تغــذیه آبزیــان
سال پنجم، شماره اول،
بهار و تابستان ۱۳۹۸

اثر افزودن ملاس در آب و جیره غذایی ماهی کپور بر شاخص های رشد، ایمنی، بیوشیمیایی خون، آنزیم‌های گوارشی و کیفیت آب محیط پرورش در روش بایوفلاک

محمد خادمی حمیدی*، حسین آدینه، محمد هرسیج، حسنا قلیپور کنعانی
گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، گلستان

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۴/۰۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۶/۲۵

چکیده
این مطالعه به‌منظور تعیین اثرات افزودن ملاس (در آب و غذا) بر عملکرد رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و ایمنی غیراختصاصی ماهی کپور معمولی در روش بایوفلاک انجام شده است. کپور معمولی (با ۰/۳۵ ± ۱۲/۰۶ گرم میانگین وزن اولیه) در ۳ تیمار با سه تکرار به مدت ۷ هفته با افزودن روزانه ملاس چغندرقند به عنوان منبع کربن برای حفظ نسبت کربن به ازت (۱:۱۵) پرورش داده شد که شامل: افزودن ملاس به آب (MW) و غذا (MF) و آب بدون افزودن ملاس (شاهد) بود. کیفیت آب (آمونیاک و نیترات) بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری نداشت. عملکرد رشد و تغذیه به‌طور معنی‌دار در تیمار دریافت‌کننده ملاس نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود ($p<0/05$). آنزیم‌های گوارشی آمیلاز، لیپاز و پروتئاز تفاوت معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی داشت. فعالیت پروتئاز در تیمارهای MW و MF به‌طور معنی‌داری بیش از تیمار شاهد بود. سطوح ایمونوگلوبین و لایزوزیم پلاسمای خون ماهی پرورش یافته در روش بایوفلاک (MW و MF) به‌طور معنی‌دار بیش از گروه شاهد بود، درحالی‌که کورتیزول سرم در تیمار دریافت‌کننده ملاس به‌طور معنی‌دار پایین بود. به‌طورکلی، یافته‌های کنونی نشان داد که ملاس را می‌توان به‌عنوان افزودنی کاربردی خوراکی برای ماهی کپور معمولی درنظر گرفت.

کلمات کلیدی: ماهی کپور، ملاس، بایوفلاک، کارایی تولید

*نویسنده مسئول: mohammadkhademi110@gmail.com

مقدمه

در سال‌های اخیر، توسعه صنعت آبزی‌پروری نسبت به دیگر بخش‌های تولید غذا رشد داشته است. تولید فاضلاب ناشی از افزایش تولید آبزیان می‌تواند باعث تخریب منابع محیطی به‌خصوص منابع طبیعی آب شود. در این شرایط، ایجاد روش پرورش دوستدار محیط زیست مانند روش بایوفلاک بسیار حائز اهمیت است (Avnimelech, 2009).

فناوری بایوفلاک روشی برای بهبود کیفیت آب با افزودن کربن به‌عنوان منبع کربن خارجی یا افزایش کربن مواد غذایی به مزرعه پرورش آبزیان است (Crab et al. 2012). با افزودن کربوهیدرات به محیط پرورش ماهی، رشد باکتری هتروتروفیک تحریک شده و جذب نیتروژن از طریق تولید پروتئین‌های میکروبی انجام می‌شود (Avnimelech, 1999). در این فناوری، با کنترل و تنظیم نسبت کربن به ازت از ۱:۱۵ تا ۱:۲۰ از راه افزودن یک منبع غنی کربن آلی مانند شکر، نشاسته، سلولز، گلوکز، استات، گلیسرول و آرد گندم می‌توان از اثربخش بودن این روش پرورش اطمینان حاصل کرد (De Schryver, 2008; Avnimelech, 2009). اگر کربن و نیتروژن در محیط پرورش ماهی به شکل خوبی تنظیم و متعادل شود، آمونیاک و دیگر مواد دفعی آلی نتیروژن‌دار به زی‌توده باکتریایی تبدیل خواهند شد (Schneider et al. 2005). این منابع کربن حاوی الکل، قندها، نشاسته و فیبر هستند و تجزیه آنها از چند دقیقه تا چند ساعت طول می‌کشد (Lima et al. 2018). برای انتخاب منبع کربنی، باید به مواردی مانند قابلیت دسترسی، هزینه‌ها، قابلیت تجزیه زیستی و کارایی هضم باکتریایی نیز توجه کرد. در بین منابع کربنی، ملاس به سرعت توسط باکتری‌ها جذب و زمان تولید بایوفلاک را تسریع می‌کند (Hargreaves, 2013)، بنابراین، باید توجه داشت که استفاده از منابع کربنی غنی از فیبر مانند ذرت و آرد گندم محدود باشد، زیرا تجزیه آنها توسط باکتری‌ها به سختی انجام می‌شود (Chamberlain et al. 2001). آبزیانی در روش بایوفلاک قابلیت پرورش دارند که دارای رژیم غذایی همه‌چیز خواری از کف استخر باشند. از این گروه می‌توان به ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) اشاره کرد.

ماهی کپور معمولی جزء گونه‌های گرمابی است که در دمای بین ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد در آب شیرین تا لب شور گرم و دارای پوشش گیاهی زیست می‌کند. این گونه با دارا بودن رژیم غذایی همه‌چیزخواری و مقاومت در برابر نوسانات عوامل محیطی، یکی از گونه‌های مهم پرورشی در ایران محسوب می‌شود. این ماهی به دلیل سهولت پرورش در جهان به طور وسیعی پرورش داده می‌شود و سومین گونه معرفی شده به صنعت آبزی‌پروری در سراسر جهان است (Saikia, 2009). استفاده از ملاس در آب موجب کدورت و بالا رفتن مقدار ذرات معلق در آب می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی تغییرات رشد، ترشح آنزیم‌های گوارشی، برخی شاخص‌های خونی و پارامترهای کیفی آب ماهیان پرورش یافته در روش بایوفلاک همراه با افزودن منبع کربنی ملاس به آب و غذا در مقایسه با ماهیان پرورش یافته در روش معمولی بود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این آزمایش، تعداد ۳۰۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی آبزی رشد ساری (نوازنده) تهیه و به آزمایشگاه مهندسی آبزیان دانشگاه گنبد کاووس منتقل شد. بچه‌ماهیان پس از ضدعفونی به مدت ۱۰ روز در مخازن ۳۰۰ لیتری قرنطینه شدند تا با محیط آزمایشگاه سازگار شوند. تعداد ۲۲۵ عدد ماهی با میانگین وزنی ۰/۳۵ ± ۱۲/۰۶ گرم در ۳ تیمار و هر یک با ۳ تکرار در مخازن با حجم آبگیری ۵۰ لیتر انتقال داده شدند. تغذیه بچه‌ماهیان در طول دوره آزمایش با استفاده از غذای تجاری انجام شد. مقدار غذای دریافتی روزانه با توجه به درصد وزن بدن (توده زنده) اولیه محاسبه و در سه نوبت (ساعات ۸:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۱۷:۰۰) معادل ۲٪ وزن بدن در اختیار بچه‌ماهیان قرار گرفت.

برای آماده سازی ذخیره اولیه بایوفلاک، یک مخزن به حجم ۲۰۰ لیتر آبگیری شد. برای سریع‌تر شدن شکل‌گیری بایوفلاک، بعد از مخلوط سازی غذای ماهی، آرد و سبوس گندم، ملاس، اوره، گل بستر استخر پرورش ماهی ۲۴ ساعت هوادهی شدید شد. بعد از یکنواخت شدن مواد معلق و رسیدن مقدار جامدات معلق کل (TSS) در آب به حدود ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و مقدار آمونیاک (TAN) به حدود صفر، هوادهی متوقف شد. در طول دوره ۷ هفته پرورش ماهی کپور معمولی، با افزودن روزانه ملاس به عنوان منبع کربن برای حفظ نسبت کربن به ازت (۱:۱۵) به غذا، طراحی تیمارهای آزمایشی شامل: افزودن ملاس به آب (MW) و غذا (MF) و آب تمیز بدون

افزودن ملاس (شاهد) بود.

در این آزمایش پارامترهای فیزیکو شیمیایی آب در طول دوره پرورش سنجش شد. پارامترهایی مانند دمای آب، شوری، در صد ا شباعیت، میزان اکسیژن محلول و هدایت الکتریکی تو سط د ستگاه قابل حمل کیفیت سنج آب (D40 Hach, USA) اندازه‌گیری شد. تعیین میزان pH آب با استفاده از pH متر مدل ۸۲۷ متروم ساخت سوئیس انجام شد و قلیائیت به روش تیترا سیون و غلظت نیتروژن غیرآلی محلول شامل آمونیاک کل، نیترات و فـ سفات با ا ستفاده از ا سپکتروفتومتر بر ا ساس ا ستاندارد آزمایشگاه سنجش شدند (APHA, 1998).

در پایان دوره آزمایش، شاخص‌های ر شد و تغذیه کپور معمولی سنجش شد. وزن کل با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم و طول کل با ا ستفاده از تخته بیومتری با دقت ۰/۱ سانتی‌متر اندازه گیری شد. روابط به کار رفته در این تحقیق به شرح زیر بود:

افزایش وزن (WG, g)= میانگین وزن نهایی (گرم)- میانگین وزن اولیه (گرم)

میانگین رشد روزانه (ADG, ٪)= [(وزن نهایی- وزن اولیه)/ مدت‌زمان پرورش]× ۱۰۰

ضریب رشد ویژه (SGR, ٪/day)= ((ln وزن نهایی (گرم)- ln وزن اولیه (گرم))/ مدت‌زمان پرورش (روز))× ۱۰۰

ضریب چاقی (CF)= (وزن نهایی (گرم)/ توان سوم طول کل ماهی (سانتی‌متر))× ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی (FCR)= [مقدار غذای مصرف‌شده (گرم)/ (وزن نهایی (گرم)- وزن اولیه (گرم))]

کارایی تبدیل غذا (FCE,٪)= (وزن به‌دست آمده/ مقدار غذای مصرف شده (گرم))× ۱۰۰

نسبت کارایی پروتئین (PER)= (وزن به‌دست آمده (گرم)/ مقدار مصرف پروتئین (گرم))

نسبت کارایی چربی (LER)= (وزن به‌دست آمده (گرم)/ مقدار مصرف چربی (گرم))

برای سنجش آنـزیم‌های گوارشـی، ۲۴ ساعت قبل از نمـونه‌برداری، غذادهی قطع شد و به‌طور تصادفی تعداد ۵ ماهی از هر تکرار صید شدند. محوطه شکمی نمونه‌ها با الکل ضدعفونی، و سپس کل روده از بدن جدا و توسط سرم فیزیولوژی شست‌وشو شد. نمونه‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم و سپس به نسبت وزنی حجمی (۱ به ۹) محلول بافر همگن شد (Cahu et al. 1999). برای تهیه عصاره آنزیمی، ابتدا بافر ساخته شد که بدین منظور ۱۰۰ میلی‌مولار Tris-HCl، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، ۰/۱٪ Triton در pH ۷/۸ با همگن شدند. نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار با دمای ۴ درجه سانتی‌گـراد قرار داده شـدند که در نـهایت، مایـع رویی به‌دست آمده به‌عنوان عصاره آنزیمی برای سنجش جدا شد (Rungruangsak et al. 2002). مقدار فعالیت آنزیم آمیلاز به روش دستی با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی و مقدار فعالیت آنزیم لیپاز به روش آنزیمی، کلریمتری با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. طبق دستورالعمل شرکت سازنده، آمیلاز و پروتئاز بر اساس روش ورتینگتون (Worthington, 1993) و لیپاز براساس روش Iijima و همکاران (۱۹۹۸) اندازه‌گیری شد.

بـه‌منـظور سنـجش بـرخی از شـاخـص‌های ایـمـنی غیر-اختصاصی ماهی کپور پرورش یافته در این آزمایش، از سیاهرگ ساقه دمی خونگیری انجام شد. برای جداسازی سرم، لوله‌های سرم شناسی فاقد ماده ضد انعقاد به مدت یک ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه نگهداری و پس از ته‌نشین شدن لخته، با سرعت ۳۰۰۰ دور در ثانیه به مدت ۷ دقیقه درون سانتریفیوژ یخچال‌دار برای جداسازی سرم خون قرار گرفت. در نهایت، سرم از لخته جدا، به لوله‌های جدید منتقل، و تا زمان شروع آزمایش‌های بیوشیمیایی سرم خون در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

پروتئین و گلوکز سرم خون با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شد (Borges et al. 2004). میزان ایمونوگلوبولین و هموگلوبین توسط کیت مخصوص به روش کدورت‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. برای تعیین میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روش ارائه‌شده توسط Ellis (۱۹۹۰) استفاده شد. به این منظور، از لایزوزیم سفیده تخم‌مرغ (۱ mg/L Lysozyme) به منظور ترسیم منحنی استاندارد استفاده شد. مقدار ۲۵ میکرولیتر از پلاسما به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای الایزا افزوده شد. سپس مقدار ۱۷۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococcus lysodeikticus*) در

غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر در ۰/۵ مولار بافر فسفات با pH ۶/۲ اضافه شد. با استفاده از دستگاه الایزاریدر Bio-Tek آمریکا، جذب نوری اولیه در طول‌موج ۵۳۰ nm قرائت و پس از یک ساعت نگهداری در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد اتاق، مجدداً جذب نوری اندازه‌گیری شد. هر واحد از فعالیت لایزوزیم بر اساس کاهش جذب (۰/۰۰۱ در دقیقه) تعیین شد.

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS در محیط ویندوز انجام شد. برای مقایسه آماری میانگین تیمارها از تجزیه واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) استفاده شد و بررسی اختلاف میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد.

نتایج

نتایج به‌دست آمده از تجزیه کیفیت آب در طول ۷ هفته دوره پرورش کپور معمولی در جدول ۱ ارائه شده است. مقادیر به‌دست آمده در حد استاندارد برای پرورش ماهی کپور بود. پارامترهایی مانند دما، اکسیژن محلول و pH تفاوتی بین تیمارهای مختلف آزمایشی نداشت (p>۰/۰۵). اگر چه غلظت آمونیاک بین تیمارهای آزمایشی و شاهد اختلاف معنی‌دار آماری نداشت، اما کمترین مقدار آن در تیمار MF برابر ۰/۳۶ ± ۰/۳۸ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. بیشترین مقدار غلظت نیترات در همین تیمار به ثبت رسید. مقادیر سختی کل و هدایت الکتریکی بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد اختلاف آماری داشت (p<۰/۰۵).

جدول ۱ کیفیت آب محیط پرورش کپور معمولی پرورش یافته در محیط بایوفلاک و معمولی طی ۷ هفته دوره آزمایش.

	MW	MF	شاهد
درجه حرارت (°C)	۲۴/۳۱ ± ۰/۵۰	۲۴/۱۷ ± ۰/۴۵	۲۴/۴۰ ± ۰/۵۹
اکسیژن محلول (mg/L)	۷/۲۶ ± ۰/۳۹	۷/۴۳ ± ۰/۲۹	۷/۰۵ ± ۰/۵۵
pH	۷/۷۷ ± ۰/۱۵	۷/۷۴ ± ۰/۰۵	۷/۷۲ ± ۰/۱۴
آمونیاک (mg/L)	۰/۴۳ ± ۰/۴۰	۰/۳۸ ± ۰/۳۶	۰/۴۸ ± ۰/۳۱
نیترات (mg/L)	۲/۰۳ ± ۱/۵۳	۲/۵۷ ± ۱/۴۲	۲/۲۸ ± ۱/۱۷
قلیائیت (mg/L as $CaCO_3$)	۳۲۲ ± ۶۳/۵۰	۳۲۲/۳۸ ± ۲۸/۷۲	۲۹۸/۷۵ ± ۳۳/۵۴
سختی کل (mg/L as $CaCO_3$)	۵۰۴/۵۰ ± ۴۰/۹۲[a]	۴۵۸/۷۵ ± ۱۷/۰۰[b]	۴۵۵/۶۲ ± ۱۲/۳۹[b]
هدایت الکتریکی (µm/cm)	۱۰۲۵/۲۵ ± ۷۸/۸۸[a]	۹۳۲/۸۷۵ ± ۳۴/۴۹[b]	۹۲۵/۶۲۵ ± ۸۸/۷۱[ab]

در هر ردیف حروف لاتین غیرمشترک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (p<۰/۰۵).

نتایج رشد (جدول ۲) نشان داد وزن نهایی بین تیمارهای آزمایشی و شاهد اختلاف معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵)، به طوری که بیشترین مقدار آن در تیمار MW و کمترین آن در گروه شاهد به‌دست آمد. کمترین و بیشترین مقدار ضریب تبدیل غذایی، به ترتیب در تیمار MW تحت تأثیر روش بایوفلاک و شاهد بدون فلاک به‌دست آمد. مقدار نرخ رشد ویژه اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای مختلف آزمایشی داشت (p<۰/۰۵) که بیشترین و کمترین آن، به‌ترتیب در تیمارهای MW و شاهد به ثبت رسید. نسبت کارایی پروتئین و نسبت کارایی چربی در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵).

بر اساس نتایج تجزیه آنزیم‌های گوارشی (جدول ۳) در مورد مقدار آنزیم آمیلاز ترشحی ماهی در روش بایوفلاک تفاوت معنی‌دار آماری بین تیمارهای مختلف آزمایشی مشاهده شد (p<۰/۰۵)، به طوری که بیشترین و کمترین این معیار به‌ترتیب در شاهد و MF به دست آمد. نتایج به‌دست‌آمده در باره آنزیم لیپاز نشان داد که در بین تیمارها، اختلاف معنی‌دار وجود دارد (p<۰/۰۵)، به طوری که کمینه آن در تیمار MF و بیشینه آن در گروه شاهد مشاهده شد. آنزیم پروتئاز نیز در بین تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵) به طوری که بیشترین مقدار این آنزیم در تیمار MF و کمترین آن در گروه شاهد به‌دست آمد.

جدول ۲ عملکرد رشد و تغذیه کپور معمولی پرورش یافته در تیمارهای مختلف آزمایشی طی ۷ هفته دوره آزمایش.

	MW	MF	شاهد
وزن اولیه (گرم)	۱۲ ± ۰/۴۷	۱۱/۹۵ ± ۰/۲۳	۱۲/۲۵ ± ۰/۳۴
وزن نهایی (سانتی‌گراد)	۲۶/۱۲ ± ۲/۶۰[a]	۲۴/۰۲ ± ۲/۶۱[a]	۱۸/۰۲ ± ۱/۲۷[b]
طول اولیه (گرم)	۹/۰۵ ± ۰/۱۲	۹/۲۷ ± ۰/۳۵	۸/۹۲ ± ۰/۳۰
طول نهایی (سانتی‌گراد)	۱۰/۶۲ ± ۰/۴۲	۱۱/۱۰ ± ۰/۸۵	۱۰/۹۷ ± ۰/۲۷
وزن بدست آمده (گرم)	۱۴/۱۲ ± ۲/۸۲[a]	۱۲/۰۷ ± ۲/۵۰[a]	۵/۷۷ ± ۱/۴۳[b]
ضریب چاقی	۲/۱۹ ± ۰/۳۳[a]	۱/۸۰ ± ۰/۴۳[ab]	۱/۳۶ ± ۰/۱۷[b]
ضریب تبدیل غذایی	۱/۲۲ ± ۰/۲۷[b]	۱/۴۲ ± ۰/۲۷[b]	۲/۱۳ ± ۰/۵۵[a]
نرخ رشد ویژه (درصد/روز)	۱/۵۸ ± ۰/۲۵[a]	۱/۴۱ ± ۰/۲۰[a]	۰/۷۸ ± ۰/۱۷[b]
نسبت کارآیی پروتئین	۰/۴۱ ± ۰/۰۸[a]	۰/۳۵ ± ۰/۰۷[a]	۰/۱۶ ± ۰/۰۴[b]
نسبت کارآیی چربی	۱/۵۶ ± ۰/۳۱[a]	۱/۳۴ ± ۰/۲۷[a]	۰/۶۴ ± ۰/۱۵[b]
میانگین رشد روزانه (گرم)	۲/۴۱ ± ۰/۵۲[a]	۲/۰۶ ± ۰/۴۰[a]	۰/۹۶ ± ۰/۲۵[b]

در هر ردیف حروف لاتین غیرمشترک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (p<۰/۰۵).

جدول ۳ تجزیه آنزیم‌های گوارشی ماهی کپور پرورش یافته در روش بایوفلاک و روش معمولی بدون فلاک طی ۷ هفته.

پارامتر	MW	MF	شاهد
آمیلاز (u/L)	۳/۳۶ ± ۰/۰۴[b]	۲/۴۲ ± ۰/۴۵[c]	۳/۶۳ ± ۰/۱۸[a]
لیپاز (u/L)	۰/۸۳ ± ۰/۰۲[b]	۰/۷۱ ± ۰/۰۲[c]	۰/۹۰ ± ۰/۰۱[a]
پروتئاز (u/L)	۱/۶۱ ± ۰/۰۴[a]	۱/۶۷ ± ۰/۰۲[a]	۱/۲۱ ± ۰/۰۳[b]
پروتئیناز (u/L)	۵۲/۹۸ ± ۱/۸۴[ab]	۵۰/۵۸ ± ۲/۶۵[b]	۵۶/۷۰ ± ۲/۰۵[a]

در هر ردیف حروف لاتین غیرمشترک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (p<۰/۰۵).

نتایج شاخص‌های خونی (جدول ۴) نشان داد کمترین میزان گلوکز در گروه شاهد و بیشترین میزان آن در تیمار MF به دست آمد و بین این گروه و دیگر تیمارهای آزمایشی اختلاف آماری معنی‌دار وجود داشت (p<۰/۰۵). تفاوت آماری معنی‌دار از نظر میزان پروتئین و کورتیزول بین تیمارهای آزمایشی مشاهده شد (p<۰/۰۵)، به طوری که کمترین پروتئین و کورتیزول در سرم خون تیمار MF و بیشترین آن در گروه شاهد سنجش شد. لایزوزیم در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت آماری معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). بیشترین میزان ایمونوگلوبین در تیمار MF و کمترین آن در گروه شاهد مشاهده شد (p<۰/۰۵).

جدول ۴ میانگین شاخص‌های سرم خون ماهی کپور معمولی مورد آزمایش طی ۷ هفته دوره آزمایش.

	MW	MF	شاهد
گلوکز (mg/dL)	۱۳۷/۳۲ ± ۲/۵۸[b]	۱۷۳/۶۵ ± ۴/۰۰[a]	۱۲۵/۸۶ ± ۳/۶۲[c]
پروتئین (g/dL)	۲/۱۴ ± ۰/۱۶[ab]	۲/۰۲ ± ۰/۱۱[b]	۲/۳۹ ± ۰/۱۸[a]
کورتیزول (ng/dL)	۵۱۱/۰۱ ± ۱۸/۰۹[ab]	۵۰۱/۵۰ ± ۱۱/۴۵[b]	۵۵۱/۴۰ ± ۳۰/۷۶[a]
لایزوزیم (mg/mL)	۳۶/۶۴ ± ۱/۱۷[a]	۳۲/۹۲ ± ۱/۱۴[b]	۲۹/۸۴ ± ۱/۸۵[c]
تری گلیسرید (mg/dL)	۲۳۲/۹۴ ± ۱۱/۲۲[a]	۱۹۸/۴۶ ± ۱۰/۶۲[b]	۲۲۷/۶۸ ± ۲/۰۹[a]
ایمنوگلوبین کل (mg/dL)	۱۳/۵۱ ± ۰/۱۲[b]	۱۳/۸۴ ± ۰/۱۷[a]	۱۲/۹۴ ± ۰/۱۵[c]

در هر ردیف حروف لاتین غیرمشترک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (p<۰/۰۵).

بحث

فناوری بایوفلاک در راستای تحقق اهداف مختلف آبزی‌پروری گسترش یافته است که می‌توان به استفاده بهینه از منابع آبی، کاهش آلودگی ناشی از تخلیه مواد نیتروژنی به بوم‌سازگان، افزایش و پایداری تولید آبزیان اشاره کرد (Crab et al. 2012). یکی از عوامل مهم برای پرورش آبزیان، کنترل و مدیریت کیفیت آب محیط پرورش است که بر اساس گزارش‌های منتشر شده، فناوری بایوفلاک، روش افزایش کیفیت آب از طریق تزریق کربن به تأسیسات آبزی‌پروری است (Avnimelech, 2009). در مطالعه حاضر، کیفیت آب بین تیمارهای مصرف کننده ملاس در روش بایوفلاک (MW و MF) نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که اگرچه در تیمار شاهد روزانه ۱۰٪ تعویض آب نسبت به دیگر تیمارهای آزمایشی بیشتر بود، اما کیفیت آن تغییر چندانی نداشت که حاکی از عملکرد خوب روش بایوفلاک است. در این راستا، مقایسه کیفیت آب در روش پرورش متراکم ماهی کپور معمولی به روش بایوفلاک با سطوح مختلف ملاس نیشکر برای تنظیم نسبت‌های کربن به نیتروژن ۱:۱۵، ۱:۲۰ و ۱:۲۵ به‌مدت ۹۰ روز نشان داد که میزان نیتریت و آمونیاک کل با وجود تعویض آب در گروه شاهد تقریباً اختلاف معنی‌داری با تیمارهای بایوفلاک نشان نداد (حق‌پرست رادمرد و همکاران، ۱۳۹۷). به‌کارگیری آرد گندم به‌عنوان منبع کربنی برای شکل‌گیری فلاک با نسبت کربن به نیتروژن حدود ۱۰ در روش بایوفلاک برای پرورش ماهی روهو (*Labeo rohita*)، توانست میانگین غلظت نیتروژن غیرآلی محلول را در تیمارهای بایوفلاک نسبت به گروه شاهد کاهش دهد (Mahanand et al. 2013). در روش‌های بایوفلاک، عناصر شیمیایی آب تحت تأثیر نوع منبع کربنی افزوده شده به محیط پرورشی قرار دارد (Du et al. 2018).

افزایش عملکرد رشد و تغذیه، مانند بهبود نرخ رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی آبزیان پرورش یافته در محیط بایوفلاک توسط محققان گزارش شده است. در تحقیق حاضر، بیشترین وزن نهایی و کمترین ضریب تبدیل غذایی ماهی کپور پرورش یافته، در محیط بایوفلاک (MW و MF) به‌دست آمد. در هنگام مقایسه وزن به‌دست آمده ماهی کپور معمولی پرورش یافته در روش بایوفلاک با منابع کربنی مختلف (یوکا، مورینگا، قهوه و ماکروآلگ‌ها)، بیشترین و کمترین وزن به‌ترتیب در تیمار مورینگا و قهوه به‌دست آمد (Jorge Castro et al. 2018). عظیمی و همکاران (۱۳۹۵) اثرات سطوح مختلف مکمل کربن آلی بر شکل‌گیری بایوفلاک و عملکرد رشد ماهی کپور معمولی در این روش به‌مدت ۴۲ روز بررسی کردند. نتایج آنها مشخص کرد که استفاده از نسبت کربن به نیتروژن (C/N-15) باعث افزایش وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و همچنین، نرخ عملکرد پروتئین و کاهش ضریب تبدیل غذایی شد. در مطالعه دیگر، اثرات سطوح مختلف بایوفلاک بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی کپور معمولی انگشت‌قد در روشی بدون تعویض آب آزمایش شد. در پایان ۳۰ روز آزمایش، بیشترین وزن به‌دست آمده در تیمار ۷۵٪ BFT (با ۲۵٪ غذای تجاری) در مقایسه با گروه شاهد (۱۰۰٪ غذای تجاری) به‌دست آمد (Najdegerami et al. 2016). درمحیط‌های بایوفلاک، منبع کربن به‌عنوان یک بستر برای عملکرد روش‌های بایوفلاکی و تولید سلول‌های پروتئینی میکروبی عمل می‌کند (Avnimelech, 1999). از این‌رو، در چنین محیط‌هایی افزودن منابع مختلف کربنی از جمله ملاس و گلوکز به‌عنوان یک ماده مغذی کربوهیدراته باعث تحریک رشد باکتری‌های هتروتروفیک و ازدیاد انواع ریزموجودات و شکل‌گیری میکروب‌های بایوفلاکی می‌شود (Long et al. 2015).

فلاک‌های میکروبی به‌عنوان منبع بالقوه آنزیمی در محیط بایوفلاک و محرک آنزیم‌های داخل دستگاه گوارش آبزیان شناخته شده‌اند (Najdegerami et al. 2016; Zhang et al. 2016). بر اساس نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر، به‌کارگیری ملاس در جیره غذایی و محیط آب ماهی پرورش یافته در روش بایوفلاک باعث تحریک آنزیم پروتئاز شد، در حالی که آنزیم آمیلاز و لیپاز در تیمارهای بایوفلاک کاهش معنی‌دار آماری داشت. هم‌راستا با نتایج حاضر، در مطالعه‌ای، استفاده از بایوفلاک به‌میزان ۷۵٪ در محیط پرورش کپور، باعث بهبود فعالیت پپسین و پروتئاز شد و فعالیت آمیلاز و لیپاز بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار نداشت (Najdegerami et al. 2016). بر اساس گزارش‌های منتشر شده، به‌کارگیری منابع مختلف کربنی مانند ملاس چغندرقند، شکر، نشاسته ذرت در روش بایوفلاک کپور معمولی، باعث افزایش فعالیت پروتئاز، لیپاز و آمیلاز در مقایسه با گروه شاهد شد (Bakhshi et al. 2018). ملاس نیشکر نسبت به دیگر منابع کربنی با دارا

بودن ساختار کربوهیدارتی ساده به آسانی جذب ریزموجودات در بایوفلاک می‌شود (Kuhn and Lawrence, 2012; Emerenciano et al. 2013) بنابراین، به‌نظر می‌رسد زی‌توده ریزموجودات تشکیل شده در محیط پرورش ماهی، حاوی آنزیم‌هایی است که پس از ورود به دستگاه گوارش آبزی، باعث تحریک آنزیم‌های گوارشی و افزایش قابلیت هضم غذا می‌شوند.

اندازه‌گیری شاخص‌های ایمنی ماهیان می‌تواند پاسخگوی بسیاری از ابهامات در زمینه سلامت باشد (Kazemi et al. 2012). اطلاعات کمی درباره تأثیر بایوفلاک بر ایمنی غیراختصاصی منتشر شده است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین میزان گلوکز به‌ترتیب در تیمارهای MF، MW و کمترین آن، در گروه شاهد به‌دست آمد که ممکن است علت آن، استفاده از ملاس در غذا و آب باشد. یکی از شاخص‌های مهم در اندازه‌گیری استرس، سنجش کورتیزول سرم خون است. کمترین میزان کورتیزول در تیمار بایوفلاک به‌دست آمد که نشان‌دهنده عدم وجود استرس در این محیط است. ماهی روهو پرورش یافته در روش بایوفلاک با منابع مختلف کربنی، منجر به کاهش کورتیزول در مقایسه با گروه شاهد شد (Verma et al. 2016) که هم‌راستا با تحقیق حاضر بود. در ماهی، تولید کورتیزول از بافت بین‌کلیوی، توسط فاکتور آزاد کننده کورتیکوتروپین رخ می‌دهد و در مقابل، ترشح هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک از بخش قدامی غده هیپوفیز مانع از ترشح کورتیزول می‌شود (Fryer and Lederis, 1986). هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک هورمونی است که اغلب به دنبال کاهش سطح گلوکوکورتیکوئیدها یا افزایش نیاز بدن در مواردی مانند استرس آزاد می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که افزودن ملاس به آب (MW) باعث افزایش وزن و کاهش ضریب تبدیل غذایی و همچنین، افزودن ملاس به غذا (MF) به عنوان تامین کننده منبع کربنی برای اولین‌بار در روش بایوفلاک باعث افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز و کاهش کورتیزول در این روش شد که حاکی از اثربخش بودن استفاده از منبع کربنی ملاس در روش بایوفلاک برای پرورش ماهی کپور معمولی است.

منابع

حق‌پرست رادمرد، م.م.، علیشاهی، م.، قربانپور، م.و.، شهریاری، ع. ۱۳۹۷. مقایسه کیفیت آب در روش پرورش متراکم ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به روش بایوفلاک با سطوح مختلف ملاس نیشکر. مجله دامپزشکی ایران ۱۴: ۴۰-۲۸.

عظیمی، ع.، جعفریان، ح.، هرسیج، م.، قلی‌پور، ح.، پاتیمار، ر. ۱۳۹۵. تأثیر نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن بر پارامترهای کیفی آب و عملکرد رشد بچه ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در روش بایوفلاک. نشریه توسعه آبزی پروری ۱۰: ۹۸-۷۵.

APHA. 1998. Standard Methods for the examination of water and waste water American Public Health Association. 874 pp.

Avnimelech, Y. 2009. Biofloc Technology - A Practical Guide Book. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA. 182 p.

Avnimelech, Y. 1999. Carbon nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. Aquaculture 176: 227-235.

Bakhshi, F., Najdegerami, E.H., Manaffar, R., Tukmechi, A., Farah, K.R. 2018. Use of different carbon sources for the biofloc system during the grow-out culture of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. Aquaculture 484: 259-267.

Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F. 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). Fish Physiology and Biochemistry 30: 21-25.

Cahu, C.L., Zambonino-Infante, J.L., Quazuguel, P., Le Gall, M.M. 1999. Protein hydrolysate vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. Aquaculture 171: 109-119.

Chamberlain, G., Avnimelech, Y., McIntosh, R. P., Velasco, M. 2001. Advantages of aerated microbial reuse

systems with balanced C/N. Advocate, Feed Utilization. Global Aquaculture Alliance, USA, 53-56.

Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W. 2012. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. Aquaculture 356: 351-356.

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

Du, X., Almeida, D., Song, D., Zhao, Z., Luo, L., Wang, C. A., Xu, Q. 2018. Effects of organic carbon addition on water quality and phytoplankton assemblages in biofloc technology ponds. Aquaculture 497*:* 155-163.

Ellis, A.E. 1990. Lysozyme assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Robertson, B.S., Van Muiswinkel, publication. pp. 101-103.

Emerenciano, M., Cuzon, G., Arevalo, M., Gaxiola, G. 2013. Biofloc technology in intensive broodstock farming of the pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum*: spawning performance, biochemical composition and fatty acid profile of eggs. Aquaculture Research 45: 1713-1726.

Fryer, J.L., Lederis, K. 1986. Control of corticotropin secretion in teleost fishes. American Zoologist 26: 1017-1026.

Hargreaves, J.A. 2013. Biofloc production systems for aquaculture. SRAC Publication, No. 4503, 1-11.

Iijima, N., Tanaka, S., Ota, Y. 1998. Purfication and characterization of bile salt activated lipase from the hepatopancreas of red sea bream (*Pagrus major*). Fish Physiology and Biochemistry 18: 59-69.

Jorge Castro, M., Germán Castro, M., Andrés Elías Castro, C., Itzia Laura Vega, U., Lorena Moreno, O. 2018. Weight gain comparison in *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) cultured in a biofloc system with four different carbon sources. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies 6: 11-15.

Kuhn, D., Lawrence, D., Ex-situ, A. 2012. biofloc technology. In: Avnimelech, Y, editor. Biofloc Technology-a practical guide book, 2nd ed., The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA.

Lima, E.C.R.D., Souza, R.L.D., Girao, P.J.M., Braga, Í.F.M., Correia, E.D.S. 2018. Culture of Nile tilapia in a biofloc system with different sources of carbon. Revista Ciência Agronômica 49: 458-466.

Long, L., Yang, J., Li, Y., Guan, C., Wu, F. 2015. Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 448: 135-141.

Mahanand, S.S., Moulick, S., Srinivasa Rao, P. 2013. Water quality and growth of rohu, *Labeo rohita*, in a biofloc system. Journal of Applied Aquaculture 25: 121-131.

Najdegerami, E.H., Bakhshi, F., Lakani, F.B. 2016. Effects of biofloc on growth performance, digestive enzyme activities and liver histology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings in zero-water exchange system. Fish Physiology and Biochemistry 42: 457-465.

Rungruangsak-Torrissen, K., Rustad, A., Sunde, J., Eiane, S.A., Jensen, H.B., Opstvedt, J., Nygard, E., Samuelsen, T.A., Mundheim, H., Luzzana, U. 2002. In vitro digestibility based on fish crude enzyme extract for prediction of feed quality in growth trials. Journal of the Science of Food and Agriculture 82: 644-654.

Saikia, S.K., Das, D.N. 2009. Feeding ecology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) in a rice-fish culture system of the Apatani plateau (Arunachal Pradesh, India). Aquatic Ecology 43: 559-568.

Schneider, O., Sereti, V., Eding, E.H., Verreth, J.A.J. 2005. Analysis of

nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. Aquacultural Engineering 32: 379-401.

Verma, A.K., Rani, A.B., Rathore, G., Saharan, N., Gora, A.H. 2016. Growth, non-specific immunity and disease resistance of *Labeo rohita* against *Aeromonas hydrophila* in biofloc systems using different carbon sources. Aquaculture 457: 61-67.

Worthington, C.C. 1993. Worthington Enzyme Manual. Enzymes and related Biochemicals Worthington Chemical. New Jersey. USA. 730 p.

Zhang, N., Luo, G., Tan, H., Liu, W., Hou, Z. 2016. Growth, digestive enzyme activity and welfare of tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in a biofloc-based system with poly βhydroxybutyric as a carbon source. Aquaculture 464: 710-717.

Effects of adding molasses in water and diet of common carp on growth, blood biochemical indices, digestive enzymes and water quality in a biofloc system

Mohammad Khademi Hamidi, Hossein Adineh, Mohammad Harsij, Hosna Gholipour Kanani
Department of Fisheries, Faculty of Agriculture Sciences and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Golestan, Iran

Received 22 June 2019; accepted 15 September 2019

Abstract
This study was carried out to evaluate the effects of adding molasses (in water and diet) on growth performance, digestive enzyme activities and non-specific immunity of *Cyprinus carpio* in a biofloc system. Common carp (12.06 ± 0.35 g in mean initial weight) were cultured in three treatments with triplicate for 7 weeks with daily addition of sugar beet molasses as carbon source to maintain the C/N ratio (1:15). Treatments included: 1) adding molasses to water (MW), 2) to diet (MF) in a biofloc system and 3) water without molasses (control). There were no significant differences in water quality (ammonia and nitrate) between different experimental treatments. The growth and feed performances were significantly higher in the molasses-supplemented treatments than in the control ($p<0.05$). The digestive enzymes such as amylase, lipase and protease exhibited significant differences between experimental treatments ($p<0.05$). Protease activities were significantly higher in MW and MF treatments than in the control. Plasma immunoglobulin and lysozyme levels of fish cultured were significantly higher in the biofloc system (MW and MF) than in the control, whereas plasma cortisol was significantly lower in molasses-supplemented treatments. Overall, the present findings suggested that molasses can be taken into account as a useful feed additive in *Cyprinus carpio* diet.

Keywords: Common carp, Molasses, Biofloc, Production efficiency

*Corresponding author: mohammadkhademi110@gmail.com