تنظیم نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن ورودی به سازگان مدار بسته پرورش از طریق غذا و ملاس برای تولید بیوفلاک و بررسی شاخص‌های رشد ماهی فیتوفاگ و کیفیت آب

• **غلامرضا رفیعی***: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۶

چکیده

در این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی، اثر ورود نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن ۱۰-۱۵-۲۰ به‌منظور تعیین بهترین نسبت کربن ورودی برای ایجاد شرایط رشد بهتر ماهی فیتوفاگ در سازگان مدار بسته مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که شاخص‌های رشد ماهی مانند افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی، کارایی پروتیین و ضریب رشد ویژه در کپور نقره‌ای با افزایش نسبت‌ها ی کربن به نیتروژن ۱۰ و ۲۰ بهبود می‌یابد. هم‌چنین تنظیم ورود نسبت کربن به نیتروژن، باعث بهبود معنی‌دار ($P<0/05$) (کیفیت آب و کاهش آمونیاک، نیتریت و نیترات آب در مقایسه با تیمار شاهد شد. لذا، این روش را می‌توان به‌عنوان یک استراتژی کارآمد در مدیریت استخرهای پرورشی ماهیان گرمابی به‌صورت متراکم به‌کار برد. با انجام این آزمایش نشان داده شدکه استفاده از روش‌های بدون تعویض آب مانند فناوری بیوفلاک و تنظیم نسبت‌های کربن به نیتروژن می‌تواند علاوه بر دستیابی به عملکرد بهتر رشد، با کاهش تجمع متابولیت‌های تولیدی در سیستم پرورشی و تولید غذا در سیستم، مشکلات زیست محیطی رهایی پساب آبزی‌پروری را کاهش دهد.

کلمات کلیدی: نسبت کربن به نیتروژن، بیوفلاک، کیفیت آب، ماهی فیتوفاک، سیستم مدار بسته

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: ghrafiee@ut.ac.ir

مقدمه

امروزه هدف از آبزی‌پروری به حداکثر رساندن راندمان تولید، برای بهینه‌سازی و سودآوری و هم‌چنین تحقق توسعه پایدار است. سه هدف اصلی برای توسعه و گسترش آبزی‌پروری درنظر گرفته شده است و تولید بیش‌تر محصولات آبزی‌پروری بدون افزایش استفاده از منابع آب و خاک هدف اول بیان شده است. هدف دوم گسترش سیستم‌های پایدار آبزی‌پروری که به محیط زیست آسیب نمی‌رسانند (Naylor و همکاران، ۲۰۰۰)وهدف سوم،ساخت وطراحی سیستم‌هایی است که بتوان نسبت هزینه به سود را متعادل کرد. این موارد برای توسعه اقتصادی و اجتماعی و توسعه اقتصادی و اجتماعی جوامع آبزی پروری ضروری است. کمبود آب، نیاز به امنیت زیستی و هم‌چنین مسائل اقتصادی- اجتماعی از عواملی هستند که باید در سیستم‌های پرورشی درنظر گرفته شوند. در این سیستم‌ها مشکل اصلی تولید آمونیاک و نیترات است که هر دو برای ماهی و میگو سمی است (Avnimelech، ۲۰۱۲).راه‌حل متداول برای حل این مشکل به‌کارگیری پالایشگرهای فیزیکی و زیستی در سیستم مدار بسته است که معمولاً دو مشکل اساسی را در بر دارد، یکی گران قیمت بودن هم در ساخت و هم در نگه‌داری است و دیگری عملکرد پالایشگرهای زیستی در سازگان مدار بسته است که باید آب را دوباره پالایش کند که باقی‌مانده غذا نیز بازیافت شود، غذا هر روز گران و گران‌تر می‌شود و بازیافت آن ضروری به‌نظر می‌رسد. در چنین شرایطی سیستم‌های دارای تعویض آب حداقلی(حتی تا ۰ درصد)به سیستم‌های دیگر ترجیح داده می‌شوند. مهم‌ترین فناوری روز دنیا در امر پرورش آبزیان، فناوری Biofloc یا زیست‌رشته‌های غذایی است که در سال ۲۰۰۶ توسط Yoram Avnimelech به ثبت رسیده است (De Schryver و همکاران ۲۰۰۸؛ Rafiee و Saad، ۲۰۰۵). این فناوری جزو سازگان‌های پرورشی بدون تعویض آب (zero exchange) به‌شمار می‌آید و این امتیاز را دارد که مواد غذایی پروتئین‌دار را در محیط پرورش تولید کند. کاربرد این روش بهبود کیفیت آب در آبزی پروری، از طریق تنظیم کردن کربن و نیتروژن در سازگان پرورشی است و با افزودن کربوهیدرات به محیط پرورش و رساندن نسبت کربن به نیتروژن به بالای ۱۰، باکتری‌های هتروتروف در حضور اکسیژن کافی بر محیط غالب شده و با مصرف آمونیاک و ایجاد زی‌توده باکتریایی، مشکل تجمع آمونیاک به سرعت بر طرف می‌شود و منبع پروتئینی جدیدی را به‌عنوان غذا در اختیار آبزی پرورشی قرار می‌دهد (Avnimelech، ۲۰۱۲). در این شرایط سیستم پرورشی، نیازی به ساختارهای اضافی مانند فیلترهای مختلف و ... ندارد. هم‌چنین با کاهش میزان مصرف پروتئین در جیره، امکان رسیدن به نسبت کربن به نیتروژن مورد نظر فراهم می‌شود و بخش عمده‌ای از هزینه پرورش را می‌توان کاهش داد و با رفع مشکل آمونیاک، به پرورش‌دهنده، امکان متراکم‌تر کردن محیط پرورش گونه هدف فراهم خواهد شد و نیازی به تعویض آب نخواهد بود. سیستم‌های نوینی همانند زیست رشته‌های میکروبی یا غذایی (بیوفلاک) براساس فعالیت میکروبی درون استخرها شکل می‌گیرد. تیمار کردن آب در خود استخر اتفاق می‌افتد و نیاز به فضاها و ساختارهای جداگانه نیست. وقتی که تعویض آب محدود باشد جوامع متراکم باکتریایی رشد و نمو می‌کنند(Avnimelech، ۲۰۱۲).فلاک یا زیست‌رشته‌های غذایی شامل ترکیبات هتروژنوس، باکتری‌های رشته‌ای، ذرات آلی، سلول‌های مرده، پلیمرهای آلی و ... هستند که می‌توانند تا ۱۰۰۰ میکرومتر قطر داشته باشند. این مواد معمولاً شکل خاصی ندارند و ذرات با اندازه‌های مختلف در آن حضور دارند و تا ۹۰ درصد تخلخل دارند و نسبت به مایعات تراوا هستند(Chu و Lee، ۲۰۰۴).باکتری‌های هتروتروف کربن آلی مصرف می‌کنند، به این صورت که یک گرم کربوهیدرات ۰/۴ گرم باکتری تولید می‌کند. اگر کربن و نیتروژن در محلول به‌خوبی تنظیم شوند، آمونیوم و نیتروژن آلی دفع شده به توده باکتریایی (بیوماس) تبدیل می‌شوند (Scneider و همکاران، ۲۰۰۵). با اضافه کردن کربوهیدارت به استخر رشد باکتری‌های هتروتروف زیاد می‌شود و نیتروژن برای ساخت پروتئین بدن باکتری از محیط به بدنه توده باکتریایی انتقال می‌یابد و باعث حذف نیتروژن از سیستم می‌شود. میزان جذب آمونیوم توسط باکتری‌های هتروتروف بسیار سریع‌تر است زیرا نسبت رشد و بیوماس تولیدی این باکتری‌ها نسبت به هر واحد سوبسترا در فیلترهای باکتریایی نیترات‌ساز ۱۰ برابر است (Hargreaves، ۲۰۰۶). دستکاری نسبت کربن به نیتروژن باعث تغییر سیستم از حالت اتوتروفیک به هتروتروفیک می‌شود. مطالعات نشان داده است که تثبیت نیتروژن غیرآلی فقط زمانی‌که نسبت کربن به نیتروژن بیش از ۱۰ باشد اتفاق می‌افتد (Hari و همکاران، ۲۰۰۴). اگر مواد کربن‌دار مثل ملاس، نشاسته، نشاسته کاساوا و... به استخر اضافه شوند، جلبک‌ها و باکتری‌ها آمونیاک را از آب می‌گیرند و پروتئین زیستی تولید می‌کنند. لذا، با استفاده از فناوری بیوفلاک که یک زیست فناوری محسوب می‌شود در سه جهت: ۱- مدیریت کیفیت آب استخر پرورشی، ۲- مصرف غذای کم و تولید غذای با پروتئین ارزان قیمت و در نهایت ۳- مدیریت بهداشتی مزارع آبزی‌پروری و کنترل زیستی می‌توان گام برداشت و کارایی سیستم پرورش را افزایش داد. لذا در این پژوهش سعی شد با تنظیم نسبت‌های ورودی مختلف کربن و نیتروژن از طریق غذا و افزودن مواد آلی کربن‌دار به سازگان پرورشی، شاخص‌های رشد کپور نقره‌ای و کارایی سیستم درتولید بیوفلاک را مورد ارزیابی قرار داد.

مواد و روش‌ها

محل انجام پژوهش: این پژوهش در کارگاه پژوهشی تکثیر و پرورش آبزیان گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران در سال ۱۳۹۳ انجام پذیرفت.

طرح آزمایش: در این آزمایش اثر ورود نسبت‌های کربن به نیتروژن ۲۰-۱۵-۱۰ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به‌منظور تعیین بهترین نسبت کربن ورودی برای ایجاد بهترین شرایط رشد در ماهی فیتوفاگ در سازگان مدار بسته مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه ۴ تیمار با ۲ تکرار درنظر گرفته شد. تعداد ۸ مخزن آب ۲۵۰ لیتری از جنس فایبرگلاس که ۲۰۰ لیتر آن با آب شیرین پر شده بود به‌عنوان واحد آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. هوادهی توسط یک موتور هواده مدل ۵۰۰ Aqua انجام شد و برای اختلاط آب از پمپ هواده مدل NS-۹۵۰ با قدرت ۳۰ لیتر در دقیقه استفاده شد. برای انجام این پژوهش تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی کپور نقره‌ای به وزن متوسط ۲/۴۳±۵۷/۵ گرم از مزرعه پرورش ماهی مصیبی در کوچ اصفهان شهرستان لاهیجان واقع در استان گیلان تهیه گردید. در هر مخزن پرورشی حدود ۱۲ قطعه ماهی نگه‌داری شد که بر این اساس وزن زی‌توده تقریبی هر مخزن پرورشی حدود ۷۰۰ گرم درنظر گرفته شد. این پژوهش به‌مدت ۴۵ روز به انجام رسید.

غذا و غذادهی: در این پژوهش غذادهی به‌صورت دستی و ۲ بار در روز در ساعات ۹ صبح و ۳ بعدازظهر با استفاده از جیره فرموله قزل‌آلا حاوی ۳۶ درصد پروتئین محصول شرکت بهپرور، معادل ۵ درصد وزن زی‌توده انجام پذیرفت. جیره فرموله پس از آسیاب شدن با آسیاب برقی، به‌صورت پودر مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز تقریبی غذای مورد استفاده قرار گرفته در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: درصد برخی از ترکیبات بیوشیمیایی جیره غذایی مورد استفاده

ماده مغذی	مقدار در جیره (٪)
پروتئین	۳۶
چربی	۱۰
فیبر	۳/۵
فسفر قابل جذب	۰/۷
رطوبت	۱۰

منبع کربن و چگونگی به‌دست آوردن درصدهای مختلف کربن به نیتروژن: مخازن شاهد فقط با جیره ذکر شده تغذیه شدند و در سایر مخازن علاوه بر تغذیه با جیره مذکور برای دستیابی به نسبت‌های ۲۰-۱۵-۱۰ کربن به نیتروژن از ملاس نیشکر (۶۳٪ کربوهیدرات کل، ۶٪ پروتئین خام، ۱۲/۷٪ خاکستر، ۱۶/۵٪ آب، ۰٪ چربی و ۰٪ فیبر) تهیه شده از کارخانه تولید غذای طیور و آبزیان بهپرور استفاده شد. بدین‌صورت که میزان جیره روزانه ملاس به دو قسمت تقسیم و پس از حل کردن در آب ۱ ساعت بعد از هر غذادهی به مخازن اضافه شد. با محاسبه میزان مصرف غذا و ورود نیتروژن غذا به سیستم و مقدار جذب توسط ماهی، مقدار ملاس مورد نیاز روزانه به‌شرح زیر محاسبه شد:

برای نسبت کربن به نیتروژن ۱۰ به ۳۶گرم ملاس به‌ازای هر کیلو ماهی نیاز است. برای نسبت کربن به نیتروژن ۱۵ به ۵۷ گرم ملاس به‌ازای هر کیلو ماهی نیاز است. برای نسبت کربن به نیتروژن ۲۰ به ۷۲ گرم ملاس به‌ازای هر کیلو ماهی نیاز است.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد: در طول دوره پژوهش هر دو هفته یک‌بار از ماهیان هر مخزن نمونه‌برداری شد، طول و وزن همه ماهی‌ها به‌صورت انفرادی اندازه‌گیری و ضریب رشد مخصوص (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب کارایی پروتئین (PER)، میزان محصول خالص و درصد بازماندگی ماهی کپور نقره‌ای با محاسبات ذیل محاسبه گردید:

ضریب رشد مخصوص (SGR):

$$\frac{\text{وزن ابتدایی}-\text{وزن نهایی}}{\text{تعداد روزهای پرورش}} \times ۱۰۰$$

ضریب تبدیل غذایی (FCR):

$$\frac{\text{میزان غذای مصرف شده}}{\text{میزان وزن افزوده شده در مدت آزمایش}}$$

ضریب کارآیی پروتئین (PER):

$$\frac{\text{وزن ماهی بدست امده}}{\text{پروتین مصرفی}}$$

درصد بازماندگی:

$$\frac{\text{وزن ماهیان در هنگام ذخیره سازی} - \text{وزن ماهیان در هنگام برداشت}}{\text{وزن ماهیان در هنگام ذخیره سازی}} \times 100$$

نحوه اندازه‌گیری پیراسنجه‌های کیفی آب

دما، اکسیژن، EC و pH: در طی انجام این پژوهش دما، اکسیژن و هدایت الکتریکی آب (EC) و pH به‌صورت روزانه به‌وسیله دستگاه Water quality Meter AZ8603 از شرکت AZ Instrument ساخت کشور تایوان اندازه‌گیری شد.

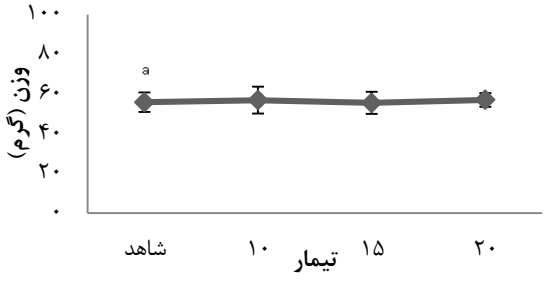
اندازه‌گیری آمونیاک کل (NH3, NH4) و نیترات: اندازه‌گیری آمونیاک و نیترات به‌صورت هفتگی در آزمایشگاه فرآوری آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران صورت پذیرفت و برای اندازه‌گیری آمونیاک در این پژوهش از روش استاندارد (APHA Standard Methods NH3-F ۴۵۰۰) استفاده شد.

اندازه‌گیری کربن کل: برای اندازه‌گیری کربن کل آب، بعد از مخلوط کردن رسوبات، نمونه‌برداری از ستون آب به‌صورت هفتگی انجام شد و به آزمایشگاه کنترل کیفیت آب گروه آبیاری دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران انتقال داده شد و در آن‌جا با روش (APHA Standard Methods 5310 C) مقدار کربن کل محاسبه گردید.

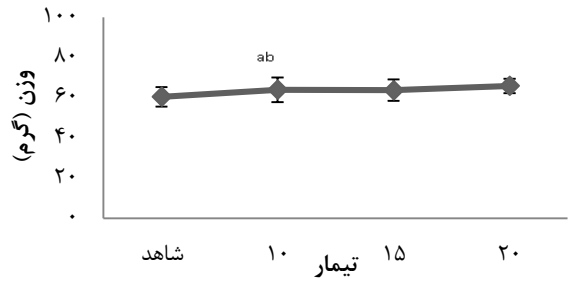
نتایج

اثر استفاده از نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن بر عملکرد رشد ماهی کپور نقره‌ای: نتایج حاصل از تاثیر استفاده از نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن بر افزایش رشد ماهی کپور نقره‌ای طی روزهای پرورش در شکل‌های ۱، ۲،۳ و۴ ارائه شده است. همان‌طور که در شکل ۱ مشخص است، ماهیان در تیمارهای مختلف در روز اول آزمایش تفاوت معنی‌داری از لحاظ گرفتن وزن با یکدیگر ندارند (P>۰/۰۵). اما در روز پانزدهم آزمایش و با توجه به شکل ۲ با افزایش نسبت کربن به نیتروژن در مخازن پرورشی تیمارهای آزمایشی وزن بیش‌تری نسبت به تیمار شاهد گرفته‌اند، اما این تفاوت معنی‌دار نیست (P>۰/۰۵). از این بین تیمار C۲۰ با تیمار شاهد از لحاظ رشد در سطح معنی‌داری ۵ درصد تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵). قابل ذکر است که در روز پانزدهم تیمارهای C۱۰ و C۲۰ هنوز تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. با توجه به شکل ۳ می‌توان دریافت که در روز سی‌ام آزمایش هر سه تیمار آزمایشی از نظر افزایش رشد تفاوت معنی‌داری را با تیمار شاهد در سطح معنی‌داری ۵ درصد نشان می‌دهند اما با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند (P>۰/۰۵). در روز پایانی آزمایش همان‌گونه که در شکل ۴ مشخص است، بهترین عملکرد رشد مربوط به تیمارهای C۱۵ و C۲۰ است که با تیمارهای دیگر تفاوت معنی‌دار دارند و عملکرد بهتری داشته‌اند. هم‌چنین تیمار C۱۰ نیز با تیمارهای دیگر تفاوت معنی‌دار دارد (P<۰/۰۵).

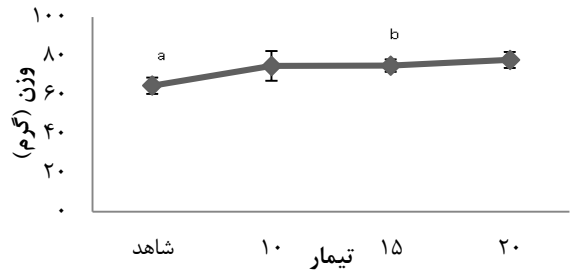
ضریب رشد مخصوص(SGR): داده‌های مربوط به ضریب رشد مخصوص(SGR)در تیمارهای مختلف در روز پایانی آزمایش در جدول۱



شکل ۱: نمودار مقایسه میانگین تغییرات وزن در تیمارهای مختلف در شروع آزمایش



شکل ۲: نمودار مقایسه میانگین تغییرات وزن در تیمارهای مختلف در روز ۱۵ آزمایش



شکل ۳: نمودار مقایسه میانگین تغییرات وزن در تیمارهای مختلف در روز ۳۰ آزمایش

آمده است. این داده‌ها نشان می‌دهد که با افزایش نسبت کربن به نیتروژن در مخازن پرورشی ضریب رشد ویژه بالاتر می‌رود. تیمارهای آزمایشی C۱۵ و C۲۰ نسبت به تیمارهای دیگر از نظر SGR عملکرد بهتری داشته‌اند. هم‌چنین تیمار C۱۰ نیز با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵).

ضریب تبدیل غذایی (FCR): در پایان آزمایش هر سه تیمار آزمایشی نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار را در ارتباط با ضریب تبدیل غذایی نشان دادند(P<۰/۰۵).این مقدار در تیمار آزمایشی C۱۵ دارای پائین‌ترین ضریب تبدیل غذایی بود (جدول۱).

ضریب کارآیی پروتئین (PER): نتایج مربوط به میزان PER در تیمارهای مختلف آزمایشی در پایان آزمایش نشان داد که استفاده از نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن در تیمارهای C۱۵ و C۲۰ نسبت به تیمارهای C۱۰ و شاهد افزایش معنی‌داری در ضریب کارآیی پروتئین دارد و در تیمار C۲۰ بهترین عملکرد را در بین تیمارهای آزمایشی نشان داد (P<۰/۰۵) (جدول۱).

ضریب بازماندگی: افزایش کربن در سیستم پرورشی در ضریب بازماندگی و کاهش تلفات عملکرد مثبتی را نشان داد و در بین تیمارهای آزمایشی در پایان دوره ۴۵ روزه آزمایش تفاوت معنی‌دار را نشان داد (P<۰/۰۵). در تیمارهای C۱۰ و C۱۵ درصد تلفات کم‌تر از تیمارهای دیگر بود (جدول۴).

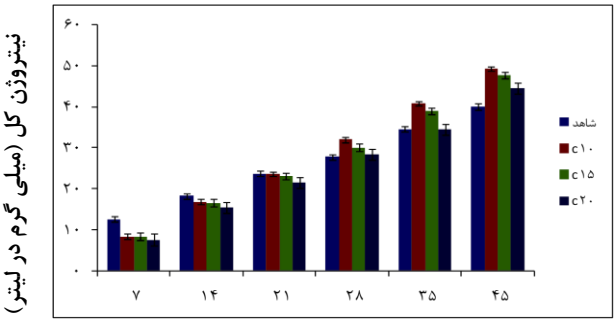
جدول ۲: شاخص های رشد ماهی در پایان دوره آزمایش

عملکرد	شاهد	C۱۰	C۱۵	C ۲۰
وزن اولیه (g)	۵۷/۵ ±۲/۴۳^{a}	۵۷/۵ ±۲/۴۳^{a}	۵۷/۵ ±۲/۴۳^{a}	۵۷/۵ ±۲/۴۳^{a}
وزن نهایی (g)	۶۹/۸۷ ±۳/۲۹^{a}	۸۹/۳۲ ±۴/۳۴^{b}	۹۵/۴۵ ±۲/۴۳^{c}	۹۸/۴۷ ±۳/۳۷^{c}
ضریب رشد ویژه (bw/day)	۰/۲۷۵ ±۰/۰۲۱^{a}	۰/۵۶۵ ±۰/۰۳۴^{b}	۰/۷۰۵ ±۰/۰۲۱^{c}	۰/۷۲۵ ±۰/۰۲۱^{c}
ضریب تبدیل غذایی	۳/۶۷ ±۰/۲۶^{c}	۱/۶۳ ±۰/۲۹^{b}	۱/۴۴ ±۰/۱۱^{a}	۰/۹۶ ±۰/۳۲^{a}
ضریب کارآیی پروتئین	۰/۷۶ ±۰/۲۱^{a}	۱/۷۱ ±۰/۳۴^{b}	۱/۹۳ ±۰/۰۷^{b}	۲/۸۹ ±۰/۲^{c}
ضریب بازماندگی (٪)	۲۷/۸۵ ±۴/ ۰۲۱^{a}	۵۸/۳۰ ±۱۱/ ۷۴^{b}	۶۳/۷۵ ±۷/۷۰^{c}	۴۸/۰۵ ±۲/۷۵^{b}

حروف انگلیسی یکسان در بالای اعداد در هر ستون به معنی عدم اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها در سطح ۰/۰۵ درصد می‌باشد.

تغییرات ترکیبات نیتروژندار آب، pH، TSS، EC و تشکیل فلاک

نیتروژن کل: شکل ۴ روند تغییرات نیتروژن کل را با توجه به نسبت‌های کربن به نیتروژن ورودی در تیمارهای شاهد و آزمایشی نشان می‌دهد. با بررسی این شکل می‌توان به این نتیجه رسید که میزان نیتروژن کل در همه تیمارها مطابق با مقدار نیتروژن ورودی از طریق غذاها تغییر کرده است و با گذشت زمان آزمایش روند صعودی در همه تیمارها (شاهد و آزمایشی) قابل مشاهده است.



روز اندازه گیری

شکل ۴: نمودار بررسی روند تغییرات نیتروژن کل در تیمارهای شاهد و آزمایشی طی چهل و پنج روز پرورش

اثر استفاده از نسبت‌های مختلف کربن به‌نیتروژن بر حذف

آمونیاک (NH3): اندازه‌گیری آمونیاک در روزهای ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۵ پرورش انجام شد. براساس نتایج به‌دست آمده و با توجه به شکل ۵ می‌توان گفت، در تیمار شاهد میزان آمونیاک در روز ۱۴ پرورش به حداکثر مقدار یعنی ۱۵ میلی‌گرم بر لیتر رسید. از روز ۱۴ تا ۲۱ میزان آمونیاک تغییراتی داشت و از روز ۲۱ به بعد تقریباً غلظت آمونیاک روند ثابتی به‌خود گرفت و به کم‌تر از ۱۲ میلی‌گرم بر لیتر رسید. درحالی‌که در هر سه تیمار آزمایشی (C۱۰، C۱۵ و C۲۰) بیش‌ترین میزان آمونیاک در هفته اول مشاهده شد و بعد روند کاهشی داشت و به کم‌تر از ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر رسید (شکل۵).

نیترات (NO3): نتایج مربوط به تغییرات نیترات در تیمارهای مختلف در طول دوره پرورش و در پایان آن در شکل۶ ارائه شده است.

با بررسی این نمودار می‌توان نتیجه گرفت که روند تغییرات نیترات در تیمارهای آزمایشی و شاهد صعودی است. این روند از روز چهاردهم به بعد افزایش بیش‌تری را نشان می‌دهد. به صورتی‌که در روز چهل و پنجم میزان نیترات در تمامی تیمارها به حداکثر خود رسیده است.

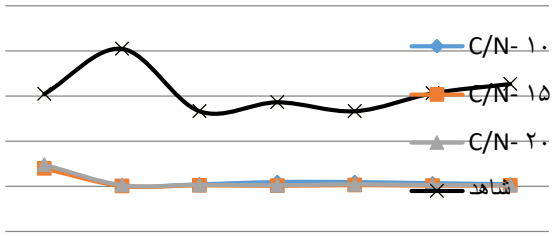
کربن کل: میانگین کربن در تمامی هفته‌ها (به‌جز هفته هفتم در مقایسه با هفته پنجم) پایین‌تر از هفته‌های قبل از خود می‌باشند. درطی هفت هفته، روند خطی کاهش میانگین کربن وجود دارد (شکل ۷). تغییرات کربن کل C در طی هفت هفته، تحت تأثیر نسبت‌های مختلف C/N قرار ندارد.

TSSیا مقدار مواد معلق کل: همان‌طورکه شکل ۸ نشان می‌دهد، میانگین TSS در هفته اول به‌طور معنی‌داری از تمامی هفته‌ها پایین‌ترمی‌باشد.هفته‌دوم نیز از بقیه هفته‌های بعد از خود (به‌جز هفته سوم) میانگین پایین‌تری دارد. هفته‌های سوم و چهارم نیز از هفته‌های بعد از خود دارای میانگین پایین‌تری بودند. هفته پنجم نیز از بقیه هفته‌های بعد از خود (به‌جز هفته ششم) و هفته ششم نیز از هفته‌های هفتم میانگین پایین‌تری را دارا بود. نسبت کربن به نیتروژن در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری را در طول آزمایش نشان نداد (P>۰/۰۵).

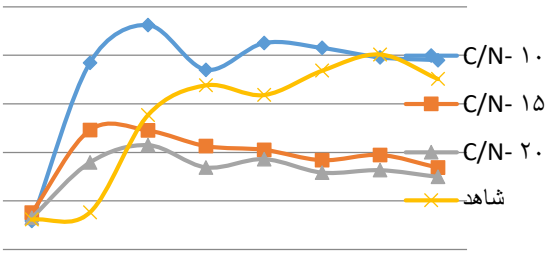
pH: تغییرات pH در طی هشت هفته، تحت تأثیر نسبت‌های مختلف C/N قرار گرفت. شکل۹ بیانگر میانگین‌های pH در طی هفت هفته نشان می‌دهدکه پس از هفته چهارم، میانگین pH در نسبت ۲۰ درمقایسه با سطح ۱۰ کاهش بیش‌تری را تا هفته هفتم نشان می‌دهد. این درحالی است که نسبت ۱۰ با شیب ملایم‌تری روند نزولی خود را طی می‌کند.روندکاهش pHشدیدتر از تیمارهای دیگر بود. تغییرات pH اختلاف معنی‌داری را در بین تیمارهای آزمایش در دوره‌های زمانی نشان نداد (P>۰/۰۵).

EC: میانگین EC در هر هفته به‌طور معنی‌داری بالاتر از میانگین آن در هفته قبل بود که بیانگر یک افزایش کلی مقدار EC از هفته اول به هفته هفتم می‌باشد (شکل۱۰).

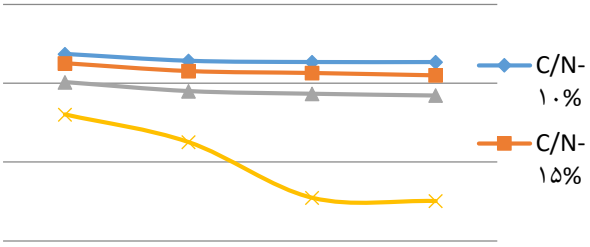
تشکیل بیوفلاکFV: میانگین حجم فلاک در تمامی هفته‌ها به‌طور معنی‌داری با افزایش روبرو بود. تغییرات FV در طی هفت هفته، تحت تأثیر نسبت‌های مختلف C/N قرار گرفته است. شکل۱۱ نیز بیانگر میانگین های تغییرات FV در طی هفت هفته است که نشان می‌دهد در نسبت ۱۰ و تیمار شاهد پس از هفته دوم، روند افزایشی میانگین FV در مقایسه با دو سطح دیگر از شیب کم‌تری برخوردار می‌باشد و این روند تا هفته هفتم نیز وجود داشت.



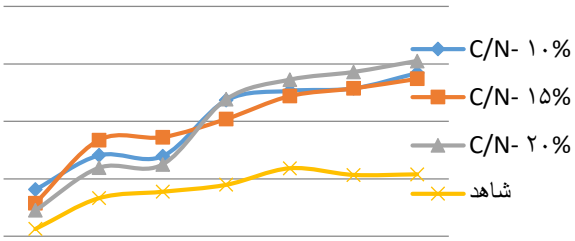
شکل ۵: نمودار بررسی روند تغییرات آمونیاک در تیمارهای شاهد و آزمایشی طی چهل و پنج روز پرورش



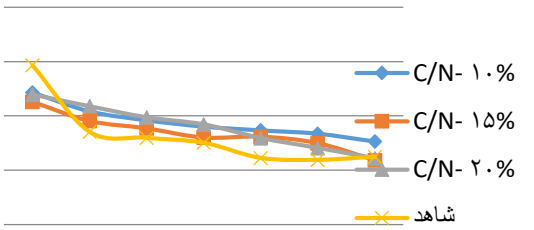
شکل ۶: نمودار بررسی روند تغییرات نیترات در تیمارهای شاهد و آزمایشی طی چهل و پنج روز پرورش



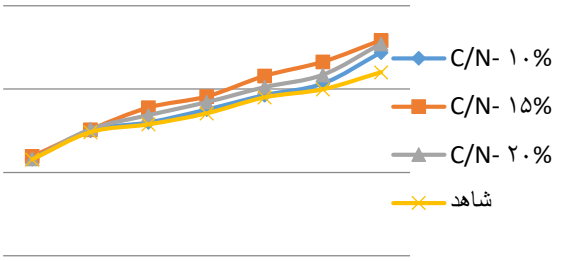
شکل ۷: نمودار میانگین تغییرات کربن کل آب به میلی‌گرم در لیتر در تیمارهای مختلف در طول آزمایش



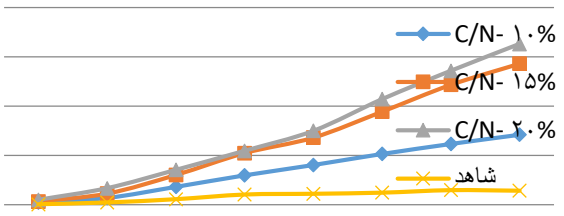
شکل ۸: نمودار میانگین تغییرات TSS آب به میلی‌گرم در لیتر در تیمارهای مختلف در طول آزمایش



شکل ۹: نمودار میانگین تغییرات pH آب به میلی‌گرم در لیتر در تیمار های مختلف در طول آزمایش



شکل ۱۰: نمودار میانگین تغییرات EC در تیمارهای مختلف در طول آزمایش



شکل ۱۱: نمودار میانگین تغییرات فلاک زیستی به میلی‌لیتر در لیتر در تیمارهای مختلف در طول آزمایش

بحث

بهترین دامنه نسبت کربن به نیتروژن برای بیش‌ترین رشد باکتری‌های هتروتروف بین ۱۵-۱۰ گزارش شده است (Hargreaves، ۲۰۰۶؛ Avnimelech، ۲۰۰۹؛ Schneider و همکاران، ۲۰۰۵). بررسی نتایج ورودنسبت‌های کربن به نیتروژن مختلف برنمایه‌های رشد ماهی کپور نقره‌ای نشان‌دهنده عملکرد مثبت ورود نسبت‌ها ۱۰-۲۰ بر نمایه‌های‌رشد ماهی کپور نقره‌ای است. همان گونه که اشاره شد، یکی از مزایای فناوری بیوفلاک، ایجاد منبع غذایی پروتئینی در محیط پرورشی‌است(Schneider و همکاران، ۲۰۰۵) و با افزودن کربوهیدرات و تنظیم نسبت کربن به نیتروژن بیش‌تر از ۱۰، باکتری‌های هتروتروف در حضور اکسیژن کافی در محیط غالب شده و با مصرف آمونیاک و ایجاد زی‌توده باکتریایی علاوه بر حل مشکل تجمع آمونیاک منبع پروتئینی جدیدی‌در اختیار آبزی‌پرورشی‌قرار می‌دهند (Avnimelech، ۲۰۰۹). در این پژوهش، افزایش کربن ورودی به سیستم پرورشی نشان داد که ماهی کپور نقره‌ای در تمامی بازه‌های زمانی (روزهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵) تیمارهای آزمایشی عملکرد بهتری را نسبت به تیمار شاهد از نظر افزایش وزن نشان می‌دهد و در مجموع طول دوره ۴۵ روزه آزمایش تیمار C۱۰ بهترین عملکرد را داشت. این موضوع بیانگر آن است که در تمامی تیمارهای آزمایشی بیوفلاک ایجاد شده مورد مصرف ماهی کپور نقره‌ای قرار گرفته و رشد بیش‌تر را حاصل کرده است. افزایش میزان آمونیاک در تیمار شاهد و در تیمار با نسبت کربن به نیتروژن ۱۰ حاکی از تشکیل کم‌تر بیوفلاک و در نتیجه رشد کم‌تر ماهیان ناشی از تجمع آمونیاک در این مخازن می‌تواند باشد. در مطالعات بسیاری به تاثیر مثبت تنظیم نسبت کربن به نیتروژن بر عملکرد رشد اشاره شده‌است. Nootan و همکاران (۲۰۱۱) تاثیر مثبت نسبت کربن به نیتروژن ۱۵ را روی عملکرد رشد ماهی تیلاپیا بررسی کرده و افزایش رشد ۴۰ درصدی را در یک دوره ۵۰ روزه نسبت به تیمار شاهد (بدون اضافه شدن منبع کربوهیدرات) گزارش کرده‌اند. هم‌چنین Asaduzzaman و همکاران (۲۰۰۸) نسبت‌های کربن به نیتروژن ۱۰، ۱۵ و ۲۰ (همانند پژوهش حاضر) را بر عملکرد رشد میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) را در یک دوره ۴ ماهه مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که نسبت کربن به نیتروژن ۲۰، نسبت به دو تیمار ۱۰ و ۱۵ تفاوت معنی‌داری را نشان داده و عملکرد بهتری داشته است. در مطالعه‌ای که توسط Anand و همکاران (۲۰۱۳) صورت پذیرفت، مشخص شد که نسبت‌های کربن به نیتروژن ۱۰ و ۲۰ در یک دوره ۷۵ روزه به‌ترتیب باعث افزایش وزن در مقایسه با شاهد به‌ترتیب ۲/۹ و ۴/۸۷ گرم در میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) شده است که همگی این مطالعات نتایج آزمون حاضر را تائید می‌کنند. در واقع می‌توان گفت با افزایش نسبت کربن به نیتروژن، بار باکتریایی هتروتروف در سازگان پرورشی افزایش یافته و میزان تجزیه موادغذایی را افزایش‌داده است که این مساله باعث در دسترس قرار گرفتن مواد مغذی برای آبزی پرورشی می‌شود (Avnimelech، ۱۹۹۹).این موادمغذی به‌عنوان منبع غذایی پروتئینی علاوه بر غذای فرموله استفاده شده به‌صورت دائمی در اختیار آبزی قرار گرفته که آبزیان فیلترکننده (مثل فیتوفاگ) همواره آن را مورد استفاده قرار داده و رشد بیش‌تری حاصل می‌شود که به تبع آن ضریب رشد مخصوص (SGR) موجود هم بالا می‌رود (Asaduzzaman و همکاران، ۲۰۰۸). بنابراین به دو دلیل افزایش کیفیت و در دسترس بودن دائمی مواد غذایی ضریب رشد مخصوص در آزمایش فعلی با افزایش نسبت کربن به نیتروژن بهبود پیدا کرد. یکی از ویژگی‌های منحصر به فرد فناوری بیوفلاک، بازیافت پروتئین در سازگان پرورشی است(Schneider، ۲۰۰۵).باافزایش‌بارباکتریایی‌به‌عنوان‌منبع پروتئین اضافی و مصرف آن توسط آبزی بدیهی است که ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد کاهش می‌یابد که نشان دهنده تاثیر مثبت تنظیم نسبت‌های‌کربن به نیتروژن بر ضریب تبدیل غذایی(FCR)است.درمطالعه حاضر ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد بسیار پائین‌تر بود که دلیل آن استفاده از بیوفلاک به‌عنوان منبع اضافی غذایی است. به‌عنوان یکی دیگر از نمایه‌های رشد، در مطالعه حاضر ضریب کارآیی پروتئین (PER) در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد عملکرد بسیار بهتری داشت که دلیل آن وجود منابع پروتئینی اضافی (بیوفلاک) به‌صورت دائمی و در دسترس است. بیش‌تر بودن مقدار بیوفلاک در مخازن پرورشی C۱۵ و C۲۰ نسبت به تیمار C۱۰ سبب بهتر بودن ضریب کارآیی پروتئین در این دو تیمار و ایجاد تفاوت معنی‌دار با تیمارهای دیگر شده است. بهتر بودن ضریب کارآیی پروتئین در ضریب کربن به نیتروژن ۲۰ نسبت به ۱۰ در مطالعات Asaduzzaman و همکاران (۲۰۰۸)و Anand و همکاران (۲۰۱۳) هم گزارش شده است. در کل می‌توان نتیجه گرفت که به‌کارگیری فناوری بیوفلاک تاثیر مثبتی بر افزایش ضرایب رشد مخصوص و کارآیی پروتئین و کاهش ضریب تبدیل غذایی دارد. مقایسه میزان محصول خالص در تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد نشان‌دهنده کارایی بالای فناوری بیوفلاک در میزان محصول خالص (net yield) است به گونه‌ای که در پژوهش حاضر در پایان روز چهل و پنجم بین همه تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار ایجاد شد. Hari و همکاران (۲۰۰۴)، Azim (۲۰۰۷)، Avnimelech (۲۰۰۷)، Asaduzzaman (۲۰۰۸) و De schryver (۲۰۰۹) افزایش میزان محصول خالص، ضرایب کارآیی پروتئین و رشد مخصوص و کاهش ضریب تبدیل غذایی را گزارش

کرده‌اند که در همه ۴ مورد یاد شده نتایج آن‌ها با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. به‌عبارت دیگر هرچه نسبت کربن به نیتروژن بالاتر برود، به‌دلیل افزایش میزان در دسترس بودن کربن و نیتروژن به‌عنوان اجزای سازنده سلول‌های باکتریایی، باراکتری‌های هتروتروف در سازگان پرورشی افزایش می‌یابد و این باکتری‌ها به‌عنوان منبع پروتئین اضافی مورداستفاده آبزی قرار می‌گیرد (Hari و همکاران، ۲۰۰۴).نتایج به دست آمده در این آزمایش نشان می‌دهدکه تیمارهای C۱۰ و C۱۵ در پایان دوره چهل و پنج روزه آزمایش بهترین ضریب بازماندگی را از خود نشان داده‌اند. ضرایب بازماندگی در پایان آزمایش برای تیمارهای آزمایشی C۱۰، C۱۵ و C۲۰ به‌ترتیب ۵۸، ۶۴ و ۴۸ درصد بود. درحالی‌که تنها ۲۸ درصد ماهیان در مخازن شاهد بعد از پایان آزمایش زنده ماندند. این نتایج را به این صورت می‌توان تفسیر کرد که علت بالا بودن مرگ و میر در تیمار شاهد، تجمع آمونیاک در مخازن بوده است به گونه‌ای که در ۱۴ روز ابتدایی، ۵۰ درصد تلفات مشاهده شد. علاوه بر سمیت مزمن آمونیاک که باعث استرس شدید و به‌دنبال آن افزایش تلفات می‌شود، افزایش مواد جامد معلق به‌صورت تجمعی، عدم تعویض آب و خارج نکردن رسوبات دلیل اصلی مرگ و میر در ادامه روند پرورش تا روز چهل و پنجم است. حداکثر میزان مواد جامد معلق در مخازن پرورشی بیوفلاک، ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر توصیه شده است (Avnimelech، ۲۰۱۲؛ Azim و Little، ۲۰۰۸). دلیل پائین‌تر بودن میزان بازماندگی تیمار C۲۰ نسبت به دو تیمار آزمایشی دیگر را می‌توان به کاهش مقداراکسیژن در مخازن این تیمار نسبت داد به این صورت که با افزایش نسبت کربن به نیتروژن و هم‌چنین افزایش بار باکتریایی مخازن پرورشی مقدار مصرف اکسیژن توسط باکتری‌ها (BOD) افزایش پیدا کرده و ماهی‌ها در این مخازن تحت تاثیر استرس هیپوکسی قرار داشته‌اند. از طرف دیگر افزایش نسبت کربن به نیتروژن و مقادیر اکسیژن پائین باعث افزایش بار باکتریایی فیلامنتوز یا رشته‌ای می‌شود که موجب اختلال در تنفس ماهی از طریق گیر کردن در آبشش آن‌ها می‌شود. در سیستم پرورش ماهی به‌صورت مداربسته به زمانی حدود ۳-۴ هفته برای نشست یا بارگذاری مناسب باکتری‌های نیتریفیکانت احتیاج است که با وارد کردن نسبت‌های مناسب کربن به نیتروژن می‌توان این دوره را به مقدار زیادی کاهش داد. در این پژوهش روند تغییر و تشکیل بیوفلاک و خصوصیات آن مورد ارزیابی قرار نگرفت که در دستور کار پژوهش‌های بعدی قرار دارد. نتایج به‌دست آمده از این آزمایش نشان داد که با توجه به کمبود منابع آب در کشور و وجود مشکلات آبزی‌پروری، با استفاده از روش‌های پرورش ماهی متکی بر یک‌بار آبگیری مخزن و بدون تعویض آب مانند فناوری بیوفلاک و تنظیم نسبت‌های کربن به نیتروژن ورودی به مخزن پرورشی، می‌توان علاوه‌بر دستیابی به عملکرد بهتر رشد و کاهش تجمع متابولیت‌های تولیدی در سیستم پرورشی باعث افزایش کارایی غذای مصرفی نیز شد و مشکلات زیست محیطی آبزی‌پروری را کاهش داد.

منابع

۱. **APHA. 1998.** Standard methods for the examination of the water and wastewater, 22nd ed. American Public Health Association, Washington, DC.

۲. **Anand, P.; Shyne, S.; Kohli, M.P.S.; Kumar, S.; Sundaray, J.K.; Dam Roy, S.; Venkateshwarlu, G.; Sinha, A. and Pailan, G.H., 2014.** Effect of dietary supplementation of biofloc on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. Aquaculture. pp: 108-419.

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

۴. **Avnimelech, Y., 2007.** Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. Aquaculture. Vol. 264, pp: 140-147.

۵. **Avnimelech, Y. and October, A., 2005.** Tilapia harvest microbial flocs in active suspension research pond. Global Aquaculture Advocate.

۶. **Avnimelech, Y., 2012.** Biofloc Technology. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA.

۷. **Avnimelech, Y. and Kochba, M., 2009.** Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using 15N tracing, Aquaculture. Vol. 287, pp: 163-168.

۸. **Avnimelech, Y. and Lacher, M., 1979.** A tentative nutrient balance for intensive fish ponds. Bamidgeh. Vol. 31, pp: 3-8.

۹. **Asaduzzaman, M.; Wahab, M.A.; Verdegem, M.C.J.; Azim, M.E.; Haque, S. and Salam, M.A., 2008.** C/N ratio control and substrate addition for periphyton development jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds. Aquaculture. Vol. 280, pp: 117-123.

۱۰. **Asaduzzaman, M.; Yang, Y.; Wahab, M.A.; Diana, J.S. and Ahmed, Z. F., 2006.** Farming system of giant freshwater prawn Macrobrachium rosenbergii in Bangladesh: a combination of tradition and technology. Proceeding of the WAS conference (AQUA 2006) held on 9-13 May, 2006 in Florence, Italy.

۱۱. **Azim, M.E. and Little, D.C., 2006.** Intensifying aquaculture production through new approaches to manipulating natural food. CAB Reviews: in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources. Vol. 1, No. 062, 23 p.

۱۲. **Azim, M.E.; Wahab, M.A.; Biswas, P.K.; Asaeda, T.; Fujino, T. and Verdegem, M.C.J., 2004.** The effect of periphyton substrate density on production in freshwater polyculture ponds. Aquaculture. Vol. 232, pp: 441-453.

۱۳. **Chu, C. and Lee, D., 2004.** Multiscale structures of biological flocs. Chemical Engineering Science. Vol. 59, pp: 1875-1883.

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

۱۵. **Hari, B., Madhusoodana, K., Varghese, J.T., Schrama, J.W. and Verdegem, M.C.J., 2004.** Effects of carbohydrate addition on production in extensive shrimp culture.

۱۶. **Hargreaves, J.A., 2006.** Photosynthetic suspended-growth system in aquaculture. Aquacult. Eng. Vol. 34, pp: 344-363.

۱۷. **Naylor, R.L.; Goldburg, R.J.; Primavera, J.H.; Kautsky, N., Beveridge, M.C.M.; Clay, J.; Folke, C.; Lubchenco, J.; Mooney, H. and Troell, M., 2000.** Effect of aquaculture on world fish supplies. Nature. Vol. 405, pp: 1017-1024.

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