

مقاله علمی - پژوهشی:

تأثیر سیستم بیوفلاک بر کیفیت آب، عملکرد رشد، شاخص‌های ایمنی و ترکیب لاشه ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) در تراکم‌های مختلف در آب لب‌شورحبیب سرسنگی علی‌آباد^۱، ابوالفضل ناجی^{۱*}، سید رضا سید مرتضائی^۲، ایمان سوری‌نژاد^۱، آرش اکبرزاده^۱

*Abolfazlnaji@gmail.com

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندر عباس، ایران.

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۹

چکیده

جهت بررسی اثر سیستم بیوفلاک بر کیفیت آب، عملکرد رشد، شاخص‌های ایمنی و ترکیب لاشه تیلاپای نیل در تراکم‌های مختلف، بچه ماهیان با میانگین وزنی $3/2 \pm 0/05$ گرم در دو تیمار تراکمی ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قطعه در متر مکعب در سیستم بیوفلاک و برای هر تراکم یک گروه شاهد، هر یک با سه تکرار ذخیره‌سازی و طی یک دوره ۵۰ روزه پرورش یافتند. نتایج نشان داد میزان یون آمونیوم در تیمارهای بیوفلاک کمتر و میزان نیتريت و نیترات بالاتر از شاهد بود. مواد جامد معلق، حجم فلاک و تعداد باکتری‌ها با افزایش تراکم، افزایش یافت. بیشترین میزان وزن نهایی (۱۲/۹ گرم)، ضریب رشد ویژه (۳/۲۱٪ در روز) و نیز کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی (۰/۹۱) در تیمار بیوفلاک با تراکم ۵۰۰ عدد در متر مکعب حاصل شد ($p < 0/05$). بازماندگی در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت ($p > 0/05$). میزان لیزوزیم، ایمونوگلوبولین و کاتالاز در تیمارهای بیوفلاک به طور معنی‌داری از شاهد متناظر بالاتر بود ($p < 0/05$). مقدار پروتئین و چربی لاشه در تیمارهای بیوفلاک از شاهد متناظر بالاتر بود، ولی این اختلافات معنی‌دار نبود ($p > 0/05$). تراکم ۵۰۰ قطعه در متر مکعب از نظر آماری، شاخص‌های مناسب‌تری در پی داشت اما با توجه به اختلاف اندک رشد و ضریب تبدیل غذایی از سویی و عدم اختلاف در میزان بازماندگی بین تراکم‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قطعه در متر مکعب و نیز بهره‌وری بالاتر از آب و فضا، تراکم ۱۰۰۰ قطعه در متر مکعب برای پرورش بچه ماهی تیلاپا در سیستم بیوفلاک پیشنهاد می‌گردد.

لغات کلیدی: تیلاپا، بیوفلاک، تراکم، ایمنی

*نویسنده مسئول

مقدمه

در سال‌های اخیر استفاده از سیستم بیوفلاک به عنوان روشی نوین و پایدار در آبی‌پروری مورد توجه قرار گرفته است. این سیستم در ابتدا برای حل مشکلات کیفیت آب ایجاد و به تدریج در آبی‌پروری نیز بکار گرفته شد. با کمک این تکنیک، مدیریت کیفیت آب بر اساس توسعه و کنترل باکتری‌ها در محیط پرورش، با تعویض آب بسیار محدود امکان‌پذیر گشت. جامعه میکروبی توسعه یافته، بیوفلاک که متشکل از باکتری‌ها، پروتوزوا، پلانکتون‌های جانوری و سایر میکروارگانیسم‌هاست، تشکیل می‌دهد (Avnimelech, 2007). در سیستم فلاک از طریق بالا بردن نسبت کربن به نیتروژن و افزایش جذب آمونیوم از طریق باکتری‌ها، از تجمع مواد سمی نیتروژنی جلوگیری می‌گردد. این جامعه میکروبی در بازچرخ مواد زاید و تغذیه مکمل برای آبی هدف نقش دارد.

مهم‌ترین عامل در طراحی یک سیستم بیوفلاک انتخاب گونه پرورشی مناسب است. تکنولوژی بیوفلاک با پرورش گونه‌هایی مانند تیلاپیا و میگو که توانایی تحمل میزان بالای ذرات معلق در آب و نیز قابلیت خوردن فلاک‌ها را به طور مستقیم دارند، دارای بهترین عملکرد است (Hargreaves, 2013). تیلاپیا یکی از گونه‌های مهم پرورشی در دنیاست که با تولیدی معادل ۸/۵ میلیون تن در سال ۲۰۱۹ بعد از کپورماهیان بالاترین تولید را به خود اختصاص داده است. این ماهی دارای ویژگی‌هایی نظیر رشد سریع، مقاومت در برابر استرس و بیماری، تراکم‌پذیری و تغذیه از سطوح پایین چرخه غذایی می‌باشد (El-Sayed, 2019). تراکم ذخیره‌سازی در سیستم بیوفلاک به صورت بسیار محدودی مورد بررسی قرار گرفته است. کارایی سیستم بیوفلاک بر کیفیت آب و عملکرد رشد تیلاپیا در تراکم‌های مختلف را Ekasari و Maryam (۲۰۱۲) ارزیابی کردند و نتایج حاکی از نوسانات بیشتر پارامترهای کیفی آب در گروه کنترل، بهبود پارامترهای رشد و بازماندگی در تراکم‌های پایین در تیمارهای بیوفلاک و کاهش میزان غذای مصرفی در تیمار بیوفلاک بود. Haridas و همکاران (۲۰۱۷) بهبود رشد و پاسخ‌های ایمنی را در تیلاپیای بهبود یافته

ژنتیکی^۱ (GIFT) در سیستم بیوفلاک با تراکم‌های مختلف ارزیابی و بیان نمودند شاخص‌های رشد به طور معنی‌داری در تراکم ۲۵۰ قطعه در متر مکعب بالاتر از سایرین و میزان لیزوزیم، کاتالاز و آنزیم‌های کبدی در تیمارهای بیوفلاک نسبت به شاهد بهبود یافت. در مطالعه دیگری Brol و همکاران (۲۰۱۷) اثر نژادهای مختلف تیلاپیا و تراکم ذخیره‌سازی را بررسی نمودند و بیان داشتند تیلاپیای GIFT برای پرورش در سیستم بیوفلاک مناسب‌تر و پرورش بچه ماهیان با وزن حدود ۳ گرم در تراکم ۸۰۰ قطعه در متر مکعب اثر منفی بر رشد نداشت. در مورد تراکم ذخیره‌سازی تیلاپیا در سیستم بیوفلاک به‌ویژه دوره انگشت‌قندی اطلاعات زیادی در دست نیست.

مطالعه بر سیستم بیوفلاک در پرورش تیلاپیا و در صورت امکان معرفی آن به جامعه آبی‌پروری اهمیت زیادی در زمینه صرفه‌جویی در مصرف آب و زمین، استفاده از جیره غذایی با پروتئین کمتر و سیستم سازگار با محیط زیست دارد و پرورش‌دهندگان ماهیان گرم‌آبی را جهت به‌کارگیری این تکنولوژی ترغیب خواهد نمود. زیرا در این سیستم بیش از ۹۵ درصد در مصرف آب، ۱۵-۲۰ درصد در مصرف غذا (Crab et al., 2012) و ۱۰-۵ درصد در میزان پروتئین جیره (Azim and Little, 2008) می‌توان صرفه جویی نمود که منجر به افزایش سود اقتصادی فعالیت آبی‌پروری می‌گردد. در ایران این تکنولوژی سابقه عملیاتی ندارد و انجام تحقیقات پایه‌ای جهت بومی‌سازی این تکنیک برای درک بهتر روابط موجود در این سیستم و نیز آشنایی با متغیرهای مهم و تاثیرگذار نظیر تراکم جهت افزایش بهره‌وری از منابع آب و انرژی ضروری است. در این تحقیق اثرات استفاده از سیستم بیوفلاک بر کیفیت آب، میزان رشد، شاخص‌های ایمنی و ترکیبات لاشه بچه ماهیان تیلاپیا در تراکم‌های مختلف در آب لب شور بررسی گردید.

مواد و روش کار

این تحقیق در مرکز تحقیقات ملی آبزیان آبهای شور واقع در کیلومتر ۱۰۰ جاده یزد بافق انجام شد. تانک‌های گرد

¹ Genetically Improved Farmed Tilapia

۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک شد و کل جامدات معلق (TSS) محاسبه گردیدند. زیتوده فلاک بر اساس تفاوت وزن کاغذ صافی قبل و بعد از فیلتر کردن و خشک کردن محاسبه گردید (Azim and Little, 2008). همچنین جهت تعیین آنالیز تقریبی لاشه ۲۰ عدد ماهی در ابتدا به عنوان لاشه اولیه و ۹ عدد ماهی از هر تیمار به طور تصادفی در انتهای آزمایش صید و پس از تخلیه امعاء و احشا با چرخ گوشت هموزن گردید. سپس مقادیر پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر آنها از روش AOAC (۱۹۹۰) اندازه‌گیری شدند. برای شمارش باکتری‌ها آب تانک به طور متوالی رقیق‌سازی شد و یک میلی‌لیتر از نمونه رقیق شده در پتری‌دیش پخش و با ۱۵ میلی‌لیتر از محیط کشت پوشش داده شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در آنکوباتور با دمای ۳۰ درجه قرار گرفت. تعداد کل باکتری‌ها به صورت $\log 10$ واحد‌های کلونی شکل ml^{-1} (Colony Forming Unit) نمایش داده شد (Arantes *et al.*, 2017). جمع‌آوری موکوس با صید تصادفی ۵ ماهی از هر تانک، انتقال آنها به کیسه‌های نایلونی حاوی ۱۰ میلی‌لیتر کلرید سدیم (۵۰ mM) به مدت ۲ دقیقه، انتقال موکوس ترشح شده به میکروتیوب و سانتریفیوژ در ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد (Ross *et al.*, 2000). لیزوزیم با روش اسپکتروفتومتریک و با استفاده از باکتری *Micrococcus lysodeikticus* به عنوان سوبسترا و لیزوزیم سفیده تخم مرغ به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد. میزان ایمونوگلوبولین کل با استفاده از پلی اتیلن‌گلیکول ۱۲٪ جهت تفریق و ته‌نشست ایمونوگلوبولین از پروتئین کل تعیین شد (Haghparsat *et al.*, 2019). همچنین جهت بررسی میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی تعداد ۵ ماهی از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب، بی‌هوش و سپس کالبد شکافی شد و نمونه‌های کبد استخراج گردید. نمونه‌های هموزن شده در ۱۲۰۰۰ دور برای ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردیدند. آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)^۲، آسپارات آمینوترانسفراز

۴۰ لیتری پلی اتیلن با ظرفیت مفید ۲۸ لیتر که هر کدام با آب لب‌شور زیر زمینی آبیگری و با یک سنگ هوای ۱۰ سانتی‌متری متصل به سیستم هوادهی مرکزی، هوادهی می‌گردید. در هر تانک یک بخاری آکواریومی (۲۵۰ وات) دمای ۲۸-۲۹ درجه سانتی‌گراد را به طور ثابت تامین نمود. برای تولید فلاک، تانک‌ها ضدعفونی، شستشو و آبیگری گردید و از کود اوره، تریپل فسفات، خاک رس، کربنات کلسیم و غذای آرد شده کپور استفاده شد (Vilani *et al.*, 2016). بچه ماهیان تیلپیا با وزن اولیه $3/2 \pm 0/05$ گرم با تراکم‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قطعه در متر مکعب در سیستم بیوفلاک و برای هر تراکم یک گروه شاهد سیستم آب شفاف، هر یک با سه تکرار در تانک‌ها رهاسازی و به مدت یک هفته طبق جدول غذادهی آنها با استفاده از غذای آغازین کپور (پروتئین ۳۸، چربی ۸، خاکستر ۱۱ و رطوبت ۶ درصد) ساخت شرکت فرادانه انجام شد. پس از طی مرحله سازگاری، میزان غذا برای هر تیمار محاسبه و به صورت روزانه در ظرف‌های مجزا توزین و در سه وعده در ساعات ۰۷:۰۰، ۱۱:۰۰ و ۱۵:۰۰ به ماهیان داده شد (Mirzakhani *et al.*, 2019). میزان تعویض آب در تیمارهای بیوفلاک ۵-۲ درصد در روز و در تیمارهای شاهد ۵۰-۱۰۰ درصد در روز انجام شد (Avnimelech, 2011). ملاس مورد نیاز برای تولید فلاک با نسبت کربن به نیتروژن ۱۵ به ۱ با توجه به میزان غذای هر تیمار محاسبه و پس از حل کردن در یک لیتر آب تانک به صورت یکنواخت به هر تیمار اضافه شد. فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب شامل اکسیژن، pH، دما و شوری با استفاده از دستگاه پرتابل Hach مدل HQ30d به صورت روزانه اندازه‌گیری شدند. آمونیاک، نیتريت و نیترات به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (Perkin Elmer lambda 25) به صورت هفتگی اندازه‌گیری شدند. حجم فلاک با استفاده از بشر یک لیتری و استوانه مدرج ۵۰ سی‌سی، دوبار در هفته ارزیابی گردید (Hargreaves, 2013). برای محاسبه میزان کل جامدات معلق^۱ ۵۰۰ میلی‌لیتر از آب هر تانک از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد، کاغذ صافی در آون با دمای

² Alanine aminotransferase
۱۷۷

¹ Total Suspended Solids

متغیرهای مورد بررسی در بین تیمارها از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) استفاده گردید. از آزمون دانکن به عنوان آزمون تعقیبی جهت مقایسه میانگین تیمارها استفاده شد. آنالیزهای آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده است.

نتایج

دمای آب در محدوده ۲۸-۲۹ درجه سانتی گراد برای تمام تیمارها در طول دوره آزمایش حفظ گردید. بالاترین میزان اکسیژن محلول (۷/۷ و ۷/۴ میلی گرم در لیتر) به ترتیب در تیمارهای شاهد با تراکم ۵۰۰ و ۱۰۰۰ عدد در متر مکعب و بالاتر از بیوفلاک متناظر ثبت شد. تغییرات میانگین pH در دامنه ۷/۷-۸/۰۵ و در تیمارهای بیوفلاک پایین تر از شاهد بود. بیشترین میزان آمونیوم (۱۰/۳۸) در تیمار شاهد با تراکم ۱۰۰۰ عدد در متر مکعب و کمترین میزان در تیمار بیوفلاک با تراکم ۵۰۰ عدد در متر مکعب به دست آمد. مقادیر نیتريت در تیمارهای بیوفلاک بالاتر از شاهد بود و بالاترین میزان نیتريت در تیمار بیوفلاک با تراکم ۱۰۰۰ عدد در متر مکعب (۰/۳۶) و پایین ترین میزان در تیمار شاهد (۰/۰۲) ثبت گردید. بالاترین و پایین ترین میزان نیتريت (۵/۲۷ و ۱/۸۶) به ترتیب در تیمار بیوفلاک ۱۰۰۰ عدد در متر مکعب و شاهد ۵۰۰ عدد در متر مکعب مشاهده شد. در هر دو تیمار تراکمی میزان نیتريت در تیمارهای بیوفلاک بالاتر از شاهد بود. میزان آب مصرفی در طول دوره پرورش در تیمارهای بیوفلاک بسیار پایین تر از تیمارهای شاهد بود و بالاترین نسبت مصرف آب به ازاء واحد تولید در تیمار ۵۰۰ عدد در متر مکعب (۱۲/۰۲) و پایین ترین نسبت مربوط به تیمار بیوفلاک با تراکم ۱۰۰۰ عدد در متر مکعب (۰/۳۱) ثبت گردید. مواد جامد معلق، حجم فلاک و تعداد باکتری ها در تیمارهای بیوفلاک به طور معنی داری بالاتر از شاهد متناظر بود و با افزایش تراکم و طول دوره افزایش یافت ($p < 0.05$). مقادیر (میانگین $\pm$ انحراف معیار) برخی از پارامترهای رشد و تغذیه بچه ماهیان تیلاپیا طی دوره آزمایش تحت

(AST)^۱ با استفاده از روش IFCC^۲ (Bergmeyer et al., 1978) و آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP)^۳ با استفاده از روش (DGKS, 1972)^۴ و کیت های تشخیصی طبی شرکت پارس آزمون (ایران، تهران) و به روش فتومتریک اندازه گیری شد. برای آگاهی از عملکرد رشد و محاسبه میزان غذای مورد نیاز، هر ۷ روز یکبار عملیات زیست سنجی ماهی ها با اندازه گیری وزن کل ماهیان در هر تانک انجام شد. اما در ابتدا و انتهای آزمایش طول کل به کمک تخته مخصوص زیست سنجی با دقت ۱ میلی متر و وزن انفرادی با ترازوی دیجیتال AND ساخت ژاپن با دقت ۰/۱ گرم اندازه گیری گردید. در پایان آزمایش فاکتورهای رشدی و تغذیه ای از قبیل ضریب رشد ویژه (SGR)^۵، ضریب تبدیل غذایی (FCR)^۶، نرخ بازده پروتئین (PER)^۷، راندمان پروتئین تبدیلی (PCE)^۸، فاکتور وضعیت (CF)^۹، آب مصرفی (WC)^{۱۰} و بازماندگی (Survive) از طریق روابط ذیل محاسبه شدند (Houlihan et al., 2008):

طول دوره آزمایشی / (وزن اولی - وزن نهایی) $\times \ln = SGR$

افزایش وزن بدن / مقدار غذای خورده شده = FCR

گرم افزایش وزن حاصله به ازای هر گرم پروتئین مصرفی = PER

گرم افزایش پروتئین به ازای ۱۰۰ گرم پروتئین مصرفی = PCE

طول / وزن $\times 100 = CF$

بی و مسم تولیدی شدی / آب مصرف شده = WC

۱۰۰ $\times$ تعداد اولی / تعداد نهایی = Survive (%)

داده ها با نرم افزارهای اکسل و اسپیس اس تجزیه و تحلیل شدند. پس از کنترل همگنی واریانس ها با آزمون levense و نرمال بودن داده ها بوسیله آزمون Kolmogorov-smirnov برای تجزیه و تحلیل

¹ Aspartate aminotransferase

² International federation of clinical chemistry

³ Alkaline phosphatase

⁴ Deutsche Gesellschaft fur Klinische Chemie

⁷ Specific Growth Rate

⁸ Feed Conversion Ratio

⁸ Protein Efficiency Ratio

⁹ Protein Conversion Efficiency

¹⁰ Condition Factor

¹¹ Water consumption

تأثیر وجود یا فقدان بیوفلاک در سیستم و نیز تراکم‌های متفاوت در جدول ۱ ارائه شده است که بر اساس آن تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف آزمایش مشاهده گردید ($p < 0.05$).

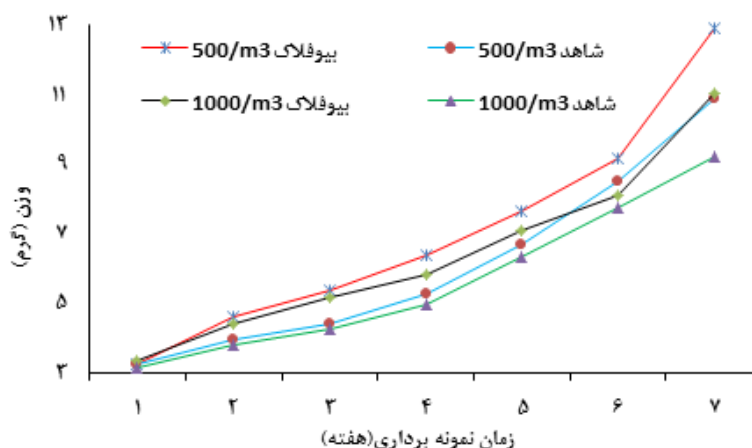
جدول ۱: مقادیر (میانگین $\pm$ انحراف معیار) برخی از پارامترهای رشد و تغذیه بچه ماهیان تیلپیا طی دوره آزمایش

Table 1: Mean ($\pm$ SD) growth performances and feed utilization of *O. niloticus* fry during the experiment

تیمار	بیوفلاک ($500/m^3$)	شاهد ($500/m^3$)	بیوفلاک ($1000/m^3$)	شاهد ($1000/m^3$)
وزن اولیه (گرم)	$3/2 \pm 0/15^a$	$3/2 \pm 0/10^a$	$3/1 \pm 0/10^a$	$3/1 \pm 0/10^a$
وزن نهایی (گرم)	$12/9 \pm 0/30^a$	$10/9 \pm 0/35^b$	$11/1 \pm 0/26^b$	$9/3 \pm 0/36^c$
ضریب رشد ویژه (% در روز)	$3/21 \pm 0/07^a$	$2/84 \pm 0/01^b$	$2/77 \pm 0/06^b$	$2/53 \pm 0/11^c$
ضریب تبدیل غذایی	$0/91 \pm 0/01^d$	$1/13 \pm 0/01^b$	$0/95 \pm 0/01^c$	$1/21 \pm 0/01^a$
فاکتور وضعیت	$1/76 \pm 0/02^{ab}$	$1/57 \pm 0/01^b$	$1/79 \pm 0/12^a$	$1/60 \pm 0/02^{ab}$
نرخ بازده پروتئین	$2/67 \pm 0/06^a$	$2/26 \pm 0/15^b$	$2/26 \pm 0/13^b$	$1/95 \pm 0/11^b$
راندمان پروتئین تبدیلی	$48/5 \pm 2/3^a$	$36/9 \pm 3/17^b$	$37/9 \pm 2/69^b$	$32/3 \pm 1/46^b$
بازماندگی (%)	100^a	$94/8 \pm 8/9^a$	$97/4 \pm 2/2^a$	$98/7 \pm 2/2^a$
مصرف آب (گرم ماهی / لیتر)	$0/47^a$	$12/02^b$	$0/31^a$	$7/4^c$

اعداد با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار می باشند ($p \leq 0.05$).

بیشترین میزان وزن نهایی ($12/9$ گرم)، ضریب رشد ویژه ($3/21$ درصد در روز)، بازماندگی (درصد 100) و نیز کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی ($0/91$) در تیمار بیوفلاک با تراکم 500 عدد در متر مکعب حاصل شد. تغییرات وزنی بچه ماهیان تیلپیا در طول دوره آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱: تغییرات وزنی بچه ماهیان تیلپیا در طول آزمایش

Figure 1: Changes in weight gain of *O. niloticus* fry during the experiment

فاکتور وضعیت در هر دو تیمار بیوفلاک بالاتر از شاهد متناظر بود ولی اختلافات معنی‌دار نبودند ($p > 0.05$). بالاترین نرخ بازده پروتئین ($2/67$) و راندمان پروتئین تبدیلی ($48/5$) در تیمار بیوفلاک با تراکم 500 عدد در متر مکعب مشاهده شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0.05$) و در هر دو تراکم، بیوفلاک

تیمار تراکمی مقدار پروتئین و چربی بیوفلاک‌ها از شاهد متناظر بالاتر بود ولی این اختلافات معنی‌دار نبود ($p>0/05$). میزان خاکستر و رطوبت در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نداشت ($p>0/05$).

کارایی بهتری نسبت به شاهد نشان داد. بازماندگی در تیمارهای مختلف ۹۴/۸-۱۰۰ درصد متغیر بود اما این اختلافات معنی‌دار نبود ($p>0/05$). نتایج ترکیب لاشه بچه ماهیان پرورش یافته در سیستم بیوفلاک و شاهد در تراکم‌های مختلف در جدول ۲ ارائه شده است. در هر دو

جدول ۲: مقادیر (میانگین $\pm$ انحراف معیار) ترکیب لاشه بچه ماهیان پرورش یافته در سیستم بیوفلاک و شاهد در تراکم‌های مختلف
Table 2: Proximate composition (Mean $\pm$ SD) of *O. niloticus* fry under different stocking densities in biofloc system and control

تیمار	پروتئین	چربی	خاکستر	رطوبت
بیوفلاک ($500/m^3$)	$66/86 \pm 0/58^a$	$20/97 \pm 0/22^a$	$14/55 \pm 0/51^a$	$72/69 \pm 0/47^b$
شاهد ($500/m^3$)	$66/05 \pm 0/21^{ab}$	$19/59 \pm 0/55^{ab}$	$14/37 \pm 0/55^a$	$73/80 \pm 0/43^{ab}$
بیوفلاک ($1000/m^3$)	$66/09 \pm 0/55^{ab}$	$20/84 \pm 0/85^a$	$14/56 \pm 0/50^a$	$73/58 \pm 0/16^{ab}$
شاهد ($1000/m^3$)	$65/44 \pm 0/51^b$	$19/12 \pm 0/37^b$	$14/78 \pm 0/26^a$	$73/84 \pm 0/55^a$

اعداد با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار می باشند ($p \leq 0/05$).

آسپارات آمینوترانسفراز (AST) در تیمار بیوفلاک ۵۰۰ عدد در متر مکعب اختلاف معنی‌داری را با شاهد متناظر نشان داد اما در تراکم بالاتر این اختلافات معنی‌دار نبود. هر چند میزان آن در تیمار بیوفلاک پایین‌تر از شاهد بود. میزان آلکالین فسفاتاز (ALP) در تیمارهای بیوفلاک بالاتر از شاهد متناظر بود و در تراکم پایین این اختلاف معنی‌دار بود.

نتایج آنالیز فاکتورهای ایمنی موکوسی و آنزیم‌های کبدی بچه ماهیان پرورش یافته در سیستم بیوفلاک و شاهد در تراکم‌های مختلف در جدول ۳ ارائه شده است. میزان لیزوزیم، ایمونوگلوبولین و کاتالاز در تیمارهای بیوفلاک به طور معنی‌داری از شاهد متناظر بالاتر بود ($p < 0/05$). میزان آنزیم کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در تیمارهای بیوفلاک پایین‌تر از تیمارهای شاهد متناظر بود، ولی این اختلافات در سطح ۹۵ درصد معنی‌دار نبود.

جدول ۳: نتایج آنالیز فاکتورهای ایمنی موکوسی و آنزیم‌های کبدی بچه ماهیان پرورش یافته در سیستم بیوفلاک و شاهد در تراکم‌های مختلف
Table 3: Mucus innate immunity and liver enzyme activity of *O. niloticus* fry under different stocking densities in biofloc system and control

تیمار	لیزوزیم	ایمونوگلوبولین	کاتالاز	AST	ALT	ALP
بیوفلاک ($500/m^3$)	$37/16 \pm 2/02^a$	$54/66 \pm 2/21^a$	$138/5 \pm 3/9^a$	$38/7 \pm 2/6^b$	$14/8 \pm 1/4^a$	$8/9 \pm 0/4^a$
شاهد ($500/m^3$)	$11/66 \pm 1/52^b$	$38/04 \pm 2/06^b$	$109/8 \pm 5/5^b$	$45/3 \pm 0/6^a$	$19/6 \pm 3/2^a$	$5/5 \pm 0/6^b$
بیوفلاک ($1000/m^3$)	$33/08 \pm 3/50^a$	$48 \pm 4/48^a$	$129/3 \pm 3/9^a$	$41/8 \pm 1/5^{ab}$	$15/7 \pm 1/6^a$	$8/1 \pm 0/8^{ab}$
شاهد ($1000/m^3$)	$13/66 \pm 1/52^b$	$35/18 \pm 4/48^b$	$114/9 \pm 3/4^b$	$46/9 \pm 3/4^a$	$21/2 \pm 3/8^a$	$6/6 \pm 1/8^{ab}$

اعداد با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار می باشند ($p \leq 0/05$).

با استفاده از حداقل تبادل آبی، شناخته شده است (Avnimelech, 2011). در تحقیق حاضر میزان آب مصرفی بیانگر این نکته است که سیستم بیوفلاک قادر

امروزه تکنولوژی بیوفلاک به عنوان یکی از سیستم‌های پرورش متراکم آبزیان، مبتنی بر مدیریت استخر پرورشی

بحث

است تا ۹۵ درصد مصرف آب را کاهش دهد و با به‌کارگیری تراکم‌های پرورشی بالاتر، کارایی استفاده از آب بهبود می‌یابد که با نتایج سایر محققین (Avnimelech, 2012; Ekasari and Maryam, 2007) همخوانی دارد. بررسی پارامترهای کیفی آب نشان داد در تمامی تیمارها شرایط پرورشی در محدوده قابل قبول برای تیلاپیا بود (El-Sayed, 2019). میزان اکسیژن محلول و pH در تیمارهای بیوفلاک کمتر از شاهد متناظر و در تراکم‌های بالاتر، میزان اکسیژن و pH کاهش داشت. این کاهش به دلیل حضور جامعه هتروتروفیک و تنفس بالاتر است که غلظت دی اکسید کربن را در سیستم‌های بدون تعویض آب افزایش می‌دهد (Wasielesky et al., 2006). میزان آمونیم در تیمارهای بیوفلاک و کم تراکم، پایین‌تر از شاهد متناظر و تراکم بالا بود که به دلیل افزودن روزانه کربوهیدرات به سیستم بیوفلاک و تحریک رشد باکتری‌های هتروتروف و نهایتاً هضم از طریق بیومس باکتریایی در سیستم بیوفلاک، غلظت آمونیاک کاهش می‌یابد (Avnimelech, 1999).

میزان نیتريت در تیمارهای بیوفلاک بالاتر از شاهد بود و در این تیمارها ابتدا نیتريت افزایش و سپس کاهش یافت. افزایش ابتدای دوره به دلیل تکمیل نشدن فرایند شکل‌گیری بیومس باکتریایی جهت تبدیل نیتريت به نیترات است و سرعت پایین واکنش‌های نیتریفیکاسیون نسبت به مصرف از طریق باکتری‌های هتروتروف را می‌توان به پایین‌تر بودن میزان آمونیاک در تیمارهای بیوفلاک نسبت به شاهد و نیز افزایش تدریجی نیترات در تیمارهای بیوفلاک نسبت داد (Azim and little, 2008).

میزان مواد جامد معلق، حجم بیوفلاک و تعداد باکتری‌ها در تیمارهای بیوفلاک بالاتر از شاهد بود که در طول دوره روند افزایشی داشت و با افزایش تراکم میزان این شاخص‌ها نیز افزایش نشان داد. در سیستم بیوفلاک، مواد جامد معلق تجمع می‌یابند (Avnimelech, 1999) و با افزودن کربن به سیستم و هوادهی شدید جمعیت باکتری‌های هتروتروف که کربن مورد نیاز خود را از مواد آلی تامین می‌نمایند، غالب می‌شوند و نیاز به جذب نیتروژن از محیط افزایش می‌یابد (Hargreaves, 2013). بدین ترتیب، ضمن افزایش جمعیت باکتری‌ها، حجم

بیوفلاک و مواد جامد معلق نیز افزایش می‌یابد. بررسی شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای حاکی از بهبود رشد و کارایی غذا در تیمارهای بیوفلاک نسبت به شاهد متناظر بود و با افزایش تراکم این شاخص‌ها کاهش یافت. این نتایج با مشاهدات بسیاری از محققین (Azim and Little, 2017; Mansour and Esteban, 2008) مطابقت دارد. در سایر گونه‌ها نیز افزایش رشد در سیستم بیوفلاک تایید شده است. مینابی و همکاران (۱۳۹۸) افزایش رشد ماهی کپور را در تیمار بیوفلاک گزارش نمودند. همچنین خانبجانی و همکاران (۱۳۹۴) تفاوت معنی‌دار رشد را در تیمارهای بیوفلاک نسبت به تیمار شاهد در میگوی وانامی ثبت نمودند. بیوفلاک ترکیبی از باکتری‌ها، جلبک‌ها، پروتوزوا، پلانکتون‌های جانوری، مژه‌داران، تاژک‌داران، قارچ‌ها، روتیفرها و نماتودهاست (Avnimelech, 2007) که میزان پروتئین آنها ۴۵-۲۶ درصد (Ju et al., 2008) و میزان چربی ۱۲/۵-۰/۵ درصد (Wasielesky et al., 2006) متغیر است. سازگاری‌های فیزیولوژیک تیلاپیا، امکان تغذیه و هضم این ذرات به هم چسبیده و غنی از غذای زنده را فراهم نموده است (Hargreaves, 2013). افزایش رشد، کاهش ضریب تبدیل غذایی و بهبود کارایی پروتئین در تیمارهای بیوفلاک نسبت به شاهد به استفاده مداوم ماهیان از بیوفلاک‌ها به عنوان یک منبع غذایی مکمل که حاوی پروتئین، اسیدهای چرب، ویتامین‌ها و مواد معدنی ارتباط دارد (Ekasari and Maryam, 2012). در بیوفلاک ترکیبات فعال زیستی نظیر کاروتنوئیدها، کلروفیل‌ها و فیتواستروئیدها وجود دارد که به رشد آبیان کمک می‌کند (Ju et al., 2008).

با افزایش تراکم، رشد کاهش می‌یابد. Mansour و Esteban (۲۰۱۷) این روند را در سیستم بیوفلاک بیان نمودند. کاهش رشد با افزایش تراکم می‌تواند به دلیل کاهش کیفیت آب به دلیل تراکم بالا و نیز دسترسی کمتر به بیوفلاک (Haridas et al., 2017)، استرس‌های ناشی از تراکم و نیز رفتارهای پرخاشگرانه ماهیان در تراکم بالا باشد. بیوفلاک بر ترکیبات بدن تیلاپیا اثر داشت و میزان پروتئین و چربی در تیمارهای بیوفلاک بالاتر از شاهد متناظر بود. اگرچه در برخی موارد اختلافات معنی‌دار نبود. این نتایج با مطالعات Azim و Little (۲۰۰۸) در مطابقت دارد. اما برخی از محققین (Crab et al., 2012;)

می‌کنند و باعث بالارفتن سطح آنزیم در خون می‌شوند (Saurabh and Sahoo, 2008).

در مجموع با توجه به افزایش رشد و بازماندگی در تیمارهای بیوفلاک و نیز بهبود شاخص‌های ایمنی و ترکیبات لاشه در ماهیان پرورش یافته در محیط بیوفلاک در مقایسه با شاهد، استفاده از این تکنیک برای پرورش بچه ماهیان تیلاپیا مناسب ارزیابی گردید. تراکم ۵۰۰ قطعه در متر مکعب از نظر آماری شاخص‌های مناسب‌تری را در پی داشت اما با توجه به اختلاف اندک رشد و ضریب تبدیل غذایی از سویی و عدم اختلاف در میزان بازماندگی بین تراکم‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قطعه در متر مکعب و نیز بهره‌وری بالاتر از آب و فضا، تراکم ۱۰۰۰ قطعه در متر مکعب برای پرورش بچه ماهی تیلاپیا پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

از پرسنل محترم مرکز تحقیقات ملی آبزیان آب‌های شور به‌ویژه دکتر علیزاده و دکتر محمدی ریاست و معاونت محترم مرکز که در فراهم کردن امکانات لازم جهت انجام این تحقیق نهایت همکاری نمودند، صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

خانجانی، م.ح.، سجادی، م.م.، علیزاده، م. و سوری نژاد، ا.، ۱۳۹۴. تأثیر نسبت‌های مختلف غذایی بر کیفیت آب، عملکرد رشد و بقاء پست لاروهای میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) با استفاده از تکنولوژی بیوفلوک. مجله علمی شیلات ایران، ۲۴(۲) : ۱۳-۲۷. DOI: 10.22092/ISFJ.2015.103126

مینابی، خ.، سوری نژاد، ا.، علیزاده، م. و رجب زاده قطرمی، ا.، ۱۳۹۸. اثرات استفاده از نسبت‌های مختلف کربن به ازت در سیستم بیوفلوک بر عملکرد رشد، تغذیه و شاخص‌های کیفی آب پرورش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۸(۶) : ۱۳-۲۴. DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119089

Ekasari et al., 2014) بهبود میزان پروتئین و چربی را در لاشه آبزیان پرورش یافته در محیط بیوفلاک، به دلیل تغذیه آبی از بیوفلاک غنی از آمینواسیدها و اسیدهای چرب نسبت داده‌اند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، سیستم بیوفلاک فاکتورهای ایمنی موکوسی و آنزیم‌های کبدی بچه ماهیان تیلاپیا را بهبود می‌بخشد. بیوفلاک ترکیبی از جلبک‌ها و باکتری‌هاست که نقش آنتی‌بیوتیک، ضد قارچ، پروبیوتیک و پریبیوتیک‌ها را به خوبی ایفاء می‌کند (Ju et al., 2008). در مطالعه حاضر، میزان فعالیت لیزوزیم، ایمونوگلوبولین و کاتالاز در تیمارهای بیوفلاک بالاتر از شاهد متناظر بود که با نتایج برخی محققین مطابقت دارد (Haridas et al., 2017; Mirzakhani et al., 2019).

لیزوزیم به عنوان یک فاکتور موثر در سیستم دفاعی و ایمنی بدن شناخته شده است که نقش مهمی در برابر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت از طریق تخریب دیواره سلولی آنها ایفاء می‌کند (Saurabh and Sahoo, 2008). بیوفلاک و ترکیبات زیستی فعال در آن، فعالیت لیزوزیم‌ها را در تیلاپیا افزایش داده باعث افزایش ایمنی می‌گردد (Mansour and Esteban, 2017).

ایمونوگلوبولین و کاتالاز در تیمارهای بیوفلاک بالاتر از شاهد متناظر بود. Mansour و Esteban (۲۰۱۷) نتایج مشابهی را گزارش نمودند. کاتالاز از آنزیم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی است که در مقابل استرس‌های اکسیداسیونی موجود را محافظت می‌نماید. کاتالاز با جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها از طریق تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن از سلول محافظت می‌نماید. حضور فلاک‌ها در محیط پرورش آنزیم‌های کبدی را کاهش می‌دهد. در مطالعه Adineh و همکاران (۲۰۱۹) بررسی آنزیم‌های کبدی در کپور در محیط بیوفلاک نیز نشان دهنده پایین‌تر بودن سطح این پارامترها نسبت به شاهد بود. این آنزیم‌ها با نامساعد شدن شرایط محیطی در ماهی ترشح می‌شوند و سطح آنها افزایش می‌یابد. به طور معمول، آنزیم‌های ALT و AST در داخل سلول‌های کبدی قرار دارند و هنگامی که کبد دچار آسیب گردد، سلول‌های کبدی این آنزیم‌ها را در خون رها

- Adineh, H., Naderi, M., Hamidi, M.K. and Harsij, M., 2019.** Biofloc technology improves growth, innate immune responses, oxidative status, and resistance to acute stress in common carp (*Cyprinus carpio*) under high stocking density. *Fish & Shellfish Immunology*, 95: 440-448. DOI:10.1016/j.fsi.2019.10.057
- AOAC (Association of official Analytical chemists), 1990.** Official Methods of Analysis AOAC. Washington, DC: 1263 P.
- Arantes, R., Schweitzer, R., Seiffert, W.Q., Lapa, K.R. and Vinatea, L., 2017.** Nutrient discharge, sludge quantity and characteristics in biofloc shrimp culture using two methods of carbohydrate fertilization. *Aquacultural Engineering*, 76: 1-8. DOI:10.1016/j.aquaeng.2016.11.002
- Avnimelech, Y., 1999.** Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 176(3-4): 227-235. DOI:10.1016/S0044-8486(99)00085-X
- Avnimelech, Y., 2007.** Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*, 264(1-4):140-147. Doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.025
- Avnimelech, Y., 2011.** Tilapia production using biofloc technology: saving water, waste recycling improves economics. *Global Aquaculture Advocate*, 66-68.
- Azim, M.E. and Little, D.C., 2008.** The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 283(1-4): 29-35. DOI:10.1016/j.aquaculture.2008.06.036
- Bergmeyer, H.U., Bowes Jr, G.N., Horder, M. and Moss, D.W., 1978.** Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clinica Chimica Acta*, 24(4): 720-721. ISSN: 0009-9147
- Brol, J., Pinho, S.M., Sgnaulin, T., Pereira, K.D.R., Thomas, M.C., de Mello, G.L., Miranda-Baeza, A. and Emerenciano, M.G.C., 2017.** Biofloc technology on the zootechnical performance of tilapia: effect of strain and stocking density. *Archivos de Zootecnia*, 66(254): 229-235.
- Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P. and Verstraete, W., 2012.** Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. *Aquaculture*, 356: 351-356. DOI:10.1016/j.aquaculture.2012.04.046
- Ekasari, J. and Maryam, S., 2012.** Evaluation of biofloc technology application on water quality and production performance of red tilapia *Oreochromis* sp. cultured at different stocking densities. *Hayati Journal of Biosciences*, 19(2), pp.73-80. DOI:10.4308/hjb.19.2.73
- Ekasari, J., Angela, D., Waluyo, S.H., Bachtiar, T., Surawidjaja, E.H., Bossier, P. and De Schryver, P., 2014.** The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals. *Aquaculture*, 426:105-

111.
DOI:10.1016/j.aquaculture.2014.01.023
- El-Sayed, A.F.M., 2019.** Tilapia culture. Academic Press. 358P.
- Haghparsat, R.J., Moghanlou, K.S., Mohseni, M. and Imani, A., 2019.** Effect of dietary soybean lecithin on fish performance, hemato-immunological parameters, lipid biochemistry, antioxidant status, digestive enzymes activity and intestinal histomorphometry of pre-spawning Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). *Fish & Shellfish Immunology*, 91: 50-57.
DOI:10.1016/j.fsi.2019.05.022
- Hargreaves, J.A., 2013.** Biofloc production systems for aquaculture. SRAC, No. 4503.
- Haridas, H., Verma, A.K., Rathore, G., Prakash, C., Sawant, P.B. and Babitha Rani, A.M., 2017.** Enhanced growth and immuno-physiological response of Genetically Improved Farmed Tilapia in indoor biofloc units at different stocking densities. *Aquaculture Research*, 48(8): 4346-4355. DOI:10.1111/are.13256
- Houlihan, D., Boujard, T. and Jobling, M. eds., 2008.** Food intake in fish. John Wiley & Sons. 418p.
- Ju, Z.Y., Forster, I., Conquest, L., Dominy, W., Kuo, W.C. and 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(2): 118-133.
DOI:10.1111/j.1365-2109.2007.01856.x
- Mansour, A.T. and Esteban, M.A., 2017.** Effects of carbon sources and plant protein levels in a biofloc system on growth performance, and the immune and antioxidant status of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 64: 202-209.
Doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.025
- Mirzakhani, N., Ebrahimi, E., Jalali, S.A.H. and Ekasari, J., 2019.** Growth performance, intestinal morphology and nonspecific immunity response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry cultured in biofloc systems with different carbon sources and input C: N ratios. *Aquaculture*, 512: 734235.
DOI:10.1016/j.aquaculture.2019.734235
- Ross, N.W., Firth, K.J., Wang, A., Burka, J.F. and Johnson, S.C., 2000.** Changes in hydrolytic enzyme activities of naive Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin mucus due to infection with the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and cortisol implantation. *Diseases of Aquatic Organisms*, 41(1): 43-51. DOI: 10.3354/dao041043.
- Saurabh, S. and Sahoo, P.K., 2008.** Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research*, 39(3): 223-239.
DOI:10.1111/j.1365-2109.2007.01883.x
- Vilani, F.G., Schweitzer, R., da Fonseca Arantes, R., do Nascimento Vieira, F., do Espírito Santo, C.M. and Seiffert, W.Q., 2016.** Strategies for water preparation in a biofloc system: Effects of carbon source

and fertilization dose on water quality and shrimp performance. *Aquacultural Engineering*, 74: 70-75.
DOI:10.1016/j.aquaeng.2016.06.002

Wasielesky Jr, W., Atwood, H., Stokes, A. and Browdy, C.L., 2006. Effect of natural

production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258(1-4): 396-403.
DOI:10.1016/j.aquaculture.2006.04.030.

The effect of biofloc system on water quality, growth performance, immunity and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) at different densities in brackish water

Sarsangi A. H.¹, Naji, A.^{*1}; Mortezaei S.R.²; Sourinejad I.¹; Akbarzadeh A.¹

^{*}Abolfazlnaji@gmail.com

- 1- Department of Fisheries, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.
- 2- Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

Abstract

An experiment was conducted to evaluate the effect of biofloc system on water quality, growth performance, immunity and body composition of Nile tilapia at different stocking densities. Fry (3.2 ± 0.05 g) stocked in 500 and 1000/m³ in biofloc and clear water system (as control) in three replicates and reared for 50 days. Results showed that the lowest TAN and highest nitrite and nitrate were observed in BFT treatments. Total suspended solid, floc volume and bacteria increased by increasing stocking density. Maximum final weight (12.9g), SGR (3.21 %/day), survival (100%) and the best FCR (0.91) were obtained in BFT (500/m³). There were no significant differences in survival among treatments ($p > 0.05$). Lysozyme, immunoglobulin and catalase of fishes in the biofloc treatments were significantly ($p < 0.05$) better than control. Proximate analysis revealed that protein and lipid content of fishes in BFT were slightly higher than control groups but these differences were not significant. It seems that although fishes in BFT 500/m³ statistically showed better indices than others but due to small differences in growth indices and feed conversion ratio in one hand and no difference in survival rate between 500 and 1000/m³. On the other hands, the study suggests the stocking density of 1000/m³ for larviculture of tilapia in biofloc system to use water and equipment more efficiently.

Keywords: Tilapia, Biofloc, Density, Immunity

^{*}Corresponding author