

تأثیر نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن بر پارامترهای کیفی آب و عملکرد رشد بچه ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در سیستم بیوفلاک

عظیم عظیمی*^۱، حجت الله جعفریان^۱، محمد هرسیج^۱، حسنا قلی پور^۱، رحمان پاتیمار^۱

۱- گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران، صندوق پستی: ۱۶۳۰

تاریخ دریافت: ۱ تیر ۱۳۹۵

تاریخ پذیرش: ۳ آذر ۱۳۹۵

چکیده

مطالعه‌ای به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف کربن آلی روی شکل‌گیری بیوفلاک، وضعیت نیتروژن غیرآلی و فسفات، مصرف غذایی و عملکرد رشد کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در سیستم بیوفلاک به مدت ۴۲ روز انجام شد. پس از دوره سازگاری، تعداد ۱۸۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی $5/78 \pm 0/10$ گرم در مخزن پلاستیکی با حجم آبگیری ۴۰ لیتر ذخیره‌سازی شدند. تعیین نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن در تیمار A (C/N-15) و تیمار B (C/N-20) براساس مقدار کربن به نیتروژن غذا و مقدار کربن آرد گندم محاسبه شد، که به طور روزانه برای تیمارهای آزمایشی استفاده شد. به تیمار شاهد (C/N-10) مکمل آرد گندم اضافه نشد. افزایش نسبت کربن به نیتروژن، موجب افزایش در پارامترهای کیفی آب مانند کدورت، مواد جامد معلق آب (TSS)، مواد محلول آب (TDS)، تقاضای اکسیژن بیوشیمیایی (BOD)، قلیائیت و غلظت نترات شد. اما غلظت نیتروژن آمونیاکی کل (TAN) و فسفات با افزایش نسبت کربن به نیتروژن طی دوره آزمایش، کاهش نشان داد ($P < 0/05$). مقدار تبادل آب در تیمارهای بیوفلاک ۵۰ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش داشت. بررسی عملکرد رشد بچه ماهیان در تیمارهای مختلف نشان داد که بچه ماهیان تیمار A دارای میانگین وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و نرخ عملکرد پروتئینی بالاتر و ضریب تبدیل غذایی پایین‌تری نسبت به دو تیمار B و شاهد بودند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که نسبت کربن به نیتروژن ۱۵ به ۱ تأثیر مثبتی در پارامترهای کیفی آب، بهبود مصرف غذایی و عملکرد رشد کپور معمولی در سیستم بیوفلاک دارد و مقدار مصرف آب را در سیستم کاهش می‌دهد.

کلمات کلیدی: کپور معمولی، سیستم بیوفلاک، کیفیت آب، تبادل آب، عملکرد رشد.

مقدمه

صنعت آبرزی پروری طی سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۱۲، حدود ۶/۲ درصد در هر سال رشد داشته است (FAO, 2014). اگر چه رشد این صنعت فواید زیادی مانند ایجاد شغل، بهبود اقتصاد روستایی و امنیت غذایی و ... را فراهم می‌کند، اما توسعه سریع آن، نگرانی‌های زیست محیطی زیادی را ایجاد کرده است (Goldburg et al., 2001). گزارشات حاکی از آنست که در سیستم آبرزی پروری به طور میانگین ۲۵ درصد (۱۱ تا ۳۶ درصد) از نیتروژن مصرف شده به بیوماس ماهی تبدیل می‌شود (Hargreaves, 1998) و باقیمانده به شکل آمونیاک و نیتروژن آلی در مدفوع و غذای نخورده شده از دست می‌رود (Avnimelech and Ritvo, 2003). تجمع آمونیاک در سیستم آبرزی پروری برای ماهی سمی بوده و غلظت بالای آمونیاک می‌تواند باعث افزایش تلفات، کاهش رشد و باعث انواع اختلالات فیزیولوژیکی در ماهی گردد (Torres-Beristain et al., 2006). لذا جهت حفظ کیفیت آب و کنترل مواد دفعی نیتروژنی در بیش تر سیستم‌های آبرزی پروری، تبادل آب استخر پرورش با آب تازه صورت می‌گیرد که این تبادل آب، مشکلات زیست محیطی و هزینه بالای پمپ کردن به منظور برگشت آب را به همراه دارد (Avnimelech, 1999). میزان تبادل آب از ۲۵۰ درصد در روز برای سیستم‌های آبرزی پروری گسترده تا ۲ الی ۱۰ درصد در روز برای سیستم آبرزی پروری متراکم، متغیر است (Ebeling et al., 2006).

تاثیرات منفی مزارع پرورش آبزیان بر محیط زیست، زمینه را برای توسعه سیستم‌های آبرزی پروری با حداقل تبادل آب یا عدم تبادل آب ایجاد کرد

(Burford et al., 2003). با کاهش یا عدم تبادل آب علی‌الخصوص در سیستم بازگردشی (RAS)، رهاسازی مواد مغذی و عوامل بیماری‌زا به محیط‌های آبی کاهش یا حذف خواهد شد (Xu et al., 2016). سیستم بیوفلاک یک نوع منحصر به فرد از سیستم بازگردشی آب می‌باشد که جمعیت میکرو جلبک‌های معلق، باکتری‌های اتوتروفیک و هتروتروفیک را در سیستم پرورش با تبادل آب محدود، حفظ می‌کند (De Schryver et al., 2008). سیستم بیوفلاک اثرات سودمند و مهمی روی سیستم پرورش آبزیان مانند بهبود کیفیت آب از طریق حذف ترکیبات نیتروژن سمی (آمونیاک و نیتريت) (Ebeling et al., 2006)، بهبود مصرف غذایی و عملکرد رشد آبزیان از طریق تولیدات طبیعی (Xu and Pan, 2012) ایجاد می‌کند. در سیستم بیوفلاک سه راه برای تبدیل ترکیبات نیتروژن وجود دارد که شامل مصرف فتواتوتروفیک توسط جلبک‌ها، تبدیل نیتروژن آمونیاکی به نیتروژن نیتراتی توسط باکتری‌های شیمواتوتروفیک و هضم مستقیم نیتروژن آمونیاکی و تبدیل آن به بیوماس باکتریایی توسط باکتری‌های هتروتروفیک می‌باشد (Ebeling et al., 2006).

به طور کل، کنترل تجمع نیتروژن غیرآلی در استخرها بر پایه فرآیندهای متابولیسم کربن و هضم میکروبی نیتروژن استوار است. باکتری‌ها و دیگر میکروارگانیسم‌ها، کربوهیدرات‌هایی مانند شکر، نشاسته، سلولز، آرد گندم و ... را به عنوان غذا مصرف می‌کنند تا انرژی مورد نیاز را برای رشد و تولید سلول‌های جدید و پروتئین تأمین نمایند. با افزودن کربوهیدرات به استخر، رشد باکتری‌های هتروتروفیک تحریک شده و نیتروژن در تولید پروتئین‌های میکروبی

می‌شود (Tokur *et al.*, 2006). این گونه به دلیل قابلیت تحمل بالا در مقابل نوسانات محیطی و استفاده از محدوده وسیعی از مواد غذایی قابل دسترس، به عنوان یکی از گونه‌های مهم پرورشی در ایران نیز محسوب می‌شود (Salehi, 2003) که به صورت نیمه متراکم یا متراکم در استخرهای خاکی پرورش می‌یابد. البته در سال‌های اخیر به علت تقاضای بازار، کپور معمولی بصورت تک گونه‌ای و با تراکم بالا در استخرهای بتنی در حال پرورش است (مشاهدات عینی). توسعه این سیستم‌های متراکم موجب تجمع سریع پسماند غذا، مواد آلی و نیتروژن غیرآلی سمی خواهد شد (Zhao *et al.*, 2014) که روی پارامترهای کیفی آب و به دنبال آن رشد ماهی کپور تأثیر منفی دارد لذا نیاز است تا این مشکلات برطرف گردد. به همین منظور مطالعه‌ای در جهت بهبود پارامترهای کیفی آب، کارایی مصرف غذا و عملکرد رشد کپور معمولی با تغییر در نسبت‌های کربن به نیتروژن در سیستم بیوفلاک با حداقل تبادل آب انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در آزمایشگاه آبی‌پروری دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس انجام شد. بچه ماهیان کپور معمولی از ایستگاه تحقیقاتی قره سو واقع در روستای قره سو شهرستان بندر ترکمن تهیه و به آزمایشگاه آبی‌پروری منتقل شدند. تعداد ۱۸۰ قطعه از بچه ماهیان با میانگین وزنی 0.25 ± 0.12 گرم جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاهی در مخزن مستطیلی با حجم آبگیری ۱۰۰۰ لیتر به مدت دو هفته ذخیره‌سازی شدند. طی دوره سازگاری، بچه ماهیان با غذای تجاری کپور معمولی شرکت بیضا ۲۱، به مقدار

استفاده می‌شود. به طور کلی، منبع کربن به عنوان یک سوستر برای سیستم‌های بیوفلاک در تولید سلول‌های پروتئینی میکروبی عمل می‌کند. افزودن کربوهیدرات ابزار مناسبی برای کاهش غلظت نیتروژن غیرآلی در سیستم‌های آبی‌پروری متراکم است (Avnimelech, 1999). مقدار نیتروژن مورد نیاز برای تولید سلول جدید در بیوماس میکروبی وابستگی زیادی به نسبت کربن به نیتروژن دارد که این نسبت حدوداً ۴ است (Gaudy and Gaudy, 1980). گزارشات حاکی از آنست که اگر کربن و نیتروژن در آب به شکل خوبی تنظیم و متعادل گردد، آمونیاک به علاوه مواد دفعی آلی نیتروژنی به بیوماس باکتریایی تبدیل خواهند شد (Schneider *et al.*, 2005). برای سیستم‌های بیوفلاک، نسبت کربن به نیتروژن غذا ۱۰ تا ۲۰ در نظر گرفته می‌شود (Asaduzzaman *et al.*, 2008). نسبت کربن به نیتروژن بیش‌تر غذاهای مصرفی در استخر آبی‌پروری نیمه متراکم حدود ۱۰ است اما باکتری هترتروفیک به ۲۰ واحد کربن برای هضم هر واحد نیتروژن نیاز دارد (Avnimelech, 1999).

مطالعات متعددی در رابطه با نسبت کربن به نیتروژن بر کیفیت آب و عملکرد رشد تیلپیا (Azim *et al.*, 2008; Perez-Fuentes *et al.*, 2016)، میگو (Xu and Pan, 2013; Xu *et al.*, 2016)، گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) (Abu Bakar *et al.*, 2015) و برخی از کپور ماهیان (Mahanand *et al.*, 2013; Magondou *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2015) در سیستم بیوفلاک انجام شده است.

کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) جزو گونه‌های مهم پرورشی بوده و تقریباً در سراسر دنیا پرورش داده

۲ درصد وزن بدن و در دو نوبت (ساعت ۹ صبح و ۱۷ بعد از ظهر) غذادهی شدند. ترکیبات شیمیایی غذای تجاری کپور معمولی در جدول ۱ آورده شده است.

پس از دوره سازگاری میانگین وزن بچه ماهیان به $5/78 \pm 0/10$ گرم رسید. دمای آب طی دوره سازگاری، 24 ± 1 درجه سانتی گراد بود.

جدول ۱: ترکیبات شیمیایی غذای شرکت بیضا ۲۱ برای کپور معمولی در اوزان ۲۰-۵۰ گرم (CG1)

نوع آنالیز	مقدار	نوع آنالیز	مقدار
رطوبت (%)	حد اکثر ۱۲	TVN (میلی گرم در ۱۰۰ گرم)	حد اکثر ۵۰
پروتئین خام (%)	۳۲-۳۶	لیزین (%)	۱/۶-۱/۸
چربی خام (%)	۷-۱۱	متیونین (%)	۰/۴۲-۰/۴۸
خاکستر (%)	۹-۱۳	ترئونین (%)	۱/۰۵-۱/۲۵
فیبر خام (%)	۲/۵-۵/۵	انرژی قابل هضم (کیلوکالری در کیلوگرم)	۳۶۰۰-۳۸۰۰
فسفر (%)	۱-۱/۴		

تیمار آزمایشی تزریق شد (Najdegerami *et al.*, 2015).

آزمایش در طرحی کاملاً تصادفی در سه تیمار تیمار A (C/N-15) با نسبت کربن به نیتروژن ۱۵ به ۱، تیمار B (C/N-20) با نسبت کربن به نیتروژن ۲۰ به ۱ و تیمار شاهد (C/N-10) با نسبت کربن به نیتروژن ۱۰ به ۱، با سه تکرار به مدت ۴۲ روز انجام شد. با توجه به پروتئین ۳۲ درصد و کربن حدود ۴۰ درصد غذای مصرفی، نسبت کربن به نیتروژن غذا ۱:۱۰ برای تیمار شاهد در نظر گرفته شد. برای تنظیم مقدار کربن به نیتروژن ۱۵ و ۲۰ از مکمل آرد گندم به عنوان منبع کربن آلی استفاده شد. ۹ مخزن پلاستیکی به حجم آبگیری ۶۰ لیتر انتخاب و به مقدار ۴۰ لیتر با آب کلرزدايي شده و استوک بیوفلاک پر شدند. تعداد ۲۰ قطعه بچه ماهی در هر مخزن پلاستیکی ذخیره سازی شد. در طی دوره آزمایش، بچه ماهیان به مقدار ۲ درصد وزن بدن و دو نوبت در روز (ساعت ۹-۱۰ صبح و ۱۸-۱۷ بعد از ظهر) با غذای تجاری شرکت بیضا ۲۱

برای آماده سازی استوک بیوفلاک، یک مخزن ۲۵۰ لیتری تهیه و حجم ۲۰۰ لیتر آن با آب خروجی از بچه ماهیان در مرحله سازگاری آبگیری شد. برای تسریع در شکل گیری بیوفلاک مقدار ۲۰۰ گرم غذای تجاری کپور معمولی، ۵۰ گرم خاک بستر استخر پرورش کپور و یک گرم اوره (۴۶ درصد نیتروژن) به مخزن اضافه شد. بر طبق محاسبات Avinmelech (۱۹۹۹) برای مصرف هر گرم نیتروژن آمونیاکی کل (TAN) نیاز به ۲۰ گرم کربن است. لذا آرد گندم با ۶۰ درصد کربن به عنوان کربن آلی برای این آزمایش در نظر گرفته شد و بر حسب TAN اندازه گیری شده، مقدار آرد گندم محاسبه و به مخزن اضافه شد. مخزن به طور پیوسته با پمپ هواده و سنگ هوا به مدت دو هفته هوادهی شد. وقتی مقدار جامدات معلق کل (TSS) در آب به حدود ۳۰۰ میلی گرم در لیتر و مقدار TAN تقریباً به صفر رسید، هوادهی متوقف شد و مقدار ۲۰۰ میلی لیتر در لیتر از فلاک میکروبی به هر یک از مخازن

$$\text{مقدار غذای مصرفی (گرم)} \\ \text{وزن اولیه (گرم) - وزن نهایی (گرم)} = \text{ضریب تبدیل غذایی (FCR)}$$

(Hevroy et al., 2005)

$$\text{افزایش وزن ماهی} \\ \text{میزان پروتئین جذب شده} = \text{نرخ عملکرد پروتئین (PER)} \\ \text{(مقدار پروتئین مصرفی به گرم)}$$

(Hevroy et al., 2005)

$$\text{تعداد ماهی در پایان دوره} \\ \text{تعداد کل ماهی در اول دوره} \times 100 = \text{درصد بازماندگی}$$

تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایش از نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ استفاده شد. قبل از انجام آزمون‌های آماری، نرمال بودن پراکنش داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف اسمیرونوف و شاپرو ویلک بررسی شد (Zar, 1999). برای تحلیل داده‌های پارامتر کیفی آب و شاخص‌های رشد از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه آنووا و جهت تعیین اختلاف در میانگین تیمارها از تست چند دامنه دانکن استفاده شد. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد ($P < 0.05$) تعیین گردید.

نتایج

تأثیر نسبت‌های کربن به نیتروژن بر پارامترهای کیفی آب

طی دوره آزمایش، سعی شد تا پارامترهای کیفی آب مانند دمای آب (۲۳-۲۴ درجه سانتی گراد)، اکسیژن محلول (۶/۵-۷/۵ میلی گرم در لیتر) و پی اچ آب (۷/۵-۸/۵) در دامنه مناسب برای پرورش کپور معمولی حفظ شود تا اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف برای این پارامترها وجود نداشته باشد.

غذادهی شدند. ۲ ساعت بعد از اولین نوبت غذادهی، براساس نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن، مقدار آرد گندم محاسبه و در ظرف ۵۰۰ میلی لیتر از آب هر مخزن بطور جداگانه حل و سپس به همان مخزن اضافه شد.

طی دوره آزمایش برخی از پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب از قبیل دمای آب و اکسیژن محلول با استفاده از اکسیژن متر مدل HACH ساخت آمریکا، پی اچ آب با استفاده از پی اچ متر مدل ۸۲۷ متروم ساخت سوئیس، TDS با استفاده از TDS-3 متر مدل HM ساخت چین، به صورت روزانه مورد سنجش قرار گرفت. مواد جامد معلق کل (TSS) و تقاضای اکسیژن بیوشیمیایی (BOD) آب براساس روش استرلینگ (Stirling, 1985) و غلظت نیتروژن آمونیاکی کل (TAN)، نیتريت (NO_2)، نترات (NO_3)، ارتو-فسفات (PO_4)، قلیائیت و کدورت آب با استفاده از دستگاه پالین تست فتومتر ۷۵۰۰ ساخت انگلستان هر ۱۰ روز یکبار اندازه گیری شد.

شاخص‌های رشد کپور معمولی

وزن بچه ماهیان هر مخزن با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ میلی گرم، هر ۱۴ روز یکبار اندازه گیری شد و مواردی از قبیل میانگین وزن نهایی، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، نرخ عملکرد پروتئین (PER) و درصد بازماندگی با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد.

$$\text{نرخ رشد ویژه (SGR)}$$

$$\frac{\text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه (گرم) - لگاریتم طبیعی وزن نهایی (گرم)}}{\text{روزهای آزمایش}} \times 100$$

(De Silva and Anderson, 1995)

با افزودن آرد گندم جهت افزایش نسبت کربن به نیتروژن، مقدار کدورت و مواد جامد معلق آب (TSS) افزایش یافت به طوری که بیشترین مقدار کدورت و مواد جامد معلق آب (TSS) در تیمار B مشاهده شد که اختلاف معنی داری با تیمارهای A و شاهد نشان داد ($P < 0/05$). افزایش نسبت کربن به نیتروژن، همچنین باعث افزایش مقدار مواد محلول آب (TDS) و تقاضای اکسیژن بیوشیمیایی (BOD) شد که تیمارهای A و B نسبت به تیمار شاهد مقدار بالاتر و معنی داری برای این دو پارامتر نشان دادند ($P < 0/05$) اما این اختلاف بین دو تیمار A و B مشاهده نشد ($P > 0/05$). قلیائیت نیز با افزایش نسبت کربن به نیتروژن از ۱۵ به ۲۰، افزایش نشان داد و اختلاف معنی داری بین دو تیمار A و B مشاهده شد ($P < 0/05$). به طور کل می توان گفت که افزودن آرد گندم جهت افزایش نسبت کربن به

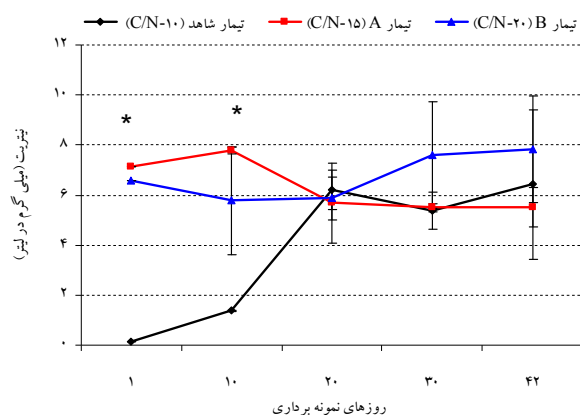
نیتروژن، تأثیر بسزایی در افزایش تمام پارامترهای کیفی آب مذکور دارد (جدول ۲).

غلظت نیتروژن غیر آلی محلول (نیتروژن آمونیاکی کل، نیتريت و نیترات) تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش به ترتیب در شکل های ۱، ۲ و ۳ آورده شده است. غلظت نیتروژن آمونیاکی کل تیمارهای مختلف در روز دهم آزمایش، در بالاترین حد ثبت شد اما بعد از روز دهم غلظت آن در تیمارهای مختلف کاهش یافت. در روزهای بیستم و سیام آزمایش اختلاف معنی داری بین تیمارهای A و شاهد با تیمار B مشاهده شد ($P < 0/05$) سپس تا روز چهل و دوم، غلظت نیتروژن آمونیاکی کل روند کاهشی را بین تیمارها نشان داد (شکل ۱). به طور کل، غلظت نیتروژن آمونیاکی کل تا روز دهم آزمایش، روند صعودی و بعد از آن روند نزولی داشت.

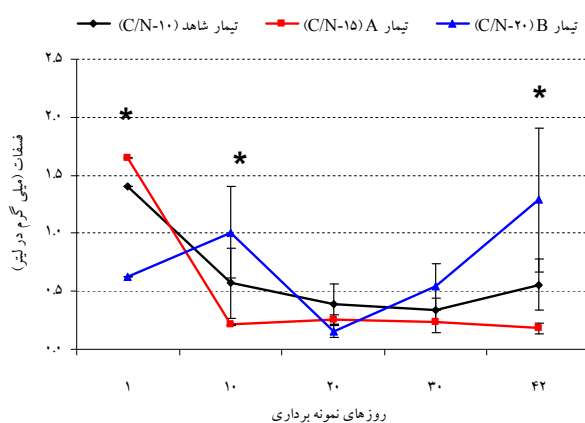
جدول ۲: تأثیر نسبت های مختلف کربن به نیتروژن بر پارامترهای کیفی آب در تیمارهای مختلف

پارامترها	تیمارها		
	تیمار شاهد (C/N-10)	تیمار A (C/N-15)	تیمار B (C/N-20)
دمای آب (درجه سانتی گراد)	$23/96 \pm 0/20$	$23/87 \pm 0/19$	$23/96 \pm 0/10$
اکسیژن محلول آب (میلی گرم در لیتر)	$7/20 \pm 0/32$	$7/29 \pm 0/47$	$6/96 \pm 0/41$
بی اچ	$8/10 \pm 0/32$	$7/96 \pm 0/36$	$8/05 \pm 0/29$
کدورت آب (FTU)	$43/50 \pm 1/73^c$	$236/25 \pm 12/99^b$	$371/04 \pm 16/49^a$
مواد جامد معلق کل (TSS)	$0/00 \pm 0/00^c$	$215 \pm 13/00^b$	$298/67 \pm 18/23^a$
مواد محلول کل (TDS)	$374/19 \pm 0/82^b$	$394/00 \pm 5/26^a$	$389/79 \pm 4/17^a$
تقاضای اکسیژن بیوشیمیایی (BOD)	$67/04 \pm 6/47^b$	$172/4 \pm 3/12^a$	$198/98 \pm 34/75^a$
قلیائیت کل (میلی گرم کربنات کلسیم در لیتر)	$219/86 \pm 14/18^{ab}$	$203/33 \pm 3/82^b$	$264/86 \pm 34/46^a$

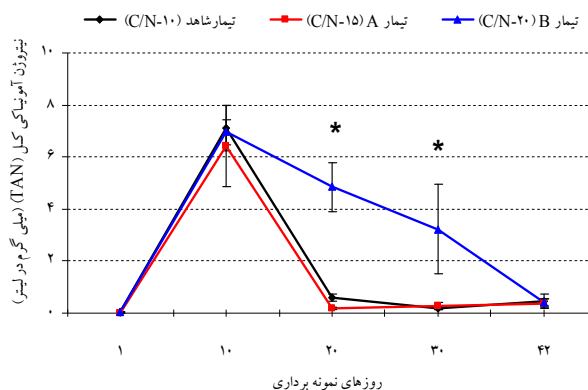
میانگین ها با حروف انگلیسی غیر مشترک در هر سطر تفاوت معنی داری با یکدیگر دارند ($P < 0/05$)



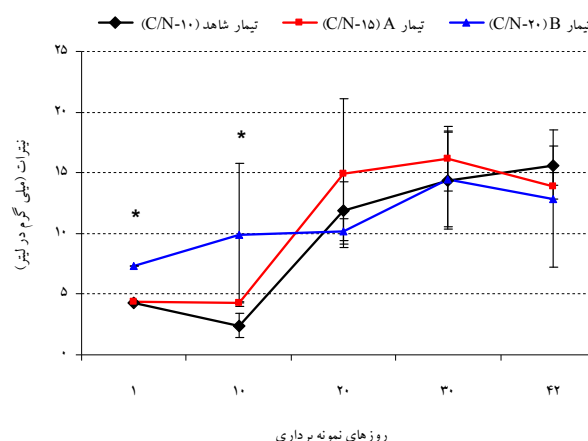
شکل ۲: تغییرات در مقدار نیتريت ($\text{NO}_2\text{-N}$) تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش (علامت * نشان دهنده تفاوت معنی داری در بین تیمارها می باشد ($P < 0.05$))



شکل ۴: تغییرات در مقدار فسفات تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش (علامت * نشان دهنده تفاوت معنی داری در بین تیمارها می باشد ($p < 0.05$))



شکل ۱: تغییرات در مقدار نیتروژن آمونیاکی کل (TAN) تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش (علامت * نشان دهنده تفاوت معنی داری در بین تیمارها می باشد ($P < 0.05$))



شکل ۳: تغییرات در مقدار نترات ($\text{NO}_3\text{-N}$) تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش (علامت * نشان دهنده تفاوت معنی داری در بین تیمارها می باشد ($P < 0.05$))

غلظت نیتروژن-نیتراتی در روز اول و دهم آزمایش، اختلاف معنی داری را بین تیمارها نشان داد ($P < 0.05$). بعد از روز دهم آزمایش، مقدار نترات در تیمارهای مختلف افزایش یافت اما اختلاف معنی داری بین تیمارها در روزهای بیستم، سیام و چهل و دوم مشاهده نشد ($P > 0.05$). به طور کل، غلظت نترات در تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش، روند افزایشی را نشان داد (شکل ۳) که بر خلاف روند کاهشی غلظت نیتروژن آمونیاکی کل طی دوره آزمایش بود.

غلظت نیتروژن-نیتريتی در روز اول آزمایش برای تیمارهای A و B نسبت به تیمار شاهد بالاتر و معنی دار بود ($P < 0.05$). اما طی دوره آزمایش و تا روز بیستم، غلظت نیتروژن-نیتريتی در تیمار شاهد، افزایش و در دو تیمار دیگر تا حدی کاهش نشان داد و پس از روز بیستم غلظت نیتريت در تیمار B تا حدودی افزایش نشان داد اما در تیمارهای A و شاهد تقریباً دامنه نوسانات کمی داشت (شکل ۲).

غلظت فسفات در روز اول، دهم و چهل و دوم آزمایش اختلاف معنی داری را بین تیمارها نشان داد ($P < 0/05$). طی دوره آزمایش، مقدار فسفات در تیمارهای کربن به نیتروژن ۱۵ و ۲۰ روند کاهشی داشت و اختلاف معنی داری طی روزهای اول، دهم و چهل و دوم بین این دو تیمار مشاهده شد ($P < 0/05$). غلظت فسفات در تیمار شاهد در روز دهم افزایش و سپس کاهش و از روز بیستم به بعد روند افزایشی تا پایان دوره پرورش نشان داد که با تیمار A اختلاف معنی داری نشان نداد ($P > 0/05$) اما با تیمار B در روزهای اول، دهم و چهل و دوم آزمایش اختلاف داشت ($P < 0/05$ ؛ شکل ۳). به طور کل، افزایش نسبت کربن به نیتروژن تأثیر مثبتی بر کاهش مقدار فسفات و نیتروژن آمونیاکی کل و افزایش مقدار نترات دارد.

تأثیر نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن بر عملکرد رشد بچه ماهیان کپور معمولی

پارامترهای رشد بچه ماهیان کپور معمولی در تیمارهای مختلف در جدول ۳ آورده شده است.

میانگین وزن نهایی بچه ماهیان و درصد نرخ رشد ویژه در تیمار A نسبت به تیمارهای B و شاهد بهتر بود اما اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0/05$). بررسی نرخ عملکرد پروتئین در تیمار A بالاتر از دو تیمار B و شاهد بود و اختلاف معنی داری بین تیمار A و تیمار شاهد مشاهده شد ($P < 0/05$) اما بین دو تیمار A و B اختلافی مشاهده نشد ($P > 0/05$). ضریب تبدیل غذایی در تیمار A نسبت به دو تیمار B و شاهد پایین تر بود و اختلاف معنی داری بین تیمار A و شاهد مشاهده شد ($P < 0/05$) اما بین دو تیمار A و B اختلافی وجود نداشت ($P > 0/05$). درصد بازماندگی در تیمارهای A و B، ۱۰۰ درصد بود ولی در تیمار شاهد درصد بازماندگی کاهش یافت و اختلاف معنی داری با تیمارهای دیگر نشان داد ($P < 0/05$). نتایج پارامترهای رشد حاکی از آنست که بچه ماهیان پرورش یافته در تیمار A دارای میانگین وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و نرخ عملکرد پروتئینی بالاتر و ضریب تبدیل غذایی پایین تری نسبت به دو تیمار B و شاهد داشتند.

جدول ۳: تأثیر نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن بر عملکرد رشد بچه ماهیان کپور معمولی در تیمارهای مختلف

پارامترها	تیمار شاهد (C/N-10)	تیمار A (C/N-15)	تیمار B (C/N-20)
میانگین وزن اولیه (گرم)	۵/۷۹۶ ± ۰/۱۳۱	۵/۷۹۵ ± ۰/۰۸۹	۵/۷۶۷ ± ۰/۰۷۸
میانگین وزن نهایی (گرم)	۸/۲۱۶ ± ۰/۴۳۵	۹/۲۸۴ ± ۰/۲۱۰	۸/۳۴۵ ± ۰/۸۷۸
نرخ رشد ویژه (%)	۰/۸۲۹ ± ۰/۰۸۱	۱/۱۲۲ ± ۰/۰۴۳	۰/۸۷۲ ± ۰/۰۲۱۸
نرخ عملکرد پروتئین	۱/۲۹۰ ± ۰/۳۲۲ ^b	۲/۴۰۰ ± ۰/۱۱۹ ^a	۱/۷۷۴ ± ۰/۵۶۰ ^{ab}
ضریب تبدیل غذایی	۲/۵۲۷ ± ۰/۶۳۳ ^a	۱/۳۰۴ ± ۰/۰۶۳ ^b	۱/۸۶۷ ± ۰/۴۹۹ ^{ab}
بازماندگی (%)	۹۳/۳۳ ± ۲/۸۸۷ ^b	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a

میانگین‌ها با حروف انگلیسی غیر مشترک در هر سطر تفاوت معنی داری با یکدیگر دارند ($P < 0/05$).

میزان آب مصرفی یا تبادل آب و بیوماس تولید در این مطالعه در جدول ۴ آورده شده است. میزان مصرف آب در تیمار شاهد نسبت به دو تیمار دیگر حدوداً دو برابر بود. میزان بیوماس تولید در واحد سطح در تیمار شاهد کم‌تر از دو تیمار A و B بود و بیش‌ترین میزان بیوماس تولید در تیمار A مشاهده شد که برابر با ۴/۶۴۲ کیلوگرم در مترمکعب بدست آمد. برآورد مقدار

مصرف یا تبادل آب برای تولید هر کیلوگرم ماهی در متر مکعب در تیمارهای مختلف نشان داد که برای تولید یک کیلوگرم ماهی در تیمار شاهد نیاز به ۶۲/۵۸ لیتر آب تازه است که این مقدار، ۲/۲۷ برابر میزان مصرف آب برای تیمار A و حدود ۲ برابر تیمار B می‌باشد.

جدول ۴: مقدار مصرف یا تبادل آب و بیوماس تولید در واحد سطح در تیمارهای مختلف

تیمار	مصرف آب (لیتر)	بیوماس تولید در واحد سطح (کیلوگرم در متر مکعب)	نسبت مصرف آب به بیوماس تولید (لیتر بر کیلوگرم در متر مکعب)
تیمار شاهد (C/N-10)	۲۴۰	۳/۸۳۵	۶۲/۵۸
تیمار A (C/N-15)	۱۲۷/۵	۴/۶۴۲	۲۷/۴۶
تیمار B (C/N-20)	۱۲۷/۵	۴/۱۷۲	۳۰/۵۶

بحث

تأثیر نسبت‌های کربن به نیتروژن بر پارامترهای کیفی آب

مدیریت کیفی آب اهمیت زیادی در سیستم آبی‌پروری دارد که تحت تأثیر تراکم ذخیره‌سازی، ترکیب گونه پرورشی، کیفیت و کمیت مواد غذایی مصرف شده و سیستم پرورش می‌باشد (Diana et al., 1997). در مطالعه حاضر، دمای آب، اکسیژن محلول و پی اچ در دامنه مناسب برای پرورش ماهیان مناطق گرمسیری بود (Boyd, 2002). اما دامنه قلیائیت کل در این مطالعه بین ۲۰۰ تا ۳۰۰ میلی گرم در لیتر تعیین شد که بالاتر از دامنه توصیه شده برای پرورش ماهیان مناطق گرمسیری ۱۵۰-۷۰ میلی گرم در لیتر بود (Boyd, 2002).

روی هم رفته، افزایش نسبت کربن به نیتروژن، مقدار مواد جامد معلق (TSS) و تقاضای اکسیژن

بیوشیمیایی (BOD) را افزایش داد به طوری که پس از ۴۲ روز آزمایش حداکثر TSS و BOD به ترتیب ۱۸/۲۳ ± ۲۹۸/۶۷ و ۳۴/۷۵ ± ۱۹۸/۹۸ میلی گرم در لیتر ثبت شد که در مقایسه با گزارشات Mahanand و همکاران (۲۰۱۳) روی پرورش روهو (*Labeo rohita*) در سیستم بیوفلاک داخل سالن (پس از ۹۰ روز آزمایش) حداکثر مقدار TSS و BOD به ترتیب ۲۰۴ و ۱۰۶ میلی گرم در لیتر بود که دلیل پایین بودن مقدار TSS و BOD را تبادل متناوب آب طی دوره پرورش برای پایین نگهداشتن مقدار نیتروژن آمونیاکی کل در زیر یک میلی گرم در لیتر مطرح کردند (Mahanand et al., 2013). این در حالی است که در مطالعه Azim و Little (۲۰۰۸) روی پرورش تیلای نیل (*Oreochromis niloticus*) در سیستم بیوفلاک داخل سالن، حداکثر مقدار TSS و BOD به ترتیب به ۱۰۰۰ و

۲۹۰ میلی گرم در لیتر رسید که دلیل آن عدم تبادل آب در دوره پرورش بیان شد (Azim and Little, 2008). حیوانات آبرزی مانند ماهی و میگو نیاز زیادی به پروتئین در غذای شان دارند و به خاطر این که تولید انرژی در بدن آن‌ها از طریق اکسیداسیون و کاتابولیسم پروتئین‌ها انجام می‌گیرد (Hepher, 1988). سطح بالای پروتئین غذا باعث افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی کل و نیتريت در آب می‌شود (Magonda et al., 2013). به طور کلی، وقتی مقدار نیتروژن آمونیاکی و نیتريت در سیستم آبرزی پروری به ترتیب از ۰/۱ و ۵ میلی گرم در لیتر بالاتر رود برای موجودات آبرزی پرورشی مضر می‌باشد (Qiao et al., 2006). نیتريت نیز برای موجودات آبرزی در غلظت بیش از ۶۰ میلی گرم در لیتر و در معرض طولانی مدت، مضر است. در نتیجه، نیتروژن آمونیاکی و نیتريت نسبت به نیتريت برای حیوانات آبرزی مضرتر هستند (Miranda-Filho et al., 2009). لذا برای سیستم پرورش متراکم، آلودگی نیتروژن آمونیاکی و نیتريت فاکتور استرسی مهم بوده که روی شرایط زیست محیطی سیستم آبرزی پروری نیز تأثیر می‌گذارد (Tovar et al., 2000).

بیشتر غذاهای تجاری ماهیان دارای پروتئین بالا و کربوهیدرات نسبتاً پایین می‌باشند. در نتیجه نسبت کربن به نیتروژن در فضولات ماهی کم‌تر از ۱۵ می‌باشد (Avnimelech, 1999). تنظیم نسبت کربن به نیتروژن توسط کربوهیدرات باعث بهبود شرایط کیفی آب شده و به طور معنی‌داری غلظت نیتروژن غیرالی آب را کاهش می‌دهد (Magonda et al., 2013). Avnimelech (۱۹۹۹) نشان داد که افزودن کربوهیدرات به سیستم‌های پرورش، باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی کل از طریق هضم توسط

بیوماس باکتریایی می‌شود (Avnimelech, 1999). همچنین Hari و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که مکمل کربوهیدرات در سیستم آبرزی پروری میزان نیتروژن آمونیاکی و نیتريت را کاهش می‌دهد و تا اندازه خوبی میزان انتشار نیتروژن به داخل محیط زیست، کاهش می‌یابد (Hari et al., 2006). نتایج مطالعات Wang و همکاران (۲۰۱۵) روی سیستم پرورش کاراس نیز نشان داد که سیستم بیوفلاک به طور معنی‌داری نیتروژن آمونیاکی را بعد از ۱۴ روز، نیتريت و نیتريت را بعد از ۷ روز کاهش می‌دهد. نتایج این مطالعه نیز نشان داد که مقدار نیتروژن آمونیاکی کل در روز دهم حداکثر مقدار را داشت ولی با گذشت زمان مقدار آن در تیمارهای مختلف کاهش یافت که می‌توان آن را به شکل‌گیری بیوفلاک در سیستم و وجود باکتری‌هایی که نیتروژن آب را هضم می‌کنند مرتبط دانست. مقدار نیتريت طی دوره آزمایش تقریباً ثابت بود ولی مقدار نیتريت با گذشت زمان در تیمارهای مختلف افزایش نشان داد.

بیشتر مطالعات در رابطه با سیستم بیوفلاک نشان می‌دهد که این سیستم بطور موثری قادر به بهبود کیفیت آب و بهبود شرایط زیست محیطی آبرزی می‌باشد. Avnimelech (۱۹۹۹) با توسعه و کاربرد مکانیسم بیوفلاک روی کیفیت آب با متعادل کردن نسبت کربن به نیتروژن در سیستم آبرزی پروری نشان داد که بطور موثری میزان سطح نیتروژن آمونیاکی در سیستم آبرزی پروری کاهش یافت. به طور کل در سیستم بیوفلاک، تنظیم نسبت کربن به نیتروژن به طور معنی‌داری باعث کاهش غلظت نیتروژن می‌گردد (Wang et al., 2015). Little و Azim (۲۰۰۸) ثابت کردند که وقتی نسبت کربن به نیتروژن در سیستم

آبزی پروری بالاتر از ۱۰ باشد میکروارگانیسم‌ها موجود در بیوفلاک قادر به هضم ۰/۲ گرم نیتروژن در مترمربع در روز هستند. Asaduzzaman و همکاران (۲۰۰۸) همچنین نشان دادند که وقتی نسبت کربن به نیتروژن به یک سطح ثابت می‌رسد ۱۰ میلی گرم در لیتر نیتروژن آمونیاکی طی ۵ ساعت بطور کامل توسط میکروارگانیسم‌ها مصرف می‌شود بدون اینکه تجمعی در مقدار نیتريت و نترات ایجاد شود. Wang و همکاران (۲۰۱۵) در سیستم پرورش کاراس مشاهده کردند که نسبت کربن به نیتروژن تأثیر معنی داری روی کیفیت آب دارد. به طوری که وقتی نسبت کربن به نیتروژن بیش تر از ۱۵ بود سطح نیتروژن آمونیاکی و نیتريت در سیستم آبزی پروری به طور موثری کاهش یافت. مطالعات متعددی نشان داد که حفظ نسبت بالای کربن به نیتروژن (۱۰ تا ۲۰) شکل گیری بیوفلاک را افزایش می‌دهد (Avnimelech, 1999; Ballester *et al.*, 2010; Hargreaves, 2006). برای تولید مناسب و حفظ مواد مغذی در بیوماس باکتری نیاز به نسبت کربن به نیتروژن ۱۵ است (Henze *et al.*, 1996). نتایج حاصل از این مطالعه نیز نشان داد که تیمار A با نسبت کربن به نیتروژن ۱۵ به ۱ روند بهتری را نسبت به تیمار B با نسبت کربن به نیتروژن ۲۰ به ۱ در کاهش غلظت نیتروژن غیر آلی نشان داد.

میکروارگانیسم‌های هتروتروفیک در بیوفلاک قادرند نیتروژن آمونیاکی و نترات را برای تکثیر و رشد خود مصرف کنند (Xia *et al.*, 2012) و تا اندازه خوبی مقدار بالای کربن آلی را مصرف نمایند. بنابراین، مقدار زیاد باکتری‌های هتروتروفیک به واسطه افزایش نسبت کربن به نیتروژن فراهم می‌شود که قادر به جذب حداکثر نیتروژن آمونیاکی در سیستم

آبزی پروری می‌باشند که همچنین مقدار بیوفلاک را افزایش می‌دهند (Wang *et al.*, 2015). به خاطر فرآیند دنتریفیکاسیونی باکتری‌های هتروتروفیک که در برخی مواقع اتفاق می‌افتد نرخ حذف نیتروژن آمونیاکی نمی‌تواند به ۱۰۰ درصد برسد و کارایی حذف نیتروژن ۷۷-۹۸ درصد می‌باشد (De Schryver and Verstraete, 2009).

توده زیاد بیوفلاک باعث کاهش اکسیژن محلول و افزایش نیتروژن آمونیاکی کل، نیتريت و نترات حاصل از تجزیه می‌شود بدون اینکه روی رشد و کیفیت آب تأثیر بگذارد (Rakocy *et al.*, 2006). Perez-Fuentes و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند که لازم نیست، نسبت کربن به نیتروژن ۲۰ به ۱ باشد تا تولیدات نیتروژن غیر آلی محلول حذف گردد بلکه نسبت کربن به نیتروژن ۱۰ به ۱ نیز قادر به حفظ ترکیبات نیتروژنی در سطح غیر سمی می‌باشد. آن‌ها همچنین گزارش کردند که نسبت کربن به نیتروژن ۱۰ به ۱، توده بیوفلاک را در $23/07 \pm 16/84$ میلی لیتر در لیتر حفظ می‌کند. همچنین Avnimelech (۲۰۱۲) مقدار توده بیوفلاک را ۵-۵۰ میلی لیتر در لیتر برای نسبت کربن به نیتروژن ۱۰ به ۱ مطرح نمود. مطالعه حاضر نشان داد که تیمار A نسبت به تیمار شاهد B مقدار بیوفلاک مناسب تری داشت که این خود می‌تواند نقش موثری در کاهش نوسانات پارامترهای کیفی آب بازی کند.

تأثیر نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن بر عملکرد رشد بچه ماهیان کپور معمولی

مطالعات متعددی نشان دادند که بیوفلاک می‌تواند توسط حیوانات آبزی مصرف و باعث افزایش رشد در گونه‌های مختلف مانند تیلایای موزامبیک (O.

mossambicus) (Avnimelech, 2007)، میگوی آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) (Asaduzzaman et al, 2008) و میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) (Burford et al, 2004;) (Xu et al, 2012) Magonda و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که نسبت کربن به نیتروژن اثر معنی داری روی پارامترهای رشد دارد و بالاترین میانگین وزن را در ماهیان پرورش یافته در سیستم بیوفلاک با نسبت کربن به نیتروژن ۲۰ مشاهده کردند. Wang و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که افزایش نسبت‌های کربن به نیتروژن موجب افزایش مقدار وزن بدن، نرخ رشد ویژه و نرخ عملکرد پروتئین و کاهش ضریب تبدیل غذا در ماهی کاراس شد. Avnimelech (۱۹۹۹) بیان کرد که بیوفلاک می‌تواند نیاز به پروتئین و مواد مغذی دیگر را برای تیلایای موزامبیک (O. *mossambicus*) بر طرف نماید (Avnimelech, 1999). Mahanand و همکاران (۲۰۱۳) نیز گزارش کردند که بچه ماهیان رو هو پرورش یافته در سیستم بیوفلاک دارای میانگین وزن نهایی و نرخ رشد ویژه بالاتری نسبت به تیمار شاهد داشتند اما ضریب تبدیل غذایی و نرخ عملکرد پروتئین در تیمار شاهد بهتر از تیمار بیوفلاک بود. به طور کل، مطالعه آن‌ها ثابت کرد که تکنولوژی بیوفلاک برای پرورش رو هو (Labeo *rohita*) مناسب می‌باشد. نتایج پارامترهای رشد بچه ماهیان کپور معمولی در این مطالعه نشان داد که بچه ماهیان پرورش یافته در تیمار A دارای میانگین وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و نرخ عملکرد پروتئینی بالاتر و ضریب تبدیل غذایی پایین تری نسبت به دو تیمار B و شاهد می‌باشد.

مهم ترین دستاورد استفاده از سیستم بیوفلاک را می‌توان صرف جویی در مصرف آب و غذا در آبرزی پروری دانست لذا به علت محدودیت‌های منابع آب و غذا، بالا بردن بازده تولید آبرزیان از طریق کاهش مصرف آب و غذا امری بسیار مهم تلقی می‌گردد (بخشی و همکاران، ۱۳۹۳). این محققین با استفاده بیوفلاک در پرورش کپور معمولی بیان کردند که مصرف غذا حدود ۵۰ درصد و مصرف آب حدود ۹۹ درصد کاهش می‌یابد و میزان تعویض آب روزانه را حداقل ۱ درصد گزارش کردند (بخشی و همکاران، ۱۳۹۳). در مطالعه Mahanand و همکاران (۲۰۱۳) نیز گزارش شد که استفاده از بیوفلاک، مقدار مصرف آب کاهش می‌دهد. آن‌ها همچنین نشان دادند که برای تولید هر کیلو گرم ماهی به طور متوسط در تیمار شاهد و بیوفلاک به ترتیب ۳۴۵ و ۲۰۸ لیتر در کیلو گرم آب تازه نیاز است. نتایج این مطالعه نیز نشان داد که بیوفلاک نقش مهمی در کاهش میزان مصرف آب در سیستم آبرزی پروری بازی می‌کند به طوری که مقدار مصرف آب، کاهش حدود ۵۰ درصدی را در تیمارهای بیوفلاک نسبت به تیمار شاهد داشت همچنین برای تولید هر کیلو گرم ماهی در سیستم بیوفلاک مورد آزمایش در این تحقیق، بین ۲۷-۳۰ لیتر آب نیاز است.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات تمامی کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

- different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. *Aquaculture Nutrition*, 16 (2), 163–172.
10. Boyd, C.E., 2002. Water quality. An Introduction. Kluwer Academic Publishers, Boston, Dordrecht, London, 325 pp.
 11. Burford, M.A., Thompson, P.J., McIntosh, R.P., 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. *Aquaculture* 232 (1), 525–537.
 12. 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.
 13. De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W., 2008. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture*, 277, 125–137.
 14. De Schryver, P., Verstraete, W., 2009. Nitrogen removal from aquaculture pond water by heterotrophic nitrogen assimilation in lab-scale sequencing batch reactors. *Bioresour. Technol.* 100 (3), 1162–1167.
 15. De Silva, S.S., Anderson, T., 1995. Fish Nutrition in aquaculture. London, UK: Chapman and Hall.
 16. Diana, J.S., Szyper, J.P., Batterson, T.R., Boyd, C.E., Piedrahita, R.H., 1997. Water Quality in Ponds. In: Egna, H.S., Boyd, C.E. (Eds.), Dynamics of pond aquaculture. CRC Press LLC, 53–72.
 17. Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J., 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257 (1–4), 346–358.
 18. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture, Opportunities and challenges. Room. 243 pp. Available at <http://www.fao.org>.

منابع

۱. بخشی، ف.، ملک زاده ویایه، ر.، حسین نجد گرامی، آ.، ۱۳۹۳. بررسی بازدهی استفاده از سیستم تولید توده زیستی (Biofloc) در پرورش متراکم ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). فصلنامه علمی پژوهشی محیط زیست جانوری، ۴۵–۵۲، (۳)۶.
2. Abu Bakar, N.S., Mohd Nasir, N., Lananan, F., Abdul Hamid, S.H. Lam, S.S., Jusoh, A., 2015. Optimization of C/N ratios for nutrient removal in aquaculture system culturing African catfish, (*Clarias gariepinus*) utilizing Bioflocs Technology. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 20, 1–7
3. Asaduzzaman, M., Wahab, M.A., Verdegem, M.C.J., Huque, S., Salam, M.A., Azim, M.E., 2008. C/N ratio control and substrate addition for periphyton development jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds. *Aquaculture*, 280, 117–123.
4. Avnimelech, Y., 1999. Carbon and nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 176, 227–235.
5. Avnimelech, Y., 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. *Aquaculture*, 264 (1), 140–147.
6. Avnimelech, Y., Ritvo, G., 2003. Shrimp and fish pond soils: processes and management. *Aquaculture*, 220, 549–567.
7. 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.
8. Azim, M.E., Little, D.C., Bron, J.E., 2008. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C:N ratio in feed and the implications for fish culture. *Bioresource Technology*, 99, 3590–3599.
9. Ballester, E.L.C., Abreu, P.C., Cavalli, R.O., 2010. Effect of practical diets with

30. Najdegerami, E., Bakhshi, F., Bagherzadeh Lakani, F., 2015. Effects of biofloc on growth performance, digestive enzyme activities and liver histology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings in zero-water exchange system, Fish Physiology and Biochemistry, Online, DOI: 10.1007/s10695-015-0151-9.
31. Perez-Fuentes, J., Hernandez-Vergara, M., Pérez-Rostro, C., Fogel, I., 2016. C:N ratios affect nitrogen removal and production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised in a biofloc system under high density cultivation. Aquaculture, 452, 247–251.
32. Qiao, S.F., Liu, H.Y., Qi, X.Y., 2006. The accumulation and toxicity of ammonia nitrogen in aquaculture water. Hebei. Fish, 1, 20–22.
33. Rakocy J.E., Masser M.P., Losordo T.M., 2006 Recirculating aquaculture tank production Systems: aquaponics-integrating fish and plant culture (revision). Southern Regional Aquaculture Center (SRAC), United State, 16 pp.
34. Salehi, H., 2003. Market perspective on cultured carp products in Iran. Asia Pacific Conference on Aquaculture. Bangkok, Thailand. 45p.
35. Schneider, O., Sereti, V., Eding, E.H., Verreth, J.A.J., 2005. Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. Aquac. Eng., 32, 379–401.
36. Stirling, H.P., 1985. Chemical and biological methods of water analysis for Aquaculturists. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling, Scotland.
37. Tokur, B., Ozkutuk, S., Atici, E., Ozyurt, G., Ozyurt, C.E., 2006. Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio* L., 1758), during frozen storage (-18C). Food Chem., 99, 335–341.
38. Torres-Beristain, B., Verdegem, M., Kerepeczki, E., Verreth, J., 2006. Decomposition of high protein aquaculture feed under variable oxic conditions. Water Res., 40(7), 1341–1350.
39. Tovar, A., Moreno, C., Manuel-Vez, M.P., 2000. Environmental impacts of intensive
19. Gaudy, A.F., Gaudy, E.T., 1980. Microbiology for Environmental Scientists and Engineers. McGraw-Hill, New York, 736 pp.
20. Goldburg, R., Elliot, M., Naylor, R.L., 2001. Marine Aquaculture in the United States. Environmental Impacts and Policy Options; Pew Oceans Commission: Arlington, VA.
21. Hargreaves, J.A., 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. Aquaculture, 66 (3–4), 181–212.
22. Hargreaves, J.A., 2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. Aquacultural Eng., 34 (3), 344–363.
23. Hari, B., Kurup, B.M., Varghese, J.T., 2006. The effect of carbohydrate addition on water quality and the nitrogen budget in extensive shrimp culture systems. Aquaculture, 252 (2), 248–263.
24. Henze, M., Harremoes, P., Arvin E., Cour Jansen, J., 1996. Waste Water Treatment. Lyngby, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, New York.
25. Hephher, B., 1988. Nutrition of Pond Fish. Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK, 388 pp.
26. Hevroy, E.M., Espe, M., Waagbo, R., Sandness, K., Rund, M., Hemre, G.I., 2005. Nutrition utilization in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L) fed increased level of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture Nutrition, 11, 301–313.
27. Magondu, E., Charo-Karisa, H., Verdegem, M.C.J., 2013. Effect of C/N ratio levels and stocking density of *Labeo victorinus* on pond environmental quality using maize flour as a carbon source. Aquaculture, 410–411, 157–163.
28. Mahanand, S.S., Moulick, S., Srinivasa Rao, P., 2013. Water Quality and Growth of Rohu, *Labeo rohita*, in a Biofloc System. Journal of Applied Aquaculture, 25, 121–131.
29. Miranda-Filho, K.C., Pinho, G.L.L., Wasielesky, W.J., 2009. Long-term ammonia toxicity to the pink-shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. 150 (3), 377–382.

- zero-water exchange culture tanks. *Aquaculture*, 350–353, 147–153.
44. Xu, W.J., 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, 117–124.
 45. Xu, W., Morris, T., Samocha, T., 2016. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system. *Aquaculture*, 453, 169–175.
 46. Zar, J.H., 1999. *Biostatistical Analysis*. 4th edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.
 47. Zhao, Z., Xu, Q., Luo, L., Wang, C., Li, J., Wang, L., 2014. Effect of feed C/N ratio promoted bioflocs on water quality and production performance of bottom and filter feeder carp in minimum-water exchanged pond polyculture system. *Aquaculture*, 434, 442–448.
 - aquaculture in marine waters. *Water Res.* 34 (1), 334–342.
 40. Wang, G., Yu, E., Xie, J., Yu, D., Li, Z., Luo, W., Qiu, L., 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.
 41. Xia, Y., Yu, E.M., Xie, J., 2012. Analysis of bacterial community structure of biofloc by PCR-DGGE. *J. Fish. China*, 36 (10), 1563–1571.
 42. Xu, W.J., 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.
 43. Xu, W.J., Pan, L.Q., Zhao, D.H., 2012. Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in