

**تأثیر سطوح مختلف شوری و منابع کربن در سیستم تولید توده زیستی (Biofloc)**

محمد حسین خانجانی\*

\*m.h.khanjani@gmail.com

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۸

**چکیده**

مواد آلی کربن دار و میزان شوری از فاکتورهای کلیدی در سیستم بدون تعویض آب با تولید توده زیستی هستند. در مطالعه حاضر T تولید توده زیستی تحت تأثیر سطوح مختلف شوری در سه سطح (۱۰، ۲۱ و ۳۲ ppt) و منابع کربن (ملاس و آرد گندم) در سیستم بدون تعویض آب مطالعه شد. آزمایش در مرکز تکثیر و پرورش آبزیان، بندر کلاهی، میناب، هرمزگان به مدت چهار هفته در ظروف فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری انجام گردید. کمترین میزان اکسیژن محلول (۵/۶۸ میلی گرم در لیتر)، آمونیاک (۰/۲۹ میلی گرم در لیتر) و بیشترین میزان نیترات (۱۲/۶۸ میلی گرم در لیتر) در تیمار ملاس با شوری ۳۲ ppt به دست آمد. تفاوت معنی داری در برخی از مقادیر پارامترهای کیفی آب شامل اکسیژن محلول، pH، آمونیاک و نیترات بین تیمارهای مختلف مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی توده زیستی کاهش در میزان پروتئین و افزایش در میزان خاکستر با افزایش شوری نشان داد. میزان چربی در توده‌های زیستی ملاس کمتر از توده‌های زیستی آرد گندم بود و اختلاف معنی داری داشت ( $p < 0/05$ ). نتایج تحقیق نشان داد که نوع منبع کربن و میزان شوری بر پارامترهای کیفی آب و ارزش غذایی توده‌های زیستی در سیستم بدون تعویض آب تأثیر می‌گذارد.

**واژگان کلیدی:** توده زیستی، منابع کربن، شوری، سیستم بدون تعویض آب

\*نویسنده مسئول

## مقدمه

توده‌های زیستی تجمعاتی از جوامع میکروبی مثل فیتوپلانکتون، باکتری و ذرات آلی زنده و غیرزنده هستند (Valle *et al.*, 2015) که به عنوان منبع غذایی اصلی و مکمل توسط آبزیان پرورشی مصرف می‌شوند. حضور ترکیبات مختلف در توده زیستی مثل اسیدهای آلی، پلی‌هیدروکسی استات و پلی‌هیدروکسی بوترات، عملکرد رشد، بقا و سیستم دفاعی آبزیان را بهبود می‌دهند (De Schryver *et al.*, 2010). با گسترش استفاده از فن‌آوری تولید توده زیستی در جهان، ایجاد شرایط بهینه در این سیستم و تولید توده جهت بدست آوردن عملکرد بهتر رشد آبزیان و کیفیت آب، از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. استفاده بهینه از این سیستم به دلیل شرایط کمبود آب و افزایش جمعیت توصیه شده است (Avnimelech, 2009). در آبی‌پروری متراکم، مواد زائد (مواد دفعی آبی و غذاهای خورده نشده) در استخر تجمع یافته که اثرات نامطلوبی بر محیط‌زیست می‌گذارد. توده‌های زیستی تحت شرایط بدون تعویض آب تأثیر مثبتی بر کاهش و حذف ترکیبات غیرآلی نیتروژن‌دار می‌گذارد (Avnimelech, 2009). در این سیستم جذب مواد زائد نیتروژن‌دار و بازیافت آنها به پروتئین میکروبی به عنوان منبع غذایی ثانویه برای گونه‌هایی مثل تیلاپیا، کپور و میگو مورد توجه قرار گرفته است که به دنبال آن کیفیت آب و عملکرد گونه پرورشی بهبود می‌یابد (Avnimelech, 2012; Crab *et al.*, 2010).

در مطالعه Khanjani و همکاران در سال (۲۰۱۷) تأثیر ملاس، نشاسته، آرد گندم و مخلوطی از آنها به نسبت وزنی یکسان بر عملکرد رشد میگوی سفید غربی و کیفیت آب بررسی شد که نتایج نشان داد منبع کربن ملاس در ایجاد توده زیستی و تأثیر بر رشد میگو عملکرد بهتری دارد. تهیه و توسعه توده‌های زیستی تحت تأثیر منابع مختلف کربن (استات، گلوکز، گلیسرول<sup>۱</sup>) به عنوان غذا برای پست‌لاروهای میگوی آب شیرین

*Macrobrachium rosenbergii* مورد بررسی قرار گرفت که ماده کربنی گلیسرول به همراه باسیلوس عملکرد

بهتری نشان داد (Crab *et al.*, 2010). منابع کربن مورد استفاده در این سیستم جهت فعال‌سازی و تحریک باکتری‌های هتروتروف به عنوان اساس اولیه این فن‌آوری می‌باشد (Avnimelech, 1999; De Schryver *et al.*, 2008).

منبع کربن مورد استفاده در این سیستم بایستی در دسترس، قابل انحلال در آب، قابل تجزیه زیستی توسط باکتری و ارزان قیمت باشد. افزودن ملاس، بلغور ذرت و آرد گندم (به نسبت ۳:۱:۱) به مخازن پرورش منجر به بهبود عملکرد رشد و افزایش ارزش غذایی توده زیستی می‌شود (Wang *et al.*, 2016). منبع کربن آرد و بلغور برنج نسبت به ملاس عملکرد رشد و پاسخ ایمنی در میگوی ببری سیاه *Penaeus monodon* در سیستم بدون تعویض آب ارتقاء داده‌اند (Kumar *et al.*, 2017). ترکیبات بیوشیمیایی و غذایی توده زیستی با توجه به شرایط محیطی، نوع کربن استفاده‌شده، سن توده، میزان مواد جامد معلق، شوری، شدت نور، جوامع باکتریایی و فیتوپلانکتون و نسبت آنها، متفاوت بوده و در نتیجه محتوای خاکستر، پروتئین و چربی در توده‌های زیستی می‌تواند بسیار متغیر باشد (Emerenciano *et al.*, 2013).

در مطالعات متعدد گزارش شده است که شوری و دما از فاکتورهای مهم هستند که بر توسعه و رشد توده‌های زیستی اثرگذارند (Decamp *et al.*, Hakanson, 2006). نوع منبع کربن مورد استفاده و شرایط فیزیکی-شیمیایی آب جهت تشکیل توده زیستی حائز اهمیت است. در مطالعه حاضر، تأثیر دو نوع منبع کربن ملاس (به عنوان کربن ساده) و آرد گندم (به عنوان کربن پیچیده) تحت تأثیر شوری‌های مختلف جهت تشکیل توده زیستی ارزیابی شد. همچنین کیفیت آب، حجم توده زیستی طی دوره و ترکیبات بیوشیمیایی توده زیستی بررسی گردید.

## مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در مرکز تکثیر و پرورش آبزیان بندر کلاهی (میناب، استان هرمزگان) انجام شد. آزمایش به مدت چهار هفته در ۱۸ مخزن مدور پلی‌اتیلن ۳۰۰ لیتری (مساحت

<sup>1</sup> - Glycerol

گردید (Avnimelech, 2009). مواد کربن‌دار پس از وزن به درون ظروف پلاستیکی یک لیتری ریخته شده و بخوبی با آب مخزن پرورش مخلوط شد و به طور یکنواخت در سرتاسر سطح مخزن توزیع شد تا توسعه توده‌های زیستی تقویت نماید. پس از چهار هفته توده مناسب و بالغ بدست آمد.

#### اندازه‌گیری پارامترهای کیفی آب

اندازه‌گیری عوامل کیفی آب شامل pH (pH Lutron) و اکسیژن محلول (DO Lutron 510) و اکسیژن (pH meter 208, Oxygen meter) روزانه در ساعت ۹ انجام شد. برای تعیین میزان مواد جامد قابل ته‌نشین (Settled solid)، یک لیتر آب مخزن را به داخل قیف مدرج شده مخروطی شکل ریخته شد و به مدت ۳۰ دقیقه نگه داشته شد تا ته‌نشین گردید (Avnimelech and Kochba, 2009). برای اندازه‌گیری کل مواد جامد معلق (Total suspended solid) ۱۰۰ میلی‌لیتر از آب مخزن را با کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ (Whatman filter paper) با تخلخل ۲/۵ میکرون فیلتر نموده و در آن در درجه حرارت ۱۰۵-۱۰۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳-۱ ساعت قرار داده تا خشک شد (Azim and Little, 2008). اندازه‌گیری آمونیاک، نیتريت و نیترات آب با استفاده از روش طیف‌سنجی به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل ۹۲۰۰ Cecil, CE) و بر اساس MOOPAM (۱۹۹۹) انجام شد. شمارش کل باکتری‌های هتروتروف (برحسب Colony-forming units, CFU) با استفاده از محیط کشت آردو-آگار و بر اساس استاندارد شماره ۵۲۷۱ موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران انجام شد.

#### آنالیز بیوشیمیایی توده زیستی

در پایان دوره آزمایش آب مخازن هر تیمار از تورهای با چشمه ۲۰ میکرون عبور داده شد و توده تولیدی از هر تیمار در داخل فویل‌های آلومینیومی از پیش شماره‌گذاری شده، گذاشته شد و در آن در دمای ۱۰۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری تا خشک شد و سپس توده‌های خشک شده از هر تیمار در فریزر با دمای ۱۸-

کف (۰/۳۸ مترمربع) با حجم آگیری ۲۰۰ لیتر برای تشکیل و تهیه توده زیستی در نظر گرفته شد. جهت تهیه توده زیستی دو نوع منبع کربن (ملاس و آرد گندم) و سه سطح شوری (۱۰، ۲۱ و ۳۲ ppt) در نظر گرفته شد (جدول ۱). آب دریای فیلتر شده (فیلتر شنی) با شوری نزدیک ۴۰ ppt با آب شیرین به میزان مناسب مخلوط گردید و شوری‌های مورد نظر ایجاد و مخازن از آب پر شدند. همچنین دمای آب در تیمارهای مختلف  $31.5 \pm 0.9$  درجه سانتی‌گراد بود.

جدول ۱: خصوصیات تیمارهای مختلف استفاده شده در این مطالعه

Table 1: Characteristics of various treatments used in this study

علامت اختصاری تیمار	تکرار	نوع منبع کربن اضافه‌شده	سطح شوری (ppt)
MS1	۳	ملاس	۱۰
MS2	۳	ملاس	۲۱
MS3	۳	ملاس	۳۲
WS1	۳	آرد گندم	۱۰
WS2	۳	آرد گندم	۲۱
WS3	۳	آرد گندم	۳۲

برای تشکیل توده زیستی، از خوراک تجاری میگو (تاریخ انقضای خوراک تمام‌شده بود، فقط به عنوان منبع تأمین کننده ترکیبات نیتروژن مورد استفاده قرار گرفت) با ۴۲٪ پروتئین و کود شیمیایی اوره (۴۶٪ ازت) به‌عنوان منابع تأمین کننده نیتروژن استفاده گردید. خاک رس نیز جهت کمک به تشکیل توده پس از نرم شدن و عبور از الک شماره ۲۷۰ میکرون به مخازن اضافه گردید (خانجانی و همکاران، ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵). هوادهی به منظور اختلاط آب و تأمین اکسیژن با سه سنگ هوا در مخازن انجام گرفت. جهت تحریک و توسعه بیشتر توده در طول دوره آزمایش، منابع کربنی ملاس و آرد گندم به مخازن اضافه شد. میزان مواد کربن‌دار به فرض اینکه ۵۰٪ کربن آن توسط باکتری‌های هتروتروف مصرف شده و نسبت کربن (C) به نیتروژن (N) در حدود ۱۵ تنظیم شده است، محاسبه

میلی گرم بر لیتر در تیمارهای WS1 و MS3 بدست آمد که در مقادیر نیتريت بين تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ( $P > 0.05$ ). بیشترین میزان مواد جامد ته نشین شده و کل مواد جامد معلق در تیمارهای MS3 و WS3 بدست آمد که اختلاف معنی داری با تیمارهای MS1 و WS1 نشان داد ( $P < 0.05$ ). تراکم باکتری های هتروتروف بر حسب لگاریتم تعداد کلونی در هر میلی لیتر در ابتدا، میانه و انتهای آزمایش در جدول ۲ ارائه شده است. بیشترین و کمترین تراکم باکتری هتروتروف در انتهای آزمایش در تیمارهای MS3 و MS1 در حضور ماده کربن دار ملاس مشاهده شد. از ابتدا تا انتهای آزمایش و همچنین با افزایش سطح شوری تراکم باکتری های هتروتروف افزایش نشان داد. آنالیز بیوشیمیایی ترکیبات توده زیستی در جدول ۳ ارائه شده است، نتایج نشان می دهد که با توجه به نوع منبع کربن مورد استفاده و سطح شوری ترکیبات بیوشیمیایی و ارزش غذایی توده زیستی تغییر می کند بطوریکه با افزایش سطح شوری در تیمارها میزان درصد پروتئین کاهش و میزان خاکستر افزایش یافت. همچنین با تغییر نوع منبع کربن در میزان چربی، پروتئین و خاکستر توده زیستی تغییر حاصل شد که اختلاف معنی داری نشان داد ( $P < 0.05$ ).

درجه سانتی گراد تا زمان آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی نگهداری شد. فاکتورهای شیمیایی پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر آنها با استفاده از روش (AOAC, 2005)، مورد سنجش قرار گرفت.

### آنالیز داده ها

آنالیز آماری کلیه داده ها توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. در ابتدا برای تعیین نرمال بودن داده ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد و سپس برای مقایسه میانگین بین تیمارها از آنالیز واریانس یک طرفه با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد و کلیه محاسبات نیز با اکسل نسخه ۲۰۱۳ انجام گردید.

### نتایج

مقادیر پارامترهای اندازه گیری شده کیفی آب (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) در جدول ۲ ارائه شده است. بیشترین میزان اکسیژن محلول (۶/۲۶ میلی گرم بر لیتر) و آمونیاک (۰/۸۴ میلی گرم بر لیتر) و کمترین میزان اکسیژن محلول (۵/۶۸ میلی گرم بر لیتر) و آمونیاک (۰/۲۹ میلی گرم بر لیتر) بترتیب در تیمارهای WS1 و MS3 بدست آمد که اختلاف معنی داری بین آنها مشاهده گردید ( $P < 0.05$ ). بیشترین میزان نیتريت و نترات بترتیب ۵/۷۳ و ۱۲/۶۸

جدول ۲: مقادیر برخی از پارامترهای کیفی آب و تراکم باکتری های هتروتروف در طول دوره آزمایش (میانگین  $\pm$  انحراف معیار).

Table 2: Value of some quality parameters of water and heterotroph bacteria concentration during the experiment period (Mean  $\pm$  SD)

WS3	WS2	WS1	MS3	MS2	MS1	پارامترها
۵/۸۷ $\pm$ ۰/۲ <sup>bc</sup>	۶/۲۳ $\pm$ ۰/۱۵ <sup>a</sup>	۶/۳۶ $\pm$ ۰/۱۷ <sup>a</sup>	۵/۶۸ $\pm$ ۰/۱۲ <sup>c</sup>	۶/۱۳ $\pm$ ۰/۱۴ <sup>ab</sup>	۶/۲۴ $\pm$ ۰/۱۶ <sup>a</sup>	اکسیژن محلول (mg/l)
۸/۱۴ $\pm$ ۰/۰۶ <sup>c</sup>	۸/۱۰ $\pm$ ۰/۰۹ <sup>bc</sup>	۷/۹۴ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>ab</sup>	۸/۱۹ $\pm$ ۰/۰۵ <sup>c</sup>	۸/۰۷ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>b</sup>	۷/۸۹ $\pm$ ۰/۱۰ <sup>a</sup>	pH
۰/۳۴ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>c</sup>	۰/۵۸ $\pm$ ۰/۱۴ <sup>b</sup>	۰/۸۴ $\pm$ ۰/۲۳ <sup>a</sup>	۰/۲۹ $\pm$ ۰/۱۷ <sup>c</sup>	۰/۶۵ $\pm$ ۰/۱۳ <sup>ab</sup>	۰/۷۳ $\pm$ ۰/۲۴ <sup>a</sup>	(mg/l) N-NH <sub>3</sub>
۴/۱۴ $\pm$ ۲/۲۳ <sup>a</sup>	۴/۳۴ $\pm$ ۲/۱۳ <sup>a</sup>	۵/۷۳ $\pm$ ۲/۸۹ <sup>a</sup>	۴/۳۶ $\pm$ ۲/۲۶ <sup>a</sup>	۵/۲۱ $\pm$ ۲/۰۵ <sup>a</sup>	۵/۶۱ $\pm$ ۳/۰۲ <sup>a</sup>	(mg/l) NO <sub>2</sub>
۱۲/۱۸ $\pm$ ۳/۱۱ <sup>a</sup>	۱۰/۸۲ $\pm$ ۳/۲۹ <sup>ab</sup>	۹/۳۶ $\pm$ ۲/۸۸ <sup>ab</sup>	۱۲/۶۸ $\pm$ ۱/۹۸ <sup>a</sup>	۱۱/۱۲ $\pm$ ۳/۵۳ <sup>ab</sup>	۸/۶۷ $\pm$ ۱/۸۶ <sup>b</sup>	(mg/l) NO <sub>3</sub>
۱۱/۵۷ $\pm$ ۲/۷۱ <sup>b</sup>	۱۰/۸۷ $\pm$ ۱/۸ <sup>b</sup>	۷/۸۷ $\pm$ ۱/۴۰ <sup>a</sup>	۱۲/۱۷ $\pm$ ۲/۹ <sup>b</sup>	۱۱/۲۷ $\pm$ ۲/۱۱ <sup>b</sup>	۸/۱۷ $\pm$ ۱/۲ <sup>a</sup>	(ml/l) SS
۲۷۴/۲۱ $\pm$ ۶۴/۲۲ <sup>b</sup>	۲۵۵/۴۴ $\pm$ ۴۲/۳ <sup>b</sup>	۱۸۸/۸ $\pm$ ۴۷/۶ <sup>a</sup>	۲۸۸/۴۳ $\pm$ ۶۸/۱۵ <sup>b</sup>	۲۶۴/۸۵ $\pm$ ۴۹/۵۸ <sup>b</sup>	۲۰۴/۲۵ $\pm$ ۳۵/۸۴ <sup>a</sup>	(mg/l) TSS
						تراکم باکتری های هتروتروف (لگاریتم CFU/ml)
۴/۲۰ $\pm$ ۰/۰۴ <sup>a</sup>	۴/۲۰ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۴/۱۹ $\pm$ ۰/۰۸ <sup>a</sup>	۴/۲۱ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۴/۱۶ $\pm$ ۰/۰۴ <sup>a</sup>	۴/۱۷ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>a</sup>	روز اول
۶/۴۵ $\pm$ ۰/۰۸ <sup>cd</sup>	۶/۳۹ $\pm$ ۰/۰۷ <sup>abc</sup>	۶/۳۰ $\pm$ ۰/۰۸ <sup>a</sup>	۶/۵۴ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>d</sup>	۶/۴۳ $\pm$ ۰/۰۴ <sup>bcd</sup>	۶/۳۲ $\pm$ ۰/۰۶ <sup>ab</sup>	روز چهاردهم
۷/۰۱ $\pm$ ۰/۰۵ <sup>c</sup>	۶/۹۸ $\pm$ ۰/۰۴ <sup>abc</sup>	۶/۸۷ $\pm$ ۰/۰۸ <sup>ab</sup>	۷/۰۴ $\pm$ ۰/۰۸ <sup>c</sup>	۶/۹۵ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>abc</sup>	۶/۸۴ $\pm$ ۰/۰۹ <sup>a</sup>	روز بیست و هشتم

\* در هر ردیف میانگین های دارای حداقل یک حرف مشابه در سطح ۵ درصد باهم اختلاف معنی داری ندارند ( $P > 0.05$ ).

جدول ۳: مقادیر ترکیبات تقریبی (برحسب وزن خشک) توده زیستی تحت تأثیر سطوح مختلف شوری و منابع کربن در سیستم بدون تعویض آب، پس ۴ هفته دوره آزمایش (میانگین  $\pm$  انحراف معیار،  $n=3$ ).

**Table 3: values of proximate composition (% dry weight) of biofloc under the effect of different salinity levels and carbon sources in zero water exchange system, after 4 weeks during the experiment period (Mean  $\pm$  SD,  $n=3$ )**

توده زیستی			تیمارها	
خاکستر (%DW)	چربی خام (%DW)	پروتئین خام (%DW)	ماده خشک (%)	
۲۵/۸۵ $\pm$ ۱/۵ <sup>b</sup>	۱/۱۲ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۳۲/۵ $\pm$ ۰/۹۴ <sup>b</sup>	۲۱/۴ $\pm$ ۰/۹ <sup>ab</sup>	MS1
۳۷/۴ $\pm$ ۰/۵۷ <sup>d</sup>	۰/۹ $\pm$ ۰/۰۷ <sup>a</sup>	۲۹/۲۳ $\pm$ ۰/۸ <sup>a</sup>	۲۳/۲۵ $\pm$ ۰/۶ <sup>c</sup>	MS2
۳۸/۱۴ $\pm$ ۰/۸ <sup>d</sup>	۰/۹۶ $\pm$ ۰/۰۹ <sup>a</sup>	۲۸/۴ $\pm$ ۱/۲۴ <sup>a</sup>	۲۳/۱ $\pm$ ۰/۴۵ <sup>c</sup>	MS3
۱۹/۹۷ $\pm$ ۱/۴۳ <sup>a</sup>	۲/۷۱ $\pm$ ۰/۶۲ <sup>b</sup>	۳۶/۲۱ $\pm$ ۱/۱۳ <sup>c</sup>	۲۰/۶۳ $\pm$ ۰/۹۳ <sup>a</sup>	WS1
۲۸/۷ $\pm$ ۱/۰۴ <sup>c</sup>	۲/۴ $\pm$ ۰/۴ <sup>b</sup>	۳۳/۴۲ $\pm$ ۰/۴۹ <sup>b</sup>	۲۱/۰۶ $\pm$ ۰/۴۷ <sup>ab</sup>	WS2
۳۰/۱۵ $\pm$ ۱/۵ <sup>c</sup>	۲/۲۱ $\pm$ ۰/۳۱ <sup>b</sup>	۳۲/۸ $\pm$ ۰/۸۵ <sup>b</sup>	۲۱/۹۴ $\pm$ ۰/۵ <sup>bc</sup>	WS3

\* در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه در سطح ۵ درصد باهم اختلاف معنی‌داری ندارند ( $P>0/05$ ).

\* Dry weight (DW)

## بحث

کربن اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ( $P>0/05$ ). باکتری‌های هتروتروف، مواد آلی کربن‌دار و نیتروژن زائد را از آب می‌گیرند و از آنها برای تولید پروتئین میکروبی استفاده می‌کنند. با انجام این کار، باکتری‌ها غلظت نیتروژن غیرآلی را در آب کاهش می‌دهند و همچنین میزان آمونیاک در آب با افزایش شوری بتدریج کاهش می‌یابد (Avnimelech, 2009) که می‌تواند دلیلی بر کاهش میزان آمونیاک در شوری‌های بالاتر باشد. میزان مواد جامد قابل ته‌نشین و کل مواد جامد معلق با افزایش سطح شوری مقادیر آنها افزایش نشان داد که بین شوری ۱۰ و ۳۲ppt اختلاف معنی‌داری نشان داد ( $p<0/05$ ). در مطالعات مختلف تمایل به تجمع ذرات معلق و افزایش اندازه توده‌های زیستی با افزایش شوری تأیید شده است (Hakanson, 2006; Avnimelech, 2007). افزایش حضور نمک‌ها و یون‌های کلسیم و آلومینیوم تشکیل توده پایدار را تحریک می‌کنند. بعلاوه، ارگانوسم‌ها (جلبک، قارچ یا باکتری) در اتصال بین اجزاء تشکیل‌دهنده توده‌های مختلف کمک می‌کنند (De schryver *et al.*, 2008). در مطالعه حاضر، در شوری‌های ۲۱ و ۳۲ppt مقدار مواد جامد قابل ته‌نشین و میزان کل مواد جامد معلق بین منبع کربن ملاس و آرد گندم تفاوت معنی‌داری بدست نیامد ( $p>0/05$ ). منبع کربن به عنوان بستری برای سیستم‌های توده‌ساز و تولید پروتئین میکروبی عمل

مطالعه حاضر نشان داد نوع منبع کربن مورد استفاده و سطح شوری بر پارامترهای کیفی آب در حضور توده زیستی تأثیر می‌گذارند بطوریکه با افزایش سطح شوری میزان اکسیژن محلول به طور معنی‌داری معنی‌داری کاهش یافت ( $P<0/05$ ). احتمالاً به دلیل افزایش املاح و حضور جوامع میکروبی بیشتر در تیمارهای با شوری بالاتر باشد که منجر به مصرف اکسیژن شده است. همچنین هنگام استفاده از کربن ساده ملاس سطح اکسیژن محلول نسبت به هنگام استفاده از کربن پیچیده آرد گندم کاهش داشت، ولی اختلاف معنی‌دار نبود ( $p>0/05$ ). کربوهیدرات‌های ساده از قبیل ملاس نسبت به کربوهیدرات‌های پیچیده از قبیل آرد گندم قابلیت تجزیه‌پذیری بالاتری توسط جوامع میکروبی دارند که در نتیجه فعالیت باکتری‌ها و تراکم آنها افزایش یافته که احتمال می‌رود که آنها منجر به کاهش اکسیژن شده باشند (Khanjani *et al.*, 2017).

میزان pH با افزایش سطح شوری افزایش معنی‌داری داشت ( $p<0/05$ ). در مطالعه حاضر، میزان آمونیاک از ترکیبات غیرآلی نیتروژن‌دار با افزایش سطح شوری کاهش و همچنین هنگام استفاده از ماده کربن‌دار ملاس نسبت به آرد گندم میزان آن کمتر بدست آمد. با افزایش سطح شوری میزان نترات افزایشی بود، اما بین منابع مختلف

بررسی قرار گرفت. در مقادیر حجم توده زیستی، کل مواد جامد معلق و خاکستر تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده گردید، اما سطوح کربوهیدرات (۳۳-۳۹٪)، چربی (۲/۶-۳/۵٪) و پروتئین (۲۳/۷-۲۵/۴٪) مشابه گزارش شد.

در مطالعه حاضر، میزان پروتئین توده زیستی با کاهش میزان شوری تمایل به افزایش نشان داد. نتایج مشابهی با Maicá و همکاران (۲۰۱۴) گزارش شد که در شوری‌های ۴، ۱۶ و ۳۲ ppt بترتیب ۳۴/۴، ۳۰/۲ و ۲۸/۴ پروتئین (گرم بر کیلوگرم) توده زیستی بدست آمد. در مطالعه Ju و همکاران (۲۰۰۸)، میگوهای سفید غربی که مراحل جوانی خود را سپری کرده بودند را در سیستم با تعویض آب محدود با شوری‌های ۵، ۱۸ و ۳۲ ppt پرورش دادند و نتایج آنها نشان داد که توده‌های زیستی شکل‌گرفته در شوری پایین‌تر محتوای پروتئین بالاتری نسبت به توده‌های زیستی ایجاد شده در شوری بالاتر دارند. پروتئین تک سلولی از باکتری‌های هتروتروف تشکیل شده که ترکیبات نیتروژن غیرآلی را جذب می‌کند و همچنین به عنوان منبع غذایی مفید توسط آبزیان مصرف می‌شود (Burford et al., 2004).

توده‌های زیستی شامل ۳۸٪ پروتئین، ۳٪ چربی، ۶٪ فیبر، ۱۲٪ خاکستر و ۱۹ کیلوژول بر گرم انرژی (برحسب وزن خشک) می‌باشند. کیفیت توده‌های زیستی به خوراک و مواد آلی مورد استفاده برای تولید آن بستگی دارد (Azim and Little, 2008). در مطالعه Maicá و همکاران (۲۰۱۴)، میزان خاکستر ۴۴/۵-۱۳/۴ (گرم بر کیلوگرم) در شوری ۳۲-۴ ppt گزارش شد که با افزایش شوری میزان خاکستر افزایش نشان داد. در مطالعه Ju و همکاران (۲۰۰۸) نیز گزارش مشابهی ارائه شد که احتمالاً به دلیل افزایش مواد معدنی در آب‌های با شوری بالاتر باشد که توده‌های زیستی در آن شکل می‌گیرد. ارزش غذایی توده‌های زیستی به فاکتورهای متعددی از قبیل اولویت غذایی، توانایی هضم و جذب پروتئین میکروبی و تراکم توده در آب بستگی دارد (Hargreaves, 2006).

در مطالعه حاضر، با افزایش سطح شوری میزان درصد چربی کاهش یافت، ولی این کاهش معنی‌داری نبود. اما

می‌کند (Avnimelech, 2009).

مطالعات نشان داد که افزودن مواد کربنی منجر به کاهش قابل توجهی در تجمع آمونیاک و افزایش مواد جامد ته‌نشین شده در مخازن می‌شود و میزان مطلوب نسبت کربن به نیتروژن (در غذا و مواد کربنی اضافه‌شده) ۲۵-۱۵ گزارش شده است (Avnimelech, 2012; Crab et al., 2010). افزودن کربوهیدرات به سیستم‌های بدون تعویض آب به طور قابل توجهی کیفیت آب، فعالیت‌های باکتریایی و رشد زئوپلانکتون‌ها را بهبود می‌دهد و در نتیجه باعث عملکرد بهتر سیستم می‌شود (Gao et al., 2012). در مطالعه حاضر، غلظت مواد جامد ته‌نشین شده و کل مواد جامد معلق تحت تأثیر شوری قرار گرفت بطوریکه با نتایج سایر محققین (Decamp et al., 2003; Maicá et al., 2014) مطابقت داشت و فاکتور شوری به عنوان عامل تأثیرگذار در شکل‌گیری توده زیستی مورد تأیید قرار گرفت. با افزایش سطح شوری و دوره آزمایش تراکم باکتری‌های هتروتروف افزایش یافت بطوریکه بیشترین تراکم در شوری ۳۲ ppt و کمترین در شوری ۱۰ ppt مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). در بین منابع مختلف کربن در تراکم باکتری‌های هتروتروف اختلاف معنی‌داری بدست نیامد و میزان آن در حضور ماده کربن‌دار ملاس بیشتر بود ( $p > 0.05$ ، جدول ۲).

در مطالعه حاضر، با افزایش سطح شوری میزان رطوبت توده زیستی کاهش یافت (ماده خشک آن افزایش نشان داد) بطوریکه بین شوری ۱۰ و ۳۲ ppt اختلاف معنی‌داری بدست آمد ( $p < 0.05$ ). نوع منبع کربن نیز بر میزان رطوبت و ماده خشک اثرگذار بود. با افزایش سطح شوری میزان درصد پروتئین و خاکستر توده زیستی بترتیب کاهش و افزایش نشان داد بطوریکه بیشترین میزان پروتئین ۳۶/۲۱٪ در تیمار شوری ۱۰ ppt و منبع کربن آرد گندم مشاهده شد. بالاترین میزان خاکستر ۳۸/۱۴٪ در شوری ۳۲ ppt و منبع کربن ملاس بدست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد ( $p < 0.05$ ، جدول ۳). در مطالعه Lopez-Elias و همکاران (۲۰۱۵) آنالیز تقریبی توده‌های زیستی در سیستم پرورشی بدون تعویض آب با جیره‌های حاوی سطوح مختلف آرد غلات را مورد

سفید غربی (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) با استفاده از تکنولوژی بیوفلوک. *مجله علمی شیلات ایران*، سال بیست و چهار، شماره دوم، صفحات، ۲۸ - ۱۳.

**خانجانی، م.ح.، علیزاده، م. و رفیعی پور، ا.، ۱۳۹۵.** توسعه آبی پروری پایدار با استفاده از فناوری توده سازی زیستی. *بهره برداری و پرورش آبزیان*، جلد پنجم، شماره دوم، صفحات، ۷۲-۴۵.

**خانجانی، م.ح.، علیزاده، م.، سجادی، م.م.، سوری نژاد، ا.، ۱۳۹۴.** تاثیر منابع مختلف کربن بر کیفیت آب، عملکرد رشد و بقاء میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) در سیستم پرورشی بدون تعویض آب. *مجله علمی شیلات ایران*، سال بیست و چهار، شماره سوم، صفحات، ۹۱ - ۷۷.

**AOAC, 2005.** Official methods of analysis. Association of official analytical chemists, INC., Arlington, Virginia, USA. 245P.

**Avnimelech, Y., 1999.** Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 176: 227-235. DOI:10.1016/S0044-8486(99)00085-X.

**Avnimelech, Y., 2007.** Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*, 264: 140-147. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.11.025

**Avnimelech, Y., 2009.** Biofloc Technology: A Practical Guide Book. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. 182P.

**Avnimelech, Y. and Kochba, M., 2009.** Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in biofloc tanks, using N-15 tracing. *Aquaculture*, 287: 163-168. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.10.009.

بین منبع کربن ملاس و آرد گندم از نظر مقادیر چربی توده اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ( $P < 0.05$ ) که نشان‌دهنده آن است که نوع منبع کربن بر میزان چربی توده زیستی اثرگذار است و ارزش غذایی آن را تغییر می دهد. در مطالعه Maicá و همکاران (۲۰۱۴) میزان چربی در توده‌های زیستی ۳/۳-۴/۲ گرم بر کیلوگرم بیان گردید. در گزارش‌های مختلف میزان چربی در توده‌های زیستی ۱۲۵ (McIntosh *et al.*, 2000)، ۶ (Tacon, 2000) ۵ (Wasielisky *et al.*, 2006) و ۱۲-۲۳ (Ju *et al.*, 2008) (گرم بر کیلوگرم) گزارش شده است. تفاوت در میزان چربی توده‌های زیستی احتمالاً به ترکیب جوامع میکروبی و شرایط تشکیل توده زیستی مربوط باشد.

مطالعه حاضر نشان داد که ترکیبات بیوشیمیایی و ارزش غذایی توده‌های زیستی تحت تأثیر منابع مختلف کربن و سطوح متفاوت شوری آب قرار می‌گیرد بطوریکه آب‌های شورتر تشکیل توده پایدار را تقویت می‌کنند و حضور مواد آلی کربن‌دار ساده نظیر ملاس منجر به بهبود کیفیت آب و رشد سریع‌تر باکتری‌های هتروتروف در مقایسه با کربوهیدرات‌های پیچیده نظیر آرد گندم می‌شود. نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که سطح شوری و نوع منبع کربن بر شکل‌گیری توده زیستی و ارزش غذایی آن تاثیر می‌گذارد بطوریکه با افزایش سطح شوری میزان پروتئین و چربی کاهش و مقدار خاکستر آن افزایش می‌یابد. با توجه به ارزش غذایی مناسب توده‌های زیستی می‌توان در تغذیه آبزیانی که توانایی فیلتر کردن توده‌ها را دارند، استفاده نمود و به عنوان مکمل در کنار جیره‌های کنسانتره بکارگیری کرد.

## منابع

**خانجانی، م.ح.، سجادی، م.م.، علیزاده، م. و سوری نژاد، ا.، ۱۳۹۵.** تولید و ارزیابی بیوفلوک به‌منظور به‌کارگیری در سیستم پرورشی بدون تعویض آب. *نشریه توسعه آبی پروری*، سال دهم، شماره اول، صفحات، ۴۲-۳۳.

**خانجانی، م.ح.، سجادی، م.م.، علیزاده، م.، سوری نژاد، ا.، ۱۳۹۴.** تاثیر نسبت‌های مختلف غذایی بر کیفیت آب، عملکرد رشد و بقاء پست لاروهای میگوی

- Avnimelech, Y., 2012.** Biofloc Technology: A Practical Guide Book, 2nd Edition. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States. 272p.
- Azim, M.E. and Little, D.C., 2008.** The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 283: 29-35. DOI:10.1016/j.aquaculture.2008.06.036.
- Burford, M.A.; Thompson, P.J.; Bauman, R.H. and Pearson, D. C., 2004.** The contribution of flocculated material to shrimp *Litopenaeus vannamei* nutrition in a high-intensive zero-exchange system. *Aquaculture*, 232: 525-537. DOI:10.1016/S0044-8486(03)00541-6.
- Crab, R., Chielens, B., Wille, M., Bossier, P. and Verstraete, W., 2010.** The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquaculture Research*, 41(4): 559-567. DOI:10.1111/j.1365-2109.2009.02353.x.
- De Schryver, P., Crab R., Defoirdt, T., Boon N. and Verstraete, W., 2008.** The basics of bioflocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture*, 277: 125-137. DOI:10.1016/j.aquaculture.2008.02.019.
- De Schryver, P., Sinha, A.K., Kunwar, P.S., Baruah, K. and Verstraete, W., 2010.** Poly-beta-hydroxybutyrate (PHB) increases growth performance and intestinal bacterial range-weighted richness in juvenile European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86: 1535-1541. DOI: 10.1007/s00253-009-2414-9.
- Decamp, O., Cody, J., Conquest, L., Delanoy, G. and Tacon, A.G.J., 2003.** Effect of salinity on natural community and production of *Litopenaeus vannamei* (Boone) within experimental zero-water exchange culture systems. *Aquaculture Research*, 34: 345-355. DOI: 10.1046/j.1365-2109.2003.00842.x.
- Emerenciano, M., Cuzon G., Goguenheim, G.J., Gaxiola G. and Aquacop., 2013.** Floc contribution on spawning performance of Blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*. *Aquaculture Research*, 44: 75-85. DOI:10.1111/j.1365-2109.2011.03012.x.
- Emerenciano, M., Gaxiola, G. and Cuzon, G., 2013.** Biofloc technology (BFT): a review for aquaculture application and animal food industry. In: Matovic MD (ed.) Biomass Now – Cultivation and Utilization, In Tech, Queen's University, Belfast, Canada, pp. 301-328.
- Gao, L., Shan, H.W., Zhang, T.W., Bao, W.Z. and Ma, S.J., 2012.** Effects of carbohydrate addition on *Litopenaeus vannamei* intensive culture in a zero-water exchange system. *Aquaculture*, 342: 89-96. DOI:10.1016/j.aquaculture.2012.02.022.
- Hakanson, L., 2006.** The relationship between salinity, suspended particulate matter and water clarity in aquatic systems. *Ecological*



*Research*, 21: 75-90. DOI: 10.1007/s11284-005-0098-x.

**Hargreaves, J.A., 2006.** Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquacultural Engineering*, 34: 344-363.

**Ju, Z.Y., Forster, I., Conquest, L.; Dominy, W., Kuo, W.C. and Horgen, F.D., 2008.** Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profile. *Aquaculture Research*, 39:118-133. DOI:10.1111/j.1365-2095.2007.00559.x

**Khanjani, M. H., Sajjadi, M. M., Alizadeh, M., Sourinejad, I., 2017.** Nursery performance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) cultivated in a biofloc system: the effect of adding different carbon sources. *Aquaculture Research*, 48 (4):1491-1501. DOI:10.1111/are. 12985 .

**Khanjani, M. H., Sajjadi, M. M., Alizadeh, M., Sourinejad, I., 2017.** Study on nursery growth performance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) under different feeding levels in zero water exchange system. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 15 (4): 1465-1484

**Kumar, S., Anand, P.S.S., De D., Deo, A.D., Ghoshal, T.K., Sundaray, J.K., Ponniah, A.G., Jithendran, K.P., Raja, R.A., Biswas, G. and Lalitha, N., 2017.** Effects of biofloc under different carbon sources and protein levels on water quality, growth performance and immune responses in Black tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius, 1978). *Aquaculture*

*Research*, 48(3): 1168-1182. DOI:10.1111/are.12958.

**Lopez-Elias, J.A., Moreno-Arias, A., Miranda-Baeza, A., Martinez-Cordova, L.R., Rivas-Vega, M.E. and Marquez-Rios, E., 2015.** Proximate composition of bioflocs in culture systems containing hybrid Red Tilapia fed diets with varying levels of vegetable meal inclusion. *North American Journal of Aquaculture*, 77:102-109. DOI: 10.1080/15222055.2014.963767.

**Maicá, P.F., de Borba, M.R., Martins, T.G. and Junior, W.W., 2014.** Effect of salinity on performance and body composition of pacific white shrimp juveniles reared in a super-intensive system. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43(7): 343-350. DOI:10.1590/S1516-35982014000700001.

**McIntosh, B.J., Samocha, T.M., Jones, E. R., Lawrence, A.L., McKee, D.A., Horowitz, S. and Horowitz, A., 2000.** The effect of a bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with low-protein diet on outdoor tank system and no water exchange. *Aquacultural Engineering*, 21: 215-227. DOI: 10.1016/S0144-8609(99)00030-8.

**MOOPAM., 1999.** Manual of oceanographic observations and pollutants analysis methods (Third Edition). The Regional Organisation for the Protection of the Marine Environment (ROPME), Kuwait.

- Tacon, A.G.J., 2000.** Shrimp feeds and feeding regimes in zero exchange outdoor tanks. *The Advocate* April: 15-16.
- Valle, B.C.S., Dantas, Jr., Silva, J.F.X., Bezerra, R.S., Correia, E.S., Peixoto, S.R.M. and Soares, R.B., 2015.** Replacement of fish meal by fish protein hydro lysate and biofloc in diets of *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *Aquaculture Nutrition*, 21: 105–112. DOI: 10.1111/anu.12149.
- Wang, C., Pan, L., Zhang, K., Xu, W., Zhao, D. and Mei, L., 2016.** Effects of different carbon sources addition on nutrition composition and extracellular enzymes activity of bioflocs, and digestive enzymes activity and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in zero-exchange culture tanks. *Aquaculture Research*, 47(10): 3307-3318. DOI:10.1111/are.12784.
- Wasielky, W., Atwood, H., Stokes, A. and Browdy, C. L., 2006.** Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258: 396-403. DOI:10.1016/j.aquaculture.2006.04.030.

**Effects of different salinity levels and carbon sources in biofloc production system**

Khanjani M.H.\*

\*m.h.khanjani@gmail.com

Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Jiroft, Jiroft, Iran.

**Abstract**

Carbonaceous organic matter and water salinity are the key factors in zero water exchange system with biofloc production. In the present study, production of biofloc in different water salinities and carbon sources was investigated in zero water exchange system. For this purpose, three levels of salinity (10, 21 and 32 ppt) and two types of carbon source (molasses and wheat flour) were considered in zero water exchange system. The experiment was conducted in tanks with water volume of 300L for 4 weeks in propagation and cultivation aquatics center located in Bandar Kolahi, Minab, Hormozgan province. Minimum dissolved oxygen (5.68 mg/l) and NH<sub>3</sub> (0.29 mg/l) and maximum NO<sub>3</sub> (12.68 mg/l) obtained in the tanks with molasses, as carbon source, and 32ppt water salinity. Some of water physicochemical parameters including dissolved oxygen, pH, NH<sub>3</sub> and NO<sub>3</sub> were measured regularly and significant differences were observed among the different treatments (p<0.05). The analysis of the biochemical composition of the bioflocs showed a decrease in protein and an increase in ash content along with increase in water salinity. Lipid content in molass biofloc was significantly lower than the wheat flour biofloc (p<0.05). The results showed that type of carbon source and value of salinity would be effective on water quality parameters and nutrition value of bioflocs in zero water exchange system.

**Keywords:** Biofloc, Carbon sources, Salinity, Zero water exchange system

\*Corresponding author