مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۷، دوره ۷۳، شماره ۴، ۴۰۱- ۳۹۳
DOI: 10.22059/jvr.2019.227254.2584
Original Article

تأثیر سطوح مختلف بیوفلاک بر کیفیت آب، عملکرد رشد و بازماندگی پست لارو میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*)

حسین آدینه محمد هرسیج

گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

(دریافت مقاله: ۱۷ خرداد ماه ۱۳۹۷، پذیرش نهایی: ۲۶ شهریور ماه ۱۳۹۷)

چکیده

زمینه مطالعه: در سال‌های اخیر، استفاده از بیوفلاک به‌عنوان یک روش پرورشی برای حفظ کیفیت آب و کاهش هزینه غذای مصرفی در محیط پرورش میگو قابل توجه است.

هدف: هدف از این مطالعه بررسی اثرات استفاده از سطوح مختلف بیوفلاک بر کیفیت آب، عملکرد رشد و بازماندگی پست لارو میگوی وانامی پرورش یافته بدون تعویض آب است.

روش کار: پست لاروها با میانگین وزنی و طولی به‌ترتیب ۰/۸۵ ± ۷/۴۸ mg و ۰/۴۹ ± ۹/۲۳ mm در ۱۵ تانک با حجم ۴۰ L و تراکم ۱۰ پست لارو در لیتر ذخیره‌سازی شدند. سطوح مختلف بیوفلاک به‌عنوان منبع غذایی به آب مخازن آزمایشی اضافه شد: تیمار ۰B (۱۰۰٪ کنسانتره)، تیمار ۷۵B (۷۵ ٪ بیوفلاک+ ۲۵٪ کنسانتره)، تیمار ۵۰B (۵۰٪ بیوفلاک+ ۵۰٪ کنسانتره)، تیمار ۲۵B (۲۵٪ بیوفلاک+ ۷۵٪ کنسانتره) و تیمار ۱۰۰B (۱۰۰٪ بیوفلاک). طول انجام دوره آزمایش ۲۸ روز بود.

نتایج: سطح آمونیاک کل در تیمار ۲۵B نسبت به دیگر تیمارها کاهش نشان داد ($P<0/05$). سطح نیترات بطور معنی‌داری در تیمار ۲۵B و ۵۰B نسبت به دیگر تیمارهای در روز ۲۸ آزمایش کاهش یافت ($P<0/05$). در پایان آزمایش، نتایج نشان داد که رشد و بازماندگی میگو در تیمار ۲۵B (بترتیب ۳۲/۲۰ ± ۳۰۱/۲۳ mg و ۸۱/۵۶٪) نسبت به دیگر تیمارها افزایش داشت ($P<0/05$). غلظت کل مواد جامد معلق در تیمارها در طول دوره آزمایشی افزایش داشت.

نتیجه‌گیری نهایی: نتایج این مطالعه نشان داد که جایگزینی ۲۵ ٪ بیوفلاک (۲۵B) با غذای کنسانتره می‌تواند عملکرد رشد و کیفیت آب محیط پرورش میگو را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: میگوی پاسفید، سیستم بیوفلاک، پارامترهای رشد، بهره‌وری تغذیه و کیفیت آب محیط پرورش

کپی رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله تحقیقات دامپزشکی محفوظ است.

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۱۷-۳۳۵۸۶۳۶۲ نمابر: ۰۱۷-۳۳۲۶۴۰۶۰ Email: Adineh.h@gmail.com

How to Cite This Article

Adineh, H., Harsij, M. (2019). Effect of different levels of biofloc on water quality, growth performance and survival of *Litopenaeus vannamei* post larvae, Iran. J Vet Res, 73(4), 393-401. doi: 10.22059/jvr.2019.227254.2584

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

میگـوی سـفید اقیانـوس آرام (*Litopenaeus vannamei*) یکـی از مهم‌ترین گونه‌های آبزیان دریایی در جهان است (۱۹) که افزایش مصرف آن باعث شده تا این گونه از نظر مطالعات پژوهشی بیشتر مورد توجه قرار گیـرد (۲۹). با افزایش تولید آبزیان مقادیر زیادی از مواد زائد همچون مواد جامـد و مواد مغذی که در نتیجه‌ی غذای خورده نشـده، مدفـوع و اوره و آمونیاک مترشـحه از حیوان است وارد اکوسیسـتم آبی می‌شوند (۲۳). در صـورت عدم کنترل صحیـح مواد دفعی مسـائل زیسـت محیطی مانند یوتروفیکاسیون اتفاق می‌افتد (۲۶)، که می‌تواند به‌طور مستقیم باعث ایجاد سمیت برای جانوران آبزی گردد (۸).

در سال‌های اخیر، فن‌آوری سیستم بیوفلاک برای به حداقل رسانیدن تخلیه پسـاب به اکوسیسـتم آبی، حفظ منابع آب و بهبود امنیت زیسـتی مزارع پرورش مورد توجه قرار گرفته اسـت (۱۰، ۳). در چنین سیستم‌هایی میکروارگانیسم‌ها نقش مهمی در بهبود باروری، چرخه عناصر، کیفیت آب و تغذیه حیوانات دارند (۱۷). دستکاری نسبت کربن به نیتروژن (C:N) برای توسـعه سیستم بیوفلاک بوسیله اسـتفاده از منابع کربنی خارجی و یا بالا بردن سـطح کربن در غذا انجام می‌شود. پسماندهای کشاورزی- صنعتی حاوی منابع کربن قابل دسترس شامل ملاس، آرد و سبوس گندم، سبوس برنج، ضایعات شـالی کوبی، پسماند گلوتن، پسماند مالت، پودر آب پنیر و باگاس و منابع ازت قابل استفاده می‌توان به کنجاله کلزا، کنجاله سویا، بذر گوجه فرنگی، بذر چای، پپتون، ویناس الکل، کازئین و آمونیوم سـولفات اشاره نمود. بطور کلی باید توجه داشت که، افزایش نسبت کربن به نیتروژن برای رشـد بهینه باکتری‌هـای هتروتروف ضروری اسـت (۱۲). در چنین سیستم‌هایی حفظ کیفیت آب با جذب ترکیبات نیتروژنی در تولید پروتئین میکروبی و همچنین استفاده از ضایعات کشاورزی جهت کاهش هزینه‌های غذایی بسیار حائز اهمیت است (۱۳).

تحقیقات نشان داده است که همه گونه‌های آبزیان نمی‌توانند در سیستم بیوفلاک عملکرد مناسبی داشته باشند بنابراین آبزیانی که رژیم غذایی فیلتر کنندگی، عادت به همه‌چیزخواری، قابلیت سـازگاری دسـتگاه گوارش به جذب بهتر ذرات میکروبی را دارند نیز مناسب برای استفاده در این سیستم می‌باشند. محققین گزارش دادند که بیوفلاک توانسته عملکرد رشد میگوی مونـودون *Penaeus monodon* (۱)، میگوی وانامـی *Litopenaeus vannamei* (۲۷)، میگـوی *Farfantepenaeus Paulensis* (۷)، میگـوی *Marsupenaeus japonicas* (۳۰) را افزایش دهد. بطورکلی هدف از این آزمایش، بررسی کیفیت آب، عملکرد رشد و درصد بازماندگی میگوی وانامی پرورش یافته در سیستم بیوفلاک بدون تعویض آب می‌باشد.

مواد و روش کار

تهیه میگو و شرایط آزمایش: برای انجام این پژوهش پست لاروهای میگوی وانامی ۱۴ روزه آماده ذخیره‌سازی در استخرهای خاکی پرورشی از سایت پرورش میگوی گمیشان واقع در استان گلستان تهیه و به آزمایشگاه مهندسـی آبزیان دانشـگاه گنبـد کاووس انتقال یافت. پسـت لاروها ۱۴ روز مرحله سـازگاری با شرایط آزمایشـگاهی را طی نمودند. آب با شوری ۲۹/۱۰±۰/۱۶ g/l آمـاده و دمـای محیـط در محدوده‌ی مناسـب حدود ۲۷/۵۰±۰/۶۴°C تنظیـم گردید. ۱۵ ظرف پلاسـتیکی با حجم آبگیری L ۴۰ و تراکم ۱۰ پست لارو در لیتر ذخیره‌سازی شد. پست لاروها با میانگین وزنی ۷/۴۸ ±۰/۸۵ با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ g و میانگین طولی ۹/۲۳ ±۰/۴۹ mm بـا کولیس دیجیتالـی با دقت ۰/۰۱ mm اندازه گیری شدند.

تولیـد بیوفـلاک: در مخـزن ۲۵۰ لیتـری حجـم L ۲۰۰ بیوفـلاک ذخیره‌سـازی شـد. برای شـروع کار، g ۴۰ غذا، ۱۰ مخلوط آرد و سبوس گنـدم، g۵۰ ملاس چغندر قند، g۱ خـاک رس و g ۱ اوره در آب ریخته و بمدت ۱۰ روز شدیداً هوادهی شد. بعد از آماده سازی مخزن اولیه بیوفلاک، آزمایش آغاز شـد و هر یک روز در میان g ۱۰ غذا، ۲۰ گرم سـبوس و آرد و ۳ ملاس به مخزن جهت تداوم تولید بیوفلاک و به‌منظور حفظ نسـبت کربن به ازت حدود ۲۰:۱ برای رشد باکتری‌های هتروتروفی اضافه شد (۲). آزمایش زمانیکه بیوفـلاک (مقدار کل مواد معلق) بیش از ۱۰۰ mg/l بود شـروع شد. بر اساس گزارش ارئه شده توسـط Khanjani و همکاران در سـال ۲۰۱۵a، شروع آزمایش پسـت لاروها روزانه ۲۵٪ وزن بدن و بعد از ۲ هفته با افزایـش وزن درصد غذادهی به ۱۵٪ کاهش یافت. غذادهی در ۳ وعده با غذای تجاری شرکت هوواش بوشهر (۳۸٪ پروتئین) انجام شد. برای برآورد میزان بیوفلاک ابتدا یک حجم معین از فلاک تولیدی با ۱۰٪ رطوبت نیز خشک گردید و بر اساس آن حجم فلاک مصرفی تخمین زده شد. این کار هر ۵ روز تکرار می‌گردید. این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفـی به‌مدت ۲۸روز در ۵ تیمار آزمایشـی و هر کـدام با ۳ تکرار انجام پذیرفت (جدول ۱).

معیارهای فیزیکوشیمیایی آب: طی دوره آزمایش، روزانه بین ساعت ۷ تا ۹ صبح پارامترهای کیفی آب همچون دما و اکسیژن محلول با استفاده از دسـتگاه اکسیژن‌متر مدل HACH ساخت آمریکا، پی‌اچ آب با استفاده از پی‌اچ‌متر مدل ۸۲۷ متروم ساخت سوئیس اندازه‌گیری شد. روزهای ۱۴ و ۲۸ آزمایش مقدار آمونیاک کل، نیترات، فسفات، قلیائیت و کدورت آب با اسـتفاده از دستگاه پالین تست فتومتر ۷۵۰۰ ساخت انگلستان اندازه‌گیری شد. برای تعیین میزان مواد جامد قابل ته‌نشین، یک لیتر آب مخزن را به داخل قیف مدرج مخروطی شـکل ریخته و به‌مدت ۳۰ دقیقه نگه داشـته تا ته‌نشـین شـود (۴). برای اندازه‌گیری کل مواد جامد معلق، ml ۱۰۰ از آب مخـزن را با کاغذ صافی واتمن ۰/۴۵ µ فیلتر نموده و در آون در دمای ۱۰۳°C تا ۱۰۵ به‌مدت ۱ تا ۳ ساعت قرار داده تا خشک شود (۶).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱. طراحی ۵ تیمار آزمایشی برای پرورش لارو میگوی وانامی در سیستم بیوفلاک.

تیمار	مدل غذادهی
B ۰	۱۰۰٪کنسانتره
B ۲۵	۲۵٪ بیوفلاک + ۷۵٪کنسانتره
B ۵۰	۵۰٪ بیوفلاک + ۵۰٪کنسانتره
B ۷۵	۷۵ ٪ بیوفلاک + ۲۵٪کنسانتره
۱۰۰B	۱۰۰ ٪ بیوفلاک

معیارهای رشد و بازماندگی: جهت بررسی شاخص‌های عملکرد رشد، بدست آوردن بیوماس و محاسبه غذای روزانه در طول دوره آزمایش، زیست سنجی میگوها (وزن و طول) ابتدای دوره و به فاصله هر دوهفته در طول دوره آزمایش انجام شد. درصد بازماندگی بر اساس تعداد میگوهای ذخیره سازی شده در ابتدای آزمایش و تعداد میگوهای باقی‌مانده در انتهای آزمایش محاسبه گردید.

سرعت رشد طبق فرمول (GR mg)l=(t۱–t۲ / Wt۱–Wt۲)که در آن Wt۲: وزن نهایی ماهی (g)؛ Wt۱: وزن اولیه ماهی (g)؛ t۱–t۲: طول دوره آزمایش (روز) می‌باشد.

نرخ رشد ویژه طبق فرمول [t۱–t۲ / LnWt۱ –LnWt۲] × ۱۰۰ = (SGR, ٪ day –۱) است که در آن LnWt۲: لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی (g)؛ LnWt۱: لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی (g)؛ t۲–t۱: طول دوره آزمایش (روز) می‌باشد.

ضریب تبدیل غذایی طبق رابطه FCR = food intake (g) / living weight gain (g) ثبت گردید که در آن Food intake: غذای خورده شده (g)؛ Living weight gain: وزن بدست آمده (g) می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها توسط نرم‌افزار spss ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین بین تیمارها از آنالیز واریانس یک‌طرفه با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۵ ٪ استفاده شد. کلیه نمودارها و گراف‌ها در نرم‌افزارExcel رسم گردید.

نتایج

برخی از پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب شامل درجه حرارت، شوری، پی‌اچ و اکسیژن محلول در جدول (۲) آورده شده است. نتایج ثبت شده در این آزمایش نشان داد درجه حرارت، شوری، پی‌اچ و اکسیژن محلول در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری ندارد ($P<۰/۰۵$). میانگین دما در طول دوره پرورش ۲۷/۵۸°C درجه سانتی‌گراد به ثبت رسید. میانگین شوری در تیمارهای آزمایشی برابر با ۲۹/۴۴ g/l بود. بیشترین و کمترین میزان پی‌اچ بترتیب در تیمار ۲۵ B۵B۰ بدست آمد. بیشترین میزان اکسیژن محلول در تیمار ۲۵ B برابر با ۶/۱۵ mg/l و کمترین میزان اکسیژن محلول در تیمار ۰B برابر با ۵/۹۲ mg/l به ثبت رسید.

نتایج اندازه‌گیری متغیرهای کیفی (قلیائیت، آمونیاک کل، نیترات و فسفات) در روزهای ۱۴ و ۲۸ دوره آزمایش در جدول (۳) آورده شده است.

روز ۱۴ آزمایش، بیشترین میزان قلیائیت در تیمار ۱۰۰B روئیت شد و بین این تیمار و دیگر تیمارهای آزمایشی اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$). روز ۲۸ آزمایش، تفاوت آماری معنی‌داری از نظر میزان قلیائیت بین همه تیمارهای آزمایشی مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$) بطوریکه بیشترین (۲۱۳/۰۸ mg/l CaCO۳) و کمترین (۱۲۳/۵۲ mg/l CaCO۳) بترتیب در تیمارهای ۱۰۰B و ۵۰B بدست آمد. آمونیاک کل در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت آماری معنی داری در روزهای ۱۴ و ۲۸ داشت ($P<۰/۰۵$). در این روزها بیشترین میزان آمونیاک کل بترتیب در تیمارهای ۱۰۰B و ۷۵B مشاهده گردید. نیترات در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت آماری معنی داری در روزهای ۱۴ و ۲۸ داشت ($P<۰/۰۵$) بطوریکه در هر دو زمان نمونه‌برداری بیشترین مقدار آن در تیمار ۱۰۰B به ثبت رسید. روز ۱۴ آزمایش، فسفات تفاوت معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی داشت ($P<۰/۰۵$) و بیشترین آن در تیمار ۱۰۰B برابر ۰/۲۰۹ mg/l و کمترین میزان آن در تیمار ۵۰B برابر mg/l ۰/۰۳۲ بدست آمد. روز ۲۸ آزمایش، فسفات تفاوت معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی داشت ($P<۰/۰۵$) بطوریکه بیشترین و کمترین میزان آن در تیمارهای ۰B و ۵۰B مشاهده گردید.

آنالیز نتایج بدست آمده از عملکرد رشد و بازماندگی پست لارو میگو در روزهای ۱۴ و ۲۸ در جدول (۴) آورده شده است. در روز ۱۴ نمونه‌برداری تفاوت معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت ($P<۰/۰۵$). بیشترین مقدار در تیمار ۲۵B برابرmg ۳۹/۰۸ و کمترین مقدار در تیمار ۱۰۰B برابر mg ۲۰/۴۳ بدست آمد. در روز ۲۸ نمونه‌برداری نیز به همین ترتیب افزایش رشد ادامه یافت و بیشترین و کمترین مقدار رشد بترتیبmg ۳۰۱/۷۳ مربوط به تیمار ۲۵B وmg ۸۶/۱۵ مربوط به تیمار ۱۰۰B بود. طول نهایی در تیمارهای مختلف آزمایشی در روزهای نمونه‌برداری (۱۴،۲۸) از تفاوت معنی‌دار آماری برخوردار بود بطوریکه بیشترین مقدار در تیمار ۲۵B و کمترین مقدار در تیمار ۱۰۰B بدست آمد ($P<۰/۰۵$). اختلاف معنی‌دار آماری از نظر سرعت رشد بین تیمارهای آزمایشی در روزهای نمونه‌برداری وجود داشت، بطور کلی بیشترین مقدار در تیمار ۲۵B و کمترین آن در تیمار ۱۰۰B مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$). در روز ۱۴ آزمایش نرخ رشد ویژه به‌جزء در تیمار ۱۰۰B بین دیگر تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری نداشت ($P<۰/۰۵$). در روز ۲۸ آزمایش نرخ رشد ویژه در تمام تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری داشت ($P<۰/۰۵$). مقدار ضریب تبدیل غذایی بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری داشت ($P<۰/۰۵$). آنالیز آماری در روز ۱۴ آزمایش نشان داد که بیشترین میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۱۰۰B (۲/۴۸) و کمترین مقدار در تیمار ۰B (۱/۲۸) بدست آمد. همچنین بیشترین و کمترین مقدار این معیار در روز ۲۸ آزمایش بترتیب مربوط به تیمارهای ۱۰۰B و ۵۰B بود. مقایسه آماری درصد بازماندگی بین تیمارهای آزمایشی نشان از اختلاف معنی‌دار این معیار بود ($P<۰/۰۵$). در روز ۱۴

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲. میانگین (± انحراف معیار) فاکتورهای مختلف فیزیکوشیمیایی آب. در هر ردیف، عدم وجود حروف لاتین نشان از عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P< ۰/۰۵$).

پارامترهای آب	B ۱۰۰	B ۷۵	B ۵۰	B ۲۵	B ۰
دما (°C)	۲۷/۴±۰/۳۹	۲۷/۵۸±۰/۵۰	۲۷/۶۱±۰/۴۸	۲۷/۸۴±۰/۷۷	۲۷/۵±۰/۸۱
شوری (g/L^{-1})	۲۹/۷۶±۰/۴۱	۲۹/۶۹±۰/۲۳	۲۹/۴±۰/۵۷	۲۹/۳±۰/۴۷	۲۹/۰۶±۰/۳۶
پی اچ	۷/۹۲±۰/۱۱	۷/۴±۰/۲۹	۷/۵۸±۰/۱۶	۸/۰۶±۰/۰۹	۷/۳۳±۰/۱۵
اکسیژن محلول (mg/L^{-1})	۵/۸۹±۰/۳۸	۶/۱۵±۰/۲۶	۶/۰۱±۰/۴۵	۶/۱۲±۰/۴۱	۵/۹۲±۰/۳۲

جدول ۳. میانگین برخی متغیرهای کیفی آب در روزهای ۱۴ و ۲۸ دوره آزمایش. در هر ردیف، حروف غیر همسان نشان از تفاوت معنی‌دار است ($P< ۰/۰۵$).

پارامترهای آب	روزهای آنالیز	B ۱۰۰	B ۷۵	B ۵۰	B ۲۵	B ۰
قلیائیت (mg/L^{-1}/calcium carbonate)	۱۴	۲۶۰/۱۲±۲۰/۵۶ a	۱۸۶/۷۷±۱۳/۹۶ b	۱۸۱/۱۹±۹/۲۰ b	۱۸۴/۲۳±۱۱/۵۹ b	۱۶۳/۱۸±۱۶/۰۵ b
	۲۸	۲۱۳/۰۸±۱۰/۷۷ a	۱۳۸/۴۶±۸/۲۶ c	۱۲۳/۵۲±۷/۸۷ c	۱۶۸/۰۰±۱۴/۶۱ b	۱۹۶/۳۹±۱۸/۲۸ a
آمونیاک کل (mg/L^{-1})	۱۴	۰/۱۸۹±۰/۰۲۱ a	۰/۱۳۶±۰/۰۱۹ bc	۰/۱۲۱±۰/۰۱۰ c	۰/۰۹±۰/۰۱۱ d	۰/۱۴۷±۰/۰۱۵ b
	۲۸	۰/۲۴±۰/۰۳۰ b	۰/۲۹۸±۰/۰۳۰ a	۰/۱۱۸±۰/۰۱۱ c	۰/۰۶۲±۰/۰۰۳ d	۰/۱۲±۰/۰۳۵ ab
نیترات (mg/L^{-1})	۱۴	۰/۱۸۸±۰/۰۱۲ a	۰/۱۸۷±۰/۰۱۳ a	۰/۰۳۵±۰/۰۰۵ c	۰/۰۴۵±۰/۰۰۷ c	۰/۱۳۸±۰/۰۱۹ b
	۲۸	۰/۹۰۲±۰/۱۱۴ a	۰/۴۵۳±۰/۰۷۲ b	۰/۱۸۴±۰/۰۱۹ c	۰/۱۲۴±۰/۰۱۲ c	۰/۸۶۰±۰/۱۲۹ a
فسفات (mg/L^{-1})	۱۴	۰/۲۰۹±۰/۰۲۵ a	۰/۲۰۸±۰/۰۲۳ a	۰/۰۳۲±۰/۰۰۴ c	۰/۰۴۳±۰/۰۰۵ c	۰/۱۵۱±۰/۰۱۷ b
	۲۸	۰/۵۹۹±۰/۰۵۶ b	۰/۵۴۱±۰/۰۷۴ c	۰/۳۷۲±۰/۰۶۰ d	۰/۵۱۴±۰/۰۵۵ c	۰/۷۸۶±۰/۰۷۲ a

جدول ۴. میانگین برخی از معیارهای رشد در طول دوره آزمایش. در هر ردیف، حروف غیر همسان نشان از تفاوت معنی‌دار است ($P< ۰/۰۵$).

	روزهای آنالیز	B ۱۰۰	B ۷۵	B ۵۰	B ۲۵	B ۰
وزن نهایی (mg)	۱۴	۲۰/۴۳±۲/۸۳ d	۲۸/۷۹±۲/۸۵ c	۳۲/۵۴±۴/۵۹ bc	۳۹/۰۸±۲/۸۸ a	۳۴/۱۹±۲/۳۰ ab
	۲۸	۸۶/۱۵±۱۵/۴۸ e	۱۷۳/۲۹±۲۷/۷۶ d	۲۰۸/۳۰±۲۱/۹۷ c	۳۰۱/۷۳±۳۲/۲۰ a	۲۵۵/۴۴±۲۲/۷۷ b
طول نهایی (mm)	۱۴	۱۳/۵۸±۰/۸۲ c	۱۴/۱۳±۰/۷۰ bc	۱۴/۸۳±۱/۱۴ a	۱۵/۰۹±۰/۸۱ a	۱۴/۶۹±۰/۷۱ ab
	۲۸	۲۰/۴۱±۱/۴۸ c	۲۱/۷۱±۱/۵۹ b	۲۲/۱۳±۱/۷۸ b	۲۳/۲±۰/۷۷ a	۲۲/۱۸±۱/۰۲ b
سرعت رشد (mg)	۱۴	۰/۹۳±۰/۱۴ d	۱/۵۲±۰/۲۲ c	۱/۷۹±۰/۲۱ bc	۲/۲۶±۰/۲۵ a	۱/۹۱±۰/۲۰ ab
	۲۸	۵/۶۲±۰/۸۷ e	۱۱/۸۴±۱/۲۱ d	۱۴/۳۵(±۱/۲۹)c	۲۰/۹۷(±۲/۱۵)a	۱۷/۷۱(±۱/۶۸)b
نرخ رشد ویژه (% day)	۱۴	۳/۲۲±۰/۳۶ b	۴/۳۹±۰/۳۹ a	۴/۷۸±۰/۶۱ a	۴/۹۵±۰/۵۲ a	۴/۶±۰/۳۸ a
	۲۸	۸/۰۹±۰/۸۲ d	۹/۹۲±۱/۱۰ c	۱۰/۱۵±۰/۵۹ bc	۱۰/۹۷±۰/۶۵ a	۱۰/۵۲±۰/۷۴ ab
بازماندگی (٪)	۱۴	۷۰/۱۵±۲/۰۲ c	۸۴/۵۲±۲/۶۳ b	۸۶/۱۱±۴/۲۵ b	۸۶/۳۰±۳/۵۲ b	۹۰/۲۲±۲/۷۵ a
	۲۸	۶۹/۴۹±۱/۲۵ c	۷۵/۳۰±۲/۱۹ b	۸۰/۲۸±۱/۵۵ a	۸۱/۵۶±۲/۵۹ a	۷۴/۹۱±۱/۳۰ b
ضریب تبدیل غذایی	۱۴	۲/۴۸±۰/۱۵ a	۲/۰۳±۰/۲۱ ab	۱/۵۱±۰/۰۹ bc	۱/۳۳±۰/۱۴ c	۱/۲۸±۰/۱۴ c
	۲۸	۲/۹۷±۰/۳۳ a	۱/۸۹±۰/۲۰ b	۱/۲۳±۰/۱۶ c	۱/۴۴±۰/۱۴ c	۱/۹۰±۰/۱۱ b

نمونه‌برداری بیشـــترین درصد بازماندگی مربوط به تیمـار ۰B (۹۰/۲۲٪) و در روز ۲۸ نمونه‌برداری بیشـــترین درصد بازماندگـــی مربوط به تیمار ۲۵B (۸۱/۵۶٪) بود.

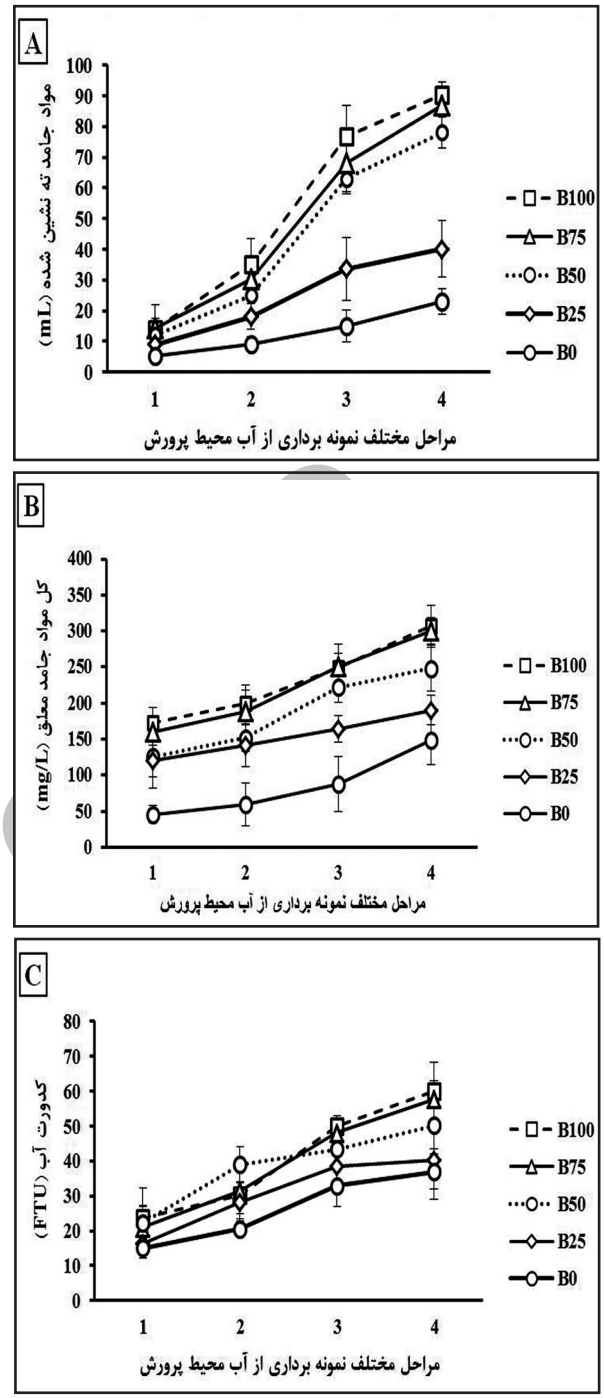
مقادیر اندازه‌گیری شده از میزان مواد جامد ته‌نشین شده، غلظت کل مواد جامد معلق و کدورت آب در طول ۲۸ روز آزمایش در نمودار (۱) آورده شده است. با افزایش گستره‌ی تشکیل بیوفلاک میزان مواد جامد ته‌نشین شـــده و غلظت کل مواد جامد معلق در طی دوره آزمایش افزایش تدریجی داشت. میزان این دو معیار در تیمارهای با ۵۰، ۷۰ و ۱۰۰ ٪ بیوفلاک نسبت به تیمارهای ۲۵ و تیمار بدون بیوفلاک بیشتر بود. در انتهای دوره آزمایش میزان مواد جامد ته‌نشین شده بین mg ۲۳ تا ۹۳/۵ و میزان غلظت کل مواد جامد معلق بین mg ۱۴۹/۲ تا ۳۰۶/۷ بدست آمد. نتایج کدورت آب نشان داد کـــه با افزایش درصد بیوفلاک در رژیم غذایی مقدار کدورت افزایش و این روند تا پایان دوره آزمایش ادامه داشت. در انتهای دوره آزمایش میزان کـــدورت بصورت واحد کدورت فرمازین (FTU: Formazin Turbidity Unit) بین ۳۷ تا ۶۰/۱۵ به ثبت رسید.

بحث

بکارگیری بیوفلاک به‌عنوان یک سیستم مناسب و سودمند است که بر پایه رشد میکروارگانیسم‌ها در محیط پرورش استوار است. در این آزمایش میزان دما، شوری، پی‌اچ و اکسیژن محلول در دامنه مطلوب برای پرورش

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ۱. میانگین میزان مواد جامد ته‌نشین شده (A)، غلظت کل مواد جامد معلق (B) و کدورت آب (C) در طول دوره آزمایش. روزهای نمونه‌برداری از آب محیط پرورش (۱، ۲، ۳ و ۴: بترتیب روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ آزمایش).

پست لارو میگوی وانامی قرار داشت. پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب بر اساس گزارش تنظیم گردید (۲۸). با افزایش میزان مصرف بیوفلاک در تیمارهای آزمایشی، میزان قلیائیت روندی افزایشی داشت که کمترین مربوط به تیمار ۲۵B برابر ۱۴/۶۱ ± ۱۶۸/۰۰ mg/l و بیشترین مربوط به تیمار ۱۰۰B برابر ۱۰/۷۷ ± ۲۱۳/۰۸ mg/l بود که با نتایج تحقیقات Gaona و همکاران در سال ۲۰۱۶ در تضاد بود. اندازه‌گیری قلیائیت نشان از روند کاهش تدریجی این پارامتر از روز ۱۴ تا ۲۸ می‌باشد که با تحقیقات Anand و همکاران در سال ۲۰۱۴ مطابقت نداشت و نتایج آن‌ها نشان از افزایش غیرمعنی‌دار میزان قلیائیت بود.

با افزودن مقدار مناسب کربوهیدرات به آب و تنظیم نسبت کربن به ازت، باکتری‌های هتروتروفی مواد غذایی حاصل را جذب و بطور بهینه بیوفلاک تشکیل می‌گردد که در این صورت آمونیاک و نیتریت در آب کاهش می‌یابد (۲). میزان آمونیاک کل در روزهای نمونه‌برداری بین تیمارهای آزمایشی تفاوت آماری معنی داری داشت ($P<0/05$) که بیشترین میزان بترتیب در تیمارهای ۱۰۰B و ۷۵B مشاهده گردید که این نشان از مصرف بیش از حد از بیوفلاک و برهم خوردن تعادل باکتری‌های هتروتروفی در سیستم پرورش میگو است. تحقیقات Gaona و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان داد که با افزایش غلظت مواد جامد معلق در تیمارهای آزمایشی، میزان آمونیاک تغییرات معنی‌داری نداشت اما در این مطالعه با افزایش درصد بیوفلاک در سیستم پرورشی میزان آمونیاک افزایش معنی‌دار داشت ($P<0/05$). میزان کل مواد جامد معلق شاخص واقعی از توده زیستی (بیوفلاک) می‌باشند (۵). Samocha و همکاران در سال ۲۰۰۷، برای میگوهای خانواده پنائیده حجم مواد جامد معلق را کمتر از ۵۰۰ mg/l توصیه کردند. برخی از محققین میزان مواد جامد معلق برای پرورش متراکم لارو میگوی کمتر از ۳۰۰ mg/l ثبت کردند (۱۶،۱۸) که با این مطالعه مطابقت داشت. بطور کلی، غلظت مواد جامد معلق برای میگوی وانامی در سیستم پرورش بیوفلاک بدون تعویض آب بین ۲۰۰ mg/l تا ۶۰۰ گزارش شده است (۲۲). در پایان آزمایش، بیشتری و کمترین میزان مواد جامد معلق در تیمارهای ۱۰۰B و ۰B مشاهده گردید بنابراین می‌توان اظهار داشت که با افزایش میزان بیوفلاک محلول به آب محیط پرورشی، میزان مواد جامد معلق نیز افزایش یافته است. Xu and Pan در سال ۲۰۱۲، پس از ۳۰ روز بررسی بیوفلاک در سیستم پرورش میگوی وانامی جوان گزارش دادند که، در طول دوره آزمایش مواد جامد معلق روندی افزایشی داشته و میزان آن به ۳۲۰ mg/l رسیده است که با مطالعه حاضر مطابقت دارد. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که میزان کل مواد جامد معلق با گذشت زمان روندی افزایشی داشته که بیشترین میزان در تیمار ۱۰۰B برابر ۳۰۶/۷۵ mg/l مشاهده گردید.

محققین گزارش دادند که استفاده از سیستم بیوفلاک برای پرورش میگو و یا ماهی فوائد متعددی همچون بهبود نرخ رشد (۲۵) و کاهش ضریب تبدیل غذایی (۹) در پی دارد. در چنین سیستم‌هایی مدیریت کنترل فلاک بسیار حائز اهمیت است چراکه تولید بیش از حد بیوفلاک در محیط آبی می‌تواند پاسخ منفی در روند رشد و بازماندگی بوجود آورد. Burford و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش دادند که میگوی وانامی می‌تواند بیش از ۲۹٪ بیوفلاک موجود در آب را به‌عنوان غذا مصرف نماید. در این آزمایش پست لاروها در تیمار ۲۵B (۲۵٪بیوفلاک مصرفی) نسبت به دیگر تیمارهای

Archive of SID

www.SID.ir

آزمایشی عملکرد رشد بهتری داشتند. Anand و همکاران در سال ۲۰۱۴ در تحقیقی ۶۰ روز بر عملکرد رشد میگوی مونودون با میانگین وزنی g ۰/۱۰ ± ۲/۹۰ دریافتند که میگوهای تغذیه شده با ۴٪ و ۸٪ بیوفلاک خشک نسبت به دیگر تیمارها بیشترین میزان رشد (g/۲۱ ± ۰/۶/۷۹) و نرخ رشد ویژه (day ٪ ۰/۰۴ ± ۱/۴۱) را بدست آوردند. در پایان دوره آزمایش مطالعه حاضر، تیمار ۲۵B بالاترین مقدار وزن نهایی (mg ۳۲/۲ ± ۳۰۱/۷۳) و درصد نرخ رشد ویژه (day ٪ ۰/۶۵ ± ۱۰/۹۷) را به خود اختصاص داد. درصد بازماندگی در تیمارهای ۲۵B و ۵۰B (۱/۵۵ ± ۸۰/۲۸٪) به حداکثر و در تیمار ۱۰۰B (۱/۲۵ ± ۶۹/۴۹٪) به حداقل خود رسید. بطورکلی، در پایان دوره آزمایش با افزایش درصد مصرف فلاک درصد بازماندگی بطور معنی‌داری کاهش پیدا کرد ($P<0/05$). Ray و همکاران در سال ۲۰۱۰، میانگین بازماندگی پست لارو میگوی وانامی تغذیه شده با جیره حیوانی و گیاهی را ۸± ۷۱ ٪ گزارش دادند. Emerenciano و همکاران در سال ۲۰۱۱ پس از ارزیابی تأثیر بیوفلاک بر میگوی صورتی *Farfantepenaeus paulensis* اظهار داشتند که بازماندگی پست لاروها در تیمار استفاده مخلوط بیوفلاک و غذای تجاری (۵۰٪+ ۵۰٪) نسبت به تیمار مصرف تنها بیوفلاک و غذای تجاری از درصد بالاتری برخوردار بودند که با این آزمایش مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری کلی: بدلیل شکل‌گیری جمعیت‌های مختلف باکتری، قارچ‌ها، ویروس‌ها و موجودات پلانکتونی که وابسته به شرایط محیطی و همجنین نوع و میزان کربن و نیتروژن مصرفی هستند، تغییر نامتعارفی در فاکتورهای فیزیکوشیمیایی و کیفی آب محیط پرورشی بوجود می‌آید. باید توجه داشت که برای دستیابی به عملکرد مناسب در سیستم بیوفلاک بایستی تولید و مصرف بیوفلاک به میزان مناسب و تحت کنترل باشد تا اثرات مثبت بر کیفیت آب محیط پرورش و عملکرد رشد میگو داشته باشد. بطور کلی نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد که تیمار ۲۵B (۲۵٪ بیوفلاک و ۷۵٪ غذای تجاری) نسبت به دیگر تیمارهای آزمایشی عملکرد بهتری داشت که نشان از اثربخشی سیستم بیوفلاک در این تیمار بود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب طرح پژوهشی با شماره ۶/۲۰۱۳ در دانشگاه گنبد کاووس اجرا شده است. نویسندگان از حمایت مالی دانشگاه کمال تشکر و قدردانی را دارند.

تعارض در منافع

بین نویسندگان هیچ گونه تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Arnold, S.J., Coman, F.E., Jackson, C.J., Groves, S.A. (2009). High-intensity, zero water-exchange production of juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*: an evaluation of artificial substrates and stocking density. Aquaculture, 293(1-2), 42-48.
2. Asaduzzaman, M., Wahab, M.A., Verdegem, M.C.J., Huque, S., Salam, M.A., Azim, M. E. (2008). C/N ratio control and substrate addition for periphyton development jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds. Aquaculture, 280(1-4), 117-123.
3. Avnimelech, Y. (2007). Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. Aquaculture, 264(1-4), 140-147.
4. Avnimelech, Y., Kochba, M. (2009). Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using 15N tracing. Aquaculture, 287(1-2), 163-168.
5. Avnimelech, Y., Kochva, M., Diab, S. (1994). Development of controlled intensive aquaculture systems with a limited water exchange and adjusted carbon to nitrogen ratio. Israel J Aquac Bam, 46(3), 119-131.
6. Azim, M.E., 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(1-4), 29-35.
7. Ballester, E.L.C., Abreu, P.C., Cavalli, R.O., Emerenciano, M., De Abreu, L., Wasielesky Jr, W. (2010). Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. Aquac Nutr, 16(2), 163-172.
8. Boardman, G.D., Starbuck, S.M., Hudgins, D.B., Li, X., Kuhn, D.D. (2004). Toxicity of ammonia to three marine fish and three marine invertebrates. Environ Toxicol, 19(2), 134-142.
9. Burford, M.A., Thompson, P.J., McIntosh, R.P., Bauman, R.H., Pearson, D.C. (2004). The con-

Archive of SID
www.SID.ir

tribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. Aquaculture, 232(1-4), 525-537.

10. Burford, M.A., Thompson, P.J., McIntosh, R.P., Bauman, R.H., Pearson, D.C. (2003). Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. Aquaculture, 219(1-4), 393-411.
11. Emerenciano, M., Ballester, E.L., Cavalli, R.O., Wasielesky, W. (2011). Effect of biofloc technology (BFT) on the early postlarval stage of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: growth performance, floc composition and salinity stress tolerance. Aquac Int, 19(5), 891-901.
12. Emerenciano, M., Ballester, E.L., Cavalli, R.O., Wasielesky, W. (2012). Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp Farfantepenaeus brasiliensis (Latreille, 1817). Aquac Res, 43(3), 447-457.
13. Emerenciano, M., Cuzon, G., Paredes, A., Gaxiola, G. (2013). Evaluation of biofloc technology in pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* culture: growth performance, water quality, microorganisms profile and proximate analysis of biofloc. Aquac Int, 21(6), 1381-1394.
14. Gaona, C.A.P., da Paz Serra, F., Furtado, P.S., Poersch, L.H., Wasielesky Jr, W. (2016). Effect of different total suspended solids concentrations on the growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a BFT system. Aquac Eng, 72, 65-69.
15. Khanjani, M.H., Sajjadi, M.M., Alizadeh, M., Sourinejad, I. (2015 a). Effect of different feeding levels on water quality, growth performance and survival of western white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) post larvae with application of biofloc technology. Iran Sci Fish J, 24(2), 13-28.
16. Khanjani, M.H., Alizadeh, M., Sajjadi, M.M., Sourinejad, I. (2015 b). The effect of different carbon sources on water quality, growth performance and survival of western white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) the culture system without water. Iran Sci Fish J, 24 (3), 77-92.
17. McIntosh, D., Samocha, T.M., Jones, E.R., Lawrence, A. L., McKee, D.A., Horowitz, S., Horowitz, A. (2000). The effect of a commercial bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with a low-protein diet in an outdoor tank system and no water exchange. Aquac Eng, 21(3), 215-227.
18. Mishra, J.K., Samocha, T.M., Patnaik, S., Speed, M., Gandy, R. L., Ali, A.M. (2008). Performance of an intensive nursery system for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, under limited discharge condition. Aquac Eng, 38(1), 2-15.
19. Pauly, D., Christensen, V., Guénette, S., Pitcher, T.J., Sumaila, U.R., Walters, C.J., Zeller, D. (2002). Towards sustainability in world fisheries. Nature, 418(6898), 689.
20. Ray, A.J., Seaborn, G., Leffler, J.W., Wilde, S.B., Lawson, A., Browdy, C.L. (2010). Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. Aquaculture, 310(1-2), 130-138.
21. Samocha, T. M., Patnaik, S., Speed, M., Ali, A. M., Burger, J. M., Almeida, R. V., Brock, D. L. (2007). Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. Aquac Eng, 36(2), 184-191.
22. Schveitzer, R., Arantes, R., Costódio, P.F.S., do Espírito Santo, C.M., Arana, L.V., Seiffert, W.Q., Andreatta, E.R. (2013). Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. Aquac Eng, 56, 59-70.
23. Sharrer, M.J., Tal, Y., Ferrier, D., Hankins, J.A., Summerfelt, S.T. (2007). Membrane biological reactor treatment of a saline backwash flow from a recirculating aquaculture system. Aquac Eng, 36(2), 159-176.
24. Anand, P.S., Kohli, M.P.S., Kumar, S., Sundaray, J.K., Roy, S.D., Venkateshwarlu, G., Pailan, G.H. (2014). Effect of dietary supplementation of biofloc on growth performance and digestive

Archive of SID
www.SID.ir

enzyme activities in Penaeus monodon. Aquaculture, 418, 108-115.
25. Wasielesky Jr, W., Atwood, H., Stokes, A., 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(1-4), 396-403.
26. Wetzel, R.G., Limnology, G. (2001). Lake and river ecosystems. Limnology, 37, 490-525.
27. Xu, W.J., Pan, L.Q. (2012). Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. Aquaculture, 356, 147-152.
28. Zhang, P., Zhang, X., Li, J., Huang, G. (2006). The effects of body weight, temperature, salinity, pH, light intensity and feeding condition on lethal DO levels of whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Aquaculture, 256(1-4), 579-587.
29. Zhang, M., Sun, Y., Chen, K., Yu, N., Zhou, Z., Chen, L., Li, E. (2014). Characterization of the intestinal microbiota in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed diets with different lipid sources. Aquaculture, 434, 449-455.
30. Zhao, P., Huang, J., Wang, X.H., Song, X.L., Yang, C.H., Zhang, X.G., Wang, G.C. (2012). The application of bioflocs technology in high-intensive, zero exchange farming systems of *Marsupenaeus japonicus*. Aquaculture, 354, 97-106.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Veterinary Research
J. Vet. Res. 73,4: 393-401, 2018
Original Article

Effect of Different Levels of Biofloc on Water Quality, Growth Performance and Survival of *Litopenaeus vannamei* Post Larvae

Hossein Adineh, Mohammad Harsij

Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad kavoos University, Gonbad kavoos, Iran

(Received 7 June 2018, Accepted 17 September 2018)

Abstract:

BACKGROUND: In recent years, the use of biofloc has been considerable as a culture method to protect water quality and reduce the cost of food in the environment cultured shrimp.

OBJECTIVES: The purpose of this study was to evaluate the effects of different levels of biofloc on water quality, growth performance and survival of *Litopenaeus vannamei* post larvae reared with no water exchange.

METHODS: Post larvae with weight of 7.48 ± 0.85 mg and length of 9.23 ± 0.49 mm were reared in fifteen tanks with volume of 40-L and stocking density of 10 PL/L. Different levels of biofloc were added to tanks' water as food sources: B0 (100% concentrate); B75 (75% biofloc +25% concentrate); B50 (50% biofloc +50% concentrate); B25 (25% biofloc +75% concentrate) and B100 (100% biofloc). The experiment was carried out for twenty=eight days.

RESULTS: Total ammonia nitrogen (TAN) level was lower in B25 than other treatments (P<0.05). The levels of Nitrate (mg NO3–N L−1) were significantly lower in B25 and B50 in 28 days of the experiment than in other treatments (P<0.05). At the end of the experiment, results showed that shrimp growth and survival were higher in B25 (301.23± 32.20 g and 81.56%, respectively) than in other treatments (P<0.05). The concentration of TSS tended to increase in the treatments during the experiment.

CONCLUSIONS: The results from this study suggest that replacement of 25% biofloc (B25) with food concentrate can improve growth performance and water quality of the cultured shrimp.

Keyword:

Litopenaeus vannamei, Biofloc system, Growth performance, Feed efficiency, Culture water quality

Archive of SID

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Design of five treatments for *Litopenaeus vannamei* shrimp larvae culture in biofloc system. Within each row, the absence Latin letters indicates no significant difference between treatments (P>0.05).

Table 2. Farms and aborted foetuses history and the results of nested-PCR on the brain sample of aborted foetuses in Arak. Within each rows, the absence Latin letters indicate no significant difference between treatments (P> 0.05).

Table 3. Mean of some water quality parameters in 14 and 28 days of experiment periods. Within each row, non-identical letters indicate significant differences (P< 0.05).

Table 4. Mean of some growth parameters during the experimental period. Within each row, non-identical letters indicate significant differences (P< 0.05).

Graph 1. Mean of settled solid (A), Mean concentration of total suspended solids (B) and Water turbidity (C) during experiment periods. Sampling days from the culture water (1, 2, 3 and 4: days 7, 14, 21 and 28 tests, respectively).

***Corresponding author's email: Adineh.h@gmail.com, Tel: 017-33586362, Fax: 017-33264060**

www.SID.ir