13 (4) 175-184, Winter 2022

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

Original Research Paper

Evaluation of bioball performance on physical and chemical parameters of water, hemological, immunogical and stress parameters and growth performance in Sterlet (*Acipenser ruthenus*)

Hamed MirzaeiPour [1]***, Hosein Khara**** [1]***, Ayoub Yousefi Jordehi*** [2]

[1] *Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran*
[2] *Caspian Sea International Sturgeon Research,* Iranian Fisheries Science Research Institute, *Agriculture Research, Education and Extension Organization, Rasht, Iran*

Key Words:

Bioball
Sterlet
Physical and chemical parameters of water
Hematological and immunological parameters
Stress
Growth performance

Abstract

Introduction: Sterlet is one of the most valuable species of sturgeon that its population has declined in recent years. The bioball acts as a biological filter, which is a site for bacteria that can remove ammonia.

Materials & Methods: This study was done for evaluation the effect of bioballs on physical and chemical parameters of water, growth performance, survival percentage and improvement of hemological and immunological factors and stress reduction of Sterlet in Dr. Keyvan Fisheries and Marine Technology Research Center of Chamkhaleh during 8 weeks. For this purpose, 150 Sterlet with initial weight of 120 gr were distributed in 15 fiberglass tanks that their capacity was 500 liters. 4 treatments including treatment 1 opened with bioball system, treatment 2 opened without bioball system, treatment 3 closed with bioball system and treatment 4 closed without bioball system were selected in 3 replications. During the experiment, physical and chemical parameters of water, hemological and immunological parameters, stress and growth performance were measured.

Result: Among growth indices, there was an increase in FCR, SGR, BWI and %BWI in treatments 1 and 3, which was significantly different from control treatments ($P<0.05$). Also, treatment 1 in terms of hemological factors, and treatments 1 and 3 in terms of immunological and stress indices were better. There was the lowest number of white blood cells and neutrophils and the highest number of red blood cells, hematocrit and MCV in treatment 1. The highest amount of total immunoglobulin and the lowest values of cortisol, lactate and glucose were observed in treatments 1 and 3. These results had significant difference with control treatments ($P<0.05$). Treatment 1 had better values than other treatments in terms of physical and chemical factors and pH, NO_3, NH_3, NH_4 and TAN values were significantly different ($P<0.05$). In addition, treatment 3 had the highest bacterial count compared to other treatments ($P<0.05$).

Conclusion: Therefore, treatments 1 and 3 can be selected as the best treatment based on their performance. Because they improved the conditions and increased the efficiency of system. Their existence improves living conditions, even if they are not directly used by aquatic animals.

* Corresponding Author's email: h.khara1974@yahoo.com
Received: 7 January 2020; Reviewed: 9 February 2020; Revised: 10 April 2020; Accepted: 19 May 2020
(DOI): 10.22034/aej.2021.158426

مقاله پژوهشی

کارایی توپ‌های زیستی (Bioballs) بر پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب، شاخص‌های خونی، ایمنی، استرس و عملکرد رشد تاس‌ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*)

حامد میرزائی‌پور[۱]، حسین خارا[۱*]، ایوب یوسفی‌جوردهی[۲]

[۱] گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

[۲] موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

کلمات کلیدی:
توپ زیستی
تاس‌ماهی استرلیاد
پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب
شاخص‌های خونی و ایمنی
استرس
عملکرد رشد

چکیده

مقدمه: ماهی استرلیاد از گونه‌های با ارزش خاویاری بوده که جمعیت آن در سال‌های اخیر کاهش یافته است. توپ زیستی به‌عنوان یک فیلتر بیولوژیکی عمل می‌کند که یک محیط برای باکتری‌هایی است که می‌توانند آمونیاک موجود در آن را حذف کنند.

مواد و روش‌ها: تحقیق حاضر به‌منظور ارزیابی تأثیر توپ‌های زیستی بر پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب، عملکرد رشد و درصد بازماندگی و بهبود فاکتورهای خونی، ایمنی و کاهش استرس در تاس‌ماهی استرلیاد در مرکز تحقیقات علوم شیلاتی و فنون دریایی دکتر کیوان چمخاله طی ۸ هفته انجام شد. بدین‌منظور، تعداد ۱۵۰ قطعه تاس‌ماهی استرلیاد با وزن اولیه ۲۳ گرم در ۱۵ مخزن فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری توزیع شدند. ٤ تیمار شامل تیمار ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی)، تیمار ۲ (سیستم پرورش مدار باز و بدون توپ زیستی)، تیمار ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی) و تیمار ٤ (سیستم پرورش مدار بسته و بدون توپ زیستی) در ۳ تکرار انتخاب شدند. طی دوره آزمایش، پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب، شاخص‌های خونی، ایمنی و استرس و نحوه عملکرد رشد اندازه‌گیری شد.

نتایج: در میان شاخص‌های رشد افزایش مقادیر ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه، افزایش وزن و درصد افزایش وزن در تیمارهای ۱ و ۳ وجود داشت که این افزایش تفاوت معنی‌داری با تیمارهای شاهد داشت ($P<0/05$). هم‌چنین، از لحاظ فاکتورهای خونی، تیمار ۱ و از لحاظ شاخص‌های ایمنی و استرس، تیمارهای ۱ و ۳ دارای شرایط بهتری بودند. به‌طوری‌که کم‌ترین تعداد گلبول سفید و نوتروفیل و بیش‌ترین تعداد گلبول قرمز، هماتوکریت و MCV در تیمار ۱، بیش‌ترین مقادیر ایمونوگلوبولین کل و کم‌ترین مقادیر کورتیزول، لاکتات و گلوکز در تیمارهای ۱ و ۳ مشاهده گردید و تفاوت معنی‌داری با تیمارهای شاهد داشتند ($P<0/05$). از نظر فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب، تیمار ۱ دارای مقادیر بهتری نسبت به سایر تیمارها بود و مقادیر pH، NO3، NH3، NH4 و TAN دارای تفاوت معنی‌داری بود ($P<0/05$). علاوه بر این، تیمار ۳ دارای بالاترین تعداد باکتری نسبت به سایر تیمارها می‌باشد و از اختلاف معنی‌داری برخوردار بود ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری و بحث: بنابراین، می‌توان تیمارهای ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی) و ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی) را با توجه به عملکرد آن‌ها به‌عنوان برترین تیمار انتخاب نمود. چون که باعث بهبود شرایط و افزایش کارایی سیستم پرورشی گردیدند. حتی اگر به‌طور مستقیم توسط آبزیان استفاده نشوند، وجود آن‌ها سبب بهبود شرایط زیست می‌شود.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: h.khara1974@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۷ دی ۱۳۹۸؛ تاریخ داوری: ۲۰ بهمن ۱۳۹۸؛ تاریخ اصلاح: ۲۲ فروردین ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۳۰ اردیبهشت ۱۳۹۹
(DOI): 10.22034/aej.2021.158426

مقدمه

صنعت آبزی‌پروری در دهه‌های اخیر از پیشرفت زیادی جهت تأمین نیاز پروتئینی جهان برخوردار بوده است که این امر به‌ویژه در کشورهای توسعه یافته مشهودتر می‌باشد. توسعه سیستم‌های پرورش متراکم آبزیان عامل اصلی این پیشرفت می‌باشند (۱). با این‌حال، این سیستم‌ها باعث مشکلاتی نظیر فشارهای زیست محیطی حاصل از تأثیر پساب‌ها بر منابع آبی (۲)، شکوفایی جلبکی و کاهش میزان اکسیژن منابع آبی پذیرنده (۳)، محدودیت زمین در مناطق دارای ارزش اقتصادی و وابستگی شدید به پودر و روغن ماهی جهت تهیه غذای با کمیت و کیفیت مناسب و اقتصادی شده‌اند (۲). هزینه غذا بیش از ۵۰ درصد کل هزینه‌های تولید را شامل شده که عمده این هزینه به تأمین منابع پروتئینی جیره مربوط می‌شود (۴). هم‌چنین، تغییرات اقلیمی دهه‌های اخیر، وقوع خشکسالی‌های متعدد و کمبود منابع آب شیرین از دیگر مشکلات پیش روی این صنعت می‌باشد (۵). با توجه به ارزشمند بودن منابع آب شیرین، امروزه ۴۱ درصد مردم جهان در نزدیکی رودخانه‌هایی زندگی می‌کنند که در مواجهه با خشکسالی هستند. پیش‌بینی می‌شود حدود ۷۰ درصد از مردم جهان در سال ۲۰۵۰ با کمبود آب روبرو شوند (۶). راهکارهای مختلفی جهت مقابله با مشکلات سیستم‌های متراکم پرورشی وجود دارد که می‌توان به فیلترهای تصفیه پساب مزارع، جایگزینی منابع گیاهی با روغن و پودر ماهی به‌منظور مقابله با کاهش منابع دریایی و استفاده از سیستم مدار بسته جهت مقابله با کمبود آب اشاره کرد (۱). با این حال، هر یک از روش‌های بالا دارای معایبی هستند که سبب یافتن روش‌های جایگزین می‌شود (۵). در حال حاضر، به‌علت امنیت زیستی بالاتر و مزایای زیست‌محیطی بیش‌تر سیستم‌های آبزی‌پروری مدار بسته، استفاده از این سیستم‌ها افزایش یافته است. این سیستم‌ها باعث کاهش ورود انگل‌ها و گونه‌های بیگانه و بار آلودگی زیستی می‌شود (۷). فناوری‌های جدید در تکثیر و پرورش برخی از گونه‌های ماهی و میگو حائز اهمیت می‌باشد که در راستای آبزی‌پروری پایدار است (۸). سیستم چرخشی بر پایه اصل استفاده مجدد از آبی استوار است که پس از فرآیند پرورش دفع می‌شود (۹). فیلتراسیون با استفاده از فیلتر، آب حاوی مواد زائد ماهی را فیلتر می‌کند، تا آب دوباره تمیز شود و مناسب برای استفاده مجدد باشد. محیط فیلتر می‌تواند یک فیلتر بیولوژیکی، فیزیکی یا شیمیایی باشد (۱۰). فیلتر بیولوژیکی فرآیند معدنی‌سازی نیتریت آلی به‌وسیله نیتریفیکاسیون و دنیتریفیکاسیون با استفاده از باکتری‌های داخل آب و باکتری‌های چسبیده به سنگ‌های تصفیه‌کننده است. یکی از محیط‌هایی که می‌تواند به‌عنوان فیلتر بیولوژیکی در سیستم چرخشی مورد استفاده قرار گیرد، توپ زیستی می‌باشد. توپ زیستی به‌عنوان یک فیلتر بیولوژیکی عمل می‌کند که یک محیط برای باکتری‌هایی است که می‌توانند آمونیاک موجود در آن را حذف کنند. توپ زیستی سبک بوده، دارای حفره‌های زیادی است، در آب شناور است و محبوب‌ترین فیلتر بیولوژیکی می‌باشد (۱۱). بیوفیلم‌های حاوی توپ زیستی به‌عنوان یک محیط بیوفیلم فرایندی بسیار مؤثر برای از بین بردن کامل مواد آلی و مواد مغذی می‌باشند که میانگین راندمان حذف COD محلول، نیتروژن کل و فسفر کل در آن به‌ترتیب ۹۷/۷±۰/۵، ۸۷/۸±۲/۶ و ۹۴/۳±۱/۳ درصد بیان شده است. راندمان نیتریفیکاسیون نیز ۹۸/۸±۰/۷ درصد می‌باشد. توپ‌های زیستی یک محیط اتصال بهتری را نسبت به محیط‌های پلاستیکی به‌منظور رشد میکروارگانیسم‌ها فراهم می‌کنند و ممکن است محیطی مؤثر در فناوری بیوفیلم بستر باشند (۱۲). استفاده از فناوری بیوفلاک برای پرورش گونه‌هایی که با شرایط محیطی سازگارتر هستند، با موفقیت بیش‌تری همراه می‌باشد (۱۳). ماهیان خاویاری دارای ارزش اقتصادی و شیلاتی بالایی می‌باشند (۱۴). ماهی استرلیاد از گونه‌های با ارزش خاویاری بوده که جمعیت آن در سال‌های اخیر به‌دلیل آسیب به محل‌های تخم‌ریزی کاهش یافته است (۱۵). این ماهی به‌لحاظ هیبریدگیری با فیل‌ماهی و تولید ماهی بستر که دارای رشد سریعی در آبزی‌پروری می‌باشد، توجه ویژه‌ای به آن شده است. ضمن این‌که جنس ماده آن پس از ۴ سال قابلیت تولید خاویار و یا تکثیر مصنوعی را خواهد داشت. بنابراین، در تولید خاویار پرورشی در مزارع بسیاری از کشورهای اروپایی به این گونه توجه ویژه‌ای شده است. چراکه هزینه‌های نگه‌داری و بلوغ زودرس، این گونه را در زمره ماهیان مورد علاقه برای پرورش قرار داده است (۱۶). تاکنون مطالعاتی درباره اثر توپ‌های زیستی و بایوفلاک بر پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب، شاخص‌های خونی و رشد آبزیان مختلف انجام شده است که می‌توان به مطالعات Bakhshi و همکاران؛ روی بازدهی استفاده از سیستم تولید توده زیستی در پرورش متراکم ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (۱۷)، Khanjani و همکاران؛ روی تولید و ارزیابی بیوفلاک به‌منظور به‌کارگیری در سیستم‌های بدون تعویض آب (۱۸)، Haghparast Radmard و همکاران؛ روی اثر نسبت‌های مختلف کربن-نیتروژن در سیستم پرورش متراکم بایوفلاک بر شاخص‌های رشد و سلامت ماهی کپورمعمولی (۱۹)، Khanjani؛ روی کاربرد فناوری توده‌ساز زیستی (بایوفلاک) در آبزی‌پروری با تأکید بر ماهیان زینتی (۸)، Crab و همکاران؛ روی کاربرد فناوری بایوفلاک برای محافظت از میگوی آب شور (*Artemia franciscana*) در برابر *Vibrio harveyi* (۲۰)، Mahanand و SrinivasaRao؛ روی فرمولاسیون بهینه غذا برای ماهی روهو (*Labeo rohita*) با بایوفلاک (۱)، Suantika و همکاران، روی عملکرد سیستم تخلیه با باکتری‌های نیتریفیکاسیون و ریزجلبک *Chaetoceros calcitrans* در پرورش فوق

متراکم میگوی سفید (*Litopenaeus vannamei*) (۲۱)، Suantika و همکاران؛ روی حذف آمونیوم به‌وسیله بیوفیلم باکتری‌های نیتریفیکاسیون موجود در سنگ آهک و بستر توپ زیستی مستقر در بیوفیلتر آب‌شیرین (۲۲) و Andriani و همکاران؛ روی تولید ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) و شرایط کیفی آب در فیلترهای مختلف در سیستم آکواپونیک (۲۳) اشاره کرد. این پژوهش با هدف ارزیابی کارایی توپ‌های زیستی بر پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب، شاخص‌های خونی، ایمنی، استرس و عملکرد رشد تاسماهی استرلیاد انجام گردید. هدف نهایی این بررسی بهبود کیفیت پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب محیط پرورش، بهبود شاخص‌های خونی، ایمنی و کاهش استرس و افزایش عملکرد رشد و میزان بازماندگی تاس‌ماهی استرلیاد می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در ۱۵ مخزن فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری در یک محیط سرپوشیده با استفاده از آب چاه در مرکز تحقیقات علوم شیلاتی و فنون دریایی دکتر کیوان چمخاله به‌مدت ۸ هفته (در سال ۱۳۹۸) انجام شد. جهت انجام این تحقیق ۱۵۰ قطعه ماهی استرلیاد ۲۳ گرمی با تراکم ۱۰ قطعه ماهی در هر مخزن (تکرار) استفاده شدند که پس از سازگاری و جداسازی تحت شرایط محیطی یکسان توزیع شدند. هر یک از مخازن دارای سیستم هوادهی بوده و توسط آب چاه مجموعه با دبی ۳ لیتر در دقیقه مشروب شدند. جهت انجام این تحقیق ۲ تیمار و ۲ شاهد به‌شرح ذیل درنظر گرفته شد: تیمار ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی)، تیمار ۲ (سیستم پرورش مدار باز و بدون توپ زیستی)، تیمار ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی) و تیمار ۴ (سیستم پرورش مدار بسته و بدون توپ زیستی) که دو تیمار ۲ و ۴ تیمارهای شاهد این مطالعه محسوب می‌شوند. به‌ازای هر یک مترمکعب آب یک توپ زیستی (بایوبال) استفاده شد. در تیمارهای باز آب جریان داشته، ولی در تیمارهای بسته آب ورودی و خروجی وجود نداشت. هم‌چنین، برای هر تیمار ۳ تکرار درنظر گرفته شد. توپ‌های زیستی از شرکت دشت بهشت پویا تهیه شدند و حاوی باکتری‌هایی بودند که مشخصات آن در جدول ۱ بیان گردیده است. قبل از شروع آزمایش، ماهیان به‌مدت یک هفته با جیره پایه به‌منظور سازگاری تغذیه شدند. مقدار غذای مورد نیاز با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شده و با توجه به تیمارهای مورد نظر به ماهیان تغذیه شد تا چنان‌چه غذای مصرفی اضافی یا کم باشد در روزهای بعد و با توجه به زیست‌سنجی‌ها تصحیح گردد. غذادهی به ماهیان در حد سیری در حدود ۳ درصد وزن بدن و به‌صورت دستی در ۴ وعده در ساعات ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ انجام شد (۲۴). هر روز قبل از غذادهی، از کف مخازن فیلتراسیون صورت پذیرفت تا غذای احتمالی مصرف‌نشده و فضولات از محیط پرورش خارج گردد. به‌علت محدودیت‌های موجود در کارگاه و حساسیت ماهیان، نرمال‌سازی وزن در زمان سورت‌بندی انجام نشد. اندازه‌گیری طول کل و وزن کل در تمام تیمارها و تکرارها و از همه ماهیان در ابتدا و انتهای تحقیق انجام شد. غذادهی ماهیان به‌منظور کاهش استرس در زمان زیست‌سنجی، ۱۲ ساعت قبل و بعد از زیست‌سنجی قطع گردید. اندازه‌گیری طول با دقت ۰/۰۱ متر و با استفاده از تخته زیست‌سنجی و اندازه‌گیری وزن با دقت ۰/۰۰۱ گرم با استفاده از ترازوی دیجیتالی برای ۱۰ درصد از ماهیان موجود در هر تکرار انجام شد (۲۵). با توجه به اطلاعات طول و وزن ماهیان حاصل از زیست‌سنجی، شاخص‌های رشد جهت بررسی روند رشد ماهیان در تیمارهای مختلف استفاده شد.

جدول ۱: مشخصات باکتری‌های مورد استفاده در تیمارهای مختلف

نام باکتری	مورفولوژی	تست کاتالاز
آئروکوکوس	کوکسی در خوشه‌های کوچک	مثبت ضعیف و یا منفی ضعیف
میکروکوکوس/استافیلوکوکوس	کوکسی‌های خوشه‌ای	مثبت
استرپتوکوکوس	کوکوسی‌های زنجیره‌ای	منفی
لاکتوکوکوس	باسیل/ کوکوباسیل	منفی
باسیلوس	باسیل/گاهی پخش و گاهی زنجیره‌ای	مثبت

رشد روزانه (گرم/روز) GR (۲۶): $G.R = (Bwf - Bwi)/n$

Bwi= متوسط وزن اولیه در هر مخزن، Bwf= متوسط وزن نهایی در هر مخزن، n= تعداد روزهای پرورش

درصد افزایش وزن بدن (%BWI) (۲۶): $\%BWI = (Bwf - Bwi)/Bwi \times 100$

Bwi= متوسط وزن اولیه در هر مخزن، Bwf= متوسط وزن نهایی در هر مخزن

ضریب رشد ویژه (درصد در روز) SGR (۲۶): $S.G.R = (Lnwt - Lnwo)/t \times 100$

Wo= میانگین بیوماس اولیه (گرم)، Wt= میانگین بیوماس نهایی (گرم)، T= تعداد روزهای پرورش

ضریب چاقی (K یا CF) (۲۶): $CF=(Bw/TL^3)\times100$

Bw= میانگین وزن نهایی بدن (گرم)، TL= میانگین طول کل نهایی (سانتی‌متر)

ضریب تبدیل غذایی (FCR) (۲۶): FCR=F/(wt – wo)

F= مقدار غذای مصرف شده توسط ماهی، Wo= میانگین بیوماس اولیه (گرم)، Wt= میانگین بیوماس نهایی (گرم)

درصد بازماندگی (SR) (۲۷): SR=100×(N/T)

N= تعداد ماهیان زنده مانده در انتهای دوره، T= تعداد کل ماهیان در ابتدای دوره

پس از پایان زیست‌سنجی و گذشت ۲۴ ساعت از قطع غذا، خونگیری از ماهیان صورت پذیرفت.در زمان‌خونگیری از مواد بی‌هوش کننده به‌دلیل تأثیرات منفی روی سطوح شاخص‌های خونی استفاده نگردید. خونگیری از سرخرگ دمی با استفاده از سرنگ ۲ سی‌سی صورت پذیرفت. ۰/۵ سی‌سی خون درون تیوب‌های اپندروف حاوی هپارین برای‌بررسی‌فاکتورهای‌خونی‌و ۱/۵ سی‌سی‌نیز درون‌تیوب‌های اپندروف غیرهپارینه به‌منظور بررسی فاکتورهای ایمنی و استرس ریخته شد (۲۸). جداسازی سرم از سلول‌های خونی با استفاده از سانتریفوژ (مدل Labofuge 200، ساخت شرکت sepatech Heraeus آلمان)، با سرعت ۳۰۰۰ دور در مدت زمان ۱۰ دقیقه انجام شد. سرم با استفاده از میکروسمپلر جدا شدو به ویال انتقال یافت (۲۸). گلبول‌های قرمز و سفید با استفاده از محلول Rees و با ملانژور و لام نئوبار شمارش شدند (۲۹).

= تعداد گلبول قرمز در میلی‌متر مکعب خون

۱۰۰۰۰ × (تعداد گلبول قرمز در ۵ مربع کوچک) X

= تعداد گلبول سفید در میلی‌متر مکعب خون

۵۰ × (تعداد گلبول سفید در ۴ مربع کوچک) X

سنجش هموگلوبین با استفاده از روش سیان مت هموگلوبین و به‌وسیله‌اسپکتروفتومتر (مدل 2100-VIS ساخت‌شرکت Unico آمریکا) با طول موج ۵۴۰ نانومتر انجام شد(۲۹).پس از آن از یک منحنی استانداردو رابطه‌زیر استفاده‌شد(۳۰):

Hb (g/dl) = (OD نمونه) / (OD استاندارد) × غلظت استاندارد

از لوله‌های میکروهماتوکریت و یک میکروسانتریفیوژ Hettich با دور rpm ۷۰۰۰ در مدت ۵دقیقه‌برای‌سنجش‌هماتوکریت‌استفاده شد. میزان MCV، MCH وMCHC با استفاده از روابط زیر محاسبه گردید (۳۱):

MCV = هماتوکریت×۱۰/RBC(میلیون)

MCH = هموگلوبین × ۱۰ / RBC (میلیون)

MCHC = هموگلوبین/ هماتوکریت × ۱۰۰

برای رنگ‌آمیزی گلبول‌های سفید از متانول ۹۶٪ و محلول ۱۰٪ گیمسا (ساخت شرکت Merck آلمان) استفاده شد و شمارش انواع گلبول‌های سفید نظیر نوتروفیل‌ها،لنفوسیت‌ها،مونوسیت‌هاوائوزینوفیل به‌روش زیگزاگ‌صورت‌پذیرفت(۳۲،۲۹).به‌منظور سنجش‌ایمونوگلوبولین M (IgM) از روش ایمونوتوربیدی متریک استفاده شد و آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال در محلول‌های‌تامپون تشکیل کمپلکس‌داده‌و سبب‌کدورت محلول شدند. شدت این کدورت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل 2100-VIS ساخت شرکت Unico آمریکا) در طول موج ۳۴۰ نانومتر با بلانک (آب مقطر) خوانده شد. جهت اندازه‌گیری سطوح لیزوزیم، ۱/۷۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (سیگما)با ۲۵۰میکرولیتر نمونه سرم مخلوط شده و از روش طیف‌سنجی برای جذب نوری پس از ۱۵ و ۱۸۰ ثانیه استفاده شد و مقادیر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۷۰ نانومتر قرائت شد (۳۳). به‌منظور سنجش غلظت ایمونوگلوبولین کل، ۰/۱ میلی‌لیتر نمونه سرم با ۰/۱ میلی‌لیتر محلول پلی اتیلن گلیکول ۳۲٪ مخلوط (PEG, 10 000 MW, Sigma chemical, St Louis, Mo, USA) و انکوباسیون برای مدت ۲ ساعت جهت پایین‌آوردن مولکول ایمونوگلوبولین انجام شد. با استفاده از سانتریفیوژ (Eppendorf Centrifuge 5415R, EppendorfAG, Hamburg, Germany) در ۵۰۰۰ دور در ۴ درجه سانتی‌گرادرسوب ایمونوگلوبولین‌جدا شد و از فرمول زیر برای محاسبه مقدار ایمونوگلوبولین استفاده گردید (۳۴، ۳۵):

= (میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر) ایمونوگلوبولین کل

پروتئین کل‌تیمارشده با پلی‌اتیلن گلیکول- پروتئین کل در نمونه سرم

مقادیر کورتیزول به‌روش RIA (۳۶) واکنش رقابتی بین آنتی‌ژن نشان‌دار شده با ید ۱۲۵ با آنتی‌ژن نمونه برای اتصال به آنتی‌بادی موجود در فاز جامد و با استفاده از دستگاه گاماکانتر LKBساخت‌فنلاند و‌کیت Immunotech(کمپانی Immunotech، مارسی فرانسه) تعیین شد. اندازه‌گیری سطوح لاکتات به‌روش رنگ سنجی‌آنزیمی‌و با استفاده از ELISA و کیت Sigma انجام شد (۳۷).سطوح گلوکز بااستفاده‌از کیت Glucose C2-test Wako و از طریق روش آنزیمی به‌وسیله موتاروتاز و گلوکز اکسیداز تعیین شد (۳۸). دمای آب با استفاده از دماسنج معمولی به‌صورت روزانه مورد سنجش قرار گرفت (۱۷).سطوح pH هر روز به‌منظور پویایی‌شناسی pH در هر بستر بیوفیلتر با استفاده‌از pH متر Mettler Toledo اندازه‌گیری شد (۳۸). آمونیوم، نیتریت و نیترات برای پارامترهای شیمیایی هر روز به‌ترتیب با استفاده از روش Nessler، دیازوتیزه و Nitrate HCl اندازه‌گیری شد (۳۹). میزان آمونیاک آب به‌وسیله روش طیف‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل CE۹۲۰۰، Cecil) سنجیده شد (۴۰). اندازه‌گیری غلظت نیتروژن آمونیاکی کل (TAN) با استفاده از دستگاه پالین تست فتومتر ۷۵۰۰ (ساخت انگلستان) انجام شد (۱۸).شمارش‌باکتری با استفاده‌از روش شمارش کل پلیت صفحه‌انجام‌شد(۴۱). نمونه‌برداری از بیوفیلم سه

بار، در آغاز، میانه و در پایان دوره صورت پذیرفت. هر نمونه به نسبت ۱:۱۷ v/v به محلول NaCl ۰/۸۵ درصداضافه‌شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از سونیکاتور (Bransonic 3510-DTH) در معرض لرزش اولتراسونیک قرار گرفت تا سلول‌های آن به‌منظور جداکردن سلول‌ها تکه تکه شود. سپس ۱۰۰ میکرولیتر ازمحلول حل‌شده درمحیط آگار وینووگرادسکی برای رشدباکتری‌های اکسیدکننده آمونیوم و نیتریت و در محیط آگار مغذی برای رشد باکتری‌های هتروتروفیک، هریک در سه قطعه پخش شد (۴۲).

برای تجزیه و تحلیل و تحلیل کلیه داده‌ها از نرم‌افزار SPSS ۲۲ و برای رسم نمودارها از برنامه Excel ۲۰۱۳ استفاده گردید. این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک تست گردید. زمانی‌که توزیع داده‌ها نرمال‌بود، برای مقایسه میانگین داده‌ها بین تیمارهای مختلف از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و برای جداسازی گروه‌های همگن از آزمون توکی در سطح احتمال ۵٪ استفاده شد. زمانی‌که داده‌ها نرمال نبودند، از آزمون ناپارامتریک کروسکال-والیس استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از اندازه‌گیری طول و وزن بدن و شاخص‌های رشد در بچه‌ماهیان استرلیاد در جدول ۲ ارائه شده است. با توجه به آزمون آنالیز کروسکال - والیس بین تیمارها از نظر میزان وزن نهایی، طول نهایی، میانگین رشد روزانه و درصد بازماندگی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد($P>۰/۰۵$). با توجه به آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه بین تیمارها از نظر میزان ضریب چاقی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). با توجه به آزمون کروسکال – والیس و من - ویتنی بین تیمارها از نظر ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه، افزایش وزن و درصد افزایش وزن اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). به طوری‌که کم‌ترین مقدارضریب تبدیل غذایی و بیش‌ترین مقدار ضریب رشد ویژه، افزایش وزن و درصد افزایش وزن در تیمارهای ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی) و ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی)، بیش‌ترین مقدار ضریب تبدیل غذایی و کم‌ترین مقدار ضریب رشدویژه، افزایش‌وزن و درصد افزایش وزن در تیمار ۴ (سیستم پرورش مدار بسته و بدون توپ زیستی) مشاهده گردید. نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های خونی، ایمنی و استرس در بچه‌ماهیان استرلیاد در جدول ۳ گزارش شده است. با توجه به آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه بین تیمارها از نظر میزان هموگلوبین، MCH، MCHC، IgM و لیزوزیم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$).

باتوجه به آزمون کروسکال-والیس بین تیمارها از نظر میزان مونوسیت و ائوزینوفیل اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). با توجه به آزمون توکی و آنالیز واریانس یک‌طرفه بین تیمارها از نظر تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، MCV، ایمونوگلوبولین کل، کورتیزول، لاکتات و گلوکز اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). با توجه به آزمون من-ویتنی و کروسکال-والیس بین تیمارها از نظر میزان نوتروفیل و لنفوسیت اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). به‌طوری‌که کم‌ترین تعداد گلبول سفید و نوتروفیل و بیش‌ترین تعداد گلبول قرمز، هماتوکریت، MCV و لنفوسیت در تیمار ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی)، بیش‌ترین مقادیر ایمونوگلوبولین کل و کم‌ترین مقادیر کورتیزول، لاکتات و گلوکز در تیمارهای ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی) و ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی)، بیش‌ترین تعداد گلبول سفید و نوتروفیل و کم‌ترین تعداد گلبول قرمز، هماتوکریت و لنفوسیت در تیمار ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی)، کم‌ترین MCV و بیش‌ترین مقادیر کورتیزول و گلوکز در تیمار ۴ (سیستم پرورش مدار بسته و بدون توپ زیستی) و کم‌ترین مقادیر ایمونوگلوبولین کل و بیش‌ترین مقادیر لاکتات در تیمار ۲ (سیستم پرورش مدار باز و بدون توپ زیستی) مشاهده گردید. نتایج حاصل از اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب در جدول ۴ ارائه شده است. با توجه به آزمون توکی و آنالیز واریانس یک‌طرفه بین تیمارها از نظر دمای آب اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). با توجه به آزمون من-ویتنی و کروسکال-والیس بین تیمارها از نظر pH اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). با توجه به آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه بین تیمارها از نظر NO_2 اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). با توجه به آزمون توکی و آنالیز واریانس یک‌طرفه بین تیمارها از نظر NO_3، NH_3، NH_4 و TAN اختلاف معنی‌داری مشاهده شد($P<۰/۰۵$).باتوجه به کروسکال- والیس بین تیمارها از نظر Total Bacteria اختلاف معنی‌داری مشاهده شد($P<۰/۰۵$). به‌طوری که کم‌ترین مقادیر pH در تیمارهای ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی) و ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی)، کم‌ترین مقادیر NO_3، NH_3، NH_4 و TAN در تیمار ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی)، بیش‌ترین مقادیر pH در تیمارهای ۲ (سیستم پرورش مدار باز و بدون توپ زیستی) و ۴ (سیستم پرورش مدار بسته و بدون توپ زیستی) و بیش‌ترین مقادیر NO_3، NH_3، NH_4 و TAN در تیمار ۴ (سیستم پرورش مدار بسته و بدون توپ زیستی) مشاهده گردید.هم‌چنین،بیش‌ترین مقدار Total Bacteria در تیمار ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی) و کم‌ترین مقدار آن در تیمار ۲ (سیستم پرورش مدار باز و بدون توپ زیستی) بود.

جدول ۲: نتایج شاخص‌های رشد در تیمارهای مختلف در بچه‌ماهیان استرلیاد

شاخص‌ها / تیمارها	تیمار ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی)	تیمار ۲ (سیستم پرورش مدار باز و بدون توپ زیستی)	تیمار ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی)	تیمار ۴ (سیستم پرورش مدار بسته و بدون توپ زیستی)
وزن نهایی بدن (گرم)	۱۲۷ ± ۶/۰۶ a	۱۲۳/۸۳ ± ۱۸/۹۴ a	۱۳۰/۳۳ ± ۴/۳۷ a	۱۲۳/۱۷ ± ۱۰/۵۲ a
طول نهایی بدن (سانتی‌متر)	۳۵/۸۳ ± ۰/۵۸ a	۳۵/۶۷ ± ۲/۸۴ a	۳۵/۸۳ ± ۱/۵۶ a	۳۴/۵ ± ۲/۱۸ a
ضریب تبدیل غذایی	۳/۰۳ ± ۰/۰۹۳ a	۳/۸۸ ± ۰/۷۹۳ ab	۲/۸۶ ± ۰/۳۰۳ a	۴/۵۲۰ ± ۱/۳۳۱ b
ضریب رشد ویژه (درصد در روز)	۰/۰۹۸ ± ۰/۰۰۳ b	۰/۰۷۹ ± ۰/۰۱۷ ab	۰/۱۰۴ ± ۰/۰۱۱ b	۰/۰۶۹ ± ۰/۰۱۹ a
افزایش وزن بدن (گرم)	۳/۶۷ ± ۰/۲۹ b	۲/۸۳ ± ۰/۲۹ a	۴ ± ۰/۵ b	۲/۵۰ ± ۰/۵ a
درصد افزایش وزن بدن (٪)	۲/۹۷ ± ۰/۰۹۳ b	۲/۳۹ ± ۰/۵۳۷ ab	۳/۱۶ ± ۰/۳۴۵ b	۲/۱۱ ± ۰/۶۰۶ a
میانگین رشد روزانه (گرم در روز)	۰/۰۶۷ ± ۰/۰۳۱ a	۰/۰۳۹ ± ۰/۰۰۹ a	۰/۰۵۳ ± ۰/۰۰۶ a	۰/۰۳۵ ± ۰/۰۱ a
ضریب چاقی (٪)	۰/۲۷۶ ± ۰/۰۰۰۳ a	۰/۲۷۳ ± ۰/۰۲۳۷ a	۰/۲۸۴ ± ۰/۰۲۰۶ a	۰/۳۰۲ ± ۰/۰۳۲۶ a
درصد بازماندگی (٪)	۱۰۰ ± ۰ a	۱۰۰ ± ۰ a	۱۰۰ ± ۰ a	۱۰۰ ± ۰ a

حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف، نشان‌دهنده اختلاف بین تیمارها است (P<۰/۰۵).

جدول ۳: نتایج شاخص‌های خونی، ایمنی و استرس در تیمارهای مختلف در بچه‌ماهیان استرلیاد

شاخص‌ها / تیمارها	تیمار ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی)	تیمار ۲ (سیستم پرورش مدار باز و بدون توپ زیستی)	تیمار ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی)	تیمار ۴ (سیستم پرورش مدار بسته و بدون توپ زیستی)
تعداد گلبول سفید (میلی‌متر مکعب)	۳۷۰۰ ± ۴۵۸/۲۶ a	۵۰۶۶/۶۷ ± ۴۵۰/۹۲ b	۶۶۶۶/۶۷ ± ۵۶۸/۶۲ c	۴۳۰۰ ± ۱۰۰ ab
تعداد گلبول قرمز (میلی‌متر مکعب)	۶۱۱۶۶۶/۷ ±۱۷۵۵۹/۴ b	۵۷۳۳۳۳/۳ ± ۱۲۵۸۳/۱ ab	۵۵۶۳۳۳/۳ ± ۱۰۲۶۳/۲ a	۵۹۷۳۳۳/۳ ± ۲۸۳۶۰/۸ ab
هموگلوبین (گرم/دسی لیتر)	۶/۲۳ ± ۰/۲۵ a	۵/۸۳ ± ۰/۱۲ a	۵/۹۳ ± ۰/۷۶ a	۵/۹۳ ± ۰/۳۲ a
هماتوکریت (٪)	۳۳/۶۷ ± ۱/۵۳ b	۳۱ ± ۱ ab	۳۰ ± ۱ a	۳۱/۳۳ ± ۱/۵۳ ab
MCV (فمتولیتر)	۵۴۹/۶۷ ± ۱۱/۰۱ b	۵۴۰/۳۳ ± ۶/۱۱ ab	۵۳۸/۶۷ ± ۸/۳۳ ab	۵۲۴/۳۳ ± ۶/۵۱ a
MCH (پیکوگرم)	۱۰۱/۳۳ ± ۱/۵۳ a	۱۰۱ ± ۱ a	۱۰۰/۳۳ ± ۱/۵۳ a	۹۹ ± ۱ a
MCHC (گرم/دسی لیتر)	۱۸/۴۷ ± ۰/۲۵ a	۱۸/۸۰ ± ۰/۳۵ a	۱۸/۶۳ ± ۰/۰۶ a	۱۸/۹۰ ± ۰/۱۷ a
نوتروفیل (٪)	۱۱/۶۷ ± ۱/۵۳ a	۱۵/۳۳ ± ۰/۵۸ b	۱۷/۶۷ ± ۰/۵۸ c	۱۴/۶۷ ± ۰/۵۸ b
لنفوسیت (٪)	۸۳ ± ۱/۷۳ c	۷۸ ± ۱/۷۳ ab	۷۵/۶۷ ± ۱/۵۲ a	۷۹/۳۳ ± ۰/۵۸ b
مونوسیت (٪)	۴/۳۳ ± ۱/۱۶ a	۶ ± ۱ a	۵/۳۳ ± ۱/۵۳ a	۵ ± ۱ a
ائوزینوفیل (٪)	۱ ± ۱ a	۰/۶۷ ± ۰/۵۸ a	۱/۳۳ ± ۰/۵۸ a	۱ ± ۱ a
IgM (میلی‌گرم/دسی لیتر)	۸۳/۳۳ ± ۸/۱۴ a	۷۳/۳۳ ± ۱/۵۱ a	۷۹/۳۳ ± ۱/۴۳ a	۷۲/۶۷ ± ۵/۱۳ a
لیزوزیم (u/ml/min)	۳۷ ± ۷/۸۱ a	۳۰ ± ۱ a	۳۷ ± ۷/۸۱ a	۳۰/۶۷ ± ۱/۵۳ a
ایمونوگلوبولین کل (میلی‌گرم/میلی لیتر)	۱۳/۷۳ ± ۰/۶۸ b	۱۱/۹۳ ± ۰/۳۱ a	۱۴/۷۷ ± ۰/۶۴ b	۱۲/۰۳ ± ۰/۷۱ a
کورتیزول (نانوگرم/میلی لیتر)	۵۵۴/۳۳ ± ۸۸/۶۴ a	۵۸۹/۳۳ ± ۹۰/۱۶ ab	۴۷۳ ± ۵۴/۸۱ a	۷۶۳/۶۷ ± ۷۳/۹۳ b
لاکتات (میلی‌گرم/دسی لیتر)	۱۸/۳۳ ± ۳/۰۶ a	۳۲/۶۷ ± ۲/۵۲ b	۱۹ ± ۲/۶۵ a	۲۹/۳۳ ± ۵/۵۱ b
گلوکز (میلی‌گرم/دسی لیتر)	۶۰/۶۷ ± ۲/۵۲ a	۶۷ ± ۱ ab	۵۹/۳۳ ± ۴/۷۳ a	۷۱ ± ۳ b

حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف، نشان‌دهنده اختلاف بین تیمارها است (P<۰/۰۵).

جدول ۴: نتایج پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب در تیمارهای مختلف در بچه‌ماهیان استرلیاد

شاخص‌ها / تیمارها	تیمار ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی)	تیمار ۲ (سیستم پرورش مدار باز و بدون توپ زیستی)	تیمار ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی)	تیمار ۴ (سیستم پرورش مدار بسته و بدون توپ زیستی)
دمای آب (درجه سانتی‌گراد)	۱۸/۴۷ ± ۰/۱۵ a	۱۸/۵۰ ± ۰/۳۰ a	۱۸/۵۳ ± ۰/۳۵ a	۱۸/۵۷ ± ۰/۲۱ a
pH	۸/۱۰ ± ۰ a	۸/۲۰ ± ۰ b	۸/۱۰ ± ۰ a	۸/۲۰ ± ۰ b
(ppm) NO_3	۰/۰۰۷۶ ± ۰/۰۰۱۱ a	۰/۰۱۸۴ ± ۰/۰۰۰۸۵ c	۰/۰۱۱۹ ± ۰/۰۰۰۵ b	۰/۰۲۰۵ ± ۰/۰۰۰۶ d
(ppm) NO_2	۰/۰۰۴ ± ۰/۰۰۲۱ a	۰/۰۰۷ ± ۰/۰۰۲ a	۰/۰۰۶ ± ۰/۰۰۲۱ a	۰/۰۰۹ ± ۰/۰۰۱۵ a
(ppm) NH_3	۰/۰۰۶۰ ± ۰/۰۰۳۶ a	۰/۰۱۵۴ ± ۰/۰۰۰۲ b	۰/۰۰۸۴ ± ۰/۰۰۰۲ a	۰/۰۱۸۹ ± ۰/۰۰۰۴ b
(ppm) NH_4	۰/۲۱۳۳ ± ۰/۰۰۲۵ a	۰/۲۴۵۸ ± ۰/۰۰۱۶ b	۰/۲۵۱۴ ± ۰/۰۰۰۲ c	۰/۳۰۱۱ ± ۰/۰۰۰۲ d
(ppm) TAN	۰/۲۲۷ ± ۰/۰۲۱ a	۰/۲۶۳ ± ۰/۰۱۵ a	۰/۲۶۳ ± ۰/۰۱۵ a	۰/۳۳۰ ± ۰/۰۲۶ b
Total Bacteria	۱۸۶۳۱/۳ ± ۳۱۴۶۷/۵ b	۳۵۰ ± ۳۵۱/۶ a	۲۳۸۵۱/۷ ± ۳۹۹۷۰/۵ b	۲۲۷۰۵ ± ۴۰۰۹۴/۶ b

حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف، نشان‌دهنده اختلاف بین تیمارها است (P<۰/۰۵).

بحث

این مطالعه در درجه اول با هدف بهبود کیفیت پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب محیط پرورش با استفاده از توپ‌های زیستی انجام گردید. هم‌چنین، سعی شد امکان تأثیر این توپ‌های زیستی بر بهبود شاخص‌های خونی، ایمنی، رشد، بازماندگی و کاهش استرس تاس‌ماهی استرلیاد نیز بررسی گردد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که از میان شاخص‌های رشد تنها فاکتورهای ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه، افزایش وزن و درصد افزایش وزن دارای اختلاف معنی‌داری بوده و بهترین مقادیر در تیمارهای ۱ و ۳ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی و سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی) بالاخص تیمار ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی) مشاهده گردید. اختلاف معنی‌داری در سایر شاخص‌های رشد وجود نداشت. با این‌حال، مناسب‌ترین مقادیر در بیش‌تر موارد در تیمارهای ۱ و ۳ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی و سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی) مشاهده شد. شاید علت بالاتربودن شاخص‌های رشد در تیمارهای حاوی توپ زیستی را این گونه توجیه کرد که حضور باکتری‌های موجود در توپ‌های زیستی به‌عنوان عاملی در جهت بهتر شدن شرایط محیطی عمل کرده و وجود این شرایط سبب زیست بهتر ماهی گردیده است.هم‌چنین، مقادیر بالاتر در تیمار ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی) در مقایسه با تیمار ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی) نیز ممکن است به‌علت عدم خروج آب و در نتیجه ثبات تعداد باکتری‌ها و عملکرد بهتر باکتری‌ها در سیستم باشد. عاملی مهم در جهت افزایش سوددهی در صنعت آبزی پروری رسیدن به رشد مطلوب می‌باشد (۴۳). رشد ازجمله عواملی است که بر قابلیت تولید تجاری ماهیان تأثیر می‌گذارد (۴۴).دمای آب، میزان تغذیه و اندازه‌ماهی مهم‌ترین عوامل رشددر ماهیان می‌باشند (۲۴). استفاده از سیستم بایوفلاک در ماهی روهو باعث افزایش رشد قابل‌توجه این ماهی نسبت به‌تیمار شاهد شد(۴۵). Khademi Hamidi و همکاران، با مطالعه ماهی کپور بیان کردند که عملکرد رشد و تغذیه به‌طور معنی‌داری در تیمار حاوی ملاس نسبت به تیمار شاهد بیش‌تر بود (۴۶). Mahanand و همکاران، با بررسی بچه‌ماهیان روهو (*Labeo rohita*) بیان کردند که ماهیانی که در سیستم بایوفلاک پرورش یافتند، از میانگین وزن نهایی و نرخ رشد ویژه بالاتری در مقایسه با تیمار شاهد برخوردار هستند. اما دارای ضریب تبدیل غذایی و نرخ عملکرد پروتئین پایین‌تری نسبت به تیمار شاهدبودند و به این نتیجه رسیدند که سیستم بایوفلاک جهت پرورش ماهی روهو مناسب است (۴۷). نتایج مطالعات‌فوق تا حدودی منطبق با نتیجه‌مطالعه حاضر می‌باشد. Andriani و همکاران، با مطالعه ماهی تیلاپیا بیان کردند که نتایج افزایش وزن بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت (۲۳). با این‌حال، بالاترین مقدار در تیمار توپ زیستی و کم‌ترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در میان تیمارهای مختلف، تیمار ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی) از نظر فاکتورهای خونی دارای شرایط بهتری بود. به‌طوری‌که کم‌ترین تعداد گلبول سفید، مونوسیت و نوتروفیل و بیش‌ترین تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و MCV در این تیمار مشاهده شد. هم‌چنین، از لحاظ شاخص‌های ایمنی و استرس بیش‌ترین مقادیر IgM، لیزوزیم و ایمونوگلوبولین کل و کم‌ترین مقادیر کورتیزول، لاکتات و گلوکز در تیمارهای ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی) و ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی) مشاهده گردید. ترکیبات خون تحت تأثیر عوامل فیزیولوژیک و آسیب شناسی تغییر می‌کند (۴۸). مطالعه ترکیبات‌خونی سبب‌شناخت وضعیت سلامتی (۴۹) و فیزیولوژی آبزی (۵۰)می‌شود.شاخص‌هایی‌نظیر گلبول‌سفید، گلبول‌قرمز،هماتوکریت، هموگلوبین، MCHC، MCV و MCH نشان‌دهنده وضعیت سلامتی ماهیان می باشد (۵۱). مطالعات نشان داد که تعداد هموسیت‌های کل در میگو در تیمارهای بایوفلاک به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد بود (۵۲). استفاده از سیستم بایوفلاک در ماهی روهو افزایش پارامترهای ایمونولوژیکی را نشان داد(۴۵)که با مطالعه‌حاضر هم‌خوانی دارد. Long و همکاران، نیز اثر تحریکی بایوفلاک را بر پاسخ ایمنی ماهی تیلاپیا تأیید کرده‌اند که در مطالعه روی ماهی استرلیاد نیز مورد تأیید می‌باشد (۵۳). Khademi Hamidi و همکاران، با مطالعه ماهی کپور بیان کردند که سطوح ایمونوگلوبین و لیزوزیم ماهیان رشد یافته در سیستم بایوفلاک به‌طور معنی‌داری بیش از تیمار شاهد بود (۴۶). ارزیابی پارامترهای خون می‌تواند روشی برای تعیین واکنش استرس ماهی باشد (۵۴). در شرایط استرس، تعداد گلبول‌های قرمز، مقادیر هماتوکریت و سطح هموگلوبین کاهش می‌یابد. اما تعداد گلبول‌های سفید افزایش می‌یابد (۵۵). سطوح کورتیزول در ماهیان کپور در تیمار حاوی ملاس به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از تیمار شاهد بود که نشان دهنده عدم استرس‌زایی این محیط است (۴۶). استفاده از سیستم بایوفلاک با منابع مختلف کربنی در پرورش ماهی روهو سبب شد تا تیمار حاوی بایوفلاک دارای مقادیر کم‌تری کورتیزول در مقایسه با تیمار شاهد باشد (۵۶). نتایج مطالعات فوق با نتیجه مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. استفاده از سیستم بایوفلاک برای پرورش گربه ماهی آفریقایی(*Clarias gariepinus*) سبب افزایش گلوکز در زمان تراکم بالا (۱۰۰۰ عدد در مترمربع) گردید (۵۵).آلودگی‌های آب عبارتنداز تغییرات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی که در نهایت منجر به بیماری در موجودات زنده اکوسیستم می‌گردد(۵۷). کیفیت آب به‌طور مستقیم بر سلامت آبزیان اثرگذار است (۵۸). سیستم بایوفلاک

سبب بهبود کیفیت آب و شرایط زیست محیطی آبزیان می‌شود (۵۹). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در میان تیمارهای مختلف، تیمار ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی) دارای مقادیر پایین‌تری (بهتر) نسبت به سایر تیمارها در بسیاری از فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب می‌باشد. به‌طوری‌که بهترین و مناسب‌ترین مقادیر pH، NO_3، NO_2، NH_3، NH_4 و TAN در این تیمار مشاهده شد. پس از تیمار ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی)، تیمار ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی) عملکردی مناسبی داشت که علت نیز وجود باکتری‌های موجود در توپ زیستی می‌باشد. هم‌چنین، مناسب‌تر بودن فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب در تیمار ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی) نسبت به تیمار ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی) می‌تواند ناشی از چرخش و جریان آب در تیمار ۱ دانست که این جریان آب اگرچه باعث از دست رفتن تعدادی از باکتری‌ها گشته، ولی ورود آب تازه باعث خروج مواد زائد، مدفوع و مواد نیتروژنی می‌گردد. تأثیر دما در تکنولوژی بایوفلاک مورداستفاده برای ماهی تیلاپیا اختلاف معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان نداد (۵۳) که در این مطالعه نیز از این نظر تأثیر معنی‌داری مشاهده نگردید. Andriani و همکاران، با بررسی تیلاپیای نیل در ۴ محیط متفاوت نشان دادند که در تیمار حاوی توپ زیستی در مقایسه با تیمار شاهد pH مناسب‌تری وجود دارد (۲۳). در یک سیستم پرورش متراکم، آلودگی به‌وسیله نیتروژن آمونیاکی و نیتریت فاکتور استرسی مهم بوده که بر سیستم آبزی‌پروری نیز تأثیر می‌گذارند (۵۹). تعداد باکتری‌های نیتریفیکاسیون کننده موجود در آب غلظت آمونیاک، نیترات و نیتریت را تعیین می‌کنند (۶۰). Khademi Hamidi و همکاران با مطالعه ماهی کپور بیان کردند که اگرچه نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی، تعویض آب تیمار شاهد به‌صورت روزانه ۱۰٪ بیش‌تر بود، اما تغییر چندانی در کیفیت آن مشاهده نگردید (۴۶). بررسی تأثیر تکنولوژی بایوفلاک بر ماهی تیلاپیا نشان داد که غلظت نیترات و نیتریت در تیمار بایوفلاک به‌طور معنی‌داری کم‌تر از تیمار شاهد بود (۵۳). نتایج مطالعه روی ماهی کاراس (*Carassius auratus*) نشان داد که سیستم بایوفلاک به‌طور معنی‌داری نیتروژن آمونیاکی را بعد از ۱۴ روز و نیتریت و نیترات را بعد از ۷ روز کاهش می‌دهد (۶۱). هم‌چنین Azimi و همکاران، با مطالعه کپورمعمولی بیان کردند که مقادیر نیتروژن آمونیاکی کل در تیمارهای مختلف کاهش یافت که علت آن تشکیل بایوفلاک در سیستم و حضور باکتری‌های هضم‌کننده نیتروژن آب می‌باشد (۶۲). نتایج مطالعات فوق با نتایج مطالعه روی ماهی استرلیاد هماهنگی دارد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در میان ۴ تیمار آزمایشی مختلف، تیمار ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی) دارای بالاترین تعداد باکتری نسبت به سایر تیمارها می‌باشد. در مجموع، تیمارهای ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی) و ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی) که حاوی توپ زیستی بودند نسبت به تیمارهای شاهد خود دارای تعداد بیش‌تری باکتری بودند که علت آن نیز وجود توپ‌های زیستی می‌باشد. هم‌چنین، علت بیش‌تر بودن تعداد باکتری‌ها در تیمار ۳ (سیستم پرورش مدار بسته و توپ زیستی) نسبت به تیمار ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی) می‌تواند ناشی از عدم جریان آب و مدار بسته بودن و انباشته شدن مواد پروتئینی و نیتروژنی حاصل از غذای ماهیان در تیمار ۳ دانست که باعث افزایش تعداد باکتری می‌شود. حتی تعداد باکتری‌های موجود در تیمار ۴ (سیستم پرورش مدار بسته و بدون توپ زیستی) که فاقد توپ زیستی می‌باشد نیز از تیمار ۱ (سیستم پرورش مدار باز و توپ زیستی) بیش‌تر می‌باشد که احتمالاً علت آن مدار بسته بودن این تیمار می‌باشد. Khanjani و همکاران، با به‌کارگیری سیستم بایوفلاک در سیستم‌های پرورش میگوی سفید غربی بیان کردند که به‌وسیله سیستم بدون تعویض آب و اضافه‌کردن مواد آلی تراکم باکتری‌های هتروتروف افزایش یافته و فلاک نیز توسعه می‌یابد (۱۸). Suantika و همکاران، با بررسی بسترهای مختلف بیان کردند که اگرچه در تمام گروه‌های آزمایشی حذف آمونیوم مشاهده شد، تلقیح باکتری‌های نیتریفیکاسیون باعث افزایش معنی‌دار میزان اکسیداسیون آمونیوم شد و تیمارهای حاوی باکتری‌های نیتریفیکاسیون مقادیر آمونیوم را نسبت به تیمار شاهد بیش‌تر کاهش دادند (۲۲). فلاک‌های میکروبی سبب چرخش دوباره غذاهای باقی‌مانده و مواد دفعی و استفاده مجدد آن توسط ماهیان شده و باعث می‌شود که جذب غذا به‌خصوص در شرایط بدون تعویض آب بهتر شود (۶۳). Andriani و همکاران، با مطالعه ماهی تیلاپیا بیان کردند که نوع فیلتر موجود در سیستم آکواپونیک بر میزان باکتری نیتروزوموناس موجود در آب تاثیر دارد (۶۰). نتایج مطالعات فوق با نتایج مطالعه روی ماهی استرلیاد هم‌خوانی دارد. در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان دو تیمار حاوی توپ‌های زیستی را به‌عنوان برترین تیمارهای این تحقیق انتخاب نمود. چون‌که باعث بهبود شرایط و افزایش کارایی سیستم پرورشی گردیدند. حتی اگر به‌طور مستقیم توسط آبزیان استفاده نشوند، وجود آن‌ها سبب بهبود شرایط زیست می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نگارندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه مسئولین محترم مرکز تحقیقات علوم شیلاتی و فنون دریایی دکتر کیوان چمخاله و آزمایشگاه ویرومد ابراز می‌دارند.

منابع

1. **Mahanand, S.S. and SrinivasaRao, P., 2012.** Optimum formulation of feed for Rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), with biofloc as a component. Aquaculture International. 21: 347-360.
2. **De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N. and Verstraete, W., 2008.** The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. Aquaculture. 277: 125-137.
3. **Burford, M., Thompsona, P.J., McIntoshb, R.P., Baumanb, R.H. and Pearson, D.C., 2004.** The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. Aquaculture. 232: 525-537.
4. **Bender, J., Lee, R., Sheppard, M., Brinkley, K., Philips, P., Yeboah, Y. and Wah, R.C., 2004.** A waste effluent treatment system based on microbial mats for black sea bass *Centropristis striata* recycled water mariculture. Aquacultural engineering. 31(1-2): 73-82.
5. **Bakhshi, F., Najdegerami, E.H., Eimanim, A. and Sarvi Moghanloo, K., 2016.** Effect of biofloc technology on growth performances, body composition and reduction of economic costs in intensive culture of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. Journal of Veterinary Research. 71(2): 163-169. (In Persian)
6. **Avnimelech, Y., 2009.** Biofloc technology: A practical guide book. World Aquaculture Society, Baton Rouge. Louisiana, USA. 182 p.
7. **Ray, A.J., 2012.** Biofloc technology for super intensive shrimp culture. In Biofloc Technology- a practical guide book Edited by Avnimelech, Y., 2nd Ed. The World Aquaculture Society, Baton Rouge. Louisiana, USA. 167-188.
8. **Khanjani, M.H., 2019.** Application of Biofloc technology in aquaculture with an emphasis on ornamental fish. Journal of Ornamental Aquatics. 6(2) :35-47. (In Persian)
9. **Putra, I. and dan Setiyanto, D., 2011.** Pertumbuhan Dan Kelangsungan Hidup Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Dalam Sistem Resirkulasi. Jurnal Perikanan dan Kelautan. 16(1): 56-63.
10. **Satyani, D., Mundriyanto, H., Subandiyah, S., Chumaidi, S., Taufik, P., Slembrouck, J., Legendre, M. and dan Pouyaud, L., 2006.** Teknologi Pembenihan Ikan Hias Botia (*Chromobotia macracanthus Bleeker*) Skala Laboratorium. Loka Riset Budidaya Ikan Hias Air Tawar, Pusat Riset Perikanan Budidaya, Badan Riset Kelautan dan Perikanan. Depok. 29 p.
11. **Alfia, A.R., Arini, E. and Elfitasari, T., 2013.** Pengaruh Kepadatan Yang Berbeda Terhadap Kelulushidupan Dan Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Pada Sistem Resirkulasi Dengan Filter Bioball. Journal of Aquaculture Management and Technology. 2(3): 86-93.
12. **Masłoń, A. and Tomaszek, J.A., 2015.** A study on the use of the Bioball as a biofilm carrier in a sequencing batch reactor. Bioresource technology. 196: 577-585.
13. **Souza, D.M.D., Suita, S.M., Romano, L.A., Jr, W.W. and Ballester, E.L.C., 2014.** Use of molasses as a carbon source during the nursery rearing of *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) in a Biofloc technology system. Aquaculture Engineering. 45: 270-277.
14. **Webster, C.C. and Lim, C.E., 2002.** Nutrient requirement and feeding of finfish for aquaculture. CAB International, CABI Publishing. 418 p.
15. **Peterson, D., Vecsei, P. and Hochleithner, M., 2006.** Threatened fishes of the world: *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758 (Acipenseridae). Environmental Biology of Fishes. 78: 211-212.
16. **Falahatkar, B. and Efatpanah Komaee, I., 2011.** Eggextraction Ofsterletsturgeon, *Acipenser ruthenus* L., Through Surgery. Journal of Veterinary Research. 66(4): 353-349. (In Persian)
17. **Bakhshi, F., Malekzadeh Viayeh, R. and Najdegerami, E.H., 2014.** The application of biofloc technology in intensive culture of Common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. Journal of Animal Environment. 6(3): 45-53. (In Persian)
18. **Khaniani, M.H.; Sajjadi, M.M.; Alizadeh, M. and Sourinejad, A., 2016.** Production and evaluation of biofloc for use in zero- water exchange rearing system. Journal of Aquaculture Development. 10(1) :33-42 .(In Persian)
19. **Haghparast Radmard, M.M., Alishahi, M., Ghorbanpour, M. and Shahriari, A., 2018.** Evaluation of different C/N ratios effect at intensive biofloc system on growth performance and health of Common Carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Animal Environment. 10(2): 169-180. (In Persian)
20. **Crab, R., Lambert, A., Defoirdt, T., Bossier, P. and Verstraete, W., 2010.** The application of bioflocs technology to protect brine shrimp (*Artemia franciscana*) from pathogenic *Vibrio harveyi*. Journal of Applied Microbiology. 109(5): 1643-1649.
21. **Suantika, G., Lumbantoruan, G., Muhammad, H. and Aditiawati, P., 2015.** Performance of zero water discharge (ZWD) system with nitrifying bacteria and microalgae *Chaetoceros calcitrans* components in super intensive white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) culture. Journal of Aquaculture Research and Development. 6: 1-6.
22. **Suantika, G., Pratiwi, M.I., Situmorang, M.L., Djohan, Y.A., Muhammad, H. and Astuti, D.I., 2016.** Ammonium Removal by Nitrifying Bacteria Biofilm on Limestone and Bioball Substrate Established in Freshwater Trickling Biofilter. Poultry, Fisheries and Wildlife Sciences. 4(2): 157.
23. **Andriani, Y., Dhahiyat, Y. and Hasan, Z., 2019.** The productivity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and water quality condition in different filters in aquaponics system. Global Scientific Journals. 7(6): 591-597.
24. **Sener, E., Yıldız, M. and Savaş, S., 2006**. Effect of vegetable protein and oil supplementation on growth performance and body composition of Russian sturgeon juveniles (*Acipenser gueldenstaedtii*) at low temperatures. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 6: 23-27.
25. **Abdi, H., Mahmoudi, N.A. and Falahatkar, B., 2018.** Dietary nucleotide effects on some growth indices and carcass composition in common carp. Journal of Marine Science and Technology. 8(1-2): 22-30. (In Persian)
26. **Merrifield, D.L., Bradley, G., Harper, G.M., Baker, R.T.M., Munn, C.B. and Davies, S.J., 2011.** Assessment of the effects of vegetative and lyophilized *Pediococcus acidilactici* on growth, feed utilization, intestinal colonization and health parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Nutrition. 17(3): 73-79.
27. **Grisdale-Helland, B., Helland, S.J. and Gatlin, D.M., 2009.** The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture. 283: 163-167.
28. **Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, M.J., Montero, D., Gines, R., Sweetman, J. and Izquierdo, M.S., 2011.** Improved feed utilization, intestinal mucus production and immune parameters in Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). Aquaculture Nutrition. 17(2): 223-233.
29. **Klontz, G.W., 1994.** Fish Hematology. In Techniques in Fish Immunology. Edited by JS Stolen.; Fletcher T.C., Rowley, A.F., Kelikoff, T.C., Kaattari, S.L. and Smith, S.A., SOS Publications. 121-132.
30. **Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W., 1983.** Roution haematological methods for use with fish blood. Fish Biology. 5: 771-781.
31. **Houston, A.H., 1990.** Blood and circulation. In Methods in fish biology. Edited by CB Schreck and PB Moyle. American Fisheries Society. Bethesda, Maryland. 335 p.
32. **Ameri Mahabadi, M., 2018.** Laboratory methods of veterinary hematology. Tehran University Publications. 126 p. (In Persian)
33. **Ellis, A.E., 1977.** The Leucocytes of fish: A review. Journal of Fish Biology. 11: 453-491.
34. **Siwicki, A.K. and Anderson, D.P., 1993.** Nonspecific defence mechanisms assay in fish. II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (T- Ig) levels in serum. Fish Diseases Diagnosis and Prevention's Methods. FAO Project GCP/INT/526/JPN, IFI Olsztyn. 105-112.
35. **Amar, E.C., Kiron, V., Satoh, S., Okamoto, N. and Watanabe, T., 2000.** Effects of dietary b-carotene on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fisheries Sciences. 66: 1068-1075.

improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture. 448: 135-141.

54. **Atmadi, V.P., Hyung, J.R., Hwa Min, B., Gustiano, R. and Young Jin, Y.C., 2016.** Effects of different salinity levels on physiological and hematological response of rock bream *Oplegnathus fasciatus.* Indonesian Aquaculture Journal. 11(2): 75-79.

55. **Hastuti, S. and Subandiyono, S., 2018.** Haematological parameters of the North African catfish *Clarias gariepinus* farmed using biofloc technology. AACL Bioflux. 11(4): 1415-1424.

56. **Verma, A.K., Rani, A.B., Rathore, G., Saharan, N. and Gora, A.H., 2016.** Growth, non-specific immunity and disease resistance of *Labeo rohita* against *Aeromonas hydrophila* in biofloc systems using different carbon sources. Aquaculture. 457: 61-67.

57. **Svobodova, Z. and Vykusova, B., 1991.** Diagnostic preventionand therapy of fish disease and intoxications. Manual for international training collrse on Freshwater fish disease and intoxication. 156-157.

58. **Yildiz, H.Y., Robaina, L., Pirhonen, J., Mente, E., Dominguez, D. and Parisi, G., 2017.** Fish Welfare in Aquaponic Systems: Its Relation to Water Quality with an Emphasis on Feed and Faeces: A Review. Water. 9: 1-13.

59. **Tovar, A., Moreno, C. and Manuel-Vez, M.P., 2000.** Environmental impacts of intensive aquaculture in marine waters. Water Research. 34(1): 334-342.

60. **Andriani, Y., Dhahiyat, Y., Hasan, Z., Subhan, U., Iskandar, I., Zidni, I. and Mawardiani, T., 2018.** Effect of water irrigation volume on Capsicum frutescens growth and plankton abundance in aquaponics system. IOP Conference Series Earth and Environmental Science 139: 012001. The 2nd International Symposium on Marine and Fisheries Research.

61. **Wang, G., Yu, E., Xie, J., Yu, D., Li, Z., Luo, W., Qiu, L. and Zheng, Z., 2015.** Effect of C/N ratio on water quality in zero-water exchange tanks and the biofloc supplementation in feed on the growth performance of crucian carp, *Carassius auratus.* Aquaculture. 443: 98-104.

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

63. **Xu, W.J. and Pan, L.Q., 2012.** Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. Aquaculture. 356-357: 147-152.

36. **Rotllant, J., Balm, P.H.M., Perez-Sanchez, J., Wendelaar-Bonga, S.E. and Tort, L., 2001.** Pituitary and interrenal function in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L., Teleostei) after handling and confinement stress. General and Comparative Endocrinology. 121: 333-342.

37. **Acerete, L., Balasch, J.C., Espinosa, E., Josa, A. and Tort, L., 2004.** Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviayilis*) Subjected to stress by transport and handling. Aquaculture. 237: 167-178.

38. **Kubokawa, K., Watanabe, T., Yoshioka, M. and Iwata, M., 1999.** Effects of acute stress on plasma cortisol, sex steroid hormone and glucose levels in male and female sockeye salmon during the breeding season. Aquaculture. 172: 335-349.

39. **Ahn, Y., Park, E.J., Oh, Y.K., Park, S., Webster, G. and Andrew, J.W., 2005.** Biofilm microbial community of a thermophilic trickling biofilter used for continuous biohydrogen production. FEMS Microbiology Letter. 249: 31-38.

40. **Moopam. 1999.** Manual of Oceanographic Observation and Pollutant Analyses Methods. Third Edition. Regional Organization for the Protection of the Marine Environment. ROPME Publishing, Kuwait. 574 p.

41. **Suantika, G., Astuti, D.I., Arief, R.R., Rusni, M. and Turendro, O.R., 2012.** Use of zero water discharge technology through the application of nitrifying bacteria and textile vertical substrate in grow-out phase of *Macrobrachium rosenbergii*. Journal of Aquaculture Research and Development. 3: 139.

42. **Cappuccino, J.G. and Sherman, N., 2012.** Microbiology: A Laboratory Manual. 9th Ed. Benjamin Cummings, Redwood City.

43. **Zakari, M., 2018.** Effects of different dietary protein and fat levels on biological performance in Acanthopagrus latus broodstock. PhD thesis. Khorramshahr Marine Science and Technology University. 205 p. (In Persian)

44. **Sharif Rouhani, M. and Iran, A.M., 2009**. Product subject technical instructions. Volume 4, sturgeon fish. Ministry of Jihad and Agriculture, Organization of Research, Education and Promotion of Agriculture, Fisheries Research Institute of Iran. 84 p. (In Persian)

45. **Kamilya, D., Debbarma, M., Pal, P., Kheti, B., Sarkar, S. and Singh, S.T., 2017.** Biofloc technology application in indoor culture of *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) fingerlings: The effects on inorganic nitrogen control, growth and immunity. Chemosphere. 182: 8-14.

46. **Khademi Hamidi, M., Adineh, H., Harsij, M. and Gholipour Kanani, H., 2019.** Effects of adding molasses in water and diet of common carp on growth, blood biochemical indices, digestive enzymes and water quality in a biofloc system. Aquatic Animals Nutrition. 4(1): 25-34. (In Persian)

47. **Mahanand, S.S., Moulick, S. and Srinivasa Rao, P., 2013.** Water Quality and Growth of Rohu, *Labeo rohita*, in a Biofloc System. Journal of Applied Aquaculture. 25: 121-131.

48. **Jamalzadeh, H., Keyvan, A., Oryan, sh. and Qomi, M., 2008.** An assessment of hematological and serum biochemical indices in *Salmo trutta caspius.* Iranian Scientific Fisheries Journal. 17(3): 47-54. (In Persian)

49. **Bani, A. and Haghi-Vayghan, A., 2011.** Temporal variations in haematological and biochemical indices of the Caspian kutum, *Rutilus frisii kutum*. Ichthyological Research. 58: 126-133.

50. **Hued, A. and Bistoni, M.A., 2002.** Effects of water quality variations on fish communities in the Central Part of Argentina, South America. Proceeding of the International Association of Theoretical and Applied Limnology. 28: 112-116.

51. **Michael, S.E., Abarike, E.D. and Cai, J., 2019.** A Review on the Probiotic Effects on Haematological Parameters in Fish. American-Eurasian Journal of Scientific Research. 6(1): 32-38.

52. **Xu, W.J. and Pan, L.Q., 2013.** Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. Aquaculture. 412-413(1): 117-124.

53. **Long, L., Yang, J., Li, Y., Guan, C. and Wu, F., 2015.** Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically