Archive of SID

مقایسه‌ی کیفیت آب در سیستم پرورش متراکم ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به روش بایوفلاک با سطوح مختلف ملاس نیشکر

محمدمهدی حق‌پرست‌رادمرد[۱*]، مجتبی علیشاهی[۲]، مسعود قربانپور[۳] و علی شهریاری[۴]

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۶/۴/۱۳

چکیده

در این تحقیق سیستم بایوفلاک با منبع کربنه‌ی ملاس نیشکر و با نسبت‌های کربن به نیتروژن ۱:۱۵، ۱:۲۰ و ۱:۲۵ در مخازن ۱۰۰ لیتری در سه تکرار و با تراکم ۱۷/۵ کیلوگرم در مترمکعب ایجاد گردیده و شاخص‌های مختلف کیفیت آب و فلاک تولید شده در طول یک دوره‌ی ۹۰ روزه مورد ارزیابی قرار گرفت شاخص‌های مورد بررسی شامل شاخص‌های آب: میزان اکسیژن، آمونیاک کل، نیتریت، نیترات، pH، سختی، تعداد باکتری کل، تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک، BOD و میزان تعویض آب، به علاوه شاخص‌های فلاک: نسبت حجم فلاک (FVI)، مواد معلق جامد (TSS)، نسبت میکروارگانیسم‌های فلاک، میزان ماده‌ی خشک، پروتئین و چربی فلاک تولید شده، محاسبه شد و بین تیمارها مقایسه گردید. نتایج حاکی از بهبود برخی فاکتورهای آب در مقایسه با گروه شاهد بود به نحوی که میزان No2 در تیمارهای بایوفلاک کم‌تر از تیمارهای کنترل بود و میزان آمونیاک کل TAN (Total Ammonium nitrogen) با وجود تعویض آب در تیمار کنترل تقریباً اختلاف معنی‌داری با تیمارهای بایوفلاک نشان ندادند. همچنین تعداد باکتری کل و نسبت باکتری‌های اسید لاکتیک در تیمارهای بایوفلاک از نظر تعداد بیش‌تر از تیمار کنترل بود. آنالیز تقریبی بایوفلاک هم نشان داد که بالاترین میزان پروتئین و چربی در تیمارهای بایوفلاک به ترتیب ۲۸/۴ و ۱/۶درصد بود که در مقایسه با خوراک ماهی کپور نسبت مناسبی است. به طور کلی نتایج نشان دادند که در سیستم بایوفلاک علاوه بر بهبود شاخص‌های کیفی آب، میزان مصرف آب کاهش یافته و کیفیت فلاک تولیدی نیز مناسب برای تغذیه‌ی ماهی کپور است. لذا از این روش می‌توان برای پرورش کپور در فضای بسته استفاده نمود.

کلمات کلیدی: بایوفلاک، پرورش متراکم ماهی، کیفیت آب، ملاس نیشکر، کپور معمولی

مقدمه

کپور معمولی یکی از گونه‌های پرورشی است که به صورت گسترده‌ای در سیستم پرورش گرم‌آبی مورد استفاده قرار می‌گیرد . این گونه، بومی آب‌های آسیا و اروپا می‌باشد، اما با این حال تقریباً در همه‌ی مناطق خارج از دامنه جغرافیایی و آب و هوایی بومی خودشان هم معرفی شده‌اند. امروزه بهترین انتخاب به عنوان گونه‌ی پرورش در شرایط آب و هوایی معتدل اروپای شرقی، اروپای مرکزی و آسیای مرکزی می‌باشد (Horvath et al. 2002). از آن جایی که افزایش صید بی‌رویه و آلودگی‌های منابع آبی باعث کاهش ذخایر با ارزش آبزیان شده است، روی آوردن به آبزی‌پروری متراکم در اکثر نقاط جهان درحال گسترش است. ولی با وجود محدود بودن منابع آبی در برخی از کشورها و شهرهای جهان باید دنبال رویکردها و تکنیک‌های نوین و با صرفه در جهت پرورش متراکم آبزیان باشیم. یکی از این تکنیک‌ها که در سال‌های اخیر بسیار مؤثر واقع شده، تکنولوژی بایوفلاک

[۱*] دانشجوی دکترای بهداشت آبزیان، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
E-mail: Haghparast_radmard@yahoo.com (نویسنده‌ی مسئول)
[۲] استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
[۳] استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
[۴] دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

www.SID.ir

Archive of SID

است. در این سیستم از تراکم و فعالیت جمعیت باکتری-های هوازی با دستکاری‌هایی در نسبت غلظت کربن و نیتروژن آب به نفع سیستم پرورشی استفاده می‌گردد و در حقیقت نسبت بالای کربن به نیتروژن باعث غیرفعال شدن نیتروژن آمونیاکی کل توسط زی توده باکتریایی و افزایش زی توده‌ی میکروارگانیزم‌ها می‌شود (Avnimelech 1999). این جذب نیتروژن توسط باکتری‌های هتروتروف خیلی سریع‌تر از نیتریفیکاسیون باعث کاهش و حذف نیتروژن سمی در آب می‌شود (Hargreaves 2006). این توده‌ی زیستی شامل ترکیب ناهمگنی از جمعیت میکروارگانیزم‌ها و حاوی اشکال توده‌ای باکتری‌های رشته‌ای، ذرات کلوئیدی، ذرات معلق، پلی‌مرهای آلی، کاتیون‌ها و سلول‌های مرده می‌باشد که روی هم فلاک‌ها را ایجاد می‌کنند (Jorand et al. 1995). این سیستم برای گونه‌هایی مناسب است که هم توانایی مقاومت در کدورت بالا را داشته باشند و هم بتوانند از همین توده-های زیستی (باکتری‌ها و میکروارگانیزم‌ها) تغذیه کنند (Avnimelech 2007, Burford et al. 2003, McIntosh 2000). از مهم‌ترین مزایایی که این سیستم دارد کاهش نرخ تعویض آب، جلوگیری از ورود عوامل بیماری‌زا به بدن ماهی با ایجاد رقابت در چسبیدن به مخاط ماهی، بهبود کیفیت آب از طریق حذف سریع ترکیبات ازته‌ی سمی از سیستم و همچنین کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش نرخ رشد با تغذیه‌ی ماهی از فلاک تولیدی می-باشد . بایوفلاک‌ها یک منبع خوب از اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، مواد معدنی و فسفر هستند. همچنین بایوفلاک‌ها می‌توانند دارای اثرات شبیه پروبیوتیک باشند (Hargreaves 2013). از مهم‌ترین اهداف بررسی حاضر، مطالعه و بررسی اثرات این تکنولوژی، روی کیفیت آب و پروفایل میکروارگانیزم‌ها و کیفیت بیوشیمیایی بایوفلاک تولید شده در پرورش متراکم کپور معمولی می‌باشد. در این تحقیق از تکنولوژی بایوفلاک نوع In-Situ به کار گرفته شد و سیستم بایوفلاک در همان مخازن پرورشی ایجاد شد.

مواد و روش کار

در این آزمایش که به مدت ۹۰ روز انجام شد، ۴۲۰ قطعه ماهی کپور معمولی با وزن متوسط (۵/۹±۴۰) گرم (Mean±SD) از استخرهای پرورشی حومه‌ی شهرستان اهواز، استان خوزستان تأمین و پس از یک هفته سازش دهی با شرایط آزمایشگاه، با خوراک مخصوص کپور معمولی با قطر ۲ میلی‌متری، نسبت پروتئین ۳۲ درصد و چربی ۷ درصد (شرکت کیمیاگران- ایران)، تغذیه شدند. غذادهی سه بار در روز به طور یکسان در همه‌ی تانک‌ها، به میزان حداکثر ۳ درصد وزن زی توده و بر اساس اشتهای ماهی صورت گرفت (Craig and Helfrich 2002). تراکم ذخیره‌سازی ماهیان بر اساس تراکم ذخیره-سازی اولیه، ۱۷/۵ کیلوگرم و ظرفیت نهایی حدود ۴۰ کیلوگرم در مترمکعب در نظر گرفته شد و در هر آکواریوم با حجم آبگیری شده ۱۰۰ لیتر، تعداد ۳۵ قطعه ماهی ذخیره‌سازی شد (Bocioc et al. 2011). تیماربندی ماهی‌ها بر اساس میزان کربن به نیتروژن تقسیم‌بندی شد و شامل چهار تیمار بود:

تیمار A (تیمار بایوفلاک با میزان ملاس ایجاد کننده نسبت کربن به نیتروژن ۱:۱۵)،

تیمار B (تیمار بایوفلاک با میزان ملاس ایجاد کننده نسبت کربن به نیتروژن ۱:۲۰)،

تیمار C (تیمار بایوفلاک با میزان ملاس ایجاد کننده نسبت کربن به نیتروژن ۱:۲۵)،

تیمار کنترل D (تغذیه شده با خوراک معمولی و تعویض آب ۲۵ درصد روزانه).

تعویض آب در تیمارهای آزمایشی روزانه ۳ درصد بود (تعویض آب برای نمونه‌برداری از آب، جمع‌آوری فلاک‌های اضافی و جبران تبخیر آب صورت می‌گرفت). در این آزمایش از ملاس نیشکر محلی استان خوزستان که ۵۰ درصد کربن دارد به عنوان منبع کربوهیدرات استفاده شد (Souza et al. 2014, Widanari et al. 2012).

www.SID.ir

Archive of SID

در این آزمایش، ابتدا آب خروجی یک استخر پرورش کپور ماهیان به عنوان منبع اولیه‌ی باکتری‌های هتروتروف به آب آکواریوم اولیه اضافه شد (Sharma et al. 2015)، سپس میزان آمونیای کل (Total Ammonium nitrogen) (TAN)، نیتریت و نیترات در آب اندازه‌گیری شد. پس از تثبیت شرایط، بر اساس میزان آمونیاک کل آب و بر اساس فرمول (Avnimelech et al. 2012) میزان مناسب ملاس نیشکر برای ایجاد نسبت‌های کربن به نیتروژن، برابر ۱:۱۵، ۱:۲۰ و ۱:۲۵ محاسبه و بعد از رقیق‌سازی ملاس، ملاس رقیق شده به آکواریوم‌ها اضافه گردید. بعد از دو روز در دمای ۲۸ درجه‌ی سانتی‌گراد، میزان آمونیاک کل به نزدیک صفر رسید، ولی میزان NO2 افزایش یافت، مجدداً تا برقراری کامل سیکل تبدیل NH3 به NO2 و نهایتاً NO3، به میزان ۵ میلی‌گرم در لیتر نیترات آمونیوم به صورت یک روز در میان به آب اضافه شده تا پس از ۷ روز میزبان آمونیای کل به نزدیک صفر و میزان نیتریت به حدود ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر و میزان نیترات به حدود ۱ میلی‌گرم در لیتر رسید در طی این یک هفته هوادهی شدید انجام شد، به طوری که میزان اکسیژن آب به زیر ۴ میلی‌گرم در لیتر نرسد و فلاک تولیدی نیز رسوب ننماید (Tan et al. 2014). در طول این مدت میزان فلاک تولیدی نیز به صورت یک روز در میان بررسی گردید و متناسب با آن منبع کربنه ملاس اضافه می‌شد. حجم بایوفلاک تولیدی (Floc Valume index) نیز بعد از این مدت به میزان ۳ تا ۵ میلی‌لیتر در لیتر آب رسید، با برقراری سیستم کامل فلاک، ماهی‌ها به آکواریوم اضافه شدند و در طول دوره‌ی تحقیق نیز میزان منبع کربنه اضافه شده به هر تیمار بر اساس میزان خوراک مصرفی و نیز میزان آمونیاک کل و نیتریت بر اساس فرمول (Avnimelech et al. 2012). محاسبه و اضافه گردید. دمای آب، میزان اکسیژن محلول (DO)، قابلیت هدایت الکتریکی (EC) آب بر اساس واحد میکروزیمنس در سانتی‌متر مربع (µs/cm2)، میزان CO2 بر اساس استاندارد (APHA 1998) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر و روش Phenolphthalein و بر اساس واحد (Mg/L) اندازه‌گیری شد. میزان pH نیز با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتال اندازه‌گیری شد. میزان مصرف بیولوژیکی اکسیژن (BOD Biological Oxygen Demand) بر اساس روش استاندارد APHA اندازه‌گیری شد (Strickland 1972). آمونیاک کل (TAN) با استفاده از روش یون سنجی و استفاده از دستگاه (Metrohm pH/Ion meter) و روش نسلر اندازه‌گیری و ثبت شد. میزان NO2، NO3 بر اساس روش استاندارد متد (APHA) و با استفاده از دستگاه الایزا ریدرشرکت Biotek در هفته‌ی اول به صورت یک روز در میان و در طول سه ماه تحقیق به طور هفتگی اندازه‌گیری شدند. مواد جامد معلق (Total Solid Sediment)، با استفاده از روش فیلتر کردن مواد معلق، خشک کردن در دمای ۱۰۳°c تا رسیدن به یک وزن ثابت به صورت هفتگی در طول تحقیق اندازه‌گیری شد (Greenberg et al. 1992). مقدار مواد آلی موجود در مواد معلق آب (VSS) (volatile suspended solids) با روش استاندارد و بر اساس گرم در لیتر به صورت هفتگی محاسبه گردید (Greenberg et al. 1992). کدورت آب هر تیمار نیز با استفاده از دستگاه کدورت سنج شرکت WTW آلمان به صورت هفتگی اندازه‌گیری شد (Ray et al. 2011). برای تعیین FVI: Floc volume Index (ml/L) از روش توصیه شده توسط Avnimelech در سال ۱۹۹۹ و با استفاده از قیف ایمهوف و ترسیب آب سیستم پرورشی به مدت ۲۰ دقیقه استفاده شد و این اندازه‌گیری به صورت یک روز در میان انجام گرفت. هر دو روز یک بار نمونه‌های آب از هر تیمار جمع‌آوری شده و نمونه‌های بایوفلاک با استفاده از قیف ایمهوف به مدت ۲۰ دقیقه ترسیب داده شدند و سپس جمع‌آوری شده و با محلول فرمالین بافر ۴ درصد تثبیت شدند (Thompson et al. 2002). در ابتدا میکروارگانیسم‌های موجود در بایوفلاک با استفاده از میکروسکوپ نوری از لحاظ کمی مورد بررسی قرار گرفتند (Barnes 1963, Wimpenny 1966). در ادامه اجزای آن در زیر میکروسکوپ نوری فاز کنتراست مورد

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی قرار گرفت. در این بررسی موجودات تک‌یاخته-ای، باکتری‌ها، پریاختهای‌ها و سایر ارگانیزم‌های موجود در بیوفلاک در حداقل ۱۰ فیلد که به طور تصادفی انتخاب شدند، شمارش و دسته‌بندی شدند (Azim and little 2008, Donner 1966, Nuffield advanced science 1970, Patterson and hedley 1992). همچنین فراوانی زئوپلانکتون‌ها و میکروارگانیزم‌های نسبتاً بزرگ مثل پروتوزوآها، کوپه پداها و سایرارگانیزم‌ها نیز تعیین شد. نمونه‌های بایوفلاک برای آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی از هر تیمار به صورت یک روز در میان جمع‌آوری شدند (Emerenciano et al. 2013). نمونه‌های بایوفلاک جمع-آوری شده از هر تیمار پس از خشک کردن در دمای ۱۰۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به صورت جداگانه در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شده و در انتهای دوره روی مجموع نمونه‌های جمع‌آوری شده از هر تیمار آنالیز تقریبی میزان پروتئین کل، میزان چربی، میزان ماده‌ی خشک و میزان خاکستر فلاک بر اساس روش استاندارد AOAC(1990) انجام گرفت. برای این منظور، در ابتدا میانه و انتهای دوره، نمونه‌های بایوفلاک جمع‌آوری شده از قیف ایمهف، ابتدا به مدت ۴ ساعت با محلول گلوتارآلدهید ۲/۵ درصد در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد فیکس شدند، برای فیکس نمودن چربی‌ها، نمونه در اسمیوم تترااکساید ۱ درصد به مدت۶۰ دقیقه قرار داده شد. سپس نمونه سه مرتبه با آب دوبار تقطیر شستشو شده و به صورت سریالی با استفاده از غلظت‌های افزایشی الکل (۲۵ درصد، ۵۰ درصد، ۷۵ درصد و ۹۶ درصد) آبگیری نمونه انجام شده و پس از آن با چسب جامد بر روی فویل‌های آلومینیومی صاف و بدون چروک چسبانده شد نمونه با پوشش تک لایه‌ی طلا پوشش داده شد و در نهایت توسط میکروسکوپ الکترونی اسکنینگ (روبشی) SEM مدل (model: JEOL JSM-5800) با بزرگ‌نمایی بین ۱۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند (Mahanand et al. 2013). شمارش کلی باکتری‌های هتروتروف آب در تیمارهای مورد بررسی به صورت هفتگی بررسی شدند. نمونه‌ی آب از هر تیمار تهیه شده، بعد از هموژن نمودن و تهیه‌ی رقت‌های متوالی، بر مبنای ده، کشت در محیط تریپتیک سوی آگار TSA انجام و تعداد باکتری‌های هتروتروف بر اساس CFU/ml مشخص شدند. برای این منظور از دستگاه گوارش ماهیان (۶ قطعه از هر تیمار)، در روزهای صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ نمونه‌گیری به عمل آمد. سپس محتویات یک سوم انتهای روده خارج شده و بعد از وزن کردن در ده برابر حجم نمونه بافر فسفات استریل رقیق گردید. در ادامه رقت‌های متوالی بر مبنای ده از نمونه‌ها تهیه شد. نمونه‌ها در دو محیط کشت عمومی TSA برای شمارش تعداد کل باکتری‌های هوازی و در محیط کشت انتخابی لاکتوباسیل‌های بی‌هوازی MRS[1] آگار در شرایط بی-هوازی و دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، برای تعیین تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک مثبت کشت داده شدند و تعداد باکتری‌ها بر اساس CFU/ml گزارش شدند. نسبت باکتری‌های اسید لاکتیک مثبت به شمارش تعداد کل باکتری‌های هتروتروف نیز مقایسه گردیدند.

نتایج

همان طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود در بین شاخص‌های بیوشیمیایی آب میزان آمونیاک کل در بین تیمارهای مورد بررسی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$). میزان NO2 به طور معنی‌داری در تمام تیمارهای فلاک نسبت به تیمار کنترل کاهش نشان داد ($P<0/05$). در همین راستا کاهش معنی‌دار متوسط pH در تیمارهای فلاک نسبت به تیمار کنترل مشاهده گردید ($P<0/05$). البته تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای فلاک در میزان pH مشاهده نشد ($P>0/05$). همچنین برخلاف موارد فوق در مورد میزان NO3 و CO2 افزایش معنی‌دار غلظت نسبت به تیمار شاهد در تمام تیمارهای فلاک مشاهده گردید ($P<0/05$). البته تفاوتی در بین تیمارهای

1- Man, Rogosa and Sharpe Agar

www.SID.ir

Archive of SID

فلاک در این دو شاخص مشاهده نشد (P>۰/۰۵). در مورد BOD5 و کدورت همان طور که انتظار می‌رفت، با توجه به بار بالای مواد آلی و موجودات زنده موجود در سیستم فلاک، افزایش معنی‌دار این شاخص‌ها در تیمارهای فلاک نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید (P<۰/۰۵). در مورد BOD5 ارتباط معنی‌داری بین نسبت منبع کربنه و میزان BOD5 مشاهده شد هر چند چنین ارتباطی در مورد میزان کدورت تیمارها مشاهده نشد. در مقایسه‌ی شاخص‌های مربوط به کیفیت فلاک در سه تیمار با غلظت‌های C: N ۱۵، ۲۰ و ۲۵ نیز نتایج به صورت زیر بود:

FVI و VSS تحت تأثیر مقادیر مختلف نسبت کربن به نیتروژن در سیستم بایوفلاک قرار گرفتند (P<۰/۰۵)، به طوری که در تیمار ۱:۱۵ نسبت به دو تیمار دیگر کم‌تر بوده ولی در تیمارهای ۱:۲۰ و ۲۵:۱ تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵). میزان TSS تحت تأثیر مقادیر مختلف منبع کربنه قرار نگرفت (P>۰/۰۵) تفاوت معنی-داری بین سه تیمار بایوفلاکی مشاهده نشده هر چند افزایش نسبی در تیمار ۲۵ و ۲۰ نسبت به تیمار ۱۵ مشاهده شد.

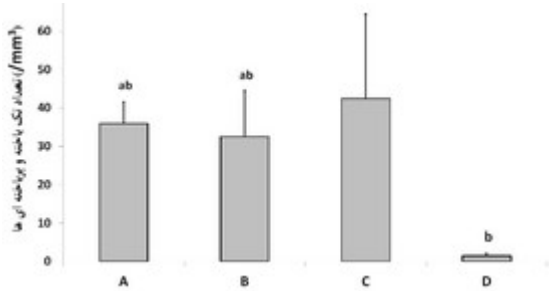
جدول ۱: فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب ثبت شده در طول ۱۲ هفته دوره‌ی پرورش

شاخص	تیمار A	تیمارB	تیمارC	تیمار کنترل D
دی اکسید کربن (mg/l)	۳۳/۶±۶/۷^{a}	۲۵/۶±۸/۲^{a}	۱۹/۷±۳/۸^{a}	۷/۵±۲/۱^{b}
pH	۶/۸۴±۰/۰۸^{b}	۶/۷۳±۰/۰۹^{b}	۶/۷۸±۰/۰۹^{b}	۷/۲۹±۰/۰۳۶^{a}
اکسیژن محلول(mg/l)	۴/۶۸±۰/۱۴	۴/۵۵±۰/۱۵	۴/۸۲±۰/۱۸	۴/۹۴±۰/۱۶
هدایت الکتریکی (µs/cm)	۲۶۹۰±۳۷/۷^{ab}	۲۸۰۴±۴۳/۴^{a}	۲۶۷۱±۲۹/۶^{b}	۲۰۴۶±۲۱/۷^{c}
حجم فلاکFVI(Ml/l)	۱۴/۲±۲/۴	۱۹/۲±۳۰/۰۲	۱۹/۸±۳/۸	۰±۰
TAN(mg/l)نیتروژن آمونیاکی کل	۱/۷۱±۰/۱۸	۲/۱۶±۰/۲۱	۲/۰۵±۰/۱۱	۱/۷۴±۰/۲۴
NO_2 (mg/l)نیتریت	۰/۰۵۹±۰/۰۲^{b}	۰/۰۸۳±۰/۰۳^{ab}	۰/۰۸۶±۰/۰۲^{ab}	۰/۱۸±۰/۰۵^{a}
NO_3 (mg/l)نیترات	۳۳/۵±۰/۰۳^{a}	۳۲/۴±۱/۸^{a}	۳۴/۸±۱/۵^{a}	۱۱/۸±۲/۷^{b}
کدورت(NTU)	۱۲۶/۲±۲۳/۲۹^{a}	۱۵۹±۲۸/۷^{a}	۱۵۵±۲۶/۰۱^{a}	۲۵/۸±۷/۹۳^{b}
BOD_5(mg/ox)	۹۶/۲۵±۱۲/۳ ^{ab}	۱۳۱±۱۰/۲^{bc}	۱۴۹/۷±۲۲/۲^{c}	۵۷/۷±۱۷/۲^{a}
مواد معلق (g/l)	۰/۳۱±۰/۰۲۱^{a}	۰/۴۴±۰/۰۳۷^{a}	۰/۴۷±۰/۰۵^{a}	۰^{b}
VSSمواد آلی (g/l)	۰/۱۷±۰/۰۱۵^{a}	۰/۲۵±۰/۰۲۳^{a}	۰/۲۷±۰/۰۴۴^{a}	۰^{b}

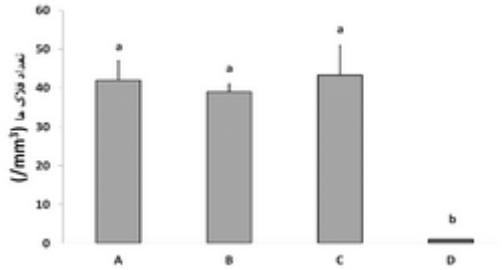
به طور کلی نتایج این بررسی نشان داد که تعداد میکروارگانیزم‌ها و فلاک‌ها در تیمارهای بایوفلاک بسیار بیش‌تر از تیمار کنترل بوده و اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۵) (شکل ۱ و ۲)، این در حالی بود که بین تیمارهای بایوفلاک از نظر تعداد میکروارگانیزم‌ها و فلاک‌ها هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱: مقایسه‌ی میانگین تعداد تک‌یاخته‌ای‌ها و پریاخته‌ای‌های موجود در آب (داده‌ها بر اساس Mean±SD ارائه شده است،



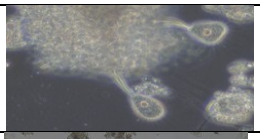
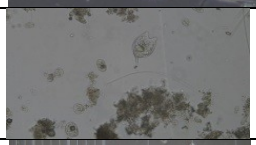
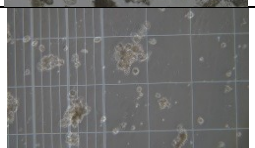
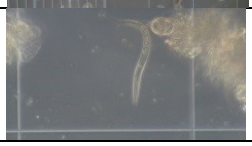
شکل ۲: مقایسه میانگین تعداد فلاک‌های موجود در آب (داده‌ها بر اساس Mean±SD ارائه شده است.

*** توضیح مربوطه به شکل ۱ و ۲: حروف غیرهمنام نشان دهنده‌ی تفاوت در سطح P<۰/۰۵ می‌باشد. A: تیمار بایوفلاک با نسبت C: N برابر ۱۵:۱، B: تیمار بایوفلاک با نسبت C: N برابر ۲۰:۱، C: تیمار بایوفلاک با نسبت C: N برابر ۲۵:۱، D: تیمار شاهد**

در بررسی حاضر از میان فراوان‌ترین گروه‌های مشاهده شده در سیستم بایوفلاک می‌توان به پروتوزوا یا تک‌یاخته‌ای‌های مژه‌دار اشاره کرد که دو جنس Cyclidium spp و تترا هایمنا (*Tetrahymena*) در سیستم غالب‌ترین بودند. از دیگر میکروارگانیزم‌های غالب در سیستم روتیفرها بودند که سه جنس از این‌ها فراوان‌ترین بودند و در اکثر نمونه‌ها بوفور مشاهده شدند (جدول ۲)، که شامل *Trichocera*, *Asplanchna*, Lecane spp و Polyarthra spp بودند. همچنین جنس‌هایی از پرتاران هم در این سیستم یافت شدند.

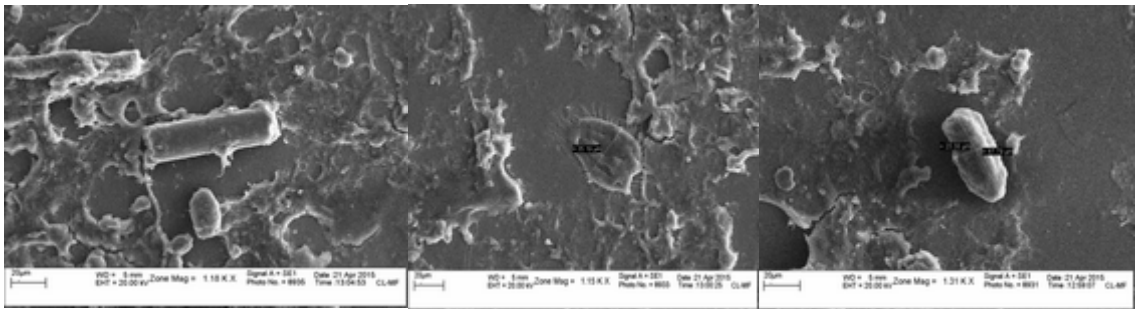
در عکس‌هایی که توسط میکروسکوپ الکترونی گرفته شد (شکل ۳) ساختار میکروارگانیزم‌ها و ساختمان بایوفلاک با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ مشخص شد. در این تصاویر جزئیات بیش‌تر ساختار بایوفلاک از قبیل شکل و اندازه‌ی اجزای تشکیل دهنده‌ی فلاک، جزئیات میکروارگانیسم‌ها از قبیل اجزای سلولی، اندام‌های حرکتی و ویژگی‌های تشخیصی مورد مطالعه قرار گرفت. محدوده‌ی میکرو ارگانیزم‌های مشاهده شده از ۲۰ تا ۲۰۰ میکرون بود.

جدول ۲: فراوان‌ترین موجودات تک‌یاخته‌ای و پریاخته‌ای مشاهده شده با میکروسکوپ فاز کنتراست در تیمارهای بایوفلاک

گروه جانوری	نام جنس	تصویر
مژه‌دار مکنده	Tokophrya spp Vorticella	
گردان‌تنان (روتیفرها)	, Lecane spp Trichocera, Asplanchna	
مژه‌داران	Cyclidium spp	
مژه‌داران هولوتریشیا	Tetrahymena spp	

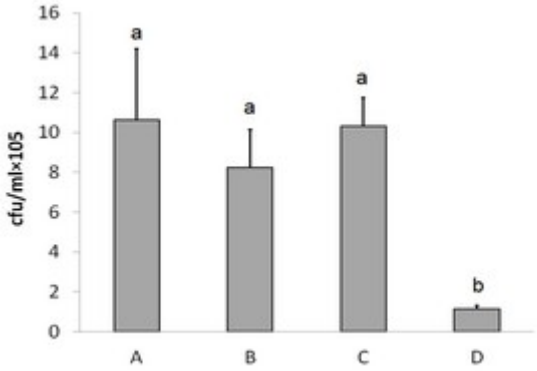
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳: عکس‌های میکروسکوپ الکترونی از توده‌های بایوفلاک با بزرگنمایی ۱۰۰۰۰

نتایج بررسی و شمارش باکتری‌های آب در این آزمایش نشان داد که تیمارهای بایوفلاک (A, B, C) که به ترتیب دارای نسبت‌های C:N ۱۵:۱، ۲۰:۱ و ۲۵:۱ بودند بیش‌ترین رشد باکتری‌ها را در مقایسه با تیمار شاهد داشتند و اختلاف معنی‌داری در بین آن‌ها مشاهده شد (P<۰/۰۵) ولی در بین تیمارهای بایوفلاک با یکدیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۴، P>۰/۰۵)



شکل ۴: مقایسه‌ی میانگین تعداد کل باکتری‌های موجود در آب (داده‌ها بر اساس Mean±SE ارائه شده است.
حروف غیرهمنام نشان دهنده‌ی تفاوت در سطح P<۰/۰۵ می‌باشد.
A: تیمار بایوفلاک با نسبت C: N برابر ۱۵:۱، B: تیمار بایوفلاک با نسبت C: N برابر ۲۰:۱

نتایج حاصل از آنالیز بیوشیمیایی بایوفلاک در این آزمایش نشان داد که میزان پروتئین در بین تیمارهای مختلف با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (جدول ۳، P>۰/۰۵). از نظر میزان چربی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد و تیمار A بیش‌ترین میزان چربی را نشان داد ولی دو تیمار دیگر تفاوت معنی‌داری از لحاظ میزان چربی نداشتند (P>۰/۰۵). همچنین از نظر درصد خاکستر هم بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد و تیمار C که بیش‌ترین نسبت کربن را داشت دارای بیش‌ترین میزان خاکستر بود. تیمار A که کم‌ترین نسبت کربن به نیتروژن را داشت حداقل خاکستر در آن مشاهده شد (P>۰/۰۵).

جدول ۳: مقایسه‌ی میانگین آنالیز بیوشیمیایی فلاک‌ها (داده‌ها بر اساس Mean±SE ارائه شده است.
حروف غیرهمنام نشان‌دهنده‌ی تفاوت در سطح P<0.05 می‌باشد.
A: تیمار بایوفلاک با نسبت C: N برابر ۱۵:۱ ، B: تیمار بایوفلاک با نسبت C: N برابر ۲۰:۱

شاخص ٪	تیمار A	تیمار B	تیمار C
پروتئین	۲۹±۰/۶	۲۹/۲±۱/۶	۲۷/۱±۱/۴
چربی	^{a}۲/۱±۰/۱	^{b}۱/۵±۰/۱	^{c}۱/۲۷±۰/۰۶
خاکستر	^{c} ۳۵/۸±۰/۰۹	^{b}۳۶/۵۳±۰/۰۹	^{a}۳۷/۷±۰/۱

بحث

در سیستم بایوفلاک، فلاک‌های تولیدی در آب علاوه بر حذف ترکیبات ازته، می‌توانند به عنوان غذای با کیفیت برای گونه‌هایی که امکان تغذیه از فلاک‌ها را داشته باشند، مورد استفاده قرار بگیرد. از طرفی حضور گروهای مختلف و متنوع باکتری‌ها به خصوص برخی گونه‌های اسید لاکتیک و لاکتوباسیلوس‌ها در سیستم بایوفلاک نشان داده است که این سیستم به عنوان پتانسیل پروبیوتیکی، منبع خوبی برای پرورش آبزیان است (Azim and little

www.SID.ir

Archive of SID

2008, Crab et al. 2010, Kuhn et al. 2009). استفاده از این سیستم برای همه‌ی گونه‌ها مناسب نیست، گونه‌ی ماهی باید امکان تغذیه از فلاک و استعداد تراکم‌پذیری، تحمل کدورت بالا و تحمل ترکیبات ازته‌ی بالا را داشته باشد (Wang et al. 2015)، از آن جا که ماهی کپور دارای ویژگی‌های مناسب این سیستم است در این تحقیق نشان داده شد که شرایط بیوشیمیایی آب و کیفیت فلاک تولیدی امکان پرورش این گونه با این سیستم را دارا است. از مهم‌ترین فاکتورهایی که باید در سیستم بایوفلاک همانند سایر سیستم‌های متراکم و فوق متراکم به آن توجه داشت اکسیژن، دما، pH و ترکیبات ازته‌ی آب می‌باشد.

نیاز اکسیژنی این سیستم بسیار بالاست، و در این تحقیق نیز اکسیژن در تیمارهای بایوفلاک نسبت به گروه شاهد به علت افزایش تراکم میکروارگانیزم‌ها مصرف بیش‌تری داشت و همچنین میزان BOD پنج روزه هم در تیمارهای بایوفلاک افزایش چشم‌گیری را نشان داد که این نتایج گویای تقاضای بالای اکسیژن در این تیمارها می‌باشد ولی با این وجود اکسیژن محلول در همه‌ی تیمارها با استفاده از هوادهی مناسب و کنترل دائمی در محدوده‌ی مناسب حفظ شد. در بررسی که Browdy و همکاران در سال ۲۰۰۱ بر روی سیستم پرورش میگو با سیستم بدون تعویض آب انجام دادند، گزارش کردند که تنفس میکروارگانیزم‌های موجود در سیستم می‌تواند تا ۶۰ درصد مصرف اکسیژن را به خود اختصاص دهد و این تأییدی است بر افزایش نرخ تنفس در سیستم بایوفلاک. همچنین در اندازه‌گیری‌هایی که Azim و Little در سال ۲۰۰۸ در میزان اکسیژن در سیستم بایوفلاک گزارش کردند که بین ۳ تا ۷/۵ در نوسان بود، که نسبت به تحقیق جاری که میزان اکسیژن در محدوده‌ی ۴/۵ تا ۴/۹۵ میلی‌گرم در لیتر بود تفاوت قابل توجهی دارد. در توجیه اقتصادی این روش نیز یکی از هزینه‌ها، مصرف انرژی الکتریکی برای ایجاد هوادهی و معلق نگه داشتن فلاک است. در این بررسی همانند سایر مطالعات انجام شده در سیستم بایوفلاک تمایل شدید pH به اسیدی شدن مشاهده شد (محدوده‌ی ۶/۷ تا ۷/۳) که کاهش pH با نسبت نیتروژن به کربن در تیمارها متناسب بود، بدین معنا که هر چه فلاک بیش‌تری تولید شود، تراکم باکتری‌ها بیش‌تر شده و تولید CO2 بیش‌تر می‌شود که با آب تشکیل اسید کربنیک را داده و کاهش pH را باعث خواهد شد. به همین منظور در این تحقیق در تیمارهایی که pH به زیر ۵ می‌رسید، برای جلوگیری از کاهش بیش از حد pH از بیکربنات سدیم (۰/۲ گرم در لیتر) و یا کربنات کلسیم (۰/۱ گرم در لیتر) استفاده شد تا ظرفیت بافری آب را حفظ کرده و مانع افت شدید pH گردد (Adhikari 2007). pH ایده‌ال آب کپور ماهیان ۶/۵ تا ۸/۵ می‌باشد (Azim et al. 2008). در تحقیقات مختلف روی این سیستم در گونه‌های متعدد ماهی، کاهش pH نسبت به گروه کنترل گزارش شده است (Crab et al. 2009). همین کاهش pH به کاهش سمیت برخی مواد محلول سمی آب به ویژه آمونیاک کمک می‌نماید و تعادل بین آمونیاک و یون آمونیوم را به سمت تولید یون آمونیوم که سمیت بسیار کم‌تری از آمونیاک دارد متمایل می‌نماید.

محدوده‌ی دمایی مناسب برای رشد کپور ماهیان از ۲۴ تا ۳۲ درجه‌ی سانتی‌گراد می‌باشد (Banerjea 1967, Adhikari 2006) ولی از آن جایی که اندازه و تراکم فلاک‌ها در سیستم بایوفلاک وابسته به دما می‌باشد و افزایش بیش از حد دما باعث رشد بیش از حد فلاک‌ها می‌شود و این تراکم و رشد اضافی می‌تواند باعث افزایش کدورت و کاهش اکسیژن شود. از این رو بهترین دما برای سیستم بایوفلاک در کپور ۲۶ تا ۲۸ درجه‌ی سانتی‌گراد می‌باشد، که در این آزمایش با استفاده از بخاری‌های ترموستاتیک دما در حد بین ۲۵ تا ۲۷ درجه ثابت نگه داشته شد. در تحقیقات روی سیستم بایوفلاک در ماهی اثر دما به کرات گزارش شده است (Crab et al. 2009, Kuhn et al. 2009) البته دمای تا ۳۰ درجه در ماهی تیلاپیا و گربه ماهی در این سیستم گزارش شده است (Widanari et al. 2012, Schrader et al. 2011).

www.SID.ir

Archive of SID

از فاکتورهای بحرانی دیگری که در هر سیستم متراکم و فوق متراکمی دارای اهمیت است، ترکیبات ازته سیستم می‌باشد و نتایج نشان دادند که میزان آمونیاک کل یا TAN که هم شامل یون آمونیوم و آمونیاک می‌باشد در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند البته باید توجه داشت که در تیمارهای بایوفلاک تعویض آب روزانه وجود نداشت که علت می‌تواند ناشی از مصرف آمونیاک توسط باکتری‌های هتروتروف موجود در سیستم باشد. یکی از استراتژی‌های ایجاد سیستم بایوفلاک کمک به برقراری همین تعادل می‌باشد که از طریق تحریک رشد و متابولیسم باکتری‌های هتروتروف با اضافه کردن منبع کربن آلی اتفاق می‌افتد (Ebeling et al. 2006). در سیستم بایوفلاک تبدیل ترکیبات نیتروژنی سمی خیلی کارآمدتر است به دلیل این که این فرایند توسط باکتری-های هتروتروف که به طور اصلی در ارتباط با جنس باسیلوس و پزودوموناس هستند اتفاق می‌افتد (Daims et al. 2001). در بررسی که Widanarni و همکاران در سال ۲۰۱۲ در همین راستا انجام دادند مشاهده کردند که میزان TAN در تیمارهای بایوفلاک (با نسبت کربن به نیتروژن ۱:۱۵) در طول دوره‌ی پرورش در زیر ۱/۱ میلی‌گرم در لیتر باقی ماند و در تیمارهای کنترل در برخی هفته‌ها تا ۳ هم رسید. این تفاوت می‌تواند به علت تعویض آب گروه کنترل در این تحقیق و عدم تعویض آب در تیمار کنترل در تحقیق Widanarni باشد. همچنین یافته‌های آنان نشان داد که میزان تجمع NO2 در تیمارهای کنترل به طور میانگین بیش‌تر از گروه بایوفلاک بود و میزان نیترات در همه تیمارها تجمع یافت ولی با یکدیگر تفاوت معنی-داری نشان ندادند. در مطالعه‌ی دیگری که Ray و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی سیستم بایوفلاک انجام دادند و ارتباط بین TAN، نیتریت، نیترات و میزان مواد معلق را بررسی کردند. آن‌ها افزایش میزان مواد معلق را باعث کاهش تراکم مواد ازته سمی دانستند (Hamlin et al. 2008). در مطالعه‌ای که Luo و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام دادند مشاهده کردند که اضافه نمودن کربن آلی در بازدارندگی رشد باکتری‌های عامل نیتریفیکاسیون منجر نمی‌شود، ولی منبع کربنه با تحریک باکتری‌های هتروتروف باعث رشد سریع این باکتری‌ها می‌شود و در نتیجه باعث ایجاد رقابت بر سر اکسیژن، فضا، و مواد مغذی با باکتری‌های عامل نیتریفیکاسیون می‌شوند و مطالعات نشان داده باکتری‌های هتروتروف همیشه پیروز این رقابت هستند. یکی دیگر از فاکتورهایی که در سیستم‌های متراکم و فوق متراکم دارای اهمیت می‌باشند میزان مواد معلق موجود در سیستم هستند که میزان کدورت آب را تعیین می‌کنند. در این بین میزان مناسب مواد جامد معلق در سیستم پرورشی کپور ماهیان حداکثر ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد و تا ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر هم قابل تحمل می‌باشد (Avnimelech et al. 2007) و میزان اندازه‌گیری شده TSS در این آزمایش در تیمارهای بایوفلاک به طور میانگین ۴۰۰ میلی‌گرم در هر لیتر بود، در صورتی که در تیمار شاهد در حد صفر ثبت گردید. تغییرات و تنوع در میزان مواد معلق در سیستم بایوفلاک به عوامل زیادی بستگی دارد که از آن جمله می‌توان به نوع مصرف گونه از بایوفلاک، تراکم ذخیره‌سازی، نوع طراحی تانک و سیستم هوادهی و چرخش آب، جمعیت باکتریایی و ترکیب میکروارگانیزم‌ها اشاره کرد، همچنین برخی از فاکتورهای فیزیولوژیکی هم در این رابطه تأثیرگذار است (Eisma 1986, Schryver et al. 2008). ولی همان طور که در تحقیق جاری مشاهده شد افزایش میزان منبع کربنه افزایش این شاخص را در آب باعث شده است. مطالعات انجام شده توسط Emerenciano و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر روی جمعیت میکروارگانیزم-های سیستم بایوفلاک نشان دادند که فراوان‌ترین گونه‌های موجود در سیستم بایوفلاک به ترتیب سیانوباکترها، پروتوزواها، نماتودها و کوپه‌پودها بودند. همچنین در بررسی‌هایی که Azim و همکاران در سال ۲۰۰۸ بر روی میکروارگانیزم‌های سیستم بایوفلاک انجام داده‌اند نشان داد که همانند تحقیق حاضر سه گروه تک یاخته‌ای‌ها، روتیفرها و پرتاران از فراوان‌ترین گروه‌های موجود در

www.SID.ir

Archive of SID

سیستم‌های بایوفلاک هستند. رقابتی که در این جمعیت میکروارگانیزم‌ها وجود دارد باید به طور مداوم کنترل و بررسی شود به عنوان نمونه در برخی مطالعات مصرف بیش از اندازه‌ی باکتری‌ها توسط پروتوزواها و نماتودها باعث کاهش جمعیت باکتری‌های رشته‌ای در سیستم و به دنبال آن کم شدن فلاک‌ها گردید (Nagano and Decamp 2004). همچنین خود این میکروارگانیزم‌ها به خوبی به عنوان یکی از منابع غذای زنده برای گونه‌های پرورشی شناخته شده‌اند (Balesster et al. 2010). در بررسی که Mahanand و همکاران در سال ۲۰۱۳ روی مورفولوژی اجزای بایوفلاک با استفاده از میکروسکوپ SEM انجام دادند مشاهده کردند که دامنه‌ی وسیعی از میکروارگانیزم-ها از ۱۰ تا ۱۰۰ میکرون از باکتری‌های باسیلی شکل تا تک یاخته‌ای‌های مختلف در سیستم وجود دارد که با بررسی‌های حاضر در این تحقیق که توسط میکروسکوپ الکترونی SEM انجام شد مشابهت دارد.

در مطالعاتی که Ebelling و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی سیستم بایوفلاک انجام دادند نشان دادند که بالا بردن نسبت کربن به نیتروژن در این سیستم باعث افزایش تعداد باکتری‌های هتروتروف موجود در سیستم می‌شود که با یافته‌های بررسی حاضر مطابقت داشت. در خیلی از سیستم‌های آبزی‌پروری بسیاری از گروهای میکروبی رشد می‌کنند، از جمله آن‌ها باکتری‌ها، تک‌یاخته‌ای‌ها و قارچ‌ها می‌باشند که می‌توانند در یک مسیر مثبت و مؤثر در تبدیل مواد آلی و حذف یک سری ترکیبات زائد و باقیمانده در سیستم عمل کنند و همچنین به عنوان یک منبع بایوماس میکروبی موجود برای تغذیه ارگانیزم‌های بزرگ‌تر باشند (De scryver et al. 2008)، در بررسی که برخی محققان در پروفایل میکروبی سیستم بایوفلاک انجام دادند مشاهده کردند که سیانوباکتری‌های رشته‌ای می‌توانند در این سیستم با برخی دیگر از ارگانیزم‌ها رقابت کنند و تأثیر بازدارندگی در رشد و تکثیر سایر باکتری‌ها بگذارند (Hargreaves 2006) . از طرفی دیگر باکتری‌های کوچکی نظیر کوکسی‌ها به نظر می‌رسد که بتوانند به راحتی از مواد مغذی استفاده کنند و با توجه به کوچک بودنشان و افزایش نسبت سطح‌شان به حجم راحت‌تر در این شرایط غالب شوند (Suita 2009) . باکتری‌های هتروتروف در اکثر اکوسیستم‌ها فراوان هستند، به خصوص در اکوسیستم‌های آبی این باکتری‌ها خیلی تطبیق‌پذیر با محیط‌های گوناگون هستند. همچنین این باکتری‌ها در مسیر مصرف سوبستراها خیلی مؤثرتر هستند و تنوع فیزیولوژیکی بالایی دارند (Miravet 2003). یکی از مزایای این روش پرورش تراکم بالای میکروارگانیزم‌ها در ستون آب است که فرصت رشد و تکثیر و چسبیدن به مخاط ماهی را از عوامل بیماری‌زا می‌گیرند و القای بیماری و انتشار آن تحت‌الشعاع قرار گرفته و در برخی منابع این روش به عنوان یکی از روش‌های کشت ماهی در مناطق آلوده به بیماری‌های عفونی ذکر شده است.

در مطالعه‌ای که Mahanand و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام دادند نتایج حاصل از آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی فلاک‌ها از قبیل پروتئین، چربی، فیبر و خاکستر به ترتیب ۳۵، ۱، ۱۵ و ۱۵ درصد بر اساس ماده‌ی خشک بود و غیر از فیبر و خاکستر که میزان بالایی داشت سایر اجزای بایوفلاک از نظر ارزش غذایی برای پرورش کپور ماهیان مناسب بودند. در نتیجه می‌توان به عنوان یک مکمل غذایی در کنار جیره‌ی غذایی روزانه آن را محسوب کرد و یا حتی از میزان غذای اصلی کم کرد تا هزینه‌های تولید کاهش یابد (De Silva and Anderson 1995). Ray و همکارانش در سال ۲۰۱۰ روی آنالیز بیوشیمیایی بایوفلاک مطالعاتی را انجام دادند که در آن آزمایش میزان پروتئین و چربی اندازه‌گیری شده نزدیک به میزان‌های به دست آمده در بررسی حاضر بود. همچنین در مطالعه‌ای که Azim و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام دادند مشاهده کردند که کیفیت بیوشیمیایی بایوفلاک در سیستم‌های in-situ بهتر از سیستم‌های بایوفلاک رئاکتوری (ex-situ) که در آن بایوفلاک در یک رئاکتور مستقل تولید می‌شد و سپس به سیستم اضافه می‌شد، نتیجه می‌دهد. همچنین یافته‌های Emerenciano و همکاران در سال ۲۰۱۱ در

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه‌گیری ترکیبات بیوشیمیایی بایوفلاک با نتایج به دست آمده در این بررسی مطابقت داشت. برخی از فاکتورهای مهم در طول پرورش می‌تواند روی کیفیت اجزای بیوشیمیایی فلاک‌ها مؤثر باشد از آن جمله می‌توان به شوری آب (Ekasari 2010)، منبع کربن (Crab et al. 2010, Ekasari et al. 2010)، تغییرات در جوامع میکروارگانیزم‌ها (Ray et al. 2010)، منبع نوری و تراکم (Coyle et al. 2011) اشاره کرد.

به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که اولاً سیستم بایوفلاک با نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن به کار رفته در این تحقیق در پرورش متراکم ماهی کپور معمولی (۴۰ کیلو در متر مکعب) در تانک قابل انجام است و نسبت ۱ به ۲۰ ازت به کربن در مجموع بهترین نسبت در این تحقیق بود. این سیستم قادر به کاهش قابل توجه مصرف آب بدون کاهش کیفیت آب است و از طرفی از آن جا که کپور از فلاک تغذیه می‌نماید و کیفیت بیوفلاک تولید شده در این تحقیق کیفیت مناسبی داشت، می‌توان بهبود شاخص‌های رشد ماهی در این سیستم را انتظار داشت.

منابع

Adhikari, S.; Chaurasia, V.S.; Naqvi, A.A. and Pillai, B.R. (2007). Survival and growth of *Macrobranchium rosenbergii* (de Man) juvenile in relation to calcium and bicarbonate alkainity. Turk. Journal of Fisheries and Aquattic Science, 7: 23-26.

APHA, (1998). Standard Methods for the Examination of the Water and Wastewater, 22nd ed. American Public Health Association,Washington, DC. Pp: 22-34.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1990). Official methods of analysis, 15th ed. Gaithersburg, MD: AOAC Press. Pp: 251-253.

Avnimelech, Y. (2007). Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. Aquaculture, 264: 140-147.

Avnimelech, Y. (1999). Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. Aquaculture 176: 227-235.

Azim, M.E.; Little, D.C. and Bron, J.E. (2008). Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C:N ratio in feed and the implications for fish culture. Bioresource Technology, 99: 3590-3599.

Ballester, E.L.C.; Abreu, P.C.; Cavalli, R.O.; Emerenciano, M.; Abreu, L.and Wasielesky, 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. Aquaculture Nutrition, 16 (2): 163-172.

Ballester, E.L.C.; Wasielesky, J.R.; Cavalli, R.O. and Abreu, P.C. (2007). Nursery of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in cages with artificial substrates: biofilm composition and shrimp performance. Aquaculture 269, 355-362.

Banerjea, S.M. (1967). Water quality and soil condition of fish ponds in some states of India in relation to fish production. Indian Journal of Fish,14(1&2): 115-144.

Barnes, R.D. (1963). Invertebrate Zoology. W. B. Saunders, London, Pp: 107-152.

Burford, M.A.; Thompson, P.J.; Mc Intosh, P.R.; Bauman, R.H. and Pearson, D.C. (2003). The contribution of flocculated material to shrimp, *Litopenaeus vannamei* nutrition in a high-intensity,zero-exchange system. Aquaculture., 232: 525-537.

Browdy, C.L.; Bratvold, D.; Stokes, A.D. and McIntosh, R.P. (2001). Perspectives on theapplication of closed shrimp culture systems. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, Pp: 20-34.

Coyle, S.D.; Bright, L.A.; Wood, D.R.; Neal, R.S. and Tidwell, J.H. (2011). Performance of Pacific White Shrimp, Litopenaeus vannamei, reared in zero-exchange tank systems exposed to different light sources and intensities. Journal of World Aquaculture Society, 42: 687-695.

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: 559-567.

Craig, S. and Helfrich, L.A. (2002). Understanding Fish Nutrition, Feeds and Feeding (Publication

www.SID.ir

Archive of SID

420–256). Virginia Cooperative Extension, Yorktown (Virginia). 4pp.

Daims, H.; Nielsen, J.L.; Nielsen, P.H.; Schleifer, K.H. and Wagner, M. (2001). In situ characterization of Nitrospira-like nitrite-oxidizing bacteria active in wastewater treatment plants. Applied and Environmental Microbiology, 67: 5273-5284.

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.

De Silva, S.S. and Anderson, T. (1995). Fish Nutrition in aquaculture. London, UK: Chapman and Hall. Pp: 220-236.

Donner, J. (1966). *Rotifers*. Frederick Warne & Go Ltd.,London. Translated and adapted by H.G.S. Wright.

Ebeling, J.M.; Timmons, M.B. and Bisogni, J.J. (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. Aquaculture 257, 346-358.

Eisma, D. (1986). Flocculation and deflocculation of suspended matter in estuaries. Netherlands Journal of Sea Research, 20: 183-199.

Ekasari, J.; Crab, R. and Verstraete, W. (2010). Primary nutritional content of bio-flocs cultured with different organic carbon sources and salinity. HAYATI Journal of Biosciences, 17 (3): 125-130.

Emerenciano, M.; Ballester, E.L.C.; Cavalli, R.O. and Wasielesky, W. (2013). Effect of biofloc technology (BFT) on the early postlarval stage of pink shrimp Farfantepenaeus paulensis: growth performance, floc composition and salinity stress tolerance. Aquaculture international, 19: 891-901.

Greenberg, A.F.; Clescerl, L.S. and Eaton, A.D. (1992). Standard methods for the examination of water and wastewater. 18th ed. Am. PublicHealth Assoc., Washington, DC. Pp: 21-34.

Hamlin, H.J.; Michaels, J.T.; Beaulaton, C.M.; Graham, W.F.; Dutt, W.; Steinbach, P. et al. (2008). Comparing denitrification rates and carbon sources in commercial scale upflow denitrification biological filters in aquaculture. Aquacultural Engineering, 38: 79-92.

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

Hargreaves, J.A. (2013). Biofloc Production System for Aquaculture. Southern RegionalAquaculture Center (SRAC) Publication No. 4503.

Horvath, L.; Tamas, G.; Seagrave, C. (2002). Carp and pond fish culture. Fishing newa books. P: 185.

Kuhn, D.D.; Boardman, G.D.; Craig, S.R.; McLean, E.; Flick, Jr., G.J. (2009). Biological treatment of fish wastewater to generate microbial flocs for shrimp culture. Abstract, World Aquaculture 2007. World Aquaculture Society, Baton Rouge, San Antonio, Texas, USA.

Luo, Guo-zhi, Avnimelech, Y.; Pana, Yun-feng and Tan, Hong-xin (2013). Inorganic nitrogen dynamics in sequencing batch reactors using biofloc technology to treat aquaculture sludge. Aquaculture Engineering, 52; pp. 73-79.

Mahanand, S.S.; Moulick, S. and Rao, P.S. (2013). Water quality and growth of Rohu, Labeo rohita, in a biofloc system. Journal of applied aquaculture, 25: 121-131.

McIntosh, R.P. (2000). Changing paradigms in shrimp farming: I. General description. Global Aquaculture Advocate, 2: 40-47.

Miravetand, H.S. (2003). A new species of *Typhlocirolana* (Isopoda Cirolanidae) from the Ullal de la Rainbla de Miravet, Spain. Zootaxa, 287, 1-6.

Nagano, N. and Decamp, O. (2004). Ingestion of a ciliated protozoa by first-feeding larval stage of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone). Aquaculture Research, 35: 516-518.

Patterson, D.J. and Hedley, S. (1992). Free-Living Freshwater Protozoa. A Colour Guide. Wolfe Publishing Ltd, Aylesbury, England. Pp: 158-205.

Ray, A.J.; Seaborn, G.; Leffler, J.W.; Wilde, S.B.; Lawson, A. and Browdy, C.L. (2010). Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. Aquaculture, 310: 130-138.

Ray, A.J.; Dillon, K.S. and Lotz, J.M. (2011). Water quality dynamics and shrimp (Litopenaeus vannamei) production in intensive, mesohaline culture systems with two levels of biofloc management. Aquacultural Engineering, 45: 127-136.

Strickland, J.D.H. and Parsons, T.R. (1972). A Practical Handbook of Seawater Analysis. Fisheries Research Board of Canada, P: 167.

Schryver, P.D.; Crab, R.; Defoirdt, T.; Boon, N. and Verstraete, W. (2008). The basics of bioflocs technology: the added value for aquaculture. Aquaculture 277, 125-137.

Schrader, K.K.; Green, B.W. and Perschbacher, P.W. (2011). Development of phytoplankton communities and common off-flavors in a biofloc

www.SID.ir

Archive of SID

technology system used for the culture of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquacultural Engineering, 45: 118-126.

Sharma, A.; Sharma, K. and Sangotra, R. (2015). Biofloc culture and its utilization as feed in limited water exchange for the culture of *Labeo rohita*. Journal Of International Academic Research, 3 (2): 1-9.

Suita, S.M. (2009). The use of dextrose as a carbon source in the development of bioflour and performance of white shrimp (Litopenaeus vannamei) cultivated in a system without water renewal, Universidade Federal do Rio Grande, P: 44.

Thompson, F.L.; Abrea, P.C. and Wasielesky, W. (2002). Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. Aquaculture, 203: 263-278.

Tan, H.; Lue, G.; Gao, Q.; Wang, C.; Liu, W. and Sun, D. (2014). Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. Aquaculture 422: 1-7.

Wang, G.; Yu, E.; Xie, J.; Yu, D.; Li, Z.; Luo, W. et al. (2015). Effect of C/N ratio on water quality in zero-water exchange tanks and the biofloc supplementation in feed on the growth performance of crucian carp, Carassius auratus. Aquaculture, 443, 98-104.

Widanari, A.; Ekasari, J. and Maryam, S. (2012). Evaluation of Biofloc Technology Application on Water Quality and Production Performance of Red Tilapia *Oreochromis sp* Cultured at Different Stocking Densities. Journal of Biosciences, 2: 73-80.

Wimpenny, R.S. (1966). The plankton of the sea. Faber and Fabe, London, 426.

www.SID.ir

Archive of SID

Comparison of water quality in Biofloc system with different level of cane molasses in intensive farming of common carp (*Cyprinus carpio*)

Haghparast, M.M.[1]; Alishahi, M.[2]; Ghorbanpour, M.[3] and Shahriari, A.[4]

Received: 03.01.2017 Accepted: 04.07.2017

Abstract

In this study, biofloc system with cane Molasses as carbon source prepared with three different ratio of C:N A(15:1), B(20:1),C(25:1) and D(control) in the 100 liters tanks in triplicates with a density of 17.5 kg/m3 and various indicators of water quality and floc production were evaluated during 90 days . Water quality indices including: DO, TAN, No2, No3, pH, Hardness, Total bacterial count, total acid lactic bacteria, BOD and the rate of water exchange as and some floc quality : FVI(floc volume index),TSS, number of Microorganisms and proximate analysis of biofloc were investigated and compare among the treatments. The results showed that some water quality index were improved by using biofloc system, No2 in biofloc treatment was lower than control group ($P<0.05$) but there was no significant difference in TAN level among the groups despite the daily water exchange in control group. Water microbial assay showed that there was significant difference between biofloc and control tanks. Biochemical biofloc analysis showed that level of protein (%28.4) and lipid (%1.6) had beter quality compare to fish diet. . According to this study it can be cocluded that notonly some water biochemical factors improved in biofloc system, but also water exchange were extremely decreased and The floc quality were comparable to standard carp diet. Then this technology can be used in common carp in indoor situation. if done daily accurate monitoring this system could be useful for aquaculture species and cause of improving of cultural condition.

Key word: Biofloc, Intensive aquaculture, Water quality, Cane Molasses, *Cyprinus carpio*

1- PhD Student of Fish Health, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
3- Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
4- Associated Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
Corresponding Author: Haghparast, M.M., E-mail: Haghparast_radmard@yahoo.com

www.SID.ir