



تأثیر کاهش نرخ غذادهی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بر عملکرد رشد و تغذیه، شاخص‌های بیوشیمیایی خون و کیفیت آب در سیستم بیوفلاک در مقایسه با آب تمیز

حسین آدینه^{۱*}، حجت... جعفریان^۲، محمد خادمی حمیدی^۳، فاطمه زهرا کریم تبار^۳ و زینب صداقت^۴

۱. استادیار گروه شیلات دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، دانشگاه گنبد کاووس، ایران

۲. دانشیار گروه شیلات دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، دانشگاه گنبد کاووس، ایران

۳. کارشناس ارشد گروه شیلات دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، دانشگاه گنبد کاووس، ایران

۴. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیلات دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، دانشگاه گنبد کاووس، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۲۸

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی تأثیر نرخ کاهش غذادهی بر کیفیت آب، عملکرد رشد و پاسخ ایمنی ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) در سیستم بیوفلاک و آب تمیز انجام شد. ماهی‌ها (میانگین وزنی $9/04 \pm 0/44$ گرم) در ۱۸ مخزن (۵۰ لیتری) بصورت کاملاً تصادفی در قالب طرح فاکتوریل 2×3 شامل؛ استفاده از غذای تجاری ۱۰۰، ۸۵ و ۷۰ درصد (بترتیب ۲/۵، ۲/۱۲ و ۱/۷۵ درصد وزن بدن) در گروه بیوفلاک (BF1، BF2 و BF3) و گروه بدون فلاک (NF1، NF2 و NF3) به مدت ۶۰ روز ذخیره‌سازی شدند. در پایان آزمایش، غلظت نیتروژن آمونیاک کل (TAN) به‌طور قابل توجهی در بیوفلاک نسبت به بدون فلاک پایین‌تر بود. بیشترین عملکرد رشد ماهی و کمترین ضریب تبدیل غذایی در گروه‌های بیوفلاک با ۲/۵ و ۲/۱۲ درصد غذادهی (BF1 و BF2) بدست آمد. پس از ۶۰ روز، سطح لایزوزیم و ایمونوگلوبولین کل سرم به‌طور قابل توجهی افزایش و کورتیزول سرم در تیمار BF1 کاهش یافت. این پژوهش نشان داد که کاهش نرخ غذادهی (۲/۱۲ تا ۲/۵ درصد وزن بدن) ماهی کپور معمولی در سیستم بیوفلاک نسبت به آب تمیز می‌تواند بر عملکرد رشد و پاسخ ایمنی تأثیر مثبت معنی‌داری داشته باشد.

کلمات کلیدی: نرخ غذادهی، بیوفلاک، کیفیت آب، ایمنی غیر اختصاصی، ماهی کپور معمولی



The effects of reducing the feeding rates on growth and feed performance, blood biochemical parameters, and water quality in bio-floc common carp (*Cyprinus carpio*) culture and clean systems

Hoseein Adine^{1*}, Hojatallah Jafaryan², Mohammad Kademi Hamidi³,
Fatemeh Zahra Karimtabar³ and Zeynab Sedaghat⁴

1. Assistant Professor, Department of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources,
Gonbad Kavous University, Golestan, Iran

2. Associate Professor, Department of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources,
Gonbad Kavous University, Golestan, Iran

3. M.Sc. Department of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University,
Golestan, Iran

4. M.S.c. Student. Department of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources,
Gonbad Kavous University, Golestan, Iran

Received: 17-May-2021

Accepted: 09-Aug-2021

Abstract

This study aimed to investigate the effect of reduction of feeding rates on water quality, growth performance, and immune response in bio-floc common carp (*Cyprinus carpio*) and clean water systems. Fish (9.04 ± 0.44 g mean initial weight) were stocked into 18 tanks (50 L) through a 2×3 factorial design consisting: The use of commercial feed of 100, 85 and 70% (2.5, 2.12 and 1.75 % of body weight) in bio-floc groups (BF1, BF2 and BF3) and non-floc groups (NF1, NF2 and NF3) for 60 days. At the end of the experiment, Total ammonia nitrogen (TAN) concentration was significantly lower in bio-floc compared to non-floc. The highest fish growth performance and the lowest feed conversion ratio were obtained in the bio-floc groups with 2.5 and 2.12% feed intake (BF1 and BF2), respectively. After 60 days, the serum lysozyme and total immunoglobulin levels were significantly increased and serum cortisol levels decreased in the bio-floc groups. This study showed that reducing the feeding rates (2.12 to 2.5% of body weight) have a positive effect on growth performance and immune response in bio-floc common carp culture system compared to clean water system.

Key words: Feeding rate, Bio-floc, Water quality, Nonspecific immunity, *Cyprinus carpio*.

۱. مقدمه

شده در این سیستم است.

ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) یکی از گونه‌های مهم پرورشی در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری به شمار می‌رود (Tokur et al., 2006) که به‌طور گسترده در بسیاری از کشورهای جهان پرورش داده می‌شوند. میزان تولید جهانی آبی‌پروری در سال ۲۰۱۸ در حدود ۸۲/۱ میلیون تن بوده است که نسبت به سال ۲۰۱۷ تقریباً ۳/۲ درصد رشد داشته است (FAO yearbook, 2020). در سال ۲۰۱۸ تولید آبی‌پروری جهانی گونه کپور معمولی به حدود ۴/۱۸۹ میلیون تن رسید (FAO yearbook, 2020). کپور ماهیان یکی از ذخایر بسیار مهم اند که به‌دلیل دارا بودن ارزش اقتصادی، از دیرباز به‌عنوان یکی از منابع تأمین پروتئین و درآمد، همواره مورد توجه بوده‌اند. این گونه‌ها به دلیل رشد سریع، سهولت پرورش و بازده غذایی بالا تقریباً در تمام دنیا پرورش داده می‌شوند. این ماهیان توانایی تحمل تراکم بالا در سیستم‌های پرورشی را دارند (Enache et al., 2011). کپور معمولی نسبت به تغییرات دمای آب، اکسیژن محلول، شوری و گل آلودگی مقاومت بیشتری دارد. همچنین از غذای دستی به‌آسانی استقبال می‌کند و به ماهی اهلی‌شده معروف است. از مزایای دیگر این گونه می‌توان به مقاومت خوب به تغییرات شرایط محیطی و تغذیه از طیف وسیع مواد غذایی اشاره نمود (Enache et al., 2011). از آنجائیکه تحقیقات نشان داده است که همه گونه‌های آبی‌پروری نمی‌توانند در سیستم بیوفلاک عملکرد مناسبی داشته باشند، بنابراین آبی‌پروری که رژیم غذایی فیلترکنندگی، عادت به همه‌چیزخواری و قابلیت سازگاری دستگاه گوارش به جذب بهتر ذرات میکروبی را دارند کاندیدای مناسبی برای استفاده در این سیستم پرورشی محسوب می‌شوند، که کپور معمولی دارای این ویژگی‌ها است. با بکارگیری روش بیوفلاک در مزارع پرورش ماهی می‌توان در صد غذادهی را کاهش داد و نیز هزینه‌های تولید را کم کرد. بنابراین، هدف از این مطالعه تاثیر درصد غذادهی (۲/۵، ۲/۱۲ و ۱/۷۵ درصد بیوماس) بر عملکرد شاخص‌های رشد و تغذیه،

تکنولوژی بیوفلاک (سیستم فلاک میکروبی) به‌عنوان یکی از ابزارهای توسعه آبی‌پروری است که به‌طور هم‌زمان بر شرایط محیطی و اقتصادی اثرگذار است (Crab et al., 2012). اساس کار تکنولوژی بیوفلاک بر پایه رشد میگرورگان‌های استوار است که با تبدیل ترکیبات نیتروژنی، تولیدی در سیستم پرورشی، به زیست توده میکروبی (بیوفلاک) در محیط پرورش بطور پیوسته به‌عنوان منبع غذایی مورد استفاده ماهی قرار می‌گیرد (De Schryver et al., 2008) و باعث کاهش هزینه غذایی می‌شود (Emerenciano et al., 2013). در این سیستم پرورشی، با تنظیم و کنترل نسبت کربن به نیتروژن در محدوده ۱۵ تا ۲۰، آمونیاک و مواد دفعی آلی نیتروژن‌دار به بیوماس یا زیست توده باکتریایی تبدیل خواهند شد (Schneider et al., 2005) بنابراین منبع کربن به‌عنوان یک سوپسترا یا بستر برای عملکرد سیستم‌های بیوفلاکی عمل می‌کند (Avnimelech, 1999).

فلاک‌ها یا رشته‌های میکروبی بطور مداوم در محیط پرورش بواسطه وجود میکرورگان‌های هم‌چون جلبک‌ها، قارچ‌ها، باکتری‌ها و غیره می‌توانند پروتئین (اسیدهای آمینه ضروری)، اسیدهای چرب اشباع نشده، ویتامین‌ها و مواد معدنی را تأمین کنند (Azim and Little, 2008; De Schryver et al., 2008). با توجه به اینکه حدود ۶۰ درصد از هزینه‌های تولید و پرورش مربوط به غذا است. بنابراین، یکی از مسائل قابل توجه در پرورش آبی‌پروری استفاده از پروتئین‌های میکروبی و کاهش مدت زمان تولید در جهت کاهش هزینه‌ها و بالا بردن راندمان تولید است. در این راستا، استفاده از بیوفلاک می‌تواند تاثیرات مفیدی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی همچون پروتئاز، آمیلاز، سلولاز و لیپاز در آبی‌پروری داشته باشد (Xu et al., 2012) و منجر به افزایش بهره‌وری تغذیه و رشد شود (Azim and Little, 2008). یکی از مهمترین اهداف بکارگیری سیستم بیوفلاک برای پرورش آبی‌پروری، کاهش هزینه غذا و تغذیه با جایگزینی پروتئین میکروبی تولید

قالب طرح فاکتوریل 2×3 متشکل از گروه بیوفلاک (BF) و آب تمیز بدون فلاک (NF) هر یک با ۳ سطح غذادهی شامل؛ محیط بیوفلاک با نرخ غذادهی به میزان ۲/۵، ۲/۱۲ و ۱/۷۵ در صد (بترتیب BF1، BF2 و BF3) و محیط آب تمیز با نرخ غذادهی به میزان ۲/۵، ۲/۱۲ و ۱/۷۵ درصد (بترتیب NF1، NF2 و NF3) بودند. در تیمارهای بیوفلاک، ۲ هفته بعد از زمان شروع آزمایش برای کنترل و تخلیه فلاک اضافی هر ۲ روز یکبار برای خروج فلاک اضافی ۲۵ در صد از آب مخزن برداشته شد و به مدت حدود یک ساعت در حالت سکون نگه داشته شد و سپس مواد ته‌نشین شده جمع‌آوری و الباقی آب به سیستم پرورش برگشت داده شد (Martins et al., 2017).

۲.۳. سنجش شاخص‌های کیفی آب

شاخص‌های کمی و کیفی آب از قبیل دمای آب، شوری، در صد اشباعیت، میزان اکسیژن محلول و هدایت الکتریکی (EC) توسط دستگاه پورتابل کیفیت سنج آب ساخت شرکت هک آمریکا مدل D40 بصورت مستمر اندازه‌گیری شد. میزان pH آب با استفاده از pH متر مدل ۸۲۷ مترم سوئیس انجام گردید و قلیائیت به روش تیتراسیون و غلظت نیترژن غیر آلی محلول شامل آمونیاک کل (TAN)، نترات (NO_3^-) و فسفات با استفاده از اسپکتروفتومتر بر اساس استاندارد آزمایشگاه (APHA, 1998) سنجش شد.

۲.۴. اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و تغذیه

در پایان دوره آزمایش، وزن ماهیان در هر مخزن با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم و طول آن‌ها با استفاده از تخته بیومتری با دقت ۰/۱ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد تا شاخص‌هایی چون افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب چاقی و ضریب تبدیل غذایی بر اساس فرمول‌های ذیل محاسبه گردد.

= افزایش وزن (WG, g)

میانگین وزن نهایی (گرم) - میانگین وزن اولیه (گرم)

بیوشیمیایی خون و کیفیت آب در سیستم پرورشی بیوفلاک ماهی کپور معمولی در مقایسه با سیستم آب تمیز بود.

۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. تهیه استوک اولیه بیوفلاک

برای آماده سازی مخزن اولیه بیوفلاک دو مخزن مدور و هر یک با حجم آبگیری ۵۰ لیتر تهیه و در هر یک از آنها برای تشکیل بیوفلاک از ۰/۲۵ گرم خاک بستر، ۱۰ گرم غذای تجاری (۳۸ درصد پروتئین)، ۰/۲۵ گرم اوره (۴۶ در صد نیترژن)، ۲/۵ گرم آرد گندم (۶۰ در صد کربن) و ۱۲/۵ گرم ملاس چغندر قند (۴۰ درصد کربن) استفاده شد (Avnimelech, 1999). برای تسریع در تشکیل بیوفلاک مخازن به مدت ۱۰ روز بطور مداوم در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد هوادهی شدند. هنگامیکه مقدار جامدات معلق کل در آب (TSS) به حدود ۲۰۰ تا ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر و مقدار آمونیاک کل کمتر از ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر رسید، نیز هوادهی قطع شد (Avnimelech, 1999). در ابتدای آزمایش به هر مخزن پرورش ماهی به مقدار ۱۰ درصد حجم آبگیری فلاک اولیه اضافه شد.

۲.۲. ماهی کپور و شرایط تغذیه

تعداد ۵۰۰ قطعه ماهی کپور معمولی تهیه و به آزمایشگاه آبی‌پروری دانشگاه گنبد کاووس انتقال داده شد. دوره سازگاری با شرایط آزمایشگاه ۱۰ روز بود. در این آزمایش، غذای تجاری شرکت فرادانه با پروتئین ۳۸-۴۱، چربی ۴-۸، فیبر ۳-۶، خاکستر ۱۱-۷، رطوبت ۵-۱۱ و فسفر ۱-۱/۵ درصد به میزان ۲/۵ درصد وزن بدن، ۲/۱۲ درصد وزن بدن و ۱/۷۵ درصد وزن بدن و به مدت ۶۰ روز غذادهی شدند. برای حفظ نسبت کربن به نیترژن ورودی، از ملاس استفاده شد. ماهی‌ها با میانگین وزنی $9/04 \pm 0/44$ گرم بطور تصادفی در ۶ تیمار آزمایشی و هر یک با ۳ تکرار در ۱۸ مخزن با حجم آبگیری ۵۰ لیتر جایابی شدند. گروه‌های آزمایشی در

Bio-Tek آمریکا جذب نوری اولیه در طول موج ۵۳۰ nm قرائت و پس از یک ساعت نگهداری در دمای اتاق، مجدداً جذب نوری اندازه‌گیری شد. هر واحد از فعالیت لایزوزیم بر اساس کاهش جذب (۰/۰۰۱ در دقیقه) تعیین شد. سطوح کورتیزول سرم با استفاده از کیت آزمایشگاهی به روش ELISA تعیین شد.

۲.۶. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

قبل از تجزیه و تحلیل آماری، نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون Shapiro-Wilk بررسی شد. از آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) برای مقایسه آماری تیمارها و از روش دانکن برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارهای مختلف آزمایشی استفاده شد. در آزمون‌های آماری سطح معنی‌دار ۰/۰۵ در نظر گرفته شد ($P < 0/05$). از روش تجزیه واریانس دوطرفه (Two-Way ANOVA) برای بررسی اثر متقابل محیط پرورش (بیوفلاک و آب تمیز) و سه سطح غذایی (۲/۵، ۲/۱۲، و ۱/۷۵ درصد وزن بدن) استفاده شد. رسم نمودار و تجزیه و تحلیل داده‌ها به ترتیب با استفاده از نرم‌افزار Excel و SPSS در محیط ویندوز انجام شد.

۳. نتایج

شاخص‌های کمی و کیفی آب محیط پرورش ماهی کپور معمولی با سه سطح تغذیه در سیستم بیوفلاک در جدول ۱ آورده شده است. شاخص‌هایی چون دما، پی‌اچ، اکسیژن محلول، هدایت الکتریکی، قلیائیت و کل مواد جامد محلول بین تیمارهای مختلف آزمایشی در سیستم بیوفلاک اختلاف معنی‌دار نداشت. آمونیاک کل در تیمارهای بیوفلاکی در مقایسه با تیمارهای بدون فلاک کاهش داشت. در هر دو محیط تیمارهای با ۱۰۰ درصد غذایی (۲/۵ در صد وزن بدن) نسبت به تیمارهای با ۸۵ و ۷۰ درصد غذایی مقدار آمونیاک کل بیشتری داشتند (شکل ۱).

$$\text{ضریب رشد ویژه} = \frac{\ln(\text{وزن نهایی (gr)}) - \ln(\text{وزن اولیه (gr)})}{\text{مدت زمان پرورش (روز)}} \times 100 \quad (\text{SGR, \%day}^{-1})$$

$$\text{ضریب چاقی (CF)} = \frac{\text{وزن نهایی (gr)}}{\text{توان سوم طول کل ماهی (cm)}} \times 100$$

$$\text{ضریب تبدیل غذایی (FCR)} = \frac{\text{مقدار غذای مصرف شده (gr)}}{\text{وزن نهایی (gr) - وزن اولیه (gr)}}$$

۲.۵. سنجش برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی خون

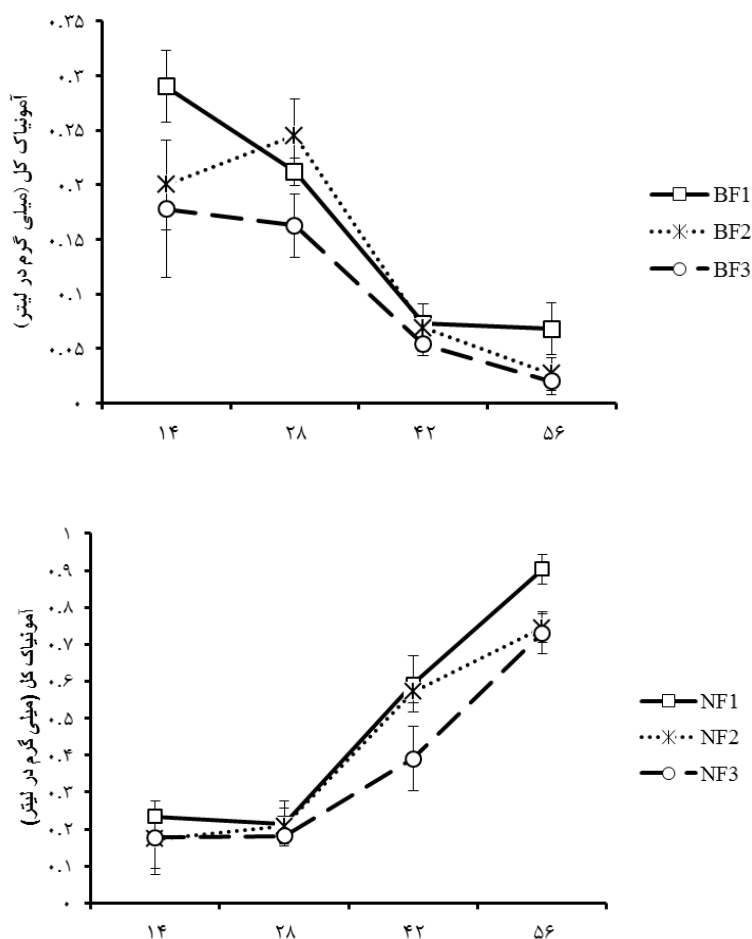
به منظور سنجش برخی از شاخص‌های ایمنی غیر اختصاصی ماهیان تحت تیمار، تعداد ۳ ماهی بطور تصادفی از هر تکرار صید و پس از بیهوشی با ۵ میلی‌گرم در لیتر پودر گل میخک با استفاده از سرنگ ۲ سی‌سی از ورید ساقه دمی خونگیری شد. برای جداسازی سرم، لوله‌های سرولوژی فاقد ماده ضد انعقاد به مدت یک ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه نگهداری و پس از ته‌نشین شدن لخته، در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار با سرعت ۳۰۰۰ دور در ثانیه به مدت ۷ دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت سرم از لخته جدا و به تیوب‌های جدید منتقل و تا زمان شروع آزمایش‌ها مربوط به بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

پروتئین و گلوکز سرم خون با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شد (Borges *et al.*, 2004). میزان ایمونوگلوبولین توسط کیت مخصوص به روش کدورت سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. برای تعیین میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روش ارائه‌شده توسط (Ellis, 1990) استفاده شد. مقدار ۲۵ میکرولیتر از پلازما به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای شکل الایزا افزوده شد. سپس مقدار ۱۷۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococcus Lysodeikticus*) در غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر در ۰/۵ مولار بافر فسفات با پی-اچ ۶/۲ اضافه شد. با استفاده از دستگاه الایزاریدر

جدول ۱- میانگین شاخص‌های کیفی آب محیط پرورش ماهی کپور معمولی تغذیه شده با مقادیر ۱۰۰، ۸۵ و ۷۰ درصد غذادهی در سیستم بیوفلاک و آب تمیز به مدت ۶۰ روز

کل مواد جامد محلول (میلی گرم در لیتر)	هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتیمتر)	پی‌اچ	اکسیژن (میلی گرم در لیتر)	دما (سانتیگراد)	
۵۱۲/۵۰ ± ۴۸/۱۹	۱۰۴۳/۵۰ ± ۹۰/۲۸	۷/۷۷ ± ۰/۱۲	۷/۰۳ ± ۰/۳۸	۲۴/۳۵ ± ۰/۵۷	BF1
۴۷۳/۲۵ ± ۵۱/۲۳	۹۶۱/۶۲ ± ۱۰۱/۲۱	۷/۷۹ ± ۰/۱۰	۷/۲۰ ± ۰/۱۹	۲۴/۲۸ ± ۰/۵۲	BF2
۴۷۲/۸۸ ± ۴۴/۶۴	۹۶۱/۰۰ ± ۸۷/۳۵	۷/۸۳ ± ۰/۰۸	۷/۵۰ ± ۰/۱۹	۲۴/۱۶ ± ۰/۴۹	BF3
۴۵۵/۶۲ ± ۱۳/۰۷	۹۵۲/۶۲ ± ۸۸/۷۱	۷/۷۲ ± ۰/۱۴	۷/۰۵ ± ۰/۵۵	۲۴/۴۰ ± ۰/۵۹	NF1
۴۳۸/۷۵ ± ۱۹/۱۱	۸۹۳/۸۸ ± ۳۸/۱۵	۷/۷۶ ± ۰/۱۴	۷/۰۱ ± ۱/۰۴	۲۴/۳۲ ± ۰/۵۱	NF2
۴۳۸/۲۵ ± ۸/۵۶	۸۹۲/۶۲ ± ۱۷/۶۸	۷/۷۴ ± ۰/۰۹	۷/۴۸ ± ۰/۱۸	۲۴/۲۲ ± ۰/۴۵	NF3

در هر ستون عدم وجود حروف لاتین نشان از عدم وجود تفاوت آماری دارد ($P > 0.05$).



شکل ۱- نمودار مقادیر آمونیاک کل بدست آمده (روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۲ و ۵۶ آزمایش) در محیط بیوفلاک و آب تمیز تحت مقادیر ۱۰۰، ۸۵ و ۷۰ درصد غذادهی (N=9)

مختلف تغذیه کاهش معنی داری آماری داشت. عامل محیط پرورش و درصد غذایی توانست بر مقدار آمونیاک در روز ۴۲ آزمایش اثر معنی داری داشته باشد ($P < 0/05$). تجزیه و تحلیل آماری کل تیمارها در روز ۵۶ آزمایش نشان داد که بیشترین مقدار آمونیاک کل در تیمار NF1 آب تمیز و کمترین آن در تیمارهای بیوفلاکی با سطوح مختلف غذایی بدست آمد. عامل محیط پرورش و درصد غذایی بطور مجزا توانستند بر مقدار آمونیاک کل اثرات معنی دار آماری داشته باشند ($P < 0/05$).

مقدار آمونیاک کل در روزهای مختلف نمونه برداری (۱۴، ۲۸، ۴۲ و ۵۶) در جدول ۲ آورده شده است. روز ۱۴ آزمایش بیشترین میزان آمونیاک کل در تیمارهای با آب تمیز در مقایسه با تیمار بیوفلاک بدست آمد بطوریکه اثر متقابل هم مشاهده نشد. روز ۲۸ آزمایش مقدار آمونیاک کل بطور معنی داری در تیمار BF2 سیستم بیوفلاک افزایش داشت. به طوریکه اثر متقابل نیز مشاهده نشد. روز ۴۲ آزمایش مقدار آمونیاک کل در تیمارهای NF1 و NF2 افزایش و در تیمارهای بیوفلاکی با سطوح

جدول ۲- میانگین مقادیر آمونیاک کل (میلی گرم در لیتر) در روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۲ و ۵۶ آزمایش در محیط بیوفلاک و آب تمیز

۵۶	۴۲	۲۸	۱۴	
$0/068 \pm 0/024^{a-C}$	$0/073 \pm 0/003^{a-C}$	$0/212 \pm 0/013^{ab-AB}$	$0/290 \pm 0/033^{a-A}$	BF1
$0/027 \pm 0/015^{b-C}$	$0/069 \pm 0/022^{a-C}$	$0/245 \pm 0/034^{a-A}$	$0/200 \pm 0/041^{ab-A}$	BF2
$0/020 \pm 0/012^{b-C}$	$0/054 \pm 0/011^{a-C}$	$0/163 \pm 0/029^{b-B}$	$0/178 \pm 0/063^{b-A}$	BF3
$0/903 \pm 0/045^{a-A}$	$0/593 \pm 0/075^{a-A}$	$0/215 \pm 0/061^{a-AB}$	$0/234 \pm 0/018^{a-A}$	NF1
$0/744 \pm 0/038^{b-B}$	$0/572 \pm 0/029^{a-A}$	$0/208 \pm 0/048^{a-AB}$	$0/174 \pm 0/081^{a-A}$	NF2
$0/731 \pm 0/057^{b-B}$	$0/390 \pm 0/087^{b-B}$	$0/181 \pm 0/017^{a-AB}$	$0/177 \pm 0/099^{a-A}$	NF3
$P < 0/001$	$P < 0/001$	NS	NS	محیط پرورش
$P < 0/001$	$P = 0/004$	$P = 0/068$	$P = 0/074$	درصد غذایی
$P = 0/019$	$P = 0/014$	NS	NS	محیط × غذایی

در هر ستون عدم تشابه حروف لاتین نشان از اختلاف آماری معنی دار دارد ($P < 0/05$). حروف کوچک در هر ستون برای مقایسه مجزای میانگینهای گروههای تغذیه ای (BF1، BF2 و BF3) بیوفلاک و گروههای تغذیه ای (NF1، NF2 و NF3) آب تمیز، حروف بزرگ در هر ستون برای مقایسه میانگین کل تیمارهای آزمایشی است ($P < 0/05$).

NS (non-significant) به معنی عدم وجود اثر معنی دار آماری در آزمایش

محیط پرورش و درصد غذایی بصورت مجزا بر وزن نهایی و افزایش وزن تاثیر معنی دار داشت ($P < 0/05$) در حالیکه دو عامل محیط و درصد غذایی بر این شاخصها اثر متقابل نداشت ($P > 0/05$). نرخ رشد ویژه در تیمار BF1 افزایش معنی دار آماری در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی داشت ($P < 0/05$). محیط پرورش و درصد غذایی بصورت مجزا بر نرخ رشد ویژه تاثیر معنی دار داشت ($P < 0/05$) در حالیکه دو عامل محیط و غذا بر نرخ رشد

میانگین دادههای بدست آمده از شاخصهای رشد و تغذیه ماهی کپور معمولی پرورش یافته تحت ۱۰۰، ۸۵ و ۷۰ درصد غذایی در دو سیستم بیوفلاک و آب تمیز در جدول ۳ آورده شده است. وزن نهایی و افزایش وزن بین تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف معنی داری داشت ($P < 0/05$). پایان ۶۰ روز دوره پرورش، بیشترین وزن نهایی و افزایش وزن در تیمار BF1 و کمترین این عوامل در تیمارهای با ۸۵ درصد (BF3 و NF3) به ثبت رسید.

پرورش و درصد غذادهی قرار گرفت ($P < 0.05$) اما دو عامل بطور همزمان بر این شاخص اثر نداشت ($P > 0.05$).

ویژه اثرمتقابل نداشت ($P > 0.05$). کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار بیوفلاک و بیشترین آن در تیمار بدون فلاک بدست آمد. ضریب تبدیل غذایی تحت تاثیر محیط

جدول ۳- میانگین شاخص‌های رشد و تغذیه ماهی کپور تغذیه شده با مقادیر ۱۰۰، ۸۵ و ۷۰ درصد غذادهی در دو سیستم بیوفلاک و آب تمیز به مدت ۶۰ روز

وزن نهایی (گرم)	طول نهایی (سانتیمتر)	افزایش وزن (گرم)	نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	ضریب چاقی (درصد)	ضریب تبدیل غذایی	
۱۶/۷۳ ± ۰/۶۹ ^a	۹/۳۴ ± ۰/۳۳	۷/۷۸ ± ۰/۵۷ ^a	۱/۱۱ ± ۰/۰۵ ^a	۲/۰۶ ± ۰/۲۴ ^a	۱/۲۹ ± ۰/۰۹ ^c	BF1
۱۵/۱۲ ± ۰/۹۸ ^b	۹/۴۰ ± ۰/۳۶	۶/۱۱ ± ۰/۸۴ ^b	۰/۹۲ ± ۰/۰۹ ^b	۱/۸۳ ± ۰/۲۱ ^{ab}	۱/۲۴ ± ۰/۱۶ ^c	BF2
۱۲/۳۷ ± ۱/۱۲ ^d	۹/۴۶ ± ۰/۳۴	۳/۳۱ ± ۱/۲۶ ^d	۰/۵۵ ± ۰/۱۸ ^c	۱/۴۶ ± ۰/۱۳ ^c	۲/۰۵ ± ۰/۸۶ ^{ab}	BF3
۱۴/۹۸ ± ۰/۵۱ ^b	۹/۵۸ ± ۰/۵۶	۵/۸۶ ± ۰/۵۷ ^b	۰/۸۸ ± ۰/۰۸ ^b	۱/۷۲ ± ۰/۲۷ ^{bc}	۱/۶۳ ± ۰/۱۶ ^{bc}	NF1
۱۳/۷۱ ± ۱/۰۷ ^c	۹/۱۴ ± ۰/۳۰	۴/۸۱ ± ۱/۰۸ ^c	۰/۷۶ ± ۰/۱۴ ^b	۱/۸۱ ± ۰/۲۷ ^{ab}	۲/۳۸ ± ۰/۵۵ ^a	NF2
۱۱/۸۰ ± ۰/۵۱ ^d	۹/۱۲ ± ۰/۲۴	۲/۵۹ ± ۰/۶۴ ^d	۰/۴۴ ± ۰/۱۰ ^c	۱/۵۶ ± ۰/۱۲ ^{bc}	۲/۶۰ ± ۰/۶۸ ^a	NF3
						محیط پرورش
						درصد غذادهی
						محیط × غذادهی

در هر ستون عدم تشابه حروف لاتین نشان از اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$). NS (non-significant) به معنی عدم وجود اثر معنی‌دار آماری در آزمایش

فعالیت لایزوزیم بین تیمارهای آزمایشی اختلاف آماری معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). بیشترین مقدار این شاخص در تیمار BF1 و کمترین مقدار آن در تیمارهای BF3، NF2 و NF3 بدست آمد. محیط پرورش و درصد غذادهی بر فعالیت لایزوزیم تاثیر گذاشت ($P < 0.05$). ایمنوگلوبین در تیمارهای آزمایشی تفاوت داشت ($P < 0.05$) بطوریکه بیشترین مقدار آن در تیمارهای با بیشترین درصد غذادهی (۱۰۰ و ۸۵ درصد) در دو محیط پرورش و کمترین مقدار ایمنوگلوبین در تیمار با کمترین مقدار غذادهی (۷۰ درصد) در دو محیط پرورش بدست آمد. محیط پرورش و درصد غذادهی بر مقدار ایمنوگلوبین تاثیر گذاشت ($P < 0.05$).

نتایج تجزیه برخی شاخص‌های بیوشیمیایی خون ماهی کپور تغذیه شده با سه سطح غذادهی در دو محیط پرورش در جدول ۴ آورده شده است. مقادیر گلوکز و پروتئین بین تیمارهای مختلف غذایی و محیطی اختلاف آماری داشت ($P < 0.05$). اثر متقابل بین محیط و درصد غذادهی بر مقدار گلوکز خون وجود داشت ($P < 0.05$). مقدار کورتیزول بین دو گروه ماهی در محیط بیوفلاک و آب تمیز اختلاف معنی‌دار آماری داشت ($P < 0.05$) بطوریکه درصد غذادهی بر مقدار این هورمون اثر معنی‌دار نداشت ($P > 0.05$). بیشترین مقدار این هورمون در آب تمیز و کمترین آن در محیط بیوفلاک به ثبت رسید. اثر متقابل بین محیط و غذادهی وجود داشت ($P < 0.05$).

جدول ۴- تجزیه بیوشیمیایی خون ماهی کپور تغذیه شده با سه سطح غذایی در دو محیط بیوفلاک و آب تمیز

ایمنوگلوبین (میلی گرم در دسی لیتر)	لایوزیم (میلی گرم در میلی لیتر)	کورتیزول (میکروگرم در دسی لیتر)	پروتئین (گرم در دسی لیتر)	گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)	
۱۳/۶۰ ± ۰/۶۲ ^a	۳۶/۱۱ ± ۰/۴۵ ^a	۵۳/۰۴ ± ۳/۴۹ ^b	۲/۴۲ ± ۰/۲۲ ^a	۱۲۴/۷۲ ± ۳/۶۰ ^a	BF1
۱۳/۵۱ ± ۰/۱۰ ^a	۳۳/۰۵ ± ۰/۳۵ ^{ab}	۵۱/۶۵ ± ۲/۶۹ ^b	۲/۳۰ ± ۰/۱۱ ^{ab}	۱۰۵/۰۶ ± ۱۰/۹۳ ^b	BF2
۱۰/۶۹ ± ۰/۲۹ ^b	۲۴/۴۰ ± ۳/۸۴ ^c	۵۰/۴۲ ± ۰/۹۳ ^b	۱/۹۴ ± ۰/۰۸ ^{cd}	۷۸/۳۷ ± ۷/۰۷ ^c	BF3
۱۲/۸۴ ± ۰/۴۱ ^a	۳۱/۹۶ ± ۰/۵۲ ^b	۶۱/۳۰ ± ۲/۸۴ ^a	۲/۱۵ ± ۰/۱۲ ^{bc}	۱۳۳/۹۵ ± ۳/۱۶ ^a	NF1
۱۲/۷۵ ± ۰/۶۶ ^a	۲۵/۰۶ ± ۱/۰۰ ^c	۶۲/۴۱ ± ۰/۸۷ ^a	۲/۱۹ ± ۰/۰۹ ^{abc}	۱۰۴/۱۸ ± ۵/۲۲ ^b	NF2
۱۰/۵۱ ± ۰/۴۹ ^b	۲۳/۱۷ ± ۱/۳۳ ^c	۶۳/۶۸ ± ۱/۱۱ ^a	۱/۸۹ ± ۰/۱۳ ^d	۸۵/۵۰ ± ۱/۶۰ ^c	NF3
P = ۰/۰۲۲	P = ۰/۰۰۱	P < ۰/۰۰۱	P = ۰/۰۴۳	NS	محیط پرورش
P < ۰/۰۰۱	P < ۰/۰۰۱	NS	۰/۰۰۱	P < ۰/۰۰۱	درصد غذایی
P < ۰/۰۰۱	P < ۰/۰۰۱	P < ۰/۰۰۱	P < ۰/۰۰۱	P < ۰/۰۰۱	محیط × غذایی

در هر ردیف ستون مشابه حروف لاتین نشان از اختلاف آماری معنی دار می باشد ($P < ۰/۰۵$). NS (non-significant) به معنی عدم وجود اثر معنی دار آماری در آزمایش

۴. بحث و نتیجه گیری

اما بیوفلاک توانست بر مقدار آمونیاک کل تأثیر گذاشته و مقدار آن را نسبت به محیط بدون فلاک کاهش دهد. در سال های اخیر مطالعات متعددی سیستم بیوفلاک را مورد ارزیابی قرار دادند که بطور کلی در صورت تنظیم نسبت کربن به نیتروژن می توان این سیستم را به عنوان یک محیط آبی مناسب برای پرورش ماهیان همه چیزخوار و کفزی خوار از جمله ماهی کپور معمولی معرفی کرد. در این راستا، عظیمی و همکاران (۱۳۹۵) گزارش دادند که بکارگیری نسبت کربن به نیتروژن (۱۵:۱) باعث بهبود شاخص های کیفی آب و کاهش مصرف آب در سیستم بیوفلاک می شود.

مدیریت تغذیه و غذایی، از فاکتورهای مهم در صنعت آبی پروری بشمار می آیند (Wang et al., 2009). یکی از راهکارهای اساسی برای افزایش میزان سوددهی در فعالیت های آبی پروری بدست آوردن رشد مطلوب است. در مطالعه حاضر، شاخص های رشد و تغذیه همچون وزن و طول نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب چاقی و ضریب تبدیل غذایی اختلاف معنی دار آماری در تیمارهای آزمایشی نشان داد. بیشترین مقادیر بدست

در راستای افزایش تولید آبیان در صنعت آبی پروری استفاده از فناوری های نو جهت کاهش ورود فاضلاب های پرورش ماهی به محیط زیست مورد توجه محققین قرار گرفته است. فناوری بیوفلاک برای تحقق آبی پروری پایدار در حال توسعه است که با استفاده بهینه از منابع آبی، کاهش آلودگی ناشی از تخلیه مواد نیتروژنی به اکوسیستم ها، افزایش و پایداری در تولید آبیان می توان به آن دست یافت (Crab et al., 2012). یکی از فاکتورهای مهم برای پرورش آبیان کنترل و مدیریت کیفیت آب محیط پرورش است که بر اساس گزارش های منتشر شده فناوری بیوفلاک، فن افزایش کیفیت آب از طریق تزریق کربن به سیستم آبی پروری است (Avnimelech, 2008). در مطالعه حاضر، اختلاف معنی دار آماری بین تیمارهای تغذیه ای با سطوح مختلف غذایی در شاخص های دما، پی-اچ، اکسیژن محلول، هدایت الکتریکی، قلیائیت و کل مواد جامد محلول وجود نداشت. با افزایش مقدار غذایی نیز مقدار آمونیاک کل در دو محیط پرورش بیشتر شد،

خود نشان دادند که در سیستم بیوفلاک می‌توان سطح پروتئین جیره غذایی ماهی کپور معمولی را از ۳۵ درصد به ۲۷ درصد کاهش داد که نشان از کمک بیوفلاک به سلامت فیزیولوژیک ماهی است.

بر اساس گزارشات منتشر شده نرخ غذایی به طور معمول می‌تواند بخاطر مصرف زیست توده بیوفلاک توسط آبزیان همچون میگو بیش از ۳۰ درصد کاهش یا بد (Panjaitan, 2004). در همین راستا، جایگزینی ۲۵ درصد از نرخ غذایی غذای روزانه منجر به بهبود کارایی رشد، فعالیت آنزیم‌های هضمی و شرایط کبدی ماهی کپور معمولی در سیستم بیوفلاک می‌گردد (Najdegerami *et al.*, 2016). همچنین پرورش ماهی تیلاپیا در محیط بیوفلاک بدون تعویض آب توانایی کاهش نرخ غذایی تا حدود ۲۰ درصد در مقایسه با سیستم‌های پرورش معمول با تبادل آب را دارا است (Avnimelech *et al.*, 1994). به‌طور کلی در سیستم پرورشی بیوفلاک، بازده غذایی به‌دلیل حضور منبع تغذیه اضافی برای ماهی به‌صورت بیوماس میکروبی نسبت به روش‌های معمولی پرورش بهتر است (Ekasari *et al.*, 2010). شاخص‌های خونی تحت تاثیر عوامل محیطی، تغذیه و غیره قرار می‌گیرد (Fanouraki *et al.*, 2007). بنابراین سنجش شاخص‌های خونی یکی از شاخص‌های مهم و قابل اطمینان در بررسی وضعیت سلامت و فیزیولوژی ماهیان است. ترکیبات فعال زیستی همچون کلروفیل‌ها، کاروتنوئیدها، فیتوستول‌ها، بروموفنل‌ها، قندهای آمینو (Ju *et al.*, 2008) و ترکیبات ضد باکتری (Crab *et al.*, 2010) در محیط‌های حاوی فلاک می‌تواند اثرات مثبت قابل توجهی بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون داشته باشد. همچنین گزارش شده است که برخی از ترکیبات فعال زیستی در بیوفلاک قادر به بهبود وضعیت سلامت فیزیولوژیک موجودات پرورشی می‌باشد و ممکن است به‌عنوان محرک‌کننده ایمنی عمل کند (Zhao *et al.*, 2013). نتایج مطالعه حاضر حاکی از این است که کمترین مقدار هورمون کورتیزول در همه تیمارهای بیوفلاک بدست آمد که نشان از ضد استرس بودند محیط بیوفلاک است (Adineh *et al.*, 2019). در

آمده از شاخص‌های رشد در تیمار BF1 و کمترین آن در تیمار BF3 و NF3 بدست آمد. این نتایج نشان از اثر محیط پرورش و درصد غذایی به‌صورت مجزا دارد و اثر متقابل بین محیط و درصد غذایی بر مقدار شاخص‌های رشد وجود نداشت. ضریب تبدیل غذایی بین تیمارهای آزمایشی اختلاف آماری داشت بطوریکه کمترین آن در تیمارهای BF1 و BF2 و بیشترین این معیار در تیمارهای NF2 و NF3 بدست آمد. محیط پرورش و درصد غذایی بطور مجزا بر ضریب تبدیل غذایی تاثیر معنی‌دار دارد، در حالیکه اثر متقابل محیط و درصد غذایی مشاهده نشد. اگرچه به دلیل کیفیت پایین بچه ماهی، رشد پس از ۶۰ روز دوره پرورش در حد مطلوب نبود، اما مقایسه آماری نشان از تاثیر مثبت محیط بیوفلاک در مقایسه با محیط آب تمیز داشت. به‌نظر می‌رسد افزایش عملکرد رشد و بهره‌وری تغذیه در سیستم بیوفلاک به‌خاطر کیفیت خوب آب محیط پرورش باشد (Wang *et al.*, 2015)، بیوفلاک می‌تواند بطور مستمر توسط ماهی به‌عنوان یک منبع غذایی با کیفیت خوب مصرف شود (Ekasari and Maryam., 2012). در این مطالعه، پایین بودن ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای بیوفلاک BF1 و BF2 با مقادیر ۲/۵۰ و ۲/۱۲ در صد وزن بدن غذایی در مقایسه با تیمارهای آب تمیز (NF2 و NF3) می‌تواند بدلیل تولید و مصرف متناسب پروتئین میکروبی باشد (Bakhshi *et al.*, 2018). از اهداف قابل توجه تولید آبزیان در سیستم بیوفلاک می‌توان به کاهش هزینه تولید، افزایش تولید در واحد سطح و کاهش بارآلودگی محیط زیست اشاره کرد. در مطالعه حاضر برای بهینه‌سازی مصرف غذای ماهی کپور معمولی در سیستم بیوفلاک از کاهش غذایی و به‌عبارتی جایگزینی فلاک در محیط پرورش بجای غذای تجاری استفاده شد. علاوه بر این در راستای استفاده حداکثری از محیط بیوفلاک، آدینه و همکاران (Adineh *et al.*, 2019) گزارش دادند که تراکم ماهی کپور معمولی در سیستم بیوفلاک را می‌توان از ۶ به ۱۲ کیلوگرم بر مترمکعب افزایش داد. علاوه بر این محمودی خوش دره‌گی و همکاران (۱۳۹۸) در گزارش

موثر هستند (Saurabh and Sahoo, 2008).

بیشتر مطالعات انجام شده متمرکز بر محرومیت غذایی و یا تناوب غذایی در سیستم‌های معمولی پرورش است در حالیکه در مطالعه حاضر از کاهش درصد غذادهی در سیستم بیوفلاک استفاده شد. در گزارشی که اثر گرسنگی بر ایمنی غیر اختصاصی همچون میزان فعالیت لایزوزیم در ماهی شانک زرد باله انجام شده بود مشخص گردید که گروه تغذیه نشده سایز ۷/۴۶ گرم کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه تغذیه نشده با سایز ۱۸/۰۱ گرم داشت (اکبری، ۱۳۹۵) که این تغییرات وابسته به سن، اندازه، جنس و گونه ماهی است (Caruso *et al.*, 2012). از آنجائیکه گرسنگی حالت استرس مزمن محسوب می‌شود، بنابراین عدم کنترل و تنظیم این فرایند می‌تواند منجر به مهار رشد، اختلال در تولیدمثل و پاسخ ایمنی شود (Liu *et al.*, 2020) از اینرو برای تنظیم مقدار غذای تجویزی در مزارع پرورش بخصوص محیط‌های حاوی بیوفلاک اینگونه تحقیقات پایه مورد نیاز است. این مطالعه نشان داد که تغذیه ماهی کپور معمولی به میزان ۲/۱۲ تا ۲/۵ درصد وزن بدن از غذای تجاری در سیستم بیوفلاک در مقایسه با استفاده از سیستم آب تمیز می‌تواند بر عملکرد رشد و ایمنی ماهی تأثیر مثبت معنی‌داری داشته باشد. بطور کلی کیفیت آب محیط بیوفلاک نسبت به محیط آب تمیز بهتر و با افزایش مقدار غذادهی مقدار آمونیاک افزایش یافت.

تقدیر و تشکر

این مقاله استخراج از طرح ثبت شده به شماره ۶/۱۹۱ در دانشگاه گنبد کاووس است. نویسنده از حمایت مالی معاونت آموزشی و پژوهشی دانشگاه تشکر و قدردانی می‌نماید.

این راستا، بکارگیری منابع مختلف کربن (تاپیکو، گندم، ذرت و تفاله چغندر قند) توانست باعث کاهش کورتیزول و گلوکز ماهی روهو (*Labeo rohita*) در تیمار بیوفلاک بر پایه تاپیکو شود (Irshad Ahmad *et al.*, 2016). در ماهی، تولید کورتیزول از بافت بین کلیوی توسط فاکتور آزاد کننده کورتیکوتروفین (CRF) رخ می‌دهد و در مقابل ترشح هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک (ACTH) از بخش قدامی غده هیپوفیز مانع از ترشح کورتیزول می‌گردد (Fryer and Lederis, 1986). هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک هورمونی است که اغلب به دنبال کاهش سطح گلوکوکورتیکوئیدها یا افزایش نیاز بدن در مواردی مانند استرس آزاد می‌شود.

در این پژوهش، بیشترین میزان فعالیت لایزوزیم و ایمنوگلوبین در تیمارهای با ۱۰۰ و ۸۵ درصد غذادهی برابر ۲/۵ و ۲/۱۲ درصد در دو محیط بیوفلاک و آب تمیز بدست آمد که مشخص می‌کند که برآورد شدن نیاز غذایی ماهی کپور معمولی بالای ۲ درصد است و در صورت کاهش غذادهی علاوه بر کاهش عملکرد رشد، شاخص‌های ایمنی همچون لایزوزیم و ایمنوگلوبین نیز کاهش می‌یابد. در فعالیت‌های آبی‌پروری هزینه غذا ۴۰ تا ۵۰ درصد هزینه پرورش را به خود اختصاص می‌دهد (Kumar *et al.*, 2017). غذایی که در اختیار ماهی قرار داده می‌شود با نوسانات کوتاه مدت اشتهای ماهی، تغییرات تقاضای غذا همگام با رشد ماهی و دمای آب و سایر تغییرات فاکتورهای زیست محیطی ارتباط دارد. اثر استراتژی‌های مختلف غذایی در حد سیری و غذادهی محدود بر شاخص‌های خونی تاس ماهی سیبری *Acipenser baerii* در اندازه‌های بزرگ و کوچک نشان داد که این استراتژی اثرات نامطلوبی بر فاکتورهای خونی نداشت (جعفری و همکاران، ۱۳۹۷). در بین فاکتورهای خونی، مونوسیت‌ها از جمله سلول‌های عملکردی فرعی محسوب می‌شوند و با تولید لایزوزیم در ایمنی ماهیان

۵. منابع

References

- Adineh, H., Naderi, M., Kademi 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 & shellfish immunology* 95, 440-448.
- Akbary, P., 2016. Effects of Fasting on Growth Patterns, Body Chemical Composition and Non-Specific Immune Parameters in Two Weights of Yellow Fin Seabream, *Acanthopagrus latus*, Houttyn, 1782. *Journal of Fisheries* 69(2), 133-143. (In Persian)
- APHA., 1998. Standard Methods for the Examination of the Water and Wastewater, 22nd ed. American Public Health Association, Washington, DC.
- Avnimelech, Y., 1999. Carbon and nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture* 176, 227-235.
- Avnimelech, Y., Kochva, M., Diab, S., 1994. Development of controlled intensive aquaculture systems with a limited water exchange and adjusted carbon to nitrogen ratio. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* 46(3), 119-131.
- Avnimelech, Y., Verdegem, M.C.J., Kurup, M., Keshavanath, P., 2008. Sustainable land based aquaculture: rational utilization of water, land and feed resources. *Mediterranean Aquaculture Journal* 1, 45-55.
- 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(1-4), 29-35.
- Azimi, A., Jafaryan, H., Harsij, M., Gholipour, H., Patimar, R., 2017. Eeffec of C/N different ratios on water quality parameters and growth performance of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings in biofloc system. *Journal of Aquaculture Development* 10(4), 75-89. (In Persian)
- Bakhshi, F., H Najdegerami, E., Manaffar, R., Tokmechi, A., Rahmani Farah, K., Shalizar Jalali, A., 2018. Growth performance, haematology, antioxidant status, immune response and histology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fed biofloc grown on different carbon sources. *Aquaculture Research* 49(1), 393-403.
- Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F., 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry* 30, 21-25.
- Caruso, G., Denaro, M. G., Caruso, R., Genovese, L., Mancari, F., Maricchiolo, G., 2012. Short fasting and refeeding in red porgy (*Pagrus pagrus*, Linnaeus 1758): Response of some haematological, biochemical and non-specific immune parameters. *Marine Environmental Research* 81, 18-25.
- 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. *Aquacultural Engineering* 41, 559-567.
- Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W., 2012. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. *Aquaculture* 356, 351-356.
- 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(3-4), 125-137.
- Ekasari, J., Crab, R., Verstraete, W., 2010 Primary nutritional content of bio-flocs cultured with different organic carbon sources and salinity. *Hayati Journal of Biosciences* 17(3),125-130.
- Ekasari, J., Maryam, S., 2012. Evaluation of biofloc technology application on water quality and production performance of red tilapia *Oreochromis sp.* cultured at different stocking densities. *Hayati journal of Biosciences* 19(2), 73-80.

- Ellis, A.E., 1990. Lysozyme assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Robertson, B.S., Van Muiswinkel, publication. pp. 101-103.
- Emerenciano, M., Gaxiola, G., Cuzon, G., 2013. Biofloc Technology: A review for aquaculture application and animal food industry. *Biomass now-cultivation and utilization* 301-328.
- Enache, I., Cristea, V., Ionescu, T., Ion, S., 2011. The influence of stocking density on the growth of common carp, *Cyprinus carpio*, in a recirculating aquaculture system. *Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation - International Journal of the Bioflux Society* 4, 146-153.
- Fanouraki, E., Divanach, P., Pavlidis, M., 2007. Baseline values for acute and chronic stress indicators in sexually immature red porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture* 265 (1-4), 294-304.
- FAO., (2020). FAO yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics. 2018. Rome, Italy.
- Fryer, J.L., Lederis, K., 1986. Control of corticotropin secretion in teleost fishes. *American Zoologist* 26, 1017-1026.
- Irshad Ahmad. H., Verma, A.K., Babitha Rani, A.M., Rathore, G., Saharan, N., Gora, A.H., 2016. Growth, non-specific immunity and disease resistance of *Labeo rohita* against *Aeromonas hydrophila* in biofloc systems using different carbon sources. *Aquaculture* 456, 61-67.
- Jafary Pastaky, N., Falahatkar, B., Sajjadi, M., 2018. Effect of feeding strategies on growth performance and hematological indices of Siberian sturgeon *Acipenser baerii* (Brandt, 1869) at different sizes. *Aquatics Physiology and Biotechnology* 6(2),1-22. (In Persian)
- Ju, Z.Y., Forster, I., Conquest, L., Dominy, W., 2008. Enhanced growth effects on shrimp, *Litopenaeus vannamei* from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet. *Aquaculture Nutrition* 14, 533-543.
- Kumar, P., Jain, K.K., MunilKumar, S., Sudhagar, S.A., 2017. Alternate feeding strategies for optimum nutrient utilization and reducing feed cost for semi-intensive practices in aquaculture system-A review. *Agricultural Reviews* 38(2), 145-151.
- Liu, X., Shi, H., He, Q., Lin, F., Wang, Q., Xiao, S., Zhao, H., 2020. Effect of starvation and refeeding on growth, gut microbiota and non-specific immunity in hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂). *Fish and Shellfish Immunology* 97, 182-193.
- Mahmoudi Khoshdarehgi, M., Haji Moradloo, A., Dastar, B., 2019. Determining the appropriate level of protein in diet of *Cyprinus carpio* fry based on some parameters of growth, blood and serum biochemistry in biofloc system. *Journal of Applied Ichthyological Research* 7(1), 61-84. (In Persian)
- 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.
- 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(2), 457-465.
- Panjaitan, P., 2004. Field and laboratory study of *Penaeus monodon* culture with zero water exchange and limited water exchange model using molasses as a carbon source. Ph.D. Thesis, Charles Darwin Univ., Darwin, NT, Australia.
- Saurabh, S., Sahoo, P.K., 2008. Lysozyme: an important defiance molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research* 39(3), 223-239.
- Schneider, O., Sereti, V., Eding, E.H., Verreth, J.A.J., 2005. Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 32, 379-401.

- 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 Chemistry* 99, 335-341.
- Wang, G., Yu, E., Xie, J., Yu, D., Li, Z., Luo, W., 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.
- Wang, N., Xu, X., Kestemont, P., 2009. Effect of temperature and feeding frequency on growth performances, feed efficiency and body composition of pikeperch juveniles (*Sander lucioperca*). *Aquaculture* 289, 70-73.
- Xu, W.J., Pan, L.Q., Zhao, D.H., Huang, J., 2012. Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks. *Aquaculture* 350, 147-153.
- Zhao, Z.G., Xu, Q.Y., Luo, L., Yin, J.S., Wang, C.A., 2013. Effect of adding carbon source on growth of fish and water quality in Songpu mirror Carp (*Cyprinus specularis* Songpu) pond. *Journal of Northeast Agricultural University* 44 (9), 105-112.