تعیین ارزش غذایی و برخی شاخص‌های رشد گیاه آزولا (*Azolla filiculoides*) پرورش یافته در پساب مزرعه پرورش فیل ماهی (*Huso huso*)

سید پژمان حسینی شکرابی *، میلاد بهرامی، مهدی شمسایی مهرجان، نگار محمدی

گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: hosseini@srbiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۹/۳/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۸

چکیده

گیاه‌پالایی یک فن‌آوری پایدار و ارزان بوده و به عنوان یک راه حل جایگزین برای روش‌های تصفیه سنتی رواج پیدا کرده است. پژوهش حاضر با هدف استفاده از پساب مزرعه پرورش ماهی به عنوان محیط کشت جهت رشد گیاه آزولا و همچنین بهبود پساب انجام شده است. برای این منظور مقدار اولیه ۶۰ گرم گیاه آزولا در غالب دو تیمار با سه تکرار شامل: گیاه آزولا در پساب کارگاه پروش ماهی خاویاری فیل (SW) و گیاه آزولا در آب تالاب انزلی (AL) بود که در شرایط آزمایشگاهی برای مدت ۳۰ روز کشت داده شدند. نمونه برداری به منظور بررسی برخی فاکتورهای کیفی آب در بازه زمانی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روزه انجام شد. در پایان آزمایش، فاکتورهای رشد گیاه، پروفایل اسیدهای چرب و ترکیبات تقریبی مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد که حداکثر مقادیر بیوماس (۲۹۵/۲۲ گرم) و عرض گیاه (۹/۶۴ میلی‌متر) آزولا در تیمار SW مشاهده شد (P<۰/۰۵). همچنین نتایج ترکیب اسیدهای چرب نشان داد که اسیدهای چرب اشباع در تیمار SW افزایش معنی‌داری را در مقایسه با AL داشت. اما اسیدهای چرب غیر اشباع در تیمار SW کاهش معنی‌داری را در مقایسه با AL نشان داد (P<۰/۰۵). علاوه بر این، در فاکتورهای کیفی آب نیز یک روند نزولی معنی‌داری در میزان فسفات، نیترات و نیتریت در تیمار SW در روز ۳۰ مشاهده گردید. حداکثر و حداقل مقدار چربی و رطوبت در تیمار SW مشاهده شد (P<۰/۰۵). بنابراین به دلیل رشد سریع آزولا، توانایی بالای آن در کاهش میزان فسفر و نیتروژن آب و همچنین با توجه به ارزش غذایی (پروتئین و چربی) و تنوع بالای اسیدهای چرب، تولید آزولا در پساب مزرعه پرورش فیل ماهی می‌توان به عنوان یک روش مؤثر و باصرفه اقتصادی تلقی می‌شود.

واژگان کلیدی: آزولا، اسیدهای چرب، تصفیه پساب، تجزیه زیستی.

مقدمه

ارائه یک روش مطمئن که ضمن رفع آلودگی پساب پرورش ماهی، کم هزینه و سازگار با محیط زیست باشد؛ بسیار ضروری می‌باشد (Mahanty *et al*., 2017). امروزه تمایل به استفاده از گیاهان آبزی جهت حذف آلاینده‌ها به دلیل فواید گوناگونشان نظیر میزان نرخ رشد بالا، جذب مواد مغذی محلول در آب، غنی بودن از پروتئین، بهره‌برداری و برداشت آسان، بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Evrard and Van Hove, 2004). وجود گیاهان آبزی از لحاظ عملیاتی در تصفیه پساب اهمیت زیادی دارد، زیرا پساب خروجی از سیستم‌های تصفیه آبی بر پایه گیاهان پرسلولی و یا تک سلولی کیفیت بهتری نسبت به پساب خروجی از حوضچه‌های تصفیه برپایه مواد شیمیایی یا میکروبی در مدت زمانی یکسان یا حتی کمتر دارد (Werker *et al*., 2017; Liu *et al*., 2020). در این راستا به منظور تصفیه فاضلاب، استفاده از گیاهان آبزی شناور نظیر سرخس آبزی آزولا توجه محققین زیادی را به خود جلب کرده است که دلیل آن قابلیت تثبیت بالای نیتروژن توسط این گیاه است. در عین حال، آزولا سرشار از پروتئین و بتاکاروتن است (Seifzadeh, 2019).

در سال‌های اخیراحداث مزارع پرورش ماهی به خصوص مزارع پرورش ماهیان سردآبی در کنار رودخانه‌ها افزایش یافته و تخلیه پساب این مزارع بدون هیچ تصفیه‌ایی به زیستگاه‌های طبیعی آثار سویی به دنبال خواهد داشت و موجب بر هم خوردن تعادل بوم سازگان آبی می‌گردد (Forenshell,

2001). در آبزی‌پروری مواد غذایی مصرف نشده همراه با فضولات و مواد دفعی آبزیان سبب کاهش شدید کیفیت آب می‌گردند (Bagherian Kalat *et al*., 2010). پساب این استخرها از یک طرف موجب افزایش میزان آمونیوم، نیتریت، نیترات و اورتوفسفات آب رودخانه و یوتروف شدن بدنه آبی می‌شود (Camargo and Alonso, 2006) و از طرف دیگر موجب نوسانات شدید میزان اکسیژن محلول آب رودخانه می‌گردد (Mohseni-Bandpei and Yousefi, 2013). اگرچه در طول مسیر حرکت رودخانه معمولاً با توجه به شرایط فیزیکوشیمیایی و ارگانیکی آب رودخانه، بخش قابل توجهی از آلودگی‌ها به تدریج، حذف می‌شوند. بنابراین ظرفیت خود پالایی رودخانه از عوامل مهمی است که تراکم و مقدار تولیدات آبزی‌پروری را در بخش‌های مختلف رودخانه تعیین می‌نماید (دلشاد و همکاران، ۱۳۹۷).

گیاه آزولا، *Azolla filiculoides*، از خانواده سرخس‌آبیان (Salviniaceae)، امروزه به عنوان یک منبع ارزان جهت تولید سوخت زیستی باکیفیت مطرح است (Brouwer *et al*., 2016). همچنین امکان استفاده از این گیاه‌آبزی به دلیل پروتئین و کاراتنوئیدهای نسبتاً بالا در خوراک دام، طیور و آبزیان بیان شده است (Fasakin, 2001; Goda, 2018; Magouz, 2020). اگرچه گیاه آزولا می‌تواند مشکلات متعددی را اکوسیستم آبی از نظر تبادلات اکسیژن و نور ایجاد نموده و علاوه براین از ارزش تفریحی محیط‌های آبی طبیعی نیز بکاهد (Wagner, 1997; Hill, 1998)، اما یکی از ویژگی‌های منحصر به فرد گیاه آزولا کاربرد آن در زراعت برنج به منظور افزایش تولید محصول در واحد سطح از طریق تثبیت ازت هوا و کاهش مصرف کودهای شیمیایی ازته است (Yao, 2018). گیاه آزولا قادر است فسفر را به خوبی از محیط جذب نماید و برای تصفیه نهایی فاضلاب‌های غنی از مواد آلی گزینه خوبی پیشنهاد شده است (دیانتی تیلکی و علیمرادی، ۱۳۸۶). گیاه آزولا در کاهش جوانه‌زنی بذر علف‌های هرز موجود در مزارع برنج ایران نیز بسیار مؤثر گزارش شده است (Hashemloian and Azimi, 2009). تحقیقات متعددی اثرات مثبت گیاه آزولا را در تصفیه پساب مزارع پرورش ماهی نشان داده است. برای مثال، Carlozzi و Padovani (۲۰۱۶)، گیاه آزولا (*A. filiculoides*) را به عنوان یک گیاه طبیعی برای حذف آمونیاک از پساب تازه پرورش ماهی مورد بررسی و بیان کردند که گیاه آزولا با توجه به همزیستی با سیانوباکتر *Anabaena azollae* برای حذف معنی‌دار آمونیاک آب پرورش ماهی پتانسیل بالایی دارد. در یک مطالعه دیگر، Sumoharjo و همکاران (۲۰۱۸)، تولید بیوماس یک گونه از آزولا (*A. microphylla*) را به عنوان فیلتر زیستی در سیستم پرورش مداربسته ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند استفاده از آزولا منجر به ایجاد بالاترین میزان کارایی فیلتراسیون زیستی آمونیوم با مقدار ۲/۳۲ درصد از کل مواد نیتروژنی آب گردید. همچنین، Mohamed و همکاران (۲۰۱۸)، اثر زردچوبه (*Curcuma longa*)، فلفل سیاه (*Piper nigrum*) و آزولا پیناتا (*A. Pinnata*) را در آب برگشتی پرورش ماهی تیلاپیای نیل مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که وزن ماهیان در تیمارهایی که از آب برگشت حاصل از پرورش گیاهان به دلیل بهبود شرایط کیفی آب افزایش پیدا کرد. با توجه به کاربردها و قابلیت‌های کاربردی که از آزولا ذکر شد؛ در این مطالعه امکان پرورش گیاه آزولا در پساب پرورش فیل ماهی (*Huso huso*) برای اولین بار ارزیابی و برخی شاخص‌های رشد آزولا، ترکیبات تقریبی و پروفایل اسیدهای چرب آن به همراه تغییرات برخی پارامترهای کیفی آب در طول آزمایش گزارش شد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش پساب پرورش فیل ماهی از یکی از مزارع شرکت آبزی اکسیر کوثر در استان تهران تهیه

جدول ۱ – برخی مشخصات فیزیکوشیمایی پساب مزرعه پرورش فیل ماهی (*Huso huso*).

پارامتر	مقدار
فسفات (میلی‌گرم در لیتر)	۷/۱۵ ±۰/۰۰۶
نیتریت (میلی‌گرم در لیتر)	۰/۰۱ ±۰/۰۰۱
نیترات (میلی‌گرم در لیتر)	۸/۳۷ ±۰/۰۵۸
اکسیژن محلول (میلی‌گرم در لیتر)	۶/۵۷ ±۰/۵۰۰
pH	۶/۸۰ ±۰/۲۶۵

شد. برخی فاکتورهای کیفی پساب پرورش ماهی در جدول ۱ بیان شده است. جهت تأمین ذخیره اولیه آزولا (*A. filiculoides*)، میزان ۱۰ کیلوگرم از این گیاه توسط توری دستی همراه با آب تالاب انزلی (گیلان، ایران) به مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انتقال یافت. به منظور سازگاری گیاه آزولا با شرایط آزمایشگاه به مدت یک هفته در دمای ۰/۴±۲۴/۵ درجه سانتی-گراد، pH ۵-۵/۷ و تحت شرایط نوری ۱۲: ۱۲ (تاریکی: روشنایی) نگهداری شد (Rippka *et al*., 1979). در نهایت یک استوک اولیه هم‌اندازه (میانگین اولیه عرض برگ ۰/۴۶±۷/۵۰ میلی‌متر) جدا گردید.

تیمارهای این آزمایش را منابع مختلف آب پساب کارگاه پروش ماهی خاویاری SW و آب تالاب انزلی AL بدون رقیق‌سازی تشکیل می‌دادند که این منابع آبی از کاغذ صافی (واتمن شماره ۱) قبل از استفاده فیلتر شدند. گروه‌های آزمایش در دو تیمار با سه تکرار شامل ۶ عدد ظرف ۲۰ لیتری (۴۵×۳۰×۲۰ سانتی‌متر) تشکیل می‌دادند که ۱۰ گرم از استوک اولیه آزولا به صورت تصادفی در هر ظرف آزمایشی تلقیح شد و به مدت ۳۰ روز در آزمایشگاه کشت داده شد. در طول آزمایش هوادهی به صورت متناوب انجام شد. سطح ظروف کشت جهت کاهش تبخیر با سلفون شفاف پوشانده شد و هر هفته نیز مقدار آب تبخیر شده از ظروف هر تیمار با منبع تأمین آب تازه همان تیمار جایگزین شد. رشد وزنی گیاه با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم و عرض گیاهان با کلولیس دیجیتال (۰/۰۱ میلی‌متر) اندازه‌گیری شد.

نمونه‌برداری از گیاهان در یک دوره ۳۰ روزه و در پایان دوره آزمایش کل گیاهان در هر تکرار مورد وزن سنجی قرار گرفت. همچنین تجزیه شیمیایی گیاه بر اساس روش‌های استاندارد AOAC در روز ۳۰ انجام گرفت (AOAC, 1990). پروتئین خام نیز از طریق تعیین نیتروژن کل به روش کلدال اندازه‌گیری شد (AOAC, 1990). چربی خام نیز از طریق حل کردن چربی درحلال هگزان و تعیین مقدار آن بر اساس روش سوکسله اندازه‌گیری گردید (AOAC, 1990). میزان رطوبت گیاهان آزمایشی هم از طریق خشک کردن نمونه‌ها درآون (مدل FD115، BINDER آلمان) با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۶ ساعت محاسبه گردید (AOAC, 1990). خاکستر نمونه‌ها نیز از طریق قراردادن آن‌ها درکوره الکتریکی (مدل RHF1400، CARBOLITE انگلیس) با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴ ساعت و توزین خاکستر به‌جا مانده با ترازوی دیجیتال واجدِ دقت ۰/۰۱ گرم سنجیده شد (AOAC, 1990).

به منظور آنالیز پروفایل اسیدهای چرب به ازای هر ۱ گرم نمونه گیاه آزولا، ۱۰ میلی‌لیتر پترولیوم اتر به آن اضافه گردید. سپس برای آنالیز ترکیبات اسید چرب ابتدا اسیدهای چرب نمونه به روش FAMEs استری شده و سپس به سیستم کروماتوگرافی گازی مدل Younglin ACME 6000 M GC (ساخت ژاپن) مجهز به آشکارساز حرارتی (FID) و ستون Supelco SLBIL111 sigma-Aldrich (100 m×0.250 mm×0.2 µm) و گاز حامل نیتروژن با شدت جریان ۱ میلی‌متر در دقیقه تزریق شدند. در این پژوهش دمای آشکارساز، تزریق و ستون به ترتیب ۲۸۰، ۲۵۰، ۲۵۵ درجه سانتی‌گراد بود. سپس منحنی کروماتوگرام مربوط به هر اسید چرب رسم

جدول ۲ – مقایسه خصوصیات وزن بیوماس و عرض برگ آزولا (*Azolla filiculoides*) پرورش یافته در تیمارهای مختلف در روز ۳۰ آزمایش.

شاخص	تیمارها	
	AL	SW
بیوماس آزولا (گرم)	۱۹۴/۹۲ ± ۱/۶۸ [b]	۲۹۵/۲۲ ± ۲/۵۶ [a]
عرض برگ (میلی‌متر)	۸/۶۰ ± ۰/۱۷ [b]	۹/۶۴ ± ۰/۳۸ [a]

جدول ۳ – ترکیبات تقریبی بافت گیاه آزولا (*Azolla filiculoides*) پرورش یافته در تیمارهای مختلف در روز ۳۰ آزمایش.

پارامتر (٪)	تیمارها	
	AL	**SW**
درصد پروتئین	۱۸/۳۳±۰/۱۵[a]	۱۸/۷۷±۰/۲۰[a]
درصد چربی	۱۲/۶۳±۰/۳۰[b]	۱۳/۴۳±۰/۳۰[a]
درصد رطوبت	۶۶/۳۰±/۳۶[a]	۶۵/۵۰±۰/۳۰[b]
درصد خاکستر	۲/۷۳±۰/۱۵[a]	۲/۷۹±۰/۱۱[a]

* داده‌ها بصورت میانگین±انحراف معیار گزارش شد (n=۳). حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵). SW: پساب کارگاه پروش ماهی خاویاری، AL: آب تالاب انزلی

گردید. زمان بازداری به هر اسیدچرب با منحنی استاندارد مقایسه گردید. در نهایت براساس سطح زیرمنحنی، نوع و میزان اسیدچرب موجود در تیمارها مورد سنجش قرار گرفت. فاکتورهای کیفی آب شامل آمونیاک، نیتریت، نیترات و فسفات هم برحسب میلی‌گرم بر لیتر در روزهای ابتدا و انتهای آزمایش با استفاده از دستگاه پرتابل اسپکتوفتومتر HACH (DR1900 آلمان) اندازه گیری شدند.

تمامی آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام شد و نتایج به صورت میانگین±انحراف معیار گزارش شد. به منظور تحلیل آماری پس از بررسی توزیع نرمال داده‌ها، از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده می‌شود تا از نرمال بودن داده‌ها اطمینان حاصل گردد. سپس از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن و برای جداسازی گروه‌های همگن از آزمون توکی Tukeys HSD در سطح احتمال ۰/۰۵ استفاده شد (P<۰/۰۵). برای انجام آنالیزهای آماری از نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۲ و برای رسم نمودارها از نـرم‌افـزار Excel نسخه ۲۰۱۳ استفاده گردید.

نتایج

عملکرد رشد آزولا: نتایج نشان داد که بیوماس و عرض توده گیاه آزولا در روز ۳۰ در تمامی تیمارها افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت و این تغییرات در تیمارهای مختلف معنی‌دار بود (جدول ۲). بررسی وزن کل آزولا در تیمارهای مورد مطالعه نشان داد که مقدار این شاخص در تیمار SW نسبت به تیمار AL به طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). همچنین براساس نتایج عریض‌ترین میانگین برگ در تیمار SW نسب به AL اندازه‌گیری شد.

ترکیبات تقریبی آزولا: نتایج ترکیبات شیمیایی تقریبی آزولا پرورش یافته در منابع آبی مختلف آزمایش در جدول ۳ نشان داده شده است. میزان پروتئین در تیمارها، تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). در حالی‌که بیشترین مقدار چربی (۱۳/۴۳±۰/۳۰ درصد) و کمترین مقدار رطوبت (۶۵/۵۰±۰/۳۰ درصد) در تیمار SW مشاهده شد.

پروفایل اسیدهای چرب: بیشترین مقدار اسیدهای چرب در تیمار SW و AL به اسیدهای چرب اشباع تعلق داشت. نتایج طیف سنجی نشان داد که مقدار اسید پالمیتیک (C16:0)، اسید سیس-اولئیک (C18:1c) و اسید آلفا-لینولنیک (C18:3α) در تیمار SW به ترتیب برابر ۳۴/۶۵±۰/۳۹، ۱۵/۰۰±۰/۰۶ و ۱۵/۳۶±۰/۳۲ درصد بود. مقدار این اسیدها در تیمار AL به ترتیب برابر ۳۰/۸۲±۰/۲۵، ۱۴/۷۵±۰/۳۵ و ۲۰/۰۳± ۰/۲۸ درصد بود.

مقدار اسید میریستیک، اسید پالمیک، اسید

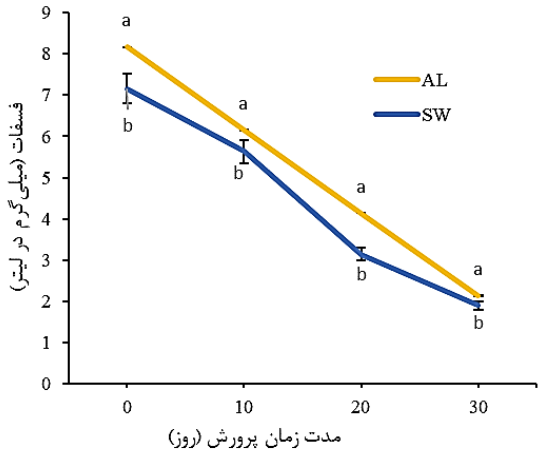
جدول ۳ – آنالیز اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع گیاه آزولا (*Azolla filiculoides*) پرورش یافته در تیمارهای مختلف در روز ۳۰ آزمایش.

نام اسید چرب	فرمول اسید چرب	نام تیمارها	
		AL	SW
اسید میریستیک	(C14:0)	۱/۱۳±۰/۰۴ a	۴/۰۰±۰/۲۵ b
اسید پنتادسیلیک	(C15:0)	۰/۷۱±۰/۰۵ a	۰/۴۰±۰/۲۱ b
اسید پالمیتیک	(C16:0)	۳۰/۸۲±۰/۲۵ a	۳۴/۶۵±۰/۳۹ b
اسید مارگاریک	(C17:0)	۰/۳۰±۰/۰۷ a	۰/۳۰±۰/۰۳ a
اسید استئاریک	(C18:0)	۲/۵۸±۰/۰۳ a	۳/۸۱±۰/۱۱ b
اسید آراشیدونیک	(C20:0)	۰/۱۸±۰/۰۹ a	۰/۵۰±۰/۰۳ b
اسید هئایکوزائوبیک	(C21:0)	۰/۵۷±۰/۰۱ a	۰/۸۱±۰/۰۴ b
اسید بهنیک	(C22:0)	۰/۲۸±۰/۰۱ a	۰/۶۱±۰/۰۶ b
اسید لیگنوسریک	(C24:0)	۲/۷۶±۰/۱۵ a	۴/۱۳±۰/۱۹ b
SFA		۳۹/۳۳±۹/۹۶ a	۴۹/۲۳±۱۱/۰۷ b
اسید میریستولیک	(C14:1)	۰/۵۱±۰/۰۲ a	۰/۳۰±۰/۰۴ b
اسید پنتادکونییک	(C15:1)	۵/۸۲±۰/۱۲ a	۱/۵۲±۰/۰۸ b
اسید پالمیتولئیک	(C16:1)	۴/۳۷±۰/۰۵ a	۵/۰۶±۰/۰۷b
اسید هپتاد کانوئیک	(C17:1)	۰/۲۴±۰/۰۴ a	۰/۳۳±۰/۰۴ ab
اسید ترانس-اولئیک	(C18:1t)	۲/۴۸±۰/۱۹ a	۲/۶۲±۰/۰۰ a
اسید سیس- اولئیک	(C18:1c)	۱۴/۷۵±۰/۳۵ a	۱۵/۰۰±۰/۰۶ a
اسید ایکوزنیک	(C20:1)	۰/۰۲±۰/۰۲ a	۰/۴۲±۰/۰۴b
اسید اروسیک	(C22:1)	۰/۰۸±۰/۰۲ a	۰/۲۲±۰/۰۲b
اسید نروونیک	(C24:1)	۰/۱۴±۰/۰۳ a	۰/۵۵±۰/۰۲ b
MUFA		۲۸/۴۲±۴/۸۳ a	۲۶/۰۵±۴/۸۱ b
اسید لینولئیک	(C18:2)	۱۰/۷۱±۰/۱۳ a	۸/۴۳±۰/۰۴ b
اسید آلفا لینولنیک	(C18:3α)	۲۰/۰۳±۰/۲۸ a	۱۵/۳۶±۰/۳۲ b
اسید دکوزا هگزانوئیک (DHA)	(C22:6)	۰/۳۴±۰/۰۱ a	۰/۴۴±۰/۰۱ b
PUFA		۳۱/۴۷۵±۹/۴۹ a	۲۴/۷۰±۷/۱۸ b

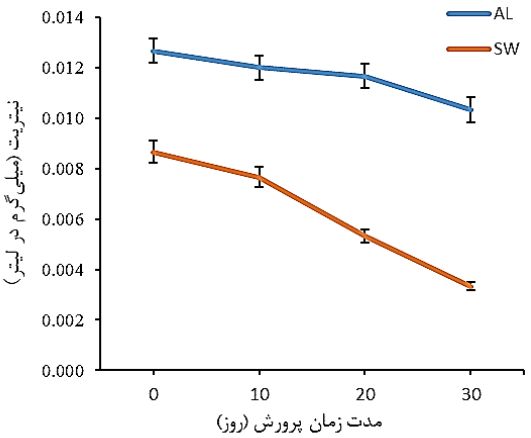
*داده‌ها بصورت میانگین±انحراف معیار گزارش شد (n=۳). حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵). SW: پساب کارگاه پروش ماهی‌خاویاری، AL: آب تالاب انزلی، SFA: اسیدهای چرب اشباع، MUFA: اسیدهای چرب غیراشباع تک زنجیره‌ای، PUFA: اسیدهای چرب غیراشباع چند زنجیره‌ای.

استئاریک، اسید لیگنو سریک و اسید پالمیتو لئیک به طور معنی‌داری در تیمار SW بیشتر از تیمار AL بود (P<۰/۰۵). در حالیکه میزان اسید پنتادکونییک در تیمار AL به شکل معنی‌داری بیشتر از تیمار SW بود (P<۰/۰۵). تفاوت معنی‌داری در میزان سایر اسیدهای چرب بین دو تیمار SW و AL مشاهده نشد (P>۰/۰۵). نتایج اثر تیمارهای آبی مختلف بر اسیدهای چرب گیاه آزولا پس از پایان آزمایش در جدول ۴ خلاصه شده است. میانگین اسیدهای چرب اشباع (SFAs)، تیمار SW با ۱۱/۰۷±۴۹/۲۳۵ درصد افزایش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار AL ۹/۹۶±۳۹/۳۳ داشت (P<۰/۰۵). این در حالی است که میانگین اسیدهای چرب غیر اشباع دارای یک باند دوگانه (MUFA) در تیمار SW درصد کاهش معنی داری را در مقایسه با تیمار AL نشان داد. همچنین میانگین اسیدهای چرب چند غیر اشباع (PUFA) در تیمارهای SW با میزان ۷/۱۸±۲۴/۷۰۵ درصد کاهش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار AL ۹/۴۹±۳۱/۴۷۵ نشان داد (P<۰/۰۵).

تغییرات فاکتورهای کیفی آب: نتایج اثرات گیاه آزولا بر فاکتورهای کیفی آب در تیمارهای مختلف آزمایش در روزهای ۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ در شکل ۱ نشان داده شده است. بررسی میزان فسفات در تیمارها نشان داد که میزان PO_4 دارای روند نزولی بوده، به طوری که در روز ۳۰ مقدار فسفر در تیمار SW از مقدار ۰/۰۰۶±۷/۱۵ میلی‌گرم بر لیتر به



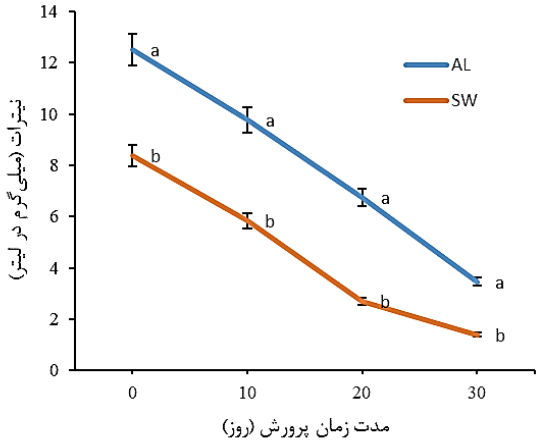
شکل ۱ – تغییرات میزان فسفات محیط پرورش تیمارهای مختلف حاوی گیاه آزولا (*Azolla filiculoides*).



شکل ۲ – تغییرات میزان نیتریت محیط پرورش تیمارهای مختلف حاوی گیاه آزولا (*Azolla filiculoides*).

۱/۹۰±۰/۰۷۹ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت. همچنین مقدار فسفر در تیمار SW در روز ۳۰ با مقدار ۱/۹۰±۰/۰۷۹ میلی‌گرم بر لیتر کاهش معنی داری (P<۰/۰۵) را در مقایسه با تیمار AL با مقدار ۲/۱۴±۰/۰۱۲ میلی‌گرم بر لیتر نشان دادند.

میزان نیتریت در تیمارهای مورد مطالعه نشان داد که میزان NO_2 دارای روند نزولی بدون اختلاف آماری در بین دو تیمار بود (شکل ۲) به طوری که در روز ۳۰ مقدار نیتریت در تیمار SW از مقدار ۰/۰۰۱±۰/۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به ۰/۰۰۲±۰/۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کاهش یافت. همچنین مقدار نیتریت در تیمار SW در روز ۳۰ کاهش به ۰/۰۰۱±۰/۰۰۱ رسید. میزان NO_3 نیز دارای روند نزولی بود، به



شکل ۳ – تغییرات میزان نیترات محیط پرورش تیمارهای مختلف حاوی گیاه آزولا (*Azolla filiculoides*).

طوری که در روز ۳۰ مقدار آن در تیمار SW از مقدار ۸/۰±۳۷/۰۵۸ میلی‌گرم بر لیتر به ۱/۰±۴۰/۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کاهش یافت. مقدار نیترات در تیمار SW در روز ۳۰ کاهش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار AL با مقدار ۰/۰۵۸ ± ۳/۴۷ میلی‌گرم بر لیتر نشان دادند (P<۰/۰۵) (شکل ۳).

بحث

تحقیق حاضر نشان داد که گیاه آزولا علاوه بر قابلیت تصفیه پساب در تیمار SW باعث بهبود برخی فاکتورهای ارزش غذایی و رشد این گیاه نیز شد. به طوری‌که در پایان دوره افزایش معنی‌داری برای متغیرهای وزن بیوماس و عرض برگ آزولا در تیمار SW در مقایسه باتیمار AL مشاهده شد. گیاه آزولا در صورت وجود مواد مغذی در محیط آبی به سرعت منشعب شده و با تقسیم اسپورکاپ‌های زایا اقدام به تکثیر می‌نماید (Caffery and Baars, 2008). همچنین با توجه زمان بسیار کوتاه دو برابر شدن آزولا در مقایسه با سایر گیاهان خشکی‌زی (رجبی و همکاران، ۱۳۹۴)، می‌توان با تولید انبوه این گیاه برخی نیازهای پروتئینی در خوراک دام، طیور و آبزیان برطرف نمود.

نتایج تجزیه شیمیایی بافت گیاه در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را در میزان پروتئین،

رطوبت و خاکستر تیمار SW در مقایسه با تیمار AL نشان نداد، اما افزایش معنی‌داری در میزان چربی SW در مقایسه با AL مشاهده شد. به طور مشابه، رجبی و همکاران (۱۳۹۴)، ترکیبات و ارزش غذایی آزولای (*A. filiculoides*) وحشی و پرورشی را مورد بررسی قرار داده و اگرچه تفاوت معنی‌داری در رابطه با میزان خاکستر و پروتئین در هر دو شکل آزولا تالاب انزلی و پرورشی گزارش نکردند، اما افزایش میزان چربی را بیان کردند که این افزایش همسو با نتایج مطالعه حاضر است. نتایج تحقیق حاضر در تأیید یافته‌های قبلی نشان داد که آزولا با میزان ۰/۲۰±۱۸/۷۷ گرم درصد گرم وزن خشک پروتئین خام می‌تواند به عنوان یک منبع پروتئینی درصنایع دامپروری، مرغداری و آبزی‌پروری به‌کار رود (Astorg *et al*., 2004). همچنین Hussner (۲۰۱۰) نشان داد که که مصرف ۳۰۰-۱۰۰ گرم آزولا خشک در روز می‌تواند جایگزین ۲۰ درصد غذای تجاری جوجه‌های گوشتی شود. پرورش آزولا در کشورهای آسیایی نظیر چین نشان می‌دهد که این گیاه آبزی در صورت فرآوری مناسب می‌تواند به عنوان یک منبع ارزان پروتئین و چربی تلقی گردد. البته توانایی آزولا در جذب عناصر سنگین باعث محدودیت‌هایی در زمینه استفاده از آن از شرایط محیط زیست طبیعی بشود که می‌توان از روش کشت مصنوعی آن در شرایط کنترل شده این مشکل را برطرف نمود (Leterme *et al*., 2009). آزولا همچنین دارای درصد مناسبی خاکستر بود که این درصد بالا به توانایی آزولا در ذخیره سازی فسفر و پتاسیم همراه با مقادیر بالای عناصر آهن (۱۰۰۰ تا ۸۶۰۰ قسمت در میلیون)، مس (۳ تا ۲۱۰ قسمت در میلیون وزن خشک) و منگنز (۱۲۰ تا ۲۷۰۰ قسمت در میلیون وزن خشک) بر می‌گردد و بر این اساس می‌توان از آزولا به صورت مستقیم برای غنی‌سازی خاک‌ها و یا پس از فرآوری مناسب به عنوان یک مکمل خوراکی طبیعی برای تأمین نیازهای معدنی دام، طیور و آبزیان استفاده نمود (Hussner, 2010).

نتایج پروفایل اسیدهای چرب نشان داد که میانگین اسیدهای چرب اشباع (SFA)، در تیمار SW افزایش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار AL دارد. میانگین اسیدهای چرب غیراشباع تک زنجیره‌ای (MUFA) در تیمار SW کاهش معنی داری را در مقایسه با تیمار AL نشان داد. همچنین میانگین اسیدهای چرب غیراشباع چند زنجیره‌ای (PUFA) در تیمارSW کاهش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار AL نشان داد. همسو با نتایج این مطالعه، Beare-Rogers و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که آزولا جمع‌آوری شده شده از طبیعت علیرغم وجود مقادیر پایین اسیدهای چرب امگا-۶ نسبت به سایر گیاهان روغنی، حاوی میزان قابل‌توجه اسیدهای چرب بلند زنجیره مانند اسیدلینولنیک می-باشد که همراه با اسید آلفا–لینولنیک، مهم‌ترین اسیدهای چرب ضروری مورد نیاز انسان را تشکیل می‌دهند. رجبی و همکاران (۱۳۹۴) در شناسایی ترکیب اسیدهای چرب آزولا بیان کردند که مقدار اسیدپالمتیک، اسید مارگاریک، اسید سیس-اولئیک، اسید لینولئیک و اسید آلفا-لینولنیک در آزولای وحشی به شکل معنی داری بیشتر از آزولای پرورشی بود. نتایج این پژوهش نشان داد که محتوای چربی *A. filiculoides* بیشتر از برخی گونه‌های متعلق به جنس *Azolla* نظیر *A. Africana* با ۴/۶ درصد چربی است (Fiogbe et al., 2004). باتوجه به نتایج اسید پالمتیک دارای غالبیت بیشتری در میان اسیدهای چرب اشباع در این گیاه بود که با نتایج Paoletti و همکاران (۱۹۸۷) که نشان دادند اسید اولئیک در آزولا دارای بیشترین غالبیت در بین اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه بود مطابقت دارد. بنابراین این سرخس آبزی با توجه به تنوع بالای اسیدهای چرب، منبع مناسبی برای تغذیه و استخراج برخی اسیدهای چرب است.

امروزه در سیستم‌های تصفیه آب جایگزین

فیلترهای زیستی با گیاهان به دلیل راندمان بالای این ارگانیزم‌ها در جذب دو عنصر نیتروژن و فسفر، کاربرد بالایی دارد (Rakocy, 2012). در پژوهش حاضر، پرورش گیاه آزولا در پساب پرورش ماهی (SW) توانست عوامل کیفی آب شامل متغیرهای PO_4، NO_3 و NO_2 را به طور معنی‌داری نسبت گیاه آزولا پرورش یافته در تالاب انزلی (AL) کاهش دهد. به طور مشابه دیانتی و علیمرادی (۱۳۸۶)، در تحقیقی امکان کاهش تا حذف فسفر از محیط‌های آبی را به وسیله آزولا مورد بررسی قراردادند. در پژوهشی دیگر فولادیان و همکاران (۱۳۹۰) بیان کردند پرورش آزولا در پساب میزان فسفر و نیتروژن موجود در خروجی سیستم تصفیه پساب بیمارستان را کمتر از حد استاندارد نموده و همچنین در این مدت میزان رشد و تکثیر گیاه آزولا نسبت به زمان معرفی به سیستم تصفیه به بیش از دو برابر برسد (فولادیان و همکاران، ۱۳۹۰). علت حذف بالای آمونیاک و فسفات از پساب توسط گیاه آزولا، علاوه بر قابلیت بالای خود گیاه بلکه به همزیستی سیانوباکتر آنابینا (*Anabaena azollae*) با گیاه آزولا نسبت داده شده است (Carlozzi and Padovani, 2016). Michael و همکاران (۲۰۰۲) اثر گونه‌های مختلف گیاه آزولا (شامل *Azolla pinnata*، *Pistia stratiotes* و *Salvinia molesta*) را روی تصفیه پساب صنعتی بررسی کردند و نشان دادند که غلظت زایلن و اتیلن-بنزن در گروه‌های واجد گونه *A. pinnata* پس از ۱۶ هفته به میزان ۵۰ تا ۱۰۰ برابر نسبت به گروه شاهد کاهش داشت.

نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد گیاه آزولا می‌تواند در یک بازه زمانی ۳۰ روزه به عنوان یک روش مؤثر و ارزان در تصفیه پساب‌ها مزارع پرورش ماهی خاویاری فیل تلقی شود. اگرچه تحقیقات تکمیلی در خصوص تغییرات تمامی یون‌ها و پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب خروجی پساب تصفیه شده با گیاه آزولا پیشنهاد می‌شود، بررسی اثرات اکولوژیک استفاده بلند مدت از این گیاه نیز در منطقه و همچنین استخرهای پرورش ماهی ضروری است. نتایج نشان داد تولید آزولای پرورشی در پساب مزرعه پرورش ماهی دارای ارزش غذایی بالاتری نسبت به گیاه رشد یافته در طبیعت بود. بنابراین تولید گیاه آزولا در پساب مزرعه پروش ماهی علاوه بر بهبود پارامترهای کیفی پساب سبب رشد و تولید بیوماس گیاه آزولا شد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان از زحمات پرسنل محترم مجتمع آزمایشگاهی رازی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران به ویژه آزمایشگاه شیلات کمال سپاسگزاری را اعلام می‌دارد.

منابع

دلشاد م.، احمدی فر ن.ا.، آتشبار ب.، کمالی م. ۱۳۹۷. بررسی کیفیت آب رودخانه قره‌سو اردبیل در محدوده کارگاه‌های پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله علمی شیلات ایران، ۲۷(۲)، ۱۲-۱.

دیانتی تیلکی ر.ع.، علیمرادی ج. ۱۳۸۶. بررسی حذف فسفر از محیط‌های آبی بوسیله گیاه سرخس آبی – آزولا. دهمین همایش ملی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان محیط، همدان، ایران.

رجبی ه.، وارسته گ.، عصاره ر.، خوانساری م.ر. ۱۳۹۴. مقایسه ترکیبات و ارزش غذایی آزولا (*Azolla filiculoides*) وحشی و پرورشی. نشریه توسعه آبزی پروری، ۹(۲)، ۷۵-۴۵.

فولادیان ع.، علیزاده ب.، دیانتی تیلکی ر. ۱۳۹۰. بررسی میزان رشد و جذب نیترات و فسفات از پساب تصفیه شده بیمارستانی بوسیله گیاهان آبزی آزولا و لمنا، چهاردهمین همایش ملی بهداشت. دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. Official Methods of Analysis of OfficialAnalytical Chemists International.Washington. DC. 1263 p.

Astorg P., Arnault N., Czernichow S., Noisette N., Galan P., Hercberg S. 2004. Dietary

enzyme (Digestin™) on growth and nutrients utilization of freshwater prawn, Macrobrachium rosenbergii (de Man 1879). *Journal of Oceanology and Limnology* 36(4), 1434-1441.

Hashemloian B.D., Azimi A.A. 2009**.** Alien and exotic *Azolla* in northern Iran. *African Journal of Biotechnology*, 8(2): 187-190.

Hill M.P. 1998. Life history and laboratory host range of Stenopelmus rufinasus, a natural enemy for *Azolla filiculoides* in South Africa. *BioControl* 215-224.

Hussner A. 2010. NOBANIS-InvasiveAlien, Species Fact Sheet-*Azolla filiculoides*. *BioControl* 43(4), 227-229.

Kitoh S., Shiomi N., Uheda E. 1993. The growth and nitrogen fixation of *Azolla filiculoides* Lam.in polluted water. *Aquatic Botany* 129-139.

Leterme P., Londono A.M., Munoz J.E., Suarez J. 2009. Nutritional value of aquatic ferns (*Azolla filiculoides* and *Salvinia molesta Mitchell*) in pigs. *Animal Feed Science and Technology* 149(2), 135-148.

Magouz F.I., Dawood M.A., Salem M.F., Mohamed A.A. 2020. The effects of fish feed supplemented with Azolla meal on the growth performance, digestive enzyme activity, and health condition of genetically-improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus). Annals of Animal Science* 20(3), 1029-1049.

Mahanty T., Bhattacharjee S., Goswami M., Bhattacharyya P., Das B., Ghosh A., Tribedi P. 2017. Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. *Environmental Science and Pollution Research* 24(4), 3315-3335.

Michael Y.L., Berkman L.F., Colditz G.A., Holmes M.D, Kawachi I.J. 2002. Social networks and health-related quality of life in breast cancer survivors: a prospective study. *Journal of Psychosomatic Research* 285-93.

Mohamed F., Dowidar I., Mohamed A., Abd El-Megid E., Suzan O., EL-Werwary M. 2018. Effect of Turmeric (*Curcuma longa*) Black Pepper (*Piper nigrum*) and Azolla Pinnata on Waste Water Nile tilapia Fish. *Central Laboratory for Aquaculture Research* 45(4), 386-393.

Mohseni-Bandpei A., Yousefi Z. 2013. Status of water quality parameters along Haraz River. *International Journal of Environmental Research* 7(4), 1029-1038.

intakes and food sources of n–6 and n–3 PUFA in French adult men and women. *Lipids* 39(2), 527-535.

Baars J.R., Caffery J. 2008. Water fern, *Azolla filiculoides* - Under biological control in Ireland. *Invasive Species Ireland* 10(3), 123-128.

Bagherian Kalat A., Angoshtari H., Ghafurian R., Nekoei A.A. 2010. Survey of the effect of fish farms effluent on microbial status of Sarrud Kalat River. In: Proceedings of the 4th National Conference and Exhibition on Environmental Engineering. 11 p.

Beare-Rogers J., Dieffenbacher A., Holm J.V. 2001. Lexicon of lipid nutrition IUPAC Technical Report. *Pure and Applied Chemistry* 685-744.

Brouwer P., van der Werf A., Schluepmann H., Reichart G. J., Nierop K.G. 2016. Lipid yield and composition of *Azolla filiculoides* and the implications for biodiesel production. *BioEnergy Research* 9(1), 369-377.

Camargo J., Alonso A. 2006. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems. A global assessment. *International Journal of Environmental* 831-849.

Carlozzi P., Padovani G. 2016. Theaquaticfern Azolla as a natural plant-factory for ammonia removal from fish-breeding fresh wastewater. Environ Sci Pollut Res, 23(9), 8749-55.

Evrard C., Van Hove C. 2004. Taxonomy of the American Azolla specie (*Azollaceae)*: A critical review. *Systematics and Geography of Plants* 301-318.

Fasakin E.A., Balogun A.M., Fagbenro O.A. 2001. Evaluation of Sun-dried water fern, *Azolla africana* and duckweed, Spirodela polyrrhiza in practical diets for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fingerlings. *Journal of Applied Aquaculture* 11(4), 83-92.

Fiogbe E.D., Micha J.C., Van Hove C. 2004. Use of a natural aquatic fern, Azolla microphylla, as a main component in food for the omnivorousñ phytoplankton ophagous tilapia, *Oreochromis niloticusl*. *Blackwell Verlag* 20(1), 517-520.

Forenshell G. 2001. Setting basin design. Western Regional Aquaculture Center, WRAC-.USA. pp: 6-106

Goda A., Saad A., Hanafy M., Sharawy Z., El-Haroun E. 2018. Dietary effects of Azolla pinnata combined with exogenous digestive

Paoletti C., Bocci F., Lercker G., Capella P., Materassi R. 1987. Lipid composi- tion of Azolla caroliniana biomass and its seasonal variation. *Phyto- chemistry* 26(4), 1045-1047.

Pereira A.L., Carrapiço F. 2009. Culture of *Azolla filiculoides* in artificial conditions. *Plant Biosystems* 1, 37-41.

Rakocy J.E. 2012. Aquaponics integrating fish and plant culture. Wiley-Blackwell, Oxford, UK. pp: 344-386.

Rakocy J.E., Masser M.P., Losordo T.M. 2006. Recirculating aquaculture tank production systems: Aquaponics integrating fish and plant culture. SRAC publication. pp: 1-16.

Rippka R., Masser M.P., Yakupitiyage A. 1979. Genetic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Journal of General Microbiology* 1(2):1-6.

Seifzadeh M. 2019. Evaluation of the quality of beta-carotene derived from *Azolla Filiculoides* in the Anzali Wetland using the organic solutions method in autumn. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology* 14(1), 67-76.

Sumoharjo J., Mohammad R., Irwan B.2018. Biomass production of *Azolla microphylla* as biofilter in a recirculating aquaculture system. *Asian Journal of Agriculture* 2(1), 14-19.

Wagner G.M. 1997. Azolla: A Review of Its Biology and Utilization. *Department of Zoology and Marine Biology* 63(3), 1-26.

Watkins B.A., Saifert M.F. 1996. Importance of Vitamin E in Bone Formation and in Chrondrocyte Function. Food Lipids and Bone Health. *American Oil Chemists Society* 10(6), 20-45.

Yao Y., Zhang M., Tian Y., Zhao M., Zeng K., Zhang B., Yin B. 2018. Azolla biofertilizer for improving low nitrogen use efficiency in an intensive rice cropping system. *Field Crops Research* 216, 158-164.

Wang Y., Liu J., Kang D., Wu C., Wu, Y. 2017. Removal of pharmaceuticals and personal care products from wastewater using algae-based technologies: a review. *Reviews in Environmental Science and BioTechnology* 16(4), 717-735.

Liu J., Pemberton B., Lewis J., Scales P. J., Martin G. J. 2020. Wastewater treatment using filamentous algae–A review. *Bioresource Technology* 298, 122556.

Determination of the nutritional values and some growth performance of cultured Azolla (*Azolla filiculoides*) using Beluga (*Huso huso*) farm wastewater

Seyed Pezhman Hosseini Shekarabi*, Milad Bahrami, Mehdi Shamsaie Mehrgan, Negar Mohammadi

Department of Fisheries Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*Corresponding author: hosseini@srbiau.ac.ir

Received: 2020/6/18 Accepted: 2021/2/26

Abstract

Phytoremediation is a sustainable and inexpensive technology and has become popular as an alternative solution to traditional wastewater treatment methods. The aim of this study was to use fish farm effluent as a culture medium for the Azolla and also to improve the effluent. For this purpose, the initial amount of 60 g of Azolla was dvided in two treatments with three replications, including Azolla in the wastewater of Beluga sturgeon farm (SW) and Azolla in the water of Anzali wetland (AL) which were grown *in-vitro* for 30 days. Sampling of water was performed to evaluate some water quality parameters at 10, 20 and 30 days. At the end of the experiment, the plant growth performance, fatty acid profile, and approximate composition were measured. The results showed that maximum amount of biomass (295.22 g) and plant width (9.64 mm) were observed in SW treatment (P<0.05). Also, the results of fatty acid composition showed that saturated fatty acids in SW treatment had a significant increase compared to AL treatment. However, unsaturated fatty acids in SW treatment showed a significant decrease compared to AL (P<0.05). In addition, a significant downward trend in the water quality parameters (phosphate, nitrate, and nitrite) was observed in SW treatment on day 30. The highest and lowest contents of fat and moisture were observed in SW treatment (P<0.05). Therefore, the production of Azolla in Beluga farm effluent can be an effective and cost-effective method due to the rapid growth rate, high ability to absorb the amount of phosphorus and nitrogen in water, as well high nutritional values (protein and lipid contents) and high diversity of fatty acids.

Keywords: *Azolla filiculoides*, Fatty acid, Wastewater treatment, Biodegradation.