

## تولید و ارزیابی بیوفلوک به منظور به کارگیری در سیستم پرورشی بدون تعویض آب

محمد حسین خانجانی<sup>۱</sup>، میر مسعود سجادی<sup>۲\*</sup>، مرتضی علی زاده<sup>۳</sup>، ایمان سوری نژاد<sup>۴</sup>

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی و جوی، دانشگاه هرمزگان، هرمزگان، ایران، صندوق پستی: ۳۹۹۵

۳- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران، صندوق پستی: ۱۱۴۴

۴- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مرکز تحقیقات ملی آبریان آب‌های شور داخلی، بافق، ایران

تاریخ پذیرش: ۲۴ دی ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: ۲۰ شهریور ۱۳۹۴

### چکیده

مطالعه حاضر با هدف تولید و ارزیابی بیوفلوک به منظور به کارگیری در سیستم‌های بدون تعویض آب پرورش میگوی سفید غربی در کارگاه تکثیر و پرورش آبریان بندر کلاهی واقع در شهرستان میناب استان هرمزگان انجام شد. سه عدد تانک فایبرگلاس با حجم آبرگیری ۲۰۰ لیتر به مدت چهار هفته با آب دریای فیلتر شده با شوری (۳۲/۵±۰/۵) گرم در لیتر) پر شدند و جهت تشکیل بیوفلوک، به هر کدام از تانک‌ها مواد آلی کربن دار (سبوس و آرد گندم، ملاس)، خوراک میگو، خاک رس الک شده و کود شیمیایی اوره اضافه گردید. با اضافه کردن مواد مذکور، توسعه باکتری‌ها افزایش یافته و منجر به شکل‌گیری فلوک‌های میکروبی شد. پارامترهای اکسیژن محلول و pH در طی روزهای آزمایش با اضافه کردن مواد آلی کربن دار کاهش نشان داد. همچنین تراکم باکتری‌های هتروتروف در طی روزهای آزمایش افزایش نشان داد به طوری که کم‌ترین ( $1/533 \pm 0/057 \times 10^2$  CFU/ml) در ابتدا و بیش‌ترین ( $3/36 \pm 0/15 \times 10^7$ ) در انتهای آزمایش به دست آمد. میزان مواد معلق ته نشین شده نیز در طی روزهای آزمایش با شیب ملایمی افزایش نشان داد که میزان ۰/۴۶ و ۱۲/۳۳ میلی گرم در لیتر در ابتدا و انتهای آزمایش به دست آمد. میزان ارگانسیم‌های وابسته به فلوک برای پروتوزوای مژک‌دار و تاژک‌دار، میکروجلبک‌ها، نماتودها و سایر ارگانسیم‌های معلق در فلوک تولیدی به میزان ۷۳/۴۷، ۲۰/۵۳، ۳/۳۳ و ۲/۶۷ درصد به دست آمد. نتایج تحقیق آشکار می‌نماید که با سیستم بدون تعویض آب و اضافه کردن مواد آلی می‌توان تراکم باکتری‌های هتروتروف و توسعه فلوک را افزایش داد و فلوک تولیدی را به عنوان استوک باکتری‌های موثر در سیستم بدون تعویض آب استفاده نمود.

**کلمات کلیدی:** بیوفلوک، مواد آلی، سیستم بدون تعویض آب.

## مقدمه

با توجه به افزایش جمعیت جهان و محدودیت‌های صید آبرزیان از منابع طبیعی، تقاضا برای تولیدات آبرزی پروری افزایش یافته است (De Schryver *et al.*, 2008). برای گسترش تولیدات آبرزی پروری باید بدون افزایش قابل توجه استفاده از منابع آب و زمین، سیستم‌های آبرزی پروری پایدار و سازگار با محیط زیست را توسعه داده و نسبت مناسب هزینه/سود را در جهت حمایت اقتصادی جامعه و پایداری تولید فراهم نمود (Naylor, *et al.*, 2009; Avnimelech, 2000). توسعه صنعت آبرزی پروری آلودگی‌های زیست محیطی را به دنبال داشته است و در نتیجه توجه به مدیریت و نوع سیستم پرورشی که با محیط زیست سازگار باشد کاملاً ضروری است (Gao *et al.*, 2012). علاوه بر این، گسترش آبرزی پروری به دلیل محدودیت اراضی مناسب و همچنین وابستگی بالا به آرد و روغن ماهی به عنوان مواد مهم تشکیل دهنده خوراک آبرزیان پرورشی، آبرزی پروری تجاری را با مشکلات زیادی مواجه کرده است (Burford *et al.*, 2004). استفاده از تکنیک‌ها و فن آوری‌های جدید و مناسب مانند بیوفلوک تکنولوژی (Biofloc Technology) در تکثیر و پرورش ماهی و میگو از اهمیت بالایی برخوردار بوده که می‌تواند اهداف مهم آبرزی پروری پایدار را دنبال نماید (Avnimelech, 2012). اساس فن آوری بیوفلوک رشد میکروارگانیسم‌ها در محیط کشتی است که حداقل تعویض آب را دارد که با تنظیم نسبت کربن به نیتروژن در محیط پرورش حاصل می‌شود (Avnimelech, 2009). این فن آوری مزیت‌های مهمی از جمله به حداقل رساندن مصرف آب، بازیافت مواد مغذی و مواد آلی، کاهش ورود عوامل بیماری‌زا به سیستم پرورش و در نتیجه امنیت

زیستی را به دنبال دارد (Avnimelech, 2009). همچنین، آبرزی پروری در مقیاس بزرگ با سیستم بیوفلوک می‌تواند اثرات مخرب زیست محیطی را در اکوسیستم‌های دریایی و ساحلی کاهش دهد و با جایگزین شدن آرد ماهی با ترکیبات بیوفلوک در تغذیه آبرزی، فاضلاب آبرزی پروری و اثرات زیست محیطی آن را کنترل نماید (Ray *et al.*, 2012). از طرف دیگر، با استفاده از سیستم بیوفلوک، سطوح مایکوتوکسین‌ها و فاکتورهای ضد تغذیه ای در خوراک آبرزی محدود می‌شود و میزان استفاده و نیاز به تأمین خوراک که هزینه‌های زیادی را در بردارد به طور کلی کاهش می‌یابد (Kuhn *et al.*, 2008). همچنین کاهش ضریب تبدیل غذایی و بهبود نرخ رشد در میگو با استفاده از سیستم پرورش بیوفلوک گزارش شده است (Wasielesky *et al.*, 2006). نیتروژن در سیستم بیوفلوک به صورت ازت مولکولی، آمونیاک، آمونیوم، نیتريت، نیترات و نیتروژن آلی وجود دارد. مشکل بزرگ در این سیستم نیتروژن غیر آلی شامل آمونیاک و نیتريت می‌باشد که سمی هستند (Avnimelech, 2012). با اضافه کردن مواد آلی کربن دار به سیستم بیوفلوک باکتری‌ها، کربوهیدرات و نیتروژن غیر آلی را به عنوان سوبسترا از آب می‌گیرند و پروتئین میکروبی تولید می‌کنند. بیوفلوک یک توده غنی شامل دیاتومه‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها، میکرو جلبک‌ها، پروتوزوآها، غذاهای خورده نشده و دفع شده، باقیمانده ارگانیسم‌های مرده، ذرات آلی و غیر آلی کوچک و دیگر ارگانیسم‌های معلق هستند (Valle *et al.*, 2015; De Schryver *et al.*, 2008) که منابع تغذیه خوراک ماهی را در سیستم بدون تعویض آب فراهم می‌کنند. یک تکنیک مناسب برای تولید انبوه پروتوزوآ و نماتودها بر اساس روش Martinez-Cordova (۲۰۰۲)

هرمزگان) انجام شد. آزمایش در یک سالن سرپوشیده با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شوری آب ۳۲/۵ گرم در لیتر و به مدت چهار هفته در سه مخزن فایبرگلاس (قطر کف ۷۰ سانتی متر، قطر دهانه ۸۰ سانتی متر، ارتفاع ۶۰ سانتی متر) با حجم آب گیری ۲۰۰ لیتر انجام شد. شرایط فیزیکوشیمیایی آب مورد استفاده برای تشکیل بیوفلوک در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱: پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب در شروع آزمایش

پارامتر	میزان
دمای آب	۳۲±۰/۵ درجه سانتی گراد
شوری آب	۳۲/۵±۰/۵ گرم در لیتر
pH	۸±۰/۲
اکسیژن محلول	۵/۵±۰/۳ میلی گرم در لیتر
آمونیاک	۰/۰۶±۰/۰۲ میلی گرم در لیتر

جهت ایجاد سیستم تولید توده زیستی (بیوفلوک)، سه مخزن فایبرگلاس (با حجم آب گیری ۲۰۰ لیتر) استفاده شد. آب دریای فیلتر شده (فیلتر شنی) با شوری نزدیک ۴۰ گرم در لیتر با آب شیرین مخلوط گردید و شوری آب به حدود ۳۲/۵ گرم در لیتر رسید و مخازن با این آب پر شدند. برای تشکیل بیوفلوک، از مواد آلی شامل خوراک تجاری میگو با ۴۲ درصد پروتئین، آرد و سبوس گندم و ملاس استفاده شد (جدول ۲). به منظور تقویت فعالیت باکتری‌های هتروتروف جهت تشکیل بیوفلوک، نسبت کربن به نیتروژن در سیستم بالای ۱۵ در نظر گرفته شد. کود شیمیایی اوره با ۴۶ درصد ازت جهت تامین نیتروژن و خاک رس نیز جهت کمک به تشکیل فلوک پس از نرم شدن و عبور از الک شماره ۲۷۰ میکرون به مخازن تشکیل فلوک اضافه

می‌باشد که روشی ارزان برای پرورش متراکم میگو با پروتوزآ و نماتودها است. در این روش از یونجه خشک و ملاس نیشکر به عنوان منابع مورد نیاز برای رشد میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود. باکتری‌ها شروع به تجزیه مواد آلی خواهند کرد و از کربن به عنوان منبع انرژی و نیتروژن برای ساختار سلول و سنتز پروتئین استفاده می‌کنند. رشد باکتری‌ها زنجیره غذایی میکروبی شامل تاژک‌داران، مژک‌داران، روتیفرها و نماتودها را ایجاد خواهد کرد (Loureiro *et al.*, 2012). مطالعات نشان داده است که باکتری‌ها می‌توانند مقدار زیادی پروتئین (۶۰ تا ۶۰۰ کیلوگرم در هکتار در هر روز برای پرورش میگو و تیلاپیا) تولید کنند (Avinmelech and Kochba, 2009). هنگامی که منبع کربن به محیط پرورش اضافه می‌شود به سرعت توسط جامعه میکروبی ساکن در محیط متابولیز می‌شود که همراه با مصرف ترکیبات نیتروژنه توسط باکتری‌ها منجر به بهبود کیفیت آب می‌شود (Crab *et al.*, 2010). منبع کربن به عنوان یک بستر برای سیستم‌های عامل بیوفلوک و تولید سلول‌های پروتئین میکروبی عمل می‌کند (Avnimelech, 1999). با توجه به اهمیت استفاده از فن آوری‌های نوین در آبرزی پروری کشور، تحقیق حاضر با هدف تهیه بیوفلوک و ارزیابی آن (نسبت و میزان غذای زنده) جهت به کارگیری در پرورش میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) به عنوان گونه اصلی میگوی پرورشی کشور در سیستم بدون تعویض آب طراحی و انجام شد.

## مواد و روش

تحقیق حاضر در تابستان سال ۱۳۹۳ در کارگاه تکثیر و پرورش آبریان بندر کلاهی (میناب، استان

به داخل قیف مدرج شده مخروطی شکل ریخته و به مدت ۳۰ دقیقه نگه داشته تا ته نشین شود (Avnimelech and Kochba, 2009). شمارش کل باکتری‌های هتروتروف هر پنج روز (بر حسب Colony-forming units (CFU) با استفاده از محیط کشت آردو- آگار (R2-agar) و بر اساس استاندارد شماره ۵۲۷۱ موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران انجام شد. میزان آمونیاک آب با استفاده از روش طیف سنجی به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل ۹۲۰۰ Cecil, CE) و بر اساس MOOPAM (۱۹۹۹) سنجیده شد. در انتهای دوره آزمایش جهت ارزیابی فلوک های تولید شده، از هر تانک یک لیتر آب برداشته و به استوانه‌های مدرج یک لیتری منتقل شد. پس از یک ساعت سکون، ۹۵۰ میلی لیتر مایع بالایی با سیفون کردن تخلیه و ۵۰ میلی لیتر حجم باقی مانده که شامل فلوک ها و میکروارگانیسم های رسوب کرده بود به ظروف ۱۰۰ میلی لیتری منتقل شد و فرمالین ۴ درصد نیز به آن اضافه گردید (Thompson et al., 2002). نمونه‌ها به آزمایشگاه پلانکتون شناسی پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان منتقل گردید. سپس سه میلی لیتر از نمونه همگن شده طی سه مرحله برداشت یک میلی لیتری، درون لام سدویک (Sedgwick-rafter chamber) همراه با محلول لوگول آیدین دو درصد ریخته (Sacca, et al. 2009) و در زیر میکروسکوپ اینسورت نیکون (مدل TS100) با بزرگنمایی ۱۰۰ (عدسی شیء و چشمی ۱۰) بررسی شد و شناسایی کلی و شمارش انجام گرفت. تعداد شمارش شده در ۵۰ میلی لیتر محاسبه و به لیتر تعمیم داده شد تا تعداد کل محاسبه شود و در نهایت هر واحد شناسایی نسبت به تعداد کل به صورت درصد بیان شد. شناسایی نمونه‌ها با استفاده از گزارشات قبلی (Porter and Feig,

گردید. هوادهی به منظور اختلاط آب و تامین اکسیژن با سه سنگ هوا در مخازن انجام شد.

جدول ۲: ترکیبات لازم برای تشکیل و تهیه یک لیتر فلوک

خوراک میگو با ۴۲٪ پروتئین <sup>۲</sup>	۴۰ گرم
ملاس	۵۰ گرم
آرد و سیوس گندم	۱۰ گرم
جمع کل	۱۰۰ گرم
اوره (۴۶ درصد ازت)	یک گرم
خاک رس	یک گرم

<sup>۱</sup> برگرفته از (Avnimelech, 2009)

<sup>۲</sup> نسبت کربن به نیتروژن در خوراک تقریباً ۷/۵ بود

<sup>۳</sup> نسبت کربن به نیتروژن برای تشکیل فلوک، ۱۵ تا ۲۰ حفظ گردید.

جهت تحریک و توسعه بیشتر فلوک در طول دوره آزمایش، منابع کربنی ملاس و آرد گندم به مخازن اضافه شد میزان مواد کربن دار، به فرض اینکه ۵۰ درصد کربن آن مورد استفاده باکتری‌های هتروتروف قرار گرفته و نسبت کربن (C) به نیتروژن (N) در حدود ۱۵/۵ تنظیم گردد، محاسبه شد (Avnimelech, 2009). مواد کربن دار پس از وزن به درون ظروف پلاستیکی یک لیتری ریخته و به خوبی با آب مخزن پرورش مخلوط شد و به طور یکنواخت در سرتاسر سطح مخزن بعد از استفاده خوراک توزیع شد تا توسعه بیوفلوک ها را تقویت کند و پس از چهار هفته فلوک مناسب و بالغ به دست آمد. اندازه گیری عوامل کیفی آب شامل دما (Digital Thermometer)، pH (pH Lutron 208, pH meter)، اکسیژن محلول (DO Lutron 510 Oxygen meter) و شوری (Salinity Refractometer) روزانه در ساعت ۹ صبح انجام شد. برای تعیین میزان مواد جامد قابل ته نشین (Settled Solid)، یک لیتر آب مخزن را

۱۲/۳۳±۰/۵۷ میلی گرم در لیتر به ترتیب در روزهای ۱، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ آزمایش به دست آمد. میانگین  $\pm$  انحراف معیار نسبت ارگانسیم‌های موجود در فلوک تشکیل شده در انتهای آزمایش در شکل ۴ ارائه شده است که نسبت ۱۷/۶۳±۷۳/۴۷، ۱۳/۲۸±۲۰/۵۳، ۲/۵۸±۳/۳۳ و ۲/۲۵±۲/۶۷ به ترتیب برای پروتوزوای مژک دار و تاژک دار، میکروجلبک‌ها، نماتودها و سایر ارگانسیم‌های معلق در فلوک تولیدی به دست آمد. سائز فلوک با بزرگنمایی ۸ در دامنه ۱۶۰ تا ۳۵۰ میکرون به دست آمد.

جدول ۳: تغییرات پارامترهای فیزیکی شیمیایی آب در دوره

#### تشکیل بیوفلوک

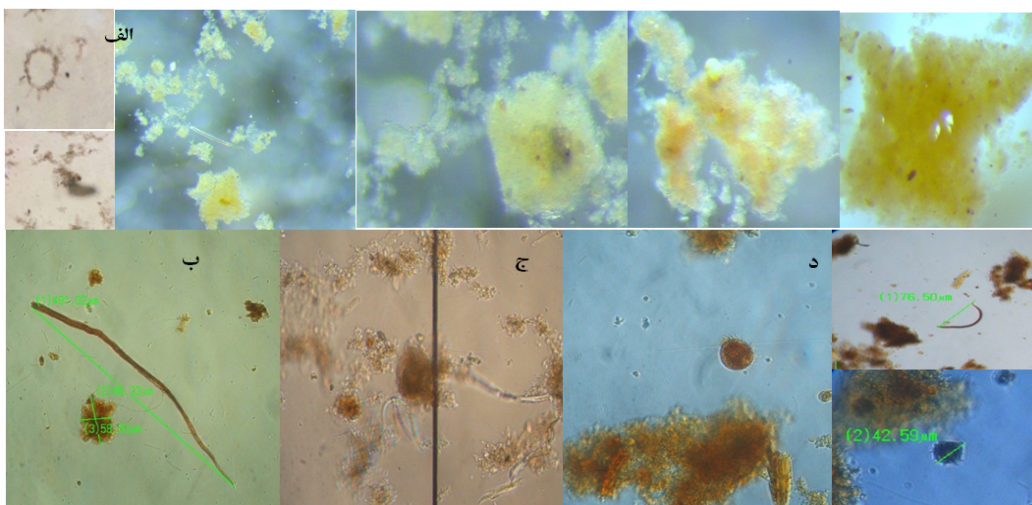
پارامتر	میزان
دمای آب	۳۲±۱ درجه سانتی گراد
شوری آب	۳۲±۱/۵ گرم در لیتر
pH	۷/۸۷±۰/۲
دوره نوری	۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی
اکسیژن محلول	۴/۵±۰/۳ میلی گرم در لیتر
آمونیاک	۰/۰۹۶±۰/۰۳ میلی گرم در لیتر

1977, Newell and Newell, 1980) انجام شد. جهت ارزیابی سائز فلوک‌ها از استریومیکروسکوپ (-NSZ 810LCD) مدل Novel با بزرگنمایی ۸X استفاده شد.

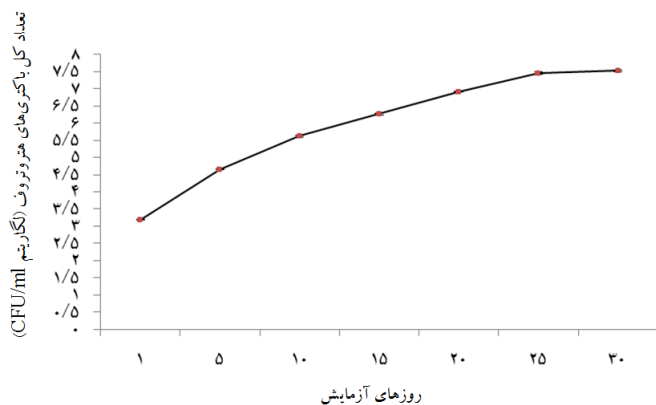
## نتایج

تصاویری از فلوک‌های تولیدی و ارگانسیم‌های موجود در آن در شکل ۱ ارائه شده است. میزان (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) پارامترهای فیزیکی شیمیایی آب در طول دوره تشکیل بیوفلوک در جدول ۳ ارائه شده است. میانگین  $\pm$  انحراف معیار کل باکتری‌های هتروتروف (بر حسب CFU) در شکل ۲ آورده شده است. بر اساس شمارش انجام شده بیشترین تعداد باکتری‌های هتروتروف (CFU/ml)  $1.07 \times 10^7 \pm 3.36$  و کمترین تعداد آنها (CFU/ml)  $1.03 \times 10^5 \pm 1.53$  در انتها و ابتدای آزمایش در تانک‌های تولید فلوک آب به دست آمد.

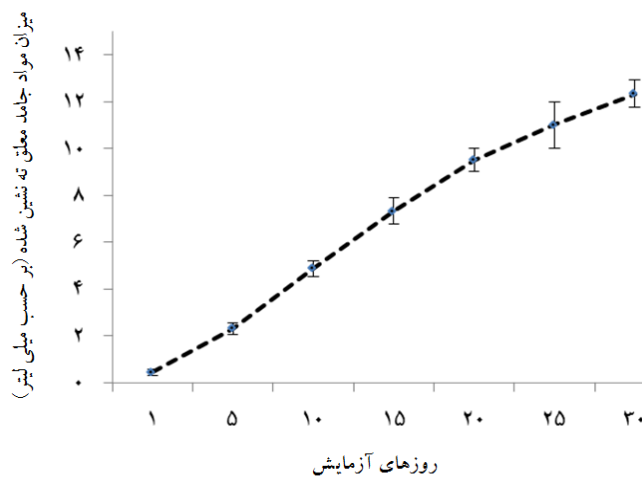
میزان (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) مواد معلق ته‌نشین شده در تانک‌های تولید فلوک در شکل ۳ ارائه شده است که بر این اساس، مقادیر  $0.46 \pm 0.15$ ،  $2.3 \pm 0.26$ ،  $0.32 \pm 0.86$ ،  $0.5 \pm 0.9$ ،  $0.57 \pm 0.7$ ،  $1.1 \pm 1.1$



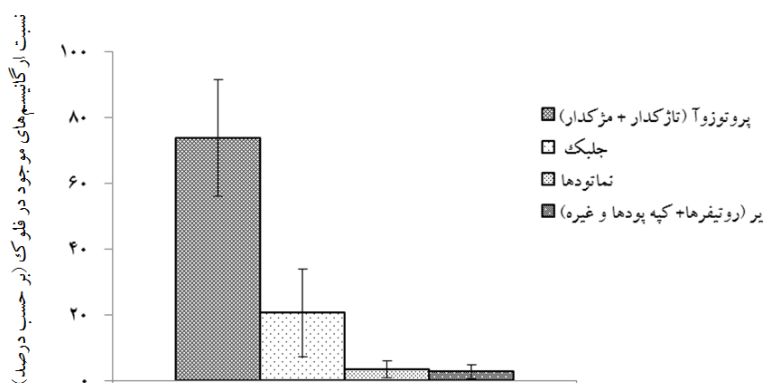
شکل ۱: بیوفلوک‌های شکل گرفته در تانک آزمایش در زیر میکروسکوپ نوری، الف) توده باکتریایی ب) نماتودج) مجموعه‌ای از زئوپلانکتون‌های چرا کننده از فلوک د) پروتوزوای مژک دار ه) جلبک از نوع دینوفلاژله (*Protoperidinium*). بزرگنمایی ۱۰۰X



شکل ۲: تعداد کل باکتری‌های هتروتروف (کلونی در هر میلی لیتر)



شکل ۳: میزان مواد جامد ته نشین شده (SS) (بر حسب میلی لیتر در لیتر)



شکل ۴: درصد ارگانیزم‌های موجود در فلوک تولید شده (تعداد ارگانیزم‌ها در لیتر نسبت به تعداد کل) در تانک‌های تولید فلوک

## بحث

جامعه هتروتروفیک می باشد که غلظت دی‌اکسید کربن را در سیستم‌های بدون تعویض آب افزایش می دهد (Tacon *et al.*, 2002; Wasielesky *et al.*, 2006). میزان شوری نیز در تانک‌های تولید فلوک

در تحقیق حاضر میزان اکسیژن محلول و pH در تانک‌های تولید فلوک پایین تر از میزان اولیه بود که به دلیل میزان تنفس بالاتر به واسطه حضور و فعالیت

که بیومس میکروبی متراکم تولید می‌شود، باکتری‌ها تمایل به تجمع داشته و فلوک‌ها را ایجاد می‌کنند. تجمعات میکروبی قطری در محدوده ۰/۱ تا چندین میلی‌متر دارند (Avnimelech, 2009) که با محدوده اندازه به دست آمده در مطالعه حاضر مطابقت داشت.

مکانیسم‌های متعددی وجود دارند که بر روی تشکیل، شکل ظاهری و پایداری فلوک تاثیر می‌گذارند. بسیاری از ارگانسیم‌ها ترکیبات پلی‌مری از جنس هومیک، پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها را دفع می‌کنند که سطح خارجی آنها را می‌پوشانند این پلی‌مرهای لزج به عنوان چسب عمل می‌کنند و سلول‌ها و ذرات دیگر را به هم ادغام کرده و فلوک تشکیل می‌دهند. مکانیسم دیگر در ارتباط با تعادل بین نیروهای جاذبه (مولکولی، دو قطبی، پیوند هیدروژنی) و نیروهای دافعه الکترواستاتیک می‌باشد. اغلب ارگانسیم‌ها دارای بار منفی بوده و باعث دافعه الکترواستاتیک متقابل می‌شوند. اگر این دافعه کاهش یابد، پس از آن نیروهای جاذبه قوی می‌تواند رخ دهد این مورد زمانی اتفاق می‌افتد که غلظت نمک بالاست و یون‌های چند ظرفیتی در محیط وجود دارد (Avnimelech, 2012). یون‌های کلسیم و آلومینیوم تشکیل فلوک پایدار را تحریک می‌کنند، علاوه بر این، ارگانسیم‌ها (جلبک، قارچ یا باکتری) در اتصال بین اجزای تشکیل دهنده فلوک‌های مختلف کمک می‌کنند (De schryver *et al.*, 2008). فلوک‌ها مخلوطی از سلول‌های زنده و مرده، دتریتوس (ذرات مواد آلی) ساخته شده‌اند و مجموعه‌ای از ارگانسیم‌های مختلف شامل باکتری‌ها، جلبک‌های رشته‌ای، پروتوزوا، نماتودها، کپه‌پودها، روتیفرها، ذرات آلی و غیرآلی را تشکیل می‌دهند (Valle *et al.*, 2015). مجموعه‌ای از

افزایش یافت که به دلیل تبخیر در تانک‌های بدون تعویض آب می‌باشد (Emerenciano *et al.*, 2012). میزان مواد معلق ته نشین شده با افزودن مواد آلی کربن دار و خوراک میگو در طی دوره آزمایش افزایش نشان داد که احتمالاً به دلیل افزایش تعداد ارگانسیم‌ها و میزان فلوک تولیدی در طی دوره آزمایش باشد.

در مطالعه حاضر با افزایش دوره آزمایش اندازه فلوک تولید شده، بزرگتر و فلوک‌های تولیدی سبک، متخلخل و دارای انبوهی از باکتری‌ها بودند که به صورت زنجیره‌وار به هم متصل شده بودند. باکتری‌های هتروتروف، مواد آلی کربن دار و نیتروژن زائد را از آب گرفته و از آنها برای تولید پروتئین میکروبی استفاده می‌کنند و با این کار، غلظت نیتروژن غیرآلی را در آب کاهش می‌دهند. عامل تحریک برای توسعه میکروب‌ها علاوه بر مواد آلی کربن دار، منبع مهم خوراک آبی می‌باشد (Burford *et al.*, 2004). تعداد باکتری‌ها در سیستم‌های بدون تعویض آب حدود  $10^7$  تا  $10^8$  سلول در هر میلی‌لیتر گزارش شده است (Avnimelech, 2009) که با محدوده به دست آمده در این آزمایش مطابقت دارد. در برخی مطالعات تعداد بالاتر تا  $10^9$  سلول در هر میلی‌لیتر نیز گزارش شده است (Burford, 2008; De schryver *et al.*, 2003; *et al.*). افزایش باکتری‌ها در انتهای آزمایش با شیب ملایم تری اتفاق افتاد که احتمالاً نشان دهنده مصرف باکتری‌های چسبیده به فلوک‌ها توسط زئوپلانکتون‌های موجود در تانک یا تغییر در ترکیبات و فراوانی میکروبیوتا به دلیل توالی در زنجیره غذایی می‌باشد (Emerenciano *et al.*, 2012).

باکتری‌های موجود در فلوک بسیار کوچک و قطری حدود یک میکرومتر دارند و در اغلب مواردی

میکروارگانسیم‌ها در زنجیره غذایی میکروبی به‌عنوان یک پتانسیل منبع غذایی برای حیوانات آبیاری پرورشی مورد بررسی و بحث قرار گرفته است (Emerenciano, *et al.*, 2012).

نمونه‌های بیوفلوک در این مطالعه کمیت بالایی از پروتوزوای مژک‌دار و تاژک‌دار را نشان دادند و پروتوزوای فراوان‌ترین گروه میکروارگانسیم در بیوفلوک بودند (شکل ۲، قسمت ج). همین روند در مطالعات Azim و Little (۲۰۰۸)، Ballester و همکاران (۲۰۱۰) و Emerenciano و همکاران (۲۰۱۲) به‌دست آمد. در مطالعه Loureiro و همکاران (۲۰۱۲) مشخص شده پروتوزوای مژک‌دار، روتیفرها و نماتودها نقش مهمی را برای تغذیه پست لارو در هچری‌های میگو بازی می‌کنند آنها به دلیل سبزی کوچک، ارزش غذایی و جذابیت بالا برای پست لارو میگو مناسب هستند. همچنین ترکیبات گونه‌ای، جوامع میکروبی طبیعی، ترکیبات بیوشیمیایی فلوک و میگو را تحت تاثیر قرار می‌دهند. پروتوزوای تاژک‌دار و مژک‌دار شامل استروئیدها در ترکیبات شیمیایی خود هستند و بخش زیادی از استروئید موجود در آنها تبدیل به کلسترول و فرم‌های دیگر چربی می‌شود (Loureiro *et al.*, 2012). تعداد زیاد میکروارگانسیم‌ها در تیمار بیوفلوک می‌تواند منجر به عملکرد بهتر رشد میگو در مقایسه با تیمار کنترل و بدون فلوک شود (Thompson *et al.*, 2002). در مطالعه Emerenciano و همکاران (۲۰۱۲)، تعداد باکتری‌های با زندگی آزاد تقریباً ۲۰ برابر بیش‌تر از باکتری‌های متصل بود که این نسبت برای تجمع و توده سازی فلوک مناسب است و سبب افزایش میزان مواد جامد معلق می‌شود.

طیف گسترده ارگانسیم‌ها، احتمالاً محدوده وسیعی از فعالیت‌ها را از خود نشان می‌دهند (Avnimelech, 2012). در مطالعه‌ای روی تیلاپیا در سیستم بیوفلوک مشخص شد که زمان ماندگاری ارگانسیم‌ها در بیوفلوک حدود ۱۰ ساعت می‌باشد (Avinmelech and Kochba, 2009) به این معنی است که توسط ماهی و احتمالاً دیگر ارگانسیم‌ها مصرف می‌شوند. کاهش تعداد میکروب‌ها و از طرف دیگر تولید میکروب‌های جدید در فلوک‌ها ۲ تا ۳ بار در روز تغییر می‌کند که عمدتاً سلول‌های جدید و فعال جایگزین می‌شوند (De schryver *et al.*, 2008). از ویژگی‌های دیگر میکروگراف‌های بیوفلوک، ساختار باز فلوک‌ها می‌باشد. این ویژگی مهم فلوک‌ها سبب می‌شود آب و مواد شیمیایی از سرتاسر فلوک جریان یابد که برای تامین مواد مغذی و حذف متابولیت‌های داخل و خارج بیومس در فلوک موثر است. یک میکروب در توده فلوک قابلیت بیش‌تری نسبت به میکروب تنها دارد و انتقال آن کارآمدتر است. از دیگر مزیت‌های بیوفلوک از نظر فرم میکروبی این است که اکثریت سلول‌ها در فلوک در برابر برداشت با پروتوزوای دیگر شکارچیان محافظت شده و برداشت به لایه خارجی فلوک محدود می‌شود. تخلخل بالای بیوفلوک سبب می‌شود چگالی فلوک‌ها نسبتاً پایین بیاید که این عمل بیوفلوک‌ها را معلق در آب حفظ می‌کند و سرعت رسوب را کاهش می‌دهد (Avnimelech, 2009).

در سیستم‌های بیوفلوک، به بیوفلوک‌های سبک که در ستون آب معلق بمانند، نیاز می‌باشد، که فرآیندهای هوازی را تسهیل و تماس گسترده بین بیوفلوک‌ها و آبیاری (ماهی و میگو) را تامین کنند و برداشت بیوفلوک توسط آبیاری را تسهیل نمایند. نقش ذرات مواد آلی و

2. Avnimelech, Y., 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. *Aquaculture*, 264, 140-147.
3. Avnimelech, Y., 2009. *Biofloc Technology: A Practical Guide Book*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA, 182 p.
4. Avnimelech, Y., 2012. *Biofloc Technology: A Practical Guide Book*, 2nd Edition. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States, 272p.
5. Avnimelech, Y., Kochba, M., 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in biofloc tanks, using N-15 tracing. *Aquaculture*, 287, 163-168.
6. Azim, M.E., Little, D.C., 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 283, 29-35.
7. Ballester, E.L.C., Abreu, P.C., Cavalli, R.O., Emerenciano, M., Abreu, L., Wasielesky, W., 2010. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. *Aquaculture Nutrition*, 16, 163-172.
8. Burford, M.A., Sellars M.J., Arnold S.J., Keys S.J., Crocos P.J., Preston, N.P., 2004. Contribution of the natural biota associated with substrates to the nutritional requirements of the post-larval shrimp, *Penaeus esculentus* (Haswell), in high-density rearing systems. *Aquaculture Research*, 35, 508- 515.
9. Burford, M.A., Thompson, P. J., McIntosh, R. P., Bauman, R. H., Pearson, D.C., 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero- exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture*, 219, 393-411.
10. Crab, R., Chielens, B., Wille, M., Bossier, P., Verstraete, W., 2010. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquaculture Research*, 41, 559-567.
11. De Schryver, P., Crab, R., Deforidit, T., Boon, N., Verstraete, W., 2008. The basics of bioflocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture*, 277, 125-137.
12. Emerenciano, M., Ballester, E.L.C., Cavalli, R.O., Wasielesky, W., 2012. Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for Pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquaculture Research*, 43, 447-457.

در جمع بندی، اضافه کردن مقادیر زیادی از مواد آلی به تانک، بیومس باکتریایی و فعالیت باکتریایی را افزایش می دهد و تامین سوبستراهای آلی برای جوامع میکروبی منجر به تولید بیوفلوک مناسب می شود. بعلاوه تولید بیوفلوک به احتمال زیاد به کیفیت سوبستراهای اضافه شده، نسبت کربن به نیتروژن آنها و قابلیت دسترسی زیستی نیز بستگی دارد. اگر خوراک ورودی یکنواخت باشد تولید فلوک در مدت زمان کوتاهی به یک حالت یکنواخت می رسد. به دلیل طبیعت ناپایدار فلوکها، به نظر می رسد که تغییر در زمان اضافه کردن مواد آلی ممکن است بر غلظت و خاصیت فلوکها تاثیر بگذارد. فلوکهای تولید شده و جوامع میکروارگانیسمی متصل به آن شامل پروتوزوآها، میکروجلبکها، ناماتودها، روتیفرها، سیانوباکترها و دیاتومهها منع غذایی طبیعی ارزشمند را می توانند برای آبیاری فراهم کنند.

### سپاسگزاری

از مدیر کل و معاونت محترم تکثیر شیلات هرمزگان و از مدیریت و کارکنان مرکز تکثیر و پرورش آبزیان بندر کلاهی - میناب، به ویژه مهندس سیرپور، مهندس درویشی، مهندس محمد پور و مهندس اسلامی که در فراهم کردن امکانات این تحقیق نهایت همکاری را مبذول داشتند، قدردانی می شود. همچنین از جناب آقای مهندس مسندانی به جهت راهنمایی های ارزنده سپاسگزاری می گردد.

### منابع

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

21. Ray, A.J., Seaborn, G., Leffler, J.W., Wilde, S.B., Lawson, A., Browdy, C.L., 2010. Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. *Aquaculture*, 310, 130–138.
22. Sacca, A., Carles, M. B., Rossella, R., Xavier, T. M., Vivia, B., Letterio, G., 2009. Predation impact of ciliated and flagellated protozoa during a summer bloom of brown sulfur bacteria in a meromictic coastal lake. *Federation of European Microbiological Societies, Microbiology Ecology*, Vol. 70, pp. 42-53.
23. Tacon, A.G.J., Cody, J.J., Conquest, L.D., Divakaran, S., Forster, I.P., Decamp, O.E., 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquaculture Nutrition*, 8, 121-139.
24. Thompson, F.L., Abreu P.C., Wasielesky, W., 2002. Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. *Aquaculture*, 203, 263–278.
25. Valle, B.C.S., Dantas, J.R, E.M., Silva, J.F.X., Bezerra, R.S., Correia, E.S., Peixoto, S.R.M., Soares, R.B., 2015. Replacement of fishmeal by fish protein hydrolysate and biofloc in the diets of *Litopenaeus vannamei* postlarve. *Aquaculture Nutrition*, 21, 105-112.
26. Wasielesky, W.Jr., Atwood, H., Stokes, A., Browdy, C.L., 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for White shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258, 396-403.
13. Gao, L., Shan, H.W., Zhang, T.W., Bao, W.Z., Ma, S.J., 2012. Effects of carbohydrate addition on *Litopenaeus vannamei* intensive culture in a zero-water exchange system. *Aquaculture*, 343, 89-96.
14. Kuhn, D.D., Boardman, G.D., Craig S. R., Flick, G.J., McLean, E., 2008. Use of microbial flocs generated from tilapia effluent as a nutritional supplement for shrimp *Litopenaeus vannamei* in recirculating aquaculture systems. *Journal of the World Aquaculture Society*, 39, 72-82.
15. Loureiro, C.K., Wasielesky, W.J.R., Abreu, P.C., 2012. The use of protozoan, rotifers and nematodes as live food for shrimp raised in BFT system. *Atlantica, Rio Grande*, 34, 1, pp. 5-12.
16. Martinez-Coedova, L.R., 2002. *Camaronicultura, avances y tendencias*. Mexico, AGT Editor S.A., 167p.
17. MOOPAM., 1999. *Manual of oceanographic observations and pollutants analysis methods (Third Edition)*. The Regional Organisation for the Protection of the Marine Environment (ROPME), Kuwait, 574p.
18. Naylor, R.L., Goldburg, R.J., Primavera, J.H., Kautsk, N., Beveridge, M.C.M., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H., Troell, M., 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, Vol. 405, pp. 1017-1024.
19. Newell, G.E., Newell, R.C. 1977. *Marine plankton*, Hutchinson. 244 p.
20. Porter, K.G., Feig, Y.S., 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic micro flora. *Limnology and Oceanography*, 25, 943-948.