



## تصفیه پساب آبی پروری با استفاده از سیستم ترکیبی ماهی - فیتوپلانکتون - زئوپلانکتون

هادی پورباقر<sup>۱\*</sup>، غلامرضا رفیعی<sup>۲</sup>، کامران رضایی توابع<sup>۱</sup>، فاتح معزی<sup>۳</sup>

۱- دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

۲- استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

۳- دکتری شیلات، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۲۵

تاریخ ارسال: ۱۳۹۸/۱۱/۲۹

### چکیده

از مشکلات توسعه آبی پروری افزایش اثرات مخرب ورود پساب به محیط است. تصفیه پساب می-تواند در کاهش پیامدهای نامطلوب دراکوسیستم های آبی بسیار اثر بخش باشد. در مطالعه حاضر امکان استفاده از میکروارگانیسم های فیتو- و زئوپلانکتونی به صورت یکپارچه در یک سیستم پرورش ماهی به منظور تصفیه پساب مورد بررسی قرار گرفت. گونه های ماهی پرورشی و فیتوپلانکتون مورد استفاده به ترتیب عبارت بودند از: ماهی تیلاپیا نیل ( *Oreochromis niloticus* ) و ریزجلبک آب شیرین (*Chlorella vulgaris* آرتمیا ( *Artemia franciscana* ) و روتیفر ( *Brachionus sp.* ) نیز از گروه های اصلی زئوپلانکتون های مورد استفاده بودند. سطوح ترکیبات مغذی نیترات، نیتريت و فسفات در طول دوره پرورشی در خروجی سیستم نسبت به سطوح آن در شرایط شاهد کمتر بود. مقادیر DO و pH اندازه گیری شده نیز در خروجی سیستم همواره در سطوح مطلوبی قرار داشت (  $DO > 6 \text{ mg.l}^{-1}$  و  $pH = 7 - 8$  ). مقادیر شاخص های EC، TDS و TSS نیز در خروجی سیستم ترکیبی به شکل معنی داری (  $P < 0.05$  ) کمتر از وضعیت شاهد بود. عملکرد رشد بهتری از نظر مقدار افزایش وزن برای ماهیان سیستم ترکیبی در مقایسه با شرایط شاهد مشاهده گردید (  $P < 0.05$  ). بر اساس نتایج، استفاده همزمان از سطوح تروفی مختلف شامل فیتوپلانکتون، زئوپلانکتون و ماهی در یک سیستم یکپارچه پرورشی ماهی تیلاپیا سبب تصفیه مناسب پساب پرورش ماهی با سطح کیفیت بسیار مطلوب و با قابلیت استفاده مجدد بدون پیامدهای نامطلوب بر عملکرد رشد این ماهیان در مقایسه با شرایط شاهد شد.

واژگان کلیدی: آبی پروری؛ تصفیه پساب؛ میکروارگانیسم ها؛ سیستم ترکیبی؛ ماهی تیلاپیا.



## Treatment of Aquaculture effluent using an integrated system: fish-phytoplankton-zooplankton

Hadi Poorbagher<sup>1\*</sup>, Gholamreza Rafiee<sup>2</sup>, Kamran Rezaei Tavabe<sup>1</sup>, Fateh Moëzzi<sup>3</sup>

1- Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj.

2- Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

3- Ph.D. Graduate, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

Received: 18-Mar-2020

Accepted: 13 -Apr-2020

### Abstract

During the last decades, aquaculture development has led to the increase in aquaculture effluents into water bodies and triggered their undesirable impacts on habitat quality and aquatic biota of these environments. Treatment of aquaculture effluents and reusing them in culture systems can decrease the level of destructive impacts on aquatic ecosystems. The present study was conducted to investigate the possibility of using phyto- and zooplankton microorganisms to treat and reuse fish culture wastewater in an integrated culture system. The Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and *Chlorella vulgaris* were used as fish and microalgae species. The main zooplankton classes were composed of *Artemia* (*Artemia franciscana*) and Rotifer (*Brachionus* sp.). Measured and calculated parameters were: nitrate (NO<sub>3</sub>), nitrite (NO<sub>2</sub>), ammonium (NH<sub>4</sub>), phosphate (PO<sub>4</sub>), dissolved oxygen (DO), pH, electrical conductivity (EC), total dissolved solids (TDS), total suspended solids (TSS), number of microalgae cells and zooplankton counts, and fish growth performance parameters include weight gain (WG), specific growth rate (SGR) and condition factor (CF). The results showed that nutrient levels (NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>, and PO<sub>4</sub>) were decreased significantly at the system outlet during the study period. The DO and pH levels were observed at their optimum ranges (DO > 6 mg.l<sup>-1</sup>; pH = 7 - 8) during the study period. The levels of EC, TDS and TSS of the integrated system were significantly (P < 0.05) lower than the control condition. The growth performance (i.e. weight gain) of fish was significantly (P < 0.05) better in the integrated system compared to the control condition. It can be said, based on the obtained results, simultaneous use of microalgae, zooplankton and fish in an integrated tilapia culture system led to the appropriate treatment of fish culture effluent and significant improvement of water quality to reuse in the system without any undesirable effect on fish growth compared to the control condition.

**Keywords:** aquaculture; wastewater treatment; microorganisms; integrated system; tilapia.

\*Corresponding author: Hadi Poorbagher

Email: poorbagher@ut.ac.ir

## ۱. مقدمه

آبی پروری یکی از مهمترین منابع تولید پروتئین غذایی در بسیاری از نقاط جهان به شمار می‌رود که در طول دهه‌های گذشته از روند رشد قابل توجهی برخوردار بوده است (FAO, 2018). همراه با توسعه و افزایش فعالیت‌ها و مراکز آبی پروری، مقادیر پساب تولیدی آنها نیز به شکل چشم‌گیری افزایش یافته است. این پساب‌ها به یکی از مهمترین مشکلات صنعت آبی پروری تبدیل شده‌اند که می‌توانند اثرات محیط‌زیستی جبران‌ناپذیری را بر اکوسیستم‌های آبی اعمال کنند (Yogev *et al.*, 2017; Lunda *et al.*, 2019).

ذرات آلی معلق و ترکیبات مغذی محلول در پساب‌های آبی پروری که نشأت گرفته از بقایای غذایی مصرف‌نشده و همچنین مواد دفعی ماهیان هستند، پیامدهای نامطلوبی را با ورود به اکوسیستم‌های آبی سبب می‌شوند که مهمترین آنها، افزایش تروفی در اکوسیستم‌های آبی است (Chopin *et al.*, 2001). افزایش سطح تروفی در نتیجه ورود پساب‌های تأسیسات آبی پروری به محیط‌های آبی خشکی یا آب‌های آزاد منجر به بروز شکوفایی‌های پلانکتونی و در نهایت مقادیر کم اکسیژن محلول در آب‌های پذیرنده می‌گردد (Pillay, 2004; Paul and Vogl, 2011). این فرآیندها به طور خاص در ارتباط با فعالیت‌های آبی پروری در محیط‌های خشکی مورد توجه‌اند، زیرا با شدت بیشتری سلامت زیستگاهی گونه‌های آبیان را با تهدید روبرو می‌سازند (Jegatheesan *et al.*, 2011).

نیاز به حمایت از اکوسیستم‌های آبی در برابر آلاینده‌های موجود در پساب‌های آبی پروری منجر به استفاده از فناوری‌های مختلف در تصفیه پساب‌های آبی پروری شده است که مبتنی بر روش‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی هستند (Sikder *et al.*, 2016; Nogueira *et al.*, 2018). تصفیه و استفاده مجدد از ترکیبات حاوی مواد مغذی به ویژه در سیستم‌های دارای جریان مدار بسته به دلیل سمیت ترکیباتی همچون

آمونیاک و نیتريت، و تغییرات سطوح تروفی محیط در نتیجه وجود نیترات و فسفات از اهمیت بالایی برخوردار است (Brown *et al.*, 1999). استفاده از گروه‌های مختلف موجودات از جمله گیاهان، باکتری‌ها و ریزجلبک‌ها در تصفیه و ارتقای کیفیت پساب‌های آبی پروری در مطالعات مختلف انجام شده است که از مزایای قابل توجهی برخوردار بوده‌اند (Lee and Lee, 2002). در این میان استفاده از ریزجلبک‌ها در کاهش سطوح مواد مغذی و ارتقای ظرفیت اکسیژنی آب نتایج بسیار مطلوبی را در راستای ارتقای کیفیت آب و کاهش اثرات مضر پساب‌های آبی پروری به دست داده است (Sengupta *et al.*, 2015). تلفیق سیستم‌های زیستی مختلف در یک سیستم واحد و یکپارچه به منظور بکارگیری سطوح تروفی مختلف جهت تصفیه و ارتقای کیفیت پساب خروجی آبی پروری نیز در برخی از مطالعات مورد بررسی قرار گرفته است (Hargreaves, 2006). در این سیستم‌ها پساب‌های خروجی دارای بار بالای مواد آلی و همچنین تراکم جلبکی بالا بوده که در نهایت از سیستم خارج گردیده است. در برخی از این مطالعات نیز از زئوپلانکتون‌ها به عنوان عامل کنترل زیتوده جلبکی در سیستم‌ها استفاده شده است (Gilles *et al.*, 2014). با این حال، مواردی در ارتباط با عدم وجود تعادل مناسب بین اجزای تروفی مختلف مورد اشاره قرار گرفته (Mires, 1992; Drapcho and Brune, 2000) که تا حدودی نشان‌دهنده ضعف عملکرد در این سیستم‌ها است.

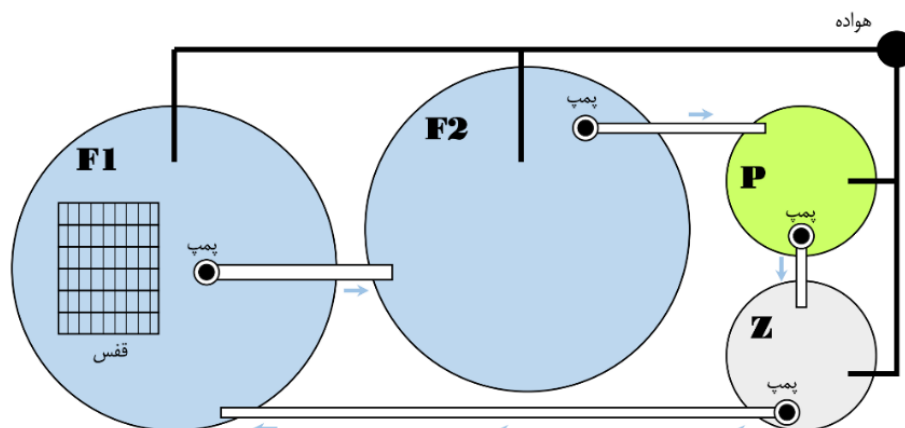
در این راستا، مطالعه حاضر به منظور طراحی و ایجاد یک سیستم ترکیبی متشکل از سطوح تروفی مختلف شامل ماهی- فیتوپلانکتون-زئوپلانکتون در کنار و وضعیت پرورشی متراکم انجام شد تا اثرات عملکرد همزمان این اجزا بر کیفیت پساب خروجی سیستم در مقایسه با شرایط پرورش متراکم کنترل شده مورد ارزیابی قرار گیرد.

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۲.۱. سیستم مورد بررسی

فتوسنتز جلبکی قرار گیرد. به عبارت دیگر این مخزن محل تصفیه پساب خروجی از مخازن پرورشی ماهیان بود. در مرحله بعد آب از مخزن P به مخزن چهارم (Z) انتقال داده می‌شود. مخزن Z نیز یک مخزن فایبرگلاس ۱۰۰ لیتری بود که محل قرارگیری جمعیت زئوپلانکتونی متشکل از آرتمیا (*Artemia franciscana*) و روتیفر (*Brachionus sp.*) بود. امکان تغذیه زئوپلانکتون‌ها از سلول‌های جلبکی موجود در آب منتقل شده از مخزن P به مخزن Z در این مخزن وجود داشت تا مانع از شکوفایی جلبکی در سایر مخازن و کنترل سطح جمعیتی آنها شود. در نهایت آب از این مخزن به عنوان پساب تصفیه شده به مخزن F1 انتقال پیدا می‌کرد تا مجدداً در چرخه آبی سیستم وارد شود. میزان آب تبخیرشده از مخازن سیستم ترکیبی ( $8,66 \pm 20,19$  لیتر) به صورت روزانه اضافه می‌گردید. به منظور هوادهی کلیه مخازن پرورشی و تأمین اکسیژن موردنیاز از یک هواده و شبکه متصل به آن برای تمامی مخازن استفاده شد. بر این اساس، تلاطم موردنیاز در مخزن P نیز به منظور اختلاط آب و دسترسی سلول‌های جلبکی به مواد مغذی حاصل از مواد دفعی ماهی فراهم می‌شد. در کنار این سیستم، تعداد ۱۰ قطعه ماهی در یک مخزن فایبرگلاس ۲۰۰ لیتری مجزا به عنوان گروه شاهد (مخزن C) با نسبت تعویض آب روزانه ۳۰٪ استقرار پیدا کردند.

سیستم آزمایشی متشکل از چهار بخش اصلی در قالب مخازن آبی مجزا بود (شکل ۱). مخزن اول (F1) مخزن اصلی پرورش ماهی در شرایط متراکم (در قفس) متشکل از یک مخزن فایبرگلاس با حجم ۲۰۰ لیتر بود. در این مخزن تعداد ۱۰ قطعه ماهی در یک محفظه قفس-مانند محصور قرار داشتند و فاصله قفس از کف مخزن به صورتی بود که امکان دسترسی آنها به قسمت‌های کف مخزن و استفاده از بقایای غذایی برای ماهیان وجود نداشت. ته‌مانده غذا و مواد دفعی ماهیان مخزن F1 از طریق سیستم مکش از کف مخزن به مخزن دوم (F2) انتقال داده می‌شد. مخزن F2 نیز یک مخزن فایبرگلاس ۲۰۰ لیتری بود که تعداد ۱۰ قطعه ماهی را در خود جای می‌داد با این تفاوت که در این مخزن امکان دسترسی ماهیان به کل توده آبی وجود داشت. مخزن سوم (P) یک مخزن فایبرگلاس با حجم ۱۰۰ لیتر بود که محل فعالیت و پرورش توده فیتوپلانکتونی از گونه *Chlorella vulgaris* بود. استوک جلبک مورد استفاده از آزمایشگاه هیدروبیولوژی آبزیان گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران تهیه گردید. آب دربردارنده مواد مغذی حاصل از بقایای غذایی و مواد دفعی ماهیان مخزن F1 و F2 به این مخزن وارد می‌شد تا تحت تأثیر فرآیند



شکل ۱- نمای شماتیک سیستم آزمایشی. F1: مخزن پرورشی متراکم دارای قفس؛ F2: مخزن پرورشی گسترده (غیرمتراکم)؛ P: مخزن پرورش فیتوپلانکتون؛ Z: مخزن پرورش زئوپلانکتون؛ فلش‌های آبی‌رنگ: جهت جریان آب؛ پمپ: پمپ‌های انتقال آب؛

خطوط سیاه‌رنگ: مسیرهای هوادهی در مخازن.

شیمیایی نیترات ( $\text{NO}_3$ )، نیتريت ( $\text{NO}_2$ )، آمونیوم ( $\text{NH}_4$ ) و فسفات ( $\text{PO}_4$ ) بر اساس روش رنگ سنجی با استفاده از اسپکتروفوتومتر انجام شد. اندازه‌گیری مجموع مواد معلق (TSS) بر اساس روش ارائه شده در (APHA (2005) انجام گرفت.

## ۲.۴. تعیین تراکم میکروارگانیس‌ها

### (فیتوپلانکتون و زئوپلانکتون)

تعیین تراکم سلول‌های فیتوپلانکتون و تعداد زئوپلانکتون به صورت هفتگی انجام شد. تعیین تراکم پس از برداشت نمونه‌های آب از مخازن P و Z بلافاصله از طریق شمارش با استفاده از لام نئوبار در زیر میکروسکوپ انجام گرفت. در هر زمان، سه نمونه آب به عنوان سه تکرار برداشت گردید و هر نمونه نیز سه بار مورد شمارش قرار گرفت و در نهایت تعداد میکروارگانیس‌ها در واحد حجم آب (ml) محاسبه شد.

## ۲.۵. شاخص‌های رشد ماهی

زیست‌سنجی ماهیان در مخازن مورد بررسی در انتهای هر هفته در طول دوره پرورشی انجام شد. به منظور زیست‌سنجی، پس از بیهوش کردن ماهیان با استفاده از پودر گل میخک (Akhlaghi and Mirab, 1999)، اندازه‌گیری‌های طول کل و وزن آنها انجام شد. شاخص‌های رشد مورد بررسی عبارت بودند از افزایش وزن (WG: weight gain)، ضریب چاقی یا فاکتور وضعیت (CF: condition factor) و ضریب رشد ویژه (SGR: specific growth rate).

جهت محاسبه میزان افزایش وزن (WG) از رابطه زیر استفاده شد:

(وزن ابتدایی - وزن انتهایی) = افزایش وزن

محاسبه ضریب چاقی (CF) نیز با استفاده از رابطه زیر انجام شد:

$$CF = (W/L^3) * 100$$

## ۲.۲. گونه پرورشی و مدیریت شرایط پرورشی

در مطالعه حاضر از ماهی تیلاپپای نیل (*Oreochromis niloticus*) به عنوان گونه پرورشی در سیستم آزمایشی استفاده شد. تعداد ۸۰ قطعه ماهی تیلاپپا از کارگاه تکثیر و پرورش آبیان گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران در کرج تهیه گردید. این ماهیان در دامنه طولی  $2.02 \pm 11.25$  cm و وزنی  $8.29 \pm 25.86$  گرم قرار داشتند. پیش از آغاز دوره پرورشی، این ماهیان به مدت دو هفته در مخازن پرورشی در شرایط دمایی  $27.0 \pm 2.4$  °C و دوره نوری ۱۸ ساعت روشنایی: ۶ ساعت تاریکی نگهداری شدند. در آغاز دوره پرورشی، ۱۰ قطعه ماهی با انتخاب تصادفی در هر یک از مخازن F1، F2 و C قرار داده شد.

مدت زمان ۶ هفته (۴۲ روز) جهت بررسی عملکرد سیستم آزمایشی ترکیبی در نظر گرفته شد. در طول این مدت، ماهیان تیلاپپای موجود در مخازن F1، F2 و C به ترتیب به میزان ۵، ۰.۵ و ۵ درصد وزن بدن به صورت روزانه با استفاده از غذای تجاری شرکت فرادانه (غذای اکستروود ماهی قزل‌آلا- پیش‌پروری FFT2) تغذیه شدند. غذای موردنظر در سه قسمت یکسان در طول روز (در ساعات ۰۷:۰۰، ۱۳:۰۰ و ۱۹:۰۰) به ماهیان داده می‌شد. در طول این دوره ماهیان با وضعیت دوره نوری ۱۸ ساعت روشنایی: ۶ ساعت تاریکی نگهداری شدند.

## ۲.۳. اندازه‌گیری شاخص‌های کیفیت آب

به منظور بررسی شاخص‌های کیفی آب، نمونه‌برداری از آب در خروجی سیستم آزمایشی (خروجی مخزن Z) و نیز مخزن شاهد به صورت هفتگی انجام شد. اندازه‌گیری شاخص‌های دما، pH، هدایت الکتریکی (EC) و مجموع مواد محلول (TDS) با استفاده از دستگاه کنداکتومتر Metrohm مدل ۷۴۴ صورت گرفت. مقدار اکسیژن محلول (DO) با استفاده از دستگاه اکسیژن متر دیجیتال شرکت HANA مدل HI98193 ساخت کشور رومانی اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری مقادیر غلظت شاخص‌های

۰,۵۱ ± ۱,۲۵۴) بود. تفاوت معنی‌داری بین مقدار آمونیوم در خروجی مخزن ترکیبی (۰,۱۳۴ mg.l<sup>-1</sup> ± ۰,۱۹۹) و مخزن شاهد (۰,۱۸ mg.l<sup>-1</sup> ± ۰,۳۳۴) مشاهده نشد. مقدار غلظت فسفات نیز در خروجی مخزن شاهد (۰,۱۶۵ mg.l<sup>-1</sup> ± ۰,۴۴۳) به شکل معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بیشتر از سیستم ترکیبی (۰,۰۶ mg.l<sup>-1</sup> ± ۰,۲۵۴) بود.

سطوح اندازه‌گیری شده اکسیژن محلول (DO) نشان داد که مقدار DO در خروجی مخزن سیستم ترکیبی (۰,۷۸ mg.l<sup>-1</sup> ± ۰,۴۸) بیشتر از مقدار آن در خروجی سیستم شاهد (۰,۷۹ mg.l<sup>-1</sup> ± ۰,۹۷) بوده است ( $P < 0.05$ ). تفاوت معنی‌داری از نظر مقدار pH خروجی دو سیستم ترکیبی (۰,۲۲ ± ۷,۵۵) و شاهد (۰,۸۷ ± ۶,۶۸) وجود نداشت.

مقادیر هدایت الکتریکی (EC) اندازه‌گیری شده در خروجی مخزن شاهد (۱۲۸,۷ μS.cm<sup>-1</sup> ± ۱۳۶۰,۰) به میزان قابل توجهی بیشتر از مقدار آن در خروجی سیستم ترکیبی (۲۹,۲۴ μS.cm<sup>-1</sup> ± ۱۹۱,۷۵) بود ( $P < 0.05$ ). سطوح مقادیر مجموع مواد محلول (TDS) و معلق (TSS) نیز در خروجی مخزن شاهد (۶۴,۲۹ mg.l<sup>-1</sup> ± TDS؛ ۱۷,۷۷ mg.l<sup>-1</sup> ± TSS) به صورت معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بیشتر از خروجی سیستم ترکیبی (۱۸,۴۵ mg.l<sup>-1</sup> ± TDS؛ ۹۳,۸۳ mg.l<sup>-1</sup> ± TSS) بود. (۶,۷۷)

### ۳,۲. تغییرات جمعیتی میکروارگانیسم‌ها

#### (فیتوپلانکتون و زئوپلانکتون)

تغییرات زیتوده فیتوپلانکتونی در مخزن پرورشی جلبک (مخزن P) بر حسب تعداد سلول‌های جلبکی در واحد حجم آب در شکل ۳. الف) نشان داده شده است. سطوح زیتوده جلبکی نشان داد که در طول دوره آزمایش ۶ هفته‌ای، یک روند افزایشی قابل توجه در سه هفته اول اتفاق می‌افتد و پس از آن تقریباً یک سطح زیتوده جلبکی پایدار با نوسانات اندک افزایشی و کاهش متناوب در مخزن P بوجود خواهد آمد. روند تغییرات به دست آمده در رابطه با تعداد

که در آن W مقدار وزن (g) و L مقدار طول (cm) است.

ضریب رشد ویژه (SGR) نیز بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید:

$$SGR = ((\ln(W_f) - \ln(W_i)) / t) * 100$$

که در آن W<sub>f</sub> و W<sub>i</sub> به ترتیب وزن اولیه و وزن نهایی در طول دوره زمانی معادل t است.

### ۲,۶. تجزیه و تحلیل داده

در این مطالعه مخازن پرورشی تفکیک شده، به عنوان واحدهای آزمایشی در نظر گرفته شدند. داده‌های به دست آمده به صورت  $\pm$  میانگین بیان گردید. محاسبات آماری در نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۹) انجام شد و رسم نمودارها نیز در نرم‌افزار excel از مجموعه Office (Ver.2016) صورت گرفت. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف و همگن بودن واریانس‌ها با استفاده از آزمون لوین انجام شد. جهت بررسی تفاوت‌های معنی‌دار در سطوح پارامترهای کیفی آب بین سیستم آزمایشی و شرایط شاهد از آزمون t مستقل استفاده گردید. مقایسه پارامترهای عملکرد رشد بین مخازن F1، F2 و C با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) صورت گرفت. به منظور مقایسه میانگین‌ها، در صورت نرمال بودن و همگن بودن واریانس‌های داده‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن و در غیر این صورت از آزمون ولج استفاده شد.

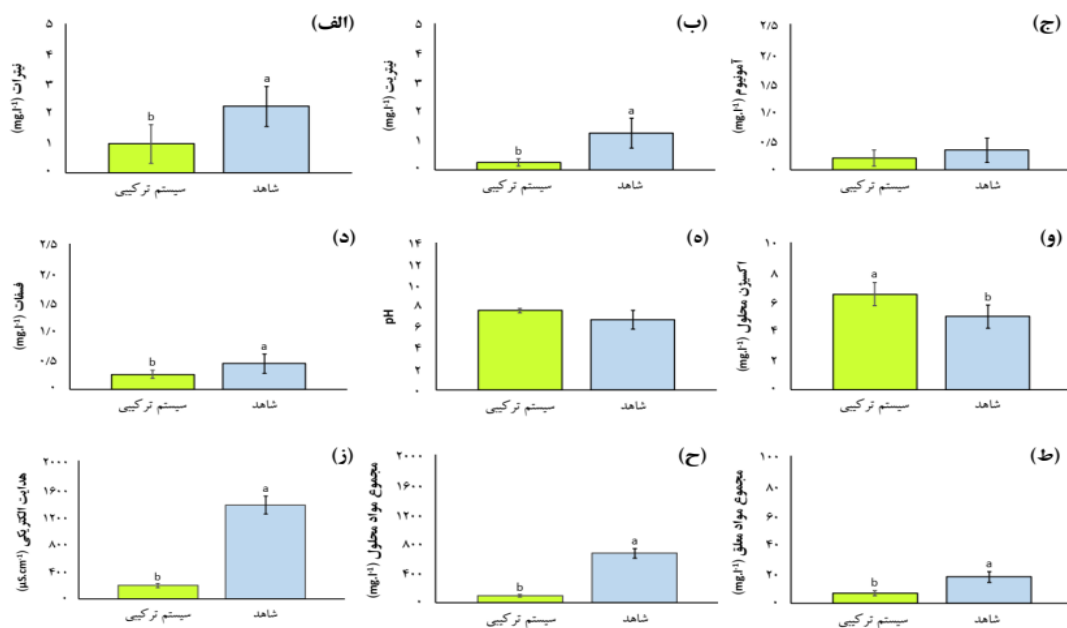
### ۳. نتایج

#### ۳,۱. کیفیت آب

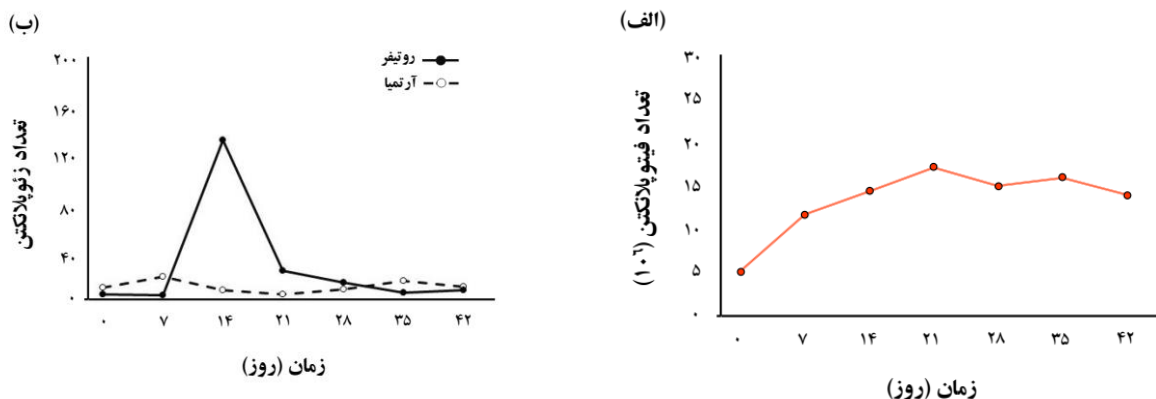
مقادیر شاخص‌های کیفی آب اندازه‌گیری شده در خروجی سیستم ترکیبی و مخزن شاهد در شکل ۲ نشان داده شده است. غلظت نترات در خروجی مخزن شاهد (۰,۶۷ mg.l<sup>-1</sup> ± ۲,۲۳) به صورت معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بیشتر از مقدار آن در خروجی سیستم ترکیبی (۰,۴۴ mg.l<sup>-1</sup> ± ۰,۹۶۶) بود. غلظت نیتريت نیز در خروجی سیستم ترکیبی (۰,۱۱ mg.l<sup>-1</sup> ± ۰,۲۵) نیز به شکل معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) کمتر از مخزن شاهد (۰,۱۱ mg.l<sup>-1</sup>)

تعداد در پیش گرفت. افزایش تعداد آرتمیا و با یک تأخیر زمانی، برای روتیفرها، همراه با افزایش توده جلبکی در مخزن P صورت گرفت، اما پس از توقف افزایش تعداد سلول‌های جلبکی در مخزن P، کاهش تعداد آرتمیا و روتیفر در مخزن Z رخ داد و در نهایت در پایان دوره یک سطح کم و تقریباً یکنواخت از هر دو گروه این زئوپلانکتون‌ها مشاهده شد.

موجودات زئوپلانکتونی (آرتمیا و روتیفر) در مخزن P (شکل ۳. ب)) نشان داد تعداد آرتمیا در واحد حجم آب (ml) در طول دوره آزمایش نوسانات زیادی نداشته و در بیشتر موارد افزایش تعداد مشاهده نشد، اما تعداد روتیفرها افزایش قابل توجهی را در فاصله روزهای ۷ و ۱۴ نشان دادند و پس از آن نیز کاهش قابل توجهی تا روز ۲۱ اتفاق افتاد و در ادامه نیز یک روند تقریباً کاهشی را از نظر



شکل ۲- مقادیر شاخص‌های کیفی آب خروجی سیستم ترکیبی و شاهد در طول دوره پرورشی. (الف) نیترات؛ (ب) نیتریت؛ (ج) آمونیوم؛ (د) فسفات؛ (ه) pH؛ (و) اکسیژن محلول؛ (ز) هدایت الکتریکی؛ (ح) مجموع مواد محلول؛ (ط) مجموع مواد معلق. حروف متفاوت روی ستون‌ها بیانگر تفاوت معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) اند.



شکل ۳- تغییرات تعداد سلول جلبکی (الف) و تعداد آرتمیا و روتیفر (ب) به ترتیب در مخازن P و Z از سیستم ترکیبی در طول دوره پرورشی.

### ۳.۳. شاخص‌های رشد ماهی

گسترده (F2) بود. مقادیر افزایش وزن سیستم شاهد نیز بیشتر از مخزن F2 و کمتر از مخزن F1 بود. مقادیر ضریب چاقی (CF) محاسبه شده برای ماهیان پرورشی تفاوت معنی‌داری را بین مخازن مختلف نشان نداد. سطوح محاسبه شده نرخ رشد ویژه (SGR) نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بین مخازن آزمایشی بود. بیشترین مقدار نرخ رشد ویژه متعلق به ماهیان مخزن F1 (پرورش متراکم) و کمترین مقدار مربوط به ماهیان مخزن F2 (پرورش گسترده) بود. سطوح به دست آمده این شاخص برای ماهیان مخزن شاهد تفاوتی را با دو مخزن دیگر نشان نداد.

مقادیر اندازه‌گیری‌شده شاخص‌های رشد ماهیان پرورشی شامل افزایش وزن (WG)، ضریب چاقی (CF) و ضریب رشد ویژه (SGR) در طول دوره آزمایشی در مخازن F1 و F2 از سیستم ترکیبی و نیز مخزن شاهد در جدول ۱ ارائه شده است. تفاوت معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بین مقادیر افزایش وزن مربوط به مخازن پرورشی سیستم ترکیبی و شاهد مشاهده گردید. بیشترین سطوح افزایش وزن در ماهیان مخزن پرورش متراکم (F1) به دست آمد و کمترین مقدار نیز مربوط به ماهیان مخزن پرورش

جدول ۱- مقادیر شاخص‌های رشد (انحراف معیار  $\pm$  میانگین) ماهیان پرورشی شامل افزایش وزن (g)، ضریب چاقی ( $\text{g.cm}^{-3}$ ) و نرخ رشد ویژه ( $\text{g.day}^{-1}$ ) در مخازن مختلف پرورشی. حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) در سطرهای جدول است.

مخزن شاهد	مخزن پرورش گسترده (F2)	مخزن پرورش متراکم (F1)	
$10.53 \pm 1.11^b$	$7.78 \pm 1.65^c$	$22.92 \pm 1.89^a$	افزایش وزن (g)
$1.73 \pm 0.02$	$1.68 \pm 0.15$	$1.62 \pm 0.11$	ضریب چاقی ( $\text{g.cm}^{-3}$ )
$0.79 \pm 0.23^{ab}$	$0.62 \pm 0.11^b$	$0.93 \pm 0.11^a$	نرخ رشد ویژه ( $\text{g.day}^{-1}$ )

ترکیبات در خروجی مخازن شاهد در طول دوره مطالعه بود. این وضعیت نشان‌دهنده عملکرد مطلوب به‌کارگیری فیتوپلانکتون در کاهش غلظت این ترکیبات مغذی موجود در پساب خروجی مخازن نگهداری ماهیان بوده است. آمونیوم و نیترات بهترین اشکال قابل جذب نیتروژن توسط ریزجلیک‌ها هستند (Becker, 1994). با این حال، علی‌رغم کاهش مشخص غلظت نیترات، سطوح آمونیوم در دو سیستم ترکیبی و شاهد تفاوت چندانی را نشان نداد و در مجموع، مقادیر پایینی از این ترکیب در خروجی هر دو سیستم ثبت شد. این وضعیت می‌تواند ناشی از اثرات سایر ترکیبات محلول در آب باشد (Beuckels *et al.*, 2015). در مطالعات دیگری نیز علی‌رغم استفاده از سلول‌های جلیکی به منظور تصفیه پساب، غلظت آمونیوم در سطوحی بدون تغییر گزارش شده است (Hawrot-Paw *et al.*, 2020).

در خروجی سیستم ترکیبی، وضعیت مناسب‌تری از

## ۴. بحث و نتیجه‌گیری

### ۴.۱. کیفیت آب

تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده به وضوح نشان‌دهنده کارکرد مناسب سیستم ترکیبی در ارتقای کیفیت پساب خروجی در مقایسه با شرایط مخازن شاهد بوده است. ترکیبات مغذی نیتروژن‌دار و فسفردار موجود در پساب آبی‌پروری، از مهمترین عوامل تنزل و آلودگی محیط‌زیستی ناشی از فرآیندهای آبی‌پروری محسوب می‌شوند (Boyd, 1990; Green *et al.*, 2002; Junija *et al.*, 2003) و کاهش سطح این ترکیبات در پساب‌های خروجی می‌تواند تا حد زیادی اثرات نامطلوب آبی‌پروری در محیط‌های آبی پذیرنده را کاهش دهد (Lin *et al.*, 2002). در مطالعه حاضر به طور مشخص سطوح ترکیبات نیترات ( $\text{NO}_3$ )، نیتريت ( $\text{NO}_2$ ) و فسفات ( $\text{PO}_4$ ) در خروجی نهایی سیستم ترکیبی به شکل قابل ملاحظه‌ای کمتر از غلظت‌های این



اندازه‌گیری شده در خروجی سیستم ترکیبی در محدوده مطلوب این دو شاخص قرار داشته، در حالی که مقادیر آنها در مخازن شاهد فراتر از دامنه مناسب بود که نمایانگر تأثیر قابل توجه سیستم ترکیبی بر کیفیت پساب خروجی بود. از طرف دیگر، کمتر بودن مقدار TSS در خروجی سیستم ترکیبی نیز نشانگر آن بود که بقایای غذایی و مدفوعی تولیدی ماهیان در مخازن متراکم ناشی از تجزیه و معدنی شدن بیشتر این ترکیبات است. ترکیبات نشأت‌گرفته از آنها و همراه با آن، فرآیند تولید جلبکی منتج به کاهش قابل توجه بار مواد معلق در خروجی نهایی این سیستم در مقایسه با مخازن شاهد شد. این میزان کاهش بار مواد معلق نیز با توجه به نقش مهم TSS در آلودگی آب‌های پذیرنده پساب‌های آبی پروری، بسیار حائز اهمیت است.

#### ۴.۲. میکروارگانیزم‌ها

بر اساس نتایج به دست آمده در رابطه با سطح زیتوده فیتوپلانکتونی (بر مبنای تعداد سلول جلبک در مخزن P) روند رشد بسیار مناسب و قابل قبولی در طول دوره مطالعه اتفاق افتاد. افزایش تعداد سلول‌های فیتوپلانکتونی در هفته‌های آغازین دوره پرورشی نشان‌دهنده عملکرد مناسب سیستم و توده فیتوپلانکتونی در استفاده از مواد مغذی ناشی از مواد دفعی و بقایای غذایی ماهیان وارد شده در مخزن P بود. در مطالعه *Tejido-Nunez et al.* (2019)، روندهای افزایش نرخ رشد برای دو گونه ریزجلبک مورد استفاده در زمان‌های آغازین دوره بررسی سیستم ترکیبی مورد استفاده گزارش شده است. به دنبال این بازه زمانی، افزایش در مقدار توده فیتوپلانکتونی صورت نگرفت، اما در مقابل کاهش قابل ملاحظه‌ای نیز در سطح زیتوده فیتوپلانکتونی رخ نداد و تقریباً یک سطح ثابت از زیتوده جلبکی در سیستم مشاهده گردید. این وضعیت نشان می‌دهد که ویژگی‌های فیزیکو-شیمیایی و تعادل ایجاد شده در سیستم مانع از انسداد جمعیتی ریزجلبک در سیستم شده و سطح آن ثابت مانده است. این حالت، شرایطی بسیار مناسب و مطلوبی را برای سیستم آزمایشی به همراه داشت؛ چراکه در برخی از مطالعات پیشین انجام

نظر مقدار اکسیژن محلول (DO) نسبت به سیستم شاهد مشاهده شد که تا حد زیادی مرتبط با کاهش بار آلی سیستم در نتیجه مصرف بقایای غذایی و مدفوعی ماهیان توسط ماهیان مخزن گسترده (F2) و همچنین عملکرد فتوسنتزی فیتوپلانکتونی در افزایش اکسیژن محلول توده آبی بوده است. شرایط اکسیژنی مناسب‌تر زمینه معدنی شدن ترکیبات نیتروژنی و به‌کارگیری بیشتر آنها در فتوسنتز را فراهم ساخته و به این ترتیب کاهش بیشتری برای آنها در سیستم ترکیبی رخ می‌دهد و این عمل در بازگشت ارتقای بار اکسیژنی آب در نتیجه افزایش فتوسنتز خواهد شد (*Beuckels et al.*, 2015).

در مطالعه حاضر، تفاوت قابل توجهی از نظر میزان pH بین شرایط پرورشی مختلف مشاهده نشد؛ با این وجود، دامنه تغییرات pH در خروجی سیستم ترکیبی به مراتب کمتر از مخزن شاهد بود که نشان‌دهنده ثبات و تعادل بیشتر سیستم ترکیبی از نظر نوسانات مقدار pH با توجه به وجود مراحل تصفیه ریزجلبکی است. بیان شده است که تغییرات pH ممکن است در نتیجه مصرف  $CO_2$  از محیط یا جذب یون‌های نیترات توسط ریزجلبک‌ها صورت گیرد که در مطالعه حاضر نوسانات کمتر pH در سیستم ترکیبی مشاهده شد که وضعیتی بسیار مطلوب محسوب می‌گردد. مقادیر شاخص‌های هدایت الکتریکی (EC)، مجموع مواد محلول (TDS) و مجموع مواد معلق (TSS) به صورت مشخص تفاوت چشمگیر وضعیت کیفی پساب خروجی سیستم ترکیبی از وضعیت شاهد را نمایان ساخت. سطوح بسیار کمتر TDS و EC در خروجی سیستم ترکیبی نشان داد که بار مواد محلول در آب که تا حدودی شاخصی از آلودگی آب به حساب می‌آید (*Coldbella et al.*, 2018)، در نتیجه عملکرد تصفیه جلبکی کاهش یافته است. حداکثر مقدار مجاز شاخص TDS در پساب آبی پروری در حد  $500 \text{ mg.l}^{-1}$  میلی گرم در لیتر (*Coldbella et al.*, 2018) و مقادیر EC مناسب پیشنهاد شده برای پرورش ماهی نیز در محدوده بین ۲۰ تا  $150 \mu\text{S.cm}^{-1}$  میکرو زیمنس ذکر شده‌اند (*Zimmermann et al.*, 2001). مقادیر TDS و EC

سیستم مشاهده نشد.

### ۴.۳. رشد ماهی

نتایج به دست آمده در رابطه با سطوح محاسبه شده شاخص‌های عملکرد رشد نشان داد که سیستم طراحی شده در این مطالعه مانع از بروز اثرات نامناسب عملکرد ترکیبی سیستم بر وضعیت رشد ماهیان تیلایبی پرورشی به ویژه در مخزن پرورشی متراکم (F1) در مقایسه با شرایط شاهد شده است. در مطالعات قبلی صورت گرفته، مقایسه‌ای بین عملکرد رشد ماهیان سیستم ترکیبی با ماهیان پرورشی در شرایط کنترل شده خارج از سیستم صورت نگرفت، اما تفاوت‌های رشد در ماهیان مورد استفاده در سیستم پرورشی به عواملی از قبیل نژاد و خصوصیات اکولوژیکی و زیست‌شناختی آنها نسبت داده شده است. در مطالعه Giles et al. (2012)، گونه و نژاد ماهی به عنوان یک عامل مؤثر در میزان نرخ رشد ویژه آن در سیستم پرورشی مطرح شده است.

مقادیر افزایش وزن به دست آمده در ماهیان مخزن پرورش متراکم (F1) به شکل معنی‌داری بیشتر از مخزن شاهد (C) و همچنین مخزن پرورش گسترده (F2) بود. بالاتر بودن میزان افزایش وزن ماهیان F1 در طول دوره پرورشی می‌تواند ناشی از عملکرد مناسب‌تر تصفیه فیتوپلانکتونی و مزایای آن از نظر بهبود کیفیت بیوشیمیایی/ فیزیکی شیمیایی آب در گردش در سیستم با توجه به اثرات پروبیوتیکی و ممانعت از تأثیر احتمالی عوامل پاتوژن (Naviner et al., 1999; Gilles et al., 2014) و همچنین بروز استرس‌های ناشی از نوسانات اکسیژنی و یا دیگر عوامل باشد. در مقابل، ماهیان مخزن F2 کمترین مقادیر افزایش وزن را نشان دادند که این سطوح پایین افزایش وزن نیز ممکن است ناشی از کمتر بودن غذای در دسترس در این مخزن در مقایسه با مخزن F1 و شرایط شاهد باشد. با این وجود، ماهیان این مخزن نیز رشد قابل توجهی را در جهت بهینه‌سازی کلی تولید در سیستم و استفاده بهینه از منابع مصرفی آن (به ویژه غذا) نشان دادند که عمدتاً ناشی از ویژگی‌های زیستی ماهی تیلایبی

شده پس از یک دوره رشد مناسب و افزایش عملکرد توده جلبکی، انسداد جمعیتی برای آن اتفاق افتاد و سبب شد تا تغییرات جمعیتی نامطلوبی برای آن رخ دهد. از طرفی تأثیر شرایط محیطی طبیعی از جمله تابش نور به عنوان یک عامل اثرگذار بر افزایش میزان بازده عملکرد تصفیه سیستم توسط فیتوپلانکتون مطرح شده است (Brune et al., 2003; Metaxa et al., 2006) و از این نظر با توجه به اینکه مطالعه حاضر در شرایط آزمایشگاهی انجام شد، عدم دسترسی به شرایط طبیعی می‌تواند تا حد زیادی بر بازده عملکرد سیستم تأثیرگذار باشد.

تغییرات جمعیت گروه‌های زئوپلانکتونی (آرتمیا و روتیفر) در مخزن Z در طول دوره آزمایشی نشان داد که به‌کارگیری این موجودات در سیستم می‌تواند تا حدودی در ایجاد تعادل و کنترل جمعیت جلبکی در سیستم نقش داشته باشد. استفاده از زئوپلانکتون‌ها در مطالعه حاضر به منظور کنترل شکوفایی و ازدیاد ناگهانی جمعیت جلبکی صورت گرفت تا از بروز شکوفایی‌های گسترده آن‌ها در سایر مخازن پرورشی (از جمله مخازن ماهیان F1 و F2) جلوگیری شود و مانع از وقوع پیامدهای نامطلوب آن‌ها در سطوح بالای تراکم سلولی بر کیفیت آب در گردش شود و به عبارتی عملکرد جلبکی به نوعی محدود به مخزن P باشد و تصفیه پساب در فرآیند فتوسنتز در این مخزن صورت گیرد. در مطالعه Gilles et al. (2013) استفاده از یک استخر روتیفر در سیستم آبی‌پروری به عنوان یک ابزار کنترلی بسیار مناسب در ارتباط با شکوفایی‌های جلبکی مطرح شده است، اما وجود این مخزن پرورش روتیفر عاملی در افزایش سطح TAN و فسفات در آب دانسته شده است. در این مطالعه، روتیفرها به عنوان موجوداتی مناسب در برداشت زیتوده جلبکی مرده از آب معرفی شده‌اند. در مطالعات دیگری حداقل اثربخشی به‌کارگیری روتیفرها به عنوان عامل کنترل زیتوده جلبکی در مقایسه با تأثیر برداشت پیوسته جلبک از سیستم مطرح شده است (Mires, 1992; Drapcho and Brune, 2000). اما در مطالعه حاضر نقش کنترلی زئوپلانکتون‌ها به شکل مناسبی صورت گرفت و اثرات نامطلوبی بر عملکرد

#### ۴,۴. نتیجه گیری

بر مبنای نتایج به دست آمده در این مطالعه می توان گفت که سیستم ترکیبی طراحی شده با به کارگیری سطوح تروفی مختلف شامل ماهی و میکروارگانیسم های فیتو- و زئوپلانکتونی به شکل مناسبی در یک حالت باثبات قرار می گیرند و این حالت منجر به ارتقای کیفیت پساب خروجی از سیستم خواهد شد. به طوری که امکان استفاده مجدد از آن در یک الگوی جریان بازگردشی را فراهم ساخته و در مقابل بدون بروز اختلال در سیستم، سبب بهبود عملکرد رشد و تولید ماهیان در مقایسه با شرایط شاهد نیز گردید.

#### تقدیر و تشکر

این تحقیق با حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (طرح شماره ۹۵۸۳۲۲۹۹) انجام گردید.

با توجه به همه چیز خوار بودن و استفاده از مکانیسم های مختلف تغذیه ای جهت مصرف منابع غذایی مختلف در دسترس بوده است.

مقادیر ضریب چاقی (CF) محاسبه شده تفاوت معنی داری را بین ماهیان در مخازن F1، F2 و C نشان داد. عدم وجود اختلاف معنی دار در این رابطه ممکن است ناشی از تفاوت های جزئی در اندازه گیری های مربوط به طول و وزن ماهیان در طول دوره پرورشی باشد.

سطوح محاسبه شده برای شاخص نرخ رشد ویژه (SGR) که بیانگر میزان رشد در واحد زمان است، نشان داد که ماهیان مخازن F1 و C فاقد تفاوت معنی دار بوده اند و از این رو، در ارتباط با این شاخص نیز ماهیان پرورشی در شرایط متراکم سیستم ترکیبی در مقایسه با شرایط پرورشی شاهد هیچ کمبودی از نظر رشد نداشته اند. با این حال، میزان نرخ رشد ویژه ماهیان F2 بدون داشتن تفاوت معنی دار با ماهیان مخزن C، در مقایسه با نرخ رشد ویژه ماهیان مخزن F2 کمتر بود که می توان دلیل این تفاوت را ناشی از کم تر بودن میزان دسترسی به غذا و شرایط نامناسب کیفیت آب در مخزن F2 دانست.

#### ۵. منابع

##### References

- Akhlaghi, M., Mirab Brojerdi, M., 1999. Anesthetic effect of Clove tree and LC50 determination in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Veterinary Research* 54(2), 49-52. (In Persian).
- APHA, 2005. Standard methods for examination of water and wastewater. American Public Health Association. Washington, DC. 1545p.
- Becker, E.W., 1994. Microalgae: biotechnology and microbiology (Vol. 10). Cambridge University Press. 256p.
- Beuckels, A., Smolders, E., Muylaert, K., 2015. Nitrogen availability influences phosphorus removal in microalgae-based wastewater treatment. *Water Research* 77(1), 98-106.
- Boyd, C. E., 1990. Water Quality in Ponds for Aquaculture; International Center for Aquaculture, Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University: Auburn, AL, USA. 482p.
- Brown, J. J., Glenn, E. P., Fitzsimmons, K. M., Smith, S. E., 1999. Halophytes for the treatment of saline aquaculture effluent. *Aquaculture* 175(3-4), 255-268.
- Brune, D. E., Schwartz, G., Eversole, A. G., Collier, J. A., Schwedler, T. E., 2003. Intensification of pond aquaculture and high rate photosynthetic systems. *Aquacultural Engineering* 28(1-2), 65-86.
- Chopin, T., Buschmann, A. H., Halling, C., Troell, M., Kautsky, N., Neori, A., Kraemer, G. P., Zertuche-González, J. A., Yarish, C., Neefus, C., 2001. Integrating seaweeds into marine aquaculture systems: a key toward sustainability. *Journal of Phycology* 37(6), 975-986.
- Coldebella, A., Gentolini, A. L., Piana, P. A., Coldebella, P. F., Boscolo, W. R., Feiden, A., 2018. Effluents from fish farming ponds: A view from the perspective of its main components. *Sustainability* 10(1), 3.

- Delgadillo-Mirquez, L., Lopes, F., Taidi, B., Pareau, D., 2016. Nitrogen and phosphate removal from wastewater with a mixed microalgae and bacteria culture. *Biotechnology Reports* 11(3), 18-26.
- Drapcho, C. M., Brune, D. E., 2000. The partitioned aquaculture system: impact of design and environmental parameters on algal productivity and photosynthetic oxygen production. *Aquacultural Engineering* 21(3), 151-168.
- FAO, 2018. Aquaculture topics and activities. In Aquaculture; FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]: Rome, Italy.
- Gilles, S., Fargier, L., Lazzaro, X., Baras, E., De Wilde, N., Drakides, C., Amiel, C., Rispal, B., Blancheton, J.P., 2013. An integrated fish-plankton aquaculture system in brackish water. *Animal* 7(2), 322-329.
- Gilles, S., Ismiño, R., Sánchez, H., David, F., Núñez, J., Dugué, R., Darias, M. J., Römer, U., 2014. An integrated closed system for fish-plankton aquaculture in Amazonian fresh water. *Animal* 8(8), 1319-1328.
- Green, J. A., Hardy, R. W., Brannon, E. L., 2002. Effects of dietary phosphorus and lipid levels on utilization and excretion of phosphorus and nitrogen by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 1. Laboratory-scale study. *Aquaculture Nutrition* 8(4), 279-290.
- Hargreaves, J.A., 2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquacultural Engineering*, 34(3), 344-363.
- Hawrot-Paw, M., Koniuszy, A., Gałczyńska, M., Zając, G., Szyszlak-Bargłowicz, J., 2020. Production of Microalgal Biomass Using Aquaculture Wastewater as Growth Medium. *Water* 12(1),106.
- Jegatheesan, V., Shu, L., Visvanathan, C., 2011. Aquaculture effluent: impacts and remedies for protecting the environment and human health. In: Nriagu, J.O. (Eds.). Encyclopedia of environmental health. Elsevier Science Ltd. pp.123-135.
- Juneja, A., Ceballos, R. M., Murthy, G. S., 2013. Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: a review. *Energies* 6(9), 4607-4638.
- Lee, K., Lee, C. G., 2002. Nitrogen removal from wastewaters by microalgae without consuming organic carbon sources. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 2, 979-985.
- Lin, Y. F., Jing, S. R., Lee, D. Y., Wang, T. W., 2002. Nutrient removal from aquaculture wastewater using a constructed wetlands system. *Aquaculture*, 209(1-4), 169-184.
- Lunda, R., Roy, K., Másílko, J., Mráz, J., 2019. Understanding nutrient throughput of operational RAS farm effluents to support semi-commercial aquaponics: Easy upgrade possible beyond controversies. *Journal of Environmental Management* 245, 255-263.
- Metaxa, E., Deviller, G., Pagand, P., Alliaume, C., Casellas, C., Blancheton, J. P., 2006. High rate algal pond treatment for water reuse in a marine fish recirculation system: Water purification and fish health. *Aquaculture* 252(1), 92-101.
- Mires, D., 1992. Intensive culture of tilapia in quasiclosed water-cycled flow-through ponds; the dekel aquaculture system. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* 44, 82-86.
- Naviner, M., Bergé, J. P., Durand, P., Le Bris, H., 1999. Antibacterial activity of the marine diatom *Skeletonema costatum* against aquacultural pathogens. *Aquaculture* 174(1-2), 15-24.
- Nogueira, S. M. S., Souza Junior, J., Maia, H. D., Saboya, J. P. S., Farias, W. R. L., 2018. Use of *Spirulina platensis* in treatment of fish farming wastewater. *Revista Ciência Agronômica* 49(4), 599-606.
- Paul, B. G., Vogl, C. R., 2011. Impacts of shrimp farming in Bangladesh: challenges and alternatives. *Ocean & Coastal Management* 54(3), 201-211.
- Pillay, T. V. R., 2004. Aquaculture in the environment. Blackwell Pub., 196p.
- Sengupta, S., Nawaz, T., Beaudry, J., 2015. Nitrogen and phosphorus recovery from wastewater. *Current Pollution Reports* 1(3), 155-166.
- Sikder, M. N. A., Min, W. W., Ziyad, A. O., Kumar, P. P., Kumar, R. D., 2016. Sustainable treatment of aquaculture effluents in future-A review. *International Journal of Advanced Science Engineering Sciences* 1,190-193
- Tejido-Núñez, Y., Aymerich, E., Sancho, L., Refardt, D., 2019. Treatment of aquaculture effluent with *Chlorella vulgaris* and *Tetrademus obliquus*: The effect of pretreatment on microalgae growth and nutrient removal efficiency. *Ecological Engineering* 136(3), 1-9.
- Yogev, U., Sowers, K. R., Mozes, N., Gross, A., 2017. Nitrogen and carbon balance in a novel near-zero water exchange saline recirculating aquaculture system. *Aquaculture* 467(1), 118-126.
- Zimmermann, S., Moreira, H., Vargas, L., Ribeiro, R., 2001. *Fundamentos da moderna aquicultura*, ULBRA: Canoas,

Brazil. 199p.