

## بیوفلاک و کاربرد آن در آبزی پروری

محمود حافظیه<sup>\*</sup>، شهرام دادگر

موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

\*jhafezieh@yahoo.com

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۴

### چکیده

بدون شک گسترش تولیدات آبزی پروری، به دلیل فشارهای محیط زیستی ناشی از تاثیر آلووده کننده پساب این صنعت برمبنای آبی و وابستگی شدید به روغن و آرد ماهی در تغذیه آبزیان، محدود خواهد شد. امروزه چنین به نظر می‌رسد که استفاده از تکنولوژی بیوفلاک در این صنعت هر دو مشکل را به صورت یکجا حل می‌کند. هم مواد مغذی را از پیکره‌های آبی جدا می‌نماید و هم از آن در جهت تولید زی توده باکتریایی (پروتئین میکروبی) استفاده می‌کند که به طور مستقیم و به عنوان غذای اضافی مورد تغذیه آبزیان پرورشی قرار خواهد گرفت و از این طریق ضریب تبدیل غذا را و متعاقب آن هزینه تولید را کاهش می‌دهد. در ک و فهم پایه‌ای از فلاکه شدن توده‌ای بسیار ضروری است و می‌تواند در بهینه‌سازی تجربیات موثر باشد. ارگانیسم‌های موجود در فلاک‌ها حتی از فیتوپلانکتون‌ها بهتر و سریع تر خورده، هضم و جذب می‌شوند که با توجه به تشکیل توده‌های فلاک در سیستم‌های آبزی پروری غیر متراکم و یا متراکم به ترتیب با نسبت وزنی ۰/۱ تا ۱۰ گرم در هر متر مکعب، از مزیت بالایی برخوردارند. البته رشد فلاک به غلظت اکسیژن محلول، منع کردن آلی و بارهای دیگر مواد آلی، بسیار وابسته است. تعیین ویژگی‌های بیوشیمیایی فلاک همچون سطوح پروتئین، اسیدهای چرب و پلی بتا هیدروکسی بوتیرات می‌تواند در شناخت ویژگی‌های غذایی آنها مورد استفاده قرار گیرد. همچنین به منظور شناسایی باکتری‌ها و جوامع میکروبی توده بیوفلاک از روش‌های PCR real time DGGE استفاده می‌شود. چنانچه بتوان از میکروب‌هایی با توان بالا در ارزش افزوده توده بیوفلاک و غنی‌سازی مواد تغذیه آن استفاده نمود، قطعاً از دید تجربی مورد استقبال آبزی پروران قرار خواهد گرفت. از این منظر، استراتژی داشتن باکتری‌های غالب که به راحتی به وسیله آبزیان پرورشی خورده و هضم شوند یا برخورداری از محصولاتی چون پلی بتا هیدروکسی بوتیرات که از نظر محتویات انرژی غنی باشد، بسیار با اهمیت و مورد علاقه خواهند بود.

**کلمات کلیدی:** بیوفلاک، آبزی پروری، غنی‌سازی، تغذیه، ارگانیسم.

## مقدمه

باکتریایی بر روی مواد دفعی و یا غذاهای خورده نشده آبزی رشد و لذا برای خارج نمودن این بار آلوده، نیازی به صرف انرژی خواهد بود. تمام تلاش این تکنولوژی در جهت تولید متراکم این باکتری‌های هتروتروف خواهد بود. بیوفلاک از کربن آلی تغذیه و به ازای یک گرم کربن آلی حدود  $4/0$  گرم وزنی سلول خشک باکتری تولید می‌کند که البته به نرخ کربن به نیتروژن بسیار وابسته است. در آبزی پروری معمولی به سختی  $7\%$  نیتروژن و  $6\%$  فسفر می‌توانند در زی توده باکتری اباقاً گردند حال آنکه در آبزی پروری با تکنولوژی بیوفلاک چنانچه از کربن و نیتروژن متعادل ( $C/N=4$ ) استفاده شود، به نظر می‌رسد که از کل نیتروژن و فسفر حاصل از مواد دفعی آبزی و غذای خورده نشده بتوان استفاده بهینه نمود و در زی توده باکتری آنها را اباقاً و به عنوان غذا مورد استفاده قرارداد (Schneider et al., 2005). به عنوان مثال  $10 \text{ میلی گرم - NH}_4 + 4 \text{ L-1}$  در زمان  $5$  ساعت بعد از افزودن گلوكز (با نسبت  $C/N=10$ ) به طور کامل از سیستم خارج خواهد شد بدون آن که نیتریت و نیتراتی در سیستم تجمع یابند (Avnimelech, 1999).

در یک استخر پرورشی تیلاپیا، میزان برگشت نیتروژن برای استفاده مجدد در حالت عادی  $23\%$  است (Ray, 2012). تکنولوژی بیوفلاک این راندمان به  $43\%$  افزایش می‌یابد. در حقیقت این افزایش ناشی از تولید زی توده میکروبی است که مواد آلی آلوده‌کننده سیستم را به شکل غذای مکمل در اختیار ماهی قرار داده‌اند (Schneider et al., 2005). مجدداً یادآوری می‌گردد که برای خارج نمودن نیتروژن از آب محیط کشت از طریق بیوفلاک حتماً باید از منابع کربن افزودنی استفاده نمود.

علاقه‌مندی به کشت و پرورش در سیستم مدار بسته در مقایسه با سیستم‌های پرورش باز و یا نیمه متراکم بیشتر به دلایل امنیت زیستی، مزایای زیست محیطی و بازاریابی بهتر آن است (Ray, 2012). زیرا با بازچرخش و استفاده مجدد از آب، خطرات برخی عوامل بیماریزا، فرار گونه‌های غیر بومی پرورشی به اکوسیستم‌های طبیعی و همچنین فرایند تخلیه فاضلابی (آلودگی) کمتر و کمتر و حتی می‌تواند کاملاً حذف گردد. از طرف دیگر، با افزایش تولید در واحد سطح و کاهش مصرف آب، گونه‌های دریایی در نزدیکی محل طبیعی خود مورد آبزی پروری قرار می‌گیرند (Ray, 2012). مثال کلاسیک آن پرآکنش مزارع پرورشی میگوهای دریایی در آمریکا که به مزرعه‌داران محلی اجازه فروش تازه این محصول را بدون نیاز به فریز نمودن در منطقه خود داده که قطعاً از ارزش اقتصادی بالایی برخوردار است.

متوجه رشد آبزی پروری جهانی از دهه ۱۹۷۰ حدود  $9\%$  ارزیابی شده است (FAO, 2008). با این وجود به شدت در حوزه محیط زیست و آلودگی‌های آب‌ها مورد انتقاد قرار دارد و لذا از منظر مدیریت‌های زیست محیطی و کشت و پرورش نیازمند توجه بسیار می‌باشد. واژه آبزی پروری مسئولانه در راستای توجه بیشتر این صنعت به مسائل محیط‌زیستی است که با توسعه اقتصادی کاملاً در تضاد بوده و در برخی مواقع با آن مخالف است یعنی نه تنها اجازه توسعه را نمی‌دهد، بلکه تقاضای کاهش روند فعلی توسعه را نیز دارد. علاوه بر آن، گسترش آبزی پروری در جهایی که زمین‌ها دارای ارزش اقتصادی هستند و از آنجا که به شدت به تامین آرد و روغن ماهی وابسته است، دستخوش محدودیت‌هایی است (De Schryver et al., 2001; Browdy et al., 2008; Naylor et al., 2000). ترکیب از مهمترین ترکیبات تهیه غذای تجاری هستند (Zimmerman et al., 2000). هزینه غذا با توجه به منابع متعددی که در این زمینه وجود دارند، حدود  $50\%$  کل هزینه‌های تولید را به خود اختصاص داده که عمدۀ این هزینه به تامین منابع پروتئینه جیره وابسته است (Bender et al., 2004). از این نظر، محدودیت‌های محیط‌زیستی و اقتصادی مانع از رشد بیشتر این صنعت، به ویژه اگر روند گسترش در سیستم‌های متراکم و فوق متراکم مورد نظر باشد، خواهد شد چرا که میزان آلایندگی آب در این سیستم‌ها بیشتر و احتمال بروز بیماری در آنها به مراتب بیشتر از سیستم‌های نیمه متراکم و باز می‌باشد. یکی از راه‌های معمول، تعویض آب سیستم است که با توجه به محدودیت آب به خصوص در کشور گزینه مناسبی خواهد بود. تصور کنید برای هر کیلو گرم میگو،  $5$  متر مکعب آب نیاز است، لذا برای یک مزرعه دو تنی میگو،  $10000$  متر مکعب آب نیاز است و یا برای ماهی فزل‌آلای رنگین-کمان در سیستم چرخشی آب (ریس وی) با حجم  $140$  متر مکعب ممکن است روزانه تا  $100$  بار این حجم آب تعویض شود. راه دوم برای حل مشکل، استفاده از سیستم بازچرخش آب یا برگشت آب پساب است (Recirculating Aquaculture System=RAS) که در آن از سیستم‌های فیلتراسیون زیستی، شیمیایی و فیزیکی استفاده می‌شود. در این روش تنها با  $10$  درصد آب جای‌گزینی می‌توان تولید را تا حد زیادی در واحد سطح افزایش داد. با این وجود، این سیستم نیز بسیار گران قیمت است زیرا هم هزینه انرژی و هم هزینه کارگری در آن افزایش قابل توجهی دارد. رهیافت جدید استفاده از تکنولوژی بیوفلاک در آبزی پروری است. در این سیستم، باکتری‌های هتروتروف و ریزجلبک‌ها با سایر میکروارگانیسم‌ها، تحت شرایط کنترل شده در کنار آبزی هدف تولید که به نام فلام معروف می‌باشند. این فلاک هم در بحث محیط زیست و هم در بحث تغذیه آبزیان پرورشی به این‌ای نقش می‌بردند. زی توده

## ترکیبات غذایی و اثرات محافظتی بیوفلاک در آبزی پروری

کننده رشد همچون نیتروژن و وجود مقادیر بالای منابع کربن رخ خواهد داد (Salehizadeh and Van Loosdrecht, 2004). با PHB مرگ باکتری و بواسطه فعالیت آنزیم دیلیپرمار خارج سلولی که در باکتری‌ها و قارچ‌ها زیاد وجود دارد، PHB تجزیه شده (Jendrossek and Handrick, 2002) و ۳-هیدروکسی بوتیرات به محیط آزاد می‌شود (Trainer and Charles, 2006).

به نظر می‌رسد استفاده از بیوفلاک در آبزی پروری از ۰/۲-۱/۱ به ترتیب در روش‌های معمول آبزی پروری و روش استفاده از فیلترهای شنی، کاهش هزینه تولید را به همراه داشته باشد. از طرف دیگر می‌تواند تا ۴۰-۵۰٪ هزینه‌های غذا را نیز پوشاورد (Craig and Helfrich, 2002).

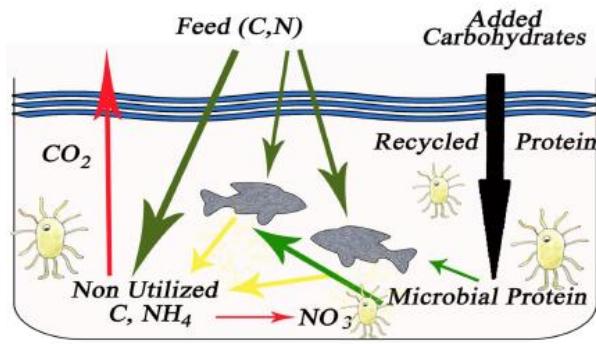
در مورد تیلاپیا با غذای حاوی ۳۰٪ پروتئین و ضریب تبدیل غذایی ۰/۶۶ کیلو گرم پروتئین (۰/۳×۰/۲) برای تولید یک کیلو ماهی مصرف می‌شود. چون فقط ۲۵٪ غذا توسط این ماهی گرفته می‌شود، ۰/۱۷ کیلو گرم پروتئین توسط یک کیلو ماهی تولیدی گرفته شده است. قبل از گزارش شده است که فقط ۱۴٪ وزن تر ماهی تیلاپیا، پروتئین است (Hanley, 1991).

سیستم‌های آبزی پروری دوستدار محیط زیست یا زیست فن آوری توده زیستی (تکنولوژی بیوفلاک، BFT= Biofloc Technology)، به عنوان یک ابزار پرقدرت و کارآ به خصوص در باز چرخش و استفاده مجدد از غذا معروف شده‌اند. رهیافت‌های مسئولانه چنین سیستمی بر رشد میکروارگانیسم‌ها در محیط کشت استوار است که تعویض آب را تا حد صفر کاهش داده و از این طریق بر اقتصاد تولید اثر موثری از خود بر جای گذاشته‌اند. این میکروارگانیسم‌ها دارای دو نقش اساسی هستند:

- حفظ و نگهداری دو نقش اساسی:
- تبدیل آن به پروتئین میکروبی
- تغذیه، افزایش توان تولید با کاهش ضریب تبدیل غذایی و کاهش هزینه‌های غذا

به طور ثانویه، این سیستم فاضلاب ورودی به رودخانه‌ها و سایر منابع آبی را که در سیستم‌های کشت معمولی وجود دارند را به حداقل رسانده و لذا غذا و مواد آلی و حتی عوامل بیماریزا را کمتر به اکوسیستم‌های آبی طبیعی منتقل خواهد نمود. همچنین، به جهت قابلیت تولید در واحدهای حجمی ستونی و کاهش میزان استفاده کرد از مساحت زمین به خصوص در مناطقی که زمین از ارزش بالایی برخوردار است و از طرف دیگر کمک به جلوگیری از اوتریفیکاسیون آب‌ها و منابع طبیعی از توجیه بالایی برخوردارند. آب زهکش‌های مزارع و تانک‌ها پرورشی، دارای مقادیر بالایی از ترکیبات نیتروژن و فسفره هستند که این مواد قابلیت رشد فیتوپلانکتون‌ها را دو چندان برابر می‌نمایند و از این طریق به بروز اوتریفیکاسیون و ایجاد شرایط غیرهوازی در بدن‌های آبی منابع طبیعی کمک می‌نمایند. حال آنکه با استفاده از این سیستم توده

تلash تکنولوژی بیوفلاک در جهت کاهش تعویض آب استخراجی پرورشی تا حد صفر در آبزی پروری، هدفی است که محققان به دنبال آن هستند که در کنار آن ارزش افزوده بیوفلاک در جهت کاهش غذای مصرفی نیز کاملاً چشمگیر می‌باشد. تغذیه یکی از مهمترین ارکان آبزی پروری است که با تامین آرد و روغن ماهی به عنوان دو نهاد اصلی غذا، اسیدهای آمینه و چرب ضروری به خوبی تامین شده است (Watanabe, 2002). برآورد شده است که از هر ۵-۵ کیلوگرم ماهی صید شده از آب‌های آزاد، یک کیلوگرم ماهی آبزی پروری زنده تولید می‌شود (Naylor et al., 2000). کاملاً مشخص است که این روش غیر مسئولانه و ناپایدار است و استفاده از جایگزین‌ها و زی توده‌های جدید (ریزلبک‌ها و باکتری‌های هتروتروف) که می‌توانند در پساب غذایی آب خروجی آبزی پروری به راحتی کشت و پرورش داده شوند، یکی از راه حل‌های پیشنهادی در جهت تولید پایدار و مسئولانه خواهد بود. از این زی توده جدید به عنوان غذای آلترناتیو استفاده می‌شود (Hari et al., 2006 و Avnimelech, 2006) ترکیب غذایی بیوفلاک نقش مهمی در اقتصاد و سلامتی تولید خواهد داشت (Watanabe, 2002). اغلب آبزی پروران از غذاهایی با درصد های مختلف ترکیبات غذایی (پروتئین ۰/۱۸-۰/۵٪)، چربی (۰/۱۰-۰/۲۵٪)، کربوهیدرات (۰/۱۵-۰/۲۰٪)، خاکستر (کمتر از ۰/۰/۵٪)، فسفر (کمتر از ۰/۱۵٪)، آب (کمتر از ۰/۱۰٪) و ترکیبات همچون ویتامین‌ها و مواد معدنی در حد قابل رדיابی استفاده می‌کنند (Craig and Helfrich, 2002) اشباع بلند زنجیره (PUFA) و محتوای چربی از مهمترین ترکیبات است که باید رد تولید بیوفلاک به عنوان غذا نیز مورد توجه قرار گیرند. از طرف دیگر اسیدهای چرب کوتاه زنجیره از آنجا که به عنوان مواد زیستی کنترل کننده عوامل بیماریزا مطرح هستند نیز باید مورد نظر باشند؛ به عنوان مثال استفاده از  $M_{20mM}$  بوتیریک اسید (مثلاً سایر اسیدهای چرب-اسید فرمیک، اسید استیک، اسید پروپیونیک یا اسید والریک) در آب کشت آرتمیا فرانسیسکانا، نقش بر جسته‌ای در عدم بروز بیماری حاصل از باکتری *Vibrio campbellii* از خود نشان داد (Defoirdt et al., 2006). لذا وجود برخی ترکیبات خاص در بیوفلاک تولیدی حتماً باید وجود داشته باشد. تاکید به وجود ذخایر آلی چون پلی بتا هیدروکسی بوتیرات (PHB) است که یک نوع پلی مر قابل تجزیه زیستی خارج سلولی است که توسط بسیاری از میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شود و در ذخیره کربن و انرژی‌ای باکتری‌ها درگیر است (Defoirdt et al., 2007). این ماده می‌تواند به عنوان پری بیوتیک نیز عملکرد داشته باشد. تجمع این ماده فقط تحت شرایط فاکتورهای محدود

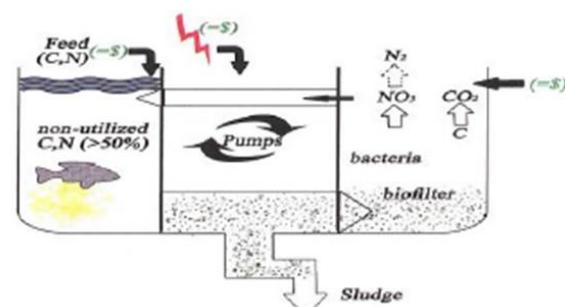


شکل ۲: سیستم بیوفلاک (BFT)

به طور کلی می‌توان چنین گفت که آبیان پرورشی در روند رشد خود بسیار به تغذیه وابسته‌اند ولی متاسفانه بخش قابل توجهی از غذا به دلایل مختلف از دسترس آبزی خارج می‌شوند که به صورت رسوب در کف استخراها یا تانک‌ها جمع شده، بار مواد مغذی استخرا افزایش می‌یابد. لذا چنین به نظر می‌رسد که آبزی پروری هم غذا و هم سرمایه خود را آن هم در یک مقیاس وسیع هدر داده با دور می‌ریزد، ضمن آنکه با ایجاد بار بالای مواد مغذی، باقیمانده‌های سمی چون سولفیدها، آمونیاک در استخرا تجمع می‌یابند و از این طریق نه امکان متراکم‌سازی آبزی در استخرا وجود خواهد داشت و نه رشد بهینه حاصل می‌گردد. برای جلوگیری از مشکلات به وجود آمده، یا باید متراکم‌سازی آبزی در واحد آزمایشی را فراموش نمود، به عبارت بهتر در سطح غیر متراکم آبزی پروری نمود که قطعاً نه اقتصادی خواهد بود و نه به افزایش تولید منجر خواهد شد، راه دوم استفاده از سیستم‌های مدار بسته (Recycling Aquaculture System=RAS) است که به نظر می‌رسد بسیار پر هزینه هستند و راه سوم بهره‌گیری از تکنولوژی بیوفلاک است. با بهره‌گیری از این سیستم ضمن محدودسازی تعویض آب، با تجمع باقیمانده‌های مواد آلی در سیستم و همچنین با مخلوط‌سازی و هوادهی که از ضروریات این تکنولوژی است، شرایط ایده‌آل برای رشد باکتری‌ها فراهم گشته که خود این باکتری‌ها به واسطه باز چرخش بار آلی مغذی موجود حاصل از غذا و یا دفعیات آبزی، هم به کنترل کیفی آب کمک می‌کنند، هم می‌توانند با ایجاد پروتئین میکروبی خود به عنوان غذا توسط آبزی مصرف شوند. در این تکنیک از باکتری‌های هتروتروف استفاده می‌شود که از مواد آلی تغذیه می‌کنند در حقیقت با سوزاندن واحدهای گلوكزی، انرژی و دی اکسید کربن را به وجود می‌آورند. از طرف دیگر باکتری‌ها برای رشد خود به نیتروژن نیاز دارند که این نیتروژن حاصل از بار آلی مواد مغذی موجود در کف استخراها به راحتی در اختیار آنها قرار می‌گیرد. لذا آنها با استفاده از انرژی شیمیایی در مواد آلی، مصرف اکسیژن از طریق باکتری‌های بی‌هوایی، شرایط رشد را برای خود مهیا می‌کنند. در استخراها مقادیر زیادی مواد غذایی از جمله باقیمانده‌های مواد غذایی آبزی به شکل باقیمانده‌های آلی در کف

زیستی، این مواد از محیط جمع‌آوری شده، در اختیار پلانکتون‌های گیاهی قرار نخواهد گرفت. در حقیقت در سیستم توده زیستی، با استفاده کرد مجدد از آب تخریب محیط زیست به حداقل خود می‌رسد و به طور واقعی سیستم پرورشی دوستدار محیط زیست با مفهوم "رهیافت سبز" معرفی می‌گردد. حداقل تعویض آب از هر گونه تیش و نوسان حرارتی جلوگیری می‌نماید (Crab et. al., 2009)، و حتی به رشد گونه‌های استوایی در مناطق سرد نیز اجازه می‌دهد.

اخیراً، سیستم توده زیستی، با نام‌های دیگری از جمله ZEAH= Zero Exchange Autotrophic Heterotrophic (System) به معنی سیستم هتروتروفیک، اوتوتروفیک با حذف تعویض آب (Burford et. al., 2006) و Wasielesky et. al., 2003)، لجن فعال یا سیستم باکتری سوسپانسیون (Rakoczy et. al., 2004)، سیستم تولید پروتئین تک سلول (Single Cell Avnimelech et. al., 1989) Protein کشت (Hargreavesm 2006) یا سیستم فلاک میکروبی (Ballester et. al., 2010 و Avnimelech, 2007) نیز معرفی شده‌اند. با این وجود، تکنولوژی بیوفلاک نامی است که در مهمترین منابع و از جمله (Avnimelech, 2012) برای این سیستم در نظر گرفته شده است. علاوه بر آن، BFT بر تحقیق در حوزه غذا به عنوان منبع پروتئین ترکیبات غذایی توجه ویژه دارد و بر آن تاکید می‌کند. همان‌طور که در شکل‌های ۱ و ۲ دیده می‌شود در سیستم RAS لازم است با استفاده از پمپ نسبت به جمع‌آوری لجن کف و همچنین به واسطه انواع فیلتراسیون‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی، نسبت به تمییز نمودن آب به منظور استفاده مجدد بهره گرفت؛ حال آنکه در سیستم BFT، بدون تعویض آب (Zero exchange water) به طور ذاتی عملیات نوتریفیکاسیون انجام می‌شود. در این شیوه کافی است به منظور تغذیه برخی میکروارگائیسم‌های هتروتروف سیستم بیوفلاک، از منابع کربوهیدراتی استفاده نمود. منابع نیتروژنی موجود در سیستم مستقیماً برای تولید پروتئین میکروبی مورد مصرف قرار می‌گیرند.



شکل ۱: سیستم تولید باز چرخشی (RAS)

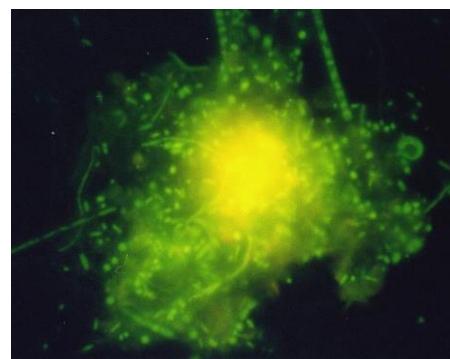


شکل ۶: توده تجمع یافته بیوفلاک در مخروط Imhoff

در سیستم‌های پرورش متراکم آبزی‌پروری، مجموعه باکتری‌ها، سایر میکرووارگانیسم‌ها و ذرات آلی توده پلاک مانند بیوفلاک را تشکیل می‌دهند. در بالا عکس با میکروسکوپ فازکنتراست آن دیده می‌شود. از هر سانتی‌متر مکعب فلاک ۱۰-۳۰ میلی‌گرم ماده خشک به دست می‌آید. در حقیقت میکرووارگانیسم‌ها با تخریب مواد دفعی بخشی را به دی‌اسیدکربن و حدود ۵۰٪ از آن را به زی‌توده میکروبی تبدیل می‌کنند. از طریق کنترل فعالیت میکروبی می‌توان به کنترل نیتروژن آب استخراج کمک نمود و به طور همزمان مجموعه باکتری‌ها مهمترین نقش را در زنجیره غذایی استخراج بازی کنند. همچنین از این طریق به نظر می‌رسد در محافظت از آبزیان در برابر بیماری‌ها نیز باعث بهبود می‌شوند. به منظور تشکیل توده‌ها یا پلاک بیوفلاکی (شکل ۳) لازم است قبل از ذخیره‌سازی آبزی به استخراج مواد آلی اضافه گردد. این مواد می‌توانند غذاهای قدیمی، ملاس و یا سایر مواد کربوهیدراتی باشند. همچنین لازم است در ابتدا کود ۵-۲۵ میلی‌گرم نیتروژن به میزان ۲/۵٪ در لیتر (C/N ratio از طریق منابع کربنی) لازم است تا افزودن کربن (از طریق افزودن کربنی) باشد. باکتری‌ها با گرفتن نیتروژن آب، ضمن تشکیل پروتئین میکروبی، باعث بهبود کیفیت آب می‌شوند. در یک مطالعه مشخص شده است میزان تولید پروتئین میکروبی با بهره‌گیری از مواد مکمل کربوهیدراتی در یک استخراج یک هکتاری کشت تیلاپیا ۶۰۰ کیلوگرم در روز بوده است.

جمع شده‌اند که به راحتی در اختیار باکتری خواهند بود همچنین برای رشد ماهی لازم است هوادهی صورت گیرد که عملاً چرخش مواد در تمام استخر و توزیع یکسان آن با این عمل رخ می‌دهد و لذا ۲۴ ساعت/ روز سیستم در حال مخلوط شدن است. با شمارش تعداد باکتری‌ها در هر سانتی‌متر مکعب از این شرایط،  $10^6$  (یک میلیون) یا حتی  $10^9$  (یک میلیارد) نیز خواهد بود. لذا از این استخراج به عنوان یک صنعت بیوتکنولوژیکی یاد می‌شود که در اختصار بیوفلاک تکنولوژی نامگذاری شده است.

نیتروژن به اشکال مختلفی در این استخراجها دیده می‌شود. نیتروژن معدنی (N), NH<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>, NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub> و NH<sub>3</sub> سمی هستند. در مورد آبزیان سطح قابل قبول برای هر یک از این ترکیبات سمی مشخص و معین شده است به عنوان مثال برای میگو حداکثر سطح ایمن NH<sub>3</sub> میزان ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر و در pH ۶ خنثی حداکثر کل NH<sub>4</sub> حدود ۲ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. با این توصیفات، در استخراج‌های آبزی‌پروری به اندازه کافی نیتروژن برای رشد باکتری‌های هتروتروف وجود دارد. با این وجود با افزودن مواد غنی از کربن (کربوهیدرات‌ها) و محتوای پروتئین کم، مثل نشاسته یا سلولز (آرد، ملاس‌ها، کاساو و ...) رشد باکتری‌ها ضمانت می‌گردد. با افزودن کربن (از طریق منابع کربنی) لازم است تا بیشتر از ۱۰ باشد. باکتری‌ها با گرفتن نیتروژن آب، ضمن تشکیل پروتئین میکروبی، باعث بهبود کیفیت آب می‌شوند. در یک مطالعه مشخص شده است میزان تولید پروتئین میکروبی با بهره‌گیری از مواد مکمل کربوهیدراتی در یک استخراج یک هکتاری کشت تیلاپیا ۶۰۰ کیلوگرم در روز بوده است.

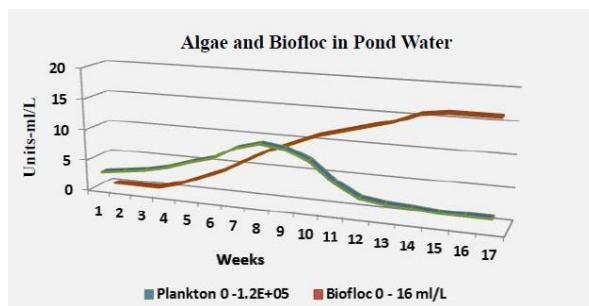


شکل ۳: تصویر یک پلاک بیوفلاک با میکروسکوپ فاز کنتراست

قرار داده شود. در مورد مزارع پرورش میگو این میزان از ۱ تا ۴۰ میلی لیتر در هر لیتر است که متوسط ماده خشک آن کمتر از ۱۵ میلی گرم در لیتر به دست می آید حال آنکه در مورد ماهی این میزان ۲ تا ۱۰۰ میلی لیتر در لیتر (با متوسط وزن خشک کمتر از ۳۰ میلی گرم در لیتر می باشد). یکی از مهمترین فاکتورهایی که باید اندازه گیری گردد TSS است. این عدد نباید بالاتر از ۲۰۰-۴۰۰ میلی گرم در لیتر باشد. در زمان پایش چنانچه با آمونیاک بالا مواجه شدیم، لازم است تا میزان کربوهیدرات افروندی به استخر را افزایش داده یا میزان ورودی پروتئین به استخر را کاهش دهیم. چنانچه با افزایش میزان نیتریت مواجه شدیم، ممکن است سطح اکسیژن محلول آب در همان منطقه ارزیابی، بسیار پایین آمده باشد، یا میزان تجمع لجن بسیار زیاد شده باشد که در این موارد با جابجا کردن هواده و افزودن منابع کربنی می توان این دو مشکل را حل نمود و چنانچه با حجم پایین فلاک مواجه شدیم، با افزودن منابع کربنی می توان این مشکل را حل نمود. از طرف دیگر حجم بالای توده های فلاکی نیز ممکن است مشکل ساز باشد که در این شکل باید کف استخر را خشک نمود. یکی از مهمترین مسائل در استخرهای روباز جایابی قراردادن هواده و نحوه چرخش آن است. در تجربیات پرورشی با بهره گیری از سیستم بیوفلاک چنانچه سیستم کامل باشد (Full bioflock system)، تولید بالا و تا حدود ۵ تن در هکتار (در سیستم R&D) خواهد بود حال آنکه در بعد تجاری این محصول ۲۰-۲۵ تن در هکتار خواهد بود (Avnimelech, 1999-2004). در سیستم بیوفلاک ناقص (Semi- bioflock system) ۱۵ تن در هکتار به دست خواهد آمد. در مورد تولید فوق متراکم میگویی و اسامی با سیستم کامل بیوفلاک، ۷/۵ کیلوگرم در هر مترمکعب و ۹/۳۷ کیلوگرم در هر متر مکعب میگو برداشت شد (Panjaitan, 1999 و Avnimelech, 2004) در مورد ماهی تیلاپیای پرورشی در تانک، ۲۰-۴۰ کیلوگرم در هر متر مکعب محصول دور از دسترس نخواهد بود.

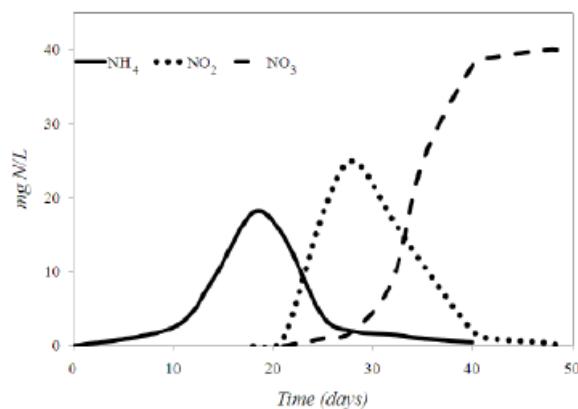
## اهمیت باکتری های فلاک در آبزی پروری

همانگونه که گفته شد، در درجه نخست اینکه میکروب و مواد آلی آن خود به عنوان یک غذا برای آبزیان پرورشی مطرح هستند (Moriarty, 1997). در سیستم توده زیستی، میکروگانیسم ها نقش کلیدی در تغذیه آبزیان پرورشی دارند. تجمع آنها (بیوفلاک) یک منبع طبیعی غنی و در دسترس (۲۴ ساعته در روز) از پروتئین و چربی در جای مصرف می باشد. در ستون آب واکنش متقابل بین مواد آلی، بستره فیزیکی و دامنه بالای میکروگانیسم هایی چون فیتوپلانکتون، باکتری های آزاد یا چسبیده، تجمع مواد آلی خاص و سایر تغذیه کنندها مثل روتیفر، مژه داران و تازه کداران آغازی، کوپه پودا وجود دارد (Ray et. al., 2010a). این تولید طبیعی نقش مهمی



شکل ۴: جایگزینی شکوفایی بیوفلاک به جای شکوفای ریز جلبکی در سیستم

رونده تغییر یا توالی نیتریفیکاسیون در شکل ۵ نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود حداقل میزان  $\text{NH}_4$  در روز ۲۰ (حدود ۲۰ میلی گرم نیتروژن در لیتر) است که از همین روز یا یک روز بعد کم کم از میزان  $\text{NH}_4$  کاسته و شاهد روند صعودی  $\text{NO}_2$  و  $\text{NO}_3$  خواهیم بود، به طوری که  $\text{NO}_2$  حدود روز سی ام به حداقل ۲۵ میلی گرم نیتروژن در لیتر) رسیده و سپس روند نزولی را طی می‌نماید ولی  $\text{NO}_3$  تا روز چهلم روند صعودی دارد و ظاهرا بعد از آن به یک ثبات می‌رسد. به منظور تغذیه، لازم است نرخ C/N برابر ۱۵-۲۵ حفظ شود. غذاهای پلت با میزان پروتئین پایین یا پلت‌های با میزان پروتئین بالا غنی از کربوهیدرات این نسبت را به خوبی به وجود می‌آورند. به عنوان مثال غذاهایی با درصد پروتئین ۱۵ می‌توانند نرخ C/N برابر ۲۱/۵ را به وجود آورند، حال آنکه غذاهایی با درصد بالای پروتئین (۴۰٪)، نرخ C/N حدودی ۸/۱ را به دست می‌دهند. در رابطه با مزرعه پرورش تیلاپیا، لازم است لجن کف استخر زهکشی شود ولی در مورد میگو کافی است در پایان فصل تولید، این عمل به صورت هفتگی انجام گیرد.



شکل ۵: توالی نیتریفیکاسیون در استخرهای BFT

پایش وضعیت موجود از حیث فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب نیز پسیار حائز اهمیت است. همچنین به منظور ارزیابی بیوفلاک، از مخروط Imhoff استفاده می‌شود (شکل ۶) و حتماً لازم است زمان ۱۵-۲۰ دقیقه‌ای به منظور رسوب کامل در اختیار آب درون مخروط

نشان می‌دهند. حال آنکه این درصد در سایر ارگانیسم‌ها بالاتر حدود ۱۰-۱۵٪ افزایش وزن است (Avnimelech, 2012). در حقیقت باکتری و سایر میکرووارگانیسم‌ها به عنوان سیستم‌های بیوشیمیابی یا راندمان بالا عمل نموده تا باعث متابولیزه نمودن باقیمانده‌های آلی شوند (Avnimelech, 1999). از طرف دیگر باعث باز چرخش مواد غذایی آلی و معدنی با راندمان بالا در سلول‌های باکتری جدید خواهد شد (مواد غذایی مصرف نشده، غذاهای غیر قابل هضم، باقیمانده مواد گوارشی و منابع کربنی همه به عنوان کود قابل استفاده هستند).

## منابع کربن آلی و مقدار مورد نیاز در آبزی پروری

منابع کربن مورد مصرف در BFT محصولات جنبی حاصل صنایع غذایی انسانی یا حیوانی هستند که به صورت محلی در دسترس می‌باشند. منابع ارزانی کربوهیدراتی مثل ملاس‌ها، گلیسرول و آرد گیاهانی چون گندم، ذرت، برنج و ... که قبل از ذخیره‌سازی مرحله لاروی ماهی یا آبزی و همچنین در مرحله رشد آبزیان به استخراج داده می‌شود با این هدف که نرخ بالای کربن به نیتروژن (N:C) در حد ۲۰ به ۱ حفظ کنند و از این طریق، به کنترل نیتروژن موجود در استخراج کمک نمایند. همچنین استفاده از مخلوطی از آرد گیاهان می‌تواند به پلت سبز در استخر بیانجامد (Taw, 2010) و یا استفاده از غذاهای حاوی پروتئین پایین، محتوی نسبت بالای C:N (Azim and Little, 2008) و Avnimelech, 2012) باشد. منابع کربن به عنوان یک بستر برای عملکرد سیستم BFT (Avnimelech, 2008). منابع کربن به عنوان یک بستر برای عملکرد سیستم می‌باشند و به طور همزمان به تولید سلول‌های پروتئینی میکروبی کمک می‌کند (Avnimelech, 1999). البته ملاحظاتی در خصوص هزینه‌ها، میزان در دسترس بودن مواد، تجزیه زیستی و راندمان تجمع باکتریایی نیز مطرح است که حتماً باید به آنها توجه نمود. در جدول ۱ به طور خلاصه منابع مختلف کربن که در سیستم BFT کاربرد دارند آورده شده است.

را در فرآیند باز چرخش مواد آلی و حفظ کیفیت آب بازی می‌کند (Ray et al., 2010b و McIntosh et al., 2000) مصرف بیوفلاک توسط میگو یا ماهی مزیت‌های بسیاری را در بهبود نرخ رشد از خود بجای گذاشته است (Wasilewsky et al., 2006) از جمله کاهش ضربت تبدیل غذا و متعاقب آن کاهش هزینه‌های تولید (Burford et al., 2004). البته افزایش رشد آبزی به ارزش غذایی باکتری نیز بستگی دارد؛ مثلاً چنانچه میگو از بیوفلاک استفاده کند، تا ۳۰٪ کاهش نرخ تغذیه را به همراه خواهد داشت (Panjaitan, 2004). همچنین مشخص شده که بیش از ۲۹٪ غذای Burford et al. (2004) در تیلاپیا (Avnimelech et al., 1994) میزان مصرف غذا در تیمار با توده زیستی نسبت به روش تعویض آب ۲۰٪ کاهش نشان می‌دهد. همچنین با مصرف از این میکرووارگانیسم‌ها، تاخیر نیتروژن (nitrogen retention) از غذای اضافه تا حد ۱۳-۱۷٪ افزایش می‌باید (Schneider et al., 2005 و Hari et al., 2004) در این متن، سیستم توده زیستی فرصتی را به عنوان جانشین غذای در پرورش میگو نشان داده است. غذایی که با داشتن میزان پروتئین کم جایگزین منابع پروتئینی همچون آرد ماهی یا اسکوئید و ... شده و با موفقیت این جایگزینی انجام وظیفه نموده است (Ray et al., 2011a و Azim and Little, 2010) در خصوص حفظ کیفیت آب کنترل تجمع باکتریایی در بالاتر از سطح اتوتروف میکرووارگانیسم‌ها نسبت کربن به نیتروژن را افزایش می‌دهد که محصول جنبی نیتروژنه به راحتی توسط باکتری‌های هتروتروف جذب می‌شود (Avnimelech, 1999). نسبت بالای کربن به نیتروژن خود بنوعی تضمین کننده بهترین رشد باکتری‌ها (Avnimelech, 2007 و Emerenciano et al., 2012) استفاده از این انرژی برای نگهداری (مثل تنفس، تغذیه، حرکت و گوارش و ...) و همچنین برای رشد و تولید سلول‌های جدید خواهد بود. غلظت بالای کربن در آب می‌توان باعث جایگزینی کربن هم ظرفیتی و شبیه ریزجلبک‌ها شده و در رشد باکتری سهم و نقش هود را ایفا نماید. میکرووارگانیسم‌های غیر هوایی به عنوان غذا برای تغذیه سلول‌های جدید نقشی بالا با بازده حدود ۶۰-۴۰٪ از خود

جدول ۱: منابع مختلف کربن گونه‌های پرورشی استفاده کننده از آنها در سیستم BFT (اقتباس از Avnimelech, 1999)

منبع کربن	گونه پرورشی آبزی	منبع
استات	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Crab et al., 2010
آرد کازاوا	<i>Penaeus monodon</i>	Avnimelech and Mokady, 1988
سلولز	<i>O. niloticus</i>	Avnimelech et al., 1989
آرد ذرت	هیبرید باس و هیبرید تیلاپیا	Milstein et al., 2001
دکستروز	<i>Litopenaeus vannamei</i>	Asaduzzaman et al., 2010 و Suita, 2009
گلیسرول و باکتری باسیلوس	<i>M. rosenbergii</i>	Crab et al., 2010

منبع	گونه پرورشی آبزی	منبع کرین
Crab <i>et. al.</i> , 2010	<i>M. rosenbergii</i>	گلوكز
Burford <i>et. al.</i> , 2004 .Panjaitan, 2004	<i>L. vannamei</i> and <i>P. monodon</i>	ملاس
Samocha <i>et. al.</i> , 2007 و		
Avnimelech <i>et. al.</i> , 1989	<i>O. niloticus</i>	آرد سور گوم
Asaduzzaman <i>et. al.</i> , و Hari <i>et. al.</i> , 2004 2008	<i>L. vannamei</i> and <i>M. rosenbergii</i>	توبیکا
Azim and Little, 2008	<i>O. niloticus</i>	آرد گندم
Emerenciano .Emerenciano <i>et. al.</i> , 2012 Emerenciano <i>et. al.</i> , و et. al., 2011b 2012	<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i> , <i>F. paulensis</i> and <i>F. duorarum</i>	سبوس گندم به همراه ملاس
Avnimelech, 2007 و Crab <i>et. al.</i> , 2009	<i>O. niloticus</i> x <i>O. aureus</i>	نشاسته

توجه خاص داشته و از این نظر نیز بسیار حائز اهمیت می باشدند (Avnimelech, 2009). همچنین در کاهش تعداد تعویض آب تا حد صفر (Zero exchange water) پیش رفته است (Widanarni and Maryame, 2012 and). همان طور که قبل از گفته شده است، نقش اصلی BFT باز چرخش غذاهای خورده نشده یا مواد دفعی است به طوری که نسبت C/N عدد بالای داشته باشد تا باکتری‌های هتروتروف را تحریک به رشد نموده، به تبدیل آمونیاک به زی توده میکروبی اقدام نمایند. اگر چه باید توجه داشته باشیم که اضافه کردن مستمر منابع کربنی با افزایش غلظت TAN و نیتریت- نیتروژن (NO<sub>2</sub>-N) به سطوح بحرانی در سیستم BFT خواهد انجامید که بسیار سمی هستند (Avnimelech, 1999). امروزه تیلاپیا که به نام مرغ آبزی معروف شده است، در بسیاری از کشورهای دنیا کشت می شود و از نرخ رشد بسیار سریعی برخوردار بوده است. این نرخ رشد در سالهای اینده نیز ادامه دار خواهد بود (FAO, 2012). از طرف دیگر بیش از ۵۰٪ هزینه تولید به غذا بر می گردد (Craig and Helfrich, 2002). بنابراین رسیدن به آبزی پروری پایدار به شدت به منابع غذایی و مدیریت وابسته است و قطعاً این پایداری به دست نخواهد آمد، مگر آنکه از سهم ماهیان صید شده به عنوان آرد ماهی در غذای آبزیان پرورشی کاسته شود (Munguti *et. al.*, 2013). یکی از راههای مطرح استفاده از جایگزین‌های پروتئین گیاهی به جای پروتئین‌های حیوانی است. اما پلت پذیری و خوش خوارکی پروتئین‌های گیاهی (به دلیل وجود ضد غذاها در آنها و دسترسی زیستی کمتر به مواد غذایی این گیاهان) کمتر از پروتئین‌های حیوانی است. از آنجا که هنوز استفاده از سیستم آبزی پروری در استخراجی خاکی به ویژه در کشورهای در حال توسعه بسیار رایج است، بهره‌گیری از تکنولوژی بیوفلاک می تواند بسیاری از مشکلات پیش روی این صنعت را مرتفع نماید. هر چند برای تعیین مقدار دقیق افزایش منبع کربنی احتیاج به مطالعات بیشتری است ولی تاکنون به دست آمده است که اضافه

لازم به یاد آوری است که همه گونه ها را نمی توان در سیستم BFT پرورش داد. برخی ویژگی های ضروری در جهت رشد بهینه آبزی همچون مقاومت به تراکم بالا، تحمل به سطوح حد واسط اکسیژن محلول (بین ۳ تا ۶ میلی گرم در لیتر)، یا تحمل پذیرش ایجاد رسوب در آب (حدود ۱۰ یا حداقل ۱۵ میلی لیتر بر لیتر حجم بیوفلاک) (Taw, 2010)، تحمل به وجود ترکیبات نیتروژن، مهیا بودن سیستم فیلتر کنندگی ماهی (همچون تیلاپیا)، عادت همه چیز خواری یا دارا بودن سیستم گوارشی سازش یافته با ذرات باکتریایی وجود خواهد داشت که قابلیت کشت آبزی در سیستم را فراهم خواهد نمود.

## بررسی امکان بهره‌گیری از بیوفلاک در مزارع پرورش ماهی تیلاپیا (Ogello *et. al.*, 2014)

افزایش سریع رشد در صنعت آبزی پروری به خصوص در طی ۵۰ سال گذشته باور نکردنی بوده است. البته این رشد مرهون بهره‌گیری از تکنولوژی در تولید همچون هیبریدزاسیون، مهندسی ژنتیکی، استفاده از غذاهای فرموله با کیفیت و همچنین بهره‌گیری از تکنولوژی بیوفلاک در انواع سیستم‌های آبزی پروری: استخر، قفس، تانک و سیستم‌های چرخشی آب بوده است (FAO, 2012). با این وجود، نرخ رشد آبزی پروری در تمام دنیا یکدست نبوده است به طوری که برخی کشورهای آسیایی رشد بسیار بالا و برخی کشورهای آفریقایی اصلاً رشد نداشته‌اند. از طرف دیگر همان طور که اشاره شد، ثبات در صید از آبهای باز سبب گردید تا نیاز جمیعت افزاینده بشر به غذا، به خصوص پروتئین آبزیان، از طریق آبزی پروری تامین گردد. به نظر می‌رسد برای تامین نیاز جمیعت ۵۰ سال آینده باید سرعت افزایشی رشد آبزی پروری به بیش از ۵ برابر فعلی برسد. بنابراین استفاده از تکنولوژی‌های برتر چون تکنولوژی بیوفلاک ضمن افزایش تولید، به مسائل محیط زیستی نیز

مطالعه دیگر مشخص شد که گونه *Piaractus brachypomus* نمونه مناسبی برای معرفی به سیستم فوق می‌باشد (Paleo et al., 2011).

## منابع

- Asaduzzaman, M., Wahab, M.A., Verdegem, M.C.J., Huque, S., Salam, M.A., Azim, M.E., 2008.** C/N ratio control and substrate addition for periphyton development jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds. Aquaculture 280, 117–123.
- Asaduzzaman, M., Rahman, M.M., Azim, M.E., Islam, M.A., Wahab, M.A., Verdegem, M.C.J., Verreth, J.A.J., 2010.** Effects of C/N ratio and substrate addition on natural food communities in freshwater prawn monoculture ponds. Aquaculture 306: 127–136.
- Avnimelech, Y., Kochva, M., Diab, S., 1994.** Development of controlled intensive aquaculture systems with a limited water exchange and adjusted carbon to nitrogen ratio. Bamidgeh 46:119–131.
- Avnimelech, Y., Mokady, S., 1988.** Protein biosynthesis in circulated ponds. In: Pullin RSV, Bhukaswan T, Tonguthai K, Maclean JL, editors. Proceedings of Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture, Departament of Fisheries of Thailand and ICLARM, Manila, Philippines, pp. 301–309.
- Avnimelech, Y., Mokady, S., Schoroder, G.L., 1989.** Circulated ponds as efficient bioreactors for single cell protein production. Bamidgeh. 41:58–66.
- Avnimelech, Y., 1999.** Carbon and 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. Aquac. Eng. 34 (3), 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. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States. 182 pp.
- Avnimelech, Y., 2012.** Biofloc Technology - A Practical Guide Book, 2nd ed. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, EUA. 272p.
- Azim, M.E., Little, D.C., 2008.** The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 283:29–35.

کردن ۳۶۰ گرم کربن در هر متر مکعب در روز می‌تواند مقدار کافی کربن مورد نیاز برای جمع کردن نیتروژن در سیستم متمرکز پرورش تیلاپیا که میزان ذخیره‌سازی آن ۵۰ کیلو گرم در هر متر مربع است کفایت می‌نماید (Crab, 2010). باکتری‌ها می‌توانند از ۶۰۰ تا ۶۰۰ کیلو گرم پروتئین میکروبی در هکتار برای آبزیان پرورشی تولید نمایند (Avnimelech, 1999).

در مورد ماهی و سایر آبزیان پرورشی، سیستم BFT نتایج مثبتی داشته‌اند. در مورد ماهی تیلاپیا نیز با بکار بردن بیوفلاک محصول ماهی ۲۰–۳۰ کیلو گرم در هر متر مکعب خواهد بود، بدیهی است که نیاز به غذاده‌ی افزایش و تا ۵۰۰ گرم در هر متر مکعب در روز خواهد رسید. در این شرایط فعالیت میکروبی به حداقل خود می‌رسد و حجم بیوفلاک تولیدی بسیار بالا و به ۵۰–۲۰ میلی لیتر در هر لیتر می‌رسد که خود به عنوان بخش قابل توجهی از غذای طبیعی در دسترس ماهی خواهد بود. برای این تولید نیاز به هواده‌ی  $10-20\text{ HP}/1000\text{ m}^2$  می‌باشد. البته لازم است در این حجم تولید روزانه نسبت به تخلیه زهکش کف اقدام نمود.

در مورد پرورش متراکم تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) تا ۱۵۵ تن ماهی در هر هکتار طی یک مرحله تولید گزارش شده است (Rakocy et al., 2004). در کنار افزایش تولید، کاهش در FCR و کاهش پروتئین جیره نیز به دست آمده و بهره‌گیری تیلاپیا از غذا با کمک سیستم BFT به مراتب بیشتر از گروه کنترل (آب تمیز و تعویض آن) بوده است (Taw, 2010). در سیستم BFT مرحله جوان تیلاپیا (Azim and Little, 2008)، هیچگونه اختلاف معنی داری در رشد و میزان تولید بین گروه‌های تیماری ۳۵٪ و ۲۴٪ پروتئین غذا در تانک‌ها به دست نیامد، با این وجود در هر دو تیمار بهتر از گروه شاهد (بدون سیستم BFT و ۳۵٪ پروتئین غذا) برآورد گردیدند. همچنین اثر سیستم BFT در بهبود کیفیت آب برای تیلاپیا در شرایط سرد زمستان ثابت گشت (Crab et al., 2009). چنین به نظر می‌رسد که این سیستم توانسته است بر عامل تمیز و تعویض آن) بوده است (Taw, 2010). در سیستم BFT در سرمهای زمستان و مرگ و میر ناشی از آن غلبه داشته باشد. در مطالعه‌ای که توسط Naylor و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد، نشان داده شد که بیوفلاک توسط ماهی تیلاپیا خورده شده است و تا حدود ۵٪ نرخ تغذیه ماهی را بهبود بخشد (در این مطالعه از ۲٪ رصد زی توده به عنوان درصد غذاده‌ی روزانه استفاده شد). در تحقیقی که روی ماهی بومی بزریل با نام تامباکو (*Colossoma macropomum*) انجام شد، ملاحظه شد که قادر نبود بر رشد و میزان تولید آن در مقایسه با گروه کنترل، تاثیری داشته باشد (Itani et al., 2010)، هرچند در این تحقیق، برخی مشکلات کیفی آب (از جمله نیترات بالا و کدورت آب) گزارش شد که شاید دلیلی بر عدم تاثیر پذیری سیستم BFT بوده باشد و شاید این گونه نیز برای معرفی در سیستم BFT قابلیت نداشته است. در

- abstracts of World Aquaculture Society Meeting 2009, Veracruz, México.
- Emerenciano, M., Cuzon, G., López-Aguiar, K., Noreña-Barroso, E., Máscaro, M., Gaxiola, G., 2011a.** Biofloc meal pellet and plant-based diet as an alternative nutrition for shrimp under limited water exchange systems. CD of abstracts of World Aquaculture Society Meeting 2011, Natal, RN, Brazil.
- Emerenciano, M., Ballester, E.L.C., Cavalli, R.O., Wasielesky, W., 2011b.** Effect of biofloc technology (BFT) on the early postlarval stage of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: growth performance, floc composition and salinity stress tolerance. *Aquac Int* 19:891-901.
- Emerenciano, M., Ballester, E.L.C., Cavalli, R.O., Wasielesky, W., 2012.** Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquac Res* 43:447-457.
- Emerenciano, M., Cuzon, G., Paredes, A., Gaxiola, G., 2012.** Biofloc technology applied to intensive broodstock farming of pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* (Part I): growout, water quality, microorganisms profile and proximate analysis of biofloc. *Aquac Res* (submitted)
- Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO. 2008.** Cultured aquaculture species information programme, *Penaeus vannamei* (Boone, 1931). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available at <http://www.fao.org>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO. 2012.** Fisheries global information system. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome.
- Hargreaves, J.A., 2006.** Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquac Eng* 34:344-363.
- Hari, B., Kurup, B.M., Varghese, J.T., Schrama, J.W., Verdegem, M.C.J., 2004.** Effects of carbohydrate addition on production in extensive shrimp culture systems. *Aquaculture* 241:179–194.
- Hari, B., Kurup, B.M., Varghese, J.T., Schrama, J.W., Verdegem, M.C.J. 2006.** The effect of carbohydrate addition on water quality and the nitrogen budget in extensive shrimp culture systems. *Aquaculture* 252 (2-4), 248–263.
- Itani, A.L., Neto, E.T.A., Silva, S.L., Araújo, M.L., Lima, A.F., Barbosa, J.M., 2010.** Efeito do sistema heterotrófico no crescimento do Tambaqui (*Colossoma macropomum*). X JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – JEPEX 2010 – UFRPE: Recife.
- 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. *Aquac Nut* 16:163-172.
- Bender, J., Lee, R., Sheppard, M., Brinkley, K., Philips, P., Yeboah, Y., Wah, R.C., 2004.** A waste effluent treatment system based on microbial mats for black sea bass *Centropristes striata* recycled water mariculture. *Aquac Eng* 31:73-82.
- Browdy, C.L., Bratvold, D., Stokes, A.D., McIntosh, R.P., 2001.** Perspectives on the application of closed shrimp culture systems. In: Jory ED, Browdy CL, editors. The new Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA. Pp.20–34.
- 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.
- Burford, M.A., Thompson, P.J., McIntosh, R.P., Bauman, R.H., Pearson, D.C., 2004.** The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a highintensity, zero-exchange system. *Aquaculture* 232:525–537.
- Crab, R., Kochva, M., Verstraete, W., Avnimelech, Y., 2009.** Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia. *Aquac Eng* 40:105-112.
- 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. *Aquac Res* 41: 559-567.
- Crab, R., 2010.** Bioflocs technology: an integrated system for the removal of nutrients and simultaneous production of feed in aquaculture. PhD thesis, Ghent University. 178 pp.
- Craig, S., Helfrich, L.A., 2002.** Understanding Fish Nutrition, Feeds and Feeding, Cooperative Extension Service, publication 420-256. Virginia State University,USA.
- 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.
- Emerenciano, M., Vinatea, L., Gálvez, A.G., Shuler, A., Stokes, A., Venero, J., Haveman, J., Richardson, J., Thomas, B., Leffler, J., 2009.** Effect of two different diets fish meal based and “organic” plant based diets in *Litopenaeus setiferus* earlier post-larvae culture under biofloc, green-water and clear-water conditions. CD of

- Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. *Aquaculture* 310:130–138.
- Ray, A.J., 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, superintensive culture systems. *Aquaculture* 299:89–98.
- Ray, A.J., 2012.** Biofloc technology for superintensive shrimp culture. In: Avnimelech Y, editor. *Biofloc Technology - a practical guide book*, 2nd ed., The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. pp. 167–188.
- Samocha, T.M., Patnaik, S., Speed, M., Ali, A.M., Burger, J.M., Almeida, R.V., Ayub, Z., Harisanto, M., Horowitz, A., Brock, D.L., 2007.** Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquac Eng* 36:184–191.
- Schneider, O., Sereti, V., Eding, E.H., Verreth, J.A.J., 2005.** Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. *Aquac Eng* 32:379–401.
- Suita, S.M., 2009.** O uso da Dextrose como fonte de carbono no desenvolvimento de bioflocos e desempenho do camarão-branco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado em sistema sem renovação de água. Tese de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande do Sul, BrasilTaw N. (2010). Biofloc technology expanding at white shrimp farms. Global Advocate may/june, 24–26 (available in [http://www.gaalliance.org/mag/May\\_June2010.pdf](http://www.gaalliance.org/mag/May_June2010.pdf))
- Wasielesky, W.Jr., Atwood, H., Stokes, A., Browdy, C.L., 2006.** Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based superintensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 258:396–403.
- Watanabe, T., 2002.** Strategies for further development of aquatic feeds. *Fish. Sci.* 68 (2), 242–252.
- Widanarni Ekasari, J., Maryame, 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: 73-80.
- McIntosh, D., Samocha, T.M., Jones, E.R., Lawrence, A.L., McKee, D.A., Horowitz, S., Horowitz, A., 2000.** The effect of a bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with low-protein diet in outdoor tank system and no water exchange. *Aquac Eng* 21:215–227.
- Milstein, A., Anvimelech, Y., Zoran, M., Joseph, D., 2001.** Growth performance of hybrid bass and hybrid tilapia in conventional and active suspension intensive ponds. *Bamidgeh* 53:147–157.
- Moriarty, D.J.W., 1997.** The role of microorganisms in aquaculture ponds. *Aquaculture* 151:333–349.
- Munguti, J.M., Waidbacher, H., Liti, D.M., Straif, M., Zollitsch, W., 2009.** Effects of substitution of freshwater shrimp meal (*Caridina nilotica* Roux) with hydrolyzed feather meal on growth performance and apparent digestibility in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) under different culture conditions. *J of Liv. Res. for Rur. Dev.* 21 (8): 1-13.
- Naylor, R.L., Goldburg, R.J., Primavera, J.H., Kautsk, N., Beveridge, M.C.M., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H., Troell, M., 2000.** Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405:1017-1024.
- Ogello, E.O., Musa1, S.M., Mulanda Aura, Ch., Abwao, J.O., Munguti, J.M., 2014.** An Appraisal of the Feasibility of Tilapia Production in Ponds Using Biofloc Technology: A review. *International Journal of Aquatic Science Vol. 5, No. 1, 21-39.*
- 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.
- Poleo, G., Aranbarrio, J.V., Mendoza, L., Romero, O., 2011.** Cultivo de cachama blanca en altas densidades y en dos sistemas cerrados. *Pesq. Agropec. Bras.* 46: 429-437
- Rakocy, J.E., Bailey, D.S., Thoman, E.S., Shultz, R.C., 2004.** Intensive tank culture of tilapia with a suspended, bacterial based treatment process: new dimensions in farmed tilapia.In: Bolivar R, Mair G, Fitzsimmons K, editors. *Proceedings of the Sixth International Symposium on Tilapia in Aquaculture*. pp. 584–596.
- Ray, A.J., Seaborn, G., Leffler, J.W., Wilde, S.B., Lawson, A., Browdy, C.L., 2010a.**