی نشان داد (شکل ۶). بیشترین رشد سلولی در تیمار با غلظت پساب ۱۰ درصد مشاهده شد که به طور معنی داری بیشتر از تیمار کنترل بود ( $p < 0.05$ ). در غلظت پساب ۲۵ درصد، تعداد سلول‌ها نسبت به تیمار کنترل کمتر بود، در حالی که در غلظت پساب ۵۰ درصد این مقدار افزایش یافت و میزان رشد سلولی تفاوت معنی داری با گروه کنترل بعد از ۱۲ روز نشان نداد. روند کلی نشان می‌دهد که با افزایش طول دوره، غلظت پساب ۱۰ و ۵۰ درصد می‌تواند جایگزین مناسبی برای محیط کشت استاندارد باشد.



شکل ۶- تعداد سلول‌های ریز جلبک *N. oculata* پس از ۱۲ روز پرورش با نسبت های مختلف پساب به محیط کشت

## بحث و نتیجه گیری

پساب صنعت پرورش میگو غنی از نیتروژن، فسفر و مواد آلی است و تصفیه این آب همیشه مشکلی است که توسعه پایدار پرورش آبزیان را دچار مشکل می‌کند. اگرچه بسیاری از فناوری‌ها و روش‌های زیستی و شیمیایی برای تصفیه فاضلاب استفاده شده است، هزینه‌های عملیاتی بالا و سرمایه‌گذاری اولیه زیاد، کاربرد گسترده آن‌ها را محدود می‌کند. انرژی زیست‌توده ریزجلبک‌ها، یکی از پتانسیل‌های فوق‌العاده در میان انرژی‌های تجدیدپذیر است. در مقایسه با گیاهان عالی، انرژی زیست‌توده ریزجلبک‌ها با ویژگی‌هایی مانند عدم آلودگی زیست‌محیطی، تولید سریع و فرآیند پیرولیز ساده، مزایای زیادی در بهره‌برداری صنعتی دارد با وجود پتانسیل بالای ریزجلبک‌ها در تولید انرژی زیست‌توده، یکی از چالش‌های اصلی در فرآیند صنعتی‌سازی این منبع انرژی، هزینه بالای مواد اولیه است. میزان هزینه مواد تشکیل‌دهنده، که عمدتاً شامل ترکیبات مغذی و مواد شیمیایی مورد نیاز در فرآیند کشت و برداشت است، تقریباً ۷۵ درصد از هزینه کل تولید را به خود اختصاص می‌دهد. این هزینه بالا به دلیل قیمت بالای مواد مغذی، تجهیزات کشت، و فرآیندهای فرآوری می‌باشد. در نتیجه، این عامل یکی از مهم‌ترین موانع در توسعه و تجاری‌سازی گسترده انرژی زیست‌توده ریزجلبک‌ها است و نیاز به بررسی و توسعه مواد مغذی ارزان‌تر و روش‌های اقتصادی‌تر کشت جلبک برای تحقق اهداف پایدار و اقتصادی در تولید این نوع انرژی احساس می‌شود [۱۳].

ریزجلبک‌ها قادر هستند از عناصر مغذی مانند نیتروژن، فسفر و همچنین مواد آلی موجود در آب استفاده کنند و با سرعت مناسبی رشد کنند. این توانایی، جلبک‌ها را به گزینه‌ای موثر در فرآیندهای زیست‌پالایی و تصفیه پساب‌های آبی‌پروری تبدیل کرده است. استفاده از ریزجلبک‌ها در تصفیه پساب، نه تنها می‌تواند مقادیر قابل توجهی از نیتروژن و فسفر که از آلاینده‌های مهم آب‌های صنعتی و پرورشی محسوب می‌شوند، را کاهش دهد، بلکه منجر به تولید جلبک‌های ارزشمند می‌گردد که می‌توان از آن‌ها برای تولید انرژی از زیست‌توده بهره‌برداری کرد. این رویکرد، علاوه بر کاهش هزینه‌های تصفیه و مدیریت پساب، می‌تواند در تدوین روش‌های پایدار و اقتصادی برای چرخه‌های مربوط به تولید انرژی و خوراک در صنعت آبی‌پروری مؤثر باشد [۳].

در زمینه پرورش میگو، جلبک‌ها به عنوان یکی از منابع غذایی اولیه طبیعی، نقش حیاتی ایفا می‌کنند. آن‌ها می‌توانند در مراحل لاروی و نوجوانی به عنوان منبع اولیه مواد مغذی و خوراک محسوب شوند. انواع مختلف جلبک‌ها، در تحقیقات متعددی به عنوان ریزماده غذایی در فرآیندهای پرورشی مطالعه شده‌اند؛ اما تنها دسته‌ای محدود از آن‌ها، توانایی و سازگاری لازم برای مصرف مستقیم و به عنوان غذای طبیعی در سیستم‌های پرورشی دارند. انتخاب نوع مناسب جلبک، بستگی به ویژگی‌های تغذیه‌ای، سرعت رشد و تأثیرات بیولوژیکی آن بر رشد مراحل مختلف موجودات پرورشی دارد که در بهینه‌سازی فرآیندهای تولید و کاهش هزینه‌ها، حیاتی است.

ریز جلبک *Nannochloropsis sp.* یکی از گونه‌های باارزش است که به عنوان منبع اولیه غذایی و در فرآیندهای کشت متراکم و نیمه‌انبوه، کاربرد وسیعی دارد. این جلبک به دلیل غنای بالای پروتئین (۳۴-۴۱ درصد)، میزان مناسبی کربوهیدرات (۷-۱۳ درصد) و لیپید (۷-۹ درصد)، گزینه‌ای مناسب برای تغذیه اولیه در سیستم‌های پرورشی محسوب می‌شود. علاوه بر این، *Nannochloropsis sp.* در محیط‌های پرورشی، بدون تولید سموم و آسیب به تجهیزات کشت، رشد نسبتاً سریع و پایداری نشان می‌دهد. از دیگر ویژگی‌های مهم آن می‌توان به قابلیت جذب مواد سمی مانند سرب و جیوه اشاره کرد که این ویژگی‌ها، آن را به یک جلبک مفید در بهبود کیفیت محیط زیست و محیط‌های پرورشی تبدیل کرده است. با این حال، یکی از چالش‌های عمده در فرآیندهای کشت *Nannochloropsis*، هزینه بالای تولید است. این هزینه‌ها عمدتاً ناشی از نیاز به تامین مواد مغذی با غلظت و ترکیب مناسب در محیط کشت است، که هنوز غالباً بر اساس کودهای گران‌قیمت مانند محیط‌های کشت Conway و Walne استوار است. بنابراین، توسعه و بهره‌برداری از محیط‌های کشت اقتصادی‌تر و جایگزین، جهت کاهش هزینه‌ها و افزایش بهره‌وری امری بسیار ضروری است. ترکیب دقیق مواد مغذی و تنظیم غلظت آن‌ها تأثیر مستقیم بر میزان زیست‌توده تولید شده و غلظت مواد مغذی در جلبک دارد که نقش حیاتی در بهبود کارایی و اقتصادی بودن فرآیند کشت دارد.

در این راستا، می‌توان به عنوان گزینه جایگزین، استفاده از پساب‌های آبی‌پروری، به ویژه پساب‌های حاوی مواد مغذی حاصل از تغییر آب در استخرهای پرورش میگو را پیشنهاد داد. پساب آبی‌پروری میگو ناشی از فرآیند تعویض و جایگزینی آب در سیستم‌های پرورشی است که حاوی مواد مغذی و ریزمغذی‌ها هستند. استفاده از این پساب‌ها نه تنها منبعی غنی از نیتروژن و فسفر است، بلکه می‌تواند به عنوان محیط کشت اقتصادی و پایدار برای تولید *Nannochloropsis sp.* مورد استفاده قرار گیرد، در نتیجه موجب کاهش هزینه‌های تولید و بهبود مدیریت پسماندهای زیستی می‌شود. علاوه بر این، بازیابی و استفاده مجدد از پساب‌های پرورشی می‌تواند نقش مهمی در بهبود کیفیت آب و کاهش آلودگی‌های زیستی و شیمیایی محیط‌های پرورشی ایفا کند.

در مطالعه حاضر، تأثیر استفاده از پساب مزارع پرورش میگو به عنوان محیط کشت برای ریزجلبک *N. oculata* مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج، پتانسیل قابل توجه این جلبک را به عنوان یک روش زیستی مؤثر برای تصفیه پساب مزارع پرورش میگو و تولید زیست‌توده با ارزش، تأیید کرد. در طول دوره ۱۴ روزه، تغییرات در تعداد سلول‌های *N. oculata* در سطوح مختلف غلظت پساب مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها نشان دادند که افزودن پساب به محیط کشت بر روند رشد سلولی ریزجلبک تأثیر قابل توجهی داشته است.

در روزهای نخست، یعنی پس از ۴ روز، مقایسه میزان رشد سلولی در غلظت‌های ۵۰ درصد و ۱۰ درصد پساب نشان داد که در هر دو غلظت، رشد سلولی بالاتر از غلظت ۲۵ درصد پساب و محیط کنترل است (شکل ۲). این روند رشد سریع در روزهای بعد نیز تا روز ششم در تمام غلظت‌های پساب نسبت به محیط کنترل ادامه یافت و نشان‌دهنده تأثیر مثبت غلظت‌های متوسط پساب در فعال‌سازی رشد ریزجلبک بود (شکل ۳). بعد از گذشت ۸ و ۱۰ روز میزان رشد سلولی در غلظت ۱۰ درصد پساب مشابه محیط کشت کنترل بود و رشد سلولی بیشتری نسبت به سایر غلظت‌ها نشان داد.

بعد از گذشت ۸ و ۱۰ روز، با افزایش غلظت پساب به ۲۵ و ۵۰ درصد، رشد سلولی کاهش یافت ولی با این وجود رشد سلولی به‌طور چشمگیری بالا بود و مقدار ۱۷۵۰ و ۱۸۵۰ سلول در میلی‌لیتر به ترتیب برای غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ درصد ثبت شد (شکل ۴ و ۵) که نشان‌دهنده پتانسیل بالا و سازگاری نسبی این غلظت‌ها برای رشد ریزجلبک *N. oculata* می‌باشد. این نتایج، قابلیت پساب مزارع پرورش میگو به عنوان منبع مغذی برای کشت ریزجلبک *N. oculata* در غلظت‌های بالاتر را نشان می‌دهد.

در روز دوازدهم، بالاترین میزان رشد سلولی مربوط به غلظت ۱۰ درصد پساب با مقدار تقریبی  $2190 \pm 93$  سلول در میلی‌لیتر ثبت شد درحالی‌که میزان رشد سلولی برای غلظت ۵۰ درصد برابر با میزان رشد سلولی در محیط کنترل بود. نتایج نشان‌دهنده آن است که غلظت جایگزین ۱۰ درصد پساب می‌تواند به عنوان غلظت بهینه برای تولید زیست‌توده *N. oculata* در مقایسه با محیط کشت متداول محسوب گردد. نمودار رشد سلولی در طول دوره ۱۲ روزه (شکل ۶) تأکید می‌کند که پساب پرورش میگو، به‌ویژه در غلظت ۱۰ درصد، به عنوان یک منبع مغذی مناسب و اقتصادی برای رشد ریزجلبک *N. oculata* عمل می‌کند و این روند می‌تواند به کاهش هزینه‌های تولید زیست‌توده‌های ارزشمند کمک کند. این یافته‌ها نشان می‌دهند که استفاده از پساب مزارع پرورش میگو در غلظت‌های متوسط، راهکاری پایدار و کارآمد در بهبود بهره‌وری تولید جلبک‌های خوراکی و زیستی است، ضمن اینکه نقش مهمی در مدیریت پسماندهای زیستی و کاهش آلودگی‌های زیستی محیط‌های پرورشی ایفا می‌نماید. رشد قابل‌توجه در غلظت‌های مختلف پساب نشان‌دهنده این است که حتی در غلظت‌های بالاتر نیز می‌توان از پساب برای رشد جلبک‌ها بهره‌برداری کرد. هرچند که باید دقت شود تا غلظت پساب به‌طور بهینه تنظیم گردد تا اثرات منفی مواد سمی موجود در پساب، مانند نیتروژن و فلزات سنگین، به حداقل برسد. تنظیم دقیق غلظت پساب و پایش ویژگی‌های محیطی ضروری است تا از بروز اثرات منفی و محدودیت‌های زیستی جلوگیری شود و فرآیند کشت بهینه گردد. نتایج به دست آمده با مطالعات قبلی نیز همخوانی داشت. کبیر و همکاران (۱۳۹۷) نشان دادند که میزان ماده خشک ریزجلبک *Scenedesmus obliquus* در طول دوره پرورش در پساب مزارع میگو افزایش معنی‌داری پیدا نموده است. Pooja و همکاران [۱۸] در مطالعه‌ای که بر کشت *Chlorella vulgaris* در پساب شهری انجام دادند، گزارش دادند که مقدار زیست‌توده تولید شده حدود ۰/۶۷ گرم در لیتر و میزان لیپید در حدود ۰/۲۶ گرم در لیتر است، که نشان از قابلیت تولید زیستی قابل توجه در محیط‌های آبی آلوده



دارد. کشت دو ریز جلبک *S. platensis* و *C. vulgaris* بر روی پساب آمونیاک سازی توسط Safari و همکاران [۱۹] نشان داد که *S. platensis* نسبت به *C. vulgaris* توانایی بیشتری برای رشد در سطوح بالای غلظت نیترژن کل دارد. حداکثر میزان تولید زیست توده در نمونه های رقیق شده یک درصد برای *C. vulgaris* و سه درصد برای *S. platensis* به دست آمد. Shafiq و همکاران [۲۰] بیان کردند که بالاترین میزان زیست توده (۶/۰۷ گرم در لیتر) *C. vulgaris* در محیطی حاوی ۵۰ درصد پساب تخمیری غنی از مواد آلی به دست آمد. این نتایج، نشان دهنده پتانسیل پساب های صنعتی و زیستی در تولید زیست توده های ارزشمند و ارتقاء بهره وری در فرآیندهای پرورشی است. در مجموع، این نتایج نشان می دهند که با تنظیم مناسب غلظت پساب، می توان علاوه بر بهره برداری اقتصادی از منابع آب آلوده، نقش مؤثری در کاهش آلودگی های زیستی و شیمیایی و توسعه فرآیندهای پایدار زیستی ایفا کرد.

با توجه به نتایج ارائه شده در تحقیق حاضر نیز تأثیر پساب بر رشد سلول های ریزجلبک *N. oculata* و ارتباط معنادار بین درصد پساب و رشد سلولی به طور واضح مشخص شده است. در روز چهارم، غلظت های ۱۰ و ۵۰ درصد پساب رشد سلولی بالاتری را نسبت به گروه کنترل نشان دادند. این نکته حاکی از آن است که این غلظت ها می توانند شرایط مطلوبی برای رشد سلولی فراهم کنند. در مقابل، غلظت ۲۵ درصد با کاهش رشد سلولی مواجه بود که ممکن است ناشی از نحوه تأثیر این غلظت بر متابولیسم سلول ها باشد. با بررسی روندها در روز ششم، مشاهده می شود که رشد سلولی در غلظت ۲۵ درصد به مراتب بهتر از غلظت های بالاتر بوده است. در روز دوازدهم، نتایج حاکی از آن بود که غلظت ۱۰ درصد به طور معناداری از گروه کنترل پیشی گرفت، در حالی که غلظت ۲۵ درصد با کاهش در تعداد سلول ها مواجه شد. این نتایج به ما این پیام را می دهد که در طول زمان، غلظت های پایین تر ممکن است برای رشد سلولی مزایایی بیشتری نسبت به غلظت های بالاتر داشته باشند. در غلظت های ۲۵ و ۵۰ درصد، با وجود کاهش رشد نسبت به کنترل، هنوز تعداد قابل توجهی از سلول ها به دست آمده است که نشان دهنده پتانسیل این غلظت ها برای تحریک رشد سلولی است.

نتایج بررسی های انجام شده در این مطالعه نشان می دهد که توانایی پساب در تحریک رشد سلولی در طول زمان، متفاوت است و ممکن است با گذر زمان تغییر یابد. به ویژه، غلظت های بالای پساب، در صورت عدم کنترل مناسب، می تواند اثرات منفی بر روند رشد سلولی داشته باشد، که این موضوع نیازمند مطالعه های بیشتر و دقیق است تا مکانیزم های تأثیر آن در سطح سلولی و مولکولی به درستی فهمیده شود. شناخت بهتر این مکانیزم ها، می تواند در تدوین استراتژی های بهینه سازی شرایط کشت، بهبود کارایی فعال سازی رشد و کاهش اثرات منفی مواد سمی موجود در پساب نقش مؤثری ایفا کند.

بر اساس یافته های حاضر، می توان نتیجه گرفت که استفاده از پساب به عنوان یک منبع غنی از مواد مغذی و تحریک کننده رشد سلولی پتانسیلی قابل توجه دارد. با این حال، در نظر داشتن نسبت های بهینه غلظت های پساب، از اهمیت ویژه ای برخوردار است؛ زیرا غلظت های بالاتر ممکن است اثرات سمی بر سلول ها داشته باشند یا فرآیندهای متابولیکی را مختل نمایند. بنابراین، تعیین نسبت های بهینه، یک گام اساسی در توسعه فناوری های مبتنی بر پساب است که می تواند اثرات سمی و هزینه های اقتصادی را به حداقل برساند.

نتایج این مطالعه، نه تنها در حوزه تحقیقات زیستی و بیولوژیکی اهمیت دارد، بلکه می تواند راهنمایی ارزشمند برای توسعه روندهای تجاری و صنعتی در زمینه بهره برداری از پساب های صنعتی و زیستی برای فرآیندهای پرورش موجودات باشد. استفاده مؤثر و بهینه از پساب ها، ضمن کاهش هزینه ها و پسماندهای زیستی، می تواند در فرآیندهای پرورش و تولید زیست توده بستر سازی کند و نقش مهمی در چرخه های پایدار زیستی ایفا نماید.

### نتیجه گیری نهایی

استفاده از پساب غنی از مواد مغذی آبی پروری به عنوان محیط کشت ریزجلبک ها می تواند وابستگی به ترکیبات شیمیایی را کاهش دهد. نتایج بررسی اثر غلظت های مختلف پساب مزارع پرورش میگو (۱۰، ۲۵ و ۵۰ درصد) بر رشد سلولی ریزجلبک *N. oculata* در یک مطالعه ۱۴ روزه

نشان داد که در هفته اول، غلظت‌های مختلف پساب منجر به افزایش رشد سلولی در مقایسه با گروه کنترل شدند. غلظت ۱۰ درصد در روز دوازدهم رشد بیشتری نسبت به کنترل داشت، در حالی که غلظت‌های بالاتر کاهش رشد را نشان دادند. باتوجه به اینکه با گذشت زمان، توانایی پساب برای تحریک رشد سلولی متفاوت است، بهینه‌سازی غلظت‌ها برای رسیدن به بالاترین میزان رشد سلولی ریز جلبک‌ها دارای اهمیت می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله، مراتب تشکر و قدردانی خود را از مدیریت محترم کارگاه تکثیر ماهی زینتی قشم، سایت تکثیر میگوی بندر لنگه و آزمایشگاه کشت ریز جلبک دانشگاه هرمزگان جهت همکاری بی دریغ و در اختیار قرار دادن بذر خالص ریز جلبک و آب تصفیه شده دریا و فضای آزمایشگاهی ابراز می‌نمایند.

**سهم نویسندگان:** موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

**منابع مالی:** موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

**تاییدیه اخلاقی:** موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

**تعارض منافع:** موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

### منابع

- [1] FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome, FAO. 2022. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>.
- [2] V. Abdi, I. Sourinejad, Z. Ghasemi, S.A. Johari, The Effect of a Diet Supplemented with Nanoencapsulated Quercetin Using Chitosan Nanoparticles on Growth Performance and Survival in Pacific White Shrimp (*Penaeus vannamei*), *Journal of Fisheries Science and Technology*, 13 (2024) 205-219.
- [3] F.A. Ansari, S.K. Gupta, F. Bux, Microalgae: a biorefinary approach to the treatment of aquaculture wastewater, *Application of Microalgae in Wastewater Treatment: Volume 2: Biorefinery Approaches of Wastewater Treatment*, (2019) 69-83.
- [4] E. Thomsen, L.S. Herbeck, T.C. Jennerjahn, The end of resilience: Surpassed nitrogen thresholds in coastal waters led to severe seagrass loss after decades of exposure to aquaculture effluents, *Marine Environmental Research*, 160 (2020) 104986.
- [5] N. Ahmed, G.M. Turchini, Recirculating aquaculture systems (RAS): Environmental solution and climate change adaptation, *Journal of Cleaner production*, 297 (2021) 126604.
- [6] F.M. Santos, A.L. Gonçalves, J.C. Pires, Negative emission technologies, in: *Bioenergy with Carbon Capture and Storage*, Elsevier, 2019, pp. 1-13.
- [7] S. Tsani, P. Koundouri, E. Akinsete, Resource management and sustainable development: A review of the European water policies in accordance with the United Nations' Sustainable Development Goals, *Environmental Science & Policy*, 114 (2020) 570-579.
- [8] J. Falamarzi, Z. Ghasemi, M.A. Nematollahi, Investigating the possibility of cattle wastewater treatment using *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) microalga, *Journal of Fisheries Science and Technology*, 13 (2024) 41-54.
- [9] M. Priya, N. Gurung, K. Mukherjee, S. Bose, Microalgae in removal of heavy metal and organic pollutants from soil, in: *Microbial biodegradation and bioremediation*, Elsevier, 2014, pp. 519-537.
- [10] D.A. Mitchell, O.F. von Meien, N. Krieger, F.D.H. Dalsenter, A review of recent developments in modeling of microbial growth kinetics and intraparticle phenomena in solid-state fermentation, *Biochemical Engineering Journal*, 17 (2004) 15-26.
- [11] R.D. Sooknah, A.C. Wilkie, Nutrient removal by floating aquatic macrophytes cultured in anaerobically digested flushed dairy manure wastewater, *Ecological Engineering*, 22 (2004) 27-42.

- [12] M. Heidari, H.-R. Kariminia, J. Shayegan, Effect of culture age and initial inoculum size on lipid accumulation and productivity in a hybrid cultivation system of *Chlorella vulgaris*, *Process Safety and Environmental Protection*, 104 (2016) 111-122.
- [13] L. Delgadillo-Mirquez, F. Lopes, B. Taidi, D. Pareau, Nitrogen and phosphate removal from wastewater with a mixed microalgae and bacteria culture, *Biotechnology reports*, 11 (2016) 18-26.
- [14] R. Radakovits, R.E. Jinkerson, S.I. Fuerstenberg, H. Tae, R.E. Settlege, J.L. Boore, M.C. Posewitz, Draft genome sequence and genetic transformation of the oleaginous alga *Nannochloropsis gaditana*, *Nature communications*, 3 (2012) 686.
- [15] L. Rodolfi, G. Chini Zittelli, N. Bassi, G. Padovani, N. Biondi, G. Bonini, M.R. Tredici, Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor, *Biotechnology and bioengineering*, 102 (2009) 100-112.
- [16] A. Vieler, G. Wu, C.-H. Tsai, B. Bullard, A.J. Cornish, C. Harvey, I.-B. Reca, C. Thornburg, R. Achawanantakun, C.J. Buehl, Genome, functional gene annotation, and nuclear transformation of the heterokont oleaginous alga *Nannochloropsis oceanica* CCMP1779, *PLoS genetics*, 8 (2012) e1003064.
- [17] M. Hoffmann, K. Marxen, R. Schulz, K.H. Vanselow, TFA and EPA productivities of *Nannochloropsis salina* influenced by temperature and nitrate stimuli in turbidostatic controlled experiments, *Marine drugs*, 8 (2010) 2526-2545.
- [18] K. Pooja, V. Priyanka, B.C.S. Rao, V. Raghavender, Cost-effective treatment of sewage wastewater using microalgae *Chlorella vulgaris* and its application as bio-fertilizer, *Energy Nexus*, 7 (2022) 100122.
- [19] J. Safari, H. Abolghasemi, M. Esmaili, H. Delavari Amrei, R. Pourjamshidian, Effect of dilution on nitrogen removal from ammonia plant effluent using *chlorella vulgaris* and *spirulina platensis*, *Pollution*, 7 (2021) 681-691.
- [20] M. Shafiq, L. Zeb, M. Jawad, Z. Chi, Treatment of saline organic-rich fermentation wastewater by marine *Chlorella* sp. for value-added biomass production, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 60 (2021) 13463-13473.

## The use of wastewater from Bandar Abbas shrimp farms in the cultivation of marine microalgae *Nannochloropsis oculata*

Mohammad Shamsaei<sup>1</sup>, Zahra Ghasemi<sup>1\*</sup>, Zahra Amini Khoei<sup>2</sup>

1- Department of Fisheries, Faculty of Marine, Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

2- Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Chabahar offshore Research Center, Chabahar, Iran

### ABSTRACT

Using nutrient-rich aquaculture effluent as a growth medium for cultivating microalgae can help reduce dependence on chemical culture media. In a 14-day study, the effect of replacing a standard culture medium (control) with shrimp farming effluent (10%, 25% and 50%) on the cell growth of microalgae *Nannochloropsis oculata* was investigated. The results showed that in the early days (up to the sixth day), different concentrations of wastewater increased cell growth more than the control medium. From the eighth to the tenth day, the amount of cell growth in 10% concentration with 2190 cells per milliliter (day ten) was similar to the control medium, but in higher concentrations of 25% and 50%, a significant decrease in cell growth was observed ( $p < 0.05$ ). On the twelfth day, the cell growth rate in the effluent concentration of 10% was higher than the control medium ( $p < 0.05$ ). This shows the potential of shrimp farm effluents for microalgae cultivation in different concentrations, although the optimization of ratios is necessary to avoid the negative effects of toxic substances. Also, the results showed that with the passage of time, the ability of shrimp farming effluent to stimulate cell growth varies. In general, the findings emphasize the importance of using wastewater as a source of cell culture and can lead to the optimization of culture conditions and commercial applications in the cultivation processes of microorganisms.

**KEYWORDS:** Aquaculture wastewater, Algae cell growth, Alternative culture medium, Bioremediation, *Nannochloropsis oculata*

### ARTICLE TYPE

Original Research

### ARTICLE HISTORY

Received: 10  
December 2024  
Accepted: 05  
February 2025  
ePublished: 05 March  
2025

\* Corresponding Author:

Email address: z.ghasemi@hormozgan.ac.ir

Tel:

© Published by Tarbiat Modares University

ISSN: 2322-5513