14(2) 347-354, Summer 2022

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Identification and isolation of nitrogen-fixing bacteria in rainbow trout farms in Firoozkooh city

Leyla Estiri, Reza Kazempoor*

Department of Biology and Basic Science, Roudehen Branch, Islamic Azad University, Roudehen, Iran

Key Words

Rainbow trout
Water quality parameters
Nitrite
Microbial contamination
Biofilters
Nitrate

Abstract

Introduction: In this study, in order to identification and isolation of nitrogen-fixing bacteria in rainbow trout breeding ponds, sixty fish breeding ponds and four sampling stations in Firoozkooh city were selected.

Materials & Methods: After taking a certain volume of pool water in the place of biofilters, their culture is optimized in Nutrition agar and LB-Broth medium and incubated at 25 to 30 degrees for 5 to 6 days. The final culture in Nitrosamines and culture medium Nitrobacteria was performed and the grown colonies were identified.

Results: The results showed that the highest number of isolated bacterial colonies (more than 300 colonies) were in the biofilter input and the lowest amount of nitrification bacterial colonies in the culture medium was related to the water well inlet culture (3 colonies).

Conclusion: The results of this study showed that the activity of fish farming can change the values of water parameters used during salmon farming and cause some undesirable physicochemical factors of the water used. The extent of this effect is largely due to environmental conditions to the process of fish farming and the intensity of nitrification bacteria in the pool water.

* Corresponding Author's email: r.kazempoor@riau.ac.ir
Received: 12 May 2021; Reviewed: 19 June 2021; Revised: 10 August 2021; Accepted: 20 September 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.290971.2565

مقاله پژوهشی

شناسایی و جداسازی باکتری‌های تثبیت‌کننده ازت در استخرهای پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شهرستان فیروزکوه

*لیلا استیری، رضا کاظم‌پور**

گروه زیست شناسی و علوم پایه، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران

کلمات کلیدی

قزل‌آلای رنگین‌کمان
پارامترهای کیفی آب
نیتریت
آلودگی میکروبی
بیوفیلترها
نیترات

چکیده

مقدمه: در این مطالعه به‌منظور شناسایی و جداسازی باکتری‌های تثبیت‌کننده ازت در استخرهای پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، شصت استخر تکثیر و پرورش ماهی و چهار ایستگاه نمونه‌برداری در شهرستان فیروزکوه انتخاب شدند.

مواد و روش‌ها: پس از برداشت حجم معینی از آب استخر در محل بیوفیلترها کشت آن‌ها در محیط کشت نوترینت آگار و LB–Broth بهینه شده و در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ تا ٦ روز انکوبه می‌گردند و کشت نهایی در محیط کشت اختصاصی نیتروزوموناس و نیتروباکتر انجام شده و کلنی‌های رشد یافته مشخص شدند.

نتایج: نتایج نشان دادند که بیش‌ترین تعداد کلنی باکتری جداشده (بیش از ۳۰۰ تعداد کلنی) در ورودی بیوفیلتر و کم‌ترین میزان کلنی باکتریایی نیتریفیکاسیون در محیط کشت مربوط به کشت ورودی چاه آب (تعداد ۳ کلنی) بود.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه روشن ساخت که فعالیت ناشی از پرورش ماهی می‌تواند مقادیر پارامترهای آب مورد استفاده را در طول زمان پرورش ماهی قزل‌آلا تغییر دهد و باعث نامطلوب شدن برخی از فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب مورد استفاده شود. میزان این تأثیرگذاری تا حد زیادی با توجه به شرایط محیطی به روند پرورش ماهی و شدت فعالیت باکتری‌های نیتروفیکاسیون موجود در آب استخرها دارد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: r.kazempoor@riau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۲۲ اردیبهشت ۱٤۰۰؛ تاریخ داوری: ۲۹ خرداد ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۱۹ مرداد ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۲۹ شهریور ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.290971.2565

مقدمه

رشد فزاینده و روز افزون جمعیت جهان، تامین غذا و دستیابی به منابع جدید غذایی را به یکی از مهم‌ترین دغدغه‌های دولت‌ها مبدل ساخته است و موجب شده تا تامین مواد پروتئینی به سمت سایر منابع از جمله آبزیان سوق یابد. در این میان ارزش بالای پروتئین آبزیان باعث گردیده که صنعت ماهیگیری و آبزی‌پروری به صنعتی مهم و شایان توجه تبدیل شود. پرورش آبزیان یک فعالیت با گستره جهانی است که در بهبود تغذیه و کمک به توسعه اقتصادی کشورها موثر است (۱). ماهیان سردآبی دارای ارزش تجاری بالایی در تمام نقاط دنیا هستند (۲). ایران در سال ۲۰۱۳ به مقام بزرگ‌ترین تولید کننده قزل‌آلای رنگین‌کمان در آب‌شیرین در جهان دست یافت. طبق آمار FAO (Food and Agriculture Organization) در سال ۲۰۱۶ تولید قزل‌آلای رنگین‌کمان ایران از ۲۳۱۳۸ تن در سال ۲۰۰۳ با یک رشد مداوم سالانه به ۱۴۳۹۱۷ تن رسید (۳). یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های محیط زیست ترکیبات نیتروژنی می‌باشد که مهم‌ترین و خطرناک‌ترین آن‌ها آمونیاک است. در بین آلاینده‌های موجود در آب وجود نیتریت، نیترات و آمونیاک، دلالت بر وجود آلاینده‌های شیمیایی معدنی در داخل منابع آبی دارد. مواد نیتروژن‌دار به طرق مختلف نظیر تماس منابع تخلیه فاضلاب، آب‌های شستشو و ورود آب‌های سطحی زمین‌های کشاورزی در رودخانه و از همه مهم‌تر اکسیداسیون مواد آلی نیتروژن‌دار نظیر پروتئین‌ها ناشی از محصولات متابولیسم باکترهای خاص تولید می‌شود. افزایش آمونیاک آب یکی از مشکلات عمده در آبزی‌پروری بوده که این افزایش خصوصاً در سیستم‌های تکثیر ماهی و میگو، سیستم‌های فوق متراکم پرورش ماهی یا گردش مجدد آب، آکواریوم‌ها و در هنگام انتقال ماهی همواره مطرح بوده است. دفع آمونیاک و آمونیوم نتیجه متابولیسم پروتئین هضم شده موجود در غذا است که نرخ دفع با توجه به میزان نیتروژن هضم شده، دما و گونه ماهی تعیین می‌شود (۴). معمولاً آمونیاک حاصل پس از مدتی به نیتریت اکسیده می‌شود و نیتریت حاصل نیز به نیترات تبدیل می‌شود. وجود آمونیاک در درجه اول و نیتریت در درجه دوم نشان دهنده آلودگی جدید آب است. درحالی‌که، وجود نیترات نشانه آلودگی کهنه آب است. آمونیاک در آب به دو شکل دیده می‌شود: شکل یونی NH_4^+ و شکل مولکولی که NH_3 است که به‌راحتی از طریق انتشار از آبشش ماهی جذب شده و از طریق خون خود را به کلیه اندام‌ها می‌رساند و بسیار کشنده است (۵). در رابطه بین یون آمونیوم و آمونیاک قابل ذکر است که درجه حرارت در تنظیم و تغییر pH نقش ایفا می‌کند، این در حالی است که در PH بیش‌تر از ۷ تعادل به سمت افزایش آمونیاک مولکولی پیش رفته و در PH کمتر از ۷ یون آمونیوم غالب است (۶). پروبیوتیک‌ها میکروب‌هایی هستند که به‌داخل لوله گوارش موجود زنده وارد شده و توانائی زنده ماندن جهت بهبود سلامتی موجود را دارا می‌باشند (۷). توسعه روش‌هایی که منجر به تولید ارزان‌تر و مطمئن‌تر می‌شود در آبزی‌پروری اهمیت بسیاری دارند. لذا می‌توان از پروبیوتیک‌ها به‌عنوان یک مکمل غذایی، به‌منظور بهبود شاخص‌های رشد ماهی در صنعت پرورش ماهی قزل‌آلای کشور استفاده نمود (۸). در سال ۱۹۹۱ Porubcan تلاش‌هائی جهت بهبود کیفیت آب آشامیدنی و افزایش راندمان تولید بعضی آبزیان توسط باکتری‌ها انجام داد (۹). تکنولوژی Biofloc یک روش افزایش کیفیت آب است که آبزی‌پروری را از طریق توازن کربن و نیتروژن در سیستم هدایت کرده و اخیراً مورد توجه بوده است (۷). تکنولوژی بیوفلوک باعث کاهش هزینه‌های تصفیه آب (کاهش هزینه‌های تصفیه آب تا ۳۰٪) در مقایسه با تکنولوژی‌های رایج تصفیه آب در آبزی‌پروری می‌شود و سبب بهبود رشد ماهی به‌علت تغذیه از بیوفلوک‌های کم هزینه و غنی از پروتئین می‌شود که به‌طور مکمل یک سود بالقوه روی هزینه‌های غذا ایجاد می‌کند (راندمان استفاده پروتئینی در سیستم‌های بیوفلوک در مقایسه با استخرهای رایج ۲ برابر بالاتر است) (۱۰). امروزه تکنیک‌های حذف نیتروژن در آبزیان برای تولید پایدار بسیار حائز اهمیت می‌باشد و توانسته کمک بسیار شایانی به صنعت آبزی‌پروری نماید. این در حالی است که با توجه به رشد آبزی‌پروری، اثرات زیست محیطی ناشی از تراکم آن افزایش می‌یابد. دفع مواد زائد از آبزیان موجب کاهش کیفیت آب در سیستم‌های پرورشی می‌شود. با توجه به تراکم ماهیان در محیط‌های پرورش آبزیان نیاز به توزیع غذای ماهیان افزایش یافته و در نتیجه تولید مواد زائد زیاد می‌شود. کنتاکتورهای بیولوژیک دوار (Rotary biological contactors)، فیلترهای تریکلینگ (Triciling filters)، فیلترهای مهره و فیلترهای بیوفیزیک شن و ماسه به‌طور معمول در سیستم‌های آبزی‌پروری برای حذف نیتروژن از آب کشت می‌شود. علاوه بر این سیستم‌های تصفیه آب معمولی، روش‌های دیگری برای بازیافت وجود دارد که علاوه بر فیلتراسیون آب آکواریوم به‌طور هم‌زمان غذای ماهی را تولید می‌کند (۱۱). تکنیک‌های دو منظوره نظیر تکنیک پریفیوت (Pryfite) که در سیستم‌های گسترده و فن‌آوری پروتئینی bio-flocs قابل مصرف هستند را می‌توان در گستره وسیعی مورد استفاده قرار داد. سیستم‌های متعادل علاوه بر حفظ کیفیت خوب آب، هر دو معیار منبع تغذیه ارزان قیمت و رشد مناسب را فراهم می‌کنند. ایجاد بازده بالاتری از تبدیل مواد غذایی خوراکی و ارزان بودن قیمت تکنولوژی Bio-flocs از جمله مزیت‌های آن نسبت به تکنیک‌های دیگر موجود است که این امر یک رویکرد اقتصادی مناسب برای آبزی‌پروری پایدار دارد (۱۲). هدف از انجام این تحقیق جداسازی آن دسته از باکتری‌های

اکسیدکننده آمونیاک، نیتریت و نیترات می‌باشد که توانایی تبدیل اکسیدکردن آمونیاک به نیتریت و نیترات را داشته و به تصفیه سیستم پرورشی و کاهش هزینه‌های اقتصادی کمک می‌کند. اکثر باکتری‌های نیتریفایر در دامنه گستره دمایی بین ۸ºC تا ۳۰ºC قادر به فعالیت هستند. اما در دمای زیر ۲۰ºC سرعت سوخت و ساز آن‌ها بسیار کاهش می‌یابد. این دسته از باکتری‌ها درمحدوده بحرانی غلظت اکسیژن ۲-۲/۵mg/l، در دمای ۲۰ºC و برای رشد راحت باکتری‌ها تحت تأثیر عوامل محیطی قرار دارند. این باکتری‌ها در مقایسه با باکتری‌های تجزیه کننده کربن، در برابر مواد سمی آسیب‌پذیری بالایی دارند (۱۳). در نهایت هدف این مطالعه شناسایی و جداسازی باکتری‌های تثبیت کننده ازت در استخرهای پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در طول یک‌دوره ۱۲۰ روزه (۴ ماهه) از مهر ماه لغایت دی ماه سال ۱۳۹۷ در استخرهای پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دشت سبز شهرستان فیروزکوه انجام شد. نمونه‌برداری هر ۲۰ روز یک‌بار و با دو بار تکرار انجام شد. نمونه‌های آب در تمامی زمان‌های نمونه‌برداری تحت شرایط یکسان بعد از غذادهی اول و عموماً در ساعات ۸ تا ۱۰ صبح جمع‌آوری شدند. برای این منظور در شرایط استریل حجم معینی (۳۰ سی‌سی) از آب ۶۰ استخر در محل فیلترها نمونه‌برداری شد، هم‌چنین با استفاده از تیغ جراحی تراشه‌هایی از محل بیوفیلترها تهیه شد و تمامی نمونه‌ها در ظروف پلاستیکی نگه‌داری شدند. نمونه‌ها برای اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکوشیمیایی و میزان گازهای حل‌شده موجود در آب به آزمایشگاه انتقال داده شدند. دمای هوا و دمای آب ورودی و خروجی به‌وسیله دماسنج در محل نمونه‌برداری اندازه‌گیری شد. اسیدیته با استفاده از pHمتر (مدل ۸۲۷) بلافاصله پس از کالیبره شدن اندازه‌گیری شد. میزان جامدات معلق کل با استفاده از فیلتر کردن سه لیتر از نمونه آب از روی کاغذ صافی با منفذ ۰/۴۵ میکرومتر که از قبل با ترازوی با حساسیت ۰/۰۱ گرم توزین شده بود، اندازه‌گیری شد. مقادیر غلظت‌های اکسیژن محلول، نیتروژن آمونیاکی کل، نیترات و نیتریت نیز با استفاده از دستگاه فتومتر (مدل HI83200، شرکت هان) اندازه‌گیری شد. میزان اکسیژن تقریباً نزدیک به شرایط استاندارد و حدود ۷ میلی‌گرم در لیتر بود. نتایج داده‌های حاصل از سنجش معیارهای کیفی آب ورودی و خروجی کارگاه در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری، ثبت شد. تمامی مراحل در شرایط استریل بوده و کل نمونه‌ها اخذ و با رعایت استانداردهای لازم به آزمایشگاه منتقل شدند و در محیط کشت‌های نوترینت آگار و LB–Broth کشت شدند. جهت استریل کردن، محیط کشت مایع را توسط سرنگ‌های مخصوص فیلتراسیون فیلتر کرده و به حجم ۵ سی‌سی داخل فالکون تقسیم نموده و نمونه‌ها را در محیط تلقیح نمودیم. نمونه‌های مورد نظر پس از کشت، در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه انکوبه شدند. مدت زمان انکوباسیون ۵ تا ۶ روز بود که بعد از این زمان به بررسی پرگنه‌های مشکوک با رنگ‌آمیزی گرم اقدام شد. پس از تعیین مشخصات میکروسکوپیک باکتری‌های جدا شده و با استفاده از آزمایشات بیوشیمیایی نظیر احیای نیترات، رشد در دماهای مختلف، حرکت، استفاده از اوره و رشد در حضور نمک صفراوی باکتری‌های شاخص آلودگی و پاتوژن از هم جدا شدند. به‌منظور شناسایی و جداسازی باکتری‌های تثبیت کننده ازت، از محیط‌های کشت اختصاصی نیتروزوموناس برای جداسازی نیتروباکتر استفاده گردید و کلنی‌های رشد یافته با استفاده از روش توتال کانت شمارش شدند. برای بررسی‌های میکروبیولوژی از شاخص معروف MPN و تغییر رنگ محیط کشت از صورتی به بی‌رنگ برای اکسایندگان آمونیاک استفاده شد. جهت بررسی آماری میزان رشد باکتری‌ها در محیط‌های کشت از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۶ استفاده شد.

نتایج

دمای آب چشمه در پاییز و زمستان نسبت به دمای هوا متفاوت است، در روزهایی از نمونه‌برداری که دمای هوا پایین بود، آب ورودی دمای بالاتری داشت که با وارد شدن این آب به درون کارگاه و قرار گرفتن در تماس با هوا، در آب خروجی با هوا هم دما می‌شد. درجه حرارت آب با توجه به زمان شروع نمونه‌برداری که از اوایل پاییز و به سمت زمستان و سرد شدن دمای آب بود، یک روند کاهشی داشت که خود این کاهش دما سبب ایجاد تغییر متابولیسم بدن ماهی و تغییر در سرعت رشد باکتری‌ها و تنوع در میزان تولید برخی آنیون‌ها و کاتیون‌ها می‌گردد. تغییرات دمای آب در طول چهار ماه دوره آزمون از ۸/۵ تا ۱۸ درجه سانتی‌گراد متغیر بود. میزان اکسیژن موجود در آب با افزایش بیوماس ماهی در اثر مصرف اکسیژن توسط ماهی و هم‌چنین شرکت در برخی واکنش‌های تجزیه‌ای، در قسمت خروجی کاهش یافت. تغذیه ماهیان و پس از آن هضم غذا موجب افزایش نرخ مصرف اکسیژن آب توسط ماهیان تا ۵۰ درصد و حتی بیش‌تر نیز گردید. در این کارگاه پرورشی میزان اسیدیته آب از ورودی به خروجی افزایش معنی‌داری داشت ($p<0/05$). نتایج کشت میکروبی نشان‌دهنده وجود باکتری‌های نیتروزوموناس و نیتروباکتر به‌صورت شاخص در نمونه‌ها موجود بود. نتایج شمارش کلنی‌های رشد یافته در محیط کشت در جدول ۱ و شکل ۱ نشان داده است (شکل‌های ۲ تا ۸).

جدول ۱: تعداد کلنی‌های نیتروزوموناس و نیتروباکتر رشد کرده در نمونه اخذ شده از بخش‌های مختلف استخر

محل نمونه‌برداری	رقت تهیه شده	تعداد کلنی رشد کرده
ورودی چاه (A)	10^{-1}	۳ کلنی
ورودی بیوفیلتر (B)	10^{-1}	بیش‌تر از ۳۰۰ کلنی
از هردو سایت با دو غلظت متفاوت (C)	10^{-1}	۱۲۰ کلنی
خروجی بیوفیلتر (D)	10^{-1}	۸۳ کلنی
دیواره بیوفیلتر (E)	10^{-1}	۱۱۵ کلنی

تاثیر فعالیت‌های کارگاه پرورشی بر اسیدیته آب، میزان جامدات کل معلق موجود، مقادیر غلظت‌های نیتروژن آمونیاکی کل، نیتریت و نیترات معنی‌دار بوده و طی تمامی نمونه‌برداری‌ها در پساب خروجی در برابر آب ورودی افزایش یافت.

شکل ۱: نمودار ستونی میزان رشد کلنی‌های باکتری از بخش‌های مختلف استخر

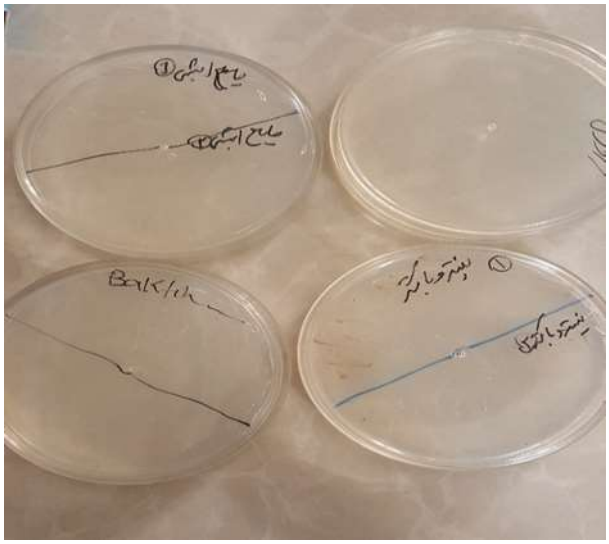
(ورودی چاه A، ورودی بیوفیلترB، از هر دو سایت با دو غلظت متفاوت C، خروجی بیوفیلتر D، دیواره بیوفیلتر E) (محور افقی نوع نمونه‌ها- محور عمودی تعداد کلونی‌های رشد یافته)

شکل ۲: پلیت حاصل از کشت نمونه گرفته شده از ورودی بیوفیلتر (یک‌دهم رقت و یک صدم رقت)

شکل ۳: کشت و رشد باکتری در مدیا با دو غلظت متفاوت از نمونه (یک‌دهم رقت و یک صدم رقت)

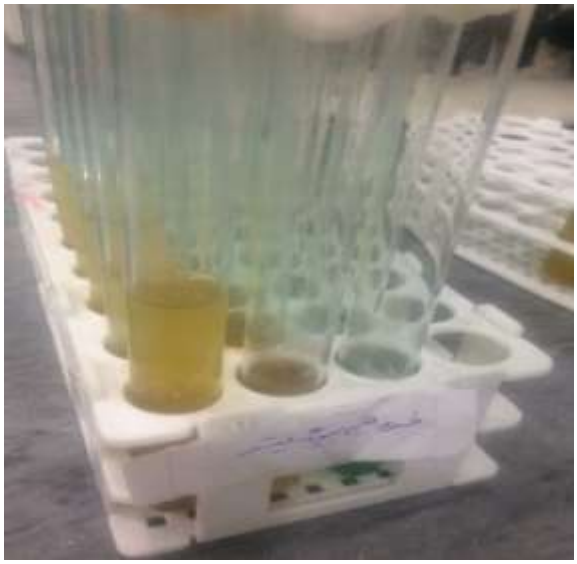
شکل ۴: کشت نمونه از ورودی چاه با غلظت مشخص یک‌دهم رقت

شکل ۵: کشت حاصل از ورودی بیوفیلتر یک‌دهم رقت



شکل ۶: مقایسه رشد نیتروباکتر در محیط معمولی و محیط به‌همراه محیط بلانک

شکل ۷: کشت نمونه آب برداشت شده از ورودی بیوفیلتر



شکل ۸: کشت حاصل از خروجی بیوفیلتر

بحث

با افزایش نرخ رشد جامعه بشری و نیاز به تامین منابع پروتئینی برای تغذیه انسان، صنعت آبزی‌پروری مورد توجه خاص قرار گرفته است. یکی از مشکلات عمده در پرورش ماهیان سردآبی افزایش گازهای نظیر آمونیاک، نیترات و نیترات بوده که افزایش گازهای فوق باعث بیماری‌های مختلف در ماهی شده و تلفات بالایی را به‌دنبال دارد (۱۴). علاوه بر اثر مستقیم دما بر روی انحلال گازها، فعالیت باکتری‌های هوازی نیز در فصول سرد و گرم تحت تأثیر دمای آب بوده، به‌این صورت که در ماه‌های آذر و دی که دمای آب پائین‌تر است باکتری‌هایی که محدوده دمایی فعالیت آن‌ها کاهش یافته، اکسیژن کم‌تری مصرف کرده و درنتیجه میزان اکسیژن موجود در آب خروجی بیش‌تر است. بالارفتن درجه‌حرارت محیط در فصل تابستان عامل موثر در افزایش رشد و تکثیر باکتری‌ها بوده در نتیجه در ماه‌های مهر و آبان نیز که دمای هوا و به تبع آن دمای آب بیش‌تر است، باکتری‌های هوازی برای تجزیه مواد آلی موجود در محیط مقادیر زیادی از اکسیژن را جذب کرده، در نتیجه مقدار اکسیژن محلول در آب کاهش می‌یابد. این موضوع در استخرهای متوالی قزل‌آلا که گاهی تا چندین استخر پشت سرهم قرار گرفته‌اند، می‌تواند به‌دلیل داشتن روند نزولی کیفی آب در استخرهای پایینی بسیار حایز اهمیت باشد. علاوه بر دمای آب و اثر آن بر میزان فعالیت باکتری‌ها از دیگر عوامل این کاهش غلظت اکسیژن، می‌توان به افزایش بیومس ماهی و بیش‌تر شدن فعالیت کارگاه و تولید محصولات جانبی اشاره کرد که این موارد در تحقیقات مشابه سایر محققین در این‌باره نیز گزارش گردید که با نتایج این تحقیق هم‌سو بود (۱۴). تکنولوژی Biofloc یک روش افزایش کیفیت آب است. آبزی‌پروری از طریق توازن کربن و نیتروژن در سیستم به عنوان یک روش پایدار برای کنترل کیفیت آب با ارزش افزوده تولید پروتئین خوراک در محل پرورش است. این تکنولوژی اخیراً مورد توجه بیش‌تر بوده است (۱۵). در این بررسی اثرات مفید فن‌آوری و برخی از چالش‌ها را مورد بحث قرار خواهد گرفت. امروزه تکنیک‌های حذف نیتروژن در استخر پرورش آبزیان برای تولید پایدار بسیار حائز اهمیت می‌باشد و توانسته کمک بسیار شایانی به صنعت آبزی‌پروری نماید. با توجه به رشد آبزی‌پروری، اثرات زیست محیطی ناشی از تراکم آن افزایش می‌یابد. دفع مواد زائد از آبزیان موجب کاهش کفیت آب در سیستم‌های پرورشی می‌شود. با توجه به تراکم در محیط‌های پرورش

آبزیان محیط و نیاز به توزیع غذای ماهیان افزایش یافته که تولید مواد زائد نیز افزایش می‌یابد (۱۶). کنتاکتورهای بیولوژیک دارو، فیلترهای تریکلینگ، فیلترهای مهره و فیلترهای بیوفیزیک شن و ماسه به‌طور معمول در سیستم‌های آبزی‌پروری برای حذف نیتروژن از آب کشت می‌شود. علاوه بر سیستم‌های تصفیه آب معمولی، از دیگر روش‌های ممکن برای بازیافت آب استخر پرورشی بوده و به طور هم‌زمان کاربرد پروتئین به‌عنوان غذای ماهی را تامین می‌کند. این تکنیک‌های دومنظوره، تکنیک درمان پریفیوت است که به‌صورت سیستم‌های گسترده و فن‌آوری پروتئینی bio-flocs قابل استفاده بوده و در گستره وسیعی نیز یافت می‌شود. سیستم‌های متراکم علاوه بر حفظ کیفیت آب خوب، هر دو تکنیک منبع تغذیه ارزان قیمت را فراهم می‌کنند. تکنولوژی Bio-flocs دارای بازده بالاتری در تبدیل موادغذایی خوراک ماهیان بوده و در مقایسه با سایر روش‌ها از مزیت بیش‌تری از جمله قیمت نسبتاً ارزان برخوردار است. این امر یک رویکرد اقتصادی مناسب برای آبزی‌پروری پایدار است. از سوی دیگر جهت حفظ کیفیت آب برای پرورش آبزیان در سیستم مدار بسته لازم است که نسبت میزان تجمع باکتریایی در سطح بیش‌تر از میکروارگانیسم‌های اتوتروف باشد. عملکرد میکروارگانیسم‌های اتوتروف میزان سطح c و o را افزایش می‌دهد ولی از سوی دیگر محصول جنبی فعالیت این گروه نیتروژن است که توسط باکتری‌های هتروترف جذب و استفاده می‌شود، نسبت بالای c به N منجر به افزایش رشد باکتری‌ها می‌شود (۱۷). نتایج حاصل از تحقیقات Selong و Helfrich روی اثر پنج کارگاه پرورش ماهی قزل‌آلا بر کیفیت آب رودخانه هدواتر در ویرجینیا نشان داد که غلظت یون‌های آمونیوم، نیتریت و نیترات به‌طور چشمگیری در پایین دست رودخانه افزایش یافت (۱۸) هم‌چنین Loch و همکاران، باافزایش غلظت یون‌های آمونیوم، نیتریت و نیترات در نتیجه فعالیت‌های آبزی‌پروری کارگاه پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر روی رودخانه‌های کارولینای شمالی مواجه شدند (۱۹) که با نتایج به‌دست آمده از این پژوهش هم‌سو می‌باشند. براساس مطالعات انجام شده توسط Hafezieh و همکاران، بر روی سیستم حذف نیتروژن و روش Bio floc هر دو نوع سیستم ناقص و کامل این روش مورد بررسی قرار گرفت. که در نتیجه آن در مورد ماهی و سایر آبزیان روش BFT نتیجه بهتری داشت. در روش Bio floc بیوموس (توده‌زیستی) میکروارگانیسم‌ها نقش اصلی را در تغذیه آبزیان دارند، روش Bio floc یک منبع غنی از پروتئین و چربی برای تغذیه می‌باشد. در ستون آب واکنش متقابل بین مواد آلی، بستر فیزیکی و گروه وسیعی از میکروارگانیسم‌ها وجود دارد. این تولید طبیعی نقش مهمی را در بازچرخش مواد آلی و حفظ کیفیت آب دارد. باکتری‌های خانواده نیتروزوموناس آیروپیه، نیتروزوموناس وینوگرادکسی و خانواده نیتروکوکوس و باسیلوس توانایی اکسیدکردن نیتریت و نیترات را دارند (۲۱). به هنگام افزایش سطح آمونیاک و سایر ترکیبات نیتروژنی باکتری‌ها قادر به تجزیه و از بین بردن این ترکیبات متراکم شده نیستند درصورتی که تکثیر میکروارگانیسم‌های هتروف منجر به کاهش سطح اکسیژن و از سوی دیگر افزایش دی‌اکسیدکربن می‌شود که این شرایط دارای اثرات زیان‌آور بر روی آبزیان است. به‌منظور تقویت میکروارگانیسم‌های استخر باکتری‌های مفید جداسازی و کشت و به محیط اضافه می‌شود. برای مهیا نمودن شرایط رشد یاکتری باید به فاکتورهای محیطی همانند دما و PH محیط نیز توجه کرد. هر باکتری دارای یک دما و PH اپتیمم است که در آن بهترین رشد را دارا است (۱۲). در این تحقیق کشت و رشد باکتری‌ها از نمونه‌های برداشت شده از بخش‌های مختلف چاه و بیوفیلترها معنی‌دار نبودند که این موارد در مطالعه Naderi و همکاران نیز گزارش شد (۱۲). مطالعات Dehnoei و همکاران، نشان داد که فرایندهای جریان جانبی فرایندهایی هستند که اساس کار آن‌ها بر تولید نیتریفایرها تحت شرایط مناسب و افزودن آن‌ها به فرایند اصلی لجن فعال و به منظور جایگزینی آن‌ها با نیتریفای‌هایی است که با لجن از سیستم خارج شده‌اند. برای این منظور از یک تانک جداگانه کوچک در کنار تانک هوادهی استفاده می‌شود که در آن تحت شرایط مناسب از جمله مهیا نمودن آمونیاک از مایع خروجی هاضم‌های لجن، مایع حاصل از آبگیری لجن و یا به طرق دیگر از جمله افزودن دستی، به مقدار زیادی رشد داده شده و سپس به تانک اصلی لجن فعال و یا تانک نیتریفیکاسیون مجزا افزوده می‌شود. مزایای زیادی از جمله انجام نیتریفیکاسیون در فرایند اصلی در دماهای کم و سن‌های پایین لجن، حذف آمونیاک با غلظت بالا در فرایند جریان جانبی و جلوگیری از ورود آمونیاک به ابتدای تصفیه‌خانه انجام می‌شود. در این روش از سیستم SBR برای حذف آمونیاک با غلظت بالا استفاده شد در این روش عواملی مانند اکسیژن و PH محیط موثر بوده و اکسیداسیون نیتریت در اکسیداسیون کامل در مقایسه با اکسیداسیون جزیی، علی‌رغم اقتصادی بودن روش‌های اکسیداسیون ناقص، به‌مراتب افزایش می‌یابد (۲۱). براساس گزارش Safari و همکاران، میزان آمونیاک موجود در استخرها و تانک‌های پرورش ماهی باید نزدیک به صفر بوده و وجود آن در استخر نشان‌دهنده عدم تعادل در سیستم می‌باشد. آمونیاک فاقد بو و رنگ بوده و علت تلفات ایجاد شده را بدون آزمایش آمونیاک نمی‌توان، تشخیص داد. سمیت با آمونیاک در غلظت کم‌تر از ۰/۰۵ شروع شده و در غلظت ۲ Mg/L کشنده می‌شود. این گاز در مقادیر پایین باعث صدمه به آبشش و استرس در ماهی می‌شود و حساسیت آن را به عفونت‌های باکتریایی افزایش می‌دهد، باکتری‌های طبیعی آمونیاک را تجزیه می‌کنند که دارای سیکل ۱۴روزه می‌باشند

با استفاده از پروبیوتیک می‌توان این روند را افزایش داد، باکتری‌های طبیعی آمونیاک را در آب به‌صورت نیتریت، نیترات، آمونیاک و یون آمونیوم تولید می‌کنند (۲۳). در تحقیق Ramin و همکاران بیان شد به‌هنگامی‌که اکسیژن موردنیاز دردسترس‌نباشد باکتری‌هااز نیترات به‌عنوان گیرنده نهایی‌الکترون استفاده‌می‌کنند. اگرچه‌نیترات سمیتی برای ماهی نداشته ولی نیترات اضافی در آب به‌عنوان اندیکاتوری از کیفیت ضعیف آب درنظر گرفته می‌شود. نیترات محصول نهایی نیتریفیکاسیون می‌باشد، آمونیاک برای اکثر گونه‌ها تا حدود بیش‌تر از ۱۰۰ PPM غیرسمی‌می‌باشد. در محیط‌های دریایی میزان نیترات در حدود ۰/۱ تا ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. ۱۰ تا ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نشان‌دهنده کیفیت پایین آب اکواریم و سطح بیش‌تر از ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بر ماهیان مضرمی‌باشد. در این مطالعه با جداسازی باکتری‌های شاخص اکسیدکننده آمونیاک مشخص شد که باکتری‌های خانواده سودوموناس از طریق فرایند نیتروفیکاسیون آمونیاک به نیترات عمل می‌کنند و با سایر تحقیقات در این زمینه هم‌سویی دارد (۲۳).

در نتیجه یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های محیط زیست ترکیبات نیتروژنی می‌باشد که از جمله مهم‌ترین و خطرناک‌ترین آن‌ها آمونیاک است. به‌هر حال نتایج این مطالعه روشن ساخت که فعالیت ناشی از پرورش ماهی می‌تواند مقادیر معیارهای آب مورد استفاده در طول زمان پرورش ماهی قزل‌آلا را تغییر داده و باعث افزایش و نامطلوب شدن برخی از معیارهای فیزیکوشیمیایی آب مورد استفاده گردد. هم‌چنین‌میزان این تأثیرگذاری تا حدزیادی باتوجه‌به‌شرایط محیطی به روند پرورش ماهی و شدت فعالیت باکتری‌های نیتروفیکاسیون در آب استخرهای موجود در آن دارد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از جناب آقای دکتر آرمان قربانزاده جهت انجام هماهنگی‌های لازم با مزرعه‌آبزیان واقع در منطقه فیروزکوه صمیمانه تشکر می‌گردد.

منابع

1. **Ghiasi, M., Zorieh Zahra, S.J., Bahonar, A.R., Pourgholam, R., Farabi, S.M.V., Binaii, M. and Saeedi, A.A., 2013.** Evaluation of health management of breeding and rearing rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Mazandaran province. Journal of new technologies in aquaculture development. 7(3): 94-100. (In Persian)
2. **Afshari Azad, M.R. and Pouraki, H., 2013.** Classification and analysis of geomorphic phenomena in the west coast of the Caspian with approach to water level fluctuations. Journal of Geography and Regional Development19(3-4): 177-194. (In Persian)
3. **Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2016.** The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200 p.
4. **Zimmer, A.M., Nawata, C.M. and Wood, C.M., 2010.** Physiological and molecular analysis of the interactive effects of feeding and high environmental ammonia on branchial ammonia excretion and Na+ uptake in freshwater rainbow trout. Journal of Comparative Physiology. 180: 1191-1204.
5. **Kocour Kroupová, H., Valentová, O., Svobodová, Z., Šauer, P. and Máchová, J., 2018.** Toxic effects of nitrite on freshwater organisms: a review. Reviews in Aquaculture. 10: 525-542.
6. **Purwono, A.R., Hibbaan, M. and Budihardjo, M.A., 2017.** Ammonia-nitrogen (NH3-N) and ammonium-nitrogen (NH4+-N) equilibrium on the process of removing nitrogen by using tubular plastic media. J Mater Environ Sci. 8: 4915-4922.
7. **Wang, Y.B., Li, J.R. and Lin, J., 2008.** Probiotics in aquaculture: challenges and outlook. Aquaculture. 281: 1-4.
8. **Almasi Bardmili, B., Alishahi, M. and Javadzadeh, N., 2019.** Effect of different levels of Lactobacillus casei as probiotic on survival and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. Journal of Animal Environment. 11(2): 259-266. (In Persian)
9. **Rovnyak, G., Andersen, N., Gougoutas, J., Hedberg, A., Kimball, S.D., Malley, M. and Pudzianowski, A., 1991.** Active conformation of 1, 4-dihydropyridine calcium entry blockers. Effect of size of 2-aryl substituent on rotameric equilibria and receptor binding. Journal of medicinal chemistry. 34: 2521-2524.
10. **Mahmoudi Khoshdarehgi, M., Haji Moradloo, A. and Dastar, B., 2018.** Investigating water quality and growth of *Cyprinus carpio* fingerlings fed with different protein levels of diet in biofloc system. Journal of Animal Environment. 10(3): 191-198. (In Persian)
11. **Nasrazadani, A., Tahmourespour, A. and Hoodaji, M., 2011.** Determination of Bacteria Resistance Threshold to Lead, Zinc and Cadmium in three Industrial Wastewater Samples. Environmental Studies. 36: 56.
12. **Naderi, J.M., Esmaeili, S.A., AhmadI, M.R., Seyfabadi, S.J. and Abdoli, A., 2007.** The effects of Trout farm effluents on the water quality parameters of Haraz river. Environmental Sciences. 4 (2):21-36. (In Persian)
13. **Grunditz, C. and Dalhammar, G., 2001.** Development of nitrification inhibition assays using pure cultures of Nitrosomonas and Nitrobacter. Water research. 35: 433-440.
14. **McDaniel, N.K., Sugiura, S.H., Kehler, T., Fletcher, J.W., Coloso, R.M., Weis, P. and Ferraris, R.P., 2005.** Dissolved oxygen and dietary phosphorus modulate utilization and effluent partitioning of phosphorus in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) aquaculture. Environmental Pollution. 138: 350-357.
15. **Luo, L., Xu, Q., Zhao, Z., Zu, X., Yan, Y. and Jiao, J., 2013.** Effect of the adding of carbon resource on water quality of pond aquaculture in bio-flocs technology. Fishery Modernization. 8(10): 512.
16. **Lu, L., Luo, G.Z., Tan, H.X. and Sun, D.C.J.F.M., 2010.** Bio-flocs technology application in aquacultural water treatment. 37: 6-10.

17. **Szatkowska, B., 2007.** Performance and control of biofilm systems with partial nitritation and anammox for supernatant treatment (Doctoral dissertation, KTH).

18. **Selong, J.H. and Helfrich, L.A., 1998.** Impacts of trout culture effluent on water quality and biotic communities in Virginia headwater streams. The Progressive Fish Culturist. 60: 247-262.

19. **Loch, D.D., West, J.L. and Perlmutter, D.G., 1996.** The effect of trout farm effluent on the taxa richness of benthic macroinvertebrates. Aquaculture. 147: 37-55.

20. **Hafezieh, M., Sharifian, M. and Hosseinpour, H., 2015.** Biometric comparison of cyst and nauplius of Iranian Artemias. Journal of Aquaculture Development. 9(1): 11-24. (In Persian)

21. **Dehnoei, A., Ganjidoust, H., Ayati, B. and Emtiazi, G., 2012.** Comparison of Partial and Complete Nitrification in SBR System for Use in Side Stream Processes. Journal of Water and Wastewater. 23(2): 9-21. (In Persian)

22. **Safari, R., Reyhani Poul, S., Bankehsaz, Zahra, M., Taghavi, J. and Safari, E., 2021.** Production of biological silage from wastes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using autogenous bacteria and quantitative and qualitative measurement of amino acid and fatty acid profiles of the product. Journal of Aquaculture Sciences. 9(16): 203-212. (In Persian)

23. **Ramin, M., Doustdar, M., Nasrolahzadeh, H. and Vahedi, F., 2014.** Physical and chemical factors determination of Mohammadiye channel water in order to aquaculture purposes. Iranian Scientific Fisheries Journal. 22(4): 21-33. (In Persian)