

"مقاله پژوهشی"

بررسی رشد، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و جوامع باکتریایی در سیستم‌های چرخشی، بایوفلاک-چرخشی و بایوفلاک پرورش کپور معمولی

عبدالجبار ایرانی^{۱*}، فرزانه نوری^۱

۱- پژوهشکده آرتیمیا و آبی‌پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۳/۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱/۱۹

چکیده

در این مطالعه، شاخص‌های رشد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بار باکتریایی در سیستم‌های چرخشی، بایوفلاک-چرخشی و بایوفلاک مورد بررسی قرار گرفت. ماهیان جوان کپور معمولی با میانگین وزن 70.99 ± 0.91 گرم و تراکم ذخیره‌سازی ۶/۲۵ کیلوگرم بر مترمکعب در نه سیستم در قالب سه تیمار و سه تکرار برای هر تیمار ذخیره و به مدت سه ماه پرورش داده شدند. میانگین وزن، کل تولید، نرخ رشد ویژه، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی هر ۱۵ روز یک‌بار، بار باکتریایی در اول، وسط و انتهای دوره و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در پایان دوره پژوهش اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که میانگین وزن، افزایش وزن و رشد ویژه ماهیان سیستم بایوفلاک به‌طور معنی‌داری کم‌تر از سایر سیستم‌ها بود ($p < 0.05$)، اما بین سیستم‌های چرخشی و بایوفلاک-چرخشی اختلاف آماری مشاهده نشد. ضریب تبدیل غذایی در سیستم بایوفلاک (۱/۹۶) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سیستم‌های چرخشی (۱/۵۹) و بایوفلاک-چرخشی (۱/۵۵) بود ($p < 0.05$). بیش‌ترین مقدار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و فعالیت آنزیم کاتالاز در ماهیان سیستم بایوفلاک مشاهده شد و کم‌ترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سیستم بایوفلاک-چرخشی بود. بار باکتریایی سیستم‌ها اختلاف معنی‌داری داشتند ($p < 0.05$). به‌طوری‌که کم‌ترین مقدار مربوط به سیستم چرخشی و بیش‌ترین مقدار مربوط به سیستم بایوفلاک بود. به‌طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که سیستم‌های چرخشی و بایوفلاک-چرخشی نسبت به سیستم بایوفلاک در شرایط تعویض آب ناچیز، از نظر رشد و تغذیه ماهیان پرورشی عملکرد بهتری نشان دادند.

کلمات کلیدی: آنزیم آنتی‌اکسیدانی، بایوفلاک، کپور معمولی، سیستم چرخشی

مقدمه

نیاز برای افزایش تولیدات آبرزی پروری و محدودیت‌های منابع آب و زمین باعث شده است که این صنعت به سمت به کارگیری سیستم‌های چرخشی که قابلیت استفاده مجدد آب را دارند هدایت شود. سیستم‌های چرخشی با تصفیه آب و استفاده مجدد از آن باعث کاهش مصرف و تعویض آب می‌گردد (Goldburg *et al.*, 2001; Irani and Agh, 2020)، به طوری که مصرف آب در این سیستم‌ها ۲-۰/۲ درصد سیستم‌های جریان‌دار است (ایرانی و آق، ۱۳۹۷). در برخی موارد گزارش شده است که استفاده از این سیستم‌ها نه تنها باعث ارتقای بهره‌وری آب بلکه موجب افزایش راندمان تولید نیز می‌شود (حسین‌پور زلتی و همکاران، ۱۴۰۲).

در کشور ما به دلیل خشک‌سالی‌هایی که در سال‌های اخیر وجود داشته، بسیاری از چاه‌های و رودخانه‌ها خشک شده و بسیاری نیز دچار کاهش آب شدند. با ادامه این روند، در آینده نزدیک نه تنها برای توسعه صنعت آبرزی پروری بلکه برای حفظ وضعیت کنونی نیز استفاده از سیستم‌های چرخشی (سیستم‌های مدار بسته) اجتناب‌ناپذیر خواهد بود. یکی از مهم‌ترین معایب سیستم‌های چرخشی بالا بودن سرمایه‌گذاری اولیه آن‌ها است، به طوری که گران‌قیمت بودن تجهیزات بخش‌های مختلف سیستم‌های چرخشی یکی از دلایل اصلی عدم گسترش زیاد این سیستم‌ها گزارش شده است، به همین دلیل امروزه محققین مختلف سعی دارند فناوری‌های ساده و با کارایی بالا را جایگزین تجهیزات پرهزینه نمایند. کلید موفقیت سیستم‌های چرخشی این است که بخش‌های مختلف سیستم تصفیه در عین کارایی مناسب، از لحاظ اقتصادی به صرفه باشد. بیوفیلتر

از بخش‌های مهم و پرهزینه این سیستم‌هاست، به طوری که انتخاب نوع بیوفیلتر، در موفقیت سیستم چرخشی بسیار حائز اهمیت است. امروزه انواع بسترها با شکل‌ها و طرح‌های مختلف در بازار وجود دارد، اما بیش‌تر آن‌ها بسیار گران‌قیمت هستند؛ بنابراین جایگزین کردن آن‌ها با فناوری‌های جدید در صورتی که کارایی مناسب داشته باشند می‌تواند در اقتصادی‌تر کردن این سیستم‌ها کمک کند.

یکی از این فناوری‌های جدید، بایوفلاک نام دارد. در فناوری بایوفلاک، ترکیبات معدنی نیتروژن (آمونیاک، نیتريت و نیترات) توسط جوامع میکروبی موجود در آب که با تنظیم نسبت کربن به نیتروژن قابل تحریک یا کنترل است حذف می‌شود (Avnimelech, 2006). این فناوری در حذف ترکیبات نیتروژن کارایی بالایی دارد، چراکه میزان تولید باکتری‌های هتروتروف حدود ۴۰ بار بیش‌تر از تولید باکتری‌های نیتریفایر است (Ebeling *et al.*, 2006).

بررسی رشد و شاخص‌های ایمنی غیر اختصاصی ماهی کپور معمولی در سیستم بایوفلاک با نسبت کربن به نیتروژن ۱:۱۵ نشان داده است که در گروه بایوفلاک، عملکرد رشد و تغذیه، سطوح ایمونوگلوبین و لایزوزیم سرم خون به طور معنی‌داری بیش‌تر از شاهد بوده است (خادمی حمیدی، ۱۳۹۸). برخلاف آن، برخی محققان گزارش کرده‌اند که در تراکم‌های بالا شاخص‌های رشد و تغذیه در سیستم بایوفلاک به طور معنی‌داری کم‌تر از شاهد می‌باشد (طرفی و همکاران، ۱۴۰۱).

بخشی و همکاران (۱۳۹۵) نشان دادند که در سیستم بایوفلاک می‌توان مقدار مصرف غذای کنسانتره را تا ۵۰ درصد و مقدار مصرف آب را تا ۹۹ درصد کاهش داد. عظیمی و همکاران (۱۳۹۵) گزارش

سیستم‌های چرخشی احداث و مدیریت بیوفیلترها به سرمایه‌گذاری و دانش فنی بالایی نیاز دارد. در سیستم بایوفلاک، حذف ترکیبات سمی نیتروژن ناپایدار است و کنترل فلاک‌های اضافی و مواد جامد دشوار می‌باشد. در پژوهش حاضر، برای استفاده از مزیت‌های هر دو سیستم بایوفلاک و چرخشی، یک سیستم ترکیبی بایوفلاک-چرخشی طراحی شد و طی سه ماه شاخص‌های رشد، بار باکتریایی آب و فعالیت آنزیم‌های اکسیدانی کبد کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

شرایط پرورش

ماهیان جوان کپور معمولی با میانگین وزن $70/0 \pm 99/91$ گرم و تراکم ذخیره‌سازی $6/25$ کیلوگرم بر مترمکعب به مدت سه ماه در سیستم‌های چرخشی، بایوفلاک - چرخشی و بایوفلاک طراحی شده در پژوهشگاه آرتمیا و آبی‌پروری دانشگاه ارومیه پرورش داده شدند. هر سیستم چرخشی دارای یک مخزن پرورش ماهی 250 لیتری، یک مخزن رسوب‌گیر، یک پمپ ایرلیفت و یک مخزن بیوفیلتر پوکه معدنی بود. در سیستم بایوفلاک، یک مخزن پرورش ماهی 250 لیتری توسط لوله سوراخ‌دار تعبیه شده در کف هوادهی شد. هر سیستم بایوفلاک-چرخشی دارای یک مخزن پرورش ماهی 250 لیتری، یک مخزن تولید بایوفلاک، یک پمپ ایرلیفت و یک مخزن رسوب‌گیر بود. برای غذادهی از غذای تجاری کپور معمولی استفاده گردید و در تمام سیستم‌ها با نرخ یکسان و دو بار در شبانه روز غذا داده شد. در سیستم‌های بایوفلاک و ترکیبی برای تامین نسبت کربن

کرده‌اند که بهترین نسبت کربن به نیتروژن برای دستیابی به بالاترین نرخ رشد و پائین‌ترین ضریب تبدیل غذایی کپور معمولی در سیستم بایوفلاک $1:15$ است. تبرک و همکاران (۱۴۰۰) شاخص‌های رشد، ایمنی و ترکیبات بیوشیمیایی لاشه کپور معمولی را در سیستم بایوفلاک و مداربسته به صورت مقایسه‌ای بررسی کردند. نتایج آنها نشان داده است که شاخص‌های رشد و تغذیه در سیستم بایوفلاک به طور معنی‌داری بیشتر از سیستم مداربسته و شاهد بوده است. از نظر سیستم ایمنی غیر اختصاصی (فعالیت لایزوزیم، کمپلمان و سوپراکسید دیسموتاز) و همچنین ترکیب شیمیایی بدن اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. حق‌پرست رادمرد و همکاران (۱۳۹۷) نشان دادند که مقادیر تعداد کل باکتری‌ها در سیستم بایوفلاک (حدوداً $10^6 \times 1/2 - 0/8$ واحد کلونی در میلی‌لیتر) به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد (حدوداً $10^5 \times 1$ واحد کلونی در میلی‌لیتر) بوده است.

Fleckenstein و همکاران (۲۰۱۸) برای تعیین بهترین سیستم برای پرورش بچه‌ماهیان تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*)، سیستم‌های بایوفلاک، چرخشی و ترکیبی را بدون اضافه کردن منبع کربن بررسی کردند و سیستم ترکیبی را برای پرورش بچه‌ماهیان تیلاپیا پیشنهاد کرده‌اند. Hisano و همکاران (۲۰۲۱) با بررسی سیستم‌های چرخشی و بایوفلاک نشان دادند که شاخص‌های رشد و تغذیه تیلاپیا در سیستم بایوفلاک به‌طور معنی‌داری بهتر از سیستم چرخشی می‌باشد.

سیستم‌های چرخشی و بایوفلاک برای کاهش مصرف آب در آبی‌پروری ابداع شده‌اند اما هرکدام دارای مزیت‌ها و معایب مختص خود هستند. در

هر تیمار) با استفاده از پودر گل میخک بیهوش و کبد ماهی خارج و در ویال‌های دو میلی‌لیتری در رک حاوی یخ قرار داده شد. نمونه‌ها بلافاصله بعد از برداشت به آزمایشگاه منتقل و مقدار ۰/۵ گرم کبد ماهی در بافر فسفات نمکی (PBS) ۵۰ میلی‌مولار حاوی ادنا (EDTA) ۱ میلی‌مولار به نسبت ۱ به ۵ هموزن شدند.

آنزیم کاتالاز با روش Abei (۱۹۷۴) از طریق واکنش کینتیک سنجیده شد و از هیدروژن پراکسید ۵۰ میلی‌مولار به عنوان سوبسترا استفاده شد. جذب با استفاده از دستگاه مایکروپلیت ریدر در طول موج ۲۴۰ نانومتر و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت.

سنجش سوپراکسید دیسموتاز با روش Kono (۱۹۷۸) صورت گرفت. از سوبسترا نیتروبلوتترازولیوم (NBT) به عنوان سوبسترا در بافر ۵۰ میلی‌مولار سدیم کربنات حاوی تریتون ۰/۶٪ و هیدروکسیل آمین هیدروکلراید ۲۰ میلی‌مولار استفاده شد. واکنش در ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل با روش Benzie و Strain (۱۹۹۶) اندازه‌گیری شد. از ماده ۲، ۴، ۶، تری پایدیل-اس-تریازین (TPTZ) ۱۰ میلی‌مولار در اسید کلریدریک ۴۰ میلی‌مولار به همراه کلرید آهن ۲۰ میلی‌مولار در بافر استات ۰/۳ مولار به عنوان سوبسترا استفاده گردید و واکنش در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانده شد.

بررسی باکتریایی

برای بررسی بار باکتریایی سیستم‌ها، در روزهای ۱، ۴۵ و ۹۰ مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر آب نمونه‌گیری و رسوب‌گذاری گردید. فلاک‌های ته‌نشین شده در دور

به نیتروژن ۱:۱۵ از شکر به عنوان منبع کربن استفاده شد (Mugwanya et al., 2021).

فاکتورهای فیزیکوشیمیایی مثل دما، pH، اکسیژن محلول و مواد جامد محلول به صورت روزانه با دستگاه مالتی‌متر قابل‌حمل (WTW, Multi 3630 IDS) اندازه‌گیری شد. آمونیاک و نیتريت تا ۳۰ روز اول، هر سه روز یک‌بار و بعد از آن، هر شش روز یک‌بار به روش کیت‌سنجی با دستگاه فتومتر (Hach DR 2800, Loveland, USA) اندازه‌گیری شد.

برای بررسی شاخص‌های رشد، تمام ماهیان هر مخزن به فاصله ۱۵ روز توزین شد. شاخص‌هایی مثل نرخ رشد ویژه، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی طی دوره تحقیق به ترتیب با استفاده از رابطه‌های ۱، ۲ و ۳ محاسبه شد.

$$\text{رابطه ۱} \quad \text{SGR} = (\ln W_f - \ln W_i) / t$$

در رابطه بالا، SGR نرخ رشد ویژه، $\ln W_f$ لگاریتم وزن نهایی، $\ln W_i$ لگاریتم وزن اولیه و t دوره زمانی مورد نظر است.

$$\text{رابطه ۲} \quad \text{WG} = W_f - W_i$$

در رابطه بالا، WG افزایش وزن، W_f وزن نهایی و W_i وزن اولیه است.

$$\text{رابطه ۳} \quad \text{FCR} = F / \text{WG}$$

در رابطه بالا، WG افزایش وزن و F مقدار غذا است.

بررسی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

در پایان دوره پژوهش جهت بررسی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از هر مخزن تعداد ۳ ماهی (نه ماهی از

۹۱۱/۳ میلی‌گرم در لیتر، اکسیژن محلول به ترتیب بین ۶/۷-۲۴/۰۲، ۵۰/۱۱-۶/۷ و ۶/۷۷-۵/۸۶ میلی‌گرم در لیتر، میانگین آمونیاک به ترتیب ۰/۵۲، ۰/۶۹ و ۱/۰۵ میلی‌گرم در لیتر و میانگین نیتريت به ترتیب ۰/۲۱، ۰/۲۹ و ۰/۳۹ میلی‌گرم در لیتر بود.

شاخص‌های رشد

از نظر میانگین وزن، افزایش وزن، تولید در واحد حجم، ضریب تبدیل غذایی و رشد ویژه در ۳۰-۴۵ روز نخست بین سیستم‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما بعد از آن تا انتهای دوره پژوهش، شاخص‌های اشاره‌شده در ماهیان سیستم بایوفلاک به‌طور معنی‌داری ضعیف‌تر از ماهیان سیستم‌های چرخشی و بایوفلاک-چرخشی بود ($p < 0/05$)؛ اما بین سیستم‌های چرخشی و بایوفلاک-چرخشی اختلاف آماری مشاهده نشد. در سیستم‌های چرخشی، بایوفلاک-چرخشی و بایوفلاک میانگین وزن نهایی به ترتیب ۱۹۷/۳۷، ۲۰۰/۰۶ و ۱۶۳/۶۵ گرم، میانگین افزایش وزن به ترتیب ۱۲۶/۰۲، ۱۲۹/۰۶ و ۹۳/۰۳ گرم، تولید در واحد حجم به ترتیب ۱۶/۹۷، ۱۷/۶۰ و ۱۳/۷۵ کیلوگرم بر مترمکعب، ضریب تبدیل غذایی به ترتیب ۱/۵۹، ۱/۵۵ و ۱/۹۶ و مقادیر رشد ویژه به ترتیب ۱/۱۳، ۱/۱۵ و ۰/۹۳ درصد در روز بود (جدول ۱).

۶۰۰۰ در دقیقه به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ شدند. فلاک‌های بدست‌آمده، در محیط آگار به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. کلونی‌های ظاهرشده، با کشت‌های مکرر خالص‌سازی شدند. باکتری‌های خالص‌سازی شده، توسط رنگ‌آمیزی گرم، رنگ‌آمیزی و از طریق تست‌های بیوشیمیایی رایج شناسایی شدند (Kasan et al., 2017).

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل‌های آماری از برنامه SPSS 22 استفاده شد. همگنی واریانس‌ها با آزمون لون و توزیع داده‌ها با تست شاپیرو-ویلک بررسی شد. برای مقایسه میانگین‌های تیمارهای مختلف از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و در صورت معنی‌دار بودن اختلاف‌ها، برای تفکیک گروه‌ها از تست تعقیبی توکی استفاده شد. تمامی بررسی‌ها در سطح اطمینان ۰/۹۵ انجام شد و داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد گزارش شدند.

نتایج

وضعیت خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب

در سیستم‌های چرخشی، بایوفلاک - چرخشی و بایوفلاک طی دوره پژوهش، درجه حرارت به ترتیب بین ۲۱/۲۳-۲۵/۶۰ و ۲۱/۸۹-۲۵/۶۵، ۲۲/۱۹-۲۵/۵۵ درجه سانتی‌گراد، pH به ترتیب بین ۷/۷۹-۸/۲۰، ۷/۸-۸/۱۴ و ۷/۸-۸/۲۴ بین ۸۵۰/۶-۱۱۸۴/۰ و ۸۵۴/۸-۱۲۳۷/۶ و ۱۳۵۱/۳-

جدول ۱: شاخص‌های رشد و تغذیه کپور معمولی پرورش یافته در سیستم‌های مختلف*

سیستم پرورش	سیستم چرخشی	سیستم چرخشی-بایوفلاک	سیستم بایوفلاک
وزن نهایی (گرم)	۱۹۷/۰±۳۷/۸۲ ^b	۲۰۰/۰±۰۶/۸۰ ^b	۱۶۳/۱±۶۵/۸۳ ^a
افزایش وزن (گرم)	۱۲۶/۱±۰۲/۲۸ ^b	۱۲۹/۰±۰۶/۷۹ ^b	۹۳/۲±۰۳/۴۴ ^a
تولید (کیلوگرم/مترمکعب)	۱۶/۰±۹۷/۲۲ ^b	۱۷/۰±۶۰/۳۸ ^b	۱۳/۰±۷۵/۱۵ ^a
ضریب تبدیل غذایی	۱/۰±۵۹/۰۲ ^a	۱/۰±۵۵/۰۳ ^a	۱/۰±۹۶/۰۷ ^b
رشد ویژه (درصد در روز)	۱/۰±۱۳/۰۲ ^b	۱/۰±۱۵/۰۳ ^b	۰/۰±۹۳/۰۴ ^a

* داده‌ها به صورت میانگین±خطای استاندارد هستند، حروف متفاوت نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین سیستم‌ها است ($p < 0.05$).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در سیستم‌های چرخشی، بایوفلاک - چرخشی و بایوفلاک به ترتیب ۰/۸۶، ۰/۹۲ و ۰/۹۶ میکرومول بر میلی‌لیتر بود. با وجود آنکه بالاترین مقدار در ماهیان سیستم بایوفلاک مشاهده شد، اما تفاوت بین تیمارها از نظر آماری معنی‌دار نبود. کم‌ترین مقدار فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز مربوط به ماهیان سیستم بایوفلاک-چرخشی (۶/۵ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) بود که نسبت به سیستم چرخشی (۷/۹۸ واحد بر

میلی‌گرم پروتئین) و سیستم بایوفلاک (۷/۸۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). با وجود آنکه بالاترین مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به ماهیان سیستم بایوفلاک بود (۶۸/۶۹ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین)، اما نسبت به سیستم چرخشی (۶۱/۰۶ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین) و بایوفلاک-چرخشی (۵۵/۹۹ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین) اختلاف آماری نشان نداد (جدول ۲).

جدول ۲: مقادیر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC)، سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) در کپور معمولی*

سیستم پرورش	سیستم چرخشی	سیستم چرخشی-بایوفلاک	سیستم بایوفلاک
پروتئین (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	۱۱/۰±۰۳/۲۵۵ ^a	۱۱/۰±۵۳/۰۶۹ ^a	۱۱/۰±۳۶/۲۳۷ ^a
TAC (میکرومول بر میلی‌لیتر)	۰/۰±۸۶/۰۴۶ ^a	۰/۰±۹۲/۰۶۱ ^a	۰/۰±۹۶/۰۶۷ ^a
SOD (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	۷/۰±۹۸/۲۸ ^b	۶/۰±۵۰/۲۵ ^a	۷/۰±۸۹/۳۴ ^b
CAT (میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین)	۶۱/۶±۰۶/۳۷ ^a	۵۵/۶±۹۹/۰۸ ^a	۶۸/۳±۶۹/۹۱ ^a

* داده‌ها به صورت میانگین±خطای استاندارد هستند، حروف متفاوت نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین سیستم‌ها است ($p < 0.05$).

بار باکتریایی

از نظر بار باکتریایی در روزهای ۴۵ و ۹۰ (به ترتیب در وسط و انتهای دوره تحقیق) بین هر سه سیستم اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. به طوری که در هردو زمان، کم‌ترین مقدار مربوط به سیستم چرخشی و

بیش‌ترین مقدار مربوط به سیستم بایوفلاک بود (جدول ۳). بار باکتریایی در همه سیستم‌ها طی دوره پژوهش، به‌طور معنی‌داری افزایش داشت ($p < 0.05$).

جدول ۳: بار باکتریایی (واحد کلونی در میلی‌لیتر) در تیمارهای مختلف طی دوره پژوهش*

روز	سیستم چرخشی	سیستم چرخشی-بایوفلاک	سیستم بایوفلاک
۱	۲۴۵۵±۱۶۸۶۷ ^{aA}	۱۴۹۳±۱۶۸۰۰ ^{aA}	۵۹۱۸±۲۹۷۰۰ ^{aA}
۴۵	۶۰۶۵±۳۵۶۶۷ ^{aB}	۳۳۵۹±۶۹۵۳۳ ^{bB}	۵۳۶۴۵±۳۸۳۳۳ ^{cB}
۹۰	۹۰۶۲±۱۶۲۳۳ ^{aC}	۴۰۲۶۲±۵۲۷۰۰ ^{bC}	۱۶۰۴۵۰±۱۲۵۲۶۶۷ ^{cC}

* داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد هستند، حروف متفاوت کوچک نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین سیستم‌ها در زمان مورد نظر (ردیف) و حروف متفاوت بزرگ نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین زمان‌های مختلف در هر سیستم (ستون) است ($p < 0.05$).

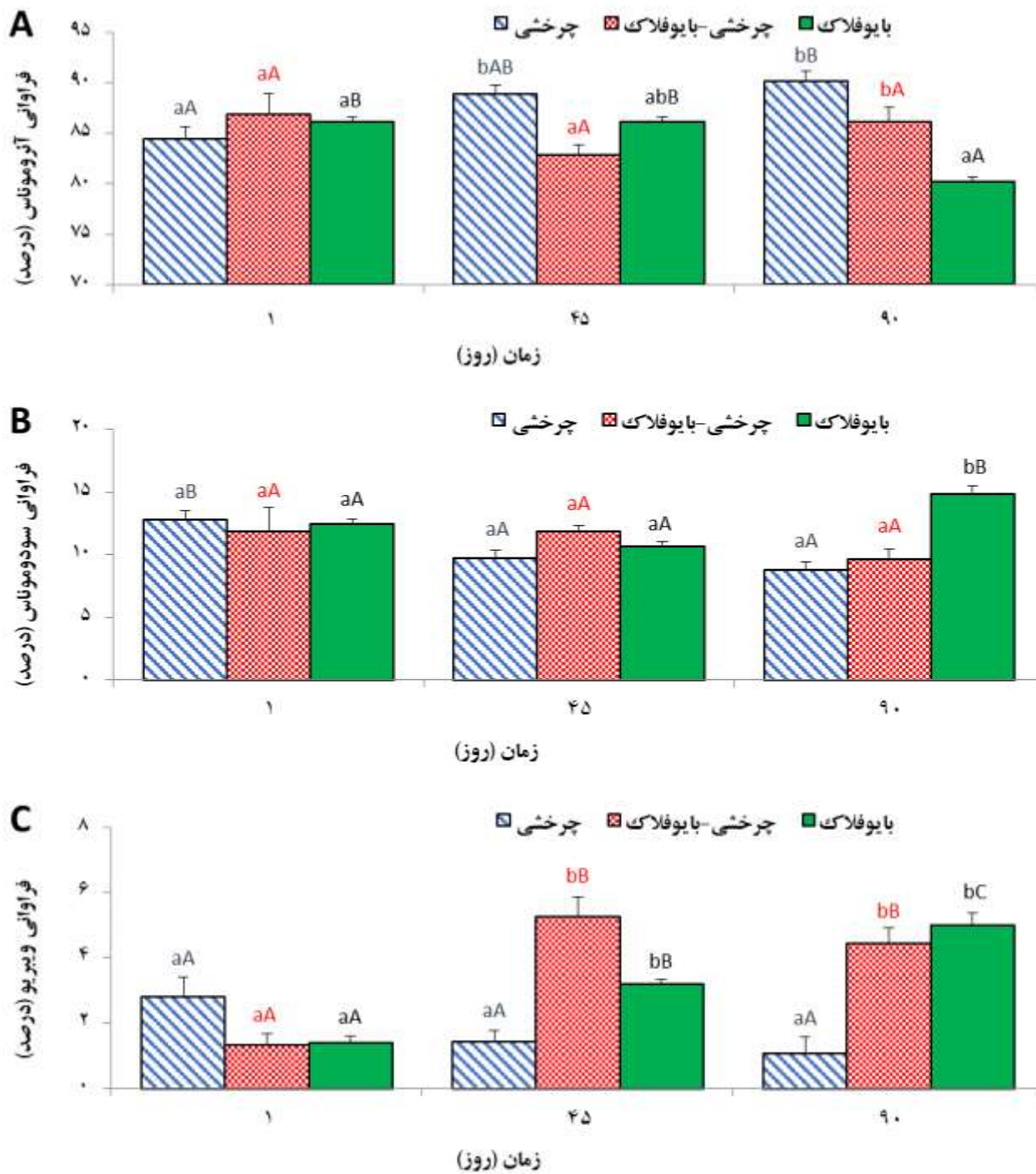
انتهای دوره پژوهش به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از اول و وسط دوره پژوهش بود ($p < 0.05$). از نظر درصد فراوانی سودوموناس، در روز ۱ و ۴۵ اختلاف آماری بین سیستم‌ها وجود نداشت، اما در روز ۹۰، در سیستم بایوفلاک به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر سیستم‌ها بود ($p < 0.05$). در هیچ‌کدام از زمان‌های نمونه‌برداری اختلاف معنی‌داری بین سیستم‌های چرخشی و بایوفلاک - چرخشی مشاهده نشد (شکل ۱-B).

در سیستم چرخشی، درصد فراوانی ویبریو باوجود کاهش نسبی طی دوره پژوهش، اختلاف معنی‌داری نشان نداد؛ اما فراوانی آن در سیستم بایوفلاک - چرخشی در روزهای ۴۵ و ۹۰ به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از روز ۱ بود ($p < 0.05$). در سیستم بایوفلاک (شکل ۱-C) درصد فراوانی ویبریو در روز ۴۵ بیش‌تر از روز ۱ و در روز ۹۰ بیش‌تر از روزهای ۱ و ۴۵ بود ($p < 0.05$). سیستم‌های آزمایشی از نظر فراوانی ویبریو در روز ۱ اختلاف معنی‌داری نشان ندادند، اما در روز ۴۵ و ۹۰ سیستم چرخشی نسبت به سیستم‌های بایوفلاک - چرخشی و بایوفلاک (شکل ۱-C) به‌طور معنی‌داری درصد فراوانی کم‌تری نشان دادند ($p < 0.05$).

تمام کلونی‌های خالص‌سازی شده، باکتری‌های گرم منفی و متعلق به سه جنس آئروموناس، سودوموناس و ویبریو بودند و در همه سیستم‌ها، بیش‌ترین درصد فراوانی مربوط به جنس آئروموناس (۱۵/۱۳-۸۰/۹۰ درصد) بود. جنس‌های سودوموناس (۸/۱۴-۸۰/۸۳ درصد) و ویبریو (۱/۰۷-۵/۲۷ درصد) در رتبه‌های بعدی قرار داشتند.

طی دوره پژوهش، درصد فراوانی آئروموناس در سیستم چرخشی به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد ($p < 0.05$)؛ اما در سیستم بایوفلاک - چرخشی تقریباً ثابت بود و در سیستم بایوفلاک، درصد فراوانی آن در انتهای دوره پژوهش به‌طور معنی‌داری کم‌تر از اوایل دوره پژوهش بود ($p < 0.05$). از این نظر، در روز ۱ اختلاف آماری بین سیستم‌ها وجود نداشت. در روز ۴۵، درصد فراوانی آن در سیستم چرخشی به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر سیستم‌ها و در روز ۹۰، در سیستم بایوفلاک کم‌تر از سایر سیستم‌ها (شکل ۱-A) بود ($p < 0.05$).

درصد فراوانی سودوموناس در سیستم چرخشی در روزهای ۴۵ و ۹۰ به‌طور معنی‌داری کم‌تر از روز ۱ بود ($p < 0.05$). در سیستم بایوفلاک - چرخشی فراوانی آن تقریباً ثابت بود و در سیستم بایوفلاک (شکل ۱-B)، در



شکل ۱: تغییرات فراوانی باکتری‌های آئروموناس (A)، سودوموناس (B) و ویبریو (C) در سیستم‌های مختلف. مقادیر براساس میانگین \pm خطای معیار هستند. حروف کوچک متفاوت نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در زمان موردنظر است و حروف بزرگ متفاوت نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین زمان‌های مختلف در هر سیستم است ($p < 0.05$).

بحث

از نظر تولید در واحد حجم، میانگین وزن، افزایش وزن و رشد ویژه در اوایل دوره پژوهش (۳۰ تا ۴۵ روز) بین سیستم‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما بعد از آن تا انتهای دوره پژوهش، این شاخص‌ها در سیستم بایوفلاک به‌طور معنی‌داری کم‌تر از سایر سیستم‌ها بود. ضریب تبدیل غذایی در همه سیستم‌های مطالعه حاضر در دو هفته نخست نسبتاً بالا (بیش‌تر از ۲) بود. این پدیده احتمالاً به خاطر تلاش ماهیان برای سازگار شدن با شرایط جدید و دوره فعال‌سازی بیوفیلترها و سیستم بایوفلاک بوده است. به‌طور کلی، ضریب تبدیل غذایی در سیستم بایوفلاک به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سیستم‌های چرخشی و چرخشی-بایوفلاک بود. طرفی و همکاران (۱۴۰۱) نشان دادند که در تراکم‌های پائین (۲/۱ و ۴/۲ کیلوگرم بر مترمکعب) شاخص‌های رشد کپور معمولی در سیستم بایوفلاک اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت، اما در تراکم‌های بالاتر، همانند مطالعه حاضر، شاخص‌های رشد و تغذیه ماهیان در سیستم بایوفلاک به‌طور معنی‌داری با افت مواجه شده است. مطالعه تبرک و همکاران (۱۴۰۰) روی شاخص‌های رشد و تغذیه کپور معمولی در سیستم بایوفلاک و مدار بسته نشان داده است که شاخص‌های رشد و تغذیه در سیستم بایوفلاک به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سیستم مدار بسته و شاهد بوده که با نتایج مطالعه حاضر مغایرت داشته است. مشابه آن در مطالعه Hisano و همکاران (۲۰۲۱) نیز مقادیر افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و بازده پروتئین بچه ماهیان تیلاپیا در سیستم بایوفلاک به‌طور معنی‌داری بهتر از سیستم چرخشی بوده است.

از آنجا که مقادیر درجه حرارت، pH و قلیائیت طی دوره پژوهش در محدوده مناسب برای ماهیان گرم‌آبی بود، اختلاف شاخص‌های رشد و تغذیه در سیستم‌ها احتمالاً به سایر شاخص‌های کیفی آب یعنی اکسیژن محلول، آمونیاک و نیتريت مربوط بوده است. چراکه مقادیر اکسیژن محلول در سیستم بایوفلاک به‌طور معنی‌داری کم‌تر از سیستم چرخشی-بایوفلاک بود. مقادیر آمونیاک و نیتريت در سیستم چرخشی به‌طور معنی‌داری کم‌تر و در سیستم بایوفلاک به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر سیستم‌ها بود؛ بنابراین پائین بودن مقادیر اکسیژن و بالا بودن مقادیر آمونیاک و نیتريت احتمالاً مهم‌ترین عوامل تاثیرگذار در شاخص‌های رشد و تغذیه ماهیان در سیستم بایوفلاک بوده است. حسین‌پور زلتي و همکاران، (۱۴۰۲) نشان دادند که استفاده از سیستم‌های چرخشی با نرخ برگشت آب ۸۰ درصد در مقایسه با سیستم جریان‌دار نه تنها باعث ارتقای بهره‌وری آب بلکه موجب افزایش راندمان تولید نیز می‌شود. در مطالعه حاضر، عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین سیستم‌های چرخشی و چرخشی-بایوفلاک از نظر شاخص‌های کیفی آب، نشان دهنده شرایط مناسب سیستم ترکیبی چرخشی-بایوفلاک طراحی شده برای پرورش کپور معمولی با تعویض آب ناچیز می‌باشد.

در مطالعه حاضر بالاترین مقدار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و فعالیت کاتالاز در سیستم بایوفلاک مشاهده شد. در سیستم چرخشی-بایوفلاک فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز به‌طور معنی‌داری پائین بود که نشان دهنده کم‌تر بودن عوامل استرس‌زا، به‌ویژه بالا بودن اکسیژن محلول (نسبت به سیستم چرخشی) و پائین بودن ترکیبات سمی نیتروژن یعنی

آمونیاک و نیتريت (نسبت به سیستم بايوفلاک) بوده است. سیستم‌های کاهنده مصرف آب از قبیل سیستم‌های چرخشی و بايوفلاک با وجود دارا بودن مزیت‌های متعدد، ممکن است باعث ایجاد شرایط استرس‌زایی از قبیل نوسانات در غلظت‌های اکسیژن محلول، مواد جامد محلول، مواد معلق و همچنین ترکیبات مضر نیتروژنی شوند که در نتیجه آن‌ها، سیستم ایمنی ماهی می‌تواند دچار تغییر شود (Sinha et al., 2014).

Sinha و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که بعد از افزایش مقادیر آمونیاک محیط، فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در کبد قزل‌آلای رنگین‌کمان جوان از نظر آماری بدون تغییر باقی مانده است و نتیجه گرفتند که احتمالاً آنزیم‌های اشاره‌شده، در مواجهه با افزایش آمونیاک و رادیکال‌های آزاد تولیدشده ناشی از آن، نقش اصلی ایفا نمی‌کنند یا احتمالاً رادیکال‌های فعال اکسیژن تولیدشده از پراکسیداسیون چربی‌ها، به اندازه کافی زیاد نبوده که بتواند باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شود. همین عوامل می‌تواند توجیه‌کننده عدم وجود اختلاف در سیستم‌های مطالعه حاضر باشد. نتایج تبرک و همکاران (۱۴۰۰) نیز نشان داده است که بین ماهیان سیستم‌های بايوفلاک و مداربسته، از نظر سیستم ایمنی غیر اختصاصی اختلاف معنی‌داری وجود نداشته است.

در مطالعه حاضر، کم‌ترین مقدار بار باکتریایی مربوط به سیستم چرخشی و بیش‌ترین مقدار آن مربوط به سیستم بايوفلاک بود. طی دوره پژوهش، بار باکتریایی در همه سیستم‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش داشته است. مقدار آن در انتهای دوره پژوهش در سیستم‌های چرخشی، چرخشی-بايوفلاک و بايوفلاک

به ترتیب 1.05×10^6 ، 5.27×10^5 و 1.25×10^6 واحد کلونی در میلی‌لیتر بود. حق‌پرست رادمرد و همکاران (۱۳۹۷) مقادیر تعداد کل باکتری‌ها در سیستم بايوفلاک را حدوداً $10^6 \times 1/2 - 1/8$ واحد کلونی در میلی‌لیتر گزارش کرده است که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. افزایش بار باکتریایی طی دوره پژوهش حاضر، احتمالاً به انباشته‌شدن متابولیت‌های زیستی در این سیستم‌ها مربوط بوده است. از آنجا که بیش‌تر جوامع این باکتری‌ها را در سیستم‌های آبی‌پروری گروه‌های هتروتروف تشکیل می‌دهند (Rud et al., 2017) که انرژی موردنیاز خود را از تجزیه مواد آلی محلول و معلق ریز به دست می‌آورند (Bitton et al., 2011)، افزایش متابولیت‌های دفع‌شده از ماهیان، مدفوع و غذای خورده نشده منجر به افزایش بار باکتریایی آب شده است. به همین دلیل بار باکتریایی در سیستم بايوفلاک بسیار بیش‌تر از سایر سیستم‌ها بوده است.

به‌طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که ماهیان پرورش‌یافته در سیستم‌های چرخشی و چرخشی-بايوفلاک نسبت به سیستم بايوفلاک از نظر شاخص‌های رشد و تغذیه، به‌طور معنی‌داری عملکرد بهتری داشت. این پدیده را می‌توان به پائین بودن اکسیژن محلول و بالا بودن مقادیر آمونیاک و نیتريت در سیستم بايوفلاک نسبت داد.

سپاسگزاری

از کارشناسان پژوهشکده آرتمیا و آبی‌پروری دانشگاه ارومیه به‌ویژه آقای سعید حاجی‌نژاد سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

۱. ایرانی، ع. و آق، ن.، ۱۳۹۷. مبانی طراحی و مدیریت سیستم‌های چرخشی پرورش آبزیان. چاپ اول، انتشارات دانشگاه ارومیه، ۲۳۰ ص.
۲. بخشی، ف.، حسینی نجدگرامی، ا.، ایمانی، ا. و سروی مغاللو، ک.، ۱۳۹۵. تأثیر استفاده از فناوری بیوفلوک بر پارامترهای رشد، ترکیب لاشه و کاهش هزینه‌های تولید در پرورش متراکم بچه ماهیان کپور معمولی. مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۶۹-۱۶۳، (۲)۷۱.
۳. تبرک، م.، سیف‌آبادی، ج.، صالحی‌جوزانی، غ. و ویونسی، ح.، ۱۴۰۰. مقایسه سیستم مدار بسته و بیوفلاک بر تغییرات شاخص‌های رشد، ایمنی غیر اختصاصی و ترکیبات بیوشیمی لاشه کپور ماهی معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران، ۳۰(۵)، ۶۸-۵۹.
۴. حق‌پرست رادمرد، م.م.، علیشاهی، م.، قربانپور، م. و شهریاری، ع.، ۱۳۹۷. مقایسه‌ی کیفیت آب در سیستم پرورش متراکم ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به روش بیوفلاک با سطوح مختلف ملاس نیشکر. مجله دامپزشکی ایران، ۴(۳)، ۴۰-۲۸.
۵. حسین پور زلتی، ع.، سید حسینی، ح.، کاظمی، ر.، سهرابی، ت.، ۱۴۰۲. تعیین اثر میزان آب برگشتی بر شاخص‌های رشد و برخی فراسنجه‌های خونی فیل ماهی (*Huso huso*) پرورشی در سیستم آب برگشتی. نشریه توسعه آبی پروری، ۱۷(۳)، ۴۷-۳۵.
۶. خادمی حمیدی، م.، آدینه، ح.، هرسیج، م. و قلی-پور کنعانی، ح.، ۱۳۹۸. اثر افزودن ملاس در آب و
- جیره غذایی ماهی کپور بر شاخص‌های رشد، ایمنی، بیوشیمیایی خون، آنزیم‌های گوارشی و کیفیت آب محیط پرورش در روش بیوفلاک. تغذیه آبزیان، ۵(۱)، ۳۴-۲۵.
۷. طرفی، م.، رجب زاده قطرمی، ا. و محمدی آذر، ح.، ۱۴۰۱. اثر سیستم بیوفلاک بر شاخص‌های رشد، ترکیب بدن و آنزیم‌های گوارشی ماهی جوان کپور معمولی در تراکم‌های مختلف پرورشی. مجله علمی شیلات ایران، ۳۱(۱)، ۴۶-۳۵.
۸. عظیمی، ع.، جعفریان، ح.، هرسیج، م.، قلیپور، ح. و پاتیمار، ر.، ۱۳۹۵. تأثیر نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن بر پارامترهای کیفی آب و عملکرد رشد در سیستم بیوفلاک (*Cyprinus carpio*) بچه ماهیان کپور معمولی. نشریه توسعه آبی پروری، ۱۰(۴)، ۸۹-۷۵.
9. Avnimelech, Y., 2006. Bio-filters: the need for a new comprehensive approach. *Aquacultural Engineering*, 34, 172-178.
2. Benzie, I. and Strain, J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power: The FRAP assay". *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
3. Bitton, G., 2011. *Wastewater Microbiology*. Fourth edition. Wiley-Blackwell, New Jersey, p. 762.
4. Ebeling, J.M., Timmons, M.B. and Bisogni, J.J., 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257, 346-358.
5. Irani, A. and Agh, N., 2020. Rainbow trout larvae production in an airlift-based recirculating system. *Aquaculture*, 518, 734831.
6. Fleckenstein, L.J., Tierney, T.W. and Ray, A.J., 2018. Comparing biofloc, clear-water, and hybrid recirculating nursery

- systems (Part II): Tilapia (*Oreochromis niloticus*) production and water quality dynamics. *Aquacultural Engineering*, 82, 80-85.
7. Goldburg, R.J., Elliott, M.S. and Naylor, M.A., 2001. Marine Aquaculture in the United States: Environmental Impacts and Policy Options. Pew Oceans Commission, Arlington, VA, 44 pp.
 8. Hisano, H., Barbosa, P.T.L., Hayd, L.A. and Mattioli, C.C., 2021. Comparative study of growth, feed efficiency, and hematological profile of Nile tilapia fingerlings in biofloc technology and recirculating aquaculture system. *Tropical Animal Health and Production*, 53(1), 60.
 9. Kasan, N.A., Ghazali, N.A., Ikhwanuddin, M. and Ibrahim, Z., 2017. Isolation of potential bacteria as inoculum for biofloc formation in pacific white leg shrimp, *Litopenaeus vannamei* culture ponds. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 20, 306-313.
 10. Kono, Y., 1978. Generation of superoxide radical during autoxidation of hydroxylamine and an assay for superoxide dismutase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 186, 189-195.
 11. Mugwanya, M., Dawood, M.A.O., Kimera, F. and Sewilam, H., 2021. Biofloc Systems for Sustainable Production of Economically Important Aquatic Species: A Review. *Sustainability*, 13, 7255.
 12. Rud, I., Kolarevic, J., Holan, A., Berget., I., Calabrese, S. and Terjesen, B., 2017. Deep-sequencing of the bacterial microbiota in commercial-scale recirculating and semi-closed aquaculture systems for Atlantic salmon post-smolt production. *Aquacultural Engineering*, 78, 50-62.
 13. Sinha, A.K., AbdElgawad, H., Giblen, T., Zinta, G., de Rop, M., Asard, H., Blust, R., de Boeck, G., 2014. Anti-oxidative defences are modulated differentially in three freshwater teleosts in response to ammonia-induced oxidative stress. *PLoS One*, 9(4), e95319.

Survey of growth performance, antioxidant enzyme activity and bacterial community in recirculating, biofloc-recirculating, and biofloc common carp culture systems

Irani, A.^{1*}, Noori, F.¹

1-Artemia and Aquaculture Research Institute, Urmia University, Urmia, Iran.

Received: 7 April 2024

Accepted: 25 May 2024

Abstract

In this study, growth performance, antioxidant enzymes activity, and bacterial load were investigated in recirculating aquaculture system (RAS), biofloc-RAS (BRAS) and biofloc system. Common carp juveniles with initial body weight of 70.99 ± 0.91 g and stocking density of 6.25 kg/m^3 were farmed in nine designed systems for three months. The mean weight, specific growth rate (SGR), weight gain, and food conversion ratio (FCR) were measured once every 15 days, bacterial load at the beginning, middle and end, and antioxidant enzymes at the end of the study period. Results showed the mean weight, weight gain and SGR in the biofloc system were significantly lower than other systems ($p < 0.05$). However, the fish in the RAS and BRAS did not show any statistical difference in terms of the mentioned indicators. The FCR in the biofloc system (1.96) was significantly ($p < 0.05$) higher than the RAS (1.59) and the BRAS (1.55). The highest amount of total antioxidant capacity and catalase enzyme activity was observed in the biofloc system and the lowest amount of superoxide dismutase enzyme activity was in the BRAS. In terms of bacterial load, a significant difference was observed amongst the three systems. So that the lowest value was observed in the RAS and the highest value was in the biofloc system. In general, it can be concluded that growth performance and feeding efficiency of common carp in the RAS and BRAS were better than the biofloc system in conditions of low water exchange.

Keywords: Antioxidant Enzymes, Biofloc, Common Carp, Recirculating System.

*Corresponding Author: a.irani@urmia.ac.ir