



University of Tehran

Activity of enzymes related to protein, lipid, digestive and antioxidant enzymes in Common carp fed with mineral supplements under biofloc system

Nersi Nassirabady¹ | Aboalfazl Askary Sary^{1*} | Mehran Javaheri Baboli¹ |
Laleh Roomiani¹ | Mojdeh Chelemaal Dezfulnezhad¹

1. D epartment of Fisheries, Ahv. C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran. Email: nersi.nassirabady@iau.ac.ir

1. Corresponding Author, Department of Fisheries, Ahv. C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran. Email: ab.askary@iau.ac.ir

1. Department of Fisheries, Ahv. C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran. Email: mehran870870@iau.ac.ir

1. Department of Fisheries, Ahv. C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran. Email: laleh.roomiani@iau.ac.ir

1. Department of Fisheries, Ahv. C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran. Email: m_chelemaal@iau.ac.ir

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article type:

Research Article

Article History:

Received: 06 August 2025

Revised: 21 September 2025

Accepted: 08 October 2025

Published online: 22 November 2025

Keywords:

Biofloc system,
Mineral supplement,
Metabolism,
Activity antioxidant,
Cyprinus carpio.

This study evaluated the effect of mineral-enriched biofloc technology on the activities of enzymes related to protein, lipid, digestive and antioxidant enzymes of common carp (*Cyprinus carpio* L.) over a 60-day period. Four biofloc treatments with different concentrations of mineral supplements of 10 g/L (MTB10), 15 g/L (MTB15), 20 g/L (MTB20) and 25 g/L (MTB25) were added to the carp diet. In contrast, two control groups of conventional rearing system (C) and a standard biofloc control (BC) without mineral supplements were included. Water quality indices were examined throughout the study. The water quality indices except alkalinity and pH which fluctuated in the study treatments were at optimum levels and higher turbidity was observed only in the mineral-supplemented MTB25 treatment. The supplemented groups had lower levels of nitrite and nitrate than the standard biofloc system. Floc indices such as total suspended solids (TSS) were lower than the control treatment and total dissolved solids (TDS) were higher than the control treatment. The crude fat and fish ash contents tended to increase in biofloc treatments. The highest protein content was observed in MTB15 treatment at 17.45% ($P < 0.05$). MTB15 treatment was able to improve protein metabolism, lipid metabolism and antioxidant enzyme activity. The activities of lipase, protease and amylase enzymes were in the range of 5.13-6.29 U/g, 89-134 pg/mg and 0.25-0.37 U/mg. The results of this study highlighted the effectiveness of the biofloc system containing mineral supplements in increasing metabolism and water quality of common carp culture.

Cite this article: Nassirabady, N., Askary Sary, A., Javaheri Baboli, M., Roomiani, L., Chelemaal Dezfulnezhad, M. (2025). Activity of enzymes related to protein, lipid, digestive and antioxidant enzymes in common carp fed with mineral supplements under biofloc system. *Journal of Fisheries*, 78 (4), 313-330. DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.400182.1465>



© The Author(s) **Publisher:** University of Tehran Press.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.400182.1465>



فعالیت آنزیم‌های وابسته به متابولیسم پروتئین، چربی، گوارش و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کیور معمولی تغذیه شده با مکمل معدنی تحت سیستم بیوفلاک

نرسی نصیرآبادی^۱ | ابوالفضل عسکری ساری^{۱*} | مهران جواهری بابلی^۱ | لاله رومیانی^۱ | مژده چله‌مال دزفول‌نژاد^۱

۱. گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران. رایانامه: nersi.nassirabady@iau.ac.ir

۱. نویسنده مسئول، گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران. رایانامه: ab.askary@iau.ac.ir

۱. گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران. رایانامه: mehran870870@iau.ac.ir

۱. گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران. رایانامه: laleh.roomiani@iau.ac.ir

۱. گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران. رایانامه: m_chelemaal@iau.ac.ir

چکیده

اطلاعات مقاله

این مطالعه تأثیر فناوری بیوفلاک غنی‌شده با مواد معدنی را بر فعالیت آنزیم‌های وابسته به متابولیسم پروتئین، چربی، گوارش و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ماهی کیور معمولی (*Cyprinus carpio* L.) در یک دوره ۶۰ روزه ارزیابی کرد. چهار تیمار بیوفلاک با غلظت‌های مختلف مکمل معدنی ۱۰ گرم در لیتر (MTB10)، ۱۵ گرم در لیتر (MTB15)، ۲۰ گرم در لیتر (MTB20) و ۲۵ گرم در لیتر (MTB25) به جیره غذایی کیور اضافه شدند. در مقابل، دو گروه کنترل سیستم پرورش معمولی (C) و یک کنترل استاندارد بیوفلاک (BC) بدون مکمل‌های معدنی تعبیه شدند. شاخص‌های کیفیت آب در طول مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که شاخص‌های مهم کیفیت آب به‌جز قلیائیت و pH که در تیمارهای مطالعه نوسان داشتند، پهنه بودند و کدورت بالاتر فقط در تیمار MTB25 مکمل معدنی مشاهده شد ($P < 0.05$). گروه‌های حاوی مکمل دارای سطح کمتری از نیتريت و نیتريت نسبت به سیستم استاندارد بیوفلاک بودند ($P < 0.05$). شاخص های فلاک مانند میزان مواد جامد معلق کل (TSS) کمتر از تیمار کنترل ($P > 0.05$) و مواد جامد محلول (TDS) بالاتر از تیمار کنترل بودند ($P < 0.05$). تعیین میزان ترکیب بیوشیمیایی عضله ماهی نشان داد که محتوای چربی خام و خاکستر در تیمارهای بیوفلاک تمایل به افزایش دارد. بیشترین میزان پروتئین عضله ماهیان در تیمار MTB15 به‌میزان ۱۷/۴۵ درصد مشاهده گردید ($P < 0.05$). تیمار MTB15 توانست متابولیسم پروتئین، متابولیسم لیپید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را بهبود بخشد. فعالیت آنزیم‌های لیپاز، پروتئاز و آمیلاز به‌ترتیب در محدوده ۵/۱۳-۶/۲۹ U/g، ۱۳۴-۸۹ pg/mg و ۰/۲۵-۰/۳۷ U/mg بود. نتایج این تحقیق اثربخشی سیستم بیوفلاک حاوی مکمل معدنی با ۱۵ گرم در لیتر در افزایش متابولیسم و کیفیت آب پرورش کیور معمولی را برجسته کرد.

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۱۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۶/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۱۶

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۹/۰۱

کلیدواژه:

سیستم بیوفلاک،
فعالیت آنتی‌اکسیدانی،
کیور معمولی،
متابولیسم،
مکمل معدنی.

استناد: نصیرآبادی، نرسی، عسکری ساری، ابوالفضل، جواهری بابلی، مهران، رومیانی؛ لاله، چله‌مال دزفول‌نژاد؛ مژده (۱۴۰۴). فعالیت آنزیم‌های وابسته به متابولیسم پروتئین، چربی، گوارش و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کیور معمولی تغذیه شده با مکمل معدنی تحت سیستم بیوفلاک. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۷۸ (۴)، ۳۳۰-۳۱۳. DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.400182.1465>



۱. مقدمه

انتظار می‌رود تقاضای جهانی برای غذای آبی یا blue food تا سال ۲۰۵۰ دو برابر شود و این امر نیاز به اتکای بیشتر به آبی‌پروری را ایجاد می‌کند. با این حال، مانند هر سیستم تولید مواد غذایی، آبی‌پروری با مجموعه‌ای از فرصت‌ها و چالش‌های خاص خود، به‌ویژه در مورد سلامت و پایداری همراه است (Rai *et al.*, 2025). برای اطمینان از آبی‌پروری پایدار، ترویج طیف متنوعی از محصولات غذایی وابسته به آبزیان و تشویق نوآوری و تسهیل همکاری در بخش‌های مختلف ضروری است (Taherpour *et al.*, 2023; Jafarzadeh *et al.*, 2024). برخی از نوآوری‌ها از جمله سیستم‌های کشاورزی عمودی، فناوری بیوفلاک و آبی‌پروری چرخشی که برای پرورش ماهی و سایر گونه‌های آبی در فضای محدود استفاده می‌شوند، مورد توجه قرار گرفته‌اند. بیوفلاک به‌عنوان راه‌حلی برای چالش‌های پیش‌روی آبی‌پروری سنتی، توجه را به خود جلب کرده است (Behera *et al.*, 2025).

فناوری‌های مدیریت آب و کاهش مصرف آن، مانند فناوری بیوفلاک می‌تواند به روشی موفق و پایدار برای بهبود استفاده از مناطق کم‌استفاده و زمین‌های کشاورزی غیرحاصلخیز منجر شود. مفهوم فناوری بیوفلاک از دهه ۱۹۷۰ به رسمیت شناخته شد. با این حال، تحقیقات قابل توجهی در مورد توسعه و کاربرد این فناوری از دهه ۱۹۹۰ انجام شد که نتایج امیدوارکننده‌ای به‌همراه داشت (Yadav *et al.*, 2025). سیستم بیوفلاک به‌عنوان یک جایگزین مناسب برای روش‌های سنتی آبی‌پروری، مانند سیستم‌های گسترده و نیمه‌متراکم که به‌طور معمول برای پرورش گونه‌های تجاری قابل توجه مانند تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) و میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) استفاده می‌شود، مورد توجه قرار گرفته است (Mugwanya *et al.*, 2021). تأمین منابع کربن که نسبت کربن به نیتروژن را به سطحی متعادل برساند تا بتواند رشد باکتری‌های هتروتروف را تقویت کند، اصل اساسی فناوری بیوفلاک است. فناوری بیوفلاک نوعی سیستم آبی‌پروری چرخشی نوآورانه است که جامعه‌ای متنوع از ریزجلبک‌های معلق، باکتری‌های اتوتروف و هتروتروف را با حداقل تعویض آب حفظ می‌کند. به نوبه خود، میکروب‌های موجود در توده یا لجن، ترکیبات سمی نیتروژنی مانند آمونیاک، نیتريت و نیترات را به زیست‌توده باکتریایی یا پروتئین میکروبی اکسید می‌کند (Sallam *et al.*, 2025). یک مزیت قابل توجه این سیستم عدم وجود تبادل آب است که منجر به کاهش قابل توجه در مصرف آب و جلوگیری از آسیب‌های زیست‌محیطی ناشی از تخلیه پساب می‌شود. انواع میکروارگانیسم‌ها و اجزای سلولی آنها به‌عنوان پروبیوتیک یا پست‌بیوتیک برای تقویت ایمنی ذاتی، تقویت شرایط آنتی‌اکسیدانی و بهبود مقاومت به بیماری در ارگانیسم‌های آبی مورد استفاده قرار گرفته است. بیوفلاک باعث پیشرفت رشد، بهبود تنظیم اسمزی و ایمن‌سازی در گونه‌های آبی می‌شوند. همچنین بر بلوغ جانوران آبی تأثیر مثبت می‌گذارد (Abiri *et al.*, 2022). بیشتر مطالعات انجام شده در مورد سیستم بیوفلاک در مورد ماهی تیلایپا است و مطالعات کمتری روی ماهیان کپور و به‌خصوص مکمل‌های معدنی انجام شده است. استفاده هم‌افزایی از منبع کربن در پرورش بیوفلاک کپور معمولی و تأثیر بر رشد و شاخص‌های سلامت آن مطالعه گردید (Rai *et al.*, 2025). در مطالعه آنها ترکیب شکر زرد و آرد برنج نسبت کربن به نیتروژن بهینه‌ای را فراهم کرد که منجر به افزایش کیفیت آب، بهبود عملکرد رشد و شاخص‌های ایمنی ماهی کپور شد. اثرات جایگزینی آرد ماهی با پودر بیوفلاک بر عملکرد رشد، متابولیسم مواد مغذی، پاسخ ایمنی و میکروبیوتای روده کپور معمولی توسط Wei و همکاران (۲۰۲۴) بررسی شد و به این نتیجه رسیدند که قابلیت هضم پروتئین و چربی در سیستم بیوفلاک کپور کمتر از گروه کنترل بود. در نهایت، جایگزینی ۴۰ درصد آرد بیوفلاک می‌تواند رشد، ایمنی و متابولیسم پروتئین کپور معمولی را بهبود بخشد، اما سطح جایگزینی بیش از آن می‌تواند رشد و سلامت هپاتوپانکراس را به‌خطر بیندازد. گنجاندن پودر بیوفلاک به‌عنوان منبع معدنی در جیره غذایی میگوی سفید غربی (*Penaeus vannamei*) پرورشی توسط Rosas و همکاران (۲۰۲۵) مطالعه شد. بیشترین غلظت مکمل معدنی (۲۰ درصد) توانست بالاترین رشد، بیشترین بقا و کمترین سطوح آمونیاک را به‌دست آورد. استفاده از جیره‌های حاوی مخمر ساکارومایسس سرویزیه در سیستم بیوفلاک سبب بهبود عملکرد رشد و کیفیت آب پرورش شد (Adineh *et al.*, 2024). از آنجا که، مکمل‌های معدنی در رژیم غذایی مورد نیاز هستند تا تمام نیازهای لازم برای اطمینان از عملکرد مناسب ماهی برآورده شود و از طرف دیگر، برخی از مواد معدنی مانند کلسیم، منیزیم، سدیم، پتاسیم، آهن و روی می‌توانند از آب جذب شوند ولی برخی دیگر را می‌توان از طریق باروری آب پرورش به‌دست آورد، اما عموماً نیازهای موجودات تولیدکننده را برآورده نمی‌کنند. بنابراین، هدف اصلی از این مطالعه، استفاده از سیستم بیوفلاک برای ارزیابی اثرات مکمل معدنی بر عملکرد متابولیسم پروتئین، متابولیسم چربی، ایمنی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در پرورش کپور معمولی بود.

۲. روش‌شناسی پژوهش

۲-۱. طراحی آزمایش

آزمایش در مرکز تحقیقات تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز به مدت ۶۰ روز انجام گردید. در مجموع ۳۶۰ ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با میانگین وزنی $7/91 \pm 0/51$ گرم، از یک مزرعه محلی در اهواز خریداری شدند. ماهی‌ها به صورت تصادفی در ۱۸ مخزن استوانه‌ای فایبرگلاس و براساس طرح کاملاً تصادفی (CRD)^۱ قرار داده شدند. هر مخزن با قطر ۰/۶ متر، ارتفاع ۰/۳ متر و حجم مؤثر ۷۰ لیتر، به یکی از چهار تیمار حاوی مکمل‌های معدنی (جدول ۱) در سیستم بیوفلاک MTB10، MTB15، MTB20 و MTB25 شامل گروه کنترل (C) و یک گروه کنترل بیوفلاک (BC)، با سه تکرار و با تراکم ۲۰ ماهی در هر مخزن، اختصاص داده شد. مخلوط معدنی (شرکت دانش بنیان پارس، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز) از نمک‌هایی حاوی کلسیم (۲۰ گرم)، فسفر (۱۳/۲ گرم)، منیزیم (۳/۲ گرم)، پتاسیم (۷/۲۷ گرم)، آهن (۰/۶۴ گرم)، منگنز (۰/۰۹ گرم)، روی (۰/۰۶ گرم)، سلنیوم (۰/۰۱۵ گرم)، کروم (۰/۰۲ گرم) و مس (۰/۰۲ گرم) به‌ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بیوفلاک تهیه شد. در طول ۱۴ روز، ماهی‌ها با شرایط آزمایش سازگار شدند و سه بار در روز در ساعات ۸:۰۰، ۱۲:۰۰ و ۱۶:۰۰ با یک رژیم غذایی تجاری (شرکت فردانه، شهرکرد، ایران) تغذیه شدند که معادل ۳ درصد زیست‌توده آنها بود. از نظر ترکیب تغذیه‌ای، جیره غذایی حاوی ۳۸ درصد پروتئین خام، ۷ درصد چربی خام، ۵ درصد فیبر خام، ۹ درصد خاکستر و ۱/۲۵ درصد فسفر بود. در مخازن تصفیه بیوفلاک، تغذیه براساس وزن بدن تنظیم شد: ۵ درصد برای روزهای ۱ تا ۱۵، ۴ درصد برای روزهای ۱۶ تا ۳۰ و ۳ درصد پس از آن. گروه کنترل در طول آزمایش به‌میزان ۵ درصد وزن بدن تغذیه شد. غلظت عناصر معدنی در آب یعنی پتاسیم ۸/۱۷ میلی‌گرم، فسفات ۰/۱۰ میلی‌گرم، سدیم ۱۳۹/۵۸ میلی‌گرم، کلسیم ۱۰۵ میلی‌گرم، منیزیم ۲۶/۱۴ میلی‌گرم در لیتر و pH در حدود ۷/۷۹، قلیائیت ۱۲۹ میلی‌گرم و سختی کل ۱۸۲۶ میلی‌گرم در لیتر بود.

۲-۲. آماده‌سازی بیوفلاک

تلقیح بیوفلاک به‌طور جداگانه برای هر مخزن مورد استفاده برای تیمار کنترل و کنترل بیوفلاک انجام شد. غلظت کل نیتروژن آمونیاکی پس از انتقال ۱۰۰ لیتر آب خروجی از مخزن پرورش ماهی در مرحله سازگاری به یک مخزن مخروطی به‌منظور ایجاد ذخیره میکروبی بیوفلاک اندازه‌گیری شد. برای تحریک رشد بیوفلاک، هر روز پس از وزن کردن و ترکیب با آب، شکر به‌عنوان منبع کربن اضافه شد. تولید بیوفلاک با جذب سریع شکر توسط باکتری‌ها تسریع شد (Hargreaves, 2013). نسبت کربن به نیتروژن (C:N) طبق پروتکل (Crab *et al.*, 2012) در ۱۵:۱ حفظ شد. هنگامی که کل جامدات معلق به ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر رسید و سطح نیتروژن آمونیاکی نزدیک به کمتر از ۰/۰۰۰ نزدیک شد، هوادهی متوقف شد. میزان تعویض آب در تیمارهای بیوفلاک ۵-۲ درصد و تیمارهای شاهد ۱۰۰-۵۰ درصد در روز انجام شد. سپس مخازن بیوفلاک با ۲۰۰ میلی‌لیتر بر لیتر از فلاک‌های میکروبی تلقیح شدند (Najdegerami *et al.*, 2016). کشت مجدد با استفاده از ۱ لیتر از مایه تلقیح شده با صفر گرم، ۱۰ گرم، ۱۵ گرم، ۲۰ گرم و ۲۵ گرم از مخلوط مواد معدنی برای تیمارهای مربوطه: BC، MTB10، MTB15، MTB20 و MTB25 انجام شد. مخلوط قبل از اضافه شدن به مایه تلقیح، به مدت ۲۴ ساعت هوادهی شد. ذخیره کردن ماهی پس از رسیدن حجم تلقیح به ۵ میلی‌لیتر در لیتر آغاز شد. فرمولاسیون براساس مطالعات قبلی بود (Dawood *et al.*, 2020; Musharraf and Khan, 2021). هر سه روز یکبار تعویض آب در مخزن کنترل انجام شد. یک واحد مرکزی که به یک پمپ هوای ۱۵۰ وات (Hiblow HP 200) با ظرفیت خروجی ۲۰۰ لیتر در دقیقه متصل بود، هوادهی را فراهم کرد. در طول مدت آزمایش، گروه‌های تیمار و کنترل بیوفلاک به‌عنوان سیستم‌های بدون تخلیه عمل کردند. شاخص‌های کیفیت آب حاوی بیوفلاک تلقیح شده قبل از افزودن آن به مخازن کشت ارزیابی شد (جدول ۱). در شرایط بدون تخلیه، هیچ تعویض آبی وجود نداشت، اما اتلاف آب از طریق تبخیر جبران شد. سختی، قلیائیت، کدورت، کلسیم، منیزیم، سدیم، فسفات و پتاسیم هر پنج روز یکبار اندازه‌گیری شدند، در حالی که دما، pH، اکسیژن محلول (DO)، نیتروژن کل آمونیاکی (TAN)، نیترات-نیتروژن (نترات-N) و نیتريت-نیتروژن (نیتريت-N) هر سه روز یکبار اندازه‌گیری شدند. میزان

^۱ Complete Random Design

حجم فلاک (FV)، کل جامدات محلول (TDS) و کل جامدات معلق (TSS) هر پنج روز یکبار اندازه‌گیری شدند. مطابق با پروتکل استاندارد، TSS اندازه‌گیری شد (APHA, 1926). نمونه‌های آب جمع‌آوری شده از سیستم بیوفلاک به مدت ۱۵ دقیقه ته‌نشین شد و حجم فلاک حاصل با استفاده از یک مخروط ایمهوف برای محاسبه حجم فلاک اندازه‌گیری شد (V et al., 2024). TDS با ماژول حسگر TOA DKK WMS-24-1-10 (ژاپن) اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- شاخص‌های کیفیت آب در سیستم‌های بیوفلاک مورد مطالعه

شاخص‌ها	BC	MTB10	MTB15	MTB20	MTB25
pH	۷/۷۹	۷/۷۹	۷/۸۱	۷/۷۸	۷/۸۶
دما (درجه سانتی‌گراد)	۲۷/۳	۲۷/۱	۲۶/۷۳	۲۷/۳	۲۶/۴۹
اکسیژن محلول (میلی‌گرم بر لیتر)	۶/۵	۶/۵	۶/۵	۶/۵	۶/۵
آمونیاک (میلی‌گرم بر لیتر)	۰/۸۴	۰/۸۲	۰/۸۵	۰/۹۷	۰/۸۷
نیتريت (میلی‌گرم بر لیتر)	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۰۳	۰/۰۳۰
نیتروژن آمونیاکی کل (میلی‌گرم بر لیتر)	۰/۱۴	۰/۱۳	۰/۱۵	۰/۱۴	۰/۱۵
حجم فلاک (میلی‌لیتر بر لیتر)	۳/۳	۳/۵	۳/۲	۳/۳	۳/۳
میزان کل مواد جامد محلول (میلی‌گرم بر لیتر)	۹/۴	۹/۵	۹/۳	۹/۹	۹/۸
میزان مواد جامد معلق (میلی‌گرم بر لیتر)	۱۳۳/۱۱	۱۳۸/۲۱	۱۳۲/۱۸	۱۲۹/۱۵	۱۲۷/۹۸
کدورت (NTU)	۳۶/۱	۳۸/۲	۳۸/۳	۴۰/۴	۴۲/۶
قلیائیت (میلی‌گرم بر لیتر)	۱۳۱/۲۱	۱۲۹/۸۹	۱۳۵/۵	۱۳۲/۲۵	۱۳۶/۵۸
سختی (میلی‌گرم بر لیتر)	۱۸۵۷/۱۱	۱۸۶۹/۱۸	۱۸۴۵/۲۲	۱۸۵۴/۳۶	۱۸۶۹/۳
کلسیم (میلی‌گرم بر لیتر)	۱۱۲/۳	۱۵۲/۹۸	۱۸۶/۳۵	۲۱۱/۲۱	۲۴۷/۳۶
منیزیم (میلی‌گرم بر لیتر)	۲۶/۱۴	۲۹/۱۸	۳۵/۱۹	۴۱/۱۸	۵۰/۱۰
فسفات (میلی‌گرم بر لیتر)	۰/۱۰	۰/۱۵	۰/۲۱	۰/۲۸	۰/۳۲
پتاسیم (میلی‌گرم بر لیتر)	۸/۱۸	۸/۷۸	۹/۲۵	۹/۸۲	۱۰/۱۹
سدیم (میلی‌گرم بر لیتر)	۱۳۹/۵۸	۱۴۵/۲۸	۱۵۰/۳۵	۱۵۹/۶۶	۱۶۸/۳۹

۲-۳. اندازه‌گیری ترکیب لاشه

ترکیبات لاشه ماهیان تیمارهای مختلف شامل رطوبت (AOAC 930.15)، پروتئین خام (AOAC 990.03)، چربی خام (AOAC 2003.05)، فیبر (شوینده اسیدی از طریق ANKOM) و خاکستر (AOAC 942.05) همگی برحسب وزن خشک تعیین شدند. بدین ترتیب که در پایان آزمایش، ماهی‌های زنده (۱۰ ماهی زنده در هر تیمار) طبق روش AOAC (۲۰۰۵) معدوم شدند و سپس ماده خشک با اختلاف وزن نمونه (۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد) در آون با چرخش هوا و به‌دنبال آن ۸ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. ماده معدنی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. میزان پروتئین خام با ضرب کردن میزان نیتروژن نمونه‌ها در ضریب تبدیل ۶/۲۵ با استفاده از روش میکروکجلدال محاسبه شد (Kjeldahl, 1883). محتوی لیپید با استفاده از روش پیشنهادی Bligh و Dyer (۱۹۵۹) به‌دست آمد.

۲-۴. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های هپاتوپانکراس

میزان فعالیت آنزیم لیباز با استفاده از روش Cherry و Crandall Jr (۱۹۳۲) اندازه‌گیری شد. مقدار هیدروکسید سدیم مورد نیاز برای ثابت نگه‌داشتن pH به‌عنوان معیاری برای مقدار اسید چرب تولید شده توسط آنزیم در نظر گرفته شد. مخلوط واکنش شامل مخلوط هموزن شده بافت، آب مقطر، بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷) و امولسیون روغن زیتون بود. این ترکیب به‌مدت بیست و

چهار ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه‌گذاری شد. پس از انکوباسیون، معرف فنل‌فتالین و الکل ۹۵ درصد اضافه شد و از هیدروکسید سدیم با نسبت N/20 برای تیتراسیون مخلوط تا زمانی که رنگ صورتی پایدار ظاهر شد، استفاده گردید. فعالیت آنزیم پروتئاز با استفاده از روش هضم کازئین طبق دستورالعمل Drapeau (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل مخلوط بافت روده و ۱ درصد کازئین در بافر تری فسفات ۰/۰۵ مولار (pH=۷/۸) بود که به مدت پنج دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه‌گذاری شد. پس از ده دقیقه، واکنش با اضافه کردن ۱۰ درصد TCA متوقف شد. سپس مخلوط فیلتر و جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر تعیین شد. با استفاده از منحنی استاندارد تیروزین، فعالیت پروتئاز اندازه‌گیری و به صورت میکرومول تیروزین آزاد شده در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گزارش گردید. میزان آمیلاز با استفاده از روش ۳،۵-دی نیتروسالیسیلیک اسید و طبق روشی که توسط Rick و Stegbauer (۱۹۷۴) شرح داده شده است، تعیین گردید. این روش قندهای کاهشی تولید شده توسط عمل گلوکوامیلاز و α -آمیلاز روی کربوهیدرات‌ها را اندازه‌گیری می‌کند. مخلوط واکنش شامل مخلوط همژن بافت روده، محلول ۱ درصد (وزنی/حجمی) نشاسته و بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=7.0) بود. این مخلوط به مدت سی دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه‌گذاری و پس از آن، DNS اضافه و مخلوط به مدت پنج دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. پس از خنک شدن محلول، با آب مقطر رقیق و از اسپکتروفوتومتر برای تشخیص جذب آن در طول موج ۵۴۰ نانومتر استفاده شد. معیار مورد استفاده مالتوز بود. تعداد مول‌های مالتوز آزاد شده از نشاسته در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، تعریف یک واحد فعالیت آمیلاز بود.

۲-۵. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های وابسته به متابولیسم پروتئین

فعالیت آنزیم‌های آمینوترانس فرازاسپاراتات (AST) و آمینوترانس فرازالانین (ALT) طبق روش Wooten (۱۹۶۴) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. فعالیت AST به صورت نانومول اگزالواستات تشکیل شده در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بیان شد. در حالی که فعالیت ALT به صورت نانومول پیرووات تشکیل شده در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گزارش شد.

۲-۶. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های وابسته به متابولیسم چربی

آدیپوزتری گلیسریدلیپاز (ATGL)، کارنیتین پالمیتوئیل ترانسفراز-۱ (CPT-1)، استیل کوآکربوکسیلاز (ACC) و اسید چرب سنتاز (FAS) با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شدند. در یک فالکن مخلوطی حاوی ۰/۳۳ میلی‌مولار تری‌ولئین، ۰/۴۵ میلی‌مولار فسفاتیدیل کولین/فسفاتیدیل اینوزیتول (۳:۱) و ۰/۵ درصد آلبومین سرم گاوی بدون چربی تهیه و نمونه‌های کبد ماهیان هر تیمار به آن اضافه گردید. غلظت مخلوط به ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تنظیم شد. برای واکنش، ۱۰۰ میکرولیتر سوپسترا به ۱۰۰ میکرولیتر نمونه اضافه شد و واکنش به ترتیب در pH ۳ تا ۱۱ (۲۵ درجه سانتی‌گراد) و ۱۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد (pH=۷) به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. واکنش با اضافه کردن ۳/۲۵ میلی‌لیتر متانول/کلروفرم/هپتان (۱۰:۹:۷) و ۱ میلی‌لیتر کرینات پتاسیم ۰/۱ مولار، اسید بوریک ۰/۱ مولار (pH=۱۰/۵) خاتمه یافت. در نهایت، سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰ گرم به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد و محلول رویی برای فعالیت آنزیم‌ها در نظر گرفته شد و با استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتر در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Wei et al., 2024).

۲-۷. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAD)، مالون دی‌آلدئید (MDA) و گلوتاتیون پراکسیداز (GSH) با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شدند. به همین منظور در پایان دوره آزمایش و قطع غذایی به مدت ۲۴ ساعت، از هر تیمار به صورت کاملاً تصادفی ۴ ماهی انتخاب و پس از بیهوشی با گل میخک به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و قطع نخاع، کالبدگشایی در مجاورت یخ انجام و بخش کبد ماهیان با احتیاط جدا گردید. مخلوطی از بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار، کلرید پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار و EDTA یک میلی‌مولار با نسبت (۱:۱۰) حجم به وزن تهیه و نمونه کبدها در مخلوط در pH خنثی همگن شدند.

نمونه همگن شده به مدت نیم ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت یا مایع رویی جهت سنجش فعالیت آنزیم‌ها انتخاب شد. فعالیت SOD در طول موج ۵۵۰ نانومتر، GSH در طول موج ۴۱۲ نانومتر، MDA در طول موج ۵۳۵ نانومتر و کاتالاز در طول موج ۴۰۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتر ساخت کشور آمریکا (مدل ۲۱۰۰) اندازه‌گیری گردید (Wei et al., 2024).

۲-۸. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری IBM SPSS نسخه ۲۷ تجزیه و تحلیل شدند. ابتدا، نرمال بودن و همگنی داده‌ها بررسی شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) انجام شد و تفاوت‌های معنی‌دار بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای توکی محاسبه شد. سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین‌ها (SE) نشان داده شدند.

۳. یافته‌های پژوهش

شاخص‌های کیفیت آب ثبت شده در طول دوره آزمایش در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهد که شاخص‌های خارج از محدوده بهینه به تدریج با پیشرفت پرورش اصلاح شدند. هیچ تفاوت معنی‌داری در دما بین گروه‌های آزمایش مشاهده نشد ($P > 0.05$). گروه کنترل کمترین مقادیر pH و اکسیژن محلول (DO) و همچنین کمترین غلظت نیترات (NO_3) و نیتريت (NO_2) را نشان داد، در حالی که بالاترین مقادیر برای این شاخص‌ها در گروه‌های MTB3 و MTB4 یافت شد. روند مشابهی برای نیتروژن کل آمونیاک (TAN) مشاهده شد. سطح کدورت در گروه‌های آزمایش و کنترل بیوفلاک (BC) در مقایسه با گروه کنترل به طور قابل توجهی بالاتر بود ($P < 0.05$). علاوه بر این، سطح کلیاتیت و سختی در گروه‌های آزمایش افزایش قابل توجهی نسبت به گروه‌های کنترل و BC نشان داد ($P < 0.05$). گروه‌های MTB3 و MTB4 بالاترین غلظت یون‌های کلسیم، منیزیم، فسفات، پتاسیم و سدیم را ثبت کردند که به طور قابل توجهی بیشتر از سایر گروه‌های آزمایش بود ($P < 0.05$).

جدول ۲- شاخص‌های کیفیت آب در گروه‌های آزمایشی مختلف طی مطالعه

شاخص‌ها	C	BC	MTB1	MTB2	MTB3	MTB4
pH	7.51 ± 0.02^a	7.78 ± 0.01^b	7.78 ± 0.01^b	7.78 ± 0.01^b	7.79 ± 0.01^b	7.83 ± 0.02^b
دما (درجه سانتی‌گراد)	26.9 ± 0.03	27.2 ± 0.01	26.9 ± 0.02	27.1 ± 0.02	27.2 ± 0.02	26.8 ± 0.03
اکسیژن محلول (میلی‌گرم بر لیتر)	5.61 ± 0.01^a	6.67 ± 0.03^b	6.65 ± 0.03^b	6.66 ± 0.01^b	6.66 ± 0.02^b	6.67 ± 0.04^b
نیترات (میلی‌گرم بر لیتر)	1.15 ± 0.02^a	2.11 ± 0.01^b	2.89 ± 0.01^c	2.89 ± 0.01^c	2.87 ± 0.01^c	2.90 ± 0.04^c
نیتريت (میلی‌گرم بر لیتر)	0.12 ± 0.01^a	0.19 ± 0.01^b	0.33 ± 0.01^c	0.18 ± 0.01^b	0.26 ± 0.01^c	0.25 ± 0.01^c
نیتروژن آمونیاکی کل (میلی‌گرم بر لیتر)	0.40 ± 0.03^a	0.56 ± 0.05^a	0.68 ± 0.03^c	0.74 ± 0.03^d	0.65 ± 0.06^c	0.66 ± 0.04^c
کدورت (NTU)	25.12 ± 1.10^a	38.28 ± 2.17^b	42.50 ± 1.14^c	48.17 ± 1.03^d	52.11 ± 1.19^{de}	55.15 ± 2.10^e
کلیاتیت (میلی‌گرم بر لیتر)	135.2 ± 4.36^a	138.4 ± 3.66^a	157.1 ± 2.25^b	155.9 ± 3.11^b	156.6 ± 2.3^b	158.1 ± 2.54^b
سختی (میلی‌گرم بر لیتر)	185.01 ± 1.018^a	185.01 ± 1.018^a	2125.3 ± 5.66^b	2119.1 ± 8.10^b	2122.1 ± 7.15^b	2125.1 ± 9.28^b
کلسیم (میلی‌گرم بر لیتر)	10.23 ± 2.37^a	11.94 ± 2.21^b	15.5 ± 2.21^c	16.32 ± 2.15^d	16.51 ± 3.21^d	19.6 ± 2.33^e
منیزیم (میلی‌گرم بر لیتر)	25.2 ± 1.00^a	26.11 ± 1.9^a	33.14 ± 2.11^b	39.16 ± 1.23^c	45.28 ± 2.04^d	49.66 ± 1.70^e
فسفات (میلی‌گرم بر لیتر)	0.09 ± 0.01^a	0.10 ± 0.01^a	0.14 ± 0.01^b	0.17 ± 0.01^c	0.22 ± 0.01^d	0.27 ± 0.01^e
پتاسیم (میلی‌گرم بر لیتر)	8.10 ± 0.12^a	8.21 ± 0.14^a	8.52 ± 0.10^b	8.55 ± 0.41^b	9.28 ± 0.61^c	9.98 ± 0.33^d
سدیم (میلی‌گرم بر لیتر)	139.1 ± 1.66^a	139.4 ± 1.25^a	141.7 ± 1.10^b	142.3 ± 1.18^b	159.3 ± 1.15^c	168.1 ± 1.33^d

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایش است ($P < 0.05$).

جدول ۳- میزان حجم، شاخص‌های فلاک و میزان باکتری‌های کل در گروه‌های آزمایشی مختلف در دوره مطالعه

شاخص‌ها	C	BC	MTB1	MTB2	MTB3	MTB4
مواد جامد محلول کل (گرم بر لیتر)	۸/۳۱ ± ۰/۰۱ ^a	۹/۲۹ ± ۰/۰۳ ^b	۹/۵۲ ± ۰/۰۲ ^c	۹/۸۲ ± ۰/۰۴ ^d	۱۰/۲۵ ± ۰/۰۷ ^e	۱۰/۲۸ ± ۰/۰۵ ^e
مواد جامد کل (گرم بر لیتر)	۱۰/۷ ± ۰/۰۶ ^a	۱۲/۱۰ ± ۰/۰۶ ^b	۱۲/۲۹ ± ۰/۰۹ ^b	۱۵/۲۵ ± ۰/۰۲ ^c	۱۵/۶۹ ± ۰/۰۳ ^d	۱۵/۷۱ ± ۰/۰۸ ^d
مواد جامد معلق کل (میلی‌گرم بر لیتر)	۳۴/۶۰ ± ۲/۲۱ ^a	۲۵/۲۳ ± ۵/۴۴ ^c	۲۹۹/۶ ± ۳/۶۵ ^c	۳۱۸/۹ ± ۲/۱۵ ^d	۳۵۹/۷۱ ± ۱/۹۲ ^e	۳۶۳/۱ ± ۱/۳۵ ^e
حجم فلاک (میلی‌لیتر بر لیتر)	-	۲۵/۳۶ ± ۱/۰۱ ^a	۲۷/۷۰ ± ۱/۱۱ ^b	۲۷/۸۷ ± ۱/۰۹ ^b	۲۵/۴۱ ± ۱/۰۱ ^a	۲۵/۳۷ ± ۱/۱۳ ^a
میزان باکتری کل	۳/۳۹ ± ۰/۰۲ ^c	۳/۶۰ ± ۰/۰۸ ^c	۴/۵۶ ± ۰/۲۶ ^b	۵/۴۰ ± ۰/۱۱ ^b	۵/۵۸ ± ۰/۱۵ ^a	۴/۷۷ ± ۰/۰۵ ^{ab}

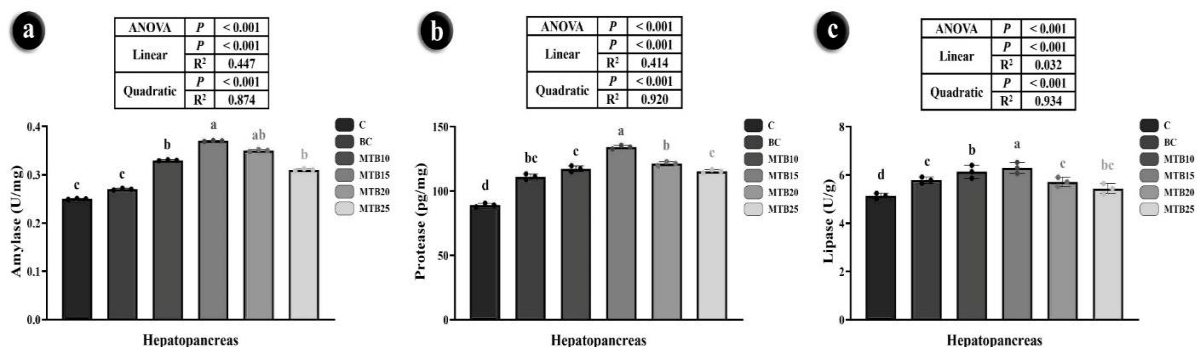
حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارهای آزمایشی است ($P < 0.05$).

در فلاک‌های مورد مطالعه، مقادیر کل جامدات محلول (TDS)، کل جامدات (TS) و کل جامدات معلق (TSS) در گروه‌های MTB4 و MTB3 بیشترین افزایش را در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی نشان دادند ($P < 0.05$) (جدول ۳). برعکس، حجم فلاک در گروه‌های MTB1 و MTB2 بیشترین مقدار را داشت و تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل بیوفلاک (BC) و گروه‌های MTB3 و MTB4 نشان داد ($P < 0.05$) (جدول ۳). سیستم‌های بیوفلاک با مکمل‌های متفاوت، تعداد باکتری‌های متفاوتی را در بین تیمارها ایجاد کردند ($P < 0.05$). بالاترین میزان باکتری‌های کل در تیمار MTB4 در پایان مطالعه ثبت شد و پس از آن MTB3 و MTB1 قرار گرفتند. سیستم بیوفلاک گروه کنترل و BC کمترین تعداد باکتری را در بین همه تیمارها نشان دادند ($P < 0.05$). ترکیب تقریبی لاشه ماهیان بیوفلاک در انتهای دوره در تیمارهای مختلف در جدول ۴ ارائه شده است. بیشترین میزان پروتئین در تیمار ۱۵ گرم مواد معدنی یا MTB15 به میزان ۱۷/۴۵ درصد مشاهده شد که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P < 0.05$). تفاوت معنی‌دار آماری بین میزان رطوبت در تیمارهای مختلف بیوفلاک مشاهده نشد ($P > 0.05$). بیشترین میزان خاکستر در تیمار MTB25 به میزان ۱/۲۹ درصد مشاهده شد. بیشترین میزان چربی در تیمار MTB15 ۱/۴۵ درصد اندازه‌گیری شد که با تیمارهای C، CB و MTB10 تفاوت معنی‌دار آماری داشت ($P < 0.05$).

جدول ۴- ترکیب لاشه کپور معمولی در گروه‌های کنترل (C)، کنترل بیوفلاک (BC) و در گروه‌های مکمل معدنی (MTB10 (۱۰ گرم)، MTB15 (۱۵ گرم)، MTB20 (۲۰ گرم) و MTB25 (۲۵ گرم)) طی یک دوره ارزیابی ۶۰ روزه

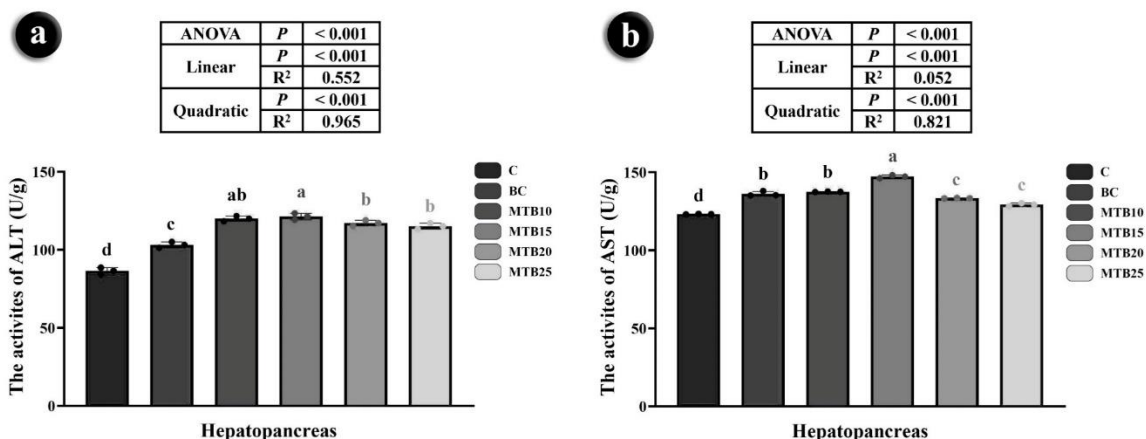
شاخص‌ها (درصد)	C	BC	MTB10	MTB15	MTB20	MTB25
رطوبت	۷۶/۵۶ ± ۱/۲۸	۷۷/۷۰ ± ۱/۳۴	۷۸/۳۵ ± ۱/۴۳	۷۸/۵۵ ± ۱/۴۵	۷۸/۵۱ ± ۱/۳۷	۷۸/۷۵ ± ۱/۳۳
پروتئین	۱۷/۱۳ ± ۰/۳۳ ^c	۱۷/۱۹ ± ۰/۳۱ ^{ab}	۱۷/۳۱ ± ۰/۲۱ ^b	۱۷/۴۵ ± ۰/۲۳ ^a	۱۷/۲۷ ± ۰/۲۱ ^b	۱۷/۲۹ ± ۰/۳۳ ^b
چربی	۱/۳۳ ± ۰/۰۱ ^b	۱/۳۷ ± ۰/۰۲ ^b	۱/۳۵ ± ۰/۰۱ ^b	۱/۴۱ ± ۰/۰۲ ^a	۱/۴۲ ± ۰/۰۴ ^{ab}	۱/۴۳ ± ۰/۰۱ ^{ab}
خاکستر	۱/۱۵ ± ۰/۰۲ ^b	۱/۱۹ ± ۰/۰۳ ^{bc}	۱/۲۳ ± ۰/۰۱ ^b	۱/۲۵ ± ۰/۰۱ ^b	۱/۲۳ ± ۰/۰۳ ^b	۱/۲۹ ± ۰/۰۲ ^a

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارهای آزمایشی است ($p < 0.05$).



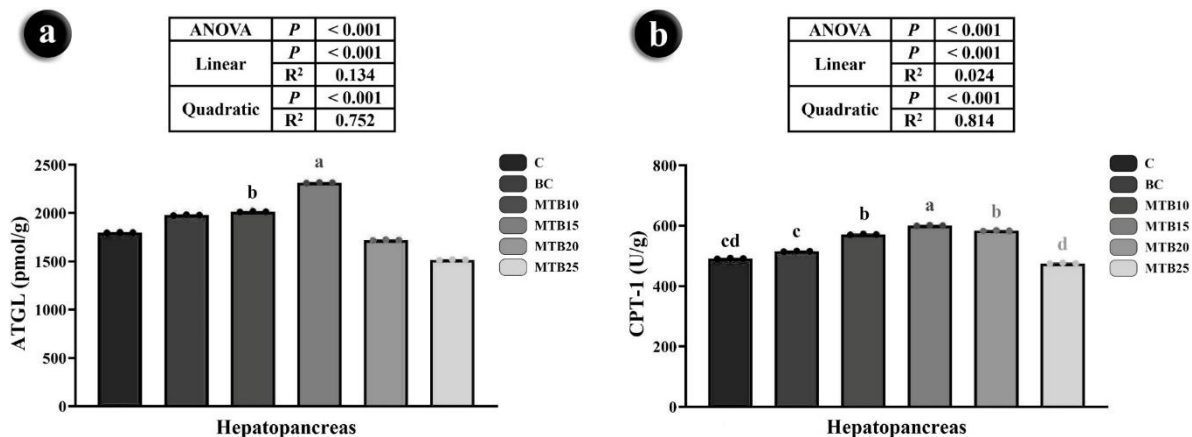
شکل ۱- نمودارهای فعالیت‌های آنزیم‌های گوارشی کپور معمولی در گروه‌های کنترل (C)، کنترل بیوفلاک (BC) و در گروه‌های مکمل مواد معدنی (MTB10 (۱۰ گرم)، MTB15 (۱۵ گرم)، MTB20 (۲۰ گرم) و MTB25 (۲۵ گرم)) طی یک دوره ارزیابی ۶۰ روزه

نتایج فعالیت آنزیم‌های هپاتوپانکراس ماهیان کپور معمولی تیمار شده در سیستم بیوفلاک طی ۶۰ روز دوره پرورش در شکل ۱ ارائه شده است. با افزایش میزان مکمل افزایش فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، پروتئاز و لیپاز مشاهده شد و سپس کاهش یافت. بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در تیمار ۱۵ گرم مکمل یا MTB15 بود که تفاوت معنی‌دار آماری با سایر تیمارها داشت ($P < 0.05$).

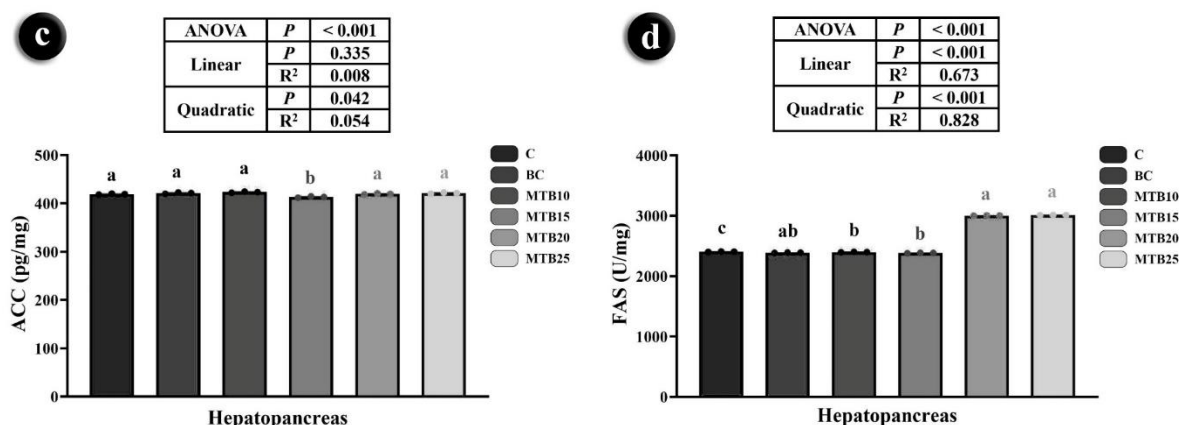


شکل ۲ - نمودارهای فعالیت آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم پروتئین هپاتوپانکراس کپور معمولی در گروه‌های کنترل (C)، کنترل بیوفلاک (BC) و در گروه‌های مکمل مواد معدنی MTB10 (۱۰ گرم)، MTB15 (۱۵ گرم)، MTB20 (۲۰ گرم) و MTB25 (۲۵ گرم) طی یک دوره ارزیابی ۶۰ روزه. AST: اسپاراتات آمینوترانسفراز و ALT: آلانین آمینوترانسفراز. همه داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد از سه تکرار نشان داده شده‌اند. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P < 0.05$).

میزان فعالیت آنزیم ALT و AST وابسته به متابولیسم پروتئین در ماهیان تیمار شده با مکمل معدنی تحت سیستم بیوفلاک مربوط به ۶ تیمار مطالعه در شکل ۲ ارائه شده است. فعالیت‌های ALT و AST هپاتوپانکراس با افزایش میزان مکمل، روند خطی و درجه دوم معنی‌داری را نشان دادند ($P < 0.05$)، که در گروه MBT15 به حداکثر مقدار خود و در گروه کنترل (C) به حداقل مقدار خود رسیدند. در مقایسه با گروه CB، فعالیت‌های ALT و AST هپاتوپانکراس در گروه‌های MTB20 و MTB25 به‌طور قابل توجهی کاهش یافت، اما در گروه MTB15 افزایش یافته بود ($P < 0.05$).

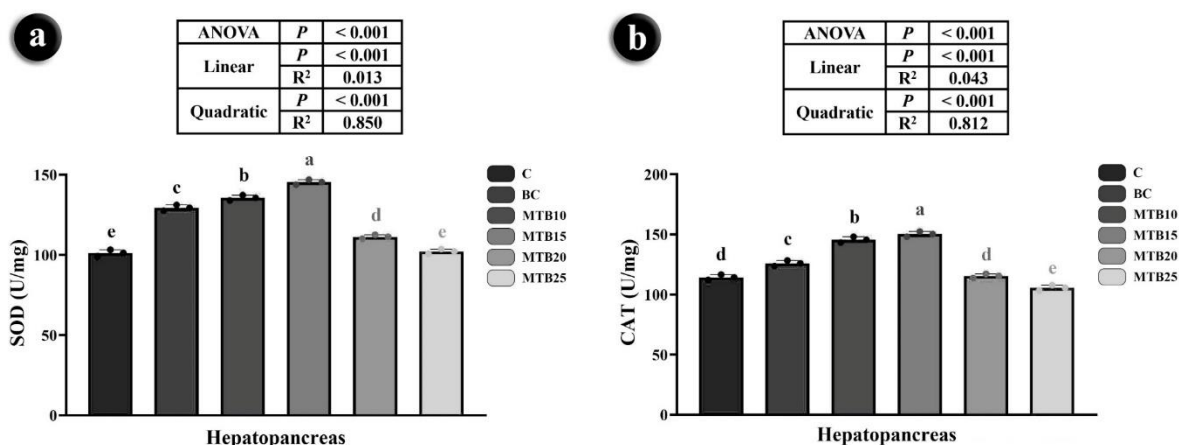


شکل ۳ - نمودارهای فعالیت آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم لیپید هپاتوپانکراس کپور معمولی در کنترل (C)، کنترل بیوفلاک (BC) و در گروه‌های مکمل مواد معدنی MTB10 (۱۰ گرم)، MTB15 (۱۵ گرم)، MTB20 (۲۰ گرم) و MTB25 (۲۵ گرم) طی یک دوره ارزیابی ۶۰ روزه. ATGL استیل CoA-کربوکسیلاز؛ CPT-1 کارنیتین پالمیتویل ترانسفراز-۱؛ ACC استیل CoA-کربوکسیلاز؛ FAS سنتز اسید چرب.

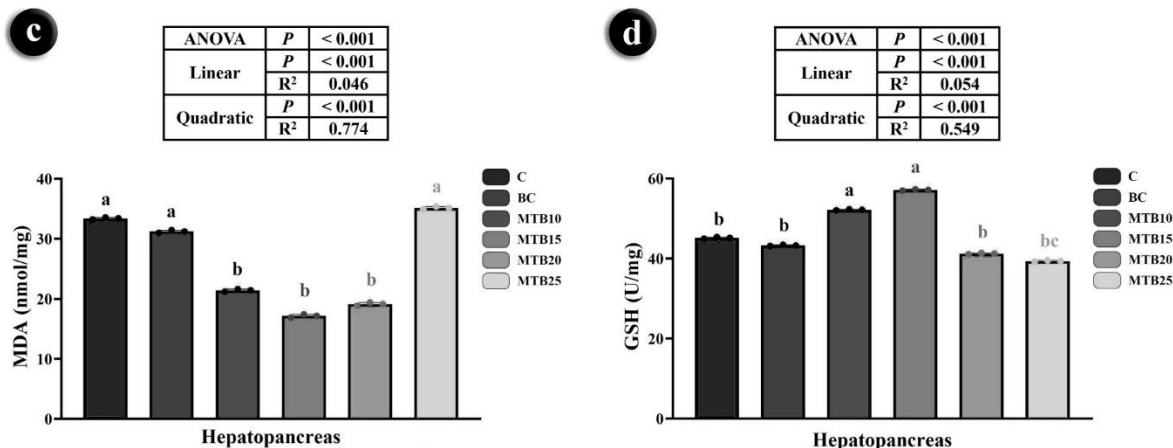


ادامه شکل ۳

شکل ۳ میزان فعالیت آنزیم‌های وابسته به چربی در نمونه ماهیان کپور مطالعه شده در تیمارهای مختلف تحت سیستم بیوفلاک را نشان می‌دهد. فعالیت‌های FAS و ACC هیپاتوپانکراس روند درجه دوم معنی‌داری از کاهش و سپس با افزایش سطح مکمل میزان آنها افزایش پیدا کرد ($P < 0.05$)، که حداقل مقدار آنها در تیمار MTB10 و حداکثر در گروه MTB20 بود. فعالیت‌های ATGL و CPT-1 هیپاتوپانکراس روند درجه دوم معنی‌داری از افزایش و سپس کاهش با افزایش میزان مکمل را نشان دادند ($P < 0.05$). فعالیت FAS در گروه MTB25 به‌طور قابل توجهی بالاتر از گروه C و CB بود ($P < 0.05$). در مقایسه با گروه کنترل، فعالیت‌های ATGL و CPT-1 در گروه MTB20 افزایش یافت، در حالی که فعالیت‌های ATGL و CPT-1 در گروه MTB25 به‌طور قابل توجهی کاهش یافت ($P < 0.05$). فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT، GSH در هیپاتوپانکراس ماهیان تحت سیستم‌های مختلف بیوفلاک، با افزایش میزان مکمل، روند درجه دوم قابل توجهی را نشان داد ($P < 0.05$) (شکل ۴) و در گروه MTB20 به‌حداکثر خود رسید. محتوای MDA روند درجه دوم قابل توجهی را نشان داد که با افزایش میزان مکمل، کاهش و سپس افزایش یافت ($P < 0.05$). در مقایسه با گروه‌های کنترل، فعالیت‌های CAT، GSH و SOD به‌طور قابل توجهی افزایش یافت. میزان MDA در گروه MTB20 کاهش یافت ($P < 0.05$). فعالیت SOD در گروه MTB25 کمتر از گروه‌های C و CB بود.



شکل ۴- نمودارهای فعالیت آنزیم‌های وابسته به آنتی‌اکسیدانی کپور معمولی در کنترل (C)، کنترل بیوفلاک (BC) و در گروه‌های مکمل مواد معدنی MTB10 (۱۰ گرم)، MTB15 (۱۵ گرم)، MTB20 (۲۰ گرم) و MTB25 (۲۵ گرم) طی یک دوره ارزیابی ۶۰ روزه.
 CAT: کاتالاز، SOD: سوپراکسید دیسموتاز، MDA: مالون دی‌آلدئید، GSH: گلوتاتیون پراکسیداز.
 تمام داده‌ها به‌صورت میانگین \pm خطای استاندارد سه تکرار نشان داده شده‌اند. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P < 0.05$).



ادامه شکل ۴

۴. بحث و نتیجه‌گیری نهایی

در این مطالعه، شاخص‌های فیزیولوژیکی آب مانند دما، pH، DO، TSS، TAN، نیتريت-N و نیترات-N در محدوده مناسب برای پرورش ماهی قرار گرفتند (جدول ۲). مطالعات قبلی نشان داد که ۴ میلی‌گرم در لیتر باید حداقل غلظت اکسیژن محلول برای پرورش ماهیان کپور در سیستم بیوفلاک باشد (Avnimelech, 2011) و میزان بهینه آن ۸-۶ میلی‌گرم بر لیتر است (Rai *et al.*, 2025). در مطالعه حاضر، DO در طول دوره آزمایش بالاتر از ۴ میلی‌گرم در لیتر حفظ و کنترل شد، زیرا سیستم به‌شدت هوادهی شده بود که ممکن است به جبران نیاز اکسیژن برای تنفس میکروبی در سیستم تحت سلطه باکتری‌ها کمک کرده باشد (Dauda, 2020). آمونیاک عمده‌ترین پسماند تولید شده در سیستم آبی‌پروری است که به دلیل تحریک رشد باکتری‌های هتروتروف و هضم از طریق زی‌توده باکتریایی در سیستم بیوفلاک، میزان آمونیاک کاهش یافت (Sriyasak *et al.*, 2015). غلظت آمونیاک ۷/۴۰ میلی‌گرم در لیتر برای بچه‌ماهی‌های تیلاپیا کشنده است و باعث سمیت حاد در سیستم عصبی مرکزی می‌شود (Khanjani *et al.*, 2021). تشکیل زی‌توده باکتریایی جهت تبدیل نیتريت به نیترات که سبب سرعت پایین واکنش‌های نیتریفیکاسیون نسبت به مصرف از طریق باکتری‌های هتروتروف بود، را می‌توان به پایین‌تر بودن میزان آمونیاک در تیمارهای بیوفلاک نسبت به تیمار شاهد و نیز افزایش میزان نیترات در تیمارهای بیوفلاک نسبت داد (Crab *et al.*, 2010). Mahanand و همکاران (۲۰۱۳ a, b) افزایش تدریجی سطح TAN از ۰/۰۲ تا ۱ میلی‌گرم بر لیتر در سیستم بیوفلاک تولید ماهی روهو (*Labeo rohita*) را مشاهده کردند. در ماهیان کپور پرورش یافته با سیستم بیوفلاک حاوی جیره آرد برنج نسبت به جیره سوس برنج TAN بیشتری مشاهده گردید (Rai *et al.*, 2025). در این مطالعه میزان TAN در تیمارهای حاضر از ۰/۱۵ میلی‌گرم بر لیتر تجاوز نکرد. قلیائیت نقش مهمی در ظرفیت بافری سیستم بیوفلاک ایفا می‌کند. قلیائیت و pH هر دو از عوامل حیاتی برای نیتریفیکاسیون در سیستم بیوفلاک هستند (V *et al.*, 2024). طبق مطالعه Furtado و همکاران (۲۰۱۵)، قلیائیت و pH نباید به ترتیب کمتر از ۱۰۰ میلی‌گرم کربنات کلسیم بر لیتر و ۷ باشد. قلیائیت بالاتر مشاهده شده در تیمارهای بیوفلاک غنی شده با مواد معدنی در مطالعه حاضر را می‌توان به قلیائیت ناشی از وجود مواد معدنی در سیستم بیوفلاک نسبت داد. دینامیک قلیائیت در سیستم بیوفلاک غنی شده با مواد معدنی ممکن است با مصرف کربن معدنی توسط باکتری‌های اتوتروفیک و هتروتروف که زیست‌توده میکروبی را تشکیل می‌دهند، تنظیم شود (Khanjani *et al.*, 2021). در مطالعه حاضر، سطح بالاتری از کدورت در تیمار MTB25 مشاهده شد (۴۲/۶ NTU). با این حال، برخی از محققان کدورت بالاتری را در سیستم بیوفلاک نسبت به آنچه در مطالعه حاضر گزارش شده است (۶۸-۳۸/۵۶ NTU)، ثبت کرده‌اند (Saseendran *et al.*, 2021; Pekkoh *et al.*, 2022; da Rocha *et al.*, 2022). طبق مطالعه Khanjani و Sharifinia (۲۰۲۰)، کدورت بالا می‌تواند منجر به کاهش دید، افزایش تکرار غذایی و در نتیجه افزایش ضریب تبدیل غذایی و کاهش تولید شود. در تحقیق حاضر، بالاترین سطح سختی در تیمار MTB25 مشاهده شد (۱۸۶۹/۳ میلی‌گرم بر لیتر). نیاز غذایی

به فسفات در ماهی با عوامل مختلفی از جمله مصرف خوراک، تعادل انرژی، فراهمی زیستی مواد مغذی، مراحل چرخه زندگی و وزن بدن مرتبط است (Shearer, 1995). پایین‌ترین سطح فسفات در تمام تیمارها در مطالعه حاضر می‌تواند به دلیل سطح بالای کلسیم در محیط پرورش باشد. Sheikh و همکاران (۱۹۸۹) اظهار داشتند که یون‌های کلسیم تمایل بیشتری به فسفر و رسوب ناشی از آن دارند. غلظت فسفات به فراوانی فلاک‌های میکروبی تهنشین شده در کف مخزن اشاره دارد که فسفر را از طریق عمل تجزیه میکروارگانیسم‌های هتروتروف آزاد می‌کنند (Xu et al., 2016).

در این مطالعه سطح پتاسیم در تمام تیمارها پایین بود که ممکن است به دلیل اثر آنتاگونیستی کلسیم بر پتاسیم باشد (Epstein and Bloom, 1853). میانگین غلظت سدیم در طول مطالعه به طور قابل توجهی بین تمام تیمارها و گروه کنترل متفاوت بود. مشخص شد که مواد مغذی در گروه کنترل بدون میکروارگانیسم‌های هتروتروف تجمع می‌یابند (Thomas et al., 2019). میزان یون‌های فسفات در آب پرورش در پایان آزمایش، هنگامی که کلسیم مورد استفاده قرار گرفت، همان طور که توسط Martins و همکاران (۲۰۱۷) گزارش شده است، پایین باقی ماند. غلظت بالاتر کلسیم در تیمار کنترل بیوفلاک احتمالاً به دلیل واکنش بین یون‌های کلسیم و فسفات بود که تولید فسفات کلسیم می‌کند (Li et al., 2012). کاهش غلظت مواد معدنی در پایان آزمایش را می‌توان به جذب مواد معدنی توسط میکروارگانیسم‌ها در بیوفلاک نسبت داد (Luo et al., 2014). شاخص‌های کیفیت آب علاوه بر عوامل محدودکننده، از عوامل ضروری برای تضمین سلامت ماهیان و سایر موجودات آبی هستند (Yadav et al., 2025).

در این مطالعه نشان داده شد که سیستم بیوفلاک با دوز بالاتر املاح، میزان پروتئین کمتری در ترکیب لاشه ماهیان داشت که با مطالعه Luo و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت داشت. محدوده پروتئین لاشه ماهیان کپور مطالعه شده با نتایج مطالعات Ekasari و همکاران (۲۰۱۰) و Debnath و همکاران (۲۰۲۵) همخوانی داشت. مطالعه حاضر نشان داد که میزان خاکستر بیوفلاک در گروه حاوی مواد معدنی در مقایسه با گروه BC به طور قابل توجهی افزایش یافته است که ممکن است به جذب مواد معدنی توسط جمعیت میکروبی و افزایش محتوای خاکستر نسبت داده شود (Luo et al., 2013). غلظت بالای خاکستر احتمالاً با وجود اکسیدهای نامحلول در اسید و سیلیکات‌های مخلوط مرتبط است و نشان‌دهنده توانایی ارگانیسم‌های میکروبی در تجمع مواد معدنی و عناصر کمیاب در طول رشد و تکثیر آنها است (Tacon et al., 2002). بنابراین، مطالعه حاضر به این واقعیت منجر می‌شود که توده زیستی قادر به تجمع مواد معدنی در طول رشد و تکثیر خود است. علی‌رغم تمام مزایای ذکر شده از سیستم بیوفلاک، شکاف اصلی تحقیق در مورد نسبت کربن به نیتروژن است تا به واسطه آن بتوان سیستم بیوفلاک را بهینه کرد (Yadav et al., 2025). در مطالعه حاضر نسبت C:N ۱۵ به ۱ بود که میزان پروتئین ۱۷/۴۵ درصد در تیمار MTB15 حاصل شد، در حالی که در مطالعه Minabi و همکاران (۲۰۲۰) تیمار ۱۹:۱ کربن به نیتروژن بیشترین میزان پروتئین (۲۳/۱۵ درصد) را در سیستم بیوفلاک برای ماهی کپور معمولی به دست آورد. در تحقیق Mahanand و همکاران (۲۰۱۳a) تیمار ۱۰:۱ کربن به نیتروژن توانست در سیستم بیوفلاک برای ماهی روهو (*Labo rohita*) ۳۵/۴۰ درصد پروتئین را به دست آورد. نسبت ۱۵:۱ در سیستم بیوفلاک با ۱۸ درصد شوری برای تولید ماهی تیلاپپای قرمز (*Oreochromis sp.*) ۲۹/۲ درصد پروتئین لاشه بود (Sallam et al., 2025). Saha و همکاران (۲۰۲۲) اثرات نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ روی گربه‌ماهی نیش‌دار (*Heteropneustes fossilis*) در سیستم بیوفلاک را بررسی کردند. آنها دریافتند که تیمارهای بیوفلاک به طور قابل توجهی عملکرد رشد گربه‌ماهی را بهبود بخشیدند، به طوری که تیمار C:N15 بالاترین میزان پروتئین و کمترین میزان رطوبت را نشان داد. هیچ تفاوت قابل توجهی در میزان چربی و خاکستر بین تیمارهای CN15، CN18 و CN21 وجود نداشت. با افزایش نسبت کربن به نیتروژن، میزان خاکستر افزایش و میزان چربی کاهش یافت. نسبت کربن به نیتروژن بالاتر در سیستم بیوفلاک با بهبود ترکیب لاشه در ماهی کاراس (*Carassius auratus*) مرتبط بود (Yu et al., 2020). افزایش نسبت کربن به نیتروژن در سیستم بیوفلاک منجر به افزایش فعالیت میکروبی، به ویژه تکثیر باکتری‌های هتروتروف، می‌شود که از کربن آلی برای رشد استفاده می‌کنند. این افزایش زیست‌توده باکتریایی، همراه با مواد آلی تجمع یافته و ذرات بیوفلاک، به افزایش TSS کمک می‌کند. علاوه بر این، افزایش ورودی کربن، تجمع میکروبی را تحریک می‌کند و منجر به تجمع مواد آلی در ستون آب می‌شود. در نتیجه، با افزایش TSS، TDS نیز ممکن است به دلیل معدنی شدن مواد آلی و آزادسازی متعاقب یون‌های محلول در سیستم افزایش یابد (Gou et al., 2019).

در این مطالعه، نتایج نشان داد که بکارگیری مکمل معدنی در جیره ماهی کپور معمولی تحت سیستم بیوفلاک توانست فعالیت آنزیم‌های گوارشی (پروتئاز، آمیلاز و لیپاز) را افزایش دهد، که می‌تواند به دلیل تبدیل مواد مغذی موجود در خوراک به اشکال مولکولی کوچک که راحت‌تر توسط ماهی هضم و جذب شوند، باشد و در نتیجه رشد را افزایش می‌دهد. از طرفی این نتیجه ممکن است به این دلیل باشد که مکمل‌های معدنی می‌توانند مستقیماً حیوانات آبزی را برای ترشح آنزیم‌های گوارشی درون‌زا تحریک کنند (Anand et al., 2014). دلیل دیگر ممکن است این باشد که وقتی جیره غذایی حاوی مکمل معدنی به روده وارد می‌شود، ممکن است به طور غیرمستقیم بر فلور روده تأثیر بگذارد و در نتیجه تولید آنزیم‌های گوارشی را القا کند (Wei et al., 2024). به طور مشابه، مطالعات روی میگوی پنائیده، خیار دریایی و *Rhynchocypris lagowskii* نشان داده است که سیستم بیوفلاک می‌تواند فعالیت آنزیم‌های گوارشی را افزایش دهد (Xu et al., 2012; Anand et al., 2014; Chen et al., 2018b). از سوی دیگر، فعالیت آنزیم‌های گوارشی هنگامی که سطح جایگزینی به ۲۵ درصد رسید، کاهش یافت که نشان می‌دهد جایگزینی بیش از حد می‌تواند توانایی کپور معمولی را در هضم و جذب مواد مغذی موجود در خوراک کاهش دهد.

سنتز پروتئین جزء محوری رشد آبزیان است. AST و ALT کبد، آمینوترانسفرازهای مهمی در متابولیسم پروتئین در آبزیان هستند (Huang et al., 2006). در این مطالعه، نتایج فعالیت‌های AST و ALT نشان داد که استفاده از مکمل معدنی ۱۰ و ۱۵ درصد (تیمار MTB10 و MBT15) می‌تواند متابولیسم پروتئین را بهبود بخشد، اما وقتی سطح به ۲۰ و ۲۵ درصد رسید، می‌تواند منجر به اختلال در متابولیسم پروتئین شود. همچنین می‌تواند با نتایج محتوای پروتئین خام عضله تأیید شود، زیرا حداکثر و حداقل آن به ترتیب در گروه MBT15 و MBT25 یافت شد. به طور مشابه، برخی مطالعات نشان دادند که بیوفلاک‌ها می‌توانند با کاهش فعالیت‌های AST و ALT سرم کپور معمولی و تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) تحت سیستم بیوفلاک عملکرد کبد را بهبود بخشند (Adineh et al., 2019; Manduca et al., 2020; Mohammady et al., 2023).

در این مطالعه، نتایج سطح لیپیدهای سرم و فعالیت آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم لیپید نشان داد که جایگزینی ۱۵ درصد مکمل (تیمار MBT15) می‌تواند تجمع لیپید سرم و متابولیسم لیپید را تنظیم کند، اما استفاده بیشتر از مکمل می‌تواند منجر به دیس‌لیپیدمی و رسوب لیپید در هیپاتوپانکراس شود. نشان داده شده است که سطوح مناسب فیتواستروئول‌ها می‌تواند اثرات منفی رژیم‌های غذایی پرچرب بر سطح لیپید سرم در ماهی (*Larimichthys crocea*) را کاهش دهند (He et al., 2022). بنابراین، وجود هیپوستروئول‌ها ممکن است مسئول بهبود متابولیسم لیپید آن باشد. با این حال، در حال حاضر، اثرات منفی مواد معدنی بر متابولیسم لیپید در آبزیان به طور مفصل گزارش نشده است و مکانیسم‌های خاص باید بیشتر بررسی شوند.

التهاب می‌تواند منجر به تولید بیش از حد رادیکال‌های اکسیژن و ایجاد آسیب اکسیداتیو شود (West et al., 2010). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان‌دهنده فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی سلولی در برابر گونه‌های فعال اکسیژن است (Wei et al., 2024). در مطالعه حاضر، نتایج فعالیت‌های آنزیم‌های مرتبط با آنتی‌اکسیدان نشان داد که تیمار MBT15 می‌تواند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد، اما ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در تیمارهای MBT20 و MBT25 تضعیف شد. به طور مشابه، مطالعات روی میگوی سفید اقیانوس آرام، گربه‌ماهی آفریقای، خیار دریایی و *R. lagowski* نشان داده است که بیوفلاک می‌تواند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد (Lee et al., 2017; Chen et al., 2018b; Ekasari et al., 2019; Yu et al., 2021). تأثیر مثبت مواد معدنی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ممکن است به این دلیل باشد که این مواد می‌توانند دفاع آنتی‌اکسیدانی را در ماهی افزایش دهند. Abdel-Rahim و همکاران (۲۰۲۴) دریافتند که بیوفلاک می‌تواند با بلندتر کردن پرزها، پهن‌تر کردن و افزایش سلول‌های جامی شکل روده، سلامت دستگاه گوارش ماهی تیلاپیا قرمز را بهبود بخشد. این امر به دلیل افزایش تولید آنزیم‌های درون‌زا است که باعث تحریک کوله‌سیتوکینین و ترشح برون‌ریز پانکراس می‌شود و در نتیجه فیزیولوژی دستگاه گوارش را تنظیم کرده و هضم و جذب غذا و مکمل‌های غذایی را تحریک می‌کند (Ghafarifarsani et al., 2022; Elhetawy et al., 2024). این افزایش را می‌توان به اثر خوب بیوفلاک، که سبب افزایش سلول‌های گابت و شاخه‌های جانبی اپیتلیوم پرزها می‌شود و در نتیجه عملکرد و سلامت ماهی را بهبود می‌بخشد، نسبت داد.

احتمالاً فلاک‌های میکروبی با استفاده از طیف متنوعی از بسترهای کربنی، اثربخشی خود را در حفظ شاخص‌های کلیدی

کیفیت آب در محدوده مناسب فیزیولوژیکی برای رشد و سلامت مطلوب کپور معمولی نشان دادند. نکته قابل توجه این است که یک الگوی دو فازی در تجمع و کاهش بعدی TAN، NO₂ و NO₃ پدیدار شد. در طول ۶۰ روز اولیه، افزایش مداوم این ترکیبات نیتروژنی در تمام تیمارهای بیوفلاک (جدول ۱) مشاهده شد که احتمالاً به فرآیند نیتریفیکاسیون نسبت داده می‌شود، همان‌طور که در مطالعات قبلی سیستم بیوفلاک آمده است (Xu et al., 2012; Long et al., 2015; Zhao et al., 2016).

۵. نتیجه گیری نهایی

مکمل‌سازی فرمولاسیون معدنی مبتنی بر نیاز ویژه گونه، نشان داد که هنگامی که به میزان ۱۵ گرم در لیتر در کشت بیوفلاک اضافه شود، کیفیت آب، متابولیسم چربی، متابولیسم پروتئین و پاسخ آن‌تی‌اکسیدانی کپور معمولی را بهبود می‌بخشد. با این حال، سطوح جایگزینی بیشتر از ۱۵ درصد می‌تواند سبب اختلال در عملکرد آنزیم‌های هپاتوپانکراس و کبد شود. این مطالعه همچنین نشان داد که سیستم بیوفلاک پروفایل آنزیم‌های گوارشی را در ماهی بهبود می‌بخشد و در نهایت منجر به بهبود مصرف خوراک و عملکرد رشد خواهد شد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از حوزه معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز کمال تشکر را دارند.

References

- Abdel-Rahim, M.M., Elhetawy, A.I.G., Shawky, W.A., El-Zaem, S.Y., El-Dahhar, A.A., 2024. Enhancing Florida red tilapia aquaculture: biofloc optimization improves water quality, pathogen bacterial control, fish health, immune response, and organ histopathology across varied groundwater salinities. *Veterinary Research Communications* 48(1), 2989-3006. DOI: org/10.1007/s11259-024-10433-w
- Abiri, S.A., Chitsaz, H., Najdegerami, E.H., Akrami, R., Jalali, A.S., 2022. Influence of wheat and rice bran fermentation on water quality, growth performance, and health status of common carp (*Cyprinus carpio* L.) juveniles in a biofloc-based system. *Aquaculture* 555(2), 738168. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2022.738168
- Adineh, H., Naderi, M., Khademi Hamidi, M., Harsij, M., 2019. Biofloc technology improves growth, innate immune responses, oxidative status, and resistance to acute stress in common carp (*Cyprinus carpio*) under high stocking density. *Fish and Shellfish Immunology* 95(4), 440-448. DOI: org/10.1016/j.fsi.2019.10.057
- Anand, H., Mir, R., Saxena, R., 2009. Hemoglobin color scale a diagnostic dilemma. *Indian Journal of Pathology & Microbiology* 52(2), 360-2. DOI: 10.4103/0377-4929.54994
- AOAC, 2005. Official Methods of Analysis, 18th edn. Association of Official Analytical Chemists; Arlington, VA, USA.
- APHA., 1926. American Public Health Association, Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association.
- Avnimelech, Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture* 176(3), 227-235. DOI: org/10.1016/S0044-8486 (99) 00085-X
- Behera, S., Das, P.C., Felix, N., Ferosekhan, S., Swain, H.S., Kumari, R., Athithan, S., Padmavathy, P., 2025. Effect of different carbon supplements on growth performance and digestive enzyme activities of butter catfish (*Ompok bimaculatus* Bloch, 1794) in biofloc system. *Aquaculture* 603(1), 742384. DOI: org/10.1016/j.aquaculture.2025.742384
- Bligh, E.G., Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37(8), 911-917. DOI: 31.171.101.221
- Cherry, I.S., Crandall Jr, L.A., 1932. The specificity of pancreatic lipase: its appearance in the blood after pancreatic injury. *American Journal of Physiology-Legacy Content* 100(2), 266-273. DOI: org/10.1152/ajplegacy.1932.100.2.266

- Chen, J., Ren, Y., Wang, G., Xia, B., Li, Y., 2018b. Dietary supplementation of biofloc influences growth performance, physiological stress, antioxidant status and immune response of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka). *Fish & Shellfish Immunology* 72, 143-152. DOI: org/10.1016/j.fsi.2017.10.061
- 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(4), 559-567. DOI: org/10.1111/j.1365-2109.2009.02353.x
- da Rocha, A.F., Barbosa, V.M., Wasielesky Jr, W., Abreu, P.C., Lisboa, V., Cavalli, L., Tesser, M.B., 2022. Water quality and juvenile development of mullet *Mugil liza* in a biofloc system with an additional carbon source: Dextrose, liquid molasses or rice bran? *Aquaculture Research* 53 (3), 870-883. DOI: org/10.1111/are.15628
- Dauda, A.B., 2020. Biofloc technology: a review on the microbial interactions, operational parameters and implications to disease and health management of cultured aquatic animals. *Reviews in Aquaculture* 12 (2), 1193–1210. DOI: org/10.1111/raq.12379
- Dawood, M.A., Eweedah, N.M., Moustafa, E.M., El-Sharawy, M.E., Soliman, A.A., Amer, A.A., Atia, M.H., 2020. Copper nanoparticles mitigate the growth, immunity, and oxidation resistance in common carp (*Cyprinus carpio*). *Biological Trace Element Research* 198, 283-292. DOI: 10.1007/s12011-020-02068-0
- Debnath, S., Parvez, M.S., Sadia, S., Hossain, K.M.R., Ashan, M.N., 2025. Effect of dietary protein levels on growth, body composition, and haematology of tilapia in biofloc without solid management system. *Aquaculture, Fish and Fisheries* 5, e70046. DOI: https://doi.org/10.1002/aff2.70046
- Drapeau, G.R., 1976. Protease from *Staphylococcus aureus*. In: *Methods in Enzymology* 45. Academic press, pp. 469-475.
- Ekasari, J., Setiawati, R., Ritonga, F.R., Setiawati, M., Suprayudi, M.A., 2019. Growth and health performance of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) juvenile fed with graded levels of biofloc meal. *Aquaculture Research* 50, 1802–1811. DOI: org/10.1111/are.14059
- Elhetawy, A.I., Lotfy, A.M., Attallah, M.A., Shahin, S.A., Soliman, A.A., Abdel-Rahim, M.M., 2024. Interactive impacts of rosemary oil and amylase-lipase enzymes on *Liza ramada* performance, ammonia excretion, digestion, serum biochemistry and intestinal histomorphology. *Egyptian Aquatic Research* 50, 154–161. DOI: org/10.1016/j.ejar.2023.12.003
- Epstein, E., Bloom, A.J., 1953. Mineral nutrition of plants: principles and perspectives. Sinauer.
- Furtado, P.S., Poersch, L.H., Wasielesky, W., 2015. The effect of different alkalinity levels on *Litopenaeus vannamei* reared with biofloc technology (BFT). *Aquaculture International* 23, 345-358. DOI: 10.1007/s10499-014-9819-x
- Ghafariarsani, H., Hoseinifar, S.H., Javahery, S., Yazici, M., Van Doan, H., 2021. Growth performance, biochemical parameters, and digestive enzymes in common carp (*Cyprinus carpio*) fed experimental diets supplemented with vitamin C, thyme essential oil, and quercetin. *Italian Journal of Animal Science* 21, 291–302. DOI: org/10.1080/1828051X.2021.1965923
- Gou, J., Hong, C.U., Deng, M., Chen, J., Hou, J., Li, D., He, X., 2019. Effect of carbon to nitrogen ratio on water quality and community structure evolution in suspended growth bioreactors through biofloc technology. *Water* 11(8), 1640. DOI: org/10.3390/w11081640
- Hargreaves, J.A., 2013. Biofloc production systems for aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center 4503: 1-12.
- He, L., Shi, X., Zeng, X., Zhou, F., Lan, T., Chen, M., Han, K., 2022. Characterization of the glucocorticoid receptor of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) and its expression in response to salinity and immune stressors. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 265, 111124. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2021.111124
- Huang, Z., Li, L., Zhu, R., Li, M., Duan, J., Wang, J.Y., Wu, L.F., 2020. Monitoring of growth, digestive enzyme activity, immune response and water quality parameters of golden crucian carp (*Carassius auratus*) in zero-water exchange tanks of biofloc systems. *Aquaculture Reports* 16, 100283. DOI: doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100283

- Jafarzadeh, F., Roomiani, L., Chelemaal Dezfulnezhad, M., Javaheri Baboli, M., Askary Sary, A., 2024. Harnessing paraprobiotics and postbiotics for enhanced immune function in Asian seabass (*Lates calcarifer*): Insights into pattern recognition receptor signaling. *Aquaculture* 151, 109725. DOI: 10.1016/j.fsi.2024.109725
- Khanjani, M.H., Sharifinia, M., 2020. Biofloc technology as a promising tool to improve aquaculture production. *Reviews in Aquaculture* 12 (3), 1836-1850. DOI: org/10.1111/r
- Khanjani, M.H., Alizadeh, M., Sharifinia, M., 2021. Effects of different carbon sources on water quality, biofloc quality, and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings in a heterotrophic culture system. *Aquaculture International* 29(1), 307–321. DOI: 10.1007/s10499-020-00627-9
- Kjeldahl, J., 1883. A new method for the determination of nitrogen in organic matter. *Analytic Chemistry* 22, 366–382. DOI: org/10.1007/BF01338151
- Lee, C., Kim, S., Lim, S., Lee, K., 2017. Supplemental effects of biofloc powder on growth performance, innate immunity, and disease resistance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fisheries and Aquatic Science* 20, 1-7. DOI: 10.1186/s41240-017-0059-7
- Li, W., Xu, W., Parise, J.B., Phillips, B.L., 2012. Formation of hydroxylapatite from cosorption of phosphate and calcium by boehmite. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 85, 289-301. DOI: 10.1016/j.gca.2012.02.021
- Long, L., Yang, J., Li, Y., Guan, C., Wu, F., 2016. Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 448, 135-141. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.05.017
- Luo, G., Liang, W., Tan, H., Yao, C., Zhang, N., Lu, L., 2013. Effects of calcium and magnesium addition on the start-up of sequencing batch reactor using biofloc technology treating solid aquaculture waste. *Aquaculture Engineering* 57, 32-37. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2013.06
- Luo, G., Gao, Q., Wang, C., Liu, W., Sun, D., Li, L., Tan, H., 2014. Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. *Aquaculture* 422, 1-7. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.11.023
- Mahanand, S.S., Moulick, S., Srinivasa, R.P., 2013a. Optimum formulation of feed for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), with biofloc as a component. *Aquaculture International* 21, 347-60. DOI: 10.1007/s10499-012-9557-x.
- Mahanand, S.S., Moulick, S., Rao, P.S., 2013b. Water quality and growth of Rohu, *Labeo rohita*, in a biofloc system. *Applied Aquaculture* 25(2), 121-131. DOI: 10.1080/10454438.2013.788898.
- Manduca, L.G., da Silva, M.A., de Alvarenga, E.R., de Oliveira Alves, G.F., de Araújo Fernandes, A.F., Assumpção, A.F., Cardoso, C.C., de Sales, S.C.M., de Alencar Teixeira, E., de Almeida e Silva, M., Turraa, E.M., 2020. Effects of a zero exchange biofloc system on the growth performance and health of Nile tilapia at different stocking densities. *Aquaculture* 521, 735064. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735064
- Martins, G.B., Tarouco, F., Rosa, C.E., Robaldo, R.B., 2017. The utilization of sodium bicarbonate, calcium carbonate or hydroxide in biofloc system: water quality, growth performance and oxidative stress of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 468, 10-17. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2016.09.046.
- Minabi, K., Sourinejad, I., Alizadeh, M., Ghatrami, E.R., Khanjani, M.H., 2020. Effects of different carbon to nitrogen ratios in the biofloc system on water quality, growth, and body composition of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. *Aquaculture International* 28, 1883-1898. DOI: 10.1007/s10499-020-00564-7
- Mohammady, E.Y., Soaudy, M.R., Ali, M.M., El-ashry, M.A., Abd El-Karim, M.S., Jarmolowicz, S., Hassaan, M.S., 2023. Response of Nile tilapia under biofloc system to floating or sinking feed and feeding rates: Water quality, plankton community, growth, intestinal enzymes, serum biochemical and antioxidant status. *Aquaculture Reports* 29, 101489. DOI: 10.1016/j.aqrep.2023.101489
- Mugwanya, M., Dawood, M.A., Kimera, F., Sewilam, H., 2021. Biofloc systems for sustainable production of economically important aquatic species: a review. *Sustainability* 13(13), 7255. DOI: 10.3390/su13137255
- Musharraf, M., Khan, M.A., 2021. Dietary manganese requirement of fingerling Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton) estimated by growth, tissue manganese concentration and hepatic manganese-superoxide dismutase activity. *Aquaculture* 540, 736734.

- Najdegerami, E.H., Bakhshi, F., Lakani, F.B., 2016. 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* 42, 457-465. DOI: 10.1007/s10695-015-0151-9
- Pekkoh, J., Chaichana, C., Thurakit, T., Phinyo, K., Lomakool, S., Ruangrit, K., Srinuanpan, S., 2022. Dual-bioaugmentation strategy to enhance the formation of algal-bacteria symbiosis biofloc in aquaculture wastewater supplemented with agricultural wastes as an alternative nutrient sources and biomass support materials. *Bioresource Technology* 359, 127469. DOI: 10.1016/j.biortech.2022.127469
- Rai, N., Julka, J.M., Panigrahi, A., Das, S.P., 2025. Synergistic carbon source utilization in biofloc aquaculture of common carp (*Cyprinus carpio*): impacts on growth, health, and environmental parameters. *Frontiers in Marine Science* 12, 1576079. DOI: 10.3389/fmars.2025.1576079
- Rick, W., Stegbauer, H.P., 1974. α -amylase measurement of reducing groups. In: *Methods of Enzymatic Analysis* 2, 885-890. DOI: org/10.1016/b978-0-12-0
- Rosas, V., Dias, A.B., Moura, P., Al-Khayat, J.A., Tesser, M.B., Foes, G.K., Wasielesky, W., 2025. Inclusion of biofloc meal as a mineral source in diets for *Penaeus vannamei* cultured in oligohaline water. *Aquaculture Reports* 44, 103062. DOI: 10.1016/j.aqrep.2025.103062
- Saha, J., Hossain, M.A., Mamun, M.A., Islam, M.R., Alam, M.S., 2022. Effects of carbon-nitrogen ratio manipulation on the growth performance, body composition and immunity of stinging catfish *Heteropneustes fossilis* in a biofloc-based culture system. *Aquaculture Reports* 25, 101274. DOI: 10.1016/j.aqrep.2022.101274
- Sallam, G.R., El Basuini, M.F., Fahmy, A.F., Al-Absawey, M.A., Habib, Y.J., Mustafa, R.A., Fayed, W.M., El-Sayed, A.F.M., Shehata, A.I., 2025. Salinity-dependent effects of integrated biofloc technology on reproductive performance, biological responses, and offspring quality in red tilapia aquaculture. *Aquaculture International* 33, 135. DOI: 10.1007/s10499-024-01804-w
- Saseendran, S., Dube, K., Chandrakant, M.H., Rani, A.B., 2021. Enhanced growth response and stress mitigation of genetically improved farmed Tilapia in a biofloc integrated aquaponic system with bell pepper. *Aquaculture* 533, 736200. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.736200.
- Shearer, K.D., 1995. The use of factorial modeling to determine the dietary requirements for essential elements in fishes. *Aquaculture* 133 (1), 57-72. DOI: 10.1016/0044-8486(94)0040
- Sheikh, M.S., Maguire, J.A., Emmett, M., Santa Ana, C.A., Nicar, M.J., Schiller, L.R., Fordtran, J.S., 1989. Reduction of dietary phosphorus absorption by phosphorus binders. A theoretical, in vitro, and in vivo study. *Clinical Investigation* 83 (1), 66-73. DOI: 10.1172/JCI113886
- Sriyasak, P., Chitmanat, C., Whangchai, N., Promya, J., Lebel, L., 2015. Effect of water de-stratification on dissolved oxygen and ammonia in tilapia ponds in Northern Thailand. *International Aquatic Research* 7, 287-299. DOI: 10.1007/s40071-015-0113-y
- 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 (2), 121-137. DOI: 10.1046/j.1365-2095.2002.00199.x
- Taherpour, M., Roomiani, L., Rajabi Islami, H., Shamsaie Mehrgan, M., 2023. Effect of dietary butyric acid, *Bacillus licheniformis* (probiotic), and their combination on hemato-biochemical indices, antioxidant enzymes, immunological parameters, and growth performance of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Reports* 30(1), 101534. DOI: 10.1016/j.aqrep.2023.101534
- Thomas, R.M., Verma, A.K., Prakash, C., Krishna, H., Prakash, S., Kumar, A., 2019. Utilization of Inland saline underground water for bio-integration of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and spinach (*Spinacia oleracea*). *Agricultural Water Management* 222, 154-160. DOI: 10.1016/j.agwat.2019.06.001.
- V, S., Krishnan, S., Kumar, P., Sukhdhane, K., Kala, A.S., Rani, A.M.B., 2024. Mineral supplementation in biofloc influences growth and haemato-biochemical indices of genetically improved farmed tilapia reared in inland saline ground water. *Aquacultural Engineering* 104, 102386. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2023.102386
- Wei, X.F., Meng, S., Wang, Y.T., Li, L., Zhu, R., Li, D.L., Liu, S.Y., Wu, L.F., 2024. Effects of replacing fish meal with biofloc meal on growth performance, nutrients metabolism, immune response and intestinal microbiota of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture* 591, 741124. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2024.741124

- West, X.Z., Malinin, N.L., Merkulova, A.A., Tischenko, M., Kerr, B.A., Borden, E.C., Podrez, E.A., Salomon, R.G., Byzova, T.V., 2010. Oxidative stress induces angiogenesis by activating TLR2 with novel endogenous ligands. *Nature* 467, 972-976. DOI: 10.1038/nature09421.
- Wooten, I.D.P., 1964. Microanalysis. In: Churchill, J. (Ed.), *Medical Biochemistry*, 4th edn. Churchill, London, pp. 101-107.
- 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. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2012.05.022
- Xu, W.J., Morris, T.C., Samocha, T.M., 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. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.11.021
- Yadav, N.K., Paul, S., Patel, A.B., Mahanand, S.S., Biswas, P., Choudhury, T.G., Baidya, S., Meena, D.K., 2025. The role of biofloc technology in sustainable aquaculture: nutritional insights and system efficiency. *Blue Biotechnology* 2 (7). DOI: 10.1186/s44315-025-00025-x.
- Yu, Z., Li, L., Zhu, R., Li, M., Duan, J., Wang, J.Y., Liu, Y.H., Wu, L.F. 2020. Monitoring of growth, digestive enzyme activity, immune response and water quality parameters of Golden crucian carp (*Carassius auratus*) in zero-water exchange tanks of biofloc systems. *Aquaculture Reports* 16(3), 100283. DOI: 10.1016/j.aqrep.2020.100283
- Zablon, W.O., Ogello, E.O., Omondi, R., 2022. Biofloc system improves protein utilization efficiency and growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fry: Experimental evidence. *Aquaculture. Fish & Fisheries* 2, 94-103. DOI: 10.1002/aff2.32