Archive of SID

اثرات سطوح مختلف نیترات و آمونیوم در محیط کشت برای رشد جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda*

صفی‌اله حیدری[۱]، امیدوار فرهادیان[*۲] و نصراله محبوبی صوفیانی[۳]

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران

[۲]استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران

[۳] دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران

(تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۱۱، تاریخ تصویب: ۸۹/۱۲/۱۷)

چکیده

از آنجائی که افزایش نیترات و آمونیوم در محیط‌های آبی باعث ایجاد یوتروفیکاسیون می‌شود، تحمل غلظت‌های بالای نیترات و آمونیوم بوسیله ریزجلبک‌ها و رشد آنها در این غلظت‌ها بیانگر توان بالقوه آنها در تصفیه پساب‌های غنی از نیتروژن و تولید بیوماس مناسب جلبکی در محیط‌های آب شیرین می‌باشد. برای ارزیابی تحمل و رشد جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* در غلظت‌های مختلف نیترات و آمونیوم، پرورش این گونه در محیط کشت BBM (Bold Basal's Medium) در هفت تیمار (۲/۹، ۱۵، ۲۵،۵۰، ۱۰۰،۷۵ و ۱۵۰ میلی مولار نیترات و آمونیوم) در دمای ۲۲ درجه سانتی گراد در شرایط آزمایشگاهی انجام گردید. نتایج نشان داد که‌این گونه توانایی تحمل غلظت ۷۵ میلی مولار نیترات و ۵۰ میلی مولار آمونیوم را دارد و در این غلظت‌ها به رشد خود ادامه می دهد، اگرچه بالاترین تراکم سلول جلبکی ($۳۲/۵ \times ۱۰^{۵}$ سلول در میلی‌لیتر برای نیترات- $۲۵/۲\times۱۰^{۵}$ سلول در میلی‌لیتر برای آمونیوم)، بیشترین بیوماس خشک جلبکی (۱/۲۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر برای نیترات - ۱/۰۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر برای آمونیوم)، و بیشترین میزان رشد ویژه (۰/۰۹۸ در روز برای نیترات- ۰/۰۸۲ در روز برای آمونیوم) از تیمار ۱۵ میلی مولار نیترات و آمونیوم بدست آمد. بنابراین، بر اساس تحمل بالای نیترات و آمونیوم توسط جلبک سندسموس می‌توان از این گونه درمحیط‌های آبی غنی از این ترکیبات استفاده کرد. همچنین توانایی رشد این گونه در غلظت‌های بالا، مبین پتانسیل این جلبک در تصفیه پساب‌های غنی از این ترکیبات می‌باشد. از سوی دیگر، با پرورش این گونه جلبک در غلظت ۱۵ میلی مولار نیترات و آمونیوم، حداکثر بیوماس جلبکی حاصل گردید، بنابراین می‌توان این غلظت را در بهبود ترکیب شیمیایی محیط کشت BBM استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: *Scenedesmus quadricauda*، نیتروژن- نیتراتی، نیتروژن- آمونیومی، میزان رشد ویژه

* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۳۱۱-۳۹۱۳۵۶۴ فاکس: ۰۳۱۱-۳۹۱۲۸۴۰ E-mail: omfarhad@cc.iut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

افزایش غلظت مواد مغذی آب بخصوص نیترات و آمونیوم دارای اثرات مثبت و منفی بر سیستم آبی و زیستمندان آن می‌باشد. از جمله اثرات مثبت آنها می‌توان به افزایش جمعیت فیتوپلانکتون‌ها اشاره کرد (Reynolds, 1984). یون‌های نیترات و آمونیوم اساساً برای ساخت اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها بکار می‌روند که در نتیجه موجبات رشد بسیاری از درشت گیاهان (Macrophytes) و ریزگیاهان (Microphytes) بخصوص ریزجلبک‌ها (Microalgae) را فراهم می نمایند. برخی از این موجودات بعنوان شاخص‌های زیستی در خودپالایی سیستم آبی نقش‌های مهمی را ایفا می‌کنند زیرا مواد مغذی را بطور مستقیم مورد مصرف قرار می‌دهند (Reynolds, 1984; Hellawell, 1986; Mohan and Hosetti, 1999). ریز جلبک‌ها پاسخ رشد متفاوتی را به منابع مختلف نیتروژنی می‌دهند و در این میان جلبک‌های سبز تک سلولی و جلبک‌های سبز آبی رشته‌ای گروه غالب شاخص‌های زیستی را تشکیل می‌دهند (Fitzgerald, 1970; Komarek and Lhotsky, 1979).

از اثرات منفی افزایش غلظت مواد مغذی نیز می‌توان به سمیت برخی از این مواد برای زیستمندان آبی، توسعه و مضرات یوتروفیکاسیون اشاره کرد. آمونیوم بسته به میزان اسیدیته محیط دارای سمیت نسبی می‌باشد. نیترات نیز به عنوان یک آلاینده در آب بخودی خود سمیت چندانی ندارد اما بعنوان پیش ماده نیتریت باعث بروز مشکلاتی از قبیل بیماری خون قهوه‌ای در ماهی و سرطان معده و روده در انسان می‌شود. در نتیجه‌این خطرات، تاکید زیادی بر یافتن فرآیندهای تصفیه کارآمد برای کاهش غلظت‌های نیترات و آمونیوم تا سطوح بی خطر شده است (Campbell, 1999; Pinckney *et al.*, 2000). تحمل غلظت‌های بالای نیترات و آمونیوم بوسیله ریزجلبک‌ها و رشد آنها در این غلظت‌ها بیانگر توان بالقوه آنها در تصفیه پساب‌های غنی از نیتروژن و تولید بیوماس مناسب جلبکی در محیط‌های آب شیرین می‌باشد (Lee and Ong, 1988). از این رو استفاده از راهکار تصفیه پساب با استفاده از ریزجلبک‌ها برای تقویت اثرات مثبت و تقلیل اثرات منفی ترکیبات نیتروژن دار ارزشمند و مفید است زیرا باعث تولید بیوماس جلبکی و خودپالایی سیستم می‌گردد.

کاربرد جلبک‌ها برای تصفیه پساب و نقش آنها در حذف مواد مغذی و تحقیق در مورد مقادیر بهینه نیترات و آمونیوم برای رشد جلبک‌ها به مدت چند دهه است که توسط محققین مختلفی مورد تحقیق قرار گرفته است (McCarthy *et al.*, 1977; Jeanfils *et al.*, 1993; Pinckney *et al.*, 2000) اما مطالعات در ایران به صورت موردی بوده و در ارتباط با عملکرد بسیاری از ریز جلبک‌ها از جمله سندسموس در غلظت‌های مختلف ترکیبات نیتروژن دار اطلاعات کافی در دسترس نمی‌باشد. در همین ارتباط در این آزمایش از ریز جلبک *Scenedesmus quadricauda*، از جلبک‌های سبز کلروفیتا (Chlorophyta)، برای نیل به اهداف مذکور استفاده شد. این جلبک ساکن آب‌های شیرین و شاخص زیستی این محیط‌ها می‌باشد. سلول‌های این جلبک غیرمتحرک و فاقد تاژک است و گاهی اوقات تشکیل کلونی می‌دهد (Riahi, 2002). تعیین بیشینه غلظت آمونیوم و نیترات قابل تحمل برای این گونه بعنوان یک شاخص زیستی ایده آل و پالایشگر کارا زیستی و تعیین مناسب ترین غلظت آمونیوم و نیترات برای رسیدن به حداکثر رشد و تولید در این گونه هدف اصلی این تحقیق است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و خالص‌سازی جلبک *S. quadricauda*

جمع‌آوری جلبک *S. quadricauda* از آب استخرهای خاکی کارگاه پرورش ماهی کرسگان در استان اصفهان صورت گرفت. جلبک سندسموس پس از مشاهده با میکروسکوپ اینورت (مدل CETI ، ساخت بلژیک) به کمک کلیدهای موجود شناسایی شد و با روش Lavens and Sorgeloos (1996) با کشت بر روی آگار

www.SID.ir

Archive of SID

خالص‌سازی گردید. بعد از کشت‌های متوالی در لوله آزمایش ۲۰ سی سی و ارلن مایرهای۲۵۰ سی سی و اطمینان از خالص بودن جلبک، پرورش جلبک در ارلن مایرهای دولیتری با محیط کشت مناسب BBM (مطابق جداول ۱ و ۲) انجام گردید (Nichols, 1973) تا ذخیره اولیه (Stock) جلبک سندسموس جهت انجام آزمایش فراهم شود.

برای کشت جلبک، دو لیتر آب مقطر در ارلن مایرهای شیشه‌ای ریخته شده و به آن مقدار ۲۶ سی سی محیط کشتBBM اضافه شد و سپس با استفاده از pH متر (مدل 744 Metrohm، ساخت سوئیس) اسیدیته آغازین کشت ۶/۸ تنظیم گردید. در مرحله بعد ظروف حاوی محیط کشت جلبک به همراه لوله‌های هوادهی و پنبه‌های کتانی مورد نیاز در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه اتوکلاو (مدل 121A، ساخت ایران) ضدعفونی و استریل گردید. پس از اتمام اتوکلاو و هم دما شدن با دمای آزمایشگاه، محلول ویتامین B12 به میزان یک میکروگرم در لیتر از محیط کشت اضافه گردید و سپس با رعایت شرایط استریل، به هم زده شد. ۲۰۰ سی سی از ذخیره جلبک سندسموس (با غلظت 10^5سلول در میلی‌لیتر) به محیط کشت دارای ویتامین اضافه گردید و در دمای ۲±۲۲ درجه سانتیگراد و شدت نور۶۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه، و در پروتکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی قرار داده شد (Nichols, 1973).

جدول ۱ - محیط کشت BBM مورد استفاده در کشت جلبک سبز *S. quadricauda*

استوک	نوع ماده مصرفی	مقدارماده مصرفی (گرم)	حجم موردنظر(برای تهیه استوک ها)
A	$NaNO_3$	۱۰	در هر ۴۰۰ میلی‌لیتر
	$MgSO_4.7H_2O$	۳	
	K_2HPO_4	۴	
	KH_2PO_4	۶	
	$CaCl_2$	۱	
	NaCl	۱	
B	$ZnSO_4$	۸/۸۲	در هر لیتر (این استوک جهت حل شدن باید اتوکلاو شود)
	MoO_3	۰/۷۱	
	$Co(NO_3)_2.6H_2O$	۰/۴۹	
	$MnCl_2$	۱/۴۴	
	$CuSO_4.5H_2O$	۱/۵۷	
C	H_3BO_4	۱/۱۴	در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر
	EDTA	۵	
	KOH	۳/۱	
D	$FeSO_4.7H_2O$	۴/۹۸	در هر لیتر
	HClغلیظ	۱(ml)	

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲ - حجم استوک مخلوط شده جهت تهیه BBM مورد استفاده در کشت جلبک سبز *S. quadricauda*

استوک	حجم مورداستفاده از هر استوک	حجم کل
A	۱۰	در هر لیتر
B	۱	
C	۱	
D	۱	

نحوه انجام آزمایش

به منظور ارزیابی میزان رشد و زنده مانی جلبک *S. quadricauda* در سطوح مختلف نیترات و آمونیوم، آزمایش به صورت یک طرح کاملاً تصادفی (متعادل) شامل ۷ تیمار مختلف از ماده نیتروژندار نیترات و ۷ تیمار از ماده نیتروژندار آمونیوم در سه تکرار انجام شد (شکل ۱). ابتدا مقدار کافی محیط کشت BBM (مطابق جداول ۱و ۲) تهیه گردید و سپس مقادیر نیترات سدیم و کلرید آمونیوم لازم برای تهیه هر تیمار به هر ارلن مایر اضافه شد، و بعد از بهم زدن، pH تمام واحدهای آزمایشی در ۶/۸ تنظیم گردید. تنظیم pH تمام تیمارها با هیدروکسید سدیم ۰/۱نرمال و اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال با استفاده از pH متر با دقت تمام انجام شد. مهمترین دلیل در تنظیم pH جلوگیری از تاثیرات سدیم و کلرید حاصل از تیمارهای آزمایشی تهیه گردیده با نیترات سدیم و کلرید آمونیوم بر جلبک هدف بود، زیرا بعد از اضافه نمودن این ترکیبات نیتروژن دار به محیط BBM، میزان pH در تیمارهای نیترات سدیم تا حدودی قلیایی می‌شود (اثر یون سدیم در محیط آبی) که با اضافه نمودن اسید کلریدریک خنثی می‌شود، و همچنین در تیمارهای کلرید آمونیوم تا حدودی pH اسیدی می‌شود (اثر یون کلرید در محیط آبی) که با اضافه نمودن هیدروکسید سدیم متعادل می‌شود. در هر صورت تعدیل pH در تمام تیمارها موجب می‌شود که تاثیر حاصل بر جلبک هدف تنها مربوط به نیترات و آمونیوم محیط کشت باشد. سپس ۴۲ عدد ارلن مایر شیشه‌ای ۲۵۰ میلی‌لیتری تهیه و به هرکدام، ۲۲۵ میلی‌لیتر از محیط کشت تهیه شده و ۲۵ میلی‌لیتر جلبک سندسموس (با غلظت $۷/۹۸ \times ۱۰^{۶}$ سلول در میلی‌لیتر) از قبل کشت داده شده، اضافه گردید، بطوریکه غلظت اولیه آزمایش در هر ارلن مایر به $۷/۹۸ \times ۱۰^{۵}$ سلول در میلی‌لیتر رسید. برای تهیه تیمارهای مختلف نیترات از نیترات سدیم و برای تهیه تیمارهای مختلف آمونیوم از کلرید آمونیوم استفاده شد. غلظت نیترات در هریک از تیمارها ۲/۹، ۱۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار درنظر گرفته شد و همین غلظت‌ها نیز از آمونیوم برای تیمارهای مشابه آمونیومی در نظر گرفته شد. تیمار شاهد، محیط کشت BBM در نظر گرفته شد که حاوی ۲/۹ میلی مولار ترکیبات نیتروژن دار بود. شرایط کشت جلبک به روش شرح داده شده در مرحله قبل تنظیم گردید. دوره آزمایش دو هفته (۱۴ روز) در نظر گرفته شد. در آغاز و پایان آزمایش از هر تیمار برای شمارش سلول‌های جلبک و اندازه‌گیری بیوماس خشک تیمارها نمونه برداری شد.

شمارش جلبک‌ها با استفاده از لام هموسیتومتری (Haemacytometer) و با روش پیشنهاد شده توسط Martinez *et al.* (1975) انجام گردید. بیوماس خشک جلبک‌ها با استفاده از روش پیشنهاد شده توسط Lavens and Sorgeloos (1996) با توزین حجم معینی از جلبک‌های شمارش شده بدست آمد. میزان رشد ویژه (Specific growth rate) (SGR) با استفاده از رابطه ذیل محاسبه گردید:

$$SGR = \frac{\ln N2 - \ln N1}{\Delta t}$$

www.SID.ir

Archive of SID

که در آن، N2 تعداد جلبک در انتهای آزمایش، N1 تعداد جلبک در شروع آزمایش و Δt مدت زمان انجام آزمایش است (Omori and Ikeda, 1984). زمان دوبرابر شدن (DT) (Doubling time) جمعیت جلبک‌ها با استفاده از رابطه $DT = \log_e 2/SGR$ بدست آمد (Omori and Ikeda, 1984).

آنالیز آماری داده‌ها با تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح معنی دار ۵ درصد استفاده شد (Zar, 1984). آنالیزهای آماری لازم با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گردید (SPSS, 2002).

شکل ۱- عکسی از طرح آزمایش تاثیر نیترات و آمونیوم بر جلبک سندسموس

نتایج

نتایج آنالیز واریانس یک طرفه، تاثیر تیمار های مختلف نیترات و آمونیوم بر بیوماس، تراکم سلول، میزان رشد ویژه و زمان دوبرابر شدن جلبک سندسموس در جدول۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که تیمار های مختلف از نیترات و آمونیوم تاثیر بسیار معنی دار($P < ۰/۰۱$) بر فاکتورهای مذکور دارد (جدول۳).

میانگین‌های بیوماس خشک جلبکی، تراکم سلول، میزان رشد ویژه و زمان دوبرابر شدن جلبک سندسموس در تیمارهای مختلف از نیترات و آمونیوم در جدول۴ ارائه شده است. نتایج حاصل از آزمایش های تعیین دامنه تحمل نیترات و آمونیوم توسط جلبک سندسموس نشان داد که بازدارندگی رشد سندسموس در غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میلی مولار نیترات و ۷۵ میلی مولار آمونیوم صورت می گیرد. از سوی دیگر مناسب ترین غلظت برای رشد و تولید جلبک سندسموس غلظت ۱۵ میلی مولار نیترات و آمونیوم می‌باشد.

- نتایج اثر تیمار های مختلف نیترات

بیشینه میانگین بیوماس خشک (۱/۲۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و بالاترین میانگین تراکم سلول ($۳۲/۵\times۱۰^{۵}$ سلول در میلی‌لیتر) در جلبک سندسموس مربوط به تیمار ۱۵ میلی مولار نیترات بود. میانگین بیوماس خشک جلبکی و تراکم سلولی در تیمار ۱۰۰ میلی مولار نیترات به بالا نسبت به بیوماس و تراکم سلولی در آغاز آزمایش کمتر بود که نمایانگر رشد منفی زی توده جلبکی در این غلظت می‌باشد، بنابراین غلظت ۱۰۰ میلی مولار نیترات

www.SID.ir

Archive of SID

برای این گونه از جلبک سندسموس بازدارنده رشد می‌باشد (جدول۴).

نتایج نشان داد که بیشترین میزان رشد ویژه (۰/۰۹۸ در روز) و کوتاه ترین زمان دو برابر شدن جمعیت (۷/۳۲ روز) در تیمار ۱۵ میلی مولار نیترات بدست می آید. این در حالی است که در غلظت‌های۱۰۰ میلی مولار نیترات به بالا، جلبک‌ها رشد منفی نشان دادند (جدول۴).

- نتایج اثر تیمارهای مختلف آمونیوم

بیشترین میانگین بیوماس خشک جلبک سندسموس (۱/۰۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و بالاترین میانگین تراکم سلول ($۲۵/۲\times۱۰^{۵}$ سلول در میلی‌لیتر) مربوط به تیمار ۱۵ میلی مولار آمونیوم بود. میانگین بیوماس خشک و تراکم سلول در تیمار ۷۵ میلی مولار آمونیوم به بالا نسبت به بیوماس خشک جلبکی در آغاز آزمایش کمتر بود که نمایانگر رشد منفی زی توده جلبکی در این غلظت می‌باشد، بنابراین غلظت ۷۵ میلی مولار آمونیوم برای این گونه از جلبک سندسموس بازدارنده رشد می‌باشد (جدول۴).

نتایج نشان داد که بیشترین میزان رشد ویژه (۰/۰۸۲ فرد در روز) کوتاهترین زمان دو برابر شدن جمعیت (۸/۵۶ روز) در تیمار ۱۵ میلی مولار آمونیوم بدست می آید. این در حالی است که در غلظت‌های ۷۵ میلی مولار آمونیوم به بالا، جلبک‌ها رشد منفی نشان دادند. همچنین افزایش غلظت آمونیوم از ۱۵ تا ۵۰ میلی مولار باعث طولانی شدن زمان دو برابر شدن توده جلبکی می‌شود (جدول۴).

جدول ۳- آنالیز واریانس یک طرفه تاثیر تیمار های های مختلف نیترات و آمونیوم (۲/۹، ۱۵،۲۵، ۵۰،۱۰۰،۷۵و۱۵۰ میلی مولار) بر تراکم سلول جلبک، بیوماس خشک،، میزان رشد ویژه و زمان دوبرابر شدن جمعیت در جلبک *S. quadricauda*

فاکتور	منابع تنوع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	میزان F	سطح معنی دار بودن
تراکم سلول	تیمارها	۱۳	۳×۱۰^{۱۳}	$۲/۲۶\times۱۰^{۱۲}$	۳۳/۴۷۸	**
	خطا	۲۸	۲×۱۰^{۱۲}	$۶/۷۴\times۱۰^{۱۰}$		
	کل	۴۱	۳×۱۰^{۱۳}			
بیوماس خشک	تیمارها	۱۳	۳/۸۶۱	۰/۲۹۷	۲۰۳/۷۸۰	**
	خطا	۲۸	۰/۰۴۱	۰/۰۰۱		
	کل	۴۱	۳/۹۰۲			
میزان رشدویژه (SGR)	تیمارها	۱۳	۰/۰۹۴	۰/۰۰۷	۹۱/۶۸۴	**
	خطا	۲۸	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰		
	کل	۴۱	۰/۰۹۶			
زمان دوبرابر شدن (DT)	تیمارها	۱۳	۵۱۳۱۵۲/۹	۳۹۴۷۳/۲۹۷	۳/۹۵۲	**
	خطا	۲۸	۲۷۹۶۸۷/۳	۹۹۸۸/۸۳۳		
	کل	۴۱	۷۹۲۸۴۰/۲			

**: معنی دار در سطح ۰/۰۱ (P<۰/۰۱)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- میانگین (± خطای استاندارد) بیوماس،تراکم سلول، میزان رشد ویژه و زمان دو برابر شدن جمعیت جلبک *S. quadricauda* کشت داده شده در تیمار های مختلف نیترات و آمونیوم (۲/۹، ۱۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار).حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است.

ماده نیتروژندار	تیمارها (میلی‌مولار)	بیوماس خشک (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	تراکم سلولی (سلول در میلی‌لیتر ۱۰^{۳}×)	میزان رشد ویژه (در روز)	زمان دوبرابر شدن (روز)
NO_3-N	۲/۹(شاهد)	۰/۸۹ ± ۰/۰۲^{c}	۲۰۰۰ ± ۵۷^{c}	۰/۰۶۵ ± ۰/۰۰۲^{c}	۱۰/۶۱ ± ۰/۳۳^{c}
	۱۵	۱/۲۲ ± ۰/۰۵^{a}	۳۲۵۰ ± ۶۲۳^{a}	۰/۰۹۸ ± ۰/۰۱۵^{a}	۷/۳۲ ± ۱/۲۹^{c}
	۲۵	۰/۸۶ ± ۰/۰۲^{c}	۱۹۲۰ ± ۵۷^{c}	۰/۰۶۲ ± ۰/۰۰۲^{c}	۱۱/۱۱ ± ۰/۳۷^{c}
	۵۰	۰/۴۸ ± ۰/۰۳^{e}	۹۸۷ ± ۸۶^{de}	۰/۰۱۵ ± ۰/۰۰۶^{d}	۶۱/۳۰ ± ۲۶^{a}
	۷۵	۰/۴۸ ± ۰/۰۳^{e}	۹۸۷ ± ۸۶^{de}	۰/۰۱۵ ± ۰/۰۰۶^{d}	۶۱/۳۰ ± ۲۶^{a}
	۱۰۰	۰/۲۶ ± ۰/۰۱^{gh}	۴۲۷ ± ۳۳^{f}	-۰/۰۴۵ ± ۰/۰۰۵	-
	۱۵۰	۰/۲۲ ± ۰/۰۰^{h}	۳۲۰ ± ۰/۰۰^{f}	-۰/۰۶۵ ± ۰/۰۰۰	-
NH_4-N	۲/۹(شاهد)	۰/۸۹ ± ۰/۰۳^{c}	۲۰۰۰ ± ۳۲^{c}	۰/۰۶۵ ± ۰/۰۰۱^{c}	۱۰/۶۰ ± ۰/۱۸^{c}
	۱۵	۱/۰۲ ± ۰/۰۷^{b}	۲۵۲۰ ± ۲۱۲^{b}	۰/۰۸۲ ± ۰/۰۰۶^{b}	۸/۵۶ ± ۰/۶۴^{c}
	۲۵	۰/۷۵ ± ۰/۰۳^{d}	۱۶۷۰ ± ۵۳^{c}	۰/۰۵۳ ± ۰/۰۰۲^{c}	۱۳/۲۳ ± ۰/۵۷^{c}
	۵۰	۰/۵۳ ± ۰/۰۱^{e}	۱۱۱۰ ± ۱۰^{d}	۰/۰۲۳ ± ۰/۰۰۱^{d}	۲۹/۶۷ ± ۰/۸۴^{b}
	۷۵	۰/۳۸ ± ۰/۰۲^{f}	۷۶۲ ± ۶^{def}	-۰/۰۰۳۵ ± ۰/۰۰۰	-
	۱۰۰	۰/۳۸ ± ۰/۰۱^{f}	۷۶۲ ± ۱۹^{def}	-۰/۰۰۳۵ ± ۰/۰۰۲	-
	۱۵۰	۰/۳۱ ± ۰/۰۳^{g}	۵۷۷ ± ۱۰۸^{ef}	-۰/۰۲۵ ± ۰/۰۱۳	-

* اعداد منفی در آنالیز مقایسه میانگین‌ها استفاده نشده است.

بحث و نتیجه‌گیری

عمده ترین عناصر شیمیایی موثر در رشد ریزجلبک‌ها، عناصر کربن، هیدروژن، نیتروژن، فسفر، پتاسیم، منیزیم، گوگرد و آهن هستند (Krauss, 1958). نیتروژن قابل دسترس برای ریزجلبک‌ها هم در محیط‌های طبیعی و هم محیط‌های پرورشی از نیترات، آمونیوم و اوره که از منابع غالب نیتروژنی هستند، تامین می‌شود (Vonshak, 1986; Kaplan *et al*., 1986). ریزجلبک‌ها آمونیوم را بعنوان منبع نیتروژن نسبت به سایر ترکیبات نیتروژن دار ترجیح داده و آن را سریع تر از نیترات جذب و از محیط کشت حذف می‌کنند (McCarthy *et al*., 1977; Hyenstrand *et al*., 2000). چنانچه در محیط رشد ریزجلبک‌ها هم نیترات و هم آمونیوم هردو موجود باشند، نیترات بعد از مصرف آمونیوم مورد استفاده و مصرف قرار می گیرد (Molloy and Syrett, 1988). در این مطالعه تاثیر تیمار های مختلف نیترات سدیم و کلرید آمونیوم بطور جداگانه طی یک آزمایش بر میزان رشد، بیوماس خشک و تراکم جلبکی در جلبک سبز سندسموس (*S. quadricauda*) در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

در این پژوهش مناسب‌ترین میزان بیوماس خشک، تراکم سلول، میزان رشد ویژه و زمان دوبرابر شدن جمعیت سندسموس در تیمار ۱۵ میلی مولار نیترات (معادل با ۱/۲۸ گرم بر لیتر نیترات سدیم) و تیمار ۱۵ میلی مولار آمونیوم (معادل ۰/۸گرم بر لیتر کلرید آمونیوم) بدست آمد. علاوه بر این، سندسموس در تیمار شاهد (۲/۹ میلی مولار) یا محیط کشت BBM نیز بخوبی

www.SID.ir

Archive of SID

رشد نموده و تشکیل جمعیت جلبکی با تراکم و رشد مناسبی را می دهد. مقدار مناسب نیترات و آمونیوم بدست آمده در دامنه مورد مطالعه از این ترکیبات نیتروژن دار بیشتر از مقادیر گزارش شده در منابع برای برخی جلبک‌های سبز از قبیل *Chlorella vulgaris* (۱۲-۶ میلی مولار) (Jeanfils *et al*., 1993)، *Ankistrodesmus convolutus* (۳ میلی مولار) (Chu *et al*., 1994)، *Scenedesmus* sp. (۱۰ میلی مولار نیترات و آمونیوم) (Syrett, 1962)، *Chlamydomonas* sp. (۲/۵ میلی مولار نیترات سدیم و ۰/۱ میلی مولار کلرید آمونیوم) (Paul and Cooksey, 1981)، *Dunaliella primolecta* (۰/۰۰۰۲۵ میلی مولار نیترات سدیم) (Uriarte *et al*., 1993) و *Dunaliella tertiolecta* (۰/۱ میلی مولار نیترات و۰/۱ میلی مولار آمونیوم) (Levasseur *et al*., 1993) بود. از سوی دیگر، میزان مناسب نیترات و آمونیوم در سایر جلبک‌ها از قبیل دیاتومه‌ها و جلبک‌های سبز-آبی نیز تا حدودی با جلبک‌های سبز از قبیل سندسموس متفاوت است. برای مثال Levasseur *et al*., 1993 گزارش دادند که در دیاتومه قهوه‌ای رنگ *Chaetoceros gracilis* حتی در غلظت‌های مساوی از نیترات و آمونیوم، محیط کشت دارای نیترات سریع تر از محیط کشت دارای آمونیوم رشد می نماید. علاوه بر این Sanz *et al*., 1995 نشان دادند که مناسب ترین میزان رشد در جلبک سبز-آبی *Anabaena variabilis* در غلظت ۰/۱ میلی مولار از نیترات سدیم و ۱ میلی مولار از کلرید آمونیوم بدست می آید. البته بسیاری از منابع قابل دسترس معمولا غلظت مناسب نیترات و آمونیوم را برای جلبک‌های سبز- آبی کمتر از ۲/۸ میلی مولار بیان نموده اند (Coronil *et al*., 1993; Sanz *et al*., 1995) که بطور مقایسه‌ای بسیار کمتر از جلبک‌های سبز (Chlorophyta) می‌باشد.

نتایج این تحقیق نشان داد که جلبک سندسموس گونه‌ای مقاوم به سطوح نسبتا بالای نیترات و آمونیوم است. این گونه در تیمار ۷۵ میلی مولار نیترات سدیم (۶/۳۷ گرم در لیتر) و تیمار ۵۰ میلی مولار کلرید آمونیوم (۲/۶۷ گرم در لیتر) رشد می نماید و تولید بیوماس قابل قبولی دارد (جدول ۴). با توجه به‌اینکه حداکثر غلظت قابل تحمل ترکیبات نیتروژن دار توسط این گونه، غلظت ۷۵ میلی مولار نیترات و ۵۰ میلی مولار آمونیوم می‌باشد، این گونه را می‌توان بعنوان شاخص زیستی محیط‌های حاوی این سطوح از ترکیبات نیتروژن دار معرفی نمود. بطور مقایسه‌ای، حداکثر غلظت قابل تحمل ترکیبات نیتروژن دار برای برخی ریزجلبک‌ها از قبیل *Chlorella vulgaris* (۹۷ میلی مولار نیترات پتاسیم) (Jeanfils *et al*., 1993)؛ *Cyanidium caldarium* (۲۰ میلی مولار نیترات و آمونیوم) (Rigano *et al*., 1989) و *Trentepohlia odorata* (۳۵ میلی مولار کلریدآمونیوم) (Tan *et al*., 1993) گزارش شده است که تا حدودی می‌تواند دلالت بر قابلیت تحمل بالای گونه مورد مطالعه ما در این تحقیق باشد.

نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت نیترات و آمونیوم به بالاتر از ۱۵ میلی مولار کاهش بیوماس خشک، تراکم سلول و میزان رشد و افزایش زمان دو برابر شدن جمعیت جلبک سندسموس صورت می پذیرد (جدول ۴)، به طوری که رشد در تیمار ۱۰۰ میلی مولار نیترات (۸/۵ گرم در لیتر) و تیمار ۷۵ میلی مولار آمونیوم (۴/۰۱ گرم در لیتر) متوقف می‌شود. بنابراین با لحاظ نمودن شرایط انجام این تحقیق، تیمارهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار از نیترات و تیمارهای ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار از آمونیوم بازدارنده رشد در گونه سندسموس می باشند. بازدارندگی رشد ریز جلبک‌ها در سطوح بالای نیترات به مکانیسم جذب نیترات ارتباط دارد (Jeanfils *et al*., 1993). بعبارت دیگر، افزایش نیترات در محیط کشت، می‌تواند باعث تحریک فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و نیتریت ردوکتاز در پیرنوئید سلول جلبکی گردد، که منجر به تولید و تجمع آمونیوم و نیتریت می‌شود که‌این دو محصول برای سلول سمی بوده و باعث کندی رشد در جلبک‌ها می‌شود (Jeanfils *et al*., 1993). همچنین، بازدارندگی رشد به وسیله آمونیوم نیز به سمیت مستقیم خود آمونیوم بر می‌گردد. برای مثال

www.SID.ir

Archive of SID

Hillebrand و Sommer در سال ۱۹۹۶ با کشت دیاتومه *Pseudonitzschia pungens* در منابع مختلف نیتروژن دریافتند که غلظت‌های بالای آمونیوم نمی‌تواند رشد این گونه را بهبود و حمایت کند و حتی با اضافه نمودن میزان بالای نیترات نیز میزان رشد همچنان کاهش داشت. آنها دلیل این امر را اثر ترکیبی بازدارندگی جذب نیترات توسط آمونیوم و سمیت مستقیم خود آمونیوم معرفی نمودند. در هر شکل جذب نیترات توسط ریز جلبک‌ها تحت تاثیر تعدادی از فاکتورهای محیطی و تغذیه‌ای نظیر دما، pH، دسترسی به منبع کربن، میزان هوادهی، میزان و شدت نور می‌باشد که می‌تواند بخشی از تفاوت ها را توجیه نماید.

بطور کلی می‌توان چنین بیان داشت که بهترین میانگین پارامترهای رشد و تولید این گونه از جلبک سندسموس در غلظت ۱۵ میلی مولار نیترات و یا ۱۵ میلی مولار آمونیوم حاصل می‌گردد که بیانگر عملکرد و رشد بهتر این جلبک است. بنابراین افزایش میزان نیترات و آمونیوم در محیط کشت BBM باعث بهبود رشد و تولید در گونه *S. quadricauda* می‌شود. رشد بعضی از ریز جلبک‌های سبز نظیر *Chlorella vulgaris* با افزایش نیترات سدیم و کلرید آمونیوم افزایش می یابد و قابلیت تحمل این ترکیبات را تا ۲۵۰ میلی مولار دارند (Jeanfils *et al*., 1993). این گونه کلرلا بخوبی نمی‌تواند بر روی محیط کشت BBM رشد نماید زیرا این محیط کشت تنها دارای ۲/۹ میلی مولار از نیترات سدیم و کلرید آمونیوم است.

بطور مقایسه‌ای در این مطالعه مشخص شد که جلبک سندسموس حساسیت بالاتری نسبت به افزایش نیترات و آمونیوم از خود نشان می دهد. چنین حساسیت مناسبی که عمدتا به فعالیت آنزیم های ردوکتاز مربوط می شوند، این گونه را به یک گونه مناسب برای زیست سنجی جلبکی (Algal Bioassay) تبدیل می نماید، که می‌تواند از ابزارهای مهم در ارزیابی و اندازه‌گیری کیفیت آب باشد (Wong, 1995; Skulberg, 1995). گونه سندسموس پتانسیل مناسبی برای غنی سازی نیتروژن (Nitrogen enrichment) در محیط‌های آب شیرین دارد، زیرا به ترکیبات نیترات و آمونیوم در غلظت‌های بالا حساسیت دارد. برای مثال گونه کلرلا برای کار زیست سنجی جلبکی مناسب نیست در حالی که گونه *Selenastrum capriconutum* (Walsh *et al*., 1984) و گونه سندسموس (در این پژوهش) در زیست سنجی جلبکی کاربرد دارند که سادگی پرورش و تشکیل جمعیت جلبکی در فاز رشد با کمترین تغییرات در نیترات و آمونیوم از ویژگی های آن ها است.

علاوه بر تاثیرات منابع نیتروژن دار بر رشد و فیزیولوژی جلبک‌ها، استفاده از آنها می‌تواند بر مرفولوژی و اندازه جلبک‌ها تاثیرات قابل ملاحظه‌ای داشته باشد. در این پژوهش اگرچه‌این مورد مهم بطور کمی مورد مطالعه قرار نگرفت اما بطور کیفی مورد بررسی قرار گرفت. در زمان شمارش تعداد سلول‌های جلبک در سندسموس در تیمارهای مختلف از نیترات درصدی از سلولها در جمعیت (حدود ۱۰ -۵ درصد) بصورت سلولهای چهارتایی (four-cell coenobia) و یا بندرت بصورت هشت تایی (eight-cell coenobia) مشاهده شد در حالی که در واحدهای آزمایشی تیمار شده با آمونیوم این دسته از سلولهای چهار تایی و هشت تایی بسیار بسیار کم دیده شدند. چنین تغییرات در مرفولوژی سلول‌ها قبلا نیز توسط محققان گزارش شده است (Tukaj *et al*., 1998; Lurling, 1999).

بطور کلی می‌توان بیان نمود که جلبک سندسموس گونه‌ای مناسب است که پرورش آن با استفاده از محیط‌های غنی از نیتروژن قابل انجام است. همچنین، این گونه شاخص زیستی نسبتا مناسب در محیط‌های آب شیرین غنی از نیترات و آمونیوم مطرح بوده و از آن نیز می‌توان برای زیست سنجی جلبکی در این محیط‌ها استفاده نمود. به هر حال انجام مطالعه و پژوهش‌های بیشتر در این خصوص، دانش و درک ما را از جزئیات ناشناخته و کم شناخته پرورشی، فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی این گونه افزایش خواهد داد.

www.SID.ir

Archive of SID

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه صنعتی اصفهان به لحاظ فراهم آوردن بودجه و امکان تحقیق سپاسگزاری می‌شود. از کارشناسان گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی که نهایت همکاری را در انجام این تحقیق بعمل آوردند، تشکر می‌گردد.

References

- Campbell, W.H., 1999. Nitrate Reductase structure, Function and Regulation: Bridging the Gap between Biochemistry and Physiology. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molecular Biology 50, 277-303.
- Chu, W.L., Phang, S.M., Goh, S.H., Blakebrough, N., 1994. Envirnomental effects on growth and biochemical composition of *Ankistrodesmus convolutus*. In: S. M. Phang., Y. K. Lee., M. Borowitzka and B. Whitton (Eds.), Proceeding of the 1st Asia-Pacific Conference on Algal Biotechnology, Universiti of Malaya, Kuala Lumpur, pp.16-27.
- Coronil, T., Lara, C., Guerrero, M.G. 1993. Shift in carbon flow and stimulation of amino-acid turnover induced by nitrate and ammonium assimilation in *Anacystis nidulans*. Planta 189, 461-467.
- Fitzgerald, G.P., 1970. Evaluation of the availability of sources of nitrogen and phosphorus for algae. Journal of Phycology 6, 239-247.
- Hellawell, J.M., 1986. Biological indicators of freshwater pollution and enviromental management (Pollution Monitoring Series). Elsevier Applied Science Publishers, England, pp. 45-77.
- Hillebrand, H., Sommer, U., 1996. Nitrogenous nutrition of the potentially toxic diatom *Pseudonitzschia pungens* f. *multiseries*. Journal of Phycology 35, 403-424.
- Hyenstrand, P., Burkert, U., Pettersson, A., Blomqvist, P., 2000. Competition between the green alga *Scenedesmus* and the cyanobacterium *Synechococcus* under different modes of inorganic nitrogen supply. Hydrobiologia 435, 91-98.
- Jeanfils, J., Canisium, M.F., Burlion, N., 1993. Effect of nitrate concentrations on growth and nitrate uptake by free-living and immobilized *Chlorella vulgaris* cells. Journal of Applied Phycology 5, 369-374.
- Kaplan, D., Richmand, A.E., Dubinsky, Z., Aaronson, S., 1986. Algal Nutrition. In: Richmond, A. (ed.), CRC Handbook of Microalgae Mass Culture, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp.147- 198.
- Komarek, J., Lhotsky, O., 1979. Review of algal assay strains. In: P. Marvan., S. Pribil and O. Lhotski (Eds.), Algal Assays and Monitoring Eutrophication, E. Schweizerbart Verlagsbuch, Stuttgart, pp. 103-118.
- Krauss, R.W., 1958. Physiology of the freshwater algae. Annual Review of Plant Physiology 9, 207-44.
- Lavens, P., Sorgeloos, P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical, 295pp.
- Levasseur, M., Thompson, P.A., Harrison, P.J. 1993. Physiological acclimation of marine phytoplankton to different nitrogen sources. Journal of Phycology 29, 587-595.
- Luring, M., 1999. Grazer-induced coenobial formation in clonal cultures of *Scenedesmus obliquus* (Chlorococcales, Chlorophyceae). Journal of Phycology 35, 19-23.
- Martinez, M.R., Chakroff, C.L., Pantastico, J.F., 1975. Direct phytoplankton counting techniques using the haemacytometer. Phil Agri 55, 43–50.
- McCarthy, J.J., Taylor, W.R., Taft, J.L., 1977. Nitrogenous nutrition of the plankton in the Chesapeake Bay. I. Nutrient availability and phytoplankton preferences. Limnology and Oceanography 22, 996-1011.
- Mohan, B.S., Hosetti, B.B., 1999. Aquatic plants for toxicity assessment. Environmental Research 81, 259-274.
- Molloy, C.J., Syrett, P.J. 1988. Interrelationships between uptake of urea and uptake of ammonium by microalgae. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 118, 85-95.
- Nichols, H.W., 1973. Growth media – freshwater. In: Stein, J.R. (Ed.), Handbook of Phycological Methods – Culture Methods and Growth Measurements. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 7–24.
- Omori, M., Ikeda, T., 1984. Methods in marine zooplankton ecology. John Wiley and Sons Inc., New York, 332pp.
- Paul, J.H., Cooksey, K.E., 1981. Regulation of asparaginase, glutamine synthetae, and glutamate dehydrogenase in response to medium nitrogen concentrations in a euryhaine *Chlamydomons* species. Plant Physiology 68, 1364-1368.
- Phang, S.M., Ong, K.C., 1988. Algal biomass production in digested palm oil mill effluent. Biological Wastes 25, 177-191.

www.SID.ir

Archive of SID

- Pinckney, J.L., Paerl, H.W., Heugen, E., Tester, P.A., 2000. Responses of phytoplankton and *Pfiesteria*-like dinoflagellate zoospores to nutrient enrichment in the Neuse River Estuary, North Carolina, USA. Marine Ecology Progress Series 192, 65-78.
- Reynolds, C.S., 1984. The ecology of freshwater phytoplankton - Cambridge studies in ecology. Cambridge University Press, Cambridge, 396 pp.
- Riahi, H., 2002. Phycology. Alzahra University Publication, Tehran, 256 pp.
- Rigano, V., Di, M., Martino, C., Vona, V., Esposito, S., Rigano, C., 1989. Nitrogen nutrition and changes in amino acids pools of *Cyanidium caldarium*. Phytochemistry 28, 2891-2895.
- Sanz, A.P., Moreno-Vivian, C., Maldonado, J.M., Gonzalex-Fontes, A. 1995. Effect of a costant supply of different nitrogen sources on protein and carbohydrate content and enzyme activities of *Anabaena variabilis* cells. Physiologia Plantarum 95, 39-44.
- Skulberg, O.M., 1995. Use of algae for testing water quality. In: Wiessner, W., Schneph, E., Starv, R.C. (eds.)., Algae, Environment and Human affairs., Biopress, Bristol, England, pp. 181-199.
- SPSS, 2002. Statistical Package of Social Science, Version, 11.5. Chicago, IL, USA.
- Syrett, P.J., 1962. Nitrogen assimilation. In: Lewin, R. A. Physiology and Biochemistry of Algae. Academic Press, London, pp. 171 – 183.
- Tan, C.K., Yuan, K.L., Kwok, K.H., 1993. Effect of light intensity and ammonium-N carotenogenesis of *Trentepohlia odorata* and *Dunaliella bardawil*. Journal of Applied Phycology 5, 547-549.
- Tukaj, Z., Bohdanowicz, J., Aksmann, A., 1998. A morphological and stereological analysis of ultrastructure changes in two *Scenedesmus* (Chlorococcales, Chlorophyceae) strains subjected to diesel fuel oil pollution. Phycologia 37, 388-393.
- Urarte, I., Farias, A., Hawkins, A.J.S., Bayne, B.L., 1993. Cell characteristics and biochemical composition of *Dunaliella primolecta* Butcher conditioned at different concentrations of dissolved nitrogen. Journal of Applied Phycology 5, 447-453.
- Vonshak, A., 1986. Laboratory techniques for the cultivation of microalgae. In: Richmond, A. (ed.), CRC Handbook of Microalgae Mass Culture, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 117- 145.
- Walsh, G.E., Merril, R.E., 1984. Algal assays of effluents. In: Shubert, L.E. (ed.), Algae as Ecological Indicators. Academic Press, London, pp. 329-362.
- Wong, S. L., 1995. Algalassay approaches to pollution studies in aquatic systems. In: Rana, B.C. (ed.), Pollution and Biomonitoring, Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited, New York, pp 26-46.
- Zar, J. H. 1984. Bioststistical analysis, 2nd edition. Prentice Hall Inc., Englewood Cliffs, New York, USA, 718 p.

www.SID.ir

Archive of SID

Effects of different concentrations of nitrate and ammonium in medium on growth of the green algae *Scenedesmus quadricauda*

S. Heidari[1], O. Farhadian[2] and N. Mahboobi Soofiani[3]
[1]M.Sc. of Aquatic Cultivation and Propagation, Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, I.R. Iran
[2]Assist. Prof., Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, I.R. Iran
[3]Assoc. Prof., Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, I.R. Iran
(Received: 31 January 2010, Accepted: 08 March 2011)

Abstract

Since increasing the NO_3 and NH_4 make eutrophication in waterbodies, microalgae tolerance to high concentrations of NO_3 and NH4 and their growth in these levels indicate the bioremediation potential of nitrogen-rich wastewaters and produce efficient algal biomass in freshwater environments. To evaluate the tolerance of green algae, *Scenedesmus quadricauda* to different NO_3 and NH_4 concentrations, cultivation of *S. quadricauda* in BBM (Bold Basal's Medium) were carried out with seven treatments in triplicates (2.9,15, 25, 50, 75, 100 and 150 mM from NO_3 and NH_4) at 22 °C in laboratory conditions. Results indicated that this species is able to tolerate 75 mM NO_3 and 50 mM NH_4 concentrations, although the maximum number of algal cells (32.5×10^5 cell/ml for NO_3 and 25.2×10^5 cell/ml for NH_4), highest algal dry-biomass (1.22 mg/ml for NO_3 and 1.02 mg/ml for NH_4), and the highest specific growth rate (0.098 day^{-1} for NO_3 and 0.082 day^{-1} for NH_4) obtained at 15 mM of NO_3 and NH_4. Therefore, based on high tolerance to NO3 and NH4 levels by *S. quadricauda*, this species could be used for waterbodies rich in these components. In addition, growth capability of this species in these high concentrations illustrated the bioremediation potential of nitrogen-rich wastewaters. On the other hand, with cultivation of this alga in 15 mM of NO_3 and NH_4, maximum algal biomass were obtained, therefore, this concentration could be used for improving of the chemical composition of BBM culture medium.

Key words: *Scenedesmus quadricauda,* NO_3-N, NH_4-N, specific growth rate

*Corresponding author: Tel: +98 311 3913564 , Fax: +98 311 3912840 , E-mail: omfarhad@cc.iut.ac.ir

www.SID.ir