Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"
دوره هفتم، شماره اول، بهار ۹۸
http://jair.gonbad.ac.ir

تعیین سطح مناسب پروتئین جیره غذایی بچه‌ماهیان کپور معمولی *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 براساس برخی پارامترهای رشد، خون و بیوشیمیایی سرم در سیستم بیوفلاک

مهسا محمودی خوش دره‌گی*[1]، عبدالمجید حاجی‌مرادلو[2]، بهروز دستار[3]

[1]دانشجوی دکتری شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[2]استاد، گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[3]استاد، گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ ارسال: ۹۶/۲/۱۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۱۹

چکیده

مطالعه حاضر با هدف تعیین سطح مناسب پروتئین جیره غذایی بچه‌ماهی کپور معمولی (*C.carpio*) بر پایه فناوری بیوفلاک (Biofloc technology: BFT) انجام گردید. آزمایش براساس ۴ تیمار بیوفلاکی (BFT) و یک تیمار شاهد (CW) و هر تیمار با سه تکرار طراحی شد. تعداد ۴۵۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی با میانگین وزن ۰/۸±۱۷ گرم در ۱۵ مخزن فایبرگلاسی ذخیره‌سازی شدند. ماهیان در تیمارهای بیوفلاکی با جیره‌های حاوی ۲۳، ۲۷، ۳۱ و ۳۵ درصد پروتئین خام تغذیه شد. ملاس چغندر قند به‌عنوان ماده کربنی جهت توسعه بیوفلاک به آنها اضافه شد. در گروه شاهد، با آب شفاف و بدون بیوفلاک، بچه‌ماهیان از جیره با ۳۵٪ پروتئین خام تغذیه شدند. باتوجه به نتایج به‌دست آمده، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، رشد روزانه و ضریب بازدهی پروتئین در تیمار ۳۱٪-BFT و ۲۷٪-BFT به‌طور معنی‌داری از سایر تیمارها بالاتر بود. میزان پروتئین جیره اثر معنی‌داری بر برخی پارامترهای خون و بیوشیمیایی سرم (گلبولهای قرمز، گلبولهای سفید، هماتوکریت و هموگلوبین، پروتئین کل، آلبومین) در تیمارهای بیوفلاکی داشت و مقادیر آنها در تیمار ۳۵٪-BFT و ۳۱٪-BFT به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود. نتایج این تحقیق نشان داد که وقتی بچه‌ماهی کپور معمولی در سیستم بیوفلاک پرورش می‌یابد، سطح پروتئین جیره می‌تواند از ۳۵٪ به ۲۷٪ کاهش یابد بدون اینکه اثری روی نرخ بقا، رشد، ضریب تبدیل غذایی و برخی پارامترهای خون و بیوشیمیایی سرم خون داشته باشد که نشان می‌دهد بیوفلاک توسعه‌یافته می‌تواند به تغذیه پروتئینی و سلامت فیزیولوژیکی ماهی کپور معمولی کمک کند.

واژه‌های کلیدی: ***C. carpio*، سیستم بیوفلاک، عملکرد رشد، پروتئین جیره، پارامترهای خونی**

*نویسنده مسئول: mahsamahmoudi@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

مقدمه

رشد آبزی‌پروری با افزایش نرخ متوسط سالیانه ۳/۲ درصد بین سال‌های ۲۰۱۳-۱۹۶۱ که دو برابر رشد جمعیت بود، باعث افزایش سرانه در دسترس ماهی برای مصرف انسانی گردیده است (FAO, 2015). توسعه آبزی‌پروری به دلایلی از جمله کمبود منابع زمین و آب، فشار بر ذخایر دریایی جهت تولید آرد و روغن ماهی برای تهیه غذای آبزیان و مشکلات زیست‌محیطی ناشی از خروج پساب مزارع پرورش آبزیان، محدود شده است (Piedrahita, 2003)، بنابراین نیاز به روشی نوین است که توسعه آبزی‌پروری را مقرون به صرفه سازد (Avnimelech, 2006). فناوری مبتنی بر سیستم بیوفلاک (Biofloc System) روش نسبتاً جدیدی در آبزی‌پروری می‌باشد که مزیت‌های متعددی دارد. در این فناوری، با حداقل تعویض آب و دستکاری نسبت کربن به نیتروژن و بالابردن بردن آن تا حدود ۱۵ از طریق افزودن یک منبع کربن خارجی (مثل سلولز، نشاسته، آرد، ملاس و ...) یا استفاده از غذاهایی با پروتئین کم، رشد باکتری‌های هتروتروفی در آب تحریک شده و این باکتری‌ها با سرعت رشد فوق‌العاده‌ای که دارند می‌توانند مواد زاید نیتروژنی آلی و کربوهیدرات‌های موجود در آب را جذب کرده و تولید پروتئین میکروبی کنند (Avnimelech, 2012; Crab *et al*., 2012a). همچنین عظیمی و همکاران (Azimi *et al*., 2017)، نسبت کربن به نیتروژن به میزان ۱۵ به ۱ را جهت پرورش کپور معمولی در سیستم بیوفلاک پیشنهاد داده‌اند. تولید بیوماس باکتریایی هتروتروفی در ادامه موجب تشکیل توده‌های بزرگی به نام بیوفلاک می‌شود که نه تنها از باکتری‌ها، بلکه از میکروارگانیسم‌های دیگر مانند ریزجلبک‌ها، زئوپلانکتون‌ها و نیز ذرات آلی و غیرآلی تشکیل شده است (Hargreaves, 2013).

همچنین با احیای نیتروژن و مصرف بیوفلاک‌های غنی از مواد مغذی توسط گونه پرورشی، نیاز به جیره مصنوعی و مقدار پروتئین جیره کم شده و به دنبال آن ضریب تبدیل غذایی کاهش می‌یابد (Crab *et al*., 2009). از آنجا که در پرورش ماهیان گوشتخوار جیره با پروتئین بالا نیاز است و این مقدار زیاد پروتئین توسط ماهی پرورشی احیاء نشده و می‌تواند موجب مسایل محیطی مختلف مانند یوتریفیکاسیون و شیوع بیماری گردد، بنابراین می‌توان آبزی‌پروری را به سمت پرورش ماهیان فیلترفیدر و کفزی‌خوار مانند کپور معمولی سوق داد (Rahman *et al*., 2016). درک میزان پروتئین مورد نیاز برای ماهی در طول دوره پرورشی به‌منظور بدست آوردن بهترین بازده غذایی، صرفه‌جویی در هزینه‌ها و کاهش ورود نیتروژن به درون اکوسیستم آبی، از فاکتورهای اساسی در مدیریت آبزی‌پروری می‌باشد (Abdel-Tawwab and Ahmad, 2009). کپور معمولی (*C. carpio*) سومین گونه ماهی مهم تجاری آب شیرین است که به علت قابلیت سازش بالا با محیط و غذا به‌طور وسیعی در سرتاسر جهان به خصوص کشورهای آسیایی و برخی کشورهای اروپایی پرورش می‌یابد (FAO, 2013). کپور معمولی

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

با دارابودن ویژگی‌هایی مانند تحمل غلظت‌های کم اکسیژن (۰/۵-۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر)، عادت غذایی همه‌چیزخواری، دارا بودن سیستم‌های فیلترکننده غذا و تحمل غلظت بالای جامدات معلق در آب می‌تواند یکی از گونه‌های مناسب جهت پرورش در سیستم بیوفلاک باشد. میزان پروتئین موردنیاز کپور معمولی طبق تحقیقات انجام شده در محدوده ۳۰ تا ۳۸ درصد است (Watanabe, 1988).

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که جیره‌هایی با مقدار پروتئین خیلی کم می‌توانند رشد و اعمال فیزیولوژیکی مانند متابولیسم پروتئین و پاسخ‌های ایمنی را در ماهی کپور معمولی ضعیف کنند (Sakthivel, 1988; Liu *et al*., 2009). این نتایج در سیستم‌های مرسوم پرورشی با آب شفاف بدست آمده بود و تاکنون با توجه به منابع در دسترس، مطالعه‌ای در مورد سطح بحرانی پروتئین در جیره غذایی جهت راندمان رشد مناسب و شرایط سلامت فیزیولوژیکی با استفاده از فناوری بیوفلاک برای کپور معمولی صورت نپذیرفته است. تنها مطالعات محدودی روی پرورش ماهی کپور معمولی در سیستم مبتنی بر فناوری بیوفلاک صورت پذیرفته است که می‌توان به مطالعات عظیمی و همکاران (Azimi *et al*., 2017) و بخشی و همکاران (Bakhshi *et al*., 2014) اشاره نمود. بنابراین این مطالعه با هدف ارزیابی سطح مناسب پروتئین بر اساس برخی از پارامترهای رشد، خونی و بیوشیمیایی سرم در جیره غذایی بچه‌ماهی انگشت‌قد ماهی کپور معمولی تحت شرایط پرورشی در سیستم بیوفلاک جهت رشد بهینه انجام شد.

مواد و روش‌ها

پیش از فرمولاسیون جیره، ترکیب تقریبی اجزای مختلف تشکیل‌دهنده جیره طبق روش‌های (AOAC, 2005) تعیین شد (جدول ۱). چهار جیره با سطوح مختلف پروتئین (۲۳، ۲۷، ۳۱ و ۳۵ درصد) با استفاده از نرم‌افزار UFFDA فرموله شدند (جدول ۲). جهت تهیه جیره‌ها، ابتدا مواد خشک جیره با هم مخلوط شدند و سپس روغن ماهی، روغن سویا و مقداری آب گرم اضافه شد و مجدداً مخلوط شدند. خمیر نرم و مرطوب حاصله از طریق چرخ گوشت با چشمه ۱/۵ میلی‌متری به پلت تبدیل شد و سپس پلت‌های حاصله در مجاورت هوا تا زمانی‌که رطوبت آنها به ۱۰٪ کاهش یابد، خشک شدند. بعد از خشک شدن، پلت‌های رشته‌ای شکسته شده و به قطر ۲ میلی‌متر برش خوردند و تا زمان استفاده در کیسه‌های پلاستیکی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

جدول ۱- تجزیه مواد مورد استفاده در جیره‌ها (بر مبنای درصد ماده خشک) در بررسی تعیین سطح مناسب پروتئین جیره غذایی بچه‌ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) بر پایه فناوری بیوفلاک

مواد	انرژی خام (Kcal/kg)	پروتئین خام (٪)	چربی خام (٪)	خاکسترکل (٪)	کربوهیدرات (٪)	فیبر (٪)	کلسیم (٪)	فسفر (٪)
ذرت	۴۰۱۵	۷/۷۷	۲/۱۱	۰/۹	۷۲/۸	۱/۷۲	۰/۰۳	۰/۲۸
گندم	۳۹۲۰	۱۴/۵۲	۲/۱	۲/۲۵	۷۲/۵	۲/۴۳	۰/۰۴	۰/۳۷
پودر ماهی	۴۸۷۷	۷۲/۷۲	۱۱/۰۶	۱۱/۹۹	۱/۲	۱/۳۸	۵/۱۹	۲/۸۸
آرد سویا	۳۷۸۲	۴۴/۷۸	۱/۴۶	۵/۹۳	۳۶	۵/۶۶	۰/۳	۰/۶۵
روغن ماهی	۹۰۰۰	-	-	-	-	-	-	-
روغن سویا	۹۰۰۰	-	-	-	-	-	-	-

جدول ۲- درصد ترکیب و ارزش غذایی جیره‌های آزمایشی بررسی تعیین سطح مناسب پروتئین جیره غذایی بچه‌ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) بر پایه فناوری بیوفلاک

مواد جیره (درصد)	سطح پروتئین جیره			
	۳۵	۳۱	۲۷	۲۳
ذرت	۹/۹۶	۱۹/۲۱	۲۸/۴۷	۳۷/۶
گندم	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲
کنجاله سویا	۳۷/۶۳	۲۷/۰۹	۱۶/۵۵	۶/۰۳
پودر ماهی	۲۱/۵	۲۱/۵	۲۱/۵	۲۱/۵
روغن (۵۰٪ روغن ماهی و ۵۰٪ روغن سویا)	۷/۶۳	۸/۹	۱۰/۱۶	۱۱/۴۵
مکمل ویتامینی و معدنی	۳	۳	۳	۳
ال- لیزین	۰/۰۶	۰/۱	۰/۱۳	۰/۲۴
ال- ترئونین	۰/۲۲	۰/۲	۰/۱۹	۰/۱۸
سلولز	۸	۸	۸	۸
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
آنالیز تقریبی جیره‌های غذایی				
انرژی قابل هضم	۳۲۰۰	۳۲۰۰	۳۲۰۰	۳۲۰۰
پروتئین خام (٪)	۳۵	۳۱	۲۷	۲۳
چربی خام (٪)	۱۱/۰۳	۱۲/۳۳	۱۳/۶۴	۱۴/۹۶
خاکستر کل (٪)	۵/۱۷	۴/۶۳	۴/۰۹	۳/۵۴
فیبر خام (٪)	۲/۸۹	۲/۴۵	۲/۰۱	۱/۵۸

جهت تهیه ماده تلقیحی بیوفلاکی، سه مخزن فایبرگلاسی ۵۰۰ لیتری با حجم آبگیری ۲۰۰ لیتر را را با آب شیرین پر کرده و به هر کدام از آنها در طی روزهای آزمایش جهت برقراری نسبت C/N در

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

حدود ۱۵، ۱۰۰ گرم خوراک ماهی با ۳۵٪ پروتئین و ۲۱۰ گرم ملاس چغندر قند (۴۰٪ کربن) اضافه کرده و محیط حاصل به شدت هوادهی شد. دمای آب تانک‌های تولید بیوفلاک با استفاده از بخاری در حدود ۲۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

مقدار نیتروژن در ۱۰۰ گرم غذا با مقدار ۳۵ درصد پروتئین طبق معادله ۳۵= N×۶/۲۵، به میزان ۵/۶ گرم به‌دست آمد. جهت برقراری نسبت کربن به نیتروژن به‌صورت نسبت ۱۵ به ۱ (۱۵:۱ = N : C)، ۸۴ گرم کربن به آب اضافه شد و باتوجه به اینکه ملاس چغندر دارای ۴۰٪ کربن است، بنابراین نیاز به ۲۱۰ گرم ملاس بود. پس از گذشت ۳ هفته و تشکیل توده‌های بیوفلاکی به میزان لازم، آب مخازن را با توری دارای چشمه‌هایی با سایز ۱۰ میکرومتر فیلتر کرده و بیوفلاک تولیدی به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر در هر لیتر به آب تانک‌های حاوی تیمارهای بیوفلاکی قبل از ذخیره‌سازی ماهی اضافه شد.

در آبان ماه ۱۳۹۴، بچه‌ماهیان انگشت‌قد کپور معمولی با میانگین وزنی ۰/۸±۱۷ گرم از مرکز تکثیر و پرورش ماهی کلمه سیجوال بندرترکمن تهیه و به مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهید فضل‌آبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. جهت سازگار شدن با شرایط جدید، بچه‌ماهیان در مخازن فایبرگلاس به‌مدت ۲ هفته قبل از شروع آزمایش در آب شیرین نگهداری و با جیره تجاری کپور معمولی (ساخت شرکت خوراک دام و طیور و آبزیان گنبد) (حاوی ۳۵٪ پروتئین) به مقدار ۲٪ وزن بدن و در دو نوبت (۸ صبح و ۱۴ عصر) غذادهی شدند. آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و هر تیمار با سه تکرار (۴ تیمار بیوفلاک با جیره‌های حاوی ۲۳، ۲۷، ۳۱ و ۳۵ درصد پروتئین و یک تیمار شاهد بدون بیوفلاک و با جیره حاوی ۳۵٪ پروتئین و با تراکم ۳۰ عدد ماهی در هر تانک به‌مدت ۸ هفته بین ماه‌های دی و اسفند انجام شد. قبل از ذخیره‌سازی ماهی در مخازن، تیمارهای گروه بیوفلاکی با بیوفلاک فشرده (۷۵ میلی لیتر در هر مخزن) که از مخازن ذخیره بیوفلاک جمع آوری شده بود تلقیح شدند. برای هوادهی و تأمین اکسیژن ۵ عدد سنگ هوا که به منبع هواده متصل بودند در کف مخازن نصب شدند. بچه‌ماهیان کپور معمولی با میانگین وزنی ۰/۸±۱۷ گرم به‌طور کاملاً تصادفی انتخاب و به تعداد ۳۰ عدد به ازای هر مخزن در ۱۵ مخزن فایبرگلاس با حجم آبگیری ۱۵۰ لیتر ذخیره‌سازی شدند. در مخازن گروه شاهد روزانه یک سوم آب تعویض شد ولی میزان تعویض آب در مخازن گروه بیوفلاکی حدود ۶٪ به‌صورت هفتگی بود. دمای آب در مخازن پرورشی در طول دوره آزمایش بین ۱۷ تا ۱۸ درجه سانتی‌گراد بود.

در شروع آزمایش، غذادهی به میزان ۵٪ بیوماس کل ماهیان و در دو نوبت صبح و بعد از ظهر (۹ و ۱۶) انجام می‌گرفت، ولی در ادامه باتوجه به رفتارماهیان به حدود ۲٪ بیوماس کل ماهیان کاهش یافت. ملاس چغندر قند در آب مخازن حاوی تیمارهای بیوفلاکی جهت بالا بردن نسبت C/N به مقدار ۱۵ اضافه شد. مقدار ملاس چغندرقند مورد نیاز روزانه برای تیمارهای بیوفلاکی با فرض اینکه ۷۵٪ از

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

نیتروژن غذا وارد آب می‌شود (Piedrahita, 2003) و ملاس چغندر قند دارای ۴۰٪ کربن آلی است، از طریق معادله (De Schryver *et al*., 2008) محاسبه شد:

مقدار ملاس چغندرقند (گرم در مترمکعب آب)= 15xypk

X= تراکم ماهی (g/m^3), y= (۰/۰۵= ٪۵) درصد وزن بدن, مقدار غذا بر حسب درصد وزن بدن=p ,مقدار پروتئین غذا

K= مقدار نیتروژن غذا

درصد کربن در ملاس چغندر قند با استفاده از دستگاه (CHNS-O Elemental Analyzer, Costech ECS 4010) محاسبه شد. در مخازن بیوفلاکی میزان ملاس چغندرقند مورد نیاز را که از قبل وزن شده بود با مقداری از آب مخزن مخلوط شده و به‌طور یکسان از بالای مخازن به‌طور مستقیم بعداز آخرین نوبت غذادهی (۱۴ عصر) توزیع شد (Avnimelech, 2012) .

جهت اندازه‌گیری مواد جامد معلق کل (TSS) به‌صورت هفتگی برطبق روش (Stirling 1985)، ۱۰۰ میلی‌لیتر از آب مخازن را با کاغذ صافی فیلتر کرده و کاغذ صافی را در آون در درجه حررات ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲-۴ ساعت قرار داده تا خشک شود (Azim and Little, 2008). غلظت بیوفلاک در واحدهای آزمایشی به‌صورت هفتگی از طریق ارزیابی حجم توده فلاک ته‌نشین شده با استفاده از مخروط‌های ایمهوف یک لیتری تعیین شد. نمونه آب به‌طور مستقیم از هر تانک جمع‌آوری و در مخروط قرار گرفت و با ته‌نشین‌شدن جامدات در مدت ۲۰ دقیقه، حجم مواد ته‌نشین شده ثبت گردید (Avnimelech, 2012).

در پایان دوره آزمایش، آب تانک هر تیمار بیوفلاکی از کیسه‌های نایلونی با اندازه چشمه ۱۰ میکرومتر عبور داده شد. نمونه‌های بیوفلاک غلیظ شده از هر تیمار در آون (دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد تا خشک شوند و سپس در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا جهت آنالیز بیوشیمیایی ترکیبات پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر مورد سنجش قرار گیرد (AOAC, 2005).

بیومتری ماهیان شامل اندازه‌گیری طول و وزن در ابتدای آزمایش و در طی دوره آزمایش هر دو هفته انجام شد و براساس اندازه‌گیری‌های انجام شده، شاخص‌های رشد و تغذیه شامل افزایش وزن، افزایش طول، رشد روزانه، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و ضریب بازدهی پروتئین براساس فرمول‌های زیر اندازه‌گیری شد (جدول ۳). تعداد ماهیان ذخیره‌سازی شده در ابتدای آزمایش و تعداد ماهیان باقیمانده در انتهای آزمایش ثبت و براساس آن میزان بازماندگی محاسبه شد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

جدول ۳- فرمول‌های مورد استفاده جهت محاسبه شاخص‌های رشد بررسی تعیین سطح مناسب پروتئین جیره غذایی بچه‌ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) بر پایه فناوری بیوفلاک

پارامتر	فرمول
افزایش وزن (Weight Gain) (WG)	وزن ثانویه – وزن اولیه
افزایش طول بدن (Length Gain) (LG)	افزایش طول (سانتی متر) = طول ثانویه - طول اولیه
رشد روزانه (Daily Growth)	رشد روزانه(گرم) = (وزن ثانویه ماهی– وزن اولیه ماهی)/ طول دوره پرورش
ضریب رشد ویژه (Specific Growth Rate) (SGR)	((لگاریتم طبیعی وزن نهایی بدن – لگاریتم طبیعی وزن اولیه بدن)/ روزهای پرورش)×۱۰۰
ضریب تبدیل غذایی (Feed Conversion Ratio) (FCR)	میزان غذای خشک خورده شده (گرم) / میزان افزایش وزن بدن(گرم)
ضریب بازدهی پروتئین (Protein Efficiency Ratio) (PER)	میزان افزایش وزن بدن (گرم) / میزان پروتئین مصرف شده (گرم)
درصد بازماندگی (Survival Rate)	(تعداد نهایی ماهی / تعداد اولیه ماهی) ×۱۰۰

در پایان آزمایش از هر مخزن ۵ عدد ماهی به‌طور تصادفی انتخاب و بعد از بیهوش نمودن ماهی‌ها با ماده بیهوشی پودر گل میخک (با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) خونگیری از ساقه دمی انجام شد. نمونه‌های خون فوراً به دو قسمت تقسیم شدند. نیمی از آن برای انجام آزمایشات خونی (گلبول قرمز، گلبول سفید، هماتوکریت و هموگلوبولین) در لوله‌های هپارینه قرار داده شدند و نیمی دیگر جهت تهیه سرم خون جهت اندازه‌گیری برخی پارامترهای بیوشیمیایی خون مانند پروتئین کل، گلوبولین و آلبومین، درون میکروتیوپ‌های بدون هپارین قرار گرفتند. در آزمایشگاه سرم خون با استفاده از قرارگرفتن میکروتیوپ‌ها در سانتیریفوژ (۳۰۰۰g بەمدت ۱۰ دقیقه) جدا شد و تا زمان انجام آزمایشات مربوطه در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (Adel *et al*., 2015). برای اندازه‌گیری هموگلوبین (Hb) از روش استاندارد سیانومت هموگلوبین (Drobkin, 1945)، برای اندازه‌گیری هماتوکریت یا حجم فشرده گلبولی از روش میکروهماتوکریت (Blaxhall and Daisley, 1973) و شمارش کلی گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید به روش دستی و با استفاده از لام هماسیتومتر نئوبار انجام شد (Houston, 1990). مقدار پروتئین کل (تام) به روش بیوره (Doumas *et al*., 1997) و آلبومین سرم خون به روش بروموکرزول گرین (Doumas *et al*., 1997) با استفاده از کیت‌های تجاری (زیست‌شیمی) اندازه‌گیری شد. میزان گلوبولین نیز با کم کردن میزان آلبومین از پروتئین تام تعیین گردید (Kumar *et al*., 2005).

ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کلموگروف- اسمیرنوف (Smirnov-Kolmogorov) بررسی شد. داده‌هایی که نرمال نبودند با تبدیل لگاریتمی و آرک سینوس نرمال شدند. نتایج به‌دست

www.SID.ir

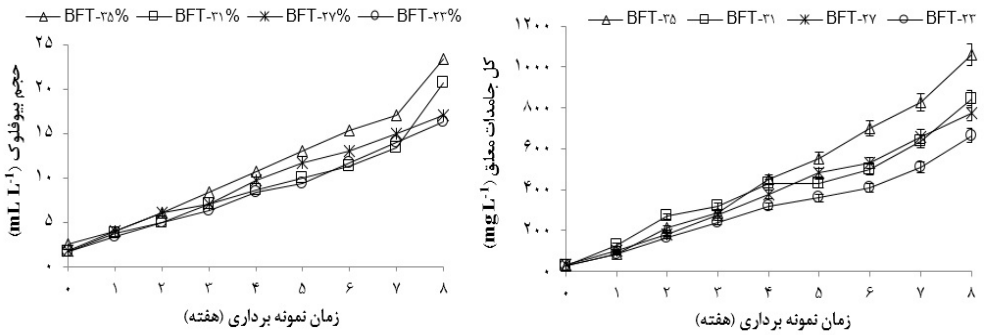
Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

آمـده از آزمـایش در قالـب طـرح کـاملاً تصادفی، بـا اسـتفاده از نـرم‌افـزار SAS-19 (SAS Institute, Cary, NC, USA) مـورد تجزیـه آمـاری قرار گرفت. تجزیه واریانس و مقایسـه میـانگین‌هـا بـا آزمـون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد (P<۰/۰۵) انجام شد. برای برون‌یابی رگرسـیون معـادلات مربـوط بـه سطوح مختلف پروتئین از نرم‌افزار Fit Curve استفاده شد.

نتایج

توسعه بیوفلاک برحسب حجم بیوفلاک (BFV) و غلظت کل جامدات معلـق (TSS) در طـول دوره آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است. مقادیر BFV و TSS در طول دوره آزمایش به‌تـدریج افـزایش یافت و تغییرات آنها در طول آزمایش نسبتاً ثابت بود. تیمارهـای دارای سـطح پـروتئین بـالا در جیـره، دارای مقادیر بالاتری از BFV و TSS بودند و مقدار متوسط آنها درانتهای آزمایش به‌ترتیب پـایین‌تـر از ۲۵ml L^{-1} و ۱۲۰۰ mg L^{-1} بود.



شکل ۱- تغییرات BFV و TSS در چهار تیمار بررسی تعیین سطح مناسب پروتئین جیره غذایی بچه‌ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) بر پایه فناوری بیوفلاک طی ۸ هفته دوره آزمایشی. هر مقدار نشان دهنده میانگین± انحراف معیار است (n=3).

ترکیب تقریبی بیوفلاک جمع‌آوری شده از مخازن تیمار حاوی BFT در جدول ۴ نشان داده شده است. بالاترین سطح پروتئین در بیوفلاک تولید شده از تیمار BFT-٪۲۷ و کمترین مقدار پروتئین در بیوفلاک تولید شده از تیمار BFT-٪۲۳ مشاهده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

جدول ۴- ارزش غذایی بیوفلاک‌های تولید شده در تیمارهای تعیین سطح مناسب پروتئین جیره غذایی بچه‌ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) بر پایه فناوری بیوفلاک (بر مبنای درصد ماده خشک)

پارامترها	تیمار			
	BFT-٪۳۵	BFT-٪۳۱	BFT-٪۲۷	BFT-٪۲۳
پروتئین خام (٪)	۲۸/۵۲	۲۹/۳۳	۳۰/۱	۲۳/۲۹
چربی خام (٪)	۱/۰۳	۱/۲۵	۰/۹۵	۰/۶۸
فیبر (٪)	۰/۷۲	۰/۹۸	۱/۱۹	۰/۶۲
رطوبت (٪)	۱۱/۵	۱۰/۶۴	۹/۵۱	۱۰/۸۵

نتایج مربوط به پارامترهای رشد بچه‌ماهیان کپور معمولی در تیمارهای آزمایشی در جدول ۵ آمده است. میزان بازماندگی در تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمارهای بیوفلاکی غیر از تیمار بیوفلاکی BFT-٪۲۷ بود (P<۰/۰۵). اما هیچ تفاوت معنی‌داری در میزان بازماندگی بین تیمارهای بیوفلاکی مشاهده نشد (P>۰/۰۵). از نظر میزان افزایش طول هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود نداشت (P>/۰۵). پارامترهای وزن حاصله، ضریب رشد ویژه و رشد روزانه در ماهیان تیمار BFT-٪۳۱ و BFT-٪۲۷ به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان در تیمارهای BFT-٪۳۵ و BFT-٪۲۳ بود (P<۰/۰۵). ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تیمار BFT-٪۲۳ به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان در تیمارهای CW-٪۳۵، BFT-٪۳۱ و BFT-٪۲۷ بود (P<۰/۰۵). ضریب بازدهی پروتئین در ماهیان تیمار BFT-٪۲۷ به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان در تیمارهای CW-٪۳۵، BFT-٪۳۵ و BFT-٪۲۳ بود (P<۰/۰۵)، اما تفاوت معنی‌داری در ضریب بازدهی پروتئین در بین ماهیان تیمارهای BFT-٪۳۱ و BFT-٪۲۷ یا بین ماهیان تیمارهای CW-٪۳۵، BFT -٪۳۵ و BFT-٪۲۳ مشاهده نشد (P>۰/۰۵). جهت نشان دادن بهترین مقدار پروتئین در جیره از معادله رگرسیون درجه دو استفاده شد. نمودار رگرسیون بر پایه معادله درجه دوم برای پارامترهای وزن حاصله، رشد روزانه، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و ضریب کارایی پروتئین در شکل ۲ نشان داده شده است. باتوجه به این نمودارها بهترین وزن حاصله، رشد روزانه، ضریب رشد ویژه، ضریب بازدهی پروتئین و ضریب تبدیل غذایی در صورتی حاصل می‌شود که ماهی در تیمارهای بیوفلاکی به‌ترتیب با جیره حاوی ۳۰/۳۷٪، ۳۰٪، ۳۳/۵۷٪، ۲۹/۶۴٪ و ۳۳٪ پروتئین تغذیه نماید.

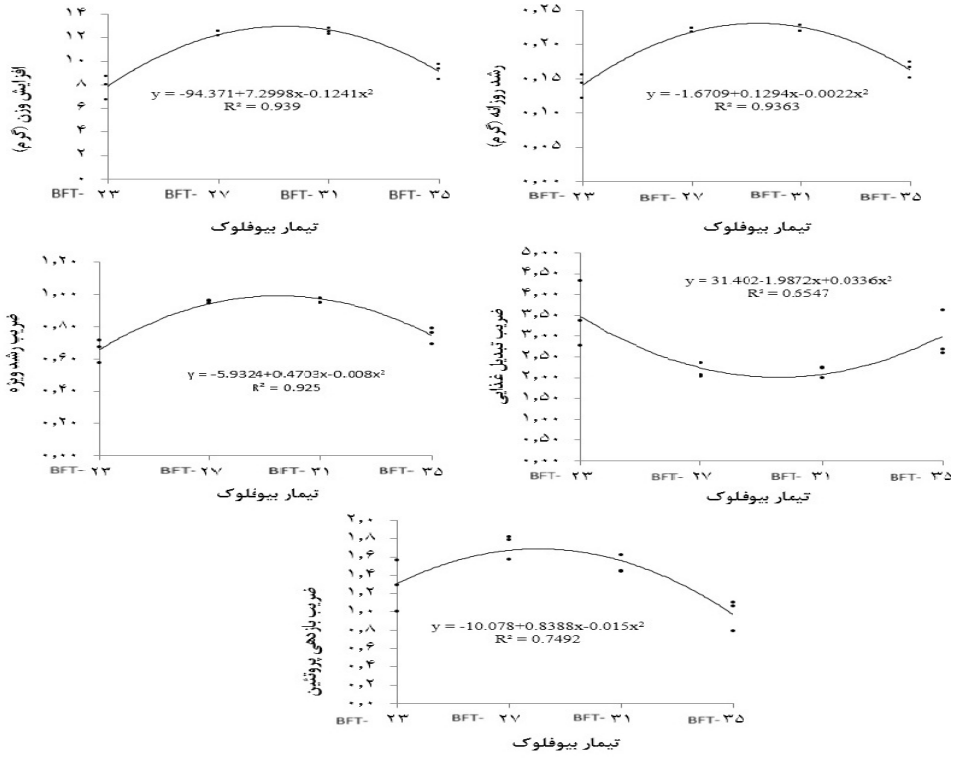
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

جدول ۵- نتایج آزمون دانکن پارامترهای رشد در بچه‌ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) تغذیه‌شده با سطوح مختلف پروتئین در جیره (انحراف معیار ± میانگین)

پارامترها	تیمارها				
	CW-٪۳۵	BFT-٪۳۵	BFT-٪۳۱	BFT-٪۲۷	BFT-٪۲۳
درصد بقا	۱۰۰±۰/۰^{a}	۸۳/۳۳±۱۵/۲۷^{b}	۸۶/۶۷±۶/۶۷^{b}	۹۱/۱۱±۹/۶۲^{ab}	۸۱/۱۱±۱۳/۸۸^{b}
افزایش طول (سانتی‌متر)	۱/۸۷±۰/۰^{a}	۱/۹۹±۰/۳۳^{a}	۱/۸±۰/۴^{a}	۱/۴۹±۰/۲۵^{a}	۱/۷۱±۰/۱۶^{a}
افزایش وزن (گرم)	۱۰/۹۶±۱/۰۳^{b}	۹/۱۴±۰/۶۵^{c}	۱۲/۵±۰/۳۴^{a}	۱۲/۴±۰/۲۱^{a}	۷/۸۲±۰/۹۹^{d}
رشد روزانه (گرم)	۰/۱۹±۰/۰۲^{b}	۰/۱۶±۰/۰۱^{c}	۰/۲۲±۰/۰۰^{a}	۰/۲۲±۰/۰۰^{a}	۰/۱۳±۰/۰۲^{d}
ضریب رشد ویژه	۰/۸۵±۰/۰۶^{b}	۰/۷۵±۰/۰۵^{c}	۰/۹۶±۰/۰۲^{a}	۰/۹۵±۰/۰۰^{a}	۰/۶۵±۰/۰۷^{d}
ضریب تبدیل غذایی	۲/۲۲±۰/۱۹^{b}	۲/۹۷±۰/۵۷^{ab}	۲/۱۵±۰/۱۵^{b}	۲/۱۵±۰/۱۷^{b}	۳/۴۹±۰/۷۸^{a}
ضریب بازدهی پروتئین	۱/۲۹±۰/۱۱^{bc}	۰/۹۸±۰/۱۷^{c}	۱/۵±۰/۱^{ab}	۱/۷۲±۰/۱۳^{a}	۱/۲۹±۰/۲۸^{bc}



شکل ۲- رابطه سطح پروتئین جیره با پارامترهای رشد براساس معادلات درجه دوم رگرسیونی بررسی تعیین سطح مناسب پروتئین جیره غذایی بچه‌ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) بر پایه فناوری بیوفلاک

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

نتایج مربوط به آنالیز پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم بچه‌ماهیان کپور معمولی در جدول ۶ آمده است. براساس نتایج حاصله، تعداد گلبول‌های قرمز و تعداد گلبول‌های سفید خون در ماهیان تیمار BFT-٪۳۱ به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان سایر تیمارها بود (P<۰/۰۵)، اما تفاوت معنی‌داری با ماهیان تیمار BFT-٪۳۵ نداشتند. همچنین تفاوت معنی‌داری در ماهیان تیمارهای CW-٪۳۵، BFT-٪۲۷ و BFT-٪۲۳ مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بیشترین میزان هموگلوبین در ماهیان تیمار BFT-٪۳۵ و کمترین مقدار آن در ماهیان تیمار CW-٪۳۵ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند (P<۰/۰۵). اما تفاوت معنی‌داری در بین ماهیان تیمارهای BFT-٪۳۵ و BFT-٪۳۱ و BFT-٪۲۷ یا در بین ماهیان تیمارهای CW-٪۳۵، BFT-٪۲۷ و BFT-٪۲۳ مشاهده نشد (P>۰/۰۵). میزان هماتوکریت خون در ماهیان تیمار BFT-٪۳۱ به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان تیمارهای CW-٪۳۵ و BFT-٪۲۳ بود (P<۰/۰۵). اما تفاوت معنی‌داری در میزان هماتوکریت خون در بین ماهیان تیمارهای BFT-٪۳۵ و BFT-٪۳۱ و BFT-٪۲۷ یا در بین ماهیان تیمارهای CW-٪۳۵، BFT-٪۳۵ و BFT-٪۲۷ مشاهده نشد (P>۰/۰۵). نمودار رگرسیون پارامترهای خونی در شکل ۳ نشان داده شده است. باتوجه به نتایج حاصله از بررسی پارامترهای خون (گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین و هماتوکریت) و محتوای پروتئین جیره در تیمارهای بیوفلاکی مشخص شد که بین آنها رابطه رگرسیونی خطی مثبت برقرار است به نحوی که با افزایش میزان پروتئین در جیره مقدار این پارامترها نیز افزایش می‌یابد.

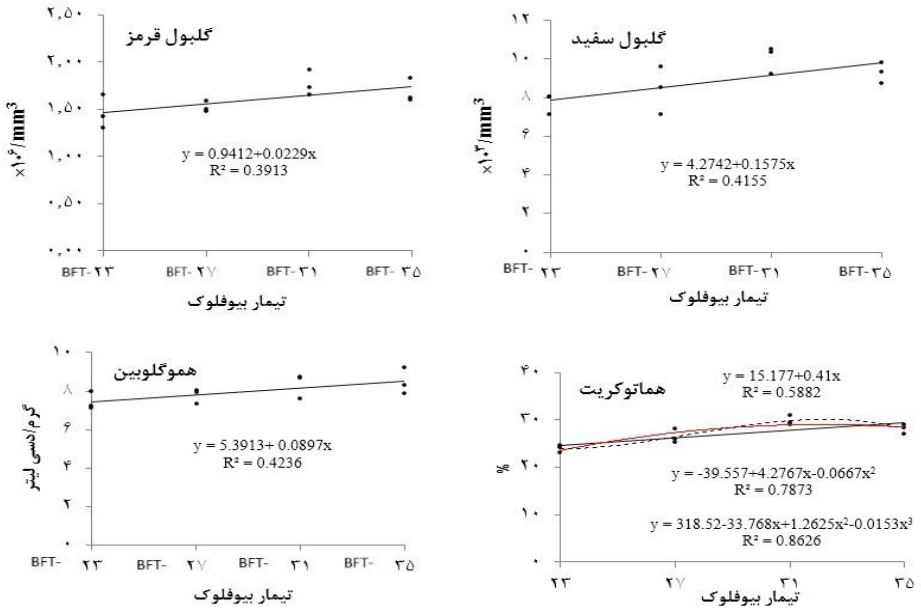
جدول ۶- نتایج آزمون دانکن پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم در بچه‌ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) تغذیه شده با سطوح مختلف پروتئین در جیره (انحراف معیار ± میانگین)

پارامترها	تیمارها				
	CW – ٪۳۵	BFT – ٪۳۵	BFT – ٪۳۱	BFT – ٪۲۷	BFT – ٪۲۳
پروتئین کل (گرم/دسی لیتر)	۴/۴۱±۰/۸۵^{ab}	۴/۸۹±۰/۸۸^{a}	۴/۳۹±۰/۷۶^{ab}	۳/۱۳±۰/۷۱^{b}	۳/۰۴±۰/۹۲^{b}
آلبومین (گرم/دسی لیتر)	۳/۵۵±۰/۴۷^{a}	۴/۲۴±۱/۰۹^{a}	۲/۹۸±۰/۳۳^{ab}	۲/۰۷±۰/۸^{bc}	۱/۴۹±۰/۶۶^{c}
گلوبولین (گرم/دسی لیتر)	۰/۸۷±۰/۴۷^{a}	۰/۶۵±۰/۴۲^{a}	۱/۴±۰/۷۴^{a}	۱/۰۶±۱/۳۷^{a}	۱/۵۵±۰/۵۴^{a}
گلبول قرمز ($\times 10^{6}$/ mm^3)	۱/۴۶±۰/۰۶^{bc}	۱/۶۸±۰/۱۲^{ab}	۱/۷۷±۰/۱۴^{a}	۱/۵۲±۰/۰۶^{bc}	۱/۴۶±۰/۱۸^{c}
گلبول سفید ($\times 10^{3}$/ mm^3)	۸/۱۳±۰/۵^{bc}	۹/۲۷±۰/۵۵^{ab}	۱۰/۰۰±۰/۷^{a}	۸/۴±۱/۲۵^{bc}	۷/۷±۰/۵۲^{c}
هموگلوبین (گرم/دسی لیتر)	۷/۰۸±۰/۱۶^{c}	۸/۴۵±۰/۷^{a}	۸/۳۲±۰/۶۳^{ab}	۷/۷۶±۰/۳۶^{abc}	۷/۴۳±۰/۴۹^{bc}
هماتوکریت (٪)	۲۶/۲±۱/۲۱^{b}	۲۸/۱۷±۱/۰۴^{ab}	۲۹/۸۳±۱/۰۴^{a}	۲۶/۴۳±۱/۴^{ab}	۲۳/۸۳±۰/۷۶^{c}

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

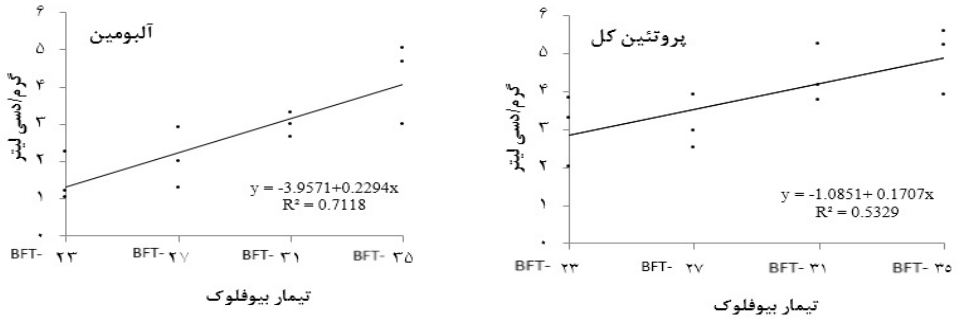


ژشکل ۳- نمودار رگرسیونی رابطه سطح پروتئین جیره و پارامترهای خونی در تیمارهای تعیین سطح مناسب پروتئین جیره غذایی بچه‌ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) بر پایه فناوری بیوفلاک

نتایج مربوط به آنالیز پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون در جدول ۶ نشان داده شده است. براساس نتایج به‌دست آمده، میزان پروتئین کل ماهیان در تیمار BFT-٪۳۵ به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان در تیمارهای BFT-٪۲۷ و BFT-٪۲۳ بود (P<۰/۰۵). اما هیچ تفاوت معنی‌داری در مقدار پروتئین کل ماهیان بین تیمارهای CW-٪۳۵، BFT-٪۳۵ و BFT-٪۳۱ یا بین تیمارهای CW-٪۳۵، BFT-٪۲۷ و BFT-٪۲۳ وجود نداشت (P>۰/۰۵). از نظر آلبومین نیز بالاترین مقدار در ماهیان تیمار BFT-٪۳۵ مشاهده شد و مقدار آلبومین در ماهیان تیمار BFT-٪۳۵ اختلاف معنی‌داری با ماهیان تیمار BFT-٪۲۳ نشان داد (P<۰/۰۵). اما مقدار آلبومین در ماهیان تیمار BFT-٪۳۵ تفاوت معنی‌داری با ماهیان تیمارهای CW-٪۳۵ و BFT-٪۳۱ نشان نداد (P>۰/۰۵). میزان گلوبولین خون ماهیان بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵) و مقدار گلوبولین خون در ماهیان تیمار BFT-٪۲۳ از سایر تیمارها بیشتر بود. نمودار رگرسیون پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون در شکل ۴ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش میزان پروتئین جیره در تیمارهای بیوفلاکی، مقدار پروتئین کل و آلبومین سرم خون افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده یک رابطه مستقیم بین افزایش سطح پروتئین در جیره و میزان پروتئین کل و آلبومین سرم خون در تیمارهای بیوفلاکی است.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۴- نمودار رگرسیونی رابطه سطح پروتئین جیره و پارامترهای خونی در تیمارهای تعیین سطح مناسب پروتئین جیره غذایی بچه‌ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) بر پایه فناوری بیوفلاک

بحث و نتیجه‌گیری

پروتئین جیره مهمترین عامل موثر بر رشد و هزینه غذا است (Lee and Kim, 2005). باتوجه به مطالعات انجام شده تعیین مقدار مورد نیاز پروتئین در جیره غذایی ماهی پیچیده است، چرا که میزان پروتئین به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر اجزای جیره و شرایط آزمایشی است (Cowey, 1979). تفاوت در احتیاجات پروتئینی ممکن است تحت تأثیر عواملی از قبیل اندازه ماهی، دمای آب، سطح انرژی جیره، کیفیت پروتئین، منابع انرژی‌زای غیرپروتئینی و نسبت پروتئین به انرژی باشد (McGoogan and Gatlin,1999; Webster and Lim, 2002).

در این مطالعه، میانگین نرخ بقا بالای ۸۱٪ بود و بین چهار تیمار بیوفلاکی با چهار سطح پروتئین در جیره هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول۴)، که با نتایج مطالعات ژو و پان (Xu and Pan, 2014) و کوریا و همکاران (Correia *et al*., 2014) مطابقت داشت. توسعه بیوفلاک بر حسب BFV و TSS در ستون آب در ابتدای آزمایش در تیمارهای بیوفلاکی مشابه و کم بود که احتمالاً به‌علت غلظت نسبتاً کم باکتری‌ها در ابتدای آزمایش بود (Azim *et al*., 2007). از همان شروع آزمایش میکروارگانیسم‌ها شروع به تجزیه ماده آلی نموده و مواد مغذی غیرآلی را آزاد می‌کنند که موجب بالا رفتن آمونیاک در هفته‌های اول آزمایش و مرگ و میر در تیمارهای بیوفلاکی می‌شود که این امر باعث کاهش میانگین درصد بقا در طول دوره در تیمارهای بیوفلاکی نسبت به تیمار شاهد شد. اما به‌تدریج با افزایش غلظت باکتری‌های هتروتروفی و جذب آمونیاک و دیگر ترکیبات نیتروژنی توسط آنها، توسعه بیوفلاک‌ها بر حسب BFV و TSS در کلیه تیمارهای بیوفلاکی افزایش تدریجی در طول دوره آزمایشی نشان داد و هیچ تفاوت معنی‌داری در سطح BFV و TSS بین چهار تیمار بیوفلاکی مشاهده نشد و میزان بقا در کلیه تیمارهای آزمایشی (تیمار شاهد و تیمارهای بیوفلاکی) ثابت شد.

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

بیوفلاک‌های رشد کرده به‌طور معنی‌داری راندمان رشد ماهی را در مطالعه حاضر بهتر کردند. رشد ماهی برحسب وزن حاصله، رشد روزانه، ضریب رشد ویژه و ضریب کارایی پروتئین، تمایلی از افزایش را همراه با افزایش سطح پروتئین جیره از ۲۳٪ تا ۳۱٪ نشان داد که این پارامترها در ماهیان تیمارهای BFT-۲۷٪ و BFT-۳۱٪ به‌طور معنی‌داری از سایر تیمارها بالاتر بود و کمترین رشد در تیمار BFT-۲۳٪ مشاهده شد که این مسأله شاید به‌دلیل کافی نبودن پروتئین جیره غذایی برای رشد است و با افزایش پروتئین از سطح ۲۳٪ تا ۳۱٪ میزان رشد بهبود یافت که احتمالاً به‌دلیل نزدیک شدن پروتئین جیره به میزان مناسب پروتئین برای رشد ماهی و مصرف بهینه است. دلیل آن می‌تواند این باشد که بازدهی رشد ماهی با میزان پروتئین جیره غذایی ارتباط مستقیمی دارد و در مسیرهای متابولیکی، پروتئین منبع انرژی به حساب می‌آید (Hepher, 1988)، اما با افزایش پروتئین از ۳۱٪ به ۳۵٪ ماهی با افت شاخص‌های رشد مواجه شد، دلایل این امر را می‌توان این‌طور بیان نمود که سطح بالای پروتئین در جیره باعث شده آمینواسیدهای آزاد در مایعات بدن تجمع کنند و تولید سم کرده یا اینکه مصرف انرژی توسط ماهی جهت دفع نیتروژن ممکن است باعث کاهش رشد شود (Jauncey, 1982; Vergara *et al*., 1996). شاخص ضریب تبدیل غذایی در تیمار BFT-۲۳٪ نسبت به سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (۰/۷۸±۳/۴۹) و با افزایش سطح پروتئین جیره تا میزان ۲۷ و ۳۱ درصد در تیمارهای بیوفلاکی BFT-۲۷٪ و BFT-۳۱٪، ضریب تبدیل غذایی بهبود یافت ولی با افزایش میزان پروتئین به میزان ۳۵ درصد در تیمار بیوفلاکی BFT-۳۵٪، ضریب تبدیل غذایی افزایش نشان داد. یافته‌های این تحقیق مطابق با نتایج مطالعات نجدگرامی و همکاران (Najdegerami *et al*., 2016) و عظیمی و همکاران (Azimi *et al*., 2017) می‌باشد که تأیید می‌کند افزودن یک منبع کربنی آلی مانند ملاس موجب افزایش جمعیت باکتری‌های هتروتروفی و بهبود راندمان رشد ماهی کپور معمولی می‌شود.

هر چند مطالعات قبلی اثرات مثبت بیوفلاک را روی رشد ماهی شرح داده‌اند اما مسیرهایی که آنها روی راندمان رشد اثر می‌گذارند هنوز مشخص نشده است. یک فرضیه پیشنهاد شده این است که بیوفلاک‌ها یک منبع غذایی مکمل هستند که به‌طور مداوم در سیستم پرورشی در دسترس آبزیان هستند و می‌توانند پروتئین (اسیدهای آمینه ضروری)، اسیدهای چرب چند غیر اشباعی، ویتامین‌ها و مواد معدنی را برای ماهی تولید کرده و در دسترس قرار دهند (De Schryver *et al*., 2008; Luo *et al*., 2014). آنالیز تقریبی فلاک‌های میکروبی توسعه یافته در تیمارهای آزمایشی (جدول ۴) نیز نشان داد که آنها شامل مقدار پروتئین خام (۳۰-۲۳٪) و چربی خام (۱/۲۵-۰/۶۸٪) مناسب بر پایه وزن خشک هستند و رشد بیشتر ماهیان تیمارهای BFT-۳۱٪ و BFT-۲۷٪ نسبت به سایر تیمارها را می‌توان به بالا بودن میزان پروتئین در فلاک‌های میکروبی تولید شده در این تیمارها نسبت به

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

تیمارهای دیگر نسبت داد. تفاوت در ترکیبات غذایی بین بیوفلاک‌های ناشی از سطوح مختلف پروتئین احتمالاً نه تنها مربوط به تفاوت در جامعه میکروبی است، بلکه سطح پروتئین جیره و نسبت های C/N نیز بر فعالیت های پروتئازها و آمیلازهای خارج سلولی اثر می‌گذارند. این آنزیم‌ها در بیوفلاک‌ها می‌توانند به شکست پروتئین‌ها و دیگر اجزای مغذی غذا در واحدهای کوچک‌تر اثر گذاشته و باعث تسهیل قابلیت هضم و جذب توسط ماهی شوند (Xu and Pan, 2012). همچنین تولید و توسعه فلاک‌های میکروبی موجب بازچرخش غذاهای باقیمانده و مواد دفعی و استفاده دوباره از مواد مغذی توسط ماهی شده و جذب کلی غذا را مخصوصاً در شرایط بدون تعویض آب بهبود می‌بخشد (Avnimelech, 2006; Avnimelech *et al*., 2008; Xu and Pan, 2012).

تیمارهای BFT-٪۲۷ و BFT-٪۳۱ با وجود مقدار پروتئین کمتر جیره نسبت به تیمار شاهد دارای کمترین ضریب تبدیل غذایی بودند و تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. بنابراین کاهش سطح پروتئین در جیره ماهی کپور معمولی در سیستم بیوفلاک تا مقدار ۲۷٪ ممکن و باعث کاهش هزینه‌های غذایی می‌شود. بالابودن ضریب تبدیل غذایی در تیمار BFT-٪۲۳ ممکن است مربوط به مصرف بیشتر غذا با پروتئین کم جهت جبران کمبود پروتئینی توسط ماهی با وجود پروتئین‌های میکروبی در دسترس از بیوفلاک‌ها باشد و کم بودن راندمان رشد ماهیان این تیمار نسبت به سایر تیمارها نشان‌دهنده این است که بیوفلاک تولید شده در این تیمار نمی‌تواند نیاز پروتئینی ماهی را تأمین کند (Xu *et al*., 2012).

براساس نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر، سطوح مختلف پروتئین جیره روی شاخص ضریب بازدهی پروتئین اثر گذاشته، به نحوی که افزایش سطوح پروتئین از ۲۳ به ۳۱ درصد باعث افزایش ضریب بازدهی پروتئین شده اما با افزایش پروتئین به سطح ۳۵٪ در جیره میزان این شاخص کاهش می‌یابد. این نتیجه نشان می‌دهد که پروتئین ۲۷٪ و ۳۱٪ در جیره توسط بچه‌ماهی کپور پرورشی تحت شرایط بیوفلاک به‌طور مؤثری برای سنتز پروتئین استفاده می‌شود و کاهش ضریب تبدیل غذایی در تیمار BFT-٪۳۵ عمدتاً به این علت است که وقتی ماهی از جیره‌هایی با پروتئین بالا استفاده می‌کند قسمت بیشتر پروتئین در جیره به‌عنوان منبع انرژی استفاده می‌شود (Kim *et al*., 1998). کاهش PER در اثر تغذیه ماهی از جیره با پروتئین بالا در مطالعاتی گزارش شده است (Jauncey, 1982).

تعیین سطح مناسب پروتئین جیره جهت پرورش ماهی در سیستم بیوفلاک ضروری است. به‌علت وجود فلاک‌های میکروبی و تغذیه ماهیان از آنها، استفاده از جیره‌هایی با پروتئین بالا غیرضروری و بی‌فایده است و اظهار شده که کاهش سطح پروتئین در جیره بر راندمان رشد میگوی پرورشی در سیستم بیوفلاکی بی‌تأثیر است (Ballester *et al*., 2010). همچنین عظیم و لیتل (Azim and Little, 2008) دریافتند که تغذیه ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) از جیره‌های غذایی با سطوح مختلف پروتئین و بیوفلاک موجب رشد مشابه و نرخ بقای بیشتری نسبت به تیمارهایی شد که از جیره

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

تجاری تغذیه کرده بودند. مقداد (Megahed, 2010) در تغذیه میگوی ببری سبز (*Penaeus Semisulcatus*) با جیره‌های حاوی درصدهای مختلف پروتئین دریافت که میگوی تغذیه شده با غذای حاوی پروتئین کمتر در سیستم بیوفلاک رشد بهتری را نسبت به میگوهای تیمار شاهد که از جیره تجاری با درصد پروتئین بیشتر استفاده کردند نشان دادند که این امر یعنی بهبود رشد و بقای بالا در اثر استفاده از غذا با پروتئین کمتر در سیستم پرورشی بیوفلاکی که توسط نویسندگان دیگر هم گزارش شده است (Wasielesky *et al*., 2006; Ballester *et al*., 2010).

در مورد اثرات فیزیولوژیکی احتمالی ثانویه در پرورش ماهی کپور پرورشی در سیستم بیوفلاک مطالعات اندکی انجام شده است. ارزیابی پارامترهای خونی و بیوشیمیایی اطلاعات ارزشمندی را درباره وضعیت سلامتی و فیزیولوژیکی ماهی‌ها و ارتباط آنها با خصوصیات محیط پرورشی فراهم می‌نماید. به‌همین دلیل می‌تواند اطلاعات تشخیصی قابل توجهی را در شناسایی بیماری‌ها، نوع تغذیه و تعیین شرایط بهداشتی و سلامتی ارائه دهد (Adhikari *et al*., 2004; Harikrishnan *et al*., 2011). اثر سطوح مختلف پروتئین جیره غذایی بر پارامترهای خون‌شناسی در گونه‌های مختلف مانند ماهی صبیتی، قزل‌آلا و کپور معمولی در سیستم‌های مرسوم با آب شفاف توسط برخی محققان گزارش شده است (Kim *et al*., 1998; Cheng *et al*., 2006; Barrows *et al*., 2007; Liu *et al*., 2009). اما اثر سطوح مختلف پروتئین بر پارامترهای خون‌شناسی ماهی در سیستم پرورش بیوفلاک تنها در ماهی تیلاپیا گزارش شده است (Abdel-Tawwab *et al*., 2010) و تاکنون برای ماهی کپور معمولی در سیستم پرروشی بیوفلاک مطالعه‌ای صورت نپذیرفته است.

تغییرات مشاهده شده در پارامترهای خونی بچه‌ماهیان کپور معمولی در تیمارهای آزمایشی نشان داد که سطوح پروتئینی در جیره در شرایط سیستم بیوفلاکی اثر معنی‌داری بر سلول‌های خونی، هموگلوبین و هماتوکریت بچه‌ماهی کپور معمولی دارند. تعداد سلول‌های خونی در تیمار ۳۱٪-BFT به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود. کمترین تعداد گلبول‌های سفید و گلبول‌های قرمز خون در ماهیان تیمار ۲۳٪-BFT مشاهده شد، اگر چه تعداد آنها با ماهیان تیمارهای ۲۷٪-BFT و ۳۵٪-CW تفاوت معنی‌داری نداشت. افزایش در تعداد گلبول‌های قرمز خون ممکن است به‌علت آزادسازی آنها از محل ذخیره یعنی طحال باشد (Pulsford *et al*., 1994). بنابراین به‌نظر می‌رسد که فعالیت طحال تحت تأثیر سطوح پروتئین جیره است و با افزایش سطح پروتئین جیره در تیمارهای بیوفلاکی، فعالیت طحال افزایش و تعداد گلبول‌های قرمز نیز افزایش می‌یابد. همانطور که نمودار رگرسیون در شکل ۳ ارتباط مثبت بین آنها را نشان می‌دهد. گلبول‌های سفید خون یکی از اجزای مهم دفاع غیر اختصاصی هستند که در خون، اندام‌های لنفاوی و برخی بافت‌های دیگر حضور دارند و دارای فعالیت بیگانه‌خواری و تولید آنتی‌بادی می‌باشند (Iwama and Nakanishi, 1996). تغذیه به‌طور مستقیم بر گلبول‌های

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

سفید خون ماهی تأثیر دارد و برای افزایش تولید این سلول‌های ضروری، ماهی باید از جیره با پروتئین کافی استفاده کند چون گلبول‌ها از پروتئین‌ها تشکیل شده‌اند بنابراین افزایش گلبول‌های سفید تحت تأثیر پروتئین جیره است (De Almeida Bicudo *et al*., 2009) و افزایش تعداد گلبول‌های سفید همراه با افزایش پروتئین جیره در تیمارهای بیوفلاکی (شکل ۳) نشان می‌دهد که ایمنی غیراختصاصی ماهیان که مکانیسم اصلی در برابر عوامل بیماری‌زا می‌باشد در حضور بیوفلاک و تغذیه با جیره حاوی پروتئین بیشتر تا سطح ۳۵٪ تقویت می‌گردد که این امر برای ماهیان پرورشی به‌واسطه تراکم بالا و آسیب‌پذیری به عوامل باکتریایی فرصت‌طلب ضرروری می‌باشد (Dixon and Stet, 2001).

بیشترین میزان هموگلوبین خون در ماهیان تیمار BFT-۳۵٪ مشاهده شد که با تیمار BFT-۳۱٪ و BFT-۲۷٪ اختلاف معنی‌داری نداشتند و کمترین مقدار هموگلوبین خون در ماهیان تیمار شاهد یعنی CW-۳۵٪ مشاهده شد. این نتایج نشان داد که سطح پروتئین جیره بر میزان هموگلوبین خون تأثیرگذار است. میزان هماتوکریت خون در ماهیان تغذیه شده با جیره ۳۱ درصد پروتئین در سیستم بیوفلاک به‌طور معنی‌داری از سایر تیمارها بالاتر بود، هر چند که با تیمارهای BFT-۳۵٪ و BFT-۲۷٪ تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین میزان هماتوکریت در تیمار BFT-۲۳٪ مشاهده شد. کاهش هماتوکریت می‌تواند به‌طور مستقیم در ارتباط با کاهش تعداد گلبول‌های قرمز باشد و عواملی که سبب کاهش تعداد گلبول‌های قرمز می‌گردد باعث کم شدن هماتوکریت هم می‌شوند (Banaee *et al*., 2008). بنابراین می‌توان کاهش هماتوکریت در تیمار BFT-۲۳٪ را به کاهش تعداد گلبول‌های قرمز یا انقباض آنها نسبت داد (Narain and Srivastava, 1989). همچنین ارتباط رگرسیونی هماتوکریت با سطح پروتئین جیره در تیمارهای بیوفلاکی نشان داد که بهترین میزان هماتوکریت هنگامی حاصل می‌شود که ماهی از جیره با ۲۵/۵۸٪ پروتئین تغذیه کند. در مطالعه‌ای بررسی اثر ۴ سطح مختلف پروتئین بر پارامترهای خون‌شناسی ماهی کپور معمولی انجام شد. در این مطالعه مشخص گردید که بهترین پارامترهای خونی زمانی مشاهده می‌شود که ماهی از جیره با پروتئین مناسب یعنی ۳۸٪ تغذیه شود و تغذیه با جیره‌های ۱۴ و ۵۸٪ پروتئین، کمترین تعداد سلول‌های خونی، هموگلوبین و هماتوکریت را نشان داد (Sakthivel, 1988). همچنین اثر معنی‌دار سطح پروتئین جیره بر پارامترهای خونی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) گزارش شده است (Abdel-Tawwab *et al*., 2010).

مطالعه حاضر نشان داد که میزان پروتئین کم در جیره اگر همراه با تغذیه بیوفلاکی باشد یعنی تیمار BFT-۲۳٪، اثر مشابهی با تیمار شاهد یعنی تیمار CW-۳۵٪ بر پارامترهای خونی ماهی دارد که تأثیر مثبت بیوفلاک را بر پارامترهای خونی بچه‌ماهی کپور معمولی نشان می‌دهد. ژو و پان (Xu and Pan, 2013) اظهار داشتند که تعداد کل هموسیت خون میگوی پاسفید در تیمارهای بیوفلاک به‌صورت

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد و بدون سیستم بیوفلاک است که مشابه با نتایج تحقیق حاضر است. با این وجود، نتایج مطالعات دیگری نیز نشان داد که استفاده از سیستم بیوفلاک هیچ تأثیر منفی بر پارامترهای خونی ماهی تیلاپیا نیل نداشته است (Azim and Little, 2008; Long *et al*., 2015). براساس مطالعات متعدد انجام شده در این زمینه، باتوجه به رشد سویه‌های پروبیوتیکی متعدد در سیستم بیوفلاک، عدم تعویض آب (تعویض یکی از اصلی‌ترین راههای ارتباطی آبزی با عوامل بیماری‌زا است و از سوی دیگر منجر به ایجاد نوسانات متعدد در فاکتورهای فیزیکوشیمایی آب محیط پرورش آبزی می‌شود) و همچنین پایدار بودن سیستم بیوفلاک از لحاظ دما، pH و.... استفاده از این سیستم به‌صورت مستقیم و غیر مستقیم بر پارامترهای خونی ماهی و همچنین بالا بردن سطح ایمنی آن اثرگذار خواهد بود.

سنجش سطح پروتئین‌های سرم خون شاخص مناسبی جهت بررسی وضعیت ایمنی ماهیان می‌باشد (Rezaei *et al*., 2012). تصور می‌شود که افزایش میزان آلبومین، گلوبولین و پروتئین سرم بیشتر در ارتباط با تحریک سیستم ایمنی غیر اختصاصی میزبان باشد و در پاسخ ایمنی نقش دارند (Wiegertjes *et al.,* 1996; Harikrishnan *et al*., 2011). گزارش شده است که سطح بالای پروتئین کل سرم مربوط به عملکرد خوب کبد و سایر اندام‌هایی است که پروتئین پلاسما را سنتز می‌کنند (Metwally, 2009). در مطالعه حاضر، مقدار پروتئین کل سرم و آلبومین در تیمار BFT-۳۵٪ به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود. این روند رو به افزایش پارامترهای سرم خون مانند پروتئین کل و آلبومین همراه با افزایش مقدار پروتئین جیره، در مطالعات صورت‌گرفته توسط سایر محققین بر ماهی اروپایی (Suárez *et al*., 1995)، قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Lone *et al*., 1982) و ماهی *Rhamdia quelen* (Melo *et al*., 2006) گزارش شده است.

افزایش مشاهده شده در پروتئین سرم ممکن است به‌علت افزایش اسیدهای آمینه در اثر افزایش پروتئین هضم‌شده باشد. بر طبق نظر میسرا و همکاران (Misra *et al*., 2006)، افزایش در پروتئین سرم ممکن است تا حدی مربوط به افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون که منبع اصلی تولید پروتئین سرمی مانند لیزوزیم، فاکتورهای کمپلمانی و پپتیدهای کشنده باکتریایی هستند باشد. در مطالعه حاضر باتوجه به بالابودن تعداد گلبول‌های سفید خون در تیمار BFT-۳۵٪ این فرضیه می‌تواند تأیید شود. نمودار رگرسیونی بین پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون با میزان پروتئین جیره نیز ارتباط مثبت و مستقیم بین مقادیر پروتئین کل و آلبومین سرم خون را با افزایش سطح پروتئین جیره در تیمارهای بیوفلاکی تأیید می‌کند. کاهش میزان پروتئین کل سرم و آلبومین در تیمار BFT-۲۳٪ را می‌توان به علت کاتابولیسم پروتئین‌ها در نتیجه کافی نبودن مقدار پروتئین در جیره دانست (Shoemaker *et al*., 2003).

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

پایین بودن مقدار پروتئین کل سرم خون و آلبومین تیمار BFT-۲۳٪ نسبت بـه BFT-۳۵٪ ممکـن است یک شاخص احتمالی از ضعف سیستم ایمنی این ماهیان باشد. در مطالعـه حاضـر، عـدم مشـاهده تفاوت معنی‌دار در پروتئین کل سرم و گلوبولین بین تیمار شاهد و تیمارهای بیوفلاکی نشان‌دهنده اثـر مثبت بیوفلاک بر پارامترهای ایمنی ماهی می‌باشد، چرا که بیوفلاک‌ها نه تنها منبع مواد مغـذی ماننـد پروتئین‌ها، چربی‌ها، مواد معدنی و ویتامین‌ها هستند (Ju *et al*., 2008a, b)، بلکـه دارای بـاکتری‌هـای طبیعی فعال و ترکیبات فعال زیستی مانند کلروفیل‌هـا، کارتنوئیـدها، فیتواسـترول‌هـا، بروموفنـول‌هـا، قندهای آمینه و ترکیبات ضدباکتری (Crab *et al*., 2012b) می‌باشند کـه اثـر مثبتـی بـر پارامترهـای ایمنی ماهی دارند. در مطالعه لونگ و همکـاران (Long *et al*., 2015) روی مـاهی تیلاپیـا نیـل، میـزان پروتئین سرم خون بین دو تیمار شاهد و بیوفلاکی تفاوت معنی‌داری نداشت. به‌طورکلی تفاوت در نتایج مطالعات محققین به عوامل مختلفی بستگی دارد، چرا که پارامترهای سرمی تحت تأثیر عوامـل متعـدد درونی و بیرونی مانند گونه و نژاد، دمای آب، چرخه تولید مثلی، نرخ متابولیک، سن، استرس، دوره‌هـای نوری، وضعیت تغذیه و روش مورد استفاده در تعیین این پارامترها قرار دارند.

در مجموع با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان بیان کرد که کاهش سطح پروتئین جیره بچه‌مـاهی کپور معمولی تا مقدار ۲۷٪ در سیستم پرورشی بیوفلاک نه تنها اثـر نـامطلوبی بـر رشـد و پارامترهـای خونی و بیوشیمی سرم خون بچه‌ماهیان ندارد، بلکه حتی در برخی پارامترها نتـایج بهتـری نسـبت بـه ماهیان پرورش یافته در سیستم شاهد که از جیره با ۳۵٪ پروتئین تغذیه شده بودند نشان می‌دهد.

منابع

Abdel-Tawwab M., Ahmad M.H. 2009. Effect of dietary protein regime during the growing period on growth performance, feed utilization and whole-body chemical composition of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture Research, 40: 1532-1537.

Abdel-Tawwab M., Ahmad M.H., Khattab Y.A.E., Shalaby, A.M.E. 2010. Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture Research, 298: 267-274.

Adel M., Pourgholam R., Zorriehzahra S.J., Ghiasi M. 2015. The effect of different level of *Mentha piperita* on some of the hematological, biochemical and immune parameters of *Oncorhynchus mykiss*. Iranian Scientific Fisheries Journal, 24 (1): 37-47. (In Persian).

Adhikari S., Sarkar B., Chatterjee A., Mahapatra C.T., Ayyappan S. 2004. Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

prediction of their recovery in a freshwater teleost *Labeo rohita* (Hamilton). Ecotoxicology and Environmental Safety, 58: 220-226.

AOAC. 2005. Official Methods of Analysis (18th edition). Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, Maryland, USA. 96 P.

Avnimelech Y. 2006. Bio-filters: the need for a new comprehensive approach. Aquacultural Engineering, 34 (3):172-178.

Avnimelech Y. 2012. Biofloc Technology-A Practical Guide Book, 2nd edition. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, EUA. 272 P.

Avnimelech Y., Verdegem M.C.J., Kurup M., Keshavanath P. 2008. Sustainable land based aquaculture: rational utilization of water, land and feed resources. Mediterranean Aquaculture Journal, 1: 45-55.

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: 29-35.

Azim M.E., Little D.C., Bron J.E. 2007. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C/N ratio in feed and implications for fish culture. Bioresource Technology, 99: 3590-3599.

Azimi A., Jafaryan H., Harsij M., Gholipour H., Patimar R. 2017. Effect of C/N different ratios on water quality parameters and growth performance of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings in biofloc system**.** Journal of Aquaculture Development, 10(4): 75-89. (In Persian).

Bakhshi F., Malekzadeh Viayeh R., Najdegerami E.H. 2014. The application of biofloc technology in intensive culture of Common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. Journal of Animal Environment, 6 (3): 45-53. (In Persian).

Ballester E.L.C., Abreu P.C., Cavalli R.O., Emerenciano M., Abreu L., 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.

Banaee M., Mirvagefei A.R., Rafieei G.R., Majazi Amiri B. 2008. Effect of sub-lethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. International Journal of Environmental Research, 2: 189-198.

Barrows T.F., Gaylord G.T., Stone A.J.D., Smith E.C. 2007. Effect of protein source and nutrient density on growth efficiency, histology and plasma amino acid concentration of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss* Walbaum), Aquaculture Research, 38: 1747-1158.

Blaxhall P.C., Daisley K.W. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology, 5: 771-781.

Cheng A., Chen C., Liou C., Chang C. 2006. Effects of dietary protein and lipids on blood parameters and superoxide anion production in the grouper,

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

Epinephelus coioides (Serranidae: Epinephelinae). Zoological Studies, 45 (4): 492-502.

Correia E.S., Wilkenfeld J.S., Morris T.C., Wei L., Prangnell D.I., Samocha T.M. 2014. Intensive nursery production of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* using two commercial feeds with high and low protein content in a biofloc-dominated system. Aquacultural Engineering, 59: 48-54.

Cowey C.B. 1979. Protein and amino acid requirements of finfish. In: Halver J.E., Tiews K., Bundes S. (Eds.). Finfish nutrition and fishfeed technology. Hamburg, Germany, pp: 3-16.

Crab R., Chielens B., Wille M., Bossier P., Verstraete W. 2012b. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. Aquacultural Engineering, 41: 559-567.

Crab R., Defoirdt T., Bossier P., Verstraete W. 2012a. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. Aquaculture, 356-357: 351-356.

Crab R., Kochva M., Verstraete W., Avnimelech Y. 2009. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia. Aquacultural Engineering, 40(3):105-112.

De Almeida Bicudo A.J., Sado R.Y., Cyrino J.E.P. 2009. Growth and haematology of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, fed diets with varying protein to energy ratio. Aquaculture Research, 40: 486-495.

De Schryver P., Crab R., Defoirdt T., Boon N., Verstraete W. 2008. The basics of biofocs technology: the added value for aquaculture. Aquaculture, 277(3-4): 125-137.

Dixon B., Stet R.J. 2001. The relationship between major histocom- patibility receptors and innate immunity in teleost fish. Development & Comparative Immunology, 25(8-9): 683-699.

Doumas B.T., Watson W., Biggs H.G. 1997. Albumin standards and measurement of serum albumin with bromocresol green. Clinica Chemica Acta, 258(1):21-30.

Drobkin D.R. 1945. Crystallographic and optical properties of human hemoglobin: a proposal for the standardization of hemoglobin. The American Journal of the Medical Sciences, 209: 268-70.

FAO. 2013. Fishstate plus: Universal software for fishery statistical time series (available at: www.fao.org/ fi/ statist/ fisoft/ fishplus.asp)

FAO. 2015. Global Aquaculture Production 1950-2013. http://www.fao.org /fishery /statistics /global-aquaculture-production/query /en

Hargreaves J.A. 2013. Biofloc production systems for aquaculture. SRAC Publication No. 4503: 1-12.

Harikrishnan R., Kim M.C., Kim J.S., Balasundaramb C., Heo M.S. 2011. Protective effect of herbal and probiotics enriched diet on haematological and

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

immunity status of *Oplegnathus fasciatus* (Temminck & Schlegel) against *Edwardsiella tarda*. Fish & Shellfish Immunology, 30(3): 886-893.

Hepher B. 1988. Nutrition of Pond Fishes. Cambridge Publication, Great Britain. 388 P.

Houston A.H. 1990. Blood and circulation. In: Schreck CB, Moyle PB (Eds.). Methods in fish biology. Bethesda, Meryland: American Fisheries Society. pp: 273-335.

Iwama G., Nakanishi T. 1996. The Fish Immune Dystem: Organism, Pathogen and Environment. Academic Press, New York, USA. 380 P.

Jauncey K. 1982. The effects of varying dietary protein level on the growth, food conversion, protein utilization and body composition of juvenile tilapia (*Sarotherodon mossambicus*). Aquaculture, 27: 43-54.

Ju Z.Y., Forster I., Conquest L., Dominy W. 2008a. Enhanced growth effects on shrimp, *Litopenaeus vannamei* from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet. Aquaculture Nutrition, 14(6): 533-543.

Ju Z.Y., Forster I., Conquest L., Dominy W., Kuo W.C., Horgen F.D. 2008b. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. Aquaculture Research, 39: 118-133.

Kim J.D., Kim K.S., Song J.S., Lee J.Y., Jeong K.S. 1998. Optimum level of dietary monocalcium phosphate based on growth and phosphorus excretion of mirror carp, (*Cyprinus carpio*). Aquaculture, 161: 337-344.

Kumar S., Sahu N.P., Pal A.K., Choudhury D., Yengkokpam S., Mukherjee S.C. 2005. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *L. rohita* juveniles. Fish & Shellfish Immunology, 19(4): 331-344.

Lee S., Kim K. 2005. Effect of various levels of lipid exchanged with dextrin at different protein level in diet growth and body composition of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture Nutrition, 11(6): 435-442.

Liu Y., Feng L., Jiang J., Liu Y., Zhou X. 2009. Effects of dietary protein levels on the growth performance, digestive capacity and amino acid metabolism of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio*. Var. jian). Aquaculture, 40: 1073-1082.

Lone K.P., Ince B.W., Matty A.J. 1982. Changes in the blood chemistry of rainbow trout, *Salmo gairdneri* fish, in relation to dietary protein level, and an anabolic steroid hormone, ethylestrenol. Journal of Fish Biology, 20(5): 597-606.

Long L., Yang J., Yuan L., Guan C., Wu F. 2015. Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 448: 135-141.

Luo G., Wang C., Liu W., Sun D., Li L., Tan H. 2014. Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

(*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. Aquaculture, 422-423: 1-7.

McGoogan B.B., Gatlin D.M. 1999. Dietary manipulations affecting growth and nitrogenous waste production of red drum, *Sciaenops ocellatus*: I. Effects of dietary protein and energy levels. Aquaculture, 178: 333-348.

Metwally M.A.A. 2009. Effects of Garlic (*Allium sativum*) on Some Antioxidant Activities in Tilapia Nilotica (*Oreochromis niloticus*). World Journal of Fish and Marine Sciences, 1(1): 56-64.

Megahed M.E. 2010. The effect of Microbial Biofloc on water quality, survival and growth of the green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*) fed with different crude protein levels. Journal of the Arabian Aquaculture Society, 5: 119-142.

Melo J.F.B., Lundstedt L.M., Metón I., Baanante I.V., Moraes G. 2006. Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei: Pimelodidae). Comparative Biochemistry and Physiology, 145(2): 181-187.

Misra C.K., Das B.K., Mukherjee S.C., Meher P.K. 2006. The immunomodulatory effects of tuftsin on the non-specific immune system of Indian Major carp, *Labeo rohita*. Fish & Shellfish Immunology, 20(5): 728-738.

Najdegerami E., Bakhshi F., Bagherzadeh Lakani F. 2016. Effects of biofloc on growth performance, digestive enzyme activities and liver histology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings in zero-water exchange system. Fish Physiology and Biochemistry, 42(2): 457-465.

Narain A.S., Srivastava P.N. 1989. Anemia in the freshwater teleost, *Heteropneustes fossilis*, under the stress of environmental pollution. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 43: 627-634.

Piedrahita R.H. 2003. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. Aquaculture, 226: 35-44.

Pulsford A.L., Lemaire-Gony S., Tomlinson M., Collingwood N., Glynn P.J. 1994. Effects of acute stress on the immune system of the dab, *Limanda limanda*. Comparative Biochemistry and Physiology, 109(2): 129-139.

Rahman M.M., Normawaty M.N., Shahbudin S., Kamaruzzaman Y. 2016. Coastal water quality of Tioman Island: effects of human activity and the distance from shoreline. Desalination Water Treatment, 57(1): 83-87.

Rezaei M.H., Sorinezhad A., Soltanian S., Yousefzadi M. 2012. Study on some growth parameters and hematology of *hypophthalmus Pangasianodon* by adding the Salvia macrosiphon extract to diet. Journal Aquatic Ecology, 2(2): 28-43. (In Persian).

Sakthivel M. 1988. Effects of varying dietary protein level on the blood parameters of *Cyprinus carpio*. Proceedings of the Indian National Academy of Sciences: Animal Sciences, 97: 363-366.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jair.gonbad.ac.ir at 14:22 +0430 on Sunday May 5th 2019

Shoemaker C.A., Klesius P.H., Lim C., Yildirim M. 2003. Feed deprivation of channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), influences organosomatic indices, chemical composition and susceptibility to *Flavobacterium columnare*. Journal of Fish Diseases, 26(9): 553-561.

Stirling H.P. 1985. Chemical and biological methods of water analysis for Aquaculturists. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling, Scotland. 119 P.

Suárez M.D., Hidalgo M.C., García Gallego M., Sanz A., Higuera M. 1995. Influence of relative proportions of energy yielding nutrients on liver intermediary metabolism of the European eel. Comparative Biochemistry and Physiology, 111(3): 421-428

Vergara J.M., Fernandez-Palacios H., Robaina L., Jauncey K., De La Higuera M., Izquierdo M. 1996. The effects of varying dietary protein level on the growth, fee efficiency, protein utilization and body composition of gilthead sea bream. Fisheries Science, 62: 620-623.

Wasielesky J.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: 396-403.

Watanabe T. 1988. Nutrition and Growth. In: Sheaherd C.J., Bromage N.R. (Eds.). Intensive Fish farming, BSP Professional Books. Oxford Publication, pp: 154-197.

Webster A.H., Lim C.E. 2002. Introduction to Fish Nutrition. In: Webster CD, Lim CE, (Eds.). Nutrition Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture. CABI Publishing, pp: 1-27.

Wiegertjes G.F., Stet R.J.M., Parmentier H.K., Van Muiswinkel W.B. 1996. Immunogenetics of disease resistance in fish; a comparable approach. Development Comparative Immunology, 20: 365-371.

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.

Xu W.J., Pan L.Q. 2013. Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. Aquaculture, 412: 117-124.

Xu W.J., Pan L.Q. 2014. Evaluation of dietary protein level on selected parameters of immune and antioxidant systems, and growth performance of juvenile *Litopenaeus vannamei* reared in zero-water exchange biofloc-based culture tanks. Aquaculture, 426: 181-188

Xu W.J., Pan L.Q., Zhao D.H. 2012. Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks. Aquaculture, 350-353: 147-153.

www.SID.ir