University of Guilan with collaboration of Iranian Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 6, No. 4, 2021, pages: 65-83

Evaluating the water quality changes and formation of Bio-Floc in a zero-exchange water of common carp (*Cyprinus carpio*) culture system using different ratios of carbon to nitrogen (C:N)

Rahil Hossenifar[1], Gholamreza Rafiee*[1], Ahmadali Pourbabaei[2]

1- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Alborz, Iran

2- Department of Soil Science, Faculty of Agriculture Engineering and Technology, University of Tehran, Karaj, Alborz, Iran

Received 07 September 2020 Accepted 19 December 2020

KEYWORDS

C:N ratio

Bio-Floc formation

Heterotrophic bacteria

Water quality

Common carp

ABSTRACT

The Bio-Floc has more efficacies compared to fixed Bio-film for removing the nitrogen compounds in water recirculating fish culture system. In this trial, a completely randomized experimental design was run to evaluate the roles of three different ratios of carbon to nitrogen (C:N) including 10 (treatment 10 = T_{10}), 15 (T_{15}) and 20 (T_{20}), into the carp culture systems on growth and water quality. The mean individual weight was significantly higher in T_{20} compared to the other treatments. At the end of the experiment, the fish attained from 70 to 552.8, 704.7 and 708.8 g in T_{10}, T_{15} and T_{20}, respectively. The FCR, ammonia and nitrate concentrations were significantly higher in T_{10} compared to the other treatments ($p<0.05$). Concentration of ammonia in T_{10}, T_{15} and T_{20} were 78, 29.9 and 29.9 mg/L, respectively. A depletion trend was recorded in pH in all treatments during the experimental period. The electrical conductivity (EC) and Bio-Floc formation rate increased in all treatments and was significantly higher in T_{20}. The EC of water were 1327.5, 1419.83 and 1419.83 mmos/cm in T_{10}, T_{15} and T_{20}, respectively. The rates of Bio-Floc reached to 71, 143, 163 mL/L in T_{10}, T_{15} and T_{20}, respectively. The results of this experiment indicated that using molasses to adjust C:N ratio of water at 20, enhances formation of Bio-Floc, carp growth rate and water quality in a zero-exchange water system.

*Corresponding author: ghrafiee@ut.ac.ir

دانشگاه گیلان با مشارکت انجمن آبزی‌پروری ایران

تغذیه آبزیان

سال ششم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۹، صفحات ۸۳-۶۵

"مقاله پژوهشی"

به کارگیری نسبت‌های مختلف کربن و نیتروژن ورودی به یک سازگان مدار بسته پرورش کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بدون تعویض آب و بررسی روند تغییرات کیفی آب و تشکیل رشته‌های زیستی (Bio-Floc)

راحیل حسینی فر[۱] ، غلامرضا رفیعی*[۱]، احمد علی پوربابایی[۲]

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، البرز

۲- گروه خاکشناسی، دانشکده علوم خاک، دانشگاه تهران، کرج، البرز

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۶/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۲۹

کلمات کلیدی

نسبت C:N

باکتری های هتروتروف

کیفیت آب

رشته‌های زیستی

Biofloc

کپور معمولی

چکیده

به‌کارگیری فناوری سوسپانسیون فعال متکی بر عملکرد رشته‌های زیستی (Bio-Floc)، عملکرد بهتری را در حذف ترکیبات نیتروژن‌دار در سامانه‌های مداربسته دارد. لذا، در یک طرح آماری کاملاً تصادفی شامل سه تیمار با نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن (C:N) و نسبت‌های ۱۰، ۱۵ و ۲۰ به مخازن پرورشی ماهی کپور، این عملکرد ارزیابی شد. نتایج نشان داد که افزایش وزن انفرادی در تیمار ۱۰ به‌طور معنی‌دار پایین‌تر از تیمارهای ۱۵ و ۲۰ بود (p<۰/۰۵). وزن بچه‌ماهیان از ۷۰ گرم در تیمارهای ۱۰، ۱۵ و ۲۰ به ترتیب به ۵۵۲/۸، ۷۰۴/۷ و ۷۰۸/۸ گرم رسید. ضریب تبدیل غذایی و مقدار آمونیاک و نیترات در تیمار ۱۰ به طور معنی‌دار بالاتر از تیمارهای ۱۵ و ۲۰ بود (p<۰/۰۵). مقدار آمونیاک در تیمارهای ۱۰، ۱۵ و ۲۰ به‌ترتیب mg/L ۷۸، ۲۹/۹ و ۲۹/۹ در پایان آزمایش بود. روند کاهشی pH در همه تیمارها تا پایان آزمایش مشاهده شد و در تیمار ۲۰ کمترین مقدار را نشان داد. با شروع آزمایش یک روند افزایشی در هدایت الکتریکی آب (EC) و تولید فلاک (FV) تا پایان آزمایش دیده شد و در تیمار ۲۰ بیشتر بودند (p<۰/۰۵). در پایان آزمایش، مقدار EC به ترتیب در تیمارهای ۱۰، ۱۵ و ۲۰ به ترتیب ۱۳۲۷/۵۰، ۱۴۱۹/۸۳و ۱۴۱۹/۸۳ میلی‌موس بر سانتیمتر، تولید فلاک به ترتیب mL/L ۷۱، ۱۴۳/۱۱ و ۱۶۳، مقدار بیوفلاک به ترتیب mL/L ۷۱، ۱۴۳ و ۱۶۳ رسید. نتایج این آزمایش نشان داد که در بکارگیری ملاس برای تنظیم نسبت کربن به نیتروژن، نسبت ۲۰ شرایط بهتری را برای رشد ماهی کپور، شرایط کیفی آب و تولید رشته های زیستی در سامانه بدون تعویض آب ایجاد می‌کند.

نویسنده مسئول: ghrafiee@ut.ac.ir

مقدمه

آبزی‌پروری یکی از سریع‌ترین روش‌های تولید غذا محسوب و موفقیت آن به سه شرط اساسی افزایش تولید آبزیان بدون افزایش قابل ملاحظه در بهره‌گیری از منابع طبیعی بنیادی، یعنی آب و زمین، توسعه پایدار بدون آسیب به محیط زیست و توسعه سامانه‌های با نرخ هزینه/سود منطقی و معقولی وابسته است و با رعایت این شرایط یک آبزی‌پروری پایدار اقتصادی-اجتماعی فراهم می‌شود (Avnimelech, 2008).

بیان شده است که آبزی‌پروری با آسیب‌های زیست محیطی همراه است. میزان زیاد ریزمغذی‌ها در پساب‌های پرورش ماهی، منجر به تخریب محیط زیست موجودات آبزی طبیعی می‌شود و ورود پساب مراکز آبزی‌پروری ریزموجودات بیماری-زا را افزایش می‌دهد و آن ها را وارد منابع آبی طبیعی می‌کند. حدود ۷۵٪ میزان نیتروژن و فسفر موجود در غذا مصرف نمی‌شود و به شکل مواد دفعی به آب باز می‌گردد (Rafiee and Saad, 2005). آمونیوم یکی از ترکیبات نهایی حاصل از سوخت و ساز پروتئین است که منجر به افزایش میزان نیتروژن آب مجموعه‌های آبزی‌پروری می‌شود. لذا، رفع این مشکلات در دستور پژوهشگران و تولید کنندگان این صنعت قرار گرفته است و راهکارهای زیادی در این باره ارائه شده است. به‌کارگیری سامانه‌های مداربسته متکی بر پالایش-گرهای فیزیکی و زیستی و سامانه‌هایی متکی بر عملکردهای اکوسامانه‌ای بسیاری در این خصوص طراحی و ارائه شده اند. در همه این سامانه‌های ارائه شده، کیفیت آب، برای ایجاد شرایط زیست آبزی پرورشی، با روش‌های مختلفی فیزیکی، شیمیایی و زیستی تنظیم شده است. بنابراین، یکی از راهکارهای مهم، راهکار زیستی و استفاده از عملکردهای میکروبی است. در آبزی‌پروری متراکم، نیتروژن غیرآلی به عنوان یک مشکل اساسی مطرح می‌شود. علاوه بر آمونیاک، مواد زائد آلی حاصل از موجودات مرده، غذای خورده نشده و مدفوع نیز در سامانه ایجاد مشکل می‌کنند. ترکیبات نیتروژنی مهم در سامانه‌های متراکم آبزی‌پروری آمونیاک، نیتریت و تا حدی نیترات است که به‌واسطه آن‌ها، آب آلوده می‌شود. بنابراین، افزایش تراکم و تجمع این مواد دفعی ما را ناگزیر به تعویض و یا بازیافت آب می‌کند (Ebeling et al. 2006) و به علت اینکه همیشه آب کافی برای تعویض در دسترس نیست، کاهش یا نبود آب کافی منجر به شکست آبزی‌پروری شده است. لذا، پژوهشگران بخش آبزی‌پروری، بخشی از پژوهش‌های خویش را به سمت ارائه روش‌های پرورش آبزیان بدون تعویض آب متمرکز کرده اند. عملکرد این سامانه‌ها بیشتر متکی بر واکنش‌های زیست شناختی است. در سامانه‌های بدون تعویض آب هم حذف مواد محلول سوخت و سازی و هم بازیافت مواد جامد معلق به عنوان جزء مهمی از عملکرد سامانه در نظر گرفته می‌شود و متکی بر واکنش‌های زیست‌شناختی در تصفیه پساب، بر پایه فعالیت ریزموجودات استوار است. این ریزموجودات به دو دسته اتوتروف و هتروتروف تقسیم می‌شوند. در سامانه‌های آبزی‌پروری این ریزموجودات مـواد دفـعی حاصـل از واکنش‌های سوخت و سازی از جمله آمونیاک و مدفوع را مصرف کرده و انرژی مورد نیازشان را تامین می‌کنند (Ebeling, 2012).

در عین حال نیتروفیکانت‌ها با ریزموجودات هتروتروف همزیستی دارند. رشد باکتری‌های هتروتروف میزان قابل توجهی سریع‌تر از باکتری‌های شوره‌ساز است و در رقابت برای فضا و اکسیژن بر این باکتری‌ها غلبه دارند، اما هتروتروف‌ها برای تامین انرژی خود وابسته به مواد آلی به خصوص کربن هستند. هنگامی که غلظت مواد حل شده و ذرات آلی بالا باشد، هتروتروف‌ها غلبه می‌یابند. به همین دلیل، ضروری است که منبع آب برای عملکرد باکتری‌ها، کمینه‌ای از غلظت مواد جامد معلق را داشته باشد (Ebeling, 2012). نحوه عملکرد باکتری‌های هتروترف در ایجاد پایداری اکوسامانه‌های آبی منجر به ارائه فناوری بیوفلاک شده است (Avnimelech, 2008).

در سال‌های اخیر بررسی‌ها نشان داده است که سامانه‌های سوسپانسیون فعال متکی بر عملکرد رشته‌های زیستی نسبت به سامانه‌های مداربسته متکی بر بیوفیلم ثابت برتری دارند و مشخص شده است که طی عملکرد نیتریفیکاسیون، میزان آمونیاک در مخازن پرورشی، بعد از ۱۳ روز به اوج خود می‌رسد و این میزان در روز ۲۱ به کمترین مقدار خود کاهش می‌یابد، در حالی که مقدار نیتریت در روز ۲۱ به بیشترین مقدار خود می‌رسد (Sesuk et al. 2009). بررسی‌ها نشان داده است که در سامانه‌های طبیعی نیتریفیکاسیون کامل به

طور طـبیعی طی ۴۴ روز بعد از راه‌اندازی سامانه انجام می-شود که این روش تنها در سامانه‌های آبزی‌پروری گسترده با تولید کم کاربرد دارد (Sesuk et al. 2009). سامانه‌های بدون تعویض آب متکی بر رشته‌های زیستی باید دارای سه ویژگی اساسی کنترل آمونیاک، کاهش تعویض آب و ایجاد جمعیت‌های باکتریایی پالایشگر و کاهش غذادهی طی تغذیه از رشته‌های زیستی باشند.

کمبود مواد آلی و کربن عوامل محدود کننده رشد باکتری‌های هتروتروف محسوب می‌شوند. رشد جمعیت هتروتروف‌ها زمانی که نسبت C:N حداقل به ۱۰ برسد، آغاز می‌شود. برای این کار از منابع کربن حاوی الکل، قندها، نشاسته و فیبر که تجزیه آنها از چند دقیقه تا چند ساعت طول می‌کشد، استفاده می‌شود (Lima et al. 2018). برای انتخاب منبع کربنی، باید به مواردی مانند قابلیت دسترسی، هزینه‌ها، قابلیت تجزیه زیستی و کارایی هضم باکتریایی نیز توجه کرد (Bakhshi et al. 2018). نشان داده شده است که ملاس به‌سرعت توسط باکتری‌ها جذب و بیوفلاک شکل می‌گیرد. ملاس به سادگی در آب حل، و پخش می‌شود. هتروتروف‌ها ذرات آلی معلق را که شامل ذرات مـدفوع، غـذا، موجودات ریز مـرده و غـیره هستند، به‌عنوان بستر نشست انتخاب می‌کنند و شکل-گیری بیوفیلم مترشحه توسط هتروتروف‌ها، محل مناسبی را برای زندگی قارچ ها، پروتوزواها و غیره فراهم می‌کند. ذرات آلی اطراف این مواد، لخته می‌شوند و تـولید رشته‌های زیستی فعال می‌کنند. بهترین کارایی این سامانه‌ها زمانی است که حجم رشته‌های زیستی ۵۰-۵ میلی‌لیتر در لیتر باشد (Crab et al. 2007). کپور معمولی یک ماهی همه‌چیزخوار است که قادر است از پروتئین میکروبی حاصل از فعالیت و تکثیر باکتری‌های هتروتروف، تغذیه، و خود را با زندگی در حوضچه های سوسپانسیون سازگار کند.

در استخری که غلظت مواد آلی به شکل پایدار رسیده باشد، با مخلوط شدن با آب قادر است مواد آلی را به صورت سوسپانسیون نگه دارد و از ایجاد شرایط بی‌هوازی در کف جلوگیری کند و این زمانی است که سطح ذرات معلق در محیط پرورش ماهی به ۵۰۰-۲۰۰ میلی‌لیتر در لیتر برسد. تبدیل آمونیاک به پروتئین میکروبی طی فرآیندهای میکروبی در مقایسه با فرآیند نیتریفیکاسیون نیاز کمتری به مصرف اکسیژن محلول نیز دارد (Avnimelech, 2006). این امر بیان‌گر برتری باکتری‌های هتروتروف نسبت به نیتروفیکانت‌ها در سامانه سوسپانسیون رشته‌های زیستی فعال است. علاوه بر این، نرخ رشد زی‌توده باکتری‌های هتروتروف در واحد بستر ۱۰ برابر باکتری‌های نیتروفیکانت است (Hargreaves, 2006). توجه به استدلال فوق نیاز است تا شناخت بیشتری از عملکرد و نقش غذای مصرفی در فرآیند و عملکرد باکتری‌ها در تولید رشته‌های زیستی به دست آورد و پژوهش‌های مدونی در این زمینه برای بهبود کارایی سامانه‌های پرورشی انجام شود. این امر به‌خصوص در پرورش ماهیان گرمـابی دارای اهـمیت زیادی است. پژوهش‌های متعددی درباره اثر تنظیم نسبت‌های کربن و نیتروژن تا به حال در ایران و خارج از کشور انجام شده است و مـواد مختلفی نیز بـرای تنظیم کربن و نیتروزن در سامانه‌های پرورش آبزیان مختلف از جمله ماهی کپور به کار رفته‌اند (Hargreaves, 2006; Avnimelech, 2006; Zhao et al. 2012). با توجه به اینکه نیاز است تا این اثرات بیشتر در مخازن پرورشی ارزیابی شوند و نیز تغییرات کیفی آب و روند شکل‌گیری و مقدار فلاک تشکیل شده نیز بررسی شود که در بسیاری از پژوهش-ها به این مسائل کمتر پرداخته شده است، لذا، در این پژوهش سعی شد با تنظیم نسبت کربن و نیتروژن ورودی به یک سامانه پرورش ماهی کپور معمولی، بدون تعویض آب، روند رشد ماهی و تغییرات شاخص‌های کیفی آب و تشکیل بیوفلاک در مخازن پرورشی بررسی شود.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایش

این پژوهش از اواسط اردیبهشت تا اواسط تیر ماه سال ۱۳۹۳ در کارگاه تکثیر و پرورش دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام شد. طرح آزمایش، یک طرح کاملا تصادفی شامل سه تیمار ورودی نسبت کربن/نیتروژن ۱۰، ۱۵ و ۲۰ به مخازن پرورشی ۲۰۰ لیتری بود که بر مبنای مطالعات گذشته انتخاب شدند (Rafiee and Saad, 2005). برای اختلاط مناسب آب و جلوگیری از رسوب ذرات آلی، آب کف مخزن توسط لوله متصل به پمپ به‌طور عمودی به سطح مخزن هدایت شد. برای تأمین حداقل غلظت اکسیژن به میزان ۶

میلی‌گرم در لیتر آب، از یک کمپرسور هواده مرکزی استفاده شد.

ذخیره سازی و مدیریت مخازن

بچه‌ماهیان از یک مزرعه پرورش کپور در گیلان تهیه و بعد از سازگار شدن در مخازن سازگاری و توزین به مخازن اصلی منتقل شدند. در هر واحد آزمایش ۱۵ بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزن انفرادی ۷۰ گرم ذخیره سازی شدند. برای تنظیم حجم یکسان آب در مخازن پرورشی، کاهش آب در اثر تبخیر در مخزن، با افزودن آب جبران شد. در طول دوره آزمایش، دمای آب با استفاده از یک بخاری آکواریومی در حدود ۲۳ درجه سانتی گراد حفظ شد.

تنظیم نسبت C:N ورودی به مخزن پرورشی با افزودن منبع کربوهیدرات

تنظیم نسبت‌های کربن/نیتروژن ۱۰، ۱۵ و ۲۰ ورودی به مخزن پرورشی با محاسبه کربن و نیتروژن غذا و نیز ملاس نیشکر به عنوان منبع کربوهیدرات انجام شد.

محاسبه نیتروژن ورودی به سامانه به‌طور روزانه

۱۶٪ × ۲۹٪ × مقدار غذای روزانه = مقدار نیتروژن غذا

با در نظر گرفتن ۷۰٪ ضریب دفع، مقدار نیتروژن دفعی که وارد سامانه پرورش می‌شود بصورت زیر محاسبه شد (Avnimelech, 1999):

مقدار نیتروژن غذای مصرفی روزانه × ۷۰٪ = نیتروژن ورودی به سامانه

تعویض آب و مدیریت مخازن

تعادل سطح آب با افزودن آب کاسته شده در اثر تبخیر به میزان ۱٪ روزانه حفظ شد و در تمام طول آزمایش مخازن هوادهی شد و از صفحه مشبک به عنوان آب افشان برای ایجاد جریان و هوادهی استفاده شد. دمای محل آزمایش توسط گرمکن خارجی کنترل و در حدود ۲۳ درجه سانتی‌گراد حفظ شد. ماهی‌ها با غذای ماهی کپور حاوی ۲۹٪ پروتئین، کارخانه خوراک مازندران، روزانه به میزان ۳٪ وزن بدن و در دو نوبت صبح و عصر غذادهی شدند.

محاسبه مقدار ملاس لازم

به طور تقریبی، ۵۰٪ اکثر مواد آلی از کربن تشکیل شده است. بنابراین، ۵۰٪ از ملاس افزوده شده به سامانه به عنوان کربن آلی در نظر گرفته شد. از طرفی دیگر، مواد غذایی موجود در پلت غذایی نیز حاوی ۵۰٪ کربن است. بنابراین، مقدار کربن به صورت معادله زیر محاسبه شد:

۵۰٪ × (مقدار ملاس + مقدار غذای روزانه) = کربن ورودی به سامانه

با توجه به معادلات فوق مقدار ملاس لازم برای تأمین نسبت‌های C:N ۱۰، ۱۵ و ۲۰ محاسبه شد و به طور روزانه یک ساعت بعد از غذادهی صبح به مخازن آزمایش افزوده شد (Avnimelech and Panjait, 2006).

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و تغذیه

در طول دوره آزمایش، وزن ماهیان در هر مخزن با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. شاخص‌هایی چون افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی بر اساس فرمول‌های ذیل محاسبه شد:

افزایش وزن (گرم) = میانگین وزن نهایی (گرم)- میانگین وزن اولیه (گرم)

درصد بازماندگی = تعداد ماهیان ورودی به هر مخزن- میزان مرگ و میر در طول دوره آزمایش × ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی = مقدار غذای مصرف‌شده (گرم) / (وزن نهایی (گرم)- وزن اولیه (گرم)

اندازه گیری شاخص های کیفی آب

اندازه گیری آمونیاک، نیتریت و نیترات به طور هفتگی با کیت اندازه‌گیری آمونیاک، نیتریت و نیترات (شرکت Sera GmbH) انجام شد. اکسیژن به‌طور روزانه به‌وسیله اکسیژن‌متر (مدل AZ, ۸۴۰۳) برای حفظ شرایط هوازی مناسب مخازن

بررسی شد pH و EC، روزانه به وسیله pH متر و EC متر پرتابل مدل AZ, ۸۶۸۵ اندازه گیری شد.

اندازه‌گیری کربن آلی

نمونه آب به طور هفتگی آزمایش شد. ۵۰ میلی لیتر را از نمونه سوسپانسیون حاصل از نمونه‌برداری در ارلن ریخته و از ۱۰ میلی لیتر بیکرومات پتاسیم نرمال به عنوان یک اکسید کننده قوی استفاده شد. سپس، از ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ به عنوان کاتالیزور استفاده شد. بعد از افزودن ۱۰ قطره معرف ارتوفنانیترولین، محلول حاصل با فروسولفات آمونیوم ۰/۵ نرمال تا ظهور رنگ آلبالویی تیتراسیون به‌عمل آمد. ۵۰ میلی لیتر آب مقطر به عنوان شاهد در ارلن ریخته و مطابق روش ذکر شده تا ظهور رنگ آلبالویی به عنوان شاهد تیتر شد. با توجه به میزان مصرف فروسولفات آمونیوم میزان کربن آلی در ۱ لیتر با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (APHA, 2012; Avnimelech, 2012):

کربن آلی = K / V× 1000 × n × (A – B)

A= حجم فروسولفات آمونیوم جهت تیتر شاهد

B= حجم فروسولفات آمونیوم جهت تیتر نمونه آب

n= نرمالیته فرو سولفات آمونیوم

K= مقدار کربن موجود در ماده آلی که میزان آن ۵۰٪ ماده آلی در نظر گرفته می‌شود

V= حجم نمونه مورد سنجش

اندازه‌گیری حجم فلاک‌ها (Floc Volume: FV)

حجم فلاک به طور هفتگی توسط قیف ایم هوف اندازه‌گیری شد.

اندازه گیری نیتروژن آلی

برای اندازه‌گیری نیتروژن آلی از روش کلدال استفاده شد. در این روش ابتدا میزان ۵۰ میلی‌لیتر نمونه آب در لوله هضم دستگاه کلدال ریخته، و ۴۰ میلی‌لیتر سود سوزآور ۴۰٪ به آن اضافه شد. سپس، ۲۵ میلی‌لیتر معرف اسید بوریک در یک ارلن ریخته و هر دو ظرف به مدت سه دقیقه در زیر دستگاه تقطیر قرار داده شد. در طول این مدت تمام نیتروژن موجود در لوله متساعد و در ارلن حاوی اسید بوریک جمع شد. پس از گذشت سه دقیقه، با استفاده از بورت دیجیتال حاوی اسید سولفوریک ۱٪ نرمال تا زمان ظهور رنگ آلبالویی تیتراسیون به‌عمل آمد. سپس میزان مصرف اسید سولفوریک با توجه به فرمول زیر محاسبه شد (APHA, 2012):

$$\text{نیتروژن آلی} = \frac{A \times n \times 14}{50} \times 1000$$

اندازه‌گیری TSS

برای اندازه‌گیری از روش D2540 استاندارد استفاده شد. نمونه آب هر هفته از مخازن در حال اختلاط برداشته و در بشر مدرج توزین شده ریخته شد. بشر برروی یک هم‌زن مغناطیسی قرار گرفت. پس از چند دقیقه نمونه به خوبی همگن و۵۰ میلی‌لیتر از آن درون بوته چینی ریخته شد و در آون با دمای ۱۸۰ درجه سانتی گراد به مدت دو ساعت قرار گرفت تا آب داخل آن کاملاً تبخیر شود. سپس بوته‌ها را از آون خارج کرده و در دسیکاتور گذاشته تا خنک شوند. بشرهای خنک شده، توزین شدند و بر اساس اختلاف وزن به‌دست آمده، مجموع ذرات جامد معلق در یک لیتر محاسبه شد (APHA, 2012).

تجزیه و تحلیل آماری داده ها

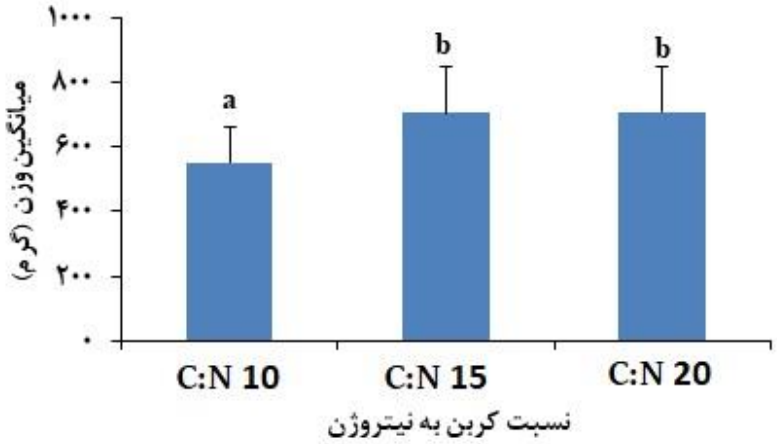
به منظور بررسی پارامتریک و یا غیرپارامتریک بودن داده‌ها از آزمون شاپیرو ویلکس استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های آزمایش به وسیله نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۲ و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل نسخه ۲۰۱۶ انجام شد. برای تحلیل داده‌های کیفی آب و شاخص‌های رشد از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و برای تعیین اختلاف معنی‌دار در میان تیمارها از آزمون چند دامنه دانکن استفاده شد. برای

شاخص‌های رشد و فراسنجه‌های کیفیت آب، عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵ بررسی شد.

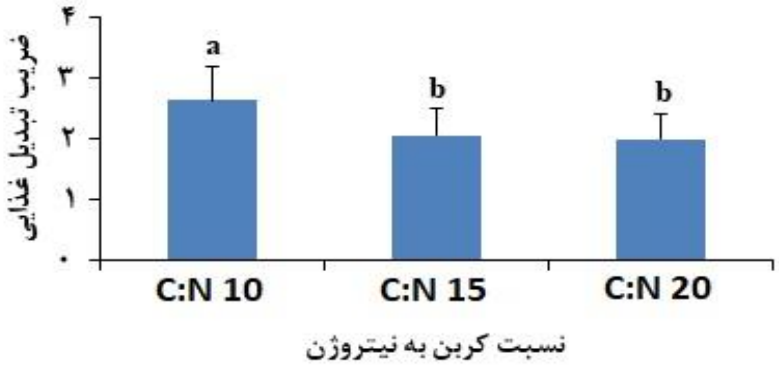
نتایج

بقا، رشد و ضریب تبدیل غذایی

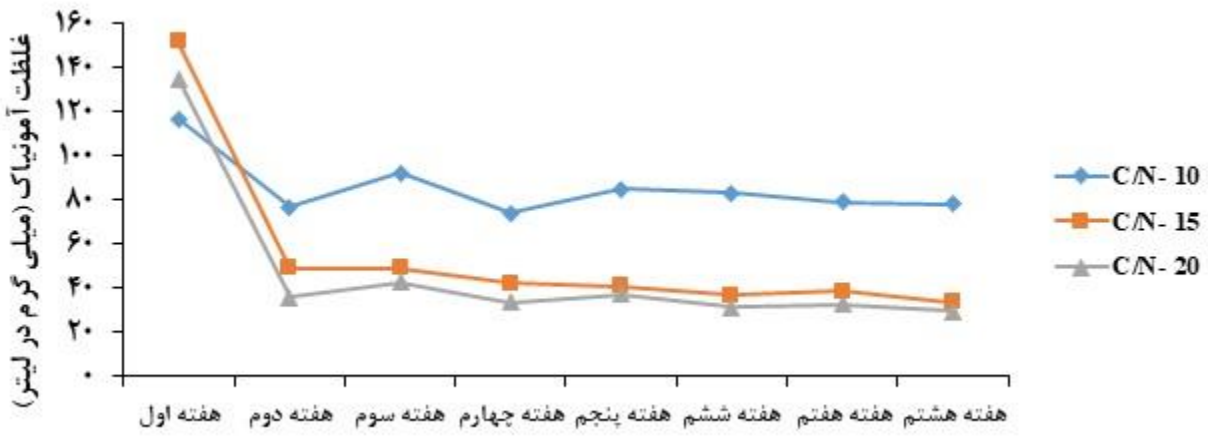
میزان بازملندگی در تمام تیمارها ۱۰۰٪ بود. لذا هیچ تفاوتی در میزان بازماندگی در تیمارهای مختلف دیده نشد. با توجه به شکل ۱ میانگین افزایش وزن در تیمار نسبت کربن به نیتروژن ۱۰ به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از تیمارهای ۱۵ و ۲۰ بود و بین دو تیمار دیگر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (p<۰/۰۵). میانگین FCR در سطح C:N ۱۰ به‌طور معنی‌دار بالاتر از سطح ۱۵ و ۲۰ بود و بین دو سطح دیگر اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (p<۰/۰۵).



شکل ۱ میانگین افزایش وزن انفرادی ماهیان در تیمارهای سطوح مختلف C:N در پایان آزمایش.



شکل ۲ مقادیر ضریب تبدیل غذایی ماهیان در تیمارهای سطوح مختلف C:N در پایان آزمایش.

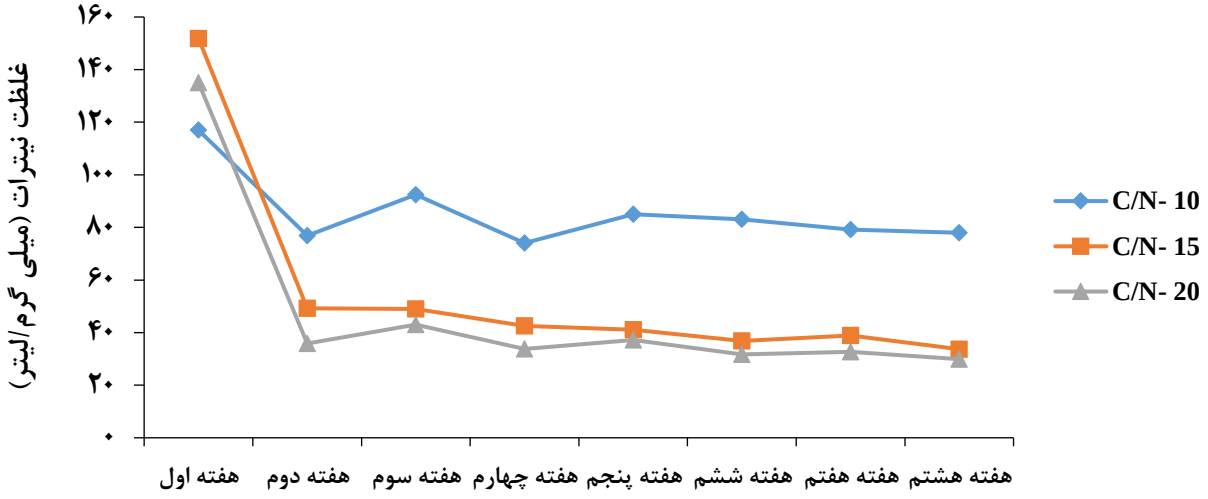


شکل ۳ تغییرات غلظت آمونیاک در تیمارهای سطوح مختلف C:N در پایان آزمایش.

میانگین آمونیاک در سطح C:N ۱۰ به‌طور معنی‌داری بالاتر از سطح ۱۵ بود و بین دیگر سطوح اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۳؛ p>۰/۰۵).

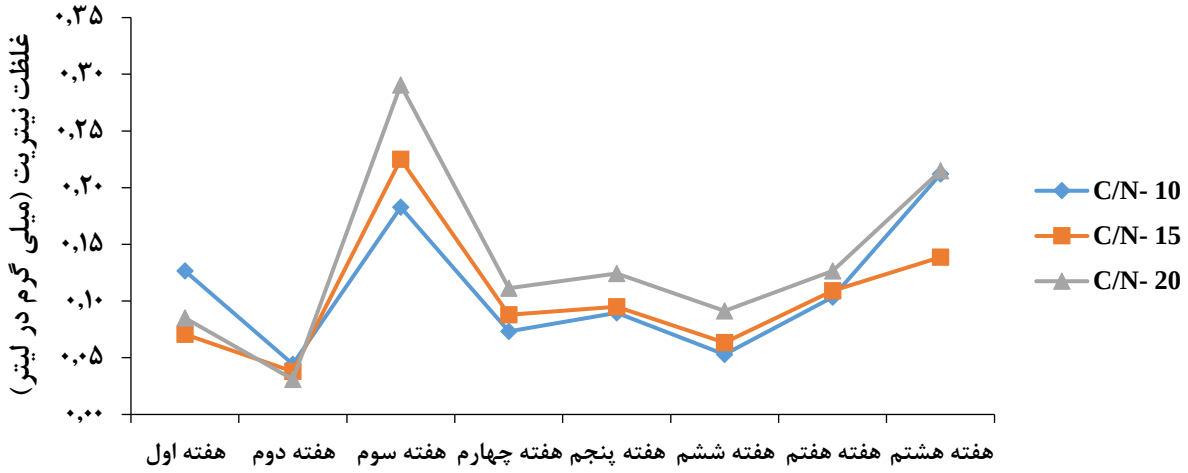
نیترات (NO_3)

تغییرات غلظت NO_3 اختلاف معنی‌داری را در بین تیمارها در طول آزمایش نشان داد (p<۰/۰۵). تغییرات NO_3 در طی هشت هفته، تحت تأثیر نسبت‌های مختلف C:N قرار داشت و بیشترین مقدار در تیمار نسبت کربن/نیتروژن ۱۰ ثبت شد (شکل ۴).



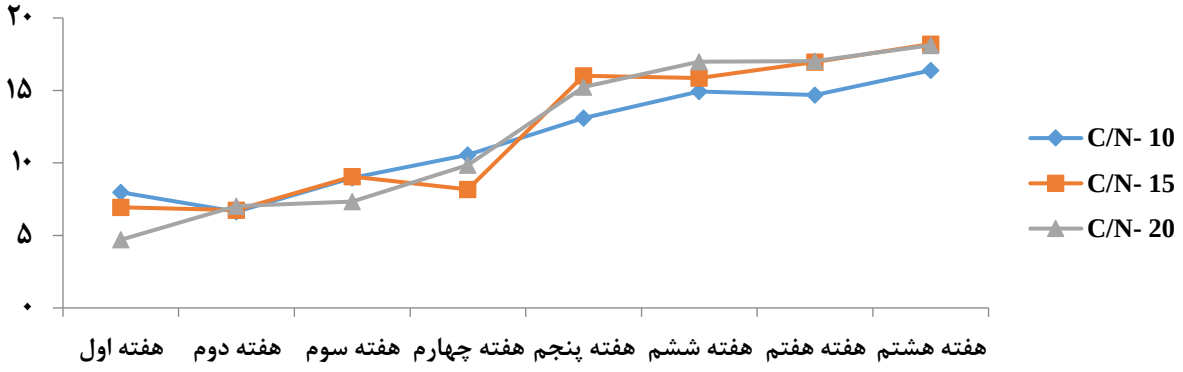
شکل ۴ تغییرات غلظت نیترات در طی هشت هفته در سطوح مختلف C:N.

تغییرات NO_2 در طی ۸ هفته، تحت تأثیر نسبت‌های مختلف C:N قرار نگرفت. شکل ۵ نیز بیان‌گر میانگین‌های NO_2 در طی ۸ هفته است.



شکل ۵ تغییرات نیتریت در تیمارهای سطوح مختلف C:N در طول دوره آزمایش.

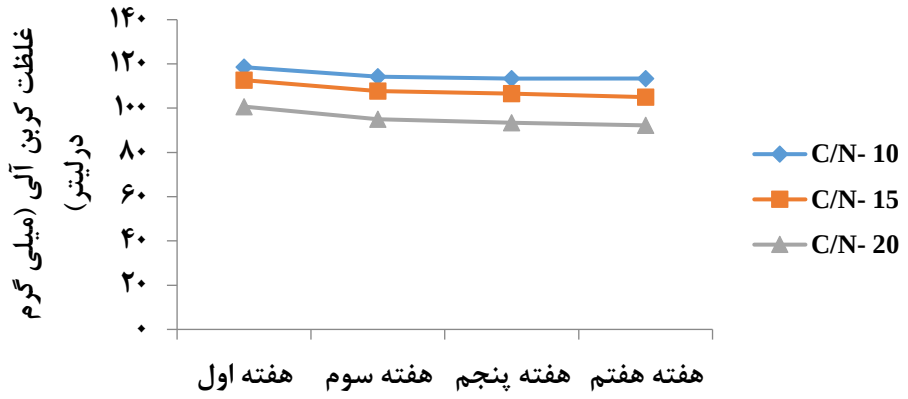
میانگین نیتروژن کل در طی آزمایش در تیمارهای مختلف افزایش یافت. بنابراین، تغییرات N در طی هشت هفته، تحت تأثیر نسبت‌های مختلف C:N قرار نگرفت (شکل ۶).



شکل ۶ میانگین تغییرات نیتروژن آلی آب در تیمارهای سطوح مختلف C:N در طول دوره آزمایش.

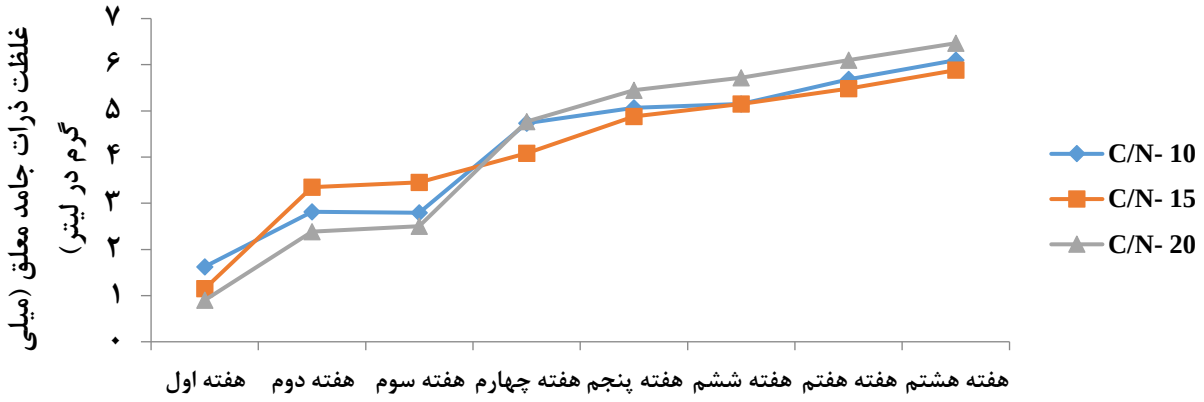
کربن آلی

تغییرات کربن آلی آب (C) در طی دوره آزمایش تحت تأثیر نسبت‌های مختلف C:N قرار نگرفت و اختلاف معنی داری را نشان نداد ولی در تیمار نسبت کربن/نیتروژن ۱۰ بیشتر بود (شکل ۷).



شکل ۷ تغییرات کربن آلی (C) در تیمارهای در سطوح مختلف C:N طول دوره آزمایش.

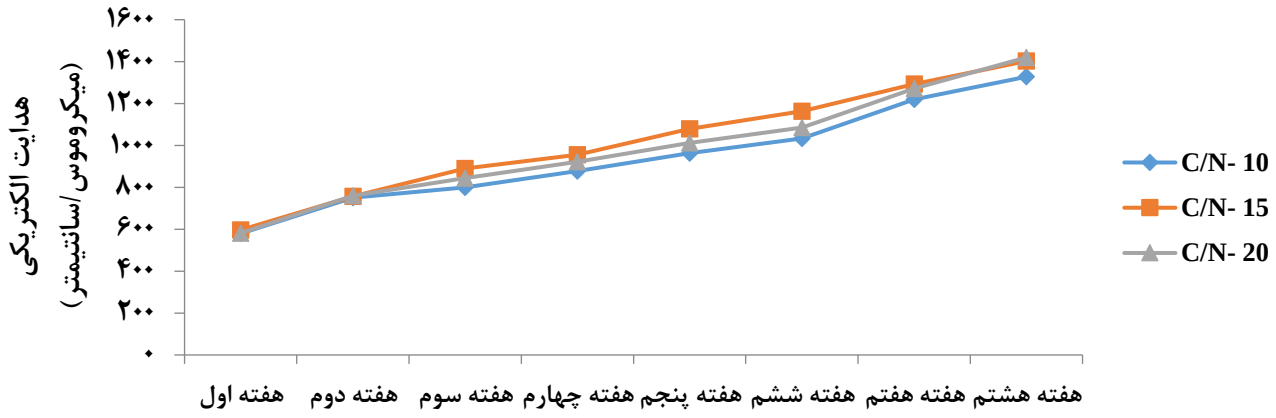
مجموع ذرات معلق جامد (TSS): تغییرات TSS در طی هشت هفته، تحت تأثیر نسبت‌های مختلف C:N قرار نگرفت و میزان آن به مرور در همه تیمارها افزایش نشان داد (شکل ۸).



شکل ۸ تغییرات ذرات معلق جامد در تیمارهای سطوح مختلف C:N طول دوره آزمایش.

هدایت الکتریکی (EC)

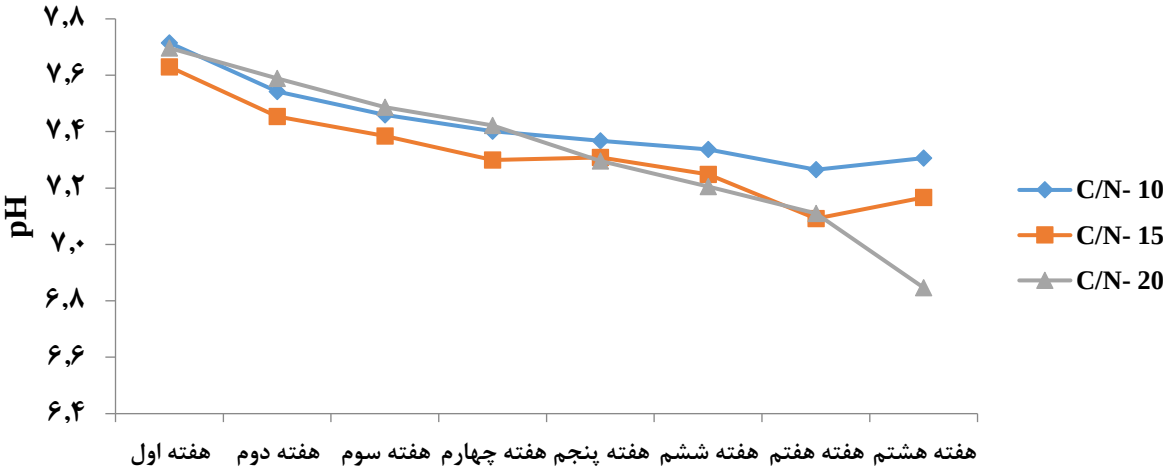
تغییرات EC در طی هشت هفته، تحت تأثیر نسبت های مختلف C:N قرار نگرفت. مقدار هدایت الکتریکی آب یک روند افزایشی را در تیمارهای مختلف در طول دوره آزمایش و تا پایان آن نشان داد.



شکل ۹ تغییرات هدایت الکتریکی آب در تیمارهای سطوح مختلف C:N در طول دوره آزمایش.

تغییرات pH

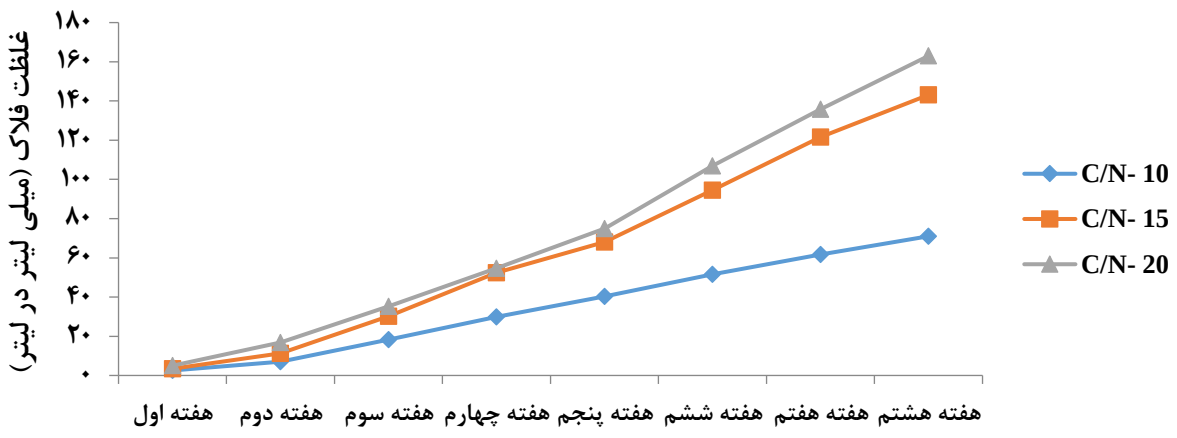
تغییرات pH در طی هشت هفته، تحت تأثیر نسبت‌های مختلف C:N قرار گرفت. همان‌طور که شکل ۱۰ نشان می‌دهد، کاهشی شدید در مقدار pH در پایان آزمایش در تیمار دارای سطح C:N ۲۰ در مقایسه با سطح ۱۰ مشاهده می‌شود و در تیمار ۱۰ با شیب ملایم‌تری روند نزولی دیده می‌شود.



شکل ۱۰ تغییرات pH در تیمارهای سطوح مختلف C:N در طول دوره آزمایش.

تغییرات حجم فلاک تولیدی (FV)

تغییرات حجم فلاک تولیدی در طی هشت هفته، تحت تأثیر نسبت‌های مختلف C:N قرار داشت. همان طور که در شکل ۱۱ مشاهده می شود، در تیمار C:N۱۰ پس از هفته دوم، روند تولید فلاک شیب افزایشی کمتری را در مقایسه با دو سطح دیگر ۱۵ و ۲۰ نشان می‌دهد. این روند تا هفته هشتم نیز ادامه داشت. مقدار بیوفلاک یا رشته‌های زیستی تشکیل شده در تیمار ۲۰ به‌طور معنی‌داری بیش از دیگر تیمارها بود (شکل ۱۱).



شکل ۱۱ میانگین تولید فلاک در تیمارهای سطوح مختلف C:N درطی دوره آزمایش.

بحث

در این پژوهش، میانگین نسبت های مختلف C:N اختلاف معنی‌داری در رشد ماهی در تیمارهای مختلف نشان داد. تیمار C:N ۱۰، میزان رشد کمتری در مقایسه با تیمارهای ۱۵ و ۲۰ داشت. افزودن منبع کربن به عنوان بستر آلی به منظور به حد نهایی رسیدن فرایندهای میکروبی انجام می‌شود تا به واسطه رسیدن جمعیت میکروبی فلاک به سطح مطلوب، سامانه به کارایی لازم برای حذف مواد زائد و تولید پروتئین میکروبی برسد (Hargreaves et al. 2006). نشان داده شده است که با غلبه هتروتروف ها در سامانه‌های دارای منابع آلی کربن‌دار، عملکرد نیتروفیکانت‌ها با مشکل مواجه می‌شود. با کاهش میزان کربن در سامانه پرورشی عملکرد کاهشی درفرایند های میکروبی هتروترف، با توجه میزان تشکیل فلاک و غلظت ترکیبات نیتروژن‌دار، به‌خوبی مشاهده شد. نشان داده شد که با افزایش میزان نسبت کربن به نیتروژن، میزان پروتئین میکروبی، به عنوان یک مکمل غذایی ارزشمند ، افزایش می‌یابد. این امر منجر به افزایش رشد ماهیان نیز در نسبت‌های بالاتر کربن به نیتروژن خواهد شد. نشان داده شده است که تبدیل آمونیاک به پروتئین میکروبی و بازیافت پروتئین از دسترس خارج شده در مقایسه با فرایند نیتریفیکاسیون نیاز کمتری به مصرف اکسیژن محلول نیز دارد (Avnimelech, 2006). این امر بیانگر برتری باکتری‌های هتروتروف نسبت به نیتروفیکانت‌ها در سامانه‌های متکی بر عملکرد رشته‌های زیستی است. علاوه بر این، نرخ رشد زی‌توده باکتری‌های هتروتروف ۱۰ برابر بیش از باکتری‌های نیتروفیکانت است (Hargreaves, 2006). بنابراین، نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که هتروتروف‌ها در مقایسه با نیتروفیکانت‌ها اثر بیشتری در فرایند رشد و بهره‌وری از غذا داشته اند. نتایج به‌دست آمده در این پژوهش منطبق با نتایج پژوهشگرانی است که عنوان کرده اند از منظر تئوری افزایش نرخ C:N به‌واسطه افزودن کربن موجب افزایش تبدیل نیتروژن غیر آلی به زی‌توده میکروبی به عنوان یک غذای در دسترس برای آبزی خواهد شد (Avnimelech, 1999; Hargreaves, 2006). تأثیر مثبت تنظیم نسبت کربن به نیتروژن در سامانه پرورشی، در تشکیل بیوفلاک و بهبود شاخص‌های رشد آبزی توسط بسیاری از پژوهشگران اثبات شده است (Hari et al. 2006; Pan, 2012). تأثیر بیوفلاک در جیره میگوی پرورشی وانامی *L. vannamei* باعث بهبود شاخص‌های رشد در این آبزی شده است (Kuhn et al. 2010). ثابت شده است که بیوفلاک منبع غنی از خیلی ترکیبات زیست فعال Bioactives نظیر کاروتنوئیدها، کلروفیل‌ها، فیتواسترول‌ها، بروموفنول‌ها و آمینوقندهاست و همچنین، دارای ترکیبات محرک ایمنی و ضدمیکروبی است که نقش مهمی در بهبود سلامت و افزایش رشد آبزیان می‌توانند داشته باشند (Ju et al. 2008; Luo et al. 2013).

گزارش شده است که فناوری بیوک نقش مهمی را در حفظ کیفیت آب در سامانه‌های پرورشی آبزیان، با حداقل تعویض آب و بدون تعویض آب و در جذب پسماندهای آلی درکف استخر توسط جمعیت متراکم میکروبی دارد. آمونیاک طی فرایند شوره‌سازی و یا جذب مستقیم توسط باکتری‌ها نیز کاهش می‌یابد. عنوان شده است که باکتری‌ها نیاز به سطحی دارند که به آن بچسبند (Crab, 2012). در سامانه‌های متکی بر رشته‌های زیستی به واسطه تشکیل فلاک‌های غنی از پروتئین، مصرف غذا نیز کاهش می‌یابد (Crab et al. 2012). با به‌کارگیری فناوری بیوفلاک، مواد مدفوعی موجود در پساب حاوی نیتروژن توسط زی‌توده میکروبی به پروتئین تبدیل می‌شود (Schneider et al. 2005). با توجه به اینکه نشان داده شده است که در سامانه‌های متراکم و نیمه متراکم به پروتئین بیشتری برای رسیدن به تولید موفق دو تا پنج برابری نیاز است (Naylor et al. 2000)، در این شرایط نیاز است با تولید پروتئین میکروبی بخشی از نیازهای پروتئینی ماهی و میگو را فراهم، و از انباشته شدن متابولیت‌ها در کف استخرها یا مخازن پرورشی جلوگیری کرد (Avnimelech, 1999).

گزارش شده است که ماهیان تیلاپیا و کپور توانایی استفاده از زی‌توده میکروبی و هضم آن را دارند (Avnimelech et al. 2012). کپور می‌تواند ذرات بزرگ‌تر از ۵۰-۲۵ میکرون را به عنوان منبع غذایی از آب فیلتر کند (Schroeder, 1978). در آزمایش حاضر، افزایش بهره‌وری غذا از طریق بازیافت پروتئین از دسترس خارج شده در غذای خورده نشده، مدفوع و مواد سوخت و سازی و تولید پروتئین میکروبی، موجب کاهش ضریب تبدیل غذایی شد که تأیید کننده نتایج به‌دست آمده در پژوهش های دیگران است (Avnimelech, 1999). در تیمارهای C:N ۱۰، ۱۵ و ۲۰به ترتیب ضریب تبدیل غذایی ۲/۶۳، ۲/۰۶ و ۲ بود و با افزایش میزان نسبت کربن به نیتروژن این مقدار کاهش یافت. افزایش رشته های زیستی و افزایش رشد انفرادی ماهی کپور در تیمار حاوی نسبت C:N ۲۰ تأکید بر نقش مهم تنظیم نسبت کربن به نیتروژن در این نوع سامانه‌های پرورشی دارد. نشان داده شده است که به‌کارگیری رشته‌های زیستی به همراه غذای کنسانتره یا تجاری، تا ۲۵٪ مصرف غذا را کاهش می‌دهد (Bakhshi et al. 2018). در مطالعه‌ای دیگری نشان داده شده است که ضریب تبدیل غذایی در تیمار فاقد بیوفلاک سه برابر تیمارهای C:N ۱۵، ۲۰ و ۲۵ بوده است. در عین حال، مقدار ضریب تبدیل غذایی بهتری در تیمار ۱۵ نسبت به تیمار ۲۰ به‌دست آمده است (Haghparast et al. 2017).

عنوان شده است که برای تولید یک کیلوگرم پروتئین در پیکر ماهی لازم است تا چهار کیلوگرم پروتئین در جیره به کار رود. این فرایند اصطلاحاً ضریب تبدیل پروتئین (PCR Protein conversion ratio =) نام دارد. در یک استخر پرورشی بعد از چهار روز غذادهی، هر متر مکعب آب حاوی ۱۲۰ گرم پروتئین خام است. از طریق ارزیابی میزان پروتئین در هر متر مکعب سوسپانسیون پروتئین می‌توان به ارزش پروتئین میکروبی تولید شده پی برد. زی‌توده باکتریایی ۶۱٪ پروتئین خام تولید می‌کند. بهره‌وری از پروتئین در سامانه‌های رشته‌های زیستی به شکل قابل ملاحظه‌ای بیش از دیگر سامانه‌های آبزی‌پروری است. در سامانه‌های رشته‌های زیستی، PCR حدود دو است که این سامانه‌ها را بسیار اقتصادی می‌کند. میانگین بهره‌وری از پروتئین در سامانه‌های رشته‌های زیستی اقتصادی ۴۶٪ است که موجب کاهش معنی‌دار FCR در این سامانه‌ها می‌شود (Avnimelech et al. 1994; Chaberlain et al. 2001).

به طور کلی، دو روش برای کشت باکتری و حذف آمونیاک وجود دارد که یکی روش فیلم ثابت (استفاده از بیوفیلتر و نیتروفیکانت‌ها) است و دیگری روش سوسپانسیون فعال است. این روش امروزه زیست فناوری رشته‌های زیستی نامیده می‌شود. در این سامانه‌ها، باکتری‌ها انرژی مورد نیاز خود را از کربن آلی، برای مثال، ملاس، شکر، آرد گندم و غیره به‌دست آورده و با جذب آمونیاک، نیتروژن لازم را به‌دست می آورند و مواد مغذی و اکسیژن را به جای اینکه از فیلم ثابت دریافت کنند، مستقیما از آب دریافت می‌کند (Avnimelech, 1999; Crab et al. 2008).

در پژوهش حاضر، روند کاهشی شدیدی از هفته اول به دوم در غلظت آمونیاک دیده شد و سپس سطح آمونیاک یک روند یکنواخت را تا پایان دوره طی کرد. میزان آمونیاک در تیمار C:N ۱۰ به‌طور معنی‌دار بیش از ۱۵ و ۲۰ بود. زی‌توده

باکتری‌های هتروتروف در واحد بستر ۱۰ برابر نیتروفیکانت‌ها است (Hargreaves, 2006). بنابراین، در تیمارهای دریافت کننده ملاس نشان داده شد که عملکرد هتروتروف ها در این تیمار بیشتر بوده است (Malone and Pfeiffer, 2006). در بیوفیلترهای متکی بر نیتریفیکاسیون بعد از ۱۳ روز میزان آمونیاک به اوج خود می‌رسد و این میزان در روز ۲۱ به کمترین مقدار خود کاهش می‌یابد. داده‌های این آزمایش، بیانگر برتری هتروتروف‌ها و غلبه آن‌ها بر نیتروفیکانت‌ها است. در این مطالعه، میزان آمونیاک در هفته اول به اوج خود رسید و در هفته دوم با یک شیب تند کاهش یافت و تا پایان دوره شرایط ثابتی داشت.

زمانی که اثر نیتریفیکانت‌ها از سامانه حذف شوند، نیتریت و آمونیوم در سامانه افزایش یافته و شاهد کاهش شدید نیترات خواهیم بود (Sesuk et al. 2009). این مطالعه نشان داد که سطح نیترات به طور معنی‌داری کاهش یافته، در حالی که میزان آمونیاک نیز کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد. در سال‌های اخیر بررسی‌ها نشان داده است که سامانه‌های سوسپانسیون رشد یا همان سامانه‌های متکی بر رشته‌های زیستی نسبت به سامانه‌های متکی بر بیوفیلم ثابت مزیت‌های بیشتری دارد (Ebeling, 2012). فعالیت نیتروفیکانت‌ها همواره در سامانه، تولید نیترات می‌کند و در سامانه‌های مختلف پرورشی با توجه به منابع کربن ورودی، سازگان پرورشی به سمت اتوتروف- کموتروف و یا مستقل هتروتروف سوق داده می‌شود (Avnimelech, 1989). بنابرین، تولید دائمی نیترات در سامانه وجود خواهد داشت. در این پژوهش، بالاترین سطح نیترات در هفته اول در تمام نسبت های C:N مشاهده شد که فعالیت نیتریفیکنت‌ها در همه تیمارها نشان داد. بالاترین میزان میانگین نیترات در تیمار C:N ۱۰ دیده شد، در حالی که کمترین میزان در تیمارهای ۱۵ و ۲۰ بود. تیمار ۱۰ کمترین توان را در تولید باکتری‌های هتروتروف داشت. بنابراین، اثر باکتری‌های احیا کننده نیترات در این سامانه‌ها کاهش یافت و به نظر می‌رسد که کاهش آمونیاک در این تیمار نسبت به دیگر تیمارها بیشتر وابسته به نیتریفیکاسیون باشد، در تیمارهای ۱۵ و ۲۰ به علت افزودن منابع آلی کربن دار بیشتر، توان تولید باکتری‌های هتروتروف و کاهش آمونیاک و تجمع نیترات دیده شد که در پژوهش‌های دیگر نیز این روند مشاهده شده است (Avnimelech, 1999 ; De Schryver et al. 2008; Megahed, 2010; Zhao et al. 2012). بنابراین، نیترات تولید شده طی نیتریفیکاسیون، توسط هتروتروف‌ها به آمونیاک مورد نیاز باکتری‌های هتروتروف احیا شد.

نیتریت یک محصول میانی در فرآیند نیتریفیکاسیون و تبدیل آمونیاک به نیترات است. همچنین محصول میانی تبدیل نیترات به آمونیاک است (Baudish, 1921; Clarke, 2008). هر چند که معمولاً نیتریت به نیترات تبدیل می‌شود، ولی عدم اکسایش زیستی نیتریت موجب افزایش سطح نیتریت شده که برای ماهی سمی است و سطوح بالای نیتریت حاکی از اختلال در فعالیت پالاینده های زیستی و عملکرد باکتری‌های نیتریفیکانت است (Ebeling , 2012) .

به طور کلی در سامانه‌های متکی بر عملکرد هتروتروف‌ها، تولید نیتریت کاهش می‌یابد (Schneider et al. 2007). در مطالعه ای که در محیط سرپوشیده انجام شد، نوسانی در سطح نیتریت و آمونیاک کل نیز گزارش شده است (Azim and Little, 2008). در مطالعه‌ای نشان داده شد که در هفته اول، افزایش نیتریت در پی افزایش آمونیاک اتفاق افتاد و باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک نسبت به باکتری‌های اکسید کننده نیتریت زودتر و بیشتر رشد کردند. جمعیت نیتروباکترها تقریباً بعد از ۲۱ روز به حدی می‌رسد که نیتریت را اکسید کرده و اثرات مضر آن را کاهش دهد (Crab et al. 2012) که با نتایج حاصل از این آزمایش مطابقت دارد. نیتریت به عنوان یک محصول میانی دائم در حال تولید و مصرف شدن است و این امر نوسانات نیتریت در سامانه را مورد تأیید قرار می‌دهد. در فناوری سوسپانسیون فعال، ترکیبات آلی وآمونیاک در بیوفیلم تولید شده، برای باکتری‌های ایجاد کننده فلاک جریان دارند. بنابراین، مواد مغذی از جمله آمونیاک به طور مداوم مورد مصرف باکتری‌ها قرار می‌گیرند و میزان آمونیاک و کربن آلی نیز کاهش می یابد. در این سامانه‌ها، باکتری‌ها انرژی مورد نیاز خود را از کربن آلی به‌دست آورده و با جذب آمونیاک، نیتروژن لازم را به‌دست می‌آورند و مواد مغذی و اکسیژن را به جای اینکه از فیلم ثابت دریافت کنند، مستقیماً از آب دریافت می‌کنند (Avnimelech, 1999). تبدیل آمونیاک به پروتئین

میکروبی در مقایسه با فرایند نیتریفیکاسیون نیاز کمتری به مصرف اکسیژن محلول دارد (Ebeling et al. 2006; Avnimelech, 2006). کربوهیدراتی که به استخر افزوده می‌شود، طی تولید پروتئین میکروبی، آمونیاک را کاهش می‌دهد. بنابراین، می‌توان از آمونیاک و نیترات تولید شده به عنوان منبع نیتروژن برای تولید باکتری‌های هتروتروف استفاده کرد. در این سامانه‌ها، همگام با کاهش یا مصرف آمونیاک و نیترات توسط با کتری‌های هتروترف، نیتروژن کل افزایش یافت که حاکی از افزایش بار باکتریایی در سامانه پرورشی است (Schneider et al. 2007). افزایش مقدار بیوفلاک تولیدی و نیتروژن آلی در تیمارهای حاوی کربن ورودی بیشتر، تأیید کننده این موضوع است. سوبسترای کربن دار که فاقد نیتروژن یا دارای مقادیر ناچیزی از نیتروژن است (مثل شکر، نشاسته، ملاس، آرد گندم)، منبع کربن را دریافت می‌کنند و قادر خواهند بود با جذب نیتروژن غیر آلی آب، به ساخت پروتئین و تکثیر سلولی بپردازند. پایه و اساس این روش سوخت و ساز کربن و بی اثر شدن نیتروژن از طریق جذب شدن برای سلول‌سازی توسط باکتری های هتروتروف است (Avnimelech, 1999; Crab et al. 2008). باکتری‌ها و دیگر ریزموجودات از کربوهیدرات شکر، نشاسته، سلولز و غیره برای تأمین انرژی و رشد استفاده می‌کنند.

بررسی میزان تغییرات کربن در طول دوره آزمایش، تنها در هفته پنجم و هفتم، اختلاف معنی‌داری را نشان داد و یک روند کاهشی در میزان کربن آلی در بین تیمارها دیده شد. با توجه به افزودن روزانه ملاس به عنوان منبع کربن به مخازن پرورشی، این روند در طی هفته‌ها (تقابل زمان) بین نسبت-های مختلف تفاوت معنی‌دار نشان نداد و تیمارهای مختلف در نسبت C:N همگی دارای روند کاهشی بودند. در بین تیمارهای مختلف، تیمار C:N ۲۰ بیشترین میزان کاهش سطح کربن را داشت. در این سامانه‌ها افزایش نسبت کربن به نیتروژن موجب افزایش جمعیت باکتریایی شد و میزان مصرف کربن به عنوان منبع انرژی، افزایش یافت و کمترین میزان کاهش کربن در تیمار ۱۰ مشاهده شد.

کمبود مواد آلی و کربن عامل محدود کننده رشد باکتری‌های هتروتروف به عنوان یک پالایشگر کارآمد است. رشد جمعیت هتروتروف‌ها زمانی اتفاق می‌افتد که نسبت C:N حداقل به ۱۰ برسد (Crab et al. 2007). نرخ تبدیل غذا به زی‌توده میکروبی به شرایط داخل استخر یا مخزن پرورشی نیز بستگی دارد. تحت شرایط هوازی، نرخ تجزیه مواد غذایی در حدود ۱۰٪-۸۰ در روز است. بنابراین، حفظ مواد آلی در شرایط هوازی برای بازیافت بهتر انرژی حائز اهمیت است (Avnimelech et al. 1995).

مجموع ذرات جامد معلق و حجم فلاک در سامانه‌های آبزی‌پروری با یکدیگر در ارتباط هستند. بیش از ۵۰٪ از مواد معلق TSS حاصل از مواد آلی را باکتری‌ها، جلبک، پلانکتون‌های جانوری و تک یاخته‌ها همراه با ذرات غذای خورده نشده و مدفوع تشکیل می‌دهند (Avnimelech, 2006). عملکرد باکتری‌ها و تولید پلیمرهای موکوسی موجب به دام افتادن این ذرات آلی شده و تولید رشته‌های زیستی تحریک می‌شود. حذف مواد جامد معلق موجب تغییر جمعیت در فراوانی نماتودها، روتیفرها، سیانوباکترها و دیگر باکتری‌ها می‌شود، در حالی که در سامانه‌های باز که فتوسنتز کننده‌ها حضور مؤثر دارند، فراوانی جمعیت کلروفیت‌ها، دیاتومه‌ها و دینوفلاژله‌ها تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد. بنابراین، مواد آلی می‌توانند در رشد جمعیت باکتریایی تعیین کننده باشند (Ray et al. 2010). در سامانه‌های سوسپانسیون فعال در محیط‌های بسته که نور عامل محدودکننده برای فیتوپلانکتون‌ها و جلبک‌هاست، این جمعیت‌ها نقش کمتری در تولید مواد جامد معلق دارند (Hargreaves, 2006). در سامانه‌های بدون تعویض آب و یا با تعویض آب اندک، میزان مواد جامد معلق TSS و FV در طی دوره افزایش می‌یابد. بررسی میزان TSS به عنوان یک مدل کلی در این تحقیق در طی دوره آزمایش یک روند افزایشی از ابتدا تا انتهای دوره را نشان داد که شیب افزایش در هفته های پایانی ملایم شد. در تیمار C:N ۱۰ پس از هفته دوم، روند افزایشی میانگین FV در مقایسه با دو تیمار دیگر از شیب کمتری برخوردار بود و این روند تا هفته هشتم نیز وجود داشت. تیمار ۱۰ به علت اینکه نسبت به دیگر تیمارها جمعیت باکتریایی کمتری داشت، بیانگر کاهش توان این تیمار در تولید فلاک بود، در حالی که تیمار ۲۰ بیشترین میزان تولید فلاک را داشت.

در شرایطی که حجم فلاک تولید شده کم باشد، بیان‌گر کمبود منبع کربن آلی مناسب برای عملکرد باکتری‌هاست

(Avnimelech, 2012) و به طور کلی زمانی که سطح TSS به ۵۰۰-۲۵۰ میلی‌لیتر برسد، اقدامات مدیریتی ضروری است (Deschryver et al. 2008). تولید TSS و حجم فلاک در سامانه‌های دارای منبع کربن در مقایسه با سامانه‌های بدون منبع کربن، به‌طور معنی‌دار بیشتر است (Liu et al. 2014).

در سامانه‌های آبزی‌پروری، با تجمع مواد آلی در شرایط هوادهی مناسب، باکتری‌ها قادر به تجزیه مواد آلی و استفاده از کربن آلی هستند (Avnimelech, 1999). در فرآیندهای تجزیه‌ای و معدنی شدن مواد آلی، میزان مواد محلول آب افزایش می‌یابد و عامل محرک تکثیر باکتری‌ها نیز افزودن مواد آلی به‌عنوان غذای آن‌ها است. جمعیت باکتری‌ها در یک استخر متراکم بدون تعویض آب حدود $۱۰^{۷}$-$۱۰^{۸}$ یاخته در هر میلی لیتر است. در برخی از مطالعات اندازه آنها بیش از $۱۰^{۹}$ یاخته در متر مکعب گزارش شده است (Burford et al. 2003; Chamberlain et al. 2001; De Schryver et al. 2008). با ازدیاد باکتری‌ها، فرایند معدنی شدن افزایش می‌یابد و یک روند افزایشی در میزان هدایت الکتریکی در کل دیده می‌شود. در پژوهش حاضر، در تمام نسبت‌های C:N یک روند افزایشی در هدایت الکتریکی دیده شد. روند افزایش هدایت الکتریکی در تیمارهای مختلف، نشان دهنده افزایش سرعت معدنی شدن مواد آلی نیز بود. گرچه مقدار هدایت الکتریکی در تیمارهای دارای کربن بیشتر، کمی افزایش نشان داد، ولی با توجه به نیاز باکتری‌های هتروترف به مواد معدنی به‌خصوص کلسیم، سرعت معدنی شدن در این تیمارها بیشتر بود. یعنی با افزایش مقدار کربن ورودی، مواد آلی بیشتری معدنی شده اند. این روند با کاهش شدید میزان pH در تیمارهای حاوی کربن بیشتر قابل اثبات است (Rafiee and Saad, 2005).

در طی دوره تغییرات pH در طی هشت هفته، تحت تأثیر نسبت های مختلف C:N، pH تحت تأثیر قرار گرفت و یک روند کاهشی در تیمارهای مختلف دیده شد. پس از هفته چهارم، میانگین pH در تیمار C:N ۲۰ در مقایسه با تیمار ۱۰ کاهش بیشتری را تا هفته هشتم نشان داد. این در حالی است که تیمار ۱۰ با شیب ملایم‌تری روند نزولی خود را طی کرد و در هفته هشتم نیز حداقل مقدار pH مربوط به تیمار ۲۰ بود. در سامانه‌هایی با تیمار ۲۰ به علت تأمین منبع کربن، افزایش رشد جمعیت‌های باکتریایی نسبت به تیمارهای ۱۰ و۱۵ مشاهده می‌شود. در سامانه‌های رشته‌های فعال زیستی، ظرفیت بافری سامانه کاهش می‌یابد و موجب کاهش pH می‌شود (Azim and Little ., 2008). از طرفی فعالیت تجزیه مواد آلی وتنفس باکتری‌های هتروتروف که موجب تولید CO_2 می‌شوند، عامل دیگری برای کاهش قلیائیت و pH در سامانه است.

ثبات بیوفلاک تولید شده در سامانه به pH وابسته است (De Schryver et al. 2008). کاهش pH در سامانه‌های رشته‌های زیستی توسط افزودن موادی همچون کربنات کلسیم یا کربنات سدیم برای تامین قلیائیت لازم است و با این روش pH در محدوده مطلوب قابل کنترل است (Haslun et al. 2012). همچنین، می‌توان برای حفظ pH در شرایطی که سامانه به سمت قلیایی شدن پیش می رود، از HCl و در شرایطی که سامانه به سمت اسیدی شدن پیش می‌رود از NaOH استفاده کرد (Schneider et al. 2007; Sesuk et al.2009).

نتیجه گیری کلی

در این پژوهش، امکان استفاده از فناوری رشته‌های زیستی در پرورش کپور معمولی با افزودن ملاس به عنوان منبع کربن و ایجاد نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن (C:N) تحت تأثیر باکتری‌های هتروتروف پرداخته شد. افزودن ملاس به عنوان منبع کربن موجب رشد جمعیت‌های باکتریایی به عنوان مصرف کنندگان نیتروژن آمونیاکی و تولیدکنندگان پروتئین میکروبی شد. لذا، در این سامانه‌ها آمونیاک کاهش یافت و تولید نیتریت و نیترات کنترل شد. همچنین، به علت تولید پروتئین میکروبی، شاخص های رشد از جمله افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی بهبود یافت. بهره گرفتن از عملکرد باکتری‌های هتروتروف به واسطه افزودن ملاس به عنوان منبع قابل دسترس، قابل انحلال در آب و ارزان نتایج خوبی در پرورش کپور و مدیریت کنترل فرآورده‌های سمی آمونیاک و نیتریت را در پی داشت. در این پژوهش چگونگی شکل گیری بیوفلاک در سامانه پرورشی به‌خوبی بررسی، و مشخص شد که بهترین نسبت به‌کارگیری کربن و نیتروژن در این سامانه‌ها

۲۰ است. با انجام این پژوهش مشخص شد که می‌توان با کاهش مصرف آب، کاهش بار پساب تولیدی و بدون مرگ و میر ماهی، یک سازگان تولید پرورش ماهی کپور بـدون تـعویض آب را با به‌کارگیری فناوری بیوفلاک به‌خصوص با نسبت کربن به نیتروژن ۲۰ ایجاد کرد. با توجه به نتایج این پژوهش، بررسی اثر تنظیم قلیائیت و pH، در سـازگان پـرورشی، در پژوهش‌های بعدی پیشنهاد می‌شود.

منابع

APHA. 1998. Standard Methods for the examination of water and waste water American Public Health Association, 874 p.

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

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

Avnimelech, Y. 2009. Biofloc Technology - A Practical Guide Book. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, 182 p.

Avnimelech, Y. Kochva, M., Diab, S. 1994. Development of controlled of intensive aquaculture systems whit a limited water exchange and adjusted carbon to nitrogen ratio. The Israeli Journal of Aquaculture 46: 119-131.

Avnimelech, Y., Panjaitan, P. 2006. Effect of carbon: nitrogen ratio control on water quality and shrimp growth in zero water exchange microcosms. Abstracts World Aquaculture, Firenze Italy.

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.

Bakhshi, F., Najdegerami, E.H., Manaffar, R., Tukmechi, A., Farah, K.R. 2018. Use of different carbon sources for the biofloc system during the grow-out culture of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. Aquaculture 484: 259-267.

Baudisch, O. 1921. The mechanism of reduction of nitrates and nitrites in processes of assimilation. Department of Chemistry, Yale University, 489-502.

Burford, M.A., Thompson, P.J., Mclntosh, R.P., Bauman, R.H., Pearson. D.C. 2003. Nutrient and microbial Dynamics in high-intensive < zero-exchange shrimp pond in belize. Aquaculture 219: 393-411.

Chamberlain, G., Avnimelech, Y., Mclntosh R.P., Velasco, M. 2001. Advantages of aerated microbial reuse systems with balanced C:N: In: nutrient Transformation and water Qualiyu benefits. Global Aquaculture Alliance Advocate 4: 53-56.

Clarke, T.A., Mills, P.C., Poock, S.R., Butt, J.N., Cheesman, M.R., Cole, A.J., Hinton, J.C.D., Hemmings, M.A., Kemp, G., Soderberg, C.A.G., Spiro, S., Wonderen, J.V., Richardson, D.J. 2008. *Escherichia coli* cytochrome C nitrate reductase Nrfa. Methods in Enzymology 437: 63-77.

Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W. 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. Aquaculture 270: 1-14

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

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

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

Ebeling, J.M. 2012. Biofiltration-Nitrification design overview. Aquaculture Engineering 43: 897-908.

Haghparast Radmard, M.M., Alishahi, M., Ghorbanpoor, M., Shahriari, A. 2017. Effects of different ratios of C:N on health and growth of Common Carp (*Cyprinus carpio*) in intensive Bio-Floc culture system. Journal of Animal Living Environment 2: 169-180.

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

Hari, B.; Kurup, B.M., Varghese, J.T., Schrama, J.W., Verdegem, M.C.J. 2006. The effect of carbohydrate addition on water quality and the nitrogen budget in extensive shrimp culture systems. Aquaculture 252: 248-263.

Haslun, J., Correia, E., Strychar, K., Morris, T., Samocha, T. 2012. Characterization of biofloc in a no water Exchange super-intensive system for the production of food size white shrimp *Litopenaeus vannamei*. International Journal of Aquaculture 2: 29-39.

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

Kuhn, D.D., Lawrence, A.L., Boardman, G.D., Patnaik, S., Marsh, L., Flick, G.J. 2010. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 303: 28-33.

Lima, E.C.R.D., Souza, R.L.D., Girao, P.J.M., Braga, Í.F.M., Correia, E.D.S. 2018. Culture of Nile tilapia in a biofloc system with different sources of carbon. Revista Ciência Agronômica 49: 458-466.

Luo, G., Gao, Q., Wang, C., Liu, W., Sun, D., Li, L., Tan, H. 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.

Malone, R.F., Pfeiffer, T.J. 2006. Rating fixed film nitrifying biofilter used in recirculating aquaculture systems. Aquaculture Engineering 34: 389-402.

Moghahed, M. 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. The Arabian Aquaculture Society 5-2: 119-142.

Pan, L.Q., Xu, W.J. 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.

Rafiee, G.H., Saad, C.R. 2005. Nutrient cycle and sludge production during different stages of red tilapia (*Oreochromis* sp.) growth in a recirculating aquaculture system. Aquaculture 244: 109-118.

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

Sasmal, S., Roy, G., Mandal. L. 2019. Studies on production of common carp (*Cyprinus carpio*) in freshwater aquaculture system. International Journal of Science and Nature 10: 107-108.

Schneider, O., Sereti, V., Eding, E.H., Verreth, J.A.J. 2005. Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. Aquacultural Engineering 32: 379-401.

Sesuk, T., Powtongsook, S., Nootong, K. 2009. Inorganic nitrogen control in a novel zero-water exchanged aquaculture system integrated with airlife-submerged fibrous nitrifying biofilters. Bioresource Technology 100: 2088-2094.

Zhao, P., Huang, J., Wang, X.H.; Song, X.L., Yang, C.H., Zhang, X.G., Wang, G.C. 2012. The application of bioflocs technology in high-intensive, zero exchange farming systems of *Marsupenaeus japonicus*. Aquaculture 354: 97-106.