



تأثیر منابع مختلف کربنی (ملاس و شیره ضایعات خرما) بر کیفیت آب، عملکرد رشد و ترکیبات بدن میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) در سیستم بایوفلاک

اکبر عباس زاده^{۱*}، وحید یاوری^۱، سید جواد حسینی^۲، محمود نفیسی بهابادی^۳

^۱گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

^۲گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر

^۳پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر

چکیده

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۵/۰۵/۰۴

اصلاح: ۹۵/۰۶/۱۸

پذیرش: ۹۵/۰۸/۲۷

کلمات کلیدی:

رشد

میگوی سفید غربی

منابع کربنی

بایوفلاک

در پژوهش حاضر اثر شیره ضایعات خرما (*Phoenix dactylifera*) و ملاس بر پرورش میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) به روش تکنولوژی بایوفلاک بررسی گردید. چهار تیمار بایوفلاک مشتمل بر بایوفلاک خرما + جیره با پروتئین ۲۵٪ (P25)، بایوفلاک ملاس + جیره با پروتئین ۲۵٪ (M25)، بایوفلاک خرما + جیره با پروتئین ۱۵٪ (P15) و بایوفلاک ملاس + جیره با پروتئین ۱۵٪ (M15) و یک تیمار شاهد (۳۸٪ پروتئین) با ۳ تکرار بود. در یک دوره ۳۵ روزه ۳۵ قطعه میگوی جوان (۳۳/۰ ± ۵/۳۷ گرم) به طور تصادفی در ۱۵ تانک ۳۰۰ لیتری (تراکم ۱۷۵ قطعه در متر مکعب) ذخیره‌سازی گردید. بالاترین عملکرد فاکتورهای رشد (افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی بهتر، نرخ رشد، بازماندگی و افزایش بایومس) در تیمار P25 و کمترین آنها در تیمار شاهد تعیین شد. علاوه بر این بیشترین شاخص وزن بدن، بازده غذایی و ضریب رشد ویژه در تیمار P25 و کمترین آن در تیمار M15 به دست آمد. تیمار P15 با ۷۲٪ سود در مقام نخست سوددهی قرار گرفت. از نتایج تحقیق حاضر می‌توان دریافت که استفاده از بایوفلاک خرما و جیره‌ای با پروتئین ۱۵ تا ۲۵ درصد مناسب‌تر به نظر می‌رسد و سبب صرفه‌جویی در مصرف پودر ماهی و کاهش هزینه‌های تولید می‌گردد.

مقدمه

امروزه آبی‌پروری در همه ابعاد از جمله روش‌های پرورش و سیستم‌ها توسعه یافته است، به طوری که حدود نیمی از آبیان تولیدی در جهان حاصل فعالیت‌های آبی‌پروری می‌باشند. میگوی سفید غربی با نام علمی *Litopenaeus vannamei* و نام عمومی Pacific white shrimp، بومی سواحل غربی آمریکای لاتین در اقیانوس آرام از پرو در جنوب تا مکزیک در شمال است (Jatoba et al., 2014). میگوی سفید غربی با تولید بیش از ۳/۵ میلیون تن در دنیا مقام نخست تولیدات میگو و سایر سخت پوستان را به خود اختصاص داده است (FAO, 2015). در ایران نیز پس از شیوع بیماری لکه سفید در گونه سفید هندی در دهه ۱۳۸۰، مولدین این میگو از کشورهای آمریکای جنوبی وارد کشور شدند و هم اکنون به عنوان گونه اصلی پرورشی شناخته می‌شود. از معضلات این صنعت در ایران، تولید اندک در واحد سطح نسبت به دیگر نقاط جهان است که در نتیجه

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: Abas1351@gmail.com

سبب افزایش قیمت تمام شده این محصول و غیر اقتصادی بودن آن در بازارهای رقابتی دنیا می‌گردد که لازم است با فناوری‌های نوین از جمله بایوفلاک نسبت به اصلاح سیستم‌های معیوب قدیمی اقدام نمود.

یکی از موانع توسعه پایدار و معضل مهم زیست‌محیطی صنعت آبزی‌پروری، تولید و تخلیه حجم زیاد پساب غنی از مواد مغذی (آلی و معدنی) حاصل از مزارع پرورشی در طبیعت می‌باشد که خسارت جبران‌ناپذیری را به بوم‌سازهای محیطی وارد می‌کند (Goddard, 1995). هم‌چنین از موارد مطرح در امنیت زیستی لزوم کاهش تعویض آب و تولید کمتر پساب می‌باشد. تکنولوژی بایوفلاک (Biofloc) با کاهش تعویض آب، گامی مهم در تحقق این هدف برداشته است (Avnimelech, Avnimelech, 2007; Zhao *et al.*, 2012; 2006). این سیستم که نام دیگر آن سیستم پرورش بدون تعویض آب (Zero Exchange Water) است؛ می‌تواند برای این معضل راه‌گشای خوبی بوده و شامل محیطی است که در آن باکتری‌های هتروتروف (Enterobacteriaceae, Bacillaceae)، ریزجلبک‌ها، زئوپلانکتون‌های غذایی، نامتودها، قارچ‌ها، تاژکداران، مژکداران، دینوفلاژله، سیانوباکتری‌ها، آغازیان، کوبه‌پودها و روتیفرها؛ مواد دفعی حاصل از آبزیان پرورشی، غذای مصرف نشده و بقایای جانوری-گیاهی را تجزیه و به مواد غذایی قابل استفاده تبدیل می‌کنند (Ekasari *et al.*, 2014). فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب در تشکیل و توسعه بایوفلاک نقش عمده‌ای دارند (Ballester *et al.*, 2010). علاوه بر این، با حذف مواد سمی موجود در پساب‌ها، آب تصفیه و قابل استفاده مجدد می‌شود (Avnimelech, 2009).

به ازای تولید هر تن از آبزیان حدود ۹۸ کیلوگرم ترکیبات ازتی به اشکال مختلف وارد محیط می‌شود (Beveridge and Phillips, 1993). سیستم بایوفلاک با استفاده از هوادهی شدید و افزایش نسبت کربن به نیتروژن سبب تکثیر، افزایش جمعیت باکتری‌های هتروتروف، کاهش ترکیبات مضر ازتی و بهبود پارامترهای کیفی آب می‌شود (Azim *et al.*, 2008). علاوه بر این به سبب بهبود پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب، تراکم میگو در واحد سطح را می‌توان افزایش داد و به بیش از ۲۰۰ قطعه در مترمربع رساند که خود سبب افزایش محصول و در نتیجه کاهش هزینه‌های تولید و سودآوری بیشتر می‌گردد (Schweitzer *et al.*, 2013b).

یکی از اجزای مهم جیره آبزیان، پروتئین می‌باشد. میگوی پرورشی سفید غربی به ۳۵ تا ۴۴ درصد پروتئین در جیره غذایی نیاز دارد که سبب افزایش هزینه می‌گردد و از دیرباز به صورت سنتی از پودر ماهی برای تامین آن استفاده شده است (Kuhn *et al.*, 2009). جایگزینی پودر بایوفلاک (Microbial Floc Meal) به جای پودر ماهی برای کاهش هزینه‌های غذا با موفقیت آزمایش شده است (Bauer *et al.*, 2012). بایوفلاک می‌تواند بیش از ۲۹٪ غذای روزانه میگوی سفید غربی را تشکیل دهد (Burford *et al.*, 2004). با استفاده از سیستم بایوفلاک می‌توان ۴۰ تا ۵۰ درصد هزینه‌های غذا را از طریق جایگزین کردن بایوفلاک به عنوان منبع پروتئینی ارزان، کاهش داد (Ekasari *et al.*, 2014). هم‌چنین به علت وجود ارگانسیم‌های زنده در بایوفلاک، حاوی فاکتورهای ضروری جهت رشد بهینه آبزیان بوده و به عنوان یک منبع انرژی نیز عمل می‌کند (Crab *et al.*, 2010). در سیستم بایوفلاک از دو گزینه غذای مصرف نشده و موجودات زنده میکروسکوپی استفاده شده و ترکیب غذایی جدیدی تولید می‌شود (Jatoba *et al.*, 2014). برخی از محققین مطالعاتی در خصوص تاثیر سطوح مختلف نوری بر سیستم‌های بایوفلاک پرورش میگوی سفید غربی، جایگزینی پودر ماهی توسط پودر بایوفلاک و کنسانتره سویا، تاثیر افزایش کربوهیدرات بر کشت متراکم میگوی سفید غربی در بایوفلاک، استفاده از بایوفلاک در پرورش میگوی سفید غربی در تراکم‌های مختلف، اثر سطوح مختلف پروتئین در سیستم‌های بایوفلاک و نیمه متراکم و تاثیر بایوفلاک با منابع کربنی متفاوت بر سیستم ایمنی و مقاومت به بیماری انجام داده‌اند (Bauer *et al.*, 2012; Schweitzer *et al.*, 2013a; Gao *et al.*, 2012; Ekasari *et al.*, 2014; Balio *et al.*, 2012; Jatoba *et al.*, 2014).

در ایران نیز مطالعاتی بر روی تاثیر نسبت‌های مختلف غذادهی و منابع مختلف کربنی (ملاس، نشاسته و آرد گندم) بر کیفیت آب و عملکرد رشد پست‌لاروهای میگوی سفید غربی صورت گرفته و بهبود این پارامترها را تحت تاثیر بایوفلاک گزارش نموده‌اند (Khanjani *et al.*, 2015; Khanjani *et al.*, 2017). علاوه بر این؛ تاثیر بایوفلاک بر روی پارامترهای رشد، آنزیم‌های گوارشی و بافت‌شناسی کپورماهیان انگشت‌قد مثبت ارزیابی شده است (Najdegerami *et al.*, 2016).

ترکیبات کربوهیدراتی یکی از مواد اولیه لازم و پرکاربرد در سیستم بایوفلاک است (Gao et al., 2012). از مجموع یک میلیون و صد هزار تن خرما تولیدی کشور، حداقل ۳۰ درصد آن ضایعات می‌باشد (FAO, 2015). در پژوهش حاضر برای اولین بار در دنیا از شیره ضایعات خرما به عنوان منبع کربوهیدرات بومی برای پرورش میگو در این سیستم استفاده شده است که علاوه بر تولید میگوی ارزان‌تر، سبب افزایش بهره‌وری خرما نیز می‌گردد. با توجه به اهمیت آبی‌پروری و لزوم تولید غذای مناسب برای آبزیان پرورشی، همچنین لزوم کاهش اثرات مضر پساب حاصل از آن، سبب ضرورت معرفی و ترویج فناوری‌های جدید در سیستم پرورش آبزیان کشور شده است. این تحقیق به بررسی امکان استفاده از شیره ضایعات خرما در سیستم بایوفلاک برای کاهش مواد آلاینده، بازگشت اتلاف غذایی به چرخه تولید میگو و در نهایت کاهش مجموع هزینه‌ها پرداخته است. امکان بومی‌سازی، آموزش، ترویج و معرفی یک سیستم جدید پرورش آبزیان در کشور، افزایش تولید در واحد سطح و کاهش هزینه‌های تولید میگوی سفید غربی از طریق تبدیل ضایعات ارزان قیمت خرما به غذای میگو، بهبود سلامت و فاکتورهای امنیت زیستی و کیفیت بهتر میگوی پرورشی، استفاده از فلاک تولیدی در غذای دیگر آبزیان، کاهش پساب و حفاظت از محیط زیست از اهداف اجرای این پژوهش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در تابستان ۱۳۹۴ در دانشکده کشاورزی دانشگاه خلیج فارس بوشهر با رژیم نوری ۱۲ ساعت روشنایی (۶۰۰ لوکس) و ۱۲ ساعت تاریکی انجام و در مدت ۵ هفته، پرورش میگو در تانک‌های حاوی بایوفلاک و بدون فلاک (شاهد) مقایسه گردید. از تانک‌های پلی اتیلن (قطر دهانه ۶۸، کف ۶۰ و ارتفاع ۸۵ سانتی متر) پس از ضدعفونی و شستشو استفاده شد. ابتدا به مدت یک ماه سیستم بایوفلاک (Avnimelech, 2009) در دو آکواریوم ۴۰ لیتری به عنوان استوک اولیه و با استفاده از دو منبع کربنی (ملاس و شیره ضایعات خرما) ایجاد و در این مدت فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب اندازه‌گیری شدند. برای این منظور، آکواریوم‌ها با آب دریای فیلتر شده با شوری ۳۶ گرم در لیتر و به میزان ۳۰ لیتر پر شدند و به وسیله پمپ هوا شدیداً هوادهی شدند تا اکسیژن مورد نیاز تامین و اختلاط اجزای موجود در آکواریوم به خوبی صورت پذیرد. سپس مواد لازم برای تهیه دو نوع بایوفلاک خرما و ملاس به آکواریوم‌ها اضافه شد (جدول ۱). در هر یک از آکواریوم‌ها، ۱۰ لیتر از آب کانال خروجی استخرهای پرورش میگو پس از عبور از تور ۳۰۰ میکرونی به عنوان ماده تلقیحی اولیه استفاده گردید. به منظور تقویت فعالیت باکتری‌های هتروتروف جهت تشکیل بایوفلاک، نسبت کربن به نیتروژن در سیستم بین ۱۵ تا ۲۰ در نظر گرفته شد (Avnimelech, 1999). کود شیمیایی اوره جهت تامین ازت، سوپر فسفات برای تامین فسفر مورد نیاز شکوفایی پلانکتونی و خاک رس نیز پس از نرم شدن و عبور از الک ۲۵۰ میکرونی جهت چسبیدن بهتر ذرات به یکدیگر و کمک به تشکیل فلاک (به دلیل بار الکتریکی) به آکواریوم‌ها اضافه گردید (Crab et al., 2012). در این تحقیق از ۵ تیمار و ۳ تکرار و در مجموع ۱۵ تانک ۳۰۰ لیتری استفاده شد که هر کدام تا ۲۰۰ لیتر از آب پر شدند. تعداد ۳ تانک برای شاهد، ۶ تانک برای بایوفلاک خرما و ۶ تانک برای بایوفلاک ملاس استفاده گردید.

با احتساب تراکم ۱۲۰ قطعه میگو (۳۳/۰ ± ۵/۳۷ گرم) در متر مربع (۱۷۵ قطعه در متر مکعب)، در هر یک از تانک‌ها ۳۵ قطعه میگو ذخیره‌سازی گردید. برای تغذیه میگوها از سه نوع جیره با پروتئین‌های متفاوت استفاده گردید. جیره به وسیله نرم افزار Lindo طراحی و اجزای آن از شرکت هووراش بوشهر تهیه گردید (جدول ۲). محاسبه انرژی (ناخالص) کل در هر گرم جیره از طریق حاصل ضرب مقدار انرژی موجود در هر گرم پروتئین (۲۳/۶ کیلوژول)، چربی (۳۹/۵ کیلوژول) و کربوهیدرات (۱۷/۲ کیلوژول) تعیین گردید (NRC, 1993).

تیمارها عبارت بودند از:

تیمار ۱ (شاهد): پرورش میگوی سفید غربی با استفاده از غذای میگو با پروتئین ۳۸ درصد (Control)

تیمار ۲: پرورش میگوی سفید غربی با استفاده از بایوفلاک ملاس + غذای میگو با پروتئین ۲۵ درصد (M25)

- تیمار ۳: پرورش میگوی سفید غربی با استفاده از بایوفلاک خرما + غذای میگو با پروتئین ۲۵ درصد (P25)
 تیمار ۴: پرورش میگوی سفید غربی با استفاده از بایوفلاک ملاس + غذای میگو با پروتئین ۱۵ درصد (M15)
 تیمار ۵: پرورش میگوی سفید غربی با استفاده از بایوفلاک خرما + غذای میگو با پروتئین ۱۵ درصد (P15)

سپس تانک‌ها با آب دریای فیلتر شده (شنی) تا ۲۰۰ لیتر پر شده و جهت تسریع در تشکیل بایوفلاک به هر تانک دو لیتر (۱٪) از بایوفلاک آکواریوم مربوطه به عنوان استوک اولیه اضافه شد. برخی منابع این میزان را حداقل نیم سی‌سی در لیتر عنوان نموده‌اند (Xu et al., 2013). میگوهای جوان به وزن $5/37 \pm 0/33$ گرم از مزرعه پرورشی دلوارا به سالن منتقل و پس از ضدعفونی و گذراندن دوره قرنطینه (۷۲ ساعت) به طور تصادفی در ۱۵ تانک ذخیره‌سازی شدند (۶ تانک بایوفلاک خرما، ۶ تانک بایوفلاک ملاس و ۳ تانک شاهد حاوی آب فیلتر شده دریا بدون بایوفلاک). در تانک‌های شاهد، تعویض آب به صورت مرسوم و روزانه ۵۰٪ آن با آب فیلتر شده تعویض می‌گردید. در تیمارهای بایوفلاک تبخیر آب با اضافه نمودن آب شیرین بدون کلر جایگزین گردید به طوری که شوری نزدیک به ۳۶ گرم در لیتر و بدون تغییرات معنی‌دار ثابت ماند. در هر یک از تانک‌های بایوفلاک روزانه میزان مواد جامد قابل ته‌نشست (Settled Solid or Biofloc Volume) اندازه‌گیری و در صورت افزایش از حد مجاز (۱۴ میلی‌لیتر در یک لیتر از آب تانک) عمل زهکشی صورت گرفته و فلاک اضافی برداشت گردید. غذادهی در سه نوبت (ساعات ۸، ۱۴ و ۲۲) و به میزان ۴ درصد وزن کل بدن انجام گرفت (Liu et al., 2014). میزان قند موجود در ملاس و شیره خرما به وسیله دستگاه قندسنج دیجیتال مدل Atago PAL-3 سنجیده شد. قند کل موجود در ملاس و در شیره خرمای مورد استفاده (انواع قندها شامل: ساکارز، گلوکز، فروکتوز و سایر قندها با نسبت‌های متفاوت) به ترتیب ۷۴ و ۷۹ درصد بود (جدول ۳). به طور میانگین ۴۰ درصد از ترکیبات قندها را کربن تشکیل می‌دهد (Ebeling et al., 2006). بنابراین کربن حدود ۲۵ درصد از وزن ملاس و شیره خرما را شامل می‌شود.

میزان کربوهیدرات مورد نیاز در ملاس و شیره خرما، توسط فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\Delta CH = \text{feed (g)} \times \% \text{ Protein} \times \% \text{ N (16)} \times \% \text{ N Excretion (90)} / (\% \text{ C} \times E/[C/N_{\text{mic}}])$$

^۱ E ضریب کارایی تبدیل کربن در باکتری‌های هتروتروف ۴۰٪ و نسبت کربن به ازت [C/N_{mic}] مورد نیاز در بایومس باکتری‌ها حدود ۴ می‌باشد و C درصد کربن در کربوهیدرات (۲۵٪) است (Avnimelech, 1999). بر اساس تحقیقات Ebeling, 2006 ضریب درصد ازت دفعی (% N Excretion) ۹۰ درصد در نظر گرفته شد. بنابراین برای هر ۱۰۰ گرم غذا در تیمار ۲۵٪ و ۱۵٪ پروتئین، به ترتیب ۱۴۴ و ۸۶ گرم از شیره خرما و ملاس بعد از وعده غذایی (ساعت ۱۴) اضافه گردید. ابتدا مواد قندی درون یک بشر به خوبی حل شد و سپس به صورت یکنواخت به تانک‌ها اضافه شدند. از آنجا که خصوصیات بایوفلاک تولیدی تحت تاثیر فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب و نوع و میزان منبع کربنی می‌باشد (Avnimelech, 1999)؛ پارامترهای دخیل در تشکیل هر دو نوع بایوفلاک تولید شده با استفاده از منبع کربنی شیره خرما و ملاس اندازه‌گیری و مقایسه شدند. این فاکتورها ثبت روزانه پارامترهای فیزیوشیمیایی و نوسانات آنها (شامل: اکسیژن، دما، پی‌اچ، شوری و نور) بودند. اکسیژن محلول با استفاده از دستگاه اکسی‌متر مدل (WTW, Oxi 3210)، دما توسط دماسنج جیوه ای و تغییرات پی‌اچ نیز با پی‌اچ متر مدل (WTW, Winlab) هر روز (ساعات ۸ و ۱۶) انجام گرفت. شوری نیز با شوری سنج چشمی (ATAGO, S/Mill-E) سنجیده شد. برای تعیین میزان مواد جامد قابل ته‌نشین (Settled Solid) یک لیتر آب تانک را به داخل قیف مدرج شده مخروطی شکل (Imhoff cone) ریخته و به مدت یک ساعت نگه داشته تا ذرات معلق ته‌نشین شود. سپس رسوب ته‌نشین شده بر حسب میلی‌لیتر در لیتر خوانده شد (Avnimelech, 2009). علاوه بر این، تراکم بایوفلاک و میزان کربوهیدرات مصرفی روزانه نیز اندازه‌گیری شد. برای سنجش تراکم بایوفلاک برای هر تیمار، مقدار کل ذرات جامد معلق Total suspended solids (TSS) بر حسب میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد. برای این کار یک لیتر آب از تانک پرورش را درون مخروط قیفی شکل ریخته و پس از یک ساعت سکون، قسمت بالایی مخروط را سیفون کرده و محتویات باقیمانده را

¹ Conversion Efficiency

روی کاغذ صافی شماره ۴۲ (تخلخل ۲/۵ میکرون) فیلتر و در آون با درجه حرارت ۱۰۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳ ساعت قرار داده تا خشک شود. سپس برای محاسبه آن، اختلاف وزن کاغذ صافی قبل و بعد از آون را با ترازوی حساس با دقت ۰/۰۱ میلی گرم اندازه گیری نمودیم. همچنین برای سنجش مواد جامد معلق فرار Volatile Suspended Solids (VSS) رسوبات موجود بر روی کاغذ صافی مذکور را در دمای ۵۵۰ درجه در کوره و به مدت ۳۰ دقیقه سوزانده و کاهش وزن آن را حساب نمودیم (AOAC, 2000). برای تخمین سرعت رشد بایوفلاک از اختلاف اعداد ثبت شده برای مقدار کل ذرات جامد معلق (TSS) و مواد جامد معلق فرار (VSS) در روزهای مختلف، استفاده نمودیم (Serra et al., 2015). ترکیب بیوشیمیایی میگو و بایوفلاک های تولید شده شامل میزان خاکستر، پروتئین، رطوبت، چربی و قند در تیمارهای مختلف سنجیده شد.

بعد از ۳۵ روز پرورش، ۵ عدد میگو از هر تکرار، از تانک خارج شده و پس از جدا کردن کامل پوسته و ناحیه سرسینه، عضلات شستشو و با چرخ گوشت همگن گردیدند و در ظروف جداگانه قرار گرفتند. سپس فاکتورهای بیوشیمیایی پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر آنها مورد سنجش قرار گرفت (AOAC, 2000). میزان رطوبت با استفاده از آون (مدل F.A.G.) در دمای ۱۰۵ °C به مدت ۲۴ ساعت سنجش گردید. خاکستر نیز با سوزاندن نمونه ها در دمای ۵۵۰ °C به مدت ۵ ساعت در داخل کوره (مدل Batec) اندازه گیری شد. پروتئین کل با استفاده از دستگاه کج‌دال (Kjeltec Analyzer Unit Foss 2300) محاسبه شد. چربی کل نیز با استفاده از دستگاه FOSS (Soxtec 2050) و کلروفورم اندازه گیری شد.

فیبر خام نیز با روش جوشاندن نمونه در اسید سولفوریک و پتاس اندازه گیری شد. برای اندازه گیری ترکیبات بیوشیمیایی بایوفلاک، ابتدا آن را با تور ۱۰۰ میکرون جمع آوری و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه قرار داده تا میزان رطوبت محاسبه و به وزن ثابت برسد. سپس آن را در فریزر و دمای ۲۰- درجه سانتی گراد ذخیره سازی نمودیم. ترکیبات مورد نظر بر اساس درصد وزن خشک و روش استاندارد اندازه گیری شد (AOAC, 2000). کربوهیدرات با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Aksnes et al., 2006):

$$\text{خاکستر} + \text{رطوبت} + \text{چربی} + \text{پروتئین} - 100 = \text{کربوهیدرات (درصد)}$$

شاخص های آمونیاک، نیتريت و نیترات در تیمارهای مختلف با استفاده از روش نسلریزاسیون و اسپکتروفتومتر مدل Unico 2150 و با دستورالعمل های مربوطه اندازه گیری شدند (Standard Methods, 2005). پس از زیست سنجی (اندازه گیری فاکتورهای طول و وزن)، پارامترهای رشد و تغذیه میگوهای ذخیره سازی شده با استفاده از فرمول های مربوطه برای کلیه تیمارها محاسبه شدند (Tacon et al., 2002).

وزن اولیه - وزن نهایی = افزایش وزن بدن

درصد بقاء × تعداد میگو × (وزن اولیه - وزن نهایی) = افزایش بیومس (گرم)

۱۰۰ × (غذای مصرفی / (وزن اولیه - وزن نهایی)) = بازده غذایی

۱۰۰ × میانگین وزن اولیه / (میانگین وزن اولیه - میانگین وزن نهایی) = درصد افزایش وزن بدن

۱۰۰ × (تعداد میگو در ابتدای دوره / تعداد میگو در انتهای دوره) = درصد بقاء

مقدار غذای خورده شده / افزایش وزن بدن = ضریب تبدیل غذایی

پروتئین مصرفی (گرم) / وزن تر تولید شده (گرم) = نرخ بازده پروتئین

(دوره پرورش به روز) / (وزن ابتدایی - وزن نهایی) = سرعت رشد

(دوره پرورش به روز) / (لگاریتم طبیعی وزن اولیه - لگاریتم طبیعی وزن نهایی) × ۱۰۰ = ضریب رشد ویژه^۲

² Specific growth rate. SGR (% day⁻¹)

تحقیق حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار تغذیه‌ای متفاوت و ۳ تکرار اجرا و پس از استخراج داده‌ها، مقایسه صفات مورد آزمایش از طریق تجزیه واریانس و مقایسه میانگین آزمون دانکن در سطح ۵٪ انجام گردید. برای انجام آنالیزهای فوق از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ استفاده گردید.

جدول ۳. آنالیز تقریبی ترکیبات قندی استفاده شده

شیره خرما	ملاس	ترکیبات %
۶۴/۴۵±۰/۳۳	۶۲/۲۷±۰/۴۸	ماده خشک
۴/۸۵±۰/۰۵	۹/۱۷±۰/۱۲	پروتئین
۲/۸±۰/۰۴	۱/۲۴±۰/۰۳	چربی
۷۹/۳۱±۰/۲۳	۷۴/۳۴±۰/۱۱	کربوهیدرات
۰/۷۵±۰/۰۷	۰/۵۳±۰/۰۴	فیبر
۱۲/۲۶±۰/۰۹	۱۴/۷±۰/۱۴	خاکستر

جدول ۱. ترکیبات لازم برای ایجاد بایوفلاک در آکواریوم ۴۰ لیتری*

نوع ترکیب	مقدار در بایوفلاک ملاس	مقدار در شیره خرما
غذای تجاری میگو با ۴۲٪ پروتئین	۸ گرم	۸ گرم
ملاس	۱۰ گرم	-----
شیره خرما	-----	۱۰ گرم
آرد گندم	۱۰ گرم	۱۰ گرم
اوره	۱ گرم	۱ گرم
سوپر فسفات	۱ گرم	۱ گرم
خاک رس	۱ گرم	۱ گرم

* برگرفته از (Avnimelech, 2009) با اندکی تغییر

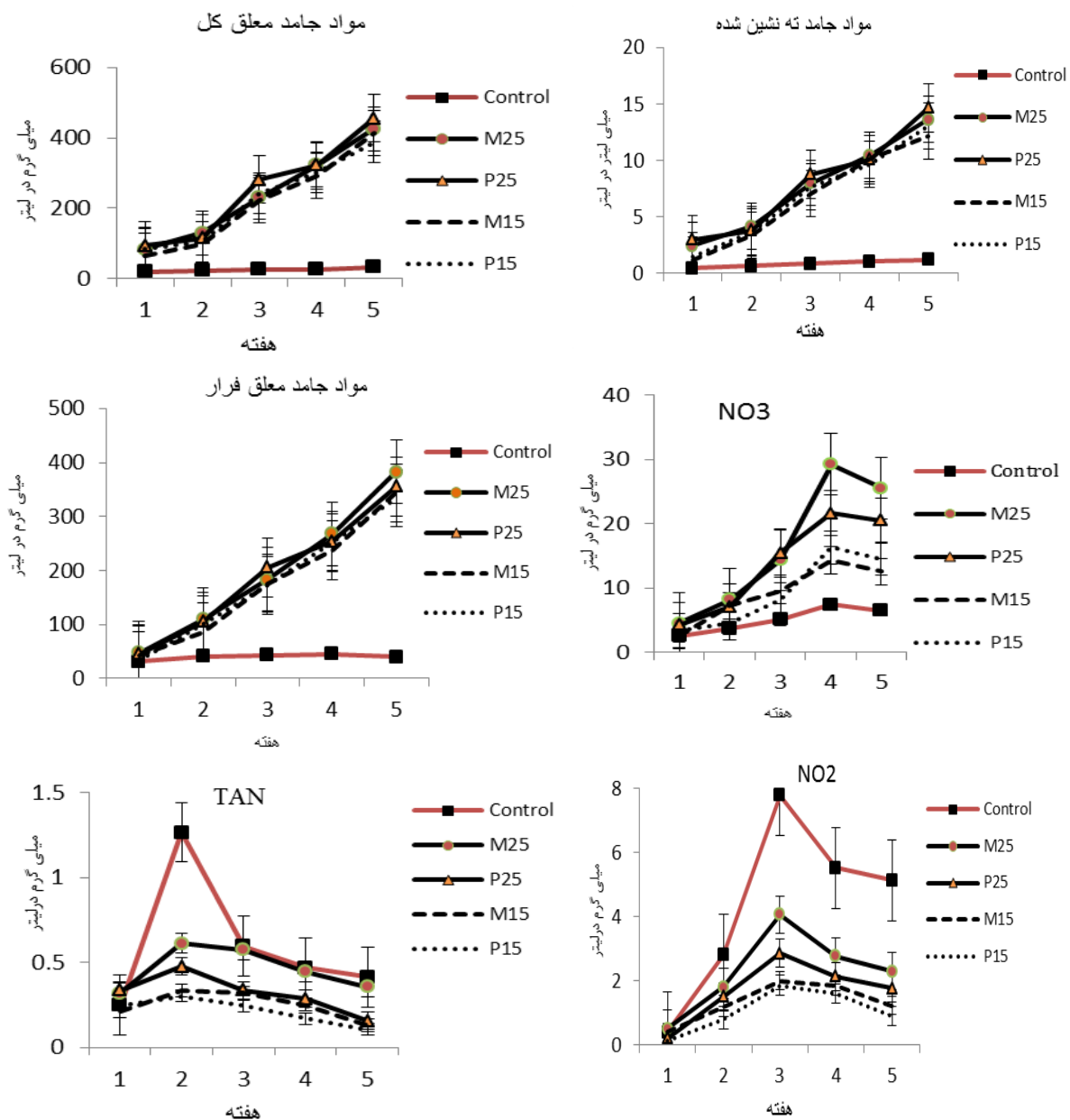
جدول ۲. ترکیبات جیره‌های استفاده شده

جیره‌های مختلف			ترکیبات جیره (درصد)
پروتئین ۳۸٪	پروتئین ۲۵٪	پروتئین ۱۵٪	
۴۸/۵	۲۵	۹	پودر ماهی
۱	۱	۱	سویا
۹	۱۶	۱۷	آرد ذرت
۲۰/۵	۳۴/۵	۴۷	آرد گندم
۰	۱/۵	۴	روغن ماهی
۱	۲	۲	روغن سویا
۱/۵	۱/۵	۱/۵	مخلوط ویتامینه
۱/۵	۱/۵	۱/۵	مخلوط مواد معدنی
۰/۵	۰/۵	۰/۵	لسیتین
۰/۵	۰/۵	۰/۵	آنتی اکسیدان
۱/۵	۱/۵	۱/۵	دی کلسیم فسفات
۰/۵	۰/۵	۰/۵	کلسترول(مرک)
۴	۴	۴	بایندر (آکواکیوب)
۱۰	۱۰	۱۰	سلولز
ترکیبات شیمیایی (درصد)			
۳۸	۲۵	۱۶/۲	پروتئین خام
۹/۸۳	۹/۱۹	۹/۴۲	چربی خام
۱/۱۳	۱/۴۲	۱/۶۲	فیبر
۹۰/۴۱	۹۰/۴۵	۹۰/۵۶	ماده خشک
۱۷/۷۸	۱۷/۲۳	۱۶/۹۹	انرژی (KJ/g)

نتایج

تشکیل بایوفلاک و فاکتورهای کیفی آب

نوسانات میزان مواد جامد معلق کل (TSS)، میزان مواد جامد ته‌نشین شده (BFV)، مواد جامد معلق فرار (VSS) و فاکتورهای ازتی در شکل ۱ نشان داده شده است. کمترین میزان مواد جامد معلق کل و فرار در تیمار شاهد (به ترتیب ۱۹ و ۳۱ میلی‌گرم در لیتر) اندازه‌گیری و در طول دوره روند نسبتاً یکسانی داشتند. در تیمارهای بایوفلاک این مقادیر از هفته اول تا پایان دوره روند افزایشی داشت و بیشترین این مقدار در تیمار P25 (به ترتیب ۴۵۵ و ۳۵۶ میلی‌گرم در لیتر) به دست آمد که در سطح ۰/۵٪ دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($P < 0/05$). همچنین کمترین میزان مواد جامد ته‌نشین شده در تیمار شاهد (۰/۴۷ میلی‌لیتر در لیتر) و در طول آزمایش تقریباً روند ثابتی داشت. این پارامتر در تیمارهای بایوفلاک از هفته اول شروع به افزایش کرد و بیشترین آن در تیمار P25 (۱۴/۷) ثبت گردید که دارای اختلاف معنی‌داری (در سطح ۰/۵٪) بودند.



شکل ۱. میزان مواد جامد معلق فرار (VSS)، مواد جامد معلق کل (TSS)، مواد جامد ته‌نشین شده (BFV)، آمونیاک کل (TAN)، نیتريت (NO₂) و نیترات (NO₃) در طول دوره آزمایش.

در مورد ازت کل (TAN)، این میزان در ابتدای آزمایش افزایش و در هفته دوم روند کاهشی نشان داد. در تیمار شاهد، روند افزایشی ناگهانی و شیب آن در تیمارهای بایوفلاک ملایم بود. بیشترین این میزان در تانک شاهد (0.6 ± 0.35 میلی‌گرم در لیتر) و کمترین آن در تیمار P15 (0.21 ± 0.07 میلی‌گرم در لیتر) اندازه‌گیری شد. میانگین آن در تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($P < 0.05$). همچنین روند افزایشی NO_2 نیز تا هفته سوم ادامه و سپس از مقدار آن تا هفته چهارم در همه تیمارهای بایوفلاک به شدت کاسته شد و سپس تا آخر دوره با شیب نزولی ملایمی ادامه یافت. در اینجا نیز بیشترین آن در تانک شاهد (4.33 ± 2.53 میلی‌گرم در لیتر) و کمترین میزان در تیمار P15 (1.06 ± 0.61 میلی‌گرم در لیتر) اندازه‌گیری شد. همچنین تیمارهای مختلف اختلافات معنی‌داری نشان دادند ($P < 0.05$). دامنه تغییرات در فاکتور NO_3 ، تا هفته سوم با شیب ملایمی در حال افزایش بود و سپس در طول هفته چهارم به بیشترین مقدار خود در همه تیمارها رسید ($P < 0.05$). بیشترین آن در تیمار M25 (16.37 ± 9.57 میلی‌گرم در لیتر) و کمترین آن در تیمار شاهد (5.08 ± 1.78 میلی‌گرم در لیتر) ثبت گردید.

برخی از فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب در جدول ۴ نشان داده شده‌اند (میانگین \pm انحراف معیار). همان‌طور که در جدول دیده می‌شود دمای صبح اندکی از دمای عصر کمتر بود اگرچه اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت و در طول دوره ۳۵ روزه اجرای پروژه از میزان دما در حدود یک درجه کاسته شد. همچنین در تیمارهای آزمایش، شوری آب اختلاف معنی‌داری نداشتند اما تیمار شاهد از بقیه تیمارها اندکی پایین‌تر بود. در خصوص پی‌اچ نیز روند افزایشی و از $7/6$ تا $8/3$ بود و در تیمار شاهد اندکی بالاتر از بقیه تیمارها بود. میزان اکسیژن نیز در تیمار شاهد از بقیه تیمارها بیشتر که البته اختلاف معنی‌داری نداشتند. میزان اکسیژن در طول روز از صبح تا غروب روند کاهشی را طی می‌نمود به طوری که کمترین آن در ساعت ۱۷ عصر در تیمار M25 ثبت گردید.

جدول ۴. فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب در طول دوره آزمایش

فاکتور	P15	M15	P25	M25	شاهد
شوری (PPT)	$36/24 \pm 0/64$	$36/22 \pm 0/74$	$36/28 \pm 0/62$	$36/28 \pm 0/73$	$36/20 \pm 0/69$
دمای صبح °C	$29/46 \pm 0/31$	$29/4 \pm 0/28$	$29/44 \pm 0/22$	$29/48 \pm 0/28$	$29/50 \pm 0/34$
دمای عصر °C	$30/34 \pm 0/36$	$30/32 \pm 0/4$	$30/2 \pm 0/4$	$30/24 \pm 0/39$	$30/3 \pm 0/4$
پی‌اچ صبح	$7/87 \pm 0/07$	$7/81 \pm 0/06$	$7/77 \pm 0/08$	$7/72 \pm 0/09$	$8/08 \pm 0/18$
پی‌اچ عصر	$7/78 \pm 0/03$	$7/74 \pm 0/04$	$7/67 \pm 0/05$	$7/62 \pm 0/06$	$7/91 \pm 0/1$
اکسیژن صبح (mg/L)	$5/4 \pm 0/18$	$5/34 \pm 0/26$	$5/28 \pm 0/29$	$5/16 \pm 0/26$	$5/56 \pm 0/18$
اکسیژن عصر (mg/L)	$5/26 \pm 0/16$	$5/21 \pm 0/25$	$5/16 \pm 0/27$	$5/02 \pm 0/23$	$5/36 \pm 0/10$
(mg/L) TAN	$0/21 \pm 0/07$	$0/25 \pm 0/07$	$0/32 \pm 0/1$	$0/46 \pm 0/12$	$0/6 \pm 0/35$
(mg/L) NO_2	$1/06 \pm 0/61$	$1/33 \pm 0/57$	$1/69 \pm 0/88$	$2/29 \pm 1/17$	$4/33 \pm 2/53$
(mg/L) NO_3	$9/39 \pm 5/19$	$9/25 \pm 4/13$	$13/81 \pm 7$	$16/37 \pm 9/57$	$5/08 \pm 1/78$
(mg/L) TSS	$225 \pm 115/69$	$218/53 \pm 128/25$	$253/60 \pm 134/78$	$238/33 \pm 124/75$	$25/67 \pm 4/58$
(mg/L) VSS	$178/7 \pm 106/2$	$177/3 \pm 107/6$	$193/2 \pm 109/48$	$198/2 \pm 118$	$40/13 \pm 4/8$
(ml/L) BFV	$7/09 \pm 4/14$	$6/77 \pm 4/07$	$8/07 \pm 4/29$	$7/73 \pm 4/07$	$8/44 \pm 0/26$

در هر ردیف، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ($P > 0.05$).

عملکرد فاکتورهای رشد در جدول ۵ آمده است. بیشترین افزایش وزن در تیمار P25 ($7/27 \pm 0/51$ گرم) و کمترین آن در تیمار شاهد ($5/96 \pm 0/14$ گرم) به دست آمده است و در بقیه تیمارها نیز اختلاف معنی‌داری بود ($P < 0.05$). همچنین بیشترین نرخ رشد ($1/45 \pm 0/1$)، بازماندگی ($86/67 \pm 4/36$) و افزایش بیومس ($229/82 \pm 12/22$ گرم) در تیمار P25 و کمترین آن‌ها در تیمار شاهد (به ترتیب $3 \pm 0/119$ ، $2/86 \pm 0/80$ و $166/86 \pm 2/34$ گرم) محاسبه شد. بیشترین درصد شاخص وزن بدن

(۱۲۸/۴۳±۱۰/۸۴) در تیمار P25 و کمترین آن در تیمار M15 به دست آمده است. بیشترین بازده غذایی در تیمار P25 (۲/۶۲±۰/۲۲) و کمترین آن در تیمار M15 (۲/۲۴±۰/۰۲) مشاهده گردید. بیشترین مقدار نسبت بازده پروتئین در تیمار P15 (۰/۱۷±۰/۰۱۶) و کمترین آن در تیمار شاهد (۰/۰۶۵±۰/۰۰۲) سنجش گردید. بیشترین ضریب رشد ویژه در تیمار P25 (۲/۳۶±۰/۱۴) و کمترین آن در تیمار M15 (۲/۱۲±۰/۰۱) محاسبه شد. کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار P25 (۱/۳۲±۰/۰۹) و بیشترین آن در تیمار شاهد (۱/۸۴±۰/۲۱) سنجش گردید.

آنالیز تقریبی ترکیبات شیمیایی لاشه میگوهای مورد آزمایش در جدول ۶ ارائه شده است. نتایج این بررسی نشان داد میزان رطوبت، پروتئین، چربی، خاکستر و فیبر میگوها به طور معنی داری تحت تاثیر جیره‌های مختلف قرار می‌گیرد ($p < 0.05$). بیشترین میزان رطوبت در تیمار شاهد (۷۳/۷۹±۰/۱) و کمترین آن در تیمار P25 (۷۷/۷۶±۰/۱) مشاهده گردید. کمترین میزان پروتئین در تیمار شاهد (۱۵/۱۸±۰/۲۴) و بیشترین آن در تیمار P25 (۱۵/۱۸±۰/۷۶) ثبت گردید. بیشترین میزان چربی و فیبر در تیمار P15 (به ترتیب ۱۳/۱۷±۰/۱ و ۰/۷±۰/۵۷) و کمترین آنها در تیمار شاهد (به ترتیب ۸/۱۳±۰/۳۳ و ۰/۴±۰/۱۵) مشاهده شد. بیشترین میزان خاکستر در تیمار P25 (۴/۲۳±۰/۰۴) و کمترین آن در تیمار شاهد (۱۳/۱۲±۰/۱۲) اندازه‌گیری شد.

جدول ۵. عملکرد رشد در تیمارهای مختلف در طول ۳۵ روز (میانگین ± انحراف از معیار)*

شاهد	M25	P25	M15	P15	فاکتور
^a ۱۰/۸۹±۰/۳۷	^{bc} ۱۲/۲۷±۰/۳۶	^c ۱۲/۹۳±۰/۴۹	^{ab} ۱۱/۵۸±۰/۵۶	^{bc} ۱۲/۰۲±۰/۹۵	وزن نهایی (g)
^a ۵/۹۶±۰/۱۴	^{ab} ۶/۷۹±۰/۲۴	^b ۷/۲۷±۰/۵۱	^a ۶/۰۷±۰/۲۶	^{ab} ۶/۷۵±۰/۸۱	افزایش وزن (g)
^a ۱/۱۹±۰/۰۳	^{ab} ۱/۳۶±۰/۰۴	^b ۱/۴۵±۰/۰۱	^a ۱/۲۱±۰/۰۵	^{ab} ۱/۳۵±۰/۰۱۶	نرخ رشد (g/week)
^a ۸۰±۲/۸۶	^{ab} ۸۳/۸۱±۳/۳۰	^b ۸۶/۶۷±۴/۳۶	^{ab} ۸۲/۸۶±۲/۸۶	^{ab} ۸۳/۸۱±۱/۶۵	نرخ بازماندگی %
^{ab} ۱۲۰/۹۸±۳/۱۴	^{ab} ۱۲۴/۱۶±۱۱/۹۲	^b ۱۲۸/۴۳±۱۰/۸۴	^a ۱۰۹/۹۶±۱۱/۱۴	^b ۱۲۸/۰۷±۱۱/۸۲	شاخص وزن بدن %
^a ۱۶۶/۸۶±۲/۳۴	^b ۲۰۳/۳۶±۱/۹۹	^c ۲۲۹/۸۲±۱۲/۲۲	^a ۱۷۶±۱۲/۱۱	^b ۲۰۲/۲۳±۱۹/۸۴	افزایش بیومس (g)
^{ab} ۲/۴۷±۰/۰۶	^{ab} ۲/۵۳±۰/۲۴	^b ۲/۶۲±۰/۲۲	^a ۲/۲۴±۰/۰۲	^b ۲/۴۹±۰/۲۱	بازده غذایی (EF)
^a ۰/۰۶۵±۰/۰۰۲	^b ۰/۱±۰/۰۱	^b ۰/۱±۰/۰۰۹	^c ۰/۱۵±۰/۰۰۲	^d ۰/۱۷±۰/۰۱۶	PER ^۳
^{ab} ۲/۲۷±۰/۰۴	^{ab} ۲/۳۰±۰/۱۵	^b ۲/۳۶±۰/۱۴	^a ۲/۱۲±۰/۰۱	^b ۲/۳۵±۰/۱۵	SGR (% day ⁻¹) ^۴
^b ۱/۸۴±۰/۲۱	^a ۱/۵±۰/۱۴	^a ۱/۳۲±۰/۰۹	^b ۱/۹±۰/۱۴	^a ۱/۴۷±۰/۱۲	FCR ^۵

*در هر ردیف میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه با هم اختلاف معنی داری ندارند ($p > 0.05$)

جدول ۶. میانگین ترکیبات شیمیایی عضله میگوی سفید غربی در تیمارهای مختلف در مدت ۳۵ روز آزمایش %

تیمار	خاکستر	فیبر	چربی	پروتئین	رطوبت
شاهد	^a ۱/۲۵±۰/۱۳	^a ۰/۱۵±۰/۰۴	^a ۱/۳۳±۰/۰۸	^a ۱۸/۲۴±۰/۱۵	^c ۷۹/۱±۰/۷۳
M25	^b ۲/۱۴±۰/۰۷	^{ab} ۰/۲۲±۰/۰۶	^{ab} ۱/۴۷±۰/۱۲	^{ab} ۱۸/۶۳±۰/۳۴	^{ab} ۷۷/۱۳±۰/۵۲
P25	^b ۲/۲۳±۰/۰۴	^b ۰/۳۱±۰/۰۸	^{bc} ۱/۵۶±۰/۰۹	^b ۱۸/۷۶±۰/۱۵	^a ۷۶/۸۸±۰/۷۷
M15	^b ۲/۰۷±۰/۱۴	^c ۰/۴۵±۰/۰۴	^{bc} ۱/۶۷±۰/۱۲	^a ۱۸/۲۹±۰/۲۲	^{bc} ۷۸/۱۱±۰/۱۸
P15	^b ۲/۱۴±۰/۰۹	^d ۰/۵۷±۰/۰۷	^c ۱/۷۲±۰/۱۳	^{ab} ۱۸/۴۱±۰/۲۳	^{ab} ۷۷/۳±۰/۰۴

*در هر ردیف میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه با هم اختلاف معنی داری ندارند ($p > 0.05$)

³ Protein efficiency ratio

⁴ Specific growth rate

⁵ Feed conversion ratio

آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی بایوفلاک (بر اساس درصد وزن خشک) در جدول ۷ حاکی از تاثیر جیره بر این اجزاء می باشد. بیشترین میزان پروتئین در تیمار P25 (27.6 ± 2.5) و کمترین آن در تیمار P15 (21.77 ± 1.58) ثبت گردید. بیشترین و کمترین میزان چربی به ترتیب در تیمار P15 (1.26 ± 0.95) و P25 (0.85 ± 0.12) مشاهده شد. بیشترین میزان کربوهیدرات در تیمار M15 (31.43 ± 1.46) و کمترین آن در تیمار P25 (25.87 ± 1.25) اندازه گیری شد. بیشترین میزان فیبر و خاکستر در تیمار P15 به ترتیب 3.40 ± 0.2 و 45.5 ± 1.08 و کمترین آن ها در تیمار M25 2.1 ± 0.26 و 42.5 ± 0.64 سنجش گردید.

محاسبات اقتصادی

با توجه به ضریب تبدیل غذایی، گرانترین و ارزانترین جیره متعلق به تیمار شاهد و تیمارهای بایوفلاک (M15 و P15) می باشد (جدول ۸). هزینه ثابت به طور متوسط برای شاهد و تیمارهای بایوفلاک یکسان در نظر گرفته شده است زیرا هزینه هایی مثل تعداد زیاد کارگر و پمپاژ آب در سیستم های مرسوم، با هزینه هایی مانند نیروی برق، افزایش تلاطم و چرخش آب و هوادهی بیشتر در سیستم بایوفلاک تقریباً برابر می شوند. میزان کربوهیدرات بر اساس فرمول و قیمت روز محاسبه شده است. تیمار P15 با 72% سود در مقام نخست سوددهی قرار گرفته است. تیمارهای P25، M25، M15 و شاهد در ردیف های بعدی قرار گرفتند.

جدول ۷. میانگین ترکیبات بیوشیمیایی در بایوفلاک در تیمارهای مختلف (بر اساس درصد وزن خشک)

تیمار	خاکستر	فیبر	کربوهیدرات	چربی	پروتئین
M25	42.5 ± 0.64 ^a	2.1 ± 0.26 ^a	26.8 ± 2.55 ^{ab}	0.96 ± 0.14 ^a	26.73 ± 3.4 ^{bc}
P25	42.77 ± 1.02 ^b	2.67 ± 0.15 ^b	25.87 ± 1.25 ^a	0.85 ± 0.12 ^a	27.6 ± 2.5 ^c
M15	45.17 ± 2.15 ^{ab}	3.17 ± 0.21 ^c	31.43 ± 1.46 ^c	1.06 ± 0.13 ^{ab}	22.4 ± 2.1 ^{ab}
P15	45.5 ± 1.08 ^b	3.40 ± 0.2 ^c	30.1 ± 1.8 ^{bc}	1.26 ± 0.95 ^b	21.77 ± 1.58 ^a

*در هر ردیف میانگین های دارای حداقل یک حرف مشابه با هم اختلاف معنی داری ندارند ($P > 0.05$)

جدول ۸. محاسبه هزینه و سود در تیمارهای مختلف

تیمار	FCR	هزینه* واحد غذا	هزینه غذا برای* تولید یک کیلو میگو	هزینه لارو* هزینه ثابت*	هزینه کربوهیدرات مصرفی (گرم)	هزینه* کربوهیدرات	هزینه** کل	سود خالص*	درصد سوددهی
شاهد	۱/۸	۴۰۰۰۰	۷۲۰۰۰	۱۲۰۰۰	۲۰۰۰۰	-----	۱۰۴۰۰۰	۳۶۰۰۰	۳۵
M25	۱/۵	۳۳۰۰۰	۴۹۵۰۰	۱۲۰۰۰	۲۰۰۰۰	۱۵۰۰۰	۹۱۵۰۰	۴۸۵۰۰	۵۳
P25	۱/۳	۳۳۰۰۰	۴۲۹۰۰	۱۲۰۰۰	۲۰۰۰۰	۱۵۰۰۰	۸۴۹۰۰	۵۵۱۰۰	۶۵
M15	۱/۹	۲۹۰۰۰	۵۵۱۰۰	۱۲۰۰۰	۲۰۰۰۰	۹۰۰۰	۹۳۱۰۰	۴۶۹۰۰	۵۰
P15	۱/۵	۲۹۰۰۰	۴۳۵۰۰	۱۲۰۰۰	۲۰۰۰۰	۹۰۰۰	۸۱۵۰۰	۵۸۵۰۰	۷۲

* ارقام بر حسب ریال - فروش هر کیلو میگو ۱۴۰۰۰۰ ریال

** هزینه کل برای تولید هر کیلوگرم میگو بر حسب ریال = هزینه غذا برای تولید یک کیلو میگو + هزینه لارو + هزینه ثابت + هزینه کربوهیدرات

بحث

با گسترش بیماری های واگیری چون لکه سفید در مزارع میگو و حضور دایمی عامل بیماری در آب های دریایی؛ رویکرد جدید شیلاتی، مبارزه با این بیماری، پرورش میگو در سیستم های بدون تعویض آب، پرورش در آب های غیرمتعارف و دور از ساحل شده است. عدم امکان تعویض آب در مقیاس وسیع به منظور بهبود کیفیت آب، از نقاط ضعف این سیستم ها می باشد. به همین

دلیل برای غلبه بر این مشکل و افزایش کمیت و کیفیت پرورش، باید به سراغ تکنولوژی‌های نوین رفت. در سال‌های اخیر گزارشاتی از تاثیر مثبت سیستم بایوفلاک بر پارامترهای رشد ارائه شده است. بایوفلاک سبب افزایش رشد، کاهش ضریب تبدیل غذایی و بهبود ایمنی می‌شود (Xu and Pan, 2012). در مطالعات گذشته کربوهیدرات‌های مختلفی از جمله: ملاس، شکر، نشاسته، گلیسرول، استات، کازاوا، پودر ذرت، آرد گندم به عنوان منبع کربنی استفاده شده است (Khanjani *et al.*, 2017; Ray *et al.*, 2014; Avnimelech and Mokady, 1988; Milstein *et al.*, 2001; Burford *et al.*, 2004). تا کنون گزارشی در خصوص استفاده از شیره خرما به منظور تامین کربن مورد نیاز سیستم بایوفلاک در دنیا ارائه نشده است. تشکیل بایوفلاک و توان تغذیه از آن به گونه میگو نیز بستگی دارد. میگوی سفید غربی از گونه‌های مناسب برای توسعه بایوفلاک است (Correia *et al.*, 2014). اختلافات معنی‌داری در میزان کل مواد جامد معلق (TSS)، مواد جامد ته‌نشین شده (BFV) و مواد جامد معلق فرار (VSS) بین تیمارهای بایوفلاک و شاهد دیده شد. بیشترین میزان پارامترهای فوق در تیمار P25 (شیره خرما و پروتئین ۲۵٪) بود که حاکی از بهترین شرایط برای تشکیل بایوفلاک در این تیمار بوده است. در تیمارهای حاوی پروتئین بیشتر، جهت نگهداری نسبت کربن به نیتروژن در محدوده ۲۰-۱۵، نیاز به میزان بیشتری کربوهیدرات بود که به دلیل مواد غذایی و کربن بیشتر برای باکتری‌ها و موجودات تغذیه کننده از آنها شرایط مناسب‌تری برای تولید بایوفلاک ایجاد شده است که با مطالعات دیگر نیز همخوانی دارد (Xu and pan, 2013). شیره خرما دارای میزان زیادی ویتامین (ویتامین آ، اسید اسکوربیک و آلفا توکوفرول)، مواد معدنی، چربی، پروتئین، رنگدانه، فلاونوئید، فنل، آنتوسیانین و دیگر مواد افزاینده رشد است (Baliga *et al.*, 2011; Allaith, 2008; Biglari *et al.*, 2008; Boudries *et al.*, 2007). تاثیر ویتامین‌ها و رنگدانه‌ها در رشد و ایمنی میگو در بسیاری از تحقیقات به اثبات رسیده است (Zhang *et al.*, 2013). شیره خرما دارای خواص ضد سرطانی، محافظ دستگاه گوارش و کبد و سیستم عصبی و کاهنده چربی خون است (Rania *et al.*, 2014). قند موجود در شیره خرما بر خلاف ملاس بیشتر از قندهای ساده‌ای چون گلوکز و فروکتوز و کمتر از ساکارز تشکیل شده است که باعث می‌شود باکتری‌ها و آغازیان آن را آسان‌تر مورد استفاده قرار داده و جمعیت خود را سریع‌تر افزایش دهند (Al Farsi and Lee, 2008). به نظر می‌رسد افزایش TSS در تیمار شیره خرما نسبت به تیمار ملاس با پروتئین یکسان جیره، به دلیل ترکیبات قندی ساده‌تر و تجزیه سریع‌تر توسط باکتری‌های هتروتروف نسب به ملاس باشد که شرایط بهتری برای رشد موجودات تشکیل دهنده بایوفلاک ایجاد نموده است. میزان مناسب TSS در منابع برای میگو ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر ذکر شده است (Samocha *et al.*, 2007; Ray *et al.*, 2010b). اما برخی از محققین این میزان را تا ۷۶۰ میلی‌گرم در لیتر نیز بدون نتایج منفی بر پارامترهای رشد بیان کرده‌اند (Kim *et al.*, 2014). هر چند که با افزایش TSS از ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، به هوادهی بیشتر و کنترل دقیق‌تری بر سیستم نیاز می‌باشد. در این پژوهش TSS از ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر (هفته اول) شروع و تا ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر (هفته پنجم) افزایش یافت. افزایش بیش از حد مجاز TSS سبب افت کیفی آب و مستلزم افزایش دستکاری و هزینه جهت برداشت آن خواهد بود و بنابراین بازدید روزانه‌ای جهت کنترل میزان آن لازم است. اگرچه میزان مواد جامد ته‌نشین شده (BFV) می‌تواند نسبتی از میزان کل مواد جامد معلق (TSS) باشد اما همیشه از الگوی ثابتی پیروی نمی‌کند (Avnimelech, 2007). در این مطالعه میزان BFV تقریباً ۳٪ میزان TSS بود. برخی از پژوهشگران معتقدند که این نسبت از پارامترهای دیگری مانند پارامترهای فیزیکیوشیمیایی آب نیز متأثر می‌شود (Schweitzer *et al.*, 2013a). محققین میزان مناسب BFV را بین ۲ تا ۴۰ میلی‌لیتر بر لیتر بیان نموده‌اند (Avnimelech, 2009) که تیمارهای بایوفلاک این پژوهش نیز در این دامنه (۲-۱۵) قرار دارند. میزان VSS در این مطالعه در تمام تیمارها به جز شاهد اختلافات معنی‌داری داشتند. متاثر از TSS، این پارامتر نیز در تیمار P25 بیشتر از سایر تیمارها بود و دارای اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها بود. اختلاف معنی‌داری برای شوری آب در تیمارهای مختلف دیده نشد. میگوی سفید غربی به دلیل قدرت بالای تنظیم اسمزی توانایی زندگی در شوری‌های بین ۱۰ تا ۴۰ گرم در لیتر را دارد (Van and Scarpa, 1999). شوری آب در تیمارهای این تحقیق نزدیک به ۳۶ گرم در لیتر و در محدوده مجاز قرار داشت. فاکتورهای چون دما و اکسیژن با تنظیم متابولیسم، به صورت مستقیم بر پارامترهای رشد میگوی سفید غربی اثر می‌کنند. مطالعات حاکی از کاهش بازماندگی در دمای بالای ۳۵ درجه و شدت نور بیش از ۳۵۰۰۰ لوکس برای این گونه است (Samocha *et al.*, 2007; Balio *et al.*, 2012). دمای آب هرچند که در عصرها نسبت به صبح اندکی افزایش داشت اما اختلاف

معنی‌داری مشاهده نگردید و این تحقیق در محدوده دمایی ۳۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد که برای این گونه مناسب است. کاهش پی‌اچ آب به زیر ۷ و قلیائیت کمتر از ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کربنات کلسیم بر پرورش میگوی سفید غربی اثر منفی دارد که در این صورت باید با افزودن آهک آن را اصلاح کرد (Furtado *et al.*, 2014). تغییرات میزان پی‌اچ در پژوهش حاضر ۸/۱ - ۷/۶ بود که در دامنه مناسب برای پرورش این گونه است (Boyd and Gautier, 2000). هرچند به دلیل دمای بیشتر آب، افزودن کربن و تنفس بالاتر، محیط اسیدی شده و میزان اکسیژن محلول و پی‌اچ در هنگام عصر کاهش نشان می‌داد اما این تغییرات معنی‌دار نبودند. میزان اکسیژن در این تحقیق بالای ۵ میلی‌گرم در لیتر بود که برای پرورش این گونه مناسب است (Boyd and Gautier, 2000). میزان اکسیژن و پی‌اچ در تیمارهای بایوفلاک از شاهد پایین‌تر بودند، زیرا در اثر افزودن مواد قندی (به عنوان یک ماده انرژی‌زا)، اکسیژن مصرف و دی‌اکسیدکربن تولید می‌شود که سبب اسیدی شدن و کاهش پی‌اچ آب می‌گردد. مصرف بیشتر اکسیژن توسط باکتری‌ها و ارگانسیم‌های بایوفلاک جهت دنیتریفیکاسیون (با توجه به افزایش معنی‌دار نیترات در تیمارهای بایوفلاک)، تکثیر باکتری‌ها و تجزیه مواد آلی می‌باشد (Kim *et al.*, 2014; Khanjani *et al.*, 2017). هوادهی شدید در تیمارهای بایوفلاک باعث تامین اکسیژن کافی و همچنین عدم وجود تغییرات معنی‌دار در اکسیژن محلول و پی‌اچ گردیده است که با مطالعات دیگران نیز سازگار است. (Ray *et al.*, 2010a; Boyd and Gautier, 2000).

علاوه بر اکسیژن، آمونیاک نیز فاکتور مهم و محدود کننده این سیستم می‌باشد (De Schryver and Verstraete, 2009). میگوی سفید غربی نسبت به دیگر گونه‌های میگو در قبال ترکیبات ازتی مقاومت بیشتری دارد و در شوری ۳۵ قسمت در هزار حداکثر میزان مجاز آمونیاک، آمونیم، نیتريت و نیترات برای آن به ترتیب ۰/۱۶، ۳/۹۵، ۲۵/۷ و ۶۰ میلی‌گرم در لیتر است (Lin and chen, 2001; Serra *et al.*, 2015; Furtado *et al.*, 2015). حداکثر آمونیاک و نیتريت در تیمار شاهد و حداقل آن در تیمار بایوفلاک (P15) ثبت شد. این امر نشان دهنده جمعیت زیاد باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک و نیتريت در این تیمار و تبدیل آنها به نیترات می‌باشد (Correia *et al.*, 2014). حداقل نیترات در تیمار شاهد و حداکثر آن در تیمار بایوفلاک (P25) اندازه‌گیری شد که با نتایج دیگر مطالعات مشابه است (Yun *et al.*, 2016; Correia *et al.*, 2014). به دلیل فقدان مواد قندی و از آنجایی که باکتری‌های هتروتروف در تیمار شاهد در کمترین تعداد وجود دارند بنابراین قادر به نیتریفیکاسیون نبوده و آمونیاک در بالاترین میزان و نیترات در کمترین حد وجود دارد. کمترین میزان پروتئین، وجود مواد قندی و ارجحیت مواد قندی شیره خرما برای رشد باکتری‌های هتروتروف، سبب حذف آمونیاک و حداقل شدن آن در تیمار بایوفلاک خرما (P15) گردید. بیشترین میزان وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد (گرم در هفته)، نرخ بازماندگی، شاخص وزن بدن، افزایش بایومس و بازده غذایی مربوط به تیمار بایوفلاک (P25) و کمترین آنها در تیمار شاهد ثبت گردید که دارای اختلاف معنی‌داری بودند. بر اساس تحقیقات دیگر نیز بایوفلاک حاوی مواد افزاینده رشد بوده و سبب بهبود بازماندگی و ضریب تبدیل غذایی شده است (Krummenauer *et al.*, 2011; Samocha *et al.*, 2007; Avnimelech, 1999; Burford *et al.*, 2003; Wasielecky *et al.*, 2006). بهبود پارامترهای رشد در تیمار بایوفلاک احتمالاً به دلیل کاهش ترکیبات مضر آمونیاکی آب و استرس کمتر، وجود غذای زنده گیاهی و جانوری و ترکیبات متنوع غذایی در قالب فلاک می‌باشد (Jatoba *et al.*, 2014). برخی آزمایشات موفقیت سیستم بایوفلاک را با پروتئین ۱۰٪ نیز بیان کرده‌اند (Ballester *et al.*, 2010). از آن جایی که میزان رشد و بازماندگی در تیمارهای بایوفلاک از شاهد بیشتر بود می‌توان نتیجه گرفت که بایوفلاک نه تنها کمبود پروتئین جیره را جبران می‌کند بلکه باعث بهبود ایمنی و در نتیجه افزایش بازماندگی نیز می‌گردد (Xu and pan, 2013). بهترین ضریب کارایی پروتئین در تیمار P15 و کمترین آن در تیمار شاهد به دست آمد. به نظر می‌رسد که دلیل آن استفاده از کمترین میزان پروتئین در جیره این تیمار بوده است و علاوه بر آن از شیره خرما که دارای ترکیبات تقویت کننده سیستم ایمنی و نسبت به ملاس غذای مناسب‌تری برای آغازیان می‌باشد، استفاده شده است (Hoseinifar *et al.*, 2015). بیشترین ضریب رشد ویژه در تیمار P25 و کمترین آن در تیمار M15 دیده شده است. این ارقام نشان دهنده اهمیت میزان پروتئین در جیره می‌باشد (Yun *et al.*, 2016). همچنین ترکیبات مفیدتر شیره خرما (ویتامین، مواد معدنی، چربی، پروتئین، رنگدانه، فلاونوئید، فنل و ...) نسبت به ملاس می‌تواند بر آن تاثیر بگذارد (Baliga *et al.*, 2011). به همین دلایل نیز کمترین ضریب تبدیل غذایی در P25 و بیشترین آن در M15 ثبت گردید.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان ترکیبات شیمیایی (پروتئین، چربی، خاکستر و فیبر) لاشه میگوی سفید غربی به طور معنی داری تحت تاثیر سطوح مختلف پروتئین و بایوفلاک‌های متفاوت قرار می‌گیرد ($p < 0.05$). آنالیز تقریبی لاشه نشان می‌دهد که بیشترین میزان پروتئین در تیمار P25 و کمترین آن در تیمار شاهد ثبت شده است. اگرچه میزان پروتئین در شیره خرما $5/6 - 2/3$ درصد می‌باشد اما وجود مواد افزایش‌دهنده رشد مانند قندهای ساده گلوکز و فروکتوز، ویتامین‌ها (A, B1, B2, B3, B6, B9, ریبولوین، نیاسین)، مواد معدنی و آنتی‌اکسیدان‌های جلوگیری کننده از استرس‌های اکسید کننده سبب بهبود شرایط رشد آغازیان و تولید پروتئین می‌شوند (Biglari et al., 2008; Baliga et al., 2011). این امر سبب بهبود رشد و بهره‌گیری از مزایای غذای زنده می‌گردد. کمترین میزان چربی و فیبر در تیمار شاهد و بیشترین آنها در تیمار P15 اندازه‌گیری شد. این موضوع ممکن است با ارجحیت چربی برای تولید انرژی مرتبط باشد هنگامی که میزان غذا فقط در حد نگهداری باشد، زیرا غذای این تیمار فقط 15٪ پروتئین داشت. همچنین دسترسی مداوم به عناصر ریزمغذی، مواد معدنی موجود در فلاک و تغذیه از آنها سبب افزایش فیبر در لاشه گردیده است (Yun et al., 2016). این یافته با نتایج دیگر مطالعات نیز مطابقت دارد (Tacon et al., 2002).

آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی بایوفلاک نشان می‌دهد که بیشترین میزان پروتئین در تیمار P25 و کمترین آن در تیمار P15 ثبت گردید که حاکی از اهمیت شیره خرما و نقش موثرتر آن در تولید فلاک و موجودات درون آن (ترکیبات پروتئینی) می‌باشد. حضور شیره خرما رشد بیشتری داشته و بنابراین میزان پروتئین در ترکیب این نوع بایوفلاک افزایش یافته است (Abd-Alla and El-Enany, 2012; Kumar and Gayen, 2011). علاوه بر این نسبت به تیمار 15٪، جیره آن دارای ازت (پروتئین) بیشتری بوده است. میزان پروتئین خام در ترکیب فلاک در مطالعات مختلف متغیر بوده و از 28٪ تا 58٪ گزارش شده اند که به نوع منبع کربنی، جامعه میکروبی، شرایط محیطی و پروتئین جیره بستگی دارد (Anand et al., 2014). میزان پروتئین خام در این پژوهش با مطالعاتی که از منبع کربنی گلوکز استفاده کرده‌اند، نزدیک است (Crab et al., 2010). بیشترین و کمترین میزان چربی به ترتیب در ترکیب بایوفلاک تیمار P15 ($1/26 \pm 0/95$) و P25 ($0/85 \pm 0/12$) مشاهده شد. افزون بر 20 نوع اسید چرب اعم از پالمیتیک، پالمیتولئیک، لینولئیک، اولئیک و مقادیر کمتری امگا-3 و اسیدهای چرب غیر اشباع چند زنجیره (PUFA) در ترکیب بایوفلاک وجود دارد. جلبک‌های میکروسکوپی و زئوپلانکتون‌ها دارای میزان چربی بیشتری نسبت به باکتری‌ها در ترکیب بایوفلاک هستند (Zhukova and Kharlamenko, 1999). از آنجایی که در سیستم هتروتروفیک باکتری‌ها بیشتر رشد می‌کنند، بنابراین میزان پروتئین در آنها بیشتر و چربی کمتر است (Megahed, 2010). بنابراین از بایوفلاک استحصالی از تیمار P25 می‌توان برای تغذیه آبزیان مناسب بهره برد (Ju et al., 2008). بیشترین میزان کربوهیدرات در تیمار M15 ($31/43 \pm 1/46$) و کمترین آن در تیمار P25 ($25/87 \pm 1/25$) اندازه‌گیری شد. افزایش میزان کربوهیدرات بیش از حد تئوری و محاسباتی در بایوفلاک، تاثیری بر کاهش ازت و پارامترهای رشد ندارد (Samocho et al., 2007). از آنجایی که بیشتر آبزیان از توانایی اندکی برای استفاده از کربوهیدرات‌ها برخوردارند، نمی‌توان آن را به عنوان منبع اصلی انرژی تلقی کرد و بنابراین استفاده از بایوفلاک خرما به دلیل کربوهیدرات پایین آن مشکلی برای تغذیه دیگر آبزیان ایجاد نخواهد کرد. بیشترین میزان فیبر و خاکستر در تیمار P15 به ترتیب ($3/40 \pm 0/2$ و $45/5 \pm 1/08$) و کمترین آنها در تیمار M25 ($2/1 \pm 0/26$ و $42/5 \pm 0/64$) سنجش گردید. با توجه به این که جیره کامل آبزیان باید کمتر از 8/5 درصد خاکستر داشته باشد (Craig and Helfrich, 2002)، بنابراین نمی‌توان از پودر بایوفلاک به تنهایی برای تغذیه دیگر آبزیان استفاده کرد، زیرا باعث کاهش میزان هضم می‌گردد (Megahed and Mohamed, 2014).

این مطالعه به خوبی اثر مثبت بایوفلاک را بر پرورش میگو بیان می‌دارد. در مقایسه ملاس و خرما و با مشاهده پارامترهای رشد می‌توان گفت که شیره خرما منبع بهتری برای کربوهیدرات در بایوفلاک است. در این مطالعه، میزان پروتئین 25٪ در تیمار بایوفلاک خرما بهترین عملکرد را داشته است (هر چند در شاخص‌هایی چون شاخص وزن بدن، بازده غذایی و ضریب رشد ویژه با تیمار P15 تفاوت معنی داری نداشته است)؛ اما برخی مطالعات گویای اینست که میزان پروتئین جیره را در برخی

میگوها مثل *Farfantepenaeus paulensis* تا ۱۰٪ نیز می‌توان کاهش داد بدون این‌که پارامترهای رشد کاهش شدیدی را نشان دهند (Ballester et al., 2010).

در محاسبات اقتصادی، بالاترین نرخ سود نسبت به تیمار شاهد، متعلق به تیمار P15 می‌باشد (۳۸٪ سود بیشتر نسبت به شاهد) که به دلیل کمترین میزان مصرف پروتئین در جیره و در نتیجه کاهش قیمت غذا صورت گرفته است. تیمار بعدی P25 (۳۰٪ سود بیشتر نسبت به شاهد) می‌باشد که به دلیل مصرف کمتر پروتئین نسبت به تیمار شاهد و بیشترین میزان تولید در واحد سطح بوده است. تیمارهای M25 و M15 (به ترتیب ۱۸٪ و ۱۵٪ سود بیشتر نسبت به شاهد) به ترتیب در اولویت‌های بعدی قرار گرفته‌اند. از درآمد ناشی از تولید فلاک اضافی استحصالی و فروش آن نیز در این اینجا صرف‌نظر شده است. تولید یک کیلو میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) با استفاده از بایوفلاک با ۳۳٪ (Megahed, 2010) و برای ماهی تیلاپیا با ۱۰٪ کاهش هزینه (De Schryver and Verstraete, 2009) همراه بوده است که به گونه، جیره، میزان مصرف بایوفلاک و قیمت کربوهیدرات مصرفی بستگی دارد (Correia et al., 2014).

نتایج این تحقیق نشان داد که بایوفلاک خرما (به دلیل وجود ویتامین‌ها، مواد معدنی و ریزمغذی‌ها) از نظر پارامترهای رشد بر بایوفلاک ملاس برتری دارد و جیره با پروتئین ۱۵ تا ۲۵ درصد، علاوه بر صرفه‌جویی در مصرف پودر ماهی، پروتئین جیره و در نهایت کاهش هزینه‌های تولید تا ۲۰ درصد، همچنین می‌توان به تولید میگوی ارگانیک دست یافت که در بازارهای صادراتی از اقبال بیشتری برخوردار بوده و از سایر مزایای این تکنولوژی نوین پرورشی نیز بهره برد.

تشکر و قدردانی

از ریاست محترم اداره کل شیلات استان بوشهر جناب آقای مهندس زنده‌بودی، کارشناسان محترم آن اداره آقایان مهندس ظریف‌فرد، مهندس ملایی، مهندس بازیاری، خانم مهندس اشرف، معاونت محترم پژوهشی پژوهشکده میگوی کشور جناب آقای مهندس یگانه، دانشجویان گرامی آقایان جاشویی و رحمانی و تمام دوستان و همکارانی که در مراحل مختلف این پژوهش مرا یاری نمودند، تشکر و سپاسگزاری می‌نمایم.

منابع

- Abd-Alla, M.H., El-Enany, A. 2012. Production of acetone-butanol-ethanol from spoilage date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits by mixed culture of *Clostridium acetobutylicum* and *Bacillus subtilis*. Biomass and Bioenergy. 42: 172-178.
- Aksnes, A., Hope, B., Jonsson, E., Bjornsson, B.T., Albrektsen, S. 2006. Size-fractionated fish hydrolysate as feed ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed high plant protein diets. I: Growth, growth regulation and feed utilization. Aquaculture. 261 (1): 305-317.
- Al Farsi, M.A., Lee, C.Y. 2008. Nutritional and functional properties of dates: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 48: 877-887.
- Allaith, A. 2008. Antioxidant activity of Bahraini date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit of various cultivars. International Journal of Food Science and Technology. 43: 1033-1040.
- Anand, P.S., Kohli, M.P., Kumar, S., Sundaray, S., Venkateshwarlu, G., Sinha, A., Pailan, G.H. 2014. Effect of dietary supplementation of biofloc on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. Aquaculture. 418: 108-115.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2000. Official Methods of Analysis AOAC. Washington, DC. 1963 p.
- Avnimelech, Y., Mokady, S. 1988. Protein biosynthesis in circulated ponds. In: Pullin, R.S.V., Bhukaswan, T., Tonguthai, K., Maclean, J.L. (eds). Proceedings of Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. Department of Fisheries of Thailand and ICLARM, Manila, Philippines. pp. 301-309.

- Avnimelech, Y. 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*. 176: 227-235.
- Avnimelech, Y. 2006. Bio-filters: the need for a new comprehensive approach. *Aquacultural Engineering*. 34: 172-178.
- Avnimelech, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. *Aquaculture*. 264: 140-147.
- Avnimelech, Y. 2009. *Biofloc technology - a practical guide book*. 1st edition. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States. 182 p.
- Azim, M.E., Little, D.C., Bron, J.E. 2008. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C:N ratio in feed and the implications for fish culture. *Bioresource Technology*. 99: 3590-3599.
- Baliga, M.S., Baliga, B.R.V., Kandathil, S.M., Bhat, H.P., Vayalil, P.K. 2011. A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (*Phoenix dactylifera* L.). *Food Research International*. 44: 1812-1822.
- Balio, M., Arantes, R., Schweiter, R., Magnotti, C., Vinatea, L. 2012. Performance of Pacific shrimp *Litopenaeus vannamei* raised in biofloc systems with varying levels of light exposure. *Aquaculture Engineering*. 164: 1-6.
- Ballester, E.L.C., Abreu, P.C., Cavalli, R.O., Emerenciano, M., Abreu, L., Wasielesky, W. 2010. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. *Aquaculture Nutrition*. 16: 163-172.
- Bauer, W., Printce-Hernandez, C., Tesser, M.B., Wasielesky, W., Poersch, L. 2012. Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein concentrate in diets for the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. 342: 112-116.
- Beveridge, M.C.M., Phillips, M.J. 1993. Environmental impact of tropical inland aquaculture. In: Pullin, R.S.V., Rosenthal, H., Maclean, J.L. (eds.). *Environment and Aquaculture in Developing Countries*. International center for living aquatic resources management. pp. 213-236.
- Biglari, F., AlKarkhi, A.F.M., Azhar, M.E. 2008. Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chemistry*. 107(4): 1636-1641.
- Boudries, H., Kefalas, P., Me'ndez, O. 2007. Carotenoid composition of Algerian date varieties (*Phoenix dactylifera*) at different edible maturation stages. *Food Chemistry*. 101: 1372-1377.
- Boyd, C.E., Gautier, D. 2000. Effluent composition and water quality standards. *Global Aquaculture Advocate*. 3(5): 61- 66.
- Burford, M.A., Thompson, P.J., McIntosh, R.P., Bauman, R.H., Pearson, D.C. 2004. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture*. 219: 393-411.
- Burford, M.A., Costanzo, S.D., Dennison, W.C., Jackson, C.J., Jones, A.B., McKinnon, A.D., Preston, N.P., Trott, L.A. 2003. A synthesis of dominant ecological processes in intensive shrimp ponds and adjacent coastal environments in NE Australia. *Marine Pollution Bulletin*. 46: 1456-1469.
- Correia, E., Wilkenfeld, J., Morris, T., Weic, L., Prangnell, D., Samocha, T. 2014. Intensive nursery production of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* using two commercial feeds with high and low protein content in a biofloc-dominated system. *Aquacultural Engineering*. 59: 48-54.
- 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: 559-567.
- Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W. 2012. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture*. 356-357: 351-356.
- Craig, S., Helfrich, L.A. 2002. *Understanding Fish Nutrition, Feeds and Feeding* (Publication 420-256). Virginia Cooperative Extension, Yorktown (Virginia).
- De Schryver, P., Verstraete, W. 2009. Nitrogen removal from aquaculture pond water by heterotrophic nitrogen assimilation in lab-scale sequencing batch reactors. *Bioresource Technology*. 100: 1162-1167.

- Ebeling, J., Timmons, M., Bisogni, J. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*. 257: 346-358.
- Ekasari, J., Angela, D., HadiWaluyo, S., Bachtiar, T., Surawidjaja, E., Bossier, P., Schryver, P. 2014. The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals. *Aquaculture*. 426: 105-111.
- FAO. 2015. The State of World Fisheries and Aquaculture. FAO, Rome. www.fao.org.
- Furtado, P.S., Poersch, L., Wasielesky, W. 2015. The effect of different alkalinity levels on *Litopenaeus vannamei* reared with biofloc technology (BFT). *Aquaculture International*. 23: 345-358.
- Furtado, P.S., Gaona, C.A., Poersch, L.H., Wasielesky, W. 2014. Application of different doses of calcium hydroxide in the farming shrimp *Litopenaeus vannamei* with the biofloc technology (BFT). *Aquaculture International*. 22: 1009-1023.
- Gao, L., Shan, H., Zhang, T., Bao, W., Ma, S. 2012. Effects of carbohydrate addition on *Litopenaeus vannamei* intensive culture in a zero-water exchange system. *Aquaculture*. 342: 89-96.
- Goddard, S. 1995. Feed Management in Intensive Aquaculture. Springer. 208 p.
- Hoseinifar, S.H., Khalili, M., Rufchaei, R., Raeisi, M., Attar, M., Cordero, H., Esteban, M. 2015. Effects of date palm fruit extracts on skin mucosal immunity, immune related genes expression and growth performance of common carp (*Cyprinus carpio*) fry. *Fish and Shellfish Immunology*.
- Jatoba, A., Corrêa da Silva, B., Souza da Silva, J., Nascimento Vieira, F., Pedreira Mourinho, J., Quadros Seiffert, W., Massucci Toledo, T. 2014. Protein levels for *Litopenaeus vannamei* in semi-intensive and biofloc systems. *Aquaculture*. 432: 365-371.
- 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.
- Khanjani, M.H., Sajjadi, M.M., Alizadeh, M., Sourinejad, I. 2017. Nursery performance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) cultivated in a biofloc system: the effect of adding different carbon sources. *Aquaculture Research*. 47: 1491-1501.
- Khanjani, M.H., Sajjadi, M.M., Alizadeh, M., Sourinejad, I. 2015. Effect of different feeding levels on water quality, growth performance and survival of western white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) post larvae with application of biofloc technology. *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 24(2): 13-28. (in Persian).
- Kim, S.K., Pang, Z., Seo, H.C., Cho, Y.R., Samocha, T., Jang, I.K. 2014. Effect of bioflocs on growth and immune activity of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *Aquaculture Research*. 45: 362-371.
- Krummenauer, D., Cavalli, R.O., Poersch, L.H., Wasielesky, W. 2011. Superintensive culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a biofloc technology system in southern Brazil at different stocking densities. *Journal of the World Aquaculture Society*. 42: 726-733.
- Kuhn, D., Boardman, G.D., Lawrence, A.D., Marsh, L., Flick, G.J. 2009. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. *Aquaculture*. 296: 51-57.
- Kumar, M., Gayen, K. 2011. Developments in biobutanol production: New insights. *Applied Energy*. 88(6): 1999-2012.
- Lin, Y., Chen, J. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* juveniles at different salinity levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 259(1): 109-119.
- Liu, L., Hu, Z., Dai, X., Avnimelech, Y. 2014. Effects of addition of maize starch on the yield, water quality and formation of bioflocs in an integrated shrimp culture system. *Aquaculture*. 418: 79-86.
- Megahed, M. 2010. The effect of microbial biofloc on water quality, survival and growth of the green tiger shrimp (*Penaeus Semisulcatus*) fed with different crude protein levels. *Journal of the Arabian Aquaculture Society*.
- Megahed, M., Mohamed, K. 2014. Sustainable growth of shrimp aquaculture through biofloc production as alternative to fishmeal in shrimp feeds. *Journal of Agricultural Science*. 6(6): 176-188.

- Milstein, A., Anvimelech, Y., Zoran, M., Joseph, D. 2001. Growth performance of hybrid bass and hybrid tilapia in conventional and active suspension intensive ponds. 53: 147-157.
- Najdegerami, E.H., Bakhshi, F., Bagherzadeh, 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.
- NRC., (Nutrient Requirements of Fish). 1993. Nutrient requirements of warm water fishes and shellfishes, revised edition. National Academy Press, Washington, DC, USA. 114 p.
- Rania, M.A., Aisha, S.M., Mohamed, M.E., Isam, A.M. 2014. Chemical composition, antioxidant capacity, and mineral extractability of Sudanese date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits. *Food Science & Nutrition*. 5: 478-489.
- Ray, A.J., Lotz, J.M. 2014. Comparing a chemoautotrophic-based biofloc system and three heterotrophic-based systems receiving different carbohydrate sources. *Aquacultural Engineering*. 63: 54-61.
- Ray, A.J., Seaborn, G., Leffler, J.W., Wilde, S.B., Lawson, A., Browdy, C.L. 2010a. Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. *Aquaculture*. 310: 130-138.
- Ray, J.A., Lewis, B.L., Browdy, C.L., Leffler, J.W. 2010b. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, super intensive culture systems. *Aquaculture*. 299: 89-98.
- Samocha, T.M., Patnaik, S., Speed, M., Ali, A., Burger, J.M., Almeida, R.V., Ayub, Z., Harisanto, M., Horowitz, A., Brock, D. 2007. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultural Engineering*. 36: 184-191.
- Schweitzer, R., Arantes, R., Fóes S. Costódio, P., Espírito, C., Vinatea Arana, L., Quadros, W., Andreatta, E. 2013a. Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. *Aquacultural Engineering*. 56: 59- 70.
- Schweitzer, R., Arantes, R., Francisco Baloi, M., Fóes S. Costódio, P., Vinatea Arana, L., Quadros Seiffert, W., Roberto, A.E. 2013b. Use of artificial substrates in the culture of *Litopenaeus vannamei* (Biofloc System) at different stocking densities: Effects on microbial activity, water quality and production rates. *Aquacultural Engineering*. 54: 93-103.
- Serra, F.P., Gaona, C.A.P., Furtado, P., Poersch, L.H., Wasielesky, W. 2015. Use of different carbon sources for the biofloc system adopted during the nursery and grow-out culture of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture International*. 23(6): 1325-1339.
- Standard methods for the examination of water and waste water. 2005. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- 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: 121-139.
- Van, W.P., Scarpa, J. 1999. Water Quality and Management. In: Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems. Van Wyk, P., Davis- Hodgkins, M., Laramore, R., Main, K.L., Scarpa, J.), Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee. pp. 128-138.
- Wasielesky, W., Atwood, H., Stokes, A., Browdy, C.L. 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. 258: 396-403.
- Xu, W., Pan, L. 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: 147-152.
- Xu, W., Pan, L. 2013. Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. *Aquaculture*. 412: 117-124.
- Yun, H., Shahkar, E., Katya, K., Kim, S., Bai, S.C. 2016. Effects of bioflocs on dietary protein requirement in juvenile whiteleg Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*. 47: 3203-3214.

- Zhang, J., Liu, Y.J., Tian, L.X., Yang, H.J., Ling, G.Y., Yue, Y.R., Xu, D.H. 2013. Effects of dietary astaxanthin on growth, antioxidant capacity and gene expression in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Nutrition laboratory, Institute of Aquatic Economical Animals, School of Life Science, Sun Yat-sen University, Guangzhou, China; 2 Lab of Traditional Chinese Medicine and Marine Drugs.
- Zhao, P., Huang, J., Wang, X.H., Song, X.L., Yang, C.H., Zhang, X.G., Wang, G.C. 2012. The application of bioflocs technology in high-intensive, zero exchange farming systems of *Penaeus japonicus*, Aquaculture. 354: 97-106.
- Zhukova, N.V., Kharlamenko, V.I. 1999. Sources of essential fatty acids in the marine microbial loop. Aquatic Microbial Ecology. 17: 153-157.
- Zokaeifar, H., Luis Balcázar, J., Roos Saad, C., Kamarudin, M., Sijam, K., Arshad, A., Nejat, N. 2012. Effects of *Bacillus subtilis* on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Fish & Shellfish Immunology. 33: 683-689.