محیط زیست طبیعی، منابع طبیعی ایران، دورهٔ ۶۸، شمارهٔ ۲، تابستان ۱۳۹۴
صفحات ۲۵۵-۲۴۷

کاهش آثار زیست‌محیطی پساب قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با استفاده از فناوری بیوفلوک

وفا فرهمندی[۱]، امیر توکمه‌چی[۲*]، نصراله احمدی‌فرد[۳]، کوروش سروی مغانلویی[۴]، رضا ملک‌زاده ویایه[۵]
۱، ۳ ، ۴. گروه شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه
۲ ، ۵. گروه پاتوبیولوژی و کنترل کیفی، پژوهشکدهٔ آرتمیا و آبزیان، دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۱۶- تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۱۱/۱۹)

چکیده

قزل‌آلای رنگین‌کمان یکی از گونه‌های اصلی تولید آبزیان کشور است. پساب‌های غنی از مواد آلی حوضچه‌های پرورشی این نوع ماهی وارد محیط و سبب تغییر در اکوسیستم‌های طبیعی می‌شود. با فناوری بیوفلوک و متعادل‌کردن نسبت کربن به نیتروژن، می‌توان به کمک میکروارگانیسم‌های هتروتروف مواد دفعی آبزی را تجزیه و از آلودگی‌های زیست محیطی جلوگیری کرد. در این مطالعه تولید بیوفلوک برای تبدیل فضولات و کاهش آلودگی، بررسی شد. چهار تیمار مختلف شامل تیمارهای شاهد (بدون منبع کربنی)، ملاس، شکر و ترکیب ملاس و شکر (به نسبت مساوی) هر کدام با سه تکرار طراحی شد. میزان ۲۰۰ گرم فضولات ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به همراه ۶ لیتر از آب خروجی استخرهای پرورشی به داخل زوک‌های شیشه‌ای ۶ لیتری منتقل شد. سپس زوک‌ها در محلی با دمای ثابت (۲۵°C) و هوادهی مداوم قرار داده شدند. سپس با اندازه‌گیری ترکیبات نیتروژنی فضولات، مقادیر لازم از کربوهیدرات‌ها محاسبه و به تیمارها اضافه شدند. طول مدت مطالعه ۷۲ ساعت بود و طی آن ترکیبات نیتروژنی به همراه pH تیمارهای مختلف روزانه اندازه‌گیری و ثبت شد. نتایج نشان داد که در تیمار شاهد ترکیبات نیتروژنی به شکل نهایی نیترات تجمع می‌یابد که میزان آن از نظر آماری با سایر تیمارها اختلاف معنادار داشت ($P<0/05$). همچنین، در سایر تیمارها، نیترات توسط باکتری‌های هتروتروف جذب و به بیوفلوک تبدیل شد. براساس این نتایج می‌توان نتیجه گرفت که در فناوری بیوفلوک با تبدیل ترکیبات نیتروژنی به بیوفلوک و خارج‌کردن آن از محیط، آلودگی ترکیبات نیتروژنی پساب‌ها به‌صورت چشمگیری کاهش پیدا می‌کند.

کلیدواژگان: بیوفلوک، پساب، ترکیبات نیتروژنی، قزل‌آلای رنگین‌کمان.

* نویسندهٔ مسئول ، تلفن: ۰۹۱۴۱۴۷۳۲۰۱
Email: atokmachi@gmail.com

۱. مقدمه

در حال حاضر حدود نیمی از آبزیان تولیدی در جهان حاصل فعالیت‌های آبزی‌پروری هستند (FAO, 2012). در کشور ما نیز طی سال‌های اخیر پیشرفت چشمگیری در صنعت پرورش آبزیان به وجود آمده است که در تأمین بخش عمده‌ای از پروتئین مورد نیاز کشور تأثیرگذار بوده است. از مسائل نگران‌کننده در صنعت آبزی‌پروری تخلیهٔ زیستی پساب غنی از مواد مغذی (آلی و معدنی) حاصل از مزارع پرورشی در طبیعت است. در مطالعات مختلف تفاوت در عوامل فیزیکوشیمیایی آب ورودی و خروجی مزارع پرورش آبزیان گزارش شده است (Goddard, 1995). هرچند خودپالایی در رودخانه‌های حامل پساب‌ها نیز مطالعه شده و نشان داده است که رودخانه‌ها توانایی خودپالایی دارند، اما تغییرات اقلیمی و خشکسالی موجب تغییر در دبی رودخانه‌ها شده است که این تغییر در خودپالایی رودخانه‌ها نیز تأثیر می‌گذارد و در بلندمدت قابل لمس‌تر خواهد بود. با شناسایی مواد آلاینده در پساب می‌توان راهکارهایی برای حذف یا کاستن غلظت آن یافته و از این طریق به توسعهٔ پایدار در آبزی‌پروری و حفظ محیط زیست دست یافت.

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از گونه‌های اصلی پرورشی در ایران است و از جیرهٔ غذایی حاوی ۳۰ تا ۴۵ درصد پروتئین استفاده می‌کند (Nafisi Behabadi, 2006). آمونیاک که محصول نهایی هضم پروتئین است توسط ماهی دفع یا از تجزیهٔ ادرار، مدفوع ماهی و غذاهای مصرف‌نشده در پساب مزارع رها می‌شود (Goddard, 1995). ۷۰ درصد از آمونیوم و آمونیاک در پساب ماهی را ناشی از مواد جامد آلی می‌دانند. مقادیر ضایعات جامد تولیدشده به‌ازای هر تن تولید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ۰/۵۲ تا ۰/۶۵ تن در سال برآورد شده است (Merican & Phillips, 1985). این حجم پساب می‌تواند خسارت جبران‌ناپذیری را به اکوسیستم وارد کند و موجب تأثیر جدی و دگرگونی اکوسیستم‌ها در طولانی‌مدت شود (Naylor *et al.*, 1998). آمونیاک فرم سمّی در مقادیر کم سبب تغییرات فیزیولوژیک و مورفولوژیک و در مقادیر بالا سبب تلفات آبزیان می‌شود (Campbell, 1999; Esmaili Sary, 2004).

ازجمله راهکارهای حفظ تولید پایدار صنعت آبزی‌پروری؛ بازیابی پساب، رعایت فواصل مناسب در احداث مزارع پرورشی، احداث حوضچه‌های رسوبگیر پس از خروجی، حذف مواد زاید و غیره است. یکی دیگر از شیوه‌های نوین در پرورش فوق متراکم آبزیان فناوری بیوفلوک است. فناوری بیوفلوک شامل استفاده از باکتری‌های هتروتروف، ریزجلبک‌ها، زئوپلانکتون‌های غذایی و آغازیان و غیره برای تجزیهٔ مواد دفعی آبزی پرورشی، غذای مصرف‌نشده و بقایای جانوری- گیاهی است (Avnimelech, 2012). نام این سیستم از توانایی تجزیه و ذره‌ذره کردن مواد زاید محیطی[1] توسط باکتری‌ها گرفته شده است. براساس منابع موجود سیستم بیوفلوک نخستین‌بار در اوایل ۱۹۷۰ در فرانسه با گونه‌های متفاوت میگوهای پنائیده[2] به کار رفت (Aquacop, 1975). فناوری بیوفلوک در مقیاس آزمایشگاهی در دههٔ ۱۹۸۰ تا ۱۹۹۰ تحلیل و بررسی شد (Wyban & Sweeney, 1990; Hopkins *et al.*, 1993). این سیستم را می‌توان به‌صورت کشت با آبزی پرورشی یا مجزا ایجاد کرد. باکتری‌های هتروتروف که مهم‌ترین نقش را در این سیستم ایفا می‌کنند، با استفاده از مواد آلی موجود در پساب‌ها و فضولات و با افزودن منابع کربنی ارزان‌قیمت مانند ملاس، گلیسرول، آرد ذرت و آرد گندم، رشد می‌کنند و سبب تصفیهٔ پساب و حذف کامل آمونیاک می‌شوند همچنین خود به‌منزلهٔ منبع غذایی توسط آبزی پرورشی و دیگر ارگانیسم‌های موجود در محیط استفاده می‌شوند. اساس این سیستم را هوادهی شدید و ایده‌آل‌بودن نسبت کربن به نیتروژن تشکیل می‌دهد (Avnimelech, 2009). مطالعهٔ حاضر با هدف بررسی امکان حذف ترکیبات نیتروژنی از

1. Foliculating
2. Penaeidae

پساب مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از فناوری بیوفلوک انجام گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تهیهٔ مواد اولیه

فضولات و پساب ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از خروجی یکی از مزارع پرورشی ارومیه جمع‌آوری و به پژوهشکدهٔ آرتمیا و آبزیان دانشگاه ارومیه منتقل شد. منابع کربنی استفاده‌شده برای سیستم بیوفلوک، شامل ملاس چغندر (۲۴ درصد کربوهیدرات) و شکر چغندر (۱۰۰ درصد کربوهیدرات) انتخاب شد. ملاس و شکر چغندر مورد نیاز از کارخانهٔ قند شهرستان میاندوآب تهیه شد.

۲.۲. تیمارهای آزمایشی

این مطالعه شامل چهار تیمار و سه تکرار بود:

۱. تیمار شاهد (بدون استفاده از منبع کربنی)؛

۲. تیمار ملاس چغندر قند (۰/۵۷۳گرم برای هر گرم فضولات)؛

۳. تیمار شکر چغندر قند (۰/۱۳۸ گرم برای هر گرم فضولات)؛

۴. تیمار ترکیب ملاس و شکر ۵۰ درصد (۵۰ درصد ملاس محاسبه‌شده برای تیمار ۲ و ۵۰ درصد شکر محاسبه‌شده برای تیمار شکر).

۳.۲. طراحی آزمایش

برای انجام این آزمایش از ۱۲ زوک شیشه‌ای ۶ لیتری استفاده شد. در هر زوک، پنج لیتر از آب خروجی استخرها به همراه ۲۰۰ گرم فضولات ماهی (معادل ۲۰ گرم مادهٔ خشک) اضافه شد. سپس برای هر یک هوادهی جداگانه تعبیه شد. زوک‌ها داخل یک آکواریوم شیشه‌ای پر از آب با پایه‌های نگهدارنده قرار داده شد. دما بر روی ۲۵°C تنظیم شد (Krishna & Van Loosdrecht, 1999).

مقدار پروتئین فضولات با روش کلدال اندازه‌گیری و به‌منزلهٔ منبع ترکیبات نیتروژنی برای محاسبهٔ میزان کربوهیدرات مورد نیاز برای تیمارها اندازه‌گیری شد. نسبت نیتروژن به کربن ۱ به ۲۰ انتخاب شد. میزان منبع کربنی برای هر تیمار با روش Helfrich & Craig (2002) محاسبه و با ترازوی دیجیتال با دقت یک‌دهم میلی‌گرم وزن و به تیمارها اضافه شد.

آزمایش در طول ۵ روز انجام گرفت. در شروع آزمایش، ۳ نمونه آب برای انجام آنالیزهای میکروبی و ۳ نمونه از فضولات برای تعیین ترکیب شیمیایی تهیه شد. در زمان‌های صفر، ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از شروع آزمایش نمونهٔ آب برای اندازه‌گیری آمونیاک، نیتریت، نیترات، اکسیژن، pH و کشت باکتریایی از همهٔ تیمارها نمونه‌برداری شد. بعد از گذشت ۷۲ ساعت بیوفلوک تولیدشده برداشت و پسماندها خشک شد و دوباره با روش کلدال ترکیبات نیتروژنی آن اندازه‌گیری شد. شاخص‌های آمونیاک، نیتریت و نیترات آب با کیت و دستگاه پالین تست (Palintest, UK) با دستورالعمل‌های مربوط به هریک اندازه‌گیری شدند. اکسیژن محلول با استفاده از دستگاه اکسی‌متر مدل (HANNA instrument, UK) و تغییرات pH با pH متر (HANNA instrument, UK) هر روز ساعت ۱۰:۳۰ صبح اندازه‌گیری شد.

۴.۲. آنالیزهای میکروبی

نمونه‌های تهیه‌شده از آب، با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل از 10^{-1} تا 10^{-10} میلی‌لیتر رقت‌سازی شدند. سپس، حجم ۱ میلی‌لیتر از هر رقت بر روی محیط کشت BHA (مرک، آلمان) کشت داده شد. نمونه‌ها در شرایط هوازی به‌مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۲۵°C قرار داده شدند. پس از رشد باکتری‌ها، شمارش آن‌ها انجام و نتیجهٔ شمارش برحسب CFU/ml محیط گزارش شد (Rahmati Andani *et al*., 2011).

۵.۲. تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای انجام آنالیزهای آماری از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۱۹ و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آنالیز واریانس یکطرفه (One Way ANOVA) و آزمون Duncan استفاده شد. قبل از انجام آزمون، نرمال‌بودن داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف بررسی شد. حداقل

سطح معنادار بودن تفاوت‌ها P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد. همچنین برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۰ استفاده شد.

۳. نتایج

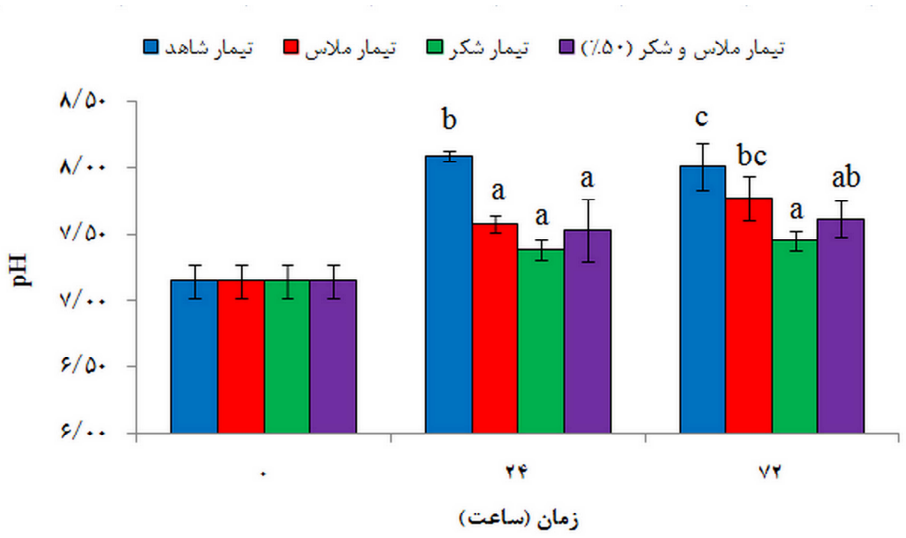
آنالیز شیمیایی درصد پروتئین‌خام و کربوهیدرات‌خام جیره و فضولات ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در جدول۱ آورده شده است. نتایج نشان می‌دهد که مقدار قابل توجهی پروتئین خام و کربوهیدرات خام جیره، به‌صورت فضولات دفع می‌شود. نتایج آنالیز شیمیایی درصد پروتئین خام و کربوهیدرات خام فضولات، قبل و بعد از آزمایش اختلاف معنادار نشان داد (P<۰/۰۵). نتایج نشان می‌دهد حدود ۳۵ درصد از پروتئین خام و ۴۳ درصد از کربوهیدرات خام در فضولات باقی‌مانده در پایان آزمایش کاهش یافته است.

نتایج تغییرات pH روندی افزایشی را در تمامی تیمارها به سمت قلیایی‌شدن نشان داد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت این تغییرات در تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنادار داشت (P<۰/۰۵). بعد از گذشت ۷۲ ساعت تیمار شاهد با تیمار ملاس اختلاف معنادار نشان نداد اما با سایر تیمارها اختلاف معنادار داشت، همچنین اختلاف تیمار ملاس با تیمار شکر معنادار نبود اما با تیمار ترکیبی (ملاس و شکر ۵۰ درصد) اختلاف معنادار نشان داد (P<۰/۰۵). تیمار شکر با تیمار ترکیبی (ملاس و شکر ۵۰ درصد) اختلاف معنادار نداشت (شکل۱).

جدول۱. مقدار پروتئین خام و کربوهیدرات خام جیره و فضولات قبل و بعد از آزمایش

ترکیبات بیوشیمیایی (درصد وزن خشک)	جیره	فضولات قبل از آزمایش	فضولات بعد از آزمایش
پروتئین خام	۳۶/۸۹ ± ۰/۳۶ [a]	۱۰/۹۲ ± ۰/۵۲ [b]	۷/۱۱ ± ۰/۴۷ [c]
کربوهیدرات خام	۳۹/۴۸ ± ۵/۰۵ [b]	۶۳/۳۵ ± ۲/۷۱ [a]	۳۶/۲۰±۲/۱۹ [c]

*داده‌ها به‌صورت Mean± SD آورده شده است و اعداد در هر ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنادار (P<۰/۰۵) هستند.

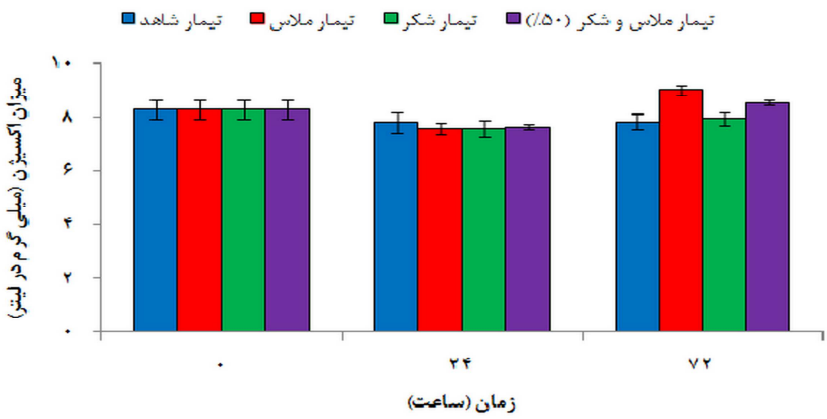


شکل۱. تغییرات pH تیمارهای مختلف در طول مطالعه

حروف متفاوت در زمان مشخص نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف آماری معنادار در سطح P<۰/۰۵ است.

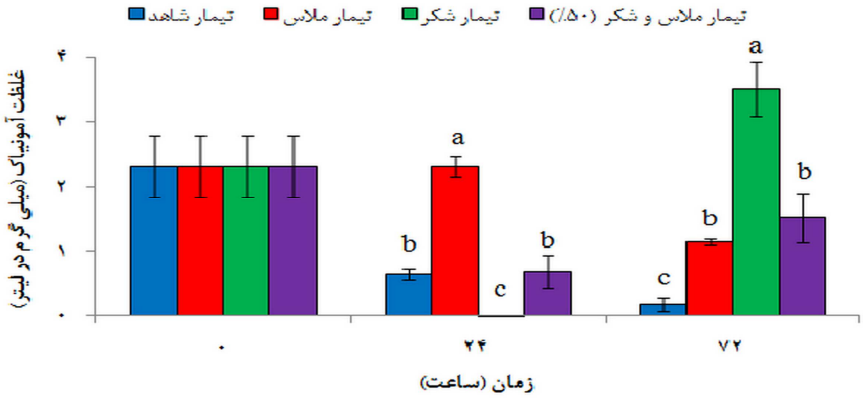
براساس شکل۲ اکسیژن محلول در تمامی تیمارها بعد از گذشت ۲۴ ساعت کاهش یافت، ولی اختلاف معناداری مشاهده نشد. ولی با گذشت ۷۲ ساعت از شروع آزمایش، مقدار اکسیژن محلول در تیمار ملاس بیشتر بود و با تیمار شکر و شاهد اختلاف معنادار نشان داد (P<۰/۰۵)، اما با تیمار ترکیبی (ملاس و شکر ۵۰ درصد) اختلاف معنادار نداشت. تیمار ترکیبی (ملاس و شکر ۵۰ درصد) با تیمار شاهد و تیمار شکر اختلاف معنادار نشان نداد.

نتایج در شکل۳ نشان داد بعد از گذشت ۲۴ ساعت از زمان آزمایش، در همهٔ تیمارها جز تیمار ملاس، مقدار آمونیاک روند کاهشی داشت، ولی در تیمار ملاس مقدار آمونیاک بدون تغییر و با سایر تیمارها اختلاف معنادار داشت (P<۰/۰۵). در تیمار شکر کمترین مقدار آمونیاک مشاهده شد و با سایر تیمارها اختلاف معنادار نشان داد (P<۰/۰۵). تیمار شاهد و تیمار ترکیبی (ملاس و شکر ۵۰ درصد) و با هم اختلاف معنادار نداشتند. بعد از گذشت ۷۲ ساعت در تیمار شکر بیشترین و در تیمار شاهد کمترین میزان آمونیاک مشاهده شد و با سایر تیمارها اختلاف معنادار داشت (P<۰/۰۵). در تیمار ملاس روند کاهش و تیمار ترکیبی (ملاس و شکر ۵۰ درصد) روند افزایشی میزان آمونیاک مشاهده شد، ولی با هم اختلاف معنادار نداشتند.



شکل۲. تغییرات اکسیژن تیمارهای مختلف در طول مطالعه

حروف متفاوت در زمان مشخص نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف آماری معنادار در سطح P<۰/۰۵ است.

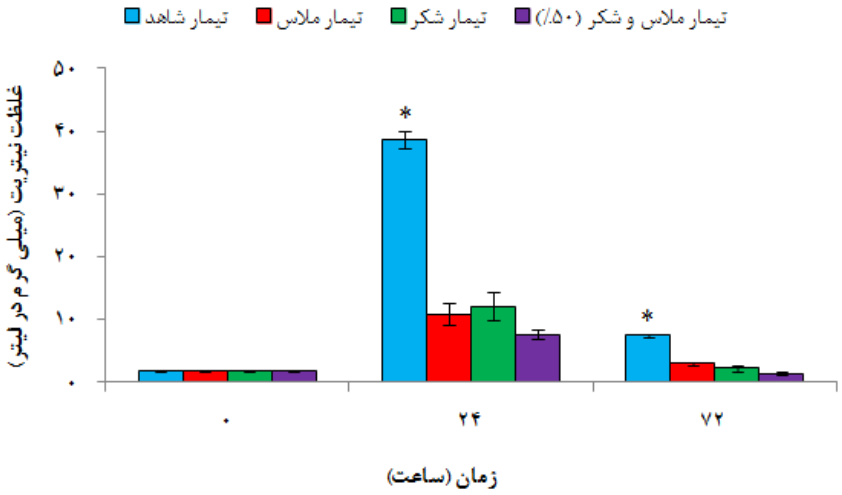


شکل۳. تغییرات آمونیاک تیمارهای مختلف در طول مطالعه

حروف متفاوت در زمان مشخص نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف آماری معنادار در سطح P<۰/۰۵ است.

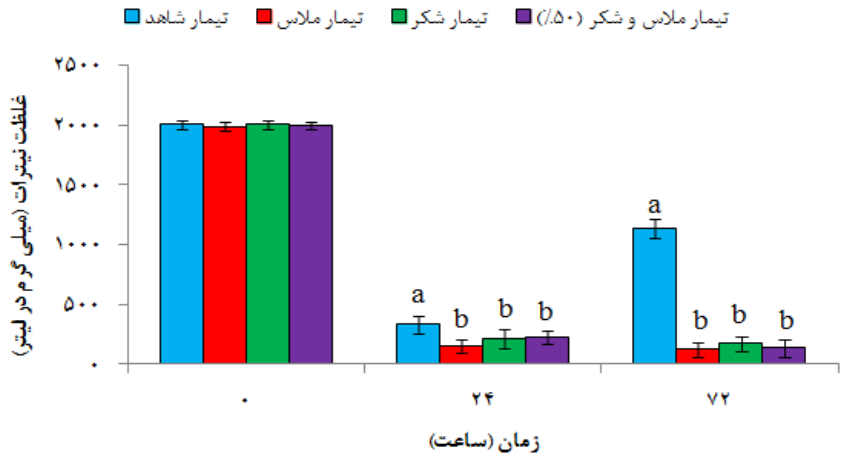
تغییرات نیتریت بعد از گذشت ۲۴ ساعت از زمان آزمایش روند افزایشی نشان داد و تیمار شاهد با بیشترین (۳۸/۵۵±۱/۳۶ mg/l) و تیمار ترکیبی (ملاس و شکر ۵۰ درصد) با کمترین میزان نیتریت (۷/۶۷±۰/۷۲ mg/l) با سایر تیمارها اختلاف معنادار داشت (P<۰/۰۵). تیمار ملاس و تیمار شکر با هم اختلاف معنادار نداشتند. بعد از گذشت ۷۲ ساعت مقدار نیتریت در همهٔ تیمارها روند کاهشی داشت و با همدیگر اختلاف معنادار نشان دادند (P<۰/۰۵)، (شکل۴).

شکل۵ نشان داد ۲۴ ساعت بعد از شروع آزمایش، میزان نیترات در همهٔ تیمارها روند کاهشی داشت، اما بعد از گذشت ۷۲ ساعت میزان نیترات در تیمار شاهد افزایش داشت و با سایر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنادار قابل ملاحظه‌ای نشان داد (P<۰/۰۵)، درحالی‌که سایر تیمارها روند کاهش‌یافتهٔ مقدار نیترات را حفظ کردند و با همدیگر اختلاف معنادار نداشتند.



شکل۴. تغییرات نیتریت تیمارهای مختلف در طول مطالعه

حروف متفاوت در زمان مشخص نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف آماری معنادار در سطح P<۰/۰۵ است.



شکل۵. تغییرات نیترات تیمارهای مختلف در طول مطالعه

حروف متفاوت در زمان مشخص نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف آماری معنادار در سطح P<۰/۰۵ است.

در نتایج جدول۲ افزایش تراکم باکتریایی در همهٔ تیمارهای آزمایشی مشاهده شد و همهٔ تیمارها با همدیگر اختلاف معنادار داشتند (P<۰/۰۵). هرچند در تیمار شاهد هم افزایش مشاهده شد اما نسبت به سایر تیمارها بسیار کم بود. تیمار شکر و تیمار شاهد به‌ترتیب بیشترین و کمترین تراکم باکتریایی در ۲۴ ساعت بعد از شروع آزمایش را داشتند اما بعد از گذشت ۷۲ ساعت تیمار ملاس بیشترین تراکم باکتریایی را داشت.

جدول۲. تغییر در تراکم باکتریایی (CFU/ml) آب تیمارهای آزمایشی با گذشت زمان

تیمار	زمان (ساعت)		
	صفر	۲۴	۷۲
شاهد	$۱۴/۱\times۱۰^{۲}$	$۶/۳\times۱۰^{۳\ d}$	$۱۴۹\times۱۰^{۳\ d}$
ملاس	$۱۴/۱\times۱۰^{۲}$	$۱۶۹/۶\times۱۰^{۸\ c}$	$۱۹۷\times۱۰^{۱۰\ a}$
شکر	$۱۴/۱\times۱۰^{۲}$	$۲۵۴/۶\times۱۰^{۸\ a}$	$۱۸۰/۶\times۱۰^{۱۰\ c}$
ملاس و شکر (۵۰ درصد)	$۱۴/۱\times۱۰^{۲}$	$۲۱۳/۵\times ۱۰^{۸\ b}$	$۱۸۴/۵\times۱۰^{۱۰\ b}$

* حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف آماری معنادار در سطح P<۰/۰۵ است.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

براساس مطالعات اصلی‌ترین منبع تولید نیتروژن (حدود ۹۰ درصد) در سیستم‌های پرورش آبزیان، ناشی از غذای ماهی است که در مراحل سوخت‌وساز توسط ماهی و فاسدشدن مواد آلی و غذای مصرف‌نشده به وجود می‌آید. نتایج آنالیزهای بیوشیمیایی و اندازه‌گیری ترکیبات نیتروژنی فضولات قبل و بعد از آزمایش این واقعیت را تأیید می‌کند. نتایج نشان داد که حدود ۳۵ درصد ترکیبات نیتروژنی فضولات طی زمان آزمایش به اشکال آمونیاک، نیتریت و نیترات در محیط آزاد شده است.

آمونیاک در محیط‌های طبیعی به سه شکل از محیط حذف می‌شود: الف) شکل فوتو اتوتروفیک که در آن آمونیاک به بیوماس جلبکی تبدیل می‌شود؛ ب) شکل شیمیو اتوتروفیک که در آن آمونیاک توسط باکتری‌های *نیتروزوموناس* به نیتریت و نیترات تبدیل می‌شود؛ ج) به شکل هتروتروفیک که در آن آمونیاک به بیوماس باکتریایی تبدیل می‌شود (Ebeling *et al*., 2006). باکتری‌های نیترات‌ساز (نیتریفایر) قلیائیت و pH محیط را کاهش می‌دهند، درحالی‌که باکتری‌های مصرف‌کنندهٔ نیترات موجب افزایش این دو عامل می‌شوند (Nabi Bidhendi *et al*., 2011). نتایج مطالعهٔ حاضر افزایش قلیائیت و pH را در تیمارهای آزمایشی نشان داد. این تغییر می‌تواند بر اثر فعالیت باکتری‌های هتروتروف باشد.

مطالعات نشان داده‌اند که معمولاً باکتری‌های هتروتروف قابلیت بیش‌تری در حذف آمونیاک از محیط نسبت به جلبک‌ها و باکتری‌های شوره‌ساز دارند، همچنین بر روی منابع کربنی ساده مانند شکر در کمتر از یک ساعت تأثیر می‌گذارند (Hargreaves, 2006; Hargreaves, 2013). نتایج در این مطالعه نیز نشان داد، بعد از گذشت ۲۴ ساعت از آزمایش، میزان آمونیاک در تیمار شکر، به‌دلیل ساده‌بودن منبع کربنی به‌سرعت کاهش یافت درحالی‌که در تیمار ملاس بدون تغییر ماند. اما بعد از گذشت ۷۲ ساعت، در تیمار شکر روند افزایشی در میزان آمونیاک مشاهده شد. این می‌تواند به‌دلیل نبود منبع کربنی بر اثر مصرف سریع باکتری‌ها باشد. از طرفی با گذشت ۷۲ ساعت، در تیمار ملاس میزان آمونیاک روند کاهشی داشت و نشان‌دهندهٔ این است که ملاس به‌دلیل داشتن ترکیبات پیچیده نیاز به زمان بیشتری برای استفاده توسط باکتری‌ها دارد. در تیمار ترکیبی (ملاس و شکر ۵۰ درصد) کاهش و افزایش میزان آمونیاک حالتی تعادلی بین تیمار

ملاس و تیمار شکر دارد؛ نه مانند ملاس دیر عمل می‌کند و نه مانند شکر در پایان با کمبود مواجه می‌شود. این می‌تواند نشان‌دهندهٔ ترکیبی مناسب منبع کربنی برای مصرف باکتری‌ها در این فناوری باشد. در تیمار شاهد کاهش میزان آمونیاک مشاهده‌شده می‌تواند به دو دلیل، یعنی وجود مقدار زیادی کربوهیدرات‌خام در فضولات ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، که خود به‌منزلهٔ منبع کربنی عمل می‌کند و نیز احتمالاً هوادهی شدید و وجود باکتری‌های شوره‌ساز باشد.

در مطالعات مشخص‌شده که عناصر نیتروژن و فسفر موجود در سیستم بیوفلوک به‌سختی توسط زی‌تودهٔ میکروبی جذب می‌شود، اما زمانی که مقادیر کربن و نیتروژن در حد متعادلی باشند، کارایی این سیستم به‌طور مؤثری افزایش می‌یابد همچنین باکتری‌های هتروتروف با اولویت آمونیاک، نیتریت و نیترات محیط را به مصرف می‌رسانند (De Schryver *et al*., 2008; Nabi Bidhendi *et al*., 2011). به‌علت بازچرخ مواد غذایی در این سیستم، احتمال وقوع یوتروفیکاسیون و خسارت‌های اکولوژیک کاهش می‌یابد (Voltolina, *et al*., 2004). در مطالعهٔ حاضر نیز هرچند تفاوت در منبع کربنی موجب تغییرات در زمان جذب این ترکیبات شد اما ابتدا مقدار آمونیاک سپس نیترات و نیتریت در تیمارها کاهش یافت. درمجموع نتایج اندازه‌گیری ترکیبات نیتروژنی می‌توان گفت که در تیمارهای آزمایشی که منبع کربنی اضافه شد به غیر از تیمار شاهد، ترکیبات نیتروژنی کاهش یافت.

براساس مطالعات متعدد مشخص شده است که تراکم باکتریایی در فناوری بیوفلوک بیشتر از 10^{7}-10^{9} CFU/ml می‌رسد (Burford *et al*., 2003; Avnimelech, 2009). در مطالعهٔ حاضر نیز تراکم باکتریایی در تیمارهایی که منبع کربنی استفاده شد، به‌صورت ناگهانی افزایش نشان داد که این افزایش ناگهانی بر اثر استفادهٔ باکتری‌های هتروتروف از ترکیبات نیتروژنی و منبع کربنی بوده است. این تراکم ایجادشده بر میزان اکسیژن محلول در ۲۴ ساعت نخست شروع آزمایش تأثیر گذاشته و همچنین سبب افزایش pH شده است. تفاوت در تراکم بین تیمار ملاس و تیمار شکر در ۲۴ ساعت نخست و ۷۲ ساعت پایانی می‌تواند تأییدکنندهٔ این باشد که باکتری‌ها از منبع کربنی ساده مانند شکر زودتر از منبع ملاس استفاده کرده‌اند.

براساس نتایج حاصل می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از فناوری بیوفلوک در کنار سایر راهکارها و یا همراه با آن‌ها برای کاهش بار آلودگی و کاهش فشار برای خودپالایی رودخانه‌ها استفاده شود. همچنین نتیجه‌گیری می‌شود که منبع ترکیبی (ملاس و شکر ۵۰ درصد)، می‌تواند ترکیبی مناسب برای استفادهٔ باکتری‌ها در درازمدت و کوتاه‌مدت باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از حمایت‌های مالی دانشکدهٔ منابع طبیعی و پژوهشکدهٔ آرتمیا و آبزیان دانشگاه ارومیه ابراز می‌دارند.

REFERENCES

1. Aquacop, A., 1975. Maturation and spawning in captivity of penaeid shrimps. Proceedings of the 6 th Annual Meeting of World Mariculture Society, 2-24.

2. Avnimelech, Y., 2012.Biofloc Technology- A Practical Guide Book, 2nd Ed. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, EUA, 272p.

3. Bidhendi, N., Vosoghi, A., Ghlizadeh, M., Abtahi, M., (2011). Waste water Bacteria, 1st ed. Tehran University Publication, 302p. (in Persian)

4. Burford, M.A., Thompson, P.J., McIntosh, R.P., Bauman, R.H, & Pearson, D.C., 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. Aquaculture, 219, 393-411.

5. Campbell,W.H., 1999. Nitrate Reductase Structure, Function and Regulation: Bridging the Gap between Biochemistry and

Physiology. Annual Review of Plant Physiology, 50, 277-303.

6. Craig, S., Helfrich, L.A., 2002. Understanding Fish Nutrition, Feeds and Feeding, Virginia Cooperative Extension. Yorktown, 44, 420-256.

7. De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W., 2008. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture, Aquaculture, 277, 125-137.

8. Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J., 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia nitrogen in aquaculture systems. Aquaculture, 257, 346-358.

9. Esmaili Sary, A., 2004. Fundamental of Aquaculture Hydrochemistry. 1st ed. Aslani Publication, 249p. (in Persian)

10. FAO, 2012. The State of World Fisheries and Aquaculture. FAO, Rome. www.fao.org

11. Goddard, S., 1995. Feed Management in Intensive Aquaculture. Springer, 208pp.

12. Hargreaves, J.A., 2013. Biofloc Production Systems for Aquaculture, Southern regional aquaculture center, 4503, 134-158.

13. Hopkins JS, Hamilton RD, Sandifer PA, Browdy CL, Stokes AD (1993) Effect of water exchange rates on production, water quality, effluent characteristics and nitrogen budget in intensive shrimp ponds. Journal of World Aquaculture Society, 24, 304-320.

14. Krishna, C., Van Loosdrecht, M.C.M., 1999. Effect of temperature on storage polymers and settleability of activated sludge. Water Resources, 33, 2374-2382.

15. Merican, Z.O., Phillips, M.J., 1985. Solid waste production from rainbow trout, salmo gairdneri Richardson, cage culture. Aquaculture Fish Management, 1, 55-59.

16. Nabi Bidhendi, G.H., Vosogh, A., Gholizadeh, M., Abtahi, M., 2011. Bacterial sewage. Tehran University Publication, 302p. (in Persian)

17. Nafisi Behabadi, M., 2006. Practical guide for rainbow trout culture. 1st ed. Hormozgan University. 282p. (in Persian).

18. Naylor, R., Goldburg, R.J., Mooney, H., Beveridge, M., Clay, J., Folk, C., Kautsky, N., Lubchenco, J., Primavera, J., Williams, M., 1998. Nature's subsidies to shrimp and salmon farming. Science, 282, 883-884.

19. Rahmati Andani, H.R., Tukmechi, A., Meshkini, S., Ebrahimi, H., 2011. Increase rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) resistance against *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia ruckeri* by isolated Lactobacilli from common carp. Iranian Journal of Veterinary, 7(2), 26-35

20. Voltolina, D., Gmez-Villa, H., Correa, G., 2004. Biomass production and nutrient removal in semicontinuous cultures of *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae) in artificial wastewater, under a simulated day-night cycle. Vie Milieu, 54, 21-25.

21. Wyban, J.A., Sweeney, J.N., 1990. A systems approach to developing intensive shrimp growth technology (Proceedings of the Second Asian Fisheries Forum, Tokyo, Japan), R. Hirano,I, and Hanyu, (eds), Asian Fisheries Society, Pp. 91- 94.