

Original Article



# A Comparative Evaluation of Biofloc-Based and Conventional Aquaculture Systems on Water Quality and Health Parameters of Common Carp (*Cyprinus carpio*)

Takavar Mohammadian<sup>1, 2, 7\*</sup>, Ali Valipour<sup>3</sup>, Mehrzad Mesbah<sup>1, 7</sup>, Mojtaba Alishahi<sup>1, 7</sup>, Mohammad Reza Mokhtari<sup>4</sup>, Brain Dixon<sup>5</sup>, Sepideh Samiee<sup>6</sup>

1. Department of Livestock, Poultry and Aquatic animal Health, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
2. Center for International Scientific Studies and collaboration (CISSC), of the Ministry of Science Research and Technology of Iran, Tehran, Iran.
3. Department of Mechanical Engineering, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
4. DVM Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
5. Department of Biology, University of Waterloo, Waterloo, Canada.
6. Department of Chemistry, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
7. Member of Excellence Center of Warm Water Fish Health, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

## Article history:

Received: 17 May 2026

Revised: 4 July 2026

Accepted: 16 August 2026

ePublished: 16 August 2026

**\*Corresponding author:** Takavar Mohammadian, Department of Livestock, Poultry and Aquatic animal Health, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

E-mail: [t.mohammadian@scu.ac.ir](mailto:t.mohammadian@scu.ac.ir)

## Abstract

This study was conducted to compare biofloc-based culture systems and a semi-closed recirculating system in terms of water quality and physiological health indices of common carp (*Cyprinus carpio*) at two scales: laboratory scale (250-L tanks, 90 days) and semi-industrial scale (100-m<sup>3</sup> ponds, 120 days). Three treatments were evaluated with three replicates each: (1) semi-closed recirculating system (control), (2) biofloc system without bacterial supplementation (BFT) with a C/N ratio adjusted to 15:1 using molasses, and (3) biofloc system supplemented with indigenous probiotics (*Bacillus foraminis* and *B. amyloliquefaciens*) at a dose of  $1 \times 10^7$  CFU/ml every 30 days (BFT+P). Water quality parameters including temperature, pH, dissolved oxygen (DO), total dissolved solids (TDS), total ammonia nitrogen (TAN), nitrite, and alkalinity were periodically measured. In addition, antioxidant enzyme activities—catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), reduced glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) levels were assessed as indicators of oxidative stress. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test at a significance level of  $p < 0.05$ . The results showed that in both experimental phases, biofloc systems particularly the BFT+P treatment demonstrated superior performance in controlling nitrogenous compounds, as evidenced by a faster and more stable reduction in ammonia and nitrite after their initial peak ( $p < 0.05$ ). However, TDS levels were significantly higher in the biofloc system without probiotic supplementation ( $p < 0.05$ ). Dissolved oxygen exhibited greater stability in probiotic-supplemented treatments. Although alkalinity declined over time in all systems, no significant differences were observed at the end of the culture period. Regarding biological indices, CAT and SOD activities significantly increased in both biofloc systems from day 30 onward ( $p < 0.05$ ), while MDA levels significantly decreased compared to the control system, indicating reduced oxidative stress. GSH levels did not differ significantly among treatments. The highest enzymatic activity was observed in the BFT+P treatment, although no significant difference was detected between the two biofloc treatments. Overall, the findings suggest that biofloc technology particularly when combined with indigenous probiotics can improve water quality and enhance the antioxidant defense system, thereby providing more suitable conditions for intensive culture of common carp and serving as a sustainable alternative to conventional aquaculture systems in optimized water resource management.

**Keywords:** Biofloc technology, water quality parameters, fish health indices, common carp, sustainable aquaculture.

**Please cite this article as follows:** Mohammadian T., Valipour A., Mesbah M., Alishahi M., Mokhtari M.R., Dixon B., Samiee S. A Comparative Evaluation of Biofloc-Based and Conventional Aquaculture Systems on Water Quality and Health Parameters of Common Carp (*Cyprinus carpio*). J Mar Bio, 2026; 18(2): 15–29. DOI:



Copyright © 2026 Journal of Marin Biology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cite

## مقایسه سیستم‌های پرورش بیوفلاک و سنتی از نظر کیفیت آب و شاخص‌های آنتی اکسیدانی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

تکاور محمدیان<sup>۱،۲،\*</sup>، علی ولی‌پور<sup>۳</sup>، مهرزاد مصباح<sup>۴،۱</sup>، مجتبی علیشاهی<sup>۵،۱</sup>، محمدرضا مختاری<sup>۶</sup>،  
برایان دیکسون<sup>۵</sup>، سپیده سمعی<sup>۶</sup>

۱. گروه بهداشت دام، طیور و آبزیان، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۲. مرکز مطالعات و همکاری‌های علمی بین‌المللی (CISSC)، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، تهران، ایران.
۳. گروه مهندسی مکانیک، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۴. دانش آموخته دکتری حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۵. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه واترلو، واترلو، کانادا
۶. گروه شیمی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۷. عضو قطب بهداشت و بیماری‌های ماهیان گرمابی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

### چکیده

این پژوهش با هدف مقایسه سیستم‌های پرورش مبتنی بر بیوفلاک و سیستم چرخشی نیمه‌مدار بسته از نظر کیفیت آب و شاخص‌های سلامت فیزیولوژیک ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در دو مقیاس آزمایشگاهی (مخازن ۲۵۰ لیتری، ۹۰ روز) و نیمه‌صنعتی (استخرهای ۱۰۰ مترمکعبی، ۱۲۰ روز) انجام شد. طرح آزمایشی شامل سه تیمار بود: ۱) سیستم نیمه‌بسته با گردش مجدد آب به‌عنوان تیمار شاهد (کنترل) (۲) سیستم بیوفلاک همراه با گردش مجدد آب بدون افزودن پروبیوتیک (BFT) و ۳) سیستم بیوفلاک همراه با گردش مجدد آب و مکمل‌سازی با سویه‌های بومی باکتری باسیلوس (BFT+P) (*Bacillus foraminis* و *B. amyloliquefaciens*) با دوز  $1 \times 10^7$  CFU/ml هر کدام با سه تکرار بررسی شدند. این آزمایش به‌منظور ارزیابی تأثیر این سیستم‌های پرورشی بر کیفیت آب و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی ماهیان اجرا شد. پارامترهای کیفی آب شامل دما، pH، اکسیژن محلول (DO)، کل مواد جامد محلول (TDS)، آمونیاک کل (TAN)، نیتريت و قلیائیت به‌صورت دوره‌ای اندازه‌گیری شد. همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (CAT)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون احیا شده (GSH) و میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به‌عنوان شاخص‌های استرس اکسیداتیو ارزیابی گردید. داده‌ها با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس از آزمون توکی در سطح  $p < 0.05$  تحلیل شدند. نتایج نشان داد که در هر دو فاز، سیستم‌های بیوفلاک به‌ویژه تیمار BFT+P عملکرد مطلوب‌تری در کنترل ترکیبات نیتروژنی داشتند، به‌گونه‌ای که روند کاهش آمونیاک و نیتريت پس از اوج اولیه سریع‌تر و پایدارتر بود ( $P < 0.05$ ). با این حال، مقادیر TDS در سیستم بیوفلاک فاقد پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود ( $P > 0.05$ ). اکسیژن محلول در تیمارهای دارای پروبیوتیک پایداری بیشتری نشان داد ( $P > 0.05$ ). قلیائیت در تمامی سیستم‌ها روند کاهشی داشت، اما اختلاف معنی‌داری در پایان دوره مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). از نظر شاخص‌های زیستی، فعالیت آنزیم‌های CAT و SOD در هر دو سیستم بیوفلاک از روز ۳۰ به بعد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0.05$ )، در حالی که میزان MDA در این تیمارها کاهش معنی‌داری نسبت به سیستم شاهد نشان داد که بیانگر کاهش استرس اکسیداتیو است. مقادیر GSH در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P > 0.05$ ). بیشترین فعالیت این آنزیم در تیمار BFT+P مشاهده شد، هرچند اختلاف آماری بین دو تیمار بیوفلاک معنی‌دار نبود. به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که سیستم بیوفلاک، به‌ویژه در حضور پروبیوتیک‌های بومی، می‌تواند با بهبود کیفیت آب و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، شرایط مناسب‌تری برای پرورش متراکم ماهی کپور معمولی فراهم کند و به‌عنوان جایگزینی پایدار برای سیستم‌های سنتی در مدیریت بهینه منابع آب مطرح باشد.

**واژگان کلیدی:** فناوری بیوفلاک، پارامترهای کیفیت آب، شاخص‌های سلامت ماهی، کپور معمولی، آبی‌پروری پایدار.

### تاریخچه مقاله

- تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۵/۲/۲۷  
تاریخ ویرایش مقاله: ۱۴۰۵/۴/۱۳  
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۵/۵/۲۵  
تاریخ انتشار مقاله: ۱۴۰۵/۵/۲۵

تمامی حقوق برای دانشگاه آزاد اهواز محفوظ است.

\* نویسنده مسئول: تکاور محمدیان، گروه بهداشت دام، طیور و آبزیان، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

ایمیل:

[t.mohammadian@scu.ac.ir](mailto:t.mohammadian@scu.ac.ir)

**استناد:** محمدیان، تکاور، ولی‌پور، علی، مصباح، مهرزاد، علیشاهی، مجتبی، مختاری، محمدرضا، دیکسون، برایان؛ سمعی، سپیده. مقایسه سیستم‌های پرورش بیوفلاک و سنتی از نظر کیفیت آب و شاخص‌های آنتی اکسیدانی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله زیست‌شناسی دریا، تابستان ۱۴۰۵، ۱۸(۲): ۱۵-۲۹

## مقدمه

آبزی‌پروری در دهه اخیر به سریع‌ترین بخش تولید مواد غذایی با منشأ حیوانی در جهان تبدیل شده است. بر اساس گزارش سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO)، تولید جهانی آبزیان در سال ۲۰۲۲ به بیش از ۲۲۳ میلیون تن رسید که بیش از ۱۳۰ میلیون تن آن از طریق آبزی‌پروری تأمین شد و برای نخستین بار سهم تولیدات آبزی‌پروری از صید طبیعی فراتر رفت. این روند بیانگر نقش روزافزون آبزی‌پروری در تأمین امنیت غذایی و پاسخگویی به تقاضای فزاینده جهانی برای پروتئین آبزی است (FAO، ۲۰۲۴). در این میان، ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) یکی از مهم‌ترین گونه‌های آب شیرین پرورشی جهان محسوب می‌شود و به دلیل رشد مناسب، سازگاری بالا با شرایط محیطی متنوع، تحمل تراکم‌های نسبتاً زیاد و پذیرش گسترده در بازار، جایگاه ویژه‌ای در صنعت آبزی‌پروری دارد. با وجود توسعه سیستم‌های نوین پرورش، بخش عمده تولید این گونه همچنان در استخرهای خاکی و سامانه‌های نیمه‌متراکم انجام می‌شود (Mohammadian و همکاران، ۲۰۲۲).

با افزایش شدت پرورش و محدودیت منابع آبی، بهبود بهره‌وری تولید و کاهش هزینه‌های عملیاتی به یکی از مهم‌ترین اهداف صنعت آبزی‌پروری تبدیل شده است. در این راستا، خوراک همچنان بزرگ‌ترین جزء هزینه‌های تولید را تشکیل می‌دهد و در بسیاری از سیستم‌های پرورش ماهیان آب شیرین بیش از ۵۰ تا ۷۰ درصد هزینه‌های جاری را شامل می‌شود. از این رو، راهکارهایی که بتوانند ضمن بهبود کارایی مصرف خوراک، کیفیت آب و سلامت آبزیان را نیز ارتقا دهند، مورد توجه گسترده محققان و تولیدکنندگان قرار گرفته‌اند (FAO، ۲۰۲۴).

یکی از فناوری‌های نوظهور و پایدار در این زمینه، فناوری بیوفلاک (Biofloc Technology; BFT) است. این فناوری بر پایه مدیریت نسبت کربن به نیتروژن (C/N) و تحریک رشد میکروارگانیسم‌های هتروتروف بنا شده است. در سیستم‌های بیوفلاک، ترکیبات نیتروژنی حاصل از متابولیسم ماهیان و غذای مصرف‌نشده توسط اجتماعات میکروبی جذب و به زیست‌توده میکروبی تبدیل می‌شوند (Khanjani و همکاران، ۲۰۲۴). این فرآیند علاوه بر کاهش غلظت آمونیاک و نیتريت، سبب تولید پروتئین میکروبی و سایر ترکیبات زیست‌فعال شده و در نتیجه کیفیت آب، کارایی خوراک و عملکرد رشد را بهبود می‌بخشد. مطالعات مروری اخیر نشان داده‌اند که فناوری بیوفلاک می‌تواند مصرف آب را به میزان قابل توجهی کاهش داده، پایداری زیست‌محیطی سیستم‌های پرورش را افزایش دهد و وابستگی به منابع پروتئینی گران‌قیمت خوراک را کاهش دهد (Li و همکاران، ۲۰۲۵). علاوه بر مزایای مرتبط با کیفیت آب، گزارش شده است که بیوفلاک از طریق تولید ترکیبات زیست‌فعال، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها و محرک‌های ایمنی، می‌تواند موجب بهبود پاسخ‌های ایمنی، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و مقاومت آبزیان در برابر عوامل بیماری‌زا شود. در سال‌های اخیر، استفاده همزمان از فناوری بیوفلاک و پروبیوتیک‌ها به عنوان یک راهبرد مکمل مورد توجه قرار گرفته است. پروبیوتیک‌های جنس *Bacillus* به دلیل توانایی تولید آنزیم‌های خارج‌سلولی، رقابت با باکتری‌های بیماری‌زا، بهبود هضم مواد غذایی و تحریک سیستم ایمنی، از پرکاربردترین میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در سیستم‌های بیوفلاک به شمار می‌روند. مطالعات اخیر بر روی کپور معمولی و سایر گونه‌های آبزی نشان داده‌اند که تلفیق بیوفلاک و پروبیوتیک می‌تواند اثرات هم‌افزایی قابل توجهی بر رشد، شاخص‌های خونی، پاسخ‌های ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها داشته باشد (Ghanei-Motlagh و همکاران، ۲۰۲۱). با وجود پیشرفت‌های اخیر، بیشتر مطالعات انجام‌شده بر بررسی اثرات مستقل فناوری بیوفلاک یا پروبیوتیک‌ها متمرکز بوده‌اند و اطلاعات محدودی درباره مقایسه مستقیم سیستم‌های بیوفلاک مکمل شده با پروبیوتیک‌های درون‌زاد با سامانه‌های چرخشی متداول در ماهی کپور معمولی وجود دارد. همچنین، ارزیابی همزمان کیفیت آب، شاخص‌های رشد و وضعیت آنتی‌اکسیدانی در چنین سیستم‌هایی هنوز به‌طور کامل مورد بررسی قرار نگرفته است. این کمبود اطلاعات، به‌ویژه در شرایط پرورش آب شیرین و برای سویه‌های بومی پروبیوتیکی، ضرورت انجام مطالعات جامع‌تر را آشکار می‌سازد.

بنابراین، پژوهش حاضر با هدف مقایسه سه سیستم مختلف پرورش شامل: (۱) سیستم نیمه‌بسته با گردش مجدد آب (Control)، (۲) سیستم بیوفلاک بدون مکمل پروبیوتیکی (BFT)، و (۳) سیستم بیوفلاک مکمل شده با سویه‌های درون‌زاد *Bacillus spp.* جداشده از ماهی کپور معمولی (BFT+P)، طراحی و اجرا شد. در این مطالعه، اثر این سیستم‌ها بر پارامترهای کیفیت آب، شاخص‌های رشد و وضعیت آنتی‌اکسیدانی ماهی کپور معمولی مورد ارزیابی قرار گرفت. فرضیه اصلی پژوهش آن بود که فناوری بیوفلاک در مقایسه با سیستم متداول، موجب بهبود کیفیت آب و عملکرد رشد خواهد شد و افزودن پروبیوتیک‌های درون‌زاد می‌تواند این اثرات سودمند را به‌طور معنی‌داری تقویت نماید.

## مواد و روش‌ها

### طراحی سیستم‌های پرورشی

این پژوهش در دو فاز مجزا انجام شد:

فاز اول اول (مقیاس آزمایشگاهی): مخازن ۲۵۰ لیتری مجهز به هواده. تراکم ذخیره‌سازی معادل ۱۰/۲۵ کیلوگرم بر متر مکعب (۳۰ قطعه ماهی با میانگین وزنی ۴۵/۲ گرم). طول مدت آزمایش در فاز اول ۹۰ روز بود.

فاز دوم (مقیاس نیمه‌صنعتی): استخرهای ژئوممبران ۱۰۰ متر مکعبی. تراکم ذخیره‌سازی ۱۰۰۰ قطعه در هر استخر با میانگین وزنی ۱۵۰/۶ گرم. طول مدت آزمایش در فاز دوم مطابق دوره پرورش صنعتی ماهی، ۱۲۰ روز بود. سه تیمار اصلی در هر فاز به صورت سه تکرار در نظر گرفته شد:

گروه شاهد یا کنترل: سیستم چرخشی نیمه‌مدار بسته با تعویض روزانه آب (۱۵ و ۱۰ درصد به ترتیب در فاز اول و دوم).

BFT: سیستم بیوفلاک بدون افزودن باکتری، با تامین کربن از طریق ملاس نیشکر (تنظیم نسبت C/N معادل ۱:۱۵).

BFT+Prbiotic: سیستم بیوفلاک حاوی پروبیوتیک‌های بومی شامل *Bacillus foraminis* و *amyloliquefaciens* (جدایه‌شده از روده کپور معمولی واجد ویژگی کوروم کوئنچینگ). پروبیوتیک به میزان  $10^9 \times 1 \text{ CFU/ml}$  هر ۳۰ روز یک بار به آب اضافه شد (Zhou et al., 2010).

در سیستم‌های بیوفلاک، برای راه‌اندازی اولیه، آب خروجی استخرهای پرورش کپور به عنوان منبع باکتری‌های هتروتروف اضافه گردید و به مدت دو هفته تعویض آب انجام نشد تا تشکیل توده‌های فلاک آغاز گردد.

### پایش پارامترها

کیفیت آب: دمای آب، pH، اکسیژن محلول (DO) و کل مواد جامد محلول (TDS) به صورت روزانه با دستگاه مالتی متر (WTW Multi 3630 IDS) اندازه‌گیری شدند. آمونیاک کل (TAN) و نیتريت در ۳۰ روز اول هر سه روز یک بار و سپس هر شش روز یک بار با استفاده از کیت فتومتر (Hach DR 2800) سنجش شدند. حجم توده‌های بیوفلاک با استفاده از قیف ایمهاف اندازه‌گیری شد.

### روش اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی سرم خون ماهی

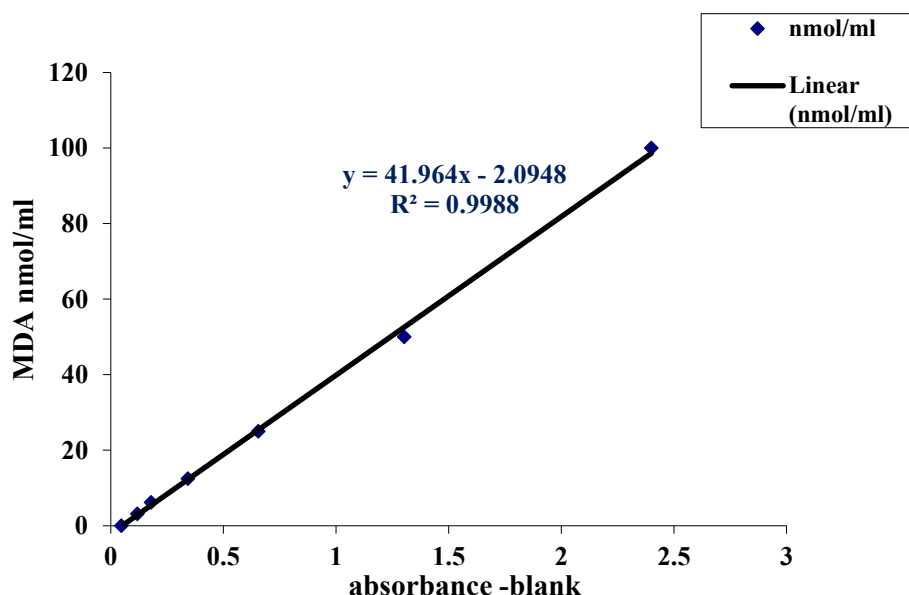
به منظور بررسی سطوح استرس اکسیداتیو در ماهیان تیمار شده با سیستم‌های مختلف پرورش، در روزهای صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ (فاز اول) و ۱۲۰ (فاز دوم) به طور تصادفی، تعداد ۴ قطعه ماهی از هر تیمار ۳ تکرار (مجموعاً ۱۲ قطعه) (Costa et al., 2012) انتخاب شدند. این ماهیان با حوله یا فیلتر کاغذی خشک و سپس توزین و آسان‌کشی شدند و در نهایت ماهیان تشریح نمونه‌برداری شد. این نمونه‌ها با سرم فیزیولوژی (NaCl ۰/۹٪) و سریعاً درون میکروتیوپ‌های برچسب‌گذاری شده کنار یخ به آزمایشگاه بخش آبیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران منتقل و تا زمان آزمون‌های سنجشی در فریزر -۸۰ نگهداری شدند.

### اندازه‌گیری کاتالاز (CAT)

اندازه‌گیری میزان فعالیت کاتالاز در نمونه‌های هموژن شده و سرم خون ماهی به روش Koroluk و همکاران (۱۹۸۸) انجام گرفت. اساس این آزمون بر میزان کاهش پراکسید هیدروژن در واحد زمان در اثر فعالیت آنزیم کاتالاز موجود در نمونه استوار است. مولیبدات آمونیوم با پراکسید هیدروژن مجموعه‌ای زرد رنگی تشکیل می‌دهد که در ۴۱۰ نانومتر حداکثر جذب نوری را دارد. آنزیم کاتالاز با تجزیه‌ی پراکسید هیدروژن از این واکنش جلوگیری می‌کند. یک واحد بین‌المللی مقدار آنزیمی است که در مدت یک دقیقه یک میکرومول پراکسید هیدروژن را تجزیه نماید. جهت اندازه‌گیری مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز، بافر تریس-HCl (۰/۰۵ میلی‌مول در لیتر، pH: ۷/۸) حاوی پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی‌مول در لیتر ساخته شد و با نمونه مخلوط گردید و پس از ۱۰ دقیقه، مولیبدات آمونیوم ۴٪ اضافه شد. در نهایت جذب نوری نمونه‌ها و کنترل در مقابل بافر تریس-HCl در طول موج ۴۱۰ نانومتر به وسیله‌ی اسپکتروفوتومتر (بیوتک، آمریکا)، میکروپلیت قرائت شد فعالیت آنزیم بر حسب IU در میلی گرم پروتئین گزارش شد.

## روش اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید (MDA)

جهت اندازه‌گیری MDA از روش **Uchiyama** و **Mihara** (۱۹۷۸) استفاده شد. بدین منظور ۲۵ میکرولیتر از نمونه‌ی هموژنیزه شده و سرم با ۲۵۰ میکرولیتر تری‌کلرواستیک اسید ۲۰ درصد و ۱۰۰ میکرولیتر تیوباریتوریک اسید ۰/۶ درصد مخلوط گردیده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش حرارت داده شد. سپس نمونه‌ها سرد شده و با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه به منظور حذف ناخالصی‌ها و شفاف شدن مایع رویی سانتریفوژ شدند. از هر نمونه مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از مایع رویی به پلیت ۹۶ خانه انتقال یافته و جذب نمونه‌ها در مقابل بلانک (۲۰۰ میکرولیتر آب به جای نمونه در زمان اندازه‌گیری) در طول موج ۵۳۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (بیوتک، امریکا) قرائت گردید. به منظور محاسبه‌ی میزان MDA تولید شده از منحنی استاندارد غلظت-های مختلف تتراآتوکسی پروپان (شکل ۱) استفاده شد. بدین ترتیب ابتدا یک محلول یک میلی‌مولار تتراآتوکسی پروپان تهیه شد و با ۵۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۱ درصد مخلوط و به مدت یک ساعت انکوبه گردید. سپس براساس غلظت استوک رقت‌های ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۰/۶۳ / نانومول بر میلی‌لیتر تتراآتوکسی پروپان تهیه و مشابه نمونه‌ها مراحل آماده‌سازی بر روی آن‌ها انجام شد. سپس جذب نمونه‌های استاندارد در طول موج ۵۳۵ نانومتر قرائت شد و از قرار دادن مقادیر جذب در مقابل غلظت استاندارد MDA، نمودار استاندارد و فرمول خط به دست آمد. در نهایت غلظت نمونه‌ها با استفاده از شیب نمودار استاندارد و همچنین مقدار MDA بر اساس نانومول / میلی گرم پروتئین نمونه محاسبه گردید.



شکل ۱. نمودار استاندارد اندازه‌گیری غلظت MDA

## سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در سرم و بافت کبد

فعالیت سوپراکسید دیسموتاز توسط کیت تجاری سوپراکسید دیسموتاز (RANSOD kit, Randox Com, UK) بررسی شد. در این روش، گزانتین و گزانتین اکسیداز منجر به تولید رادیکال‌های آزاد سوپراکسید شده و این رادیکال‌ها مسئول واکنش با INT و ایجاد رنگ قرمز فرمازان می‌باشند. حضور سوپراکسید دیسموتاز در نمونه‌ها سبب مهار این واکنش می‌شود و فعالیت آنزیم براساس درجه مهار این واکنش سنجیده می‌شود. یک واحد فعالیت آنزیم براساس ۵۰ درصد مهار احیا INT سنجیده می‌شود.

## آنالیز آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ و با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن آزمون تعقیبی توکی (Tukey's HSD) تجزیه و تحلیل شدند. معنی‌داری تفاوت‌ها در سطح  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد. علاوه بر این، برای مدل‌سازی اولیه داده‌ها جهت استفاده در هوش مصنوعی، از کتابخانه Scikit-learn در پایتون برای اجرای الگوریتم جنگل تصادفی (Random Forest) استفاده گردید.

## نتایج

میانگین درجه حرارت طی دوره پژوهش در تیمارهای چرخشی (نیمه مدار بسته)، بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) و بایوفلاک-چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد) به ترتیب بین  $25/19-27/55$ ،  $23/89-27/65$  و  $24/23-26/60$  درجه سانتی‌گراد و میانگین pH به ترتیب بین  $7/34-8/16$ ،  $7/51-8/12$  و  $7/39-8/1$  بود. میانگین مواد جامد محلول طی دوره پژوهش در تیمارهای چرخشی (نیمه مدار بسته)، بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) و بایوفلاک-چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد) به ترتیب بین  $80/4-102/9$ ،  $80/6-98/7$  و  $80/4-102/9$  میلی گرم در لیتر بود. در کل دوره پژوهش مقادیر مواد جامد محلول در سیستم بایوفلاک-چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر سیستم‌ها بود ( $p < 0.05$ ). از هفته نهم به بعد، مواد جامد محلول در سیستم بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سیستم چرخشی (نیمه مدار بسته) بود ( $p < 0.05$ ).

**جدول ۱. تغییرات آمونیاک (میلی گرم در لیتر) طی فاز اول پژوهش. مقادیر براساس میانگین، میله‌ها نشانه خطای معیار و حروف متفاوت نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در زمان موردنظر است ( $p < 0.05$ )**

| سیستم                                          | روز ۰                 | روز ۳۰                | روز ۶۰                 | روز ۹۰                |
|------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| چرخشی (نیمه مدار بسته)                         | $1/52 \pm 0/27^{a,A}$ | $5/80 \pm 0/17^{a,A}$ | $3/19 \pm 0/32^{a,AB}$ | $3/47 \pm 0/67^{b,A}$ |
| بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) | $1/22 \pm 0/33^{b,A}$ | $4/76 \pm 1/07^{a,A}$ | $4/67 \pm 1/03^{a,A}$  | $3/21 \pm 1/03^{a,A}$ |
| بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد)     | $1/37 \pm 0/50^{c,A}$ | $4/55 \pm 1/37^{a,A}$ | $2/45 \pm 0/70^{b,B}$  | $4/74 \pm 0/70^{a,A}$ |

\* حروف کوچک غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $0.05$  در هر سطر می‌باشد. حروف بزرگ غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $0.05$  در هر ستون می‌باشد.

نتایج مربوط به تغییرات آمونیاک طی فاز اول پژوهش نشان داد که مقادیر آمونیاک در تمامی تیمارها در طول دوره آزمایش دچار تغییرات معنی‌داری شد ( $p < 0.05$ ). در سیستم چرخشی (نیمه مدار بسته)، غلظت آمونیاک از  $1/52 \pm 0/27$  میلی گرم در لیتر در روز صفر به  $5/80 \pm 0/17$  میلی گرم در لیتر در روز ۳۰ افزایش یافت که این مقدار بیش‌ترین میزان ثبت‌شده در این تیمار بود. پس از آن، غلظت آمونیاک در روزهای ۶۰ و ۹۰ به ترتیب به  $3/19 \pm 0/32$  و  $3/47 \pm 0/67$  میلی گرم در لیتر کاهش یافت (جدول ۱).

در تیمار بایوفلاک-چرخشی همراه با باسیلوس‌های درون‌زاد، مقدار آمونیاک از  $1/22 \pm 0/33$  میلی گرم در لیتر در روز صفر به  $4/76 \pm 1/07$  میلی گرم در لیتر در روز ۳۰ افزایش یافت. مقادیر آمونیاک در روزهای ۶۰ و ۹۰ به ترتیب  $4/67 \pm 1/03$  و  $3/21 \pm 1/03$  میلی گرم در لیتر ثبت شد. در این تیمار، اختلاف معنی‌داری بین روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ مشاهده نشد.

در سیستم بایوفلاک چرخشی فاقد باسیلوس‌های درون‌زاد نیز غلظت آمونیاک از  $1/37 \pm 0/50$  میلی گرم در لیتر در روز صفر به  $4/55 \pm 1/37$  میلی گرم در لیتر در روز ۳۰ افزایش یافت، اما در روز ۶۰ به  $2/45 \pm 0/70$  میلی گرم در لیتر کاهش پیدا کرد. در ادامه، در روز ۹۰ مجدداً افزایش یافته و به  $4/74 \pm 0/70$  میلی گرم در لیتر رسید. کم‌ترین مقدار آمونیاک در بین تمامی تیمارها در روز ۶۰ مربوط به این سیستم بود (جدول ۱).

مقایسه بین تیمارها نشان داد که در روز صفر و روز ۳۰ اختلاف معنی‌داری بین سیستم‌ها مشاهده نشد ( $p < 0.05$ ). با این حال، در روز ۶۰ میزان آمونیاک در سیستم بایوفلاک چرخشی فاقد باسیلوس‌های درون‌زاد به‌طور معنی‌داری کمتر از سیستم چرخشی (نیمه‌مدار بسته) بود. در روز ۹۰ اگرچه مقادیر آمونیاک در تیمار بایوفلاک چرخشی فاقد باسیلوس‌های درون‌زاد بیش‌تر از سایر تیمارها بود، اما اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد (جدول ۱).

## جدول ۲. تغییرات نیتريت طی فاز اول پژوهش. مقادير براساس میانگین، حروف متفاوت نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در زمان موردنظر است ( $p < 0.05$ )

| سیستم                                          | روز ۰                 | روز ۳۰                | روز ۶۰                | روز ۹۰                |
|------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| چرخشی (نیمه مدار بسته)                         | $0.50 \pm 0.12^{b,A}$ | $1.22 \pm 0.3^{a,A}$  | $1.13 \pm 0.22^{a,A}$ | $1.1 \pm 0.08^{a,A}$  |
| بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون‌زاد) | $0.52 \pm 0.08^{b,A}$ | $0.83 \pm 0.1^{ab,B}$ | $1.51 \pm 0.10^{a,A}$ | $1.3 \pm 0.07^{a,A}$  |
| بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون‌زاد)     | $0.55 \pm 0.06^{b,A}$ | $1.34 \pm 0.08^{b,A}$ | $1.11 \pm 0.12^{a,A}$ | $1.08 \pm 0.16^{a,A}$ |

\* حروف کوچک غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر سطر می‌باشد. حروف بزرگ غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر ستون می‌باشد.

مقادیر نیتريت در سیستم‌های چرخشی (نیمه مدار بسته)، بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون‌زاد) و بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون‌زاد)، به‌ترتیب در روزهای ۳۰ ( $1/2$  میلی گرم در لیتر)، ۶۰ ( $1/5$  میلی گرم در لیتر) و ۳۰ ( $1/6$  میلی گرم در لیتر) به اوج رسید و بعد از آن روند کاهشی داشت. شیب کاهش نیتريت نیز همانند آمونیاک، در سیستم چرخشی تندتر از سایر سیستم‌ها بود. به‌طوری‌که سیستم بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون‌زاد)، در روز ۳۱ به وضعیت یکنواخت رسید (جدول ۲).

## جدول ۳. تغییرات مواد جامد محلول طی فاز اول پژوهش. مقادير براساس میانگین، حروف متفاوت نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در زمان موردنظر است ( $p < 0.05$ )

| سیستم                                          | روز ۰                 | روز ۳۰                 | روز ۶۰                 | روز ۹۰                 |
|------------------------------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| چرخشی (نیمه مدار بسته)                         | $8.07 \pm 2.01^{b,A}$ | $9.80 \pm 1.69^{ab,B}$ | $11.17 \pm 3.16^{a,B}$ | $10.39 \pm 2.01^{a,B}$ |
| بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون‌زاد) | $8.58 \pm 1.43^{c,A}$ | $10.54 \pm 3.21^{b,B}$ | $13.27 \pm 3.88^{a,A}$ | $10.28 \pm 2.04^{b,B}$ |
| بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون‌زاد)     | $9.21 \pm 1.63^{b,A}$ | $11.23 \pm 2.65^{a,A}$ | $11.62 \pm 3.52^{a,B}$ | $12.17 \pm 2.61^{a,A}$ |

\* حروف کوچک غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر سطر می‌باشد. حروف بزرگ غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر ستون می‌باشد.

میانگین اکسیژن محلول طی دوره پژوهش در تیمارهای چرخشی (نیمه مدار بسته)، بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون‌زاد) و بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون‌زاد) به ترتیب بین  $6/54-7/32$ ،  $6/74-7/37$  و  $6/03-6/77$  میلی گرم در لیتر بود. (جدول ۴).

## جدول ۴. تغییرات اکسیژن محلول طی فاز اول پژوهش. مقادير براساس میانگین و حروف متفاوت نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در زمان موردنظر است ( $p < 0.05$ )

| سیستم                                          | روز ۰                | روز ۳۰               | روز ۶۰              | روز ۹۰               |
|------------------------------------------------|----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
| چرخشی (نیمه مدار بسته)                         | $6/72 \pm 2/1^{a,A}$ | $5/82 \pm 2/1^{a,A}$ | $5/3 \pm 2/1^{a,A}$ | $5/72 \pm 2/1^{a,A}$ |
| بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون‌زاد) | $6/43 \pm 1/1^{a,A}$ | $6/3 \pm 1/1^{a,A}$  | $5/5 \pm 1/1^{a,A}$ | $5/5 \pm 1/1^{a,A}$  |
| بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون‌زاد)     | $6/82 \pm 2/1^{a,A}$ | $4/8 \pm 1/8^{b,B}$  | $4/2 \pm 2/2^{b,B}$ | $5/2 \pm 1/6^{a,A}$  |

\* حروف کوچک غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر سطر می‌باشد. حروف بزرگ غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر ستون می‌باشد.

در روز ۶۰ پژوهش، مقادیر اکسیژن محلول در سیستم بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد) به طور معنی‌داری کمتر از سیستم بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) بود ( $P < 0.05$ ). طی ۸ هفته نخست، به استثنای هفته ششم و هشتم، بین سیستم‌های چرخشی و بایوفلاک اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. میانگین قلیائیت طی دوره پژوهش در تیمارهای چرخشی (نیمه مدار بسته)، بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) و بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد) به ترتیب بین  $255/04-276/13$ ،  $253/28-279/52$  و  $283/53-260/63$  میلی‌گرم در لیتر بود. (جدول ۵). در همه سیستم‌ها، مقادیر قلیائیت روند کاهشی داشت. مقادیر آن طی دو ماه اول، در سیستم بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد) اکثراً بیش‌تر از سایر سیستم‌ها بود. اما از روز ۸۳ به بعد، اختلاف معنی‌داری بین سیستم‌ها مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

#### جدول ۵. تغییرات قلیائیت طی فاز اول پژوهش

| سیستم                                          | روز ۰                 | روز ۳۰                 | روز ۶۰                | روز ۹۰                 |
|------------------------------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|
| چرخشی (نیمه مدار بسته)                         | $290/6 \pm 7/2^{a,A}$ | $284/31 \pm 8/2^{a,A}$ | $275/1 \pm 3/2^{a,A}$ | $277/31 \pm 7/2^{a,A}$ |
| بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) | $288/7 \pm 4/1^{a,A}$ | $267/31 \pm 3/1^{a,A}$ | $274/1 \pm 7/1^{a,A}$ | $267/16 \pm 4/1^{a,A}$ |
| بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد)     | $301/5 \pm 8/2^{a,A}$ | $295/11 \pm 8/8^{a,A}$ | $286/1 \pm 8/2^{a,A}$ | $279/12 \pm 8/6^{a,A}$ |

\* حروف کوچک غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $0/05$  در هر سطر می‌باشد. حروف بزرگ غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $0/05$  در هر ستون می‌باشد.

#### شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و زیست‌نشانگرهای استرس اکسیداتیو

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو شامل کاتالاز (CAT)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلووتاتیون احیا شده (GSH) و مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به طور معنی‌داری تحت تأثیر سیستم پرورشی و زمان نمونه‌برداری قرار گرفتند ( $p < 0/05$ ) (جدول ۶).

#### فعالیت کاتالاز (CAT)

در روز صفر، اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنزیم CAT بین تیمارها مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ). در سیستم نیمه‌مدار بسته گردشی، فعالیت CAT طی دوره آزمایش نسبتاً ثابت باقی ماند و تنها نوسانات جزئی مشاهده شد. در مقابل، هر دو سیستم بیوفلاک گردشی از روز ۳۰ به بعد افزایش معنی‌داری در فعالیت CAT نشان دادند ( $p < 0/05$ ). بیشترین میزان فعالیت CAT در هر دو تیمار بیوفلاک در روز ۳۰ مشاهده شد و این سطوح بالا تا روز ۹۰ حفظ گردید. در زمان‌های نمونه‌برداری متناظر، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای BFT و BFT+P مشاهده نشد (جدول ۶).

#### فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

فعالیت آنزیم SOD در روز صفر بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت ( $p > 0/05$ ). در سیستم گردشی، فعالیت SOD به تدریج در طول زمان افزایش یافت، اما در روزهای ۶۰ و ۹۰ همچنان به طور معنی‌داری کمتر از سیستم‌های بیوفلاک بود ( $p < 0/05$ ). هر دو تیمار بیوفلاک افزایش چشمگیر و وابسته به زمان در فعالیت SOD نشان دادند، به طوری که در روزهای ۶۰ و ۹۰ مقادیر ثبت شده به طور معنی‌داری بالاتر از سیستم گردشی بود. بیشترین فعالیت SOD در روز ۹۰ در تیمار BFT+P مشاهده شد، اگرچه اختلاف بین دو تیمار بیوفلاک از نظر آماری معنی‌دار نبود.

#### سطوح گلووتاتیون احیا شده (GSH)

سطوح GSH بین تیمارها و همچنین در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری اختلاف معنی‌داری نشان نداد ( $p > 0/05$ ). در تمامی سیستم‌های پرورشی، میزان GSH از روز صفر تا روز ۹۰ نسبتاً ثابت باقی ماند که نشان دهنده عدم وجود تغییرات قابل توجه زمانی یا ناشی از تیمار در سطح گلووتاتیون داخل سلولی بود.

## محتوای مالون دی‌آلدئید (MDA)

مقادیر MDA در روز صفر بین تمامی تیمارها مشابه بود ( $p > 0.05$ ). در سیستم گردشی، میزان MDA در طول دوره آزمایش تقریباً بدون تغییر باقی ماند. در مقابل، هر دو سیستم بیوفلاک گردشی از روز ۳۰ به بعد کاهش معنی‌داری در میزان MDA نسبت به سیستم گردشی نشان دادند ( $p < 0.05$ ). کمترین مقادیر MDA در روز ۹۰ تیمار BFT+P مشاهده شد و پس از آن تیمار BFT+P قرار داشت (جدول ۶).

## جدول ۶. پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی در فاز اول مطالعه

| پارامتر    | تیمارها                                        | روز ۰                    | روز ۳۰                   | روز ۶۰                   | روز ۹۰                   |
|------------|------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| CAT (U/mg) | چرخشی (نیمه مدار بسته)                         | ۱/۷۱±۰/۷۷ <sup>Aa</sup>  | ۱/۵۲±۰/۳۹ <sup>Bb</sup>  | ۱/۶۵±۰/۵۱ <sup>Bc</sup>  | ۱/۸۵±۰/۵۱ <sup>Bc</sup>  |
|            | بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) | ۱/۶۳±۰/۵۲ <sup>Ab</sup>  | ۶/۱۱±۱/۳۶ <sup>Aa</sup>  | ۴/۱۱±۰/۳۲ <sup>Aa</sup>  | ۵/۵۱±۰/۳۲ <sup>Aa</sup>  |
|            | بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد)     | ۱/۲۴±۰/۳ <sup>Ab</sup>   | ۵/۷±۰/۲۵ <sup>Aa</sup>   | ۴/۸۷±۰/۰۷ <sup>Aa</sup>  | ۵/۲۷±۰/۰۷ <sup>Aa</sup>  |
| SOD (U/mg) | چرخشی (نیمه مدار بسته)                         | ۴/۶۱±۰/۳۱ <sup>Aa</sup>  | ۴/۴۷±۰/۸۳ <sup>Ab</sup>  | ۵/۸۷±۰/۴ <sup>Bb</sup>   | ۶/۸۷±۰/۴ <sup>Bb</sup>   |
|            | بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) | ۴/۶±۰/۸ <sup>Ab</sup>    | ۶/۱۶±۰/۳۶ <sup>ABb</sup> | ۱۱/۱۳±۱/۲۹ <sup>Aa</sup> | ۱۵/۱۳±۱/۲۹ <sup>Aa</sup> |
|            | بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد)     | ۴/۷۹±۱/۳۳ <sup>Ab</sup>  | ۹/۷±۱/۲۳ <sup>Aa</sup>   | ۱۲/۷۸±۱/۰۵ <sup>Aa</sup> | ۱۴/۷۸±۱/۰۵ <sup>Aa</sup> |
| GSH (U/mg) | چرخشی (نیمه مدار بسته)                         | ۰/۱۵±۰/۰۵ <sup>Aa</sup>  | ۰/۱۱±۰/۰۳ <sup>Aa</sup>  | ۰/۱۲±۰/۰۵ <sup>Aa</sup>  | ۰/۱۴±۰/۰۵ <sup>Aa</sup>  |
|            | بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) | ۰/۱۶±۰/۰۶ <sup>Aa</sup>  | ۰/۱۸±۰/۰۸ <sup>Aa</sup>  | ۰/۱۷±۰/۰۷ <sup>Aa</sup>  | ۰/۲۱±۰/۰۷ <sup>Aa</sup>  |
|            | بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد)     | ۰/۱۳±۰/۰۵ <sup>Aa</sup>  | ۰/۱۶±۰/۰۷ <sup>Aa</sup>  | ۰/۱۶±۰/۰۴ <sup>Aa</sup>  | ۰/۱۵±۰/۰۴ <sup>Aa</sup>  |
| MDA (U/mg) | چرخشی (نیمه مدار بسته)                         | ۲۶/۸۹±۴/۱۷ <sup>Aa</sup> | ۲۳/۴۴±۲/۷ <sup>Aa</sup>  | ۲۵/۱۱±۱/۶ <sup>Aa</sup>  | ۲۵/۲۳±۱/۶ <sup>Aa</sup>  |
|            | بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) | ۲۳/۷۷±۳/۵۶ <sup>Aa</sup> | ۱۷/۹۹±۴/۰۶ <sup>Bb</sup> | ۱۵/۱۳±۵/۷۵ <sup>Bb</sup> | ۱۴/۱۳±۵/۷۵ <sup>Bb</sup> |
|            | بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد)     | ۲۲/۱۸±۲/۰۲ <sup>Aa</sup> | ۱۶/۳۷±۱/۲۳ <sup>Bb</sup> | ۱۷/۴۶±۳/۵۱ <sup>Bb</sup> | ۱۲/۴۶±۳/۵۱ <sup>Bb</sup> |

\* حروف کوچک غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر سطر می‌باشد. حروف بزرگ غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر ستون می‌باشد.

## فاز دوم آزمایش در استخرهای ۱۰۰ متر چرخشی

نتایج نشان داد که سیستم‌های چرخشی، بایوفلاک-چرخشی و بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد) از نظر آمونیاک به ترتیب در روزهای ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ به وضعیت متفاوتی رسیدند. میانگین مقادیر آمونیاک در سیستم چرخشی به‌طور معنی‌داری کمتر و در سیستم بایوفلاک بیش‌تر از سایر سیستم‌ها بود. میانگین درجه حرارت طی دوره پژوهش در تیمارهای چرخشی (نیمه مدار بسته)، بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس-های درون زاد) و بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد) تحت تاثیر تغییرات محیطی بود. شروع آزمایش از ۲۰ فرودین با میانگین درجه حرارت ۱۹ درجه بود و پایان آزمایش با میانگین ۲۸/۵ درجه سانتی گراد بود. همانند نتایج حاصل از نتایج مرحله اول، در کل دوره پژوهش مقادیر مواد جامد محلول در سیستم بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر سیستم‌ها بود ( $P < 0.05$ ). از هفته چهارم به بعد، مواد جامد محلول در سیستم بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سیستم چرخشی (نیمه مدار بسته) بود ( $P < 0.05$ ) (جدول ۷).

### جدول ۷. تغییرات مواد جامد محلول طی فاز دوم پژوهش

| سیستم                                          | روز ۰                  | روز ۳۰                  | روز ۶۰                   | روز ۹۰                   | روز ۱۲۰                 |
|------------------------------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| چرخشی (نیمه مدار بسته)                         | ۸۳۷±۲۰۱ <sup>b,A</sup> | ۹۹۵±۱۶۹ <sup>ab,B</sup> | ۱۱۱۷±۳۱۶ <sup>a,B</sup>  | ۱۰۳۹±۲۰۱ <sup>ab,B</sup> | ۱۲۳۹±۲۰۱ <sup>a,B</sup> |
| بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) | ۸۵۸±۱۴۳ <sup>c,A</sup> | ۱۱۵۴±۳۲۱ <sup>b,A</sup> | ۱۴۱۹±۳۸۵ <sup>a,A</sup>  | ۱۰۲۸±۲۰۴ <sup>bc,B</sup> | ۱۴۲۸±۲۰۴ <sup>a,A</sup> |
| بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد)     | ۹۰۱±۱۶۳ <sup>b,A</sup> | ۱۰۲۳±۲۶۵ <sup>b,B</sup> | ۱۲۶۲±۳۵۲ <sup>a,AB</sup> | ۱۲۱۷±۲۶۱ <sup>a,A</sup>  | ۱۲۱۷±۲۶۱ <sup>a,B</sup> |

\* حروف کوچک غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر سطر می‌باشد. حروف بزرگ غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر ستون می‌باشد.

میانگین قلیائیت طی دوره پژوهش در تیمارهای چرخشی (نیمه مدار بسته)، بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) و بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد) مقادیر قلیائیت روند کاهشی داشت ( $P<0.05$ ). مقادیر آن طی دو ماه اول، در سیستم بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد) اکثراً بیش‌تر از سایر سیستم‌ها بود. اما از روز ۹۰ به بعد، اختلاف معنی‌داری بین سیستم‌ها مشاهده نشد ( $P>0.05$ ) (جدول ۸).

### جدول ۸. تغییرات قلیائیت طی فاز دوم پژوهش

| سیستم                                          | روز ۰                     | روز ۳۰                   | روز ۶۰                   | روز ۹۰                   | روز ۱۲۰                  |
|------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| چرخشی (نیمه مدار بسته)                         | ۲۷۸/۱۴۵۷/۲ <sup>a,A</sup> | ۲۸۹/۶۱۸/۲ <sup>a,A</sup> | ۲۶۳/۱۳۳/۲ <sup>a,B</sup> | ۲۶۶/۷۷۷/۲ <sup>a,A</sup> | ۲۶۸/۳۱۳/۲ <sup>a,A</sup> |
| بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) | ۲۹۴/۴۴۴/۱ <sup>a,A</sup>  | ۲۷۵/۱۷۳/۱ <sup>a,A</sup> | ۲۵۷/۱۳۷/۱ <sup>a,B</sup> | ۲۶۹/۱۱۴/۱ <sup>a,A</sup> | ۲۷۳/۱۶۴/۱ <sup>a,A</sup> |
| بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد)     | ۲۸۶/۱۲۸/۲ <sup>a,A</sup>  | ۲۹۳/۲۱۸/۲ <sup>a,A</sup> | ۳۰۶/۲۱۸/۲ <sup>a,A</sup> | ۲۷۵/۲۲۸/۲ <sup>a,A</sup> | ۲۸۳/۱۲۸/۲ <sup>a,A</sup> |

\* حروف کوچک غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر سطر می‌باشد. حروف بزرگ غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر ستون می‌باشد.

مقادیر آمونیاک در سیستم‌های چرخشی (نیمه مدار بسته)، بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد)، در روز ۶۰ به اوج رسید و بعد از آن روند کاهشی داشت ( $P<0.05$ ). در سیستم بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد)، مقادیر آمونیاک در روز ۹۰ به اوج رسید، اما شیب کاهش آن بسیار کندتر از سیستم‌های دیگر بود. سیستم‌های چرخشی (نیمه مدار بسته)، بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) و بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد) به ترتیب در روزهای ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ به وضعیت یکنواخت رسیدند. تیمارهای آزمایشی در ۳۰ روز اول از نظر آمونیاک اختلاف آماری نشان ندادند ( $P>0.05$ ) (جدول ۹).

### جدول ۹. تغییرات آمونیاک طی فاز دوم پژوهش

| سیستم                                          | روز ۰                  | روز ۳۰                  | روز ۶۰                 | روز ۹۰                  | روز ۱۲۰                |
|------------------------------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|
| چرخشی (نیمه مدار بسته)                         | ۳/۷±۰/۲ <sup>b,A</sup> | ۴/۸±۱/۲ <sup>ab,A</sup> | ۳/۵±۱/۲ <sup>a,B</sup> | ۵/۷±۰/۶ <sup>a,AB</sup> | ۵/۷±۰/۲ <sup>a,A</sup> |
| بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) | ۴/۳±۱/۰ <sup>c,A</sup> | ۳/۴±۱/۱ <sup>bc,A</sup> | ۶/۷±۱/۱ <sup>a,A</sup> | ۴/۵±۱/۰ <sup>b,B</sup>  | ۴/۵±۱/۱ <sup>b,A</sup> |
| بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد)     | ۲/۸±۰/۲ <sup>c,A</sup> | ۴/۸±۱/۸ <sup>b,A</sup>  | ۱/۵±۱/۲ <sup>b,B</sup> | ۶/۸±۱/۲ <sup>a,A</sup>  | ۵/۸±۰/۶ <sup>a,A</sup> |

\* حروف کوچک غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر سطر می‌باشد. حروف بزرگ غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر ستون می‌باشد.

مقادیر نیتريت در سیستم‌های چرخشی (نیمه مدار بسته)، بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) و بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد)، به ترتیب در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ به اوج رسید ( $P < 0.05$ ) و بعد از آن روند کاهشی داشت. شیب کاهش نیتريت نیز همانند آمونیاک، در سیستم چرخشی تندتر از سایر سیستم‌ها بود.

#### جدول ۱۰. تغییرات نیتريت طی فاز دوم پژوهش

| سیستم                                          | روز ۰               | روز ۳۰              | روز ۶۰               | روز ۹۰              | روز ۱۲۰              |
|------------------------------------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
| چرخشی (نیمه مدار بسته)                         | $3.7 \pm 0.2^{b,A}$ | $4.8 \pm 1.2^{a,A}$ | $3.5 \pm 1.2^{a,A}$  | $5.7 \pm 0.6^{a,A}$ | $5.7 \pm 0.2^{a,A}$  |
| بایوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) | $4.3 \pm 1.0^{b,A}$ | $3.4 \pm 1.1^{b,B}$ | $6.7 \pm 1.1^{a,A}$  | $4.5 \pm 1.0^{a,A}$ | $4.5 \pm 1.1^{a,A}$  |
| بایوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد)     | $2.8 \pm 0.2^{b,A}$ | $4.8 \pm 1.1^{b,B}$ | $1.5 \pm 1.2^{ab,A}$ | $6.8 \pm 1.2^{a,A}$ | $5.8 \pm 0.6^{ab,A}$ |

\* حروف کوچک غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر سطر می‌باشد. حروف بزرگ غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر ستون می‌باشد.

#### فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوکاتایون احیا شده (GSH) و میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به طور معنی‌داری تحت تأثیر سیستم پرورش و زمان نمونه‌برداری قرار گرفتند ( $p < 0.05$ ).

#### فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

در روز صفر، اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنزیم CAT بین تیمارها مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). در سیستم شاهد، فعالیت این آنزیم در طول دوره آزمایش نسبتاً ثابت باقی ماند و تنها نوسانات جزئی مشاهده شد. در مقابل، هر دو سیستم بایوفلاک-مدار بسته از روز ۳۰ به بعد افزایش معنی‌دار و قابل توجهی در فعالیت CAT نشان دادند ( $p < 0.05$ ). بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در روز ۳۰ در تیمار BFT+P مشاهده شد که پس از آن، اگرچه کاهش جزئی رخ داد، اما سطح فعالیت آن تا روز ۱۲۰ همچنان در مقادیر بالاتری نسبت به شاهد باقی ماند. بین دو سیستم بایوفلاک دارای باسیلوس بومی و بدون آن، در زمان‌های نمونه‌برداری متناظر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ) (جدول ۱۲).

#### فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

فعالیت آنزیم SOD در روز صفر بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت ( $p > 0.05$ ). در سیستم چرخشی، فعالیت این آنزیم به تدریج در طول زمان افزایش یافت، اما از روز ۶۰ به بعد به طور معنی‌داری کمتر از سیستم‌های بایوفلاک بود ( $p < 0.05$ ). هر دو تیمار بایوفلاک افزایش وابسته به زمان و شدیدی را در فعالیت SOD نشان دادند و بیشترین مقادیر در روز ۱۲۰ ثبت شد. اگرچه مقادیر اندکی بالاتر در تیمار BFT+P مشاهده شد، اما اختلاف بین دو تیمار بایوفلاک از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۱۲).

#### میزان گلوکاتایون احیا شده (GSH)

مقادیر GSH در بین تیمارها و همچنین در طول دوره نمونه‌برداری اختلاف معنی‌داری نشان نداد ( $p > 0.05$ ). در تمامی سیستم‌های پرورشی، میزان GSH در طول دوره آزمایش نسبتاً ثابت باقی ماند که بیانگر حساسیت محدود این شاخص نسبت به نوع سیستم پرورش و مدت زمان پرورش است.

## میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

در روز صفر، مقادیر MDA در تمامی تیمارها مشابه بود و اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). در سیستم چرخشی، میزان MDA در طول دوره آزمایش تقریباً ثابت باقی ماند. در مقابل، هر دو سیستم بیوفلاک-مدار بسته از روز ۳۰ به بعد کاهش معنی‌داری در میزان MDA نسبت به سیستم چرخشی نشان دادند ( $p > 0.05$ ). کمترین مقادیر MDA در روزهای ۹۰ تا ۱۲۰ در هر دو تیمار بیوفلاک ثبت شد. همچنین بین سیستم‌های دارای باسیلوس بومی و بدون آن اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱۲).

**جدول ۱۲. پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی در فاز دوم مطالعه**

| Parameters | سیستم                                         | Day                        | 30                         | 60                         | 90                         | 120                        |
|------------|-----------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| CAT (U/mg) | چرخشی (نیمه مدار بسته)                        | 2/71 ± 0/77 <sup>Aa</sup>  | 2/52 ± 0/39 <sup>Bb</sup>  | 2/65 ± 0/51 <sup>Bc</sup>  | 2/85 ± 0/51 <sup>Bc</sup>  | 2/37 ± 0/81 <sup>Bc</sup>  |
|            | بیوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) | 2/43 ± 0/25 <sup>Ab</sup>  | 8/1 ± 1/36 <sup>Aa</sup>   | 6/11 ± 0/32 <sup>Aa</sup>  | 7/51 ± 0/32 <sup>Aa</sup>  | 6/21 ± 0/32 <sup>Aa</sup>  |
|            | بیوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد)     | 2/54 ± 0/3 <sup>Ab</sup>   | 5/7 ± 0/25 <sup>Aa</sup>   | 7/07 ± 0/07 <sup>Aa</sup>  | 7/27 ± 0/07 <sup>Aa</sup>  | 6/32 ± 0/07 <sup>Aa</sup>  |
| SOD (U/mg) | چرخشی (نیمه مدار بسته)                        | 3/61 ± 0/31 <sup>Aa</sup>  | 4/07 ± 0/83 <sup>Ab</sup>  | 4/87 ± 0/4 <sup>Bb</sup>   | 5/87 ± 0/4 <sup>Bb</sup>   | 6/87 ± 0/4 <sup>Bb</sup>   |
|            | بیوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) | 3/6 ± 0/8 <sup>Ab</sup>    | 7/16 ± 0/36 <sup>Abb</sup> | 13/13 ± 1/29 <sup>Aa</sup> | 18/13 ± 1/29 <sup>Aa</sup> | 19/03 ± 1/29 <sup>Aa</sup> |
|            | بیوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد)     | 3/79 ± 1/33 <sup>Ab</sup>  | 10/27 ± 1/23 <sup>Aa</sup> | 14/78 ± 1/05 <sup>Aa</sup> | 17/78 ± 1/05 <sup>Aa</sup> | 18/98 ± 1/05 <sup>Aa</sup> |
| GSH (U/mg) | چرخشی (نیمه مدار بسته)                        | 0/18 ± 0/05 <sup>Aa</sup>  | 0/14 ± 0/03 <sup>Aa</sup>  | 0/15 ± 0/05 <sup>Aa</sup>  | 0/17 ± 0/05 <sup>Aa</sup>  | 0/17 ± 0/05 <sup>Aa</sup>  |
|            | بیوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) | 0/19 ± 0/06 <sup>Aa</sup>  | 0/23 ± 0/08 <sup>Aa</sup>  | 0/20 ± 0/07 <sup>Aa</sup>  | 0/25 ± 0/07 <sup>Aa</sup>  | 0/26 ± 0/07 <sup>Aa</sup>  |
|            | بیوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد)     | 0/16 ± 0/05 <sup>Aa</sup>  | 0/22 ± 0/07 <sup>Aa</sup>  | 0/19 ± 0/04 <sup>Aa</sup>  | 0/20 ± 0/04 <sup>Aa</sup>  | 0/24 ± 0/04 <sup>Aa</sup>  |
| MDA (U/mg) | چرخشی (نیمه مدار بسته)                        | 29/89 ± 4/17 <sup>Aa</sup> | 26/44 ± 2/7 <sup>Aa</sup>  | 28/11 ± 1/6 <sup>Aa</sup>  | 28/65 ± 1/6 <sup>Aa</sup>  | 29/23 ± 1/6 <sup>Aa</sup>  |
|            | بیوفلاک-چرخشی (همراه با باسیلوس‌های درون زاد) | 26/77 ± 3/56 <sup>Aa</sup> | 19/99 ± 4/06 <sup>Bb</sup> | 17/13 ± 5/75 <sup>Bb</sup> | 16/13 ± 5/75 <sup>Bb</sup> | 18/13 ± 5/75 <sup>Bb</sup> |
|            | بیوفلاک چرخشی (فاقد باسیلوس‌های درون زاد)     | 25/18 ± 2/03 <sup>Aa</sup> | 18/37 ± 1/23 <sup>Bb</sup> | 16/46 ± 3/51 <sup>Bb</sup> | 14/46 ± 3/51 <sup>Bb</sup> | 18/46 ± 3/51 <sup>Bb</sup> |

\* حروف کوچک غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح 0/05 در هر سطر می‌باشد. حروف بزرگ غیرهمنام روی انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح 0/05 در هر ستون می‌باشد.

## بحث و نتیجه‌گیری

فناوری بیوفلاک به‌عنوان یکی از رویکردهای نوین و پایدار در آبی‌پروری متراکم، به‌ویژه در سیستم‌های پرورش سرپوشیده و مناطق کم‌آب، مورد توجه گسترده قرار گرفته است. کیفیت تغذیه‌ای توده‌های زیستی (Biofloc) برای گونه‌های گیاه‌خوار و همه‌چیزخوار مناسب‌تر گزارش شده است (Azim و Little، ۲۰۰۸) و مطالعات نشان داده‌اند که فلاک‌های تولیدی می‌توانند به‌عنوان منبع مکمل یا جایگزین بخشی از جیره غذایی در گونه‌های مختلف آبزیان مورد استفاده قرار گیرند (Kuhn و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین حضور باکتری‌های متنوع، به‌ویژه گونه‌های باسیلوس و

لاکتوباسیلوس، در ساختار بیوفلاک، این سیستم را به منبعی با پتانسیل پروبیوتیکی تبدیل کرده است (Crab و همکاران، ۲۰۰۹). سازگاری گونه‌های آبی با این فناوری به عواملی نظیر تحمل تراکم بالا، مقاومت به کدورت و سطوح بالای ترکیبات ازته وابسته است. انتخاب ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) در این پژوهش، به دلیل همه‌پزخوار بودن و توانایی استفاده از دتریت‌های کف است که از نظر ترکیب، شباهت زیادی با ساختار بیوفلاک دارند (Wang و همکاران، ۲۰۱۵). علاوه بر این، سیستم‌های بیوفلاک به‌عنوان راهکاری برای کاهش مصرف آب معرفی شده‌اند و یافته‌های حاضر نیز نشان داد که ترکیب سیستم بیوفلاک-چرخشی همراه با پروبیوتیک می‌تواند مصرف آب را تا حدود ۳۰ درصد کاهش دهد (FAO، ۲۰۱۶). در هر دو فاز آزمایش، تفاوت معنی‌داری میان سیستم‌های پرورشی از نظر پویایی ترکیبات ازته مشاهده شد. اگرچه سیستم نیمه‌مدار بسته (RAS) در روزهای ابتدایی حذف آمونیاک سریع‌تری نشان داد که بیانگر کارایی مناسب فیلتراسیون زیستی در کنترل کوتاه‌مدت پسماندهای نیتروژنی است، اما در ادامه دوره پرورش، تیمار بیوفلاک-چرخشی همراه با پروبیوتیک‌های بومی (BFT+P) پایداری بیشتری در کنترل آمونیاک، نیتريت و نیترات نشان داد. میانگین غلظت آمونیاک در این تیمار به طور معنی‌داری کمتر از تیمار بیوفلاک فاقد پروبیوتیک (BFT) بود ( $P < 0.05$ ) و در مجموع حدود ۴۵ درصد کاهش نسبت به BFT مشاهده شد. این یافته نشان می‌دهد که حضور باسیلوس‌های درون‌زاد با تولید آنزیم‌های خارج‌سلولی و تسريع تجزیه مواد آلی، دسترسی باکتری‌های نیتریفیکاسیون به سوبستراهای نیتروژنی را افزایش داده و کارایی چرخه نیتروژن را بهبود بخشیده است. علاوه بر این، کاهش نیتريت و نیترات در تیمار BFT+P نشان‌دهنده توسعه یک جامعه میکروبی کارآمدتر و پایداری بیشتر فرایندهای نیتریفیکاسیون و جذب هتروتروفی نیتروژن است. نتایج حاضر با یافته‌های Wang و همکاران (۲۰۲۳)، Liu و همکاران (۲۰۲۲) و Zhou و همکاران (۲۰۲۴) همخوانی دارد که کاهش ۳۰ تا ۵۵ درصدی ترکیبات ازته را در سیستم‌های بیوفلاک غنی‌شده با پروبیوتیک گزارش کردند. در مقابل، هرچند سیستم RAS توانست کیفیت آب را در محدوده قابل قبول حفظ کند، اما وابستگی آن به تعویض آب و مصرف انرژی بیشتر، مزیت پایداری زیست‌محیطی آن را نسبت به BFT+P کاهش می‌دهد.

یکی دیگر از شاخص‌های مهم ارزیابی عملکرد سیستم‌های پرورش متراکم، میزان کل مواد جامد محلول (TDS) است. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار TDS در تیمار BFT مشاهده شد، در حالی که تیمار BFT+P توانست این شاخص را در سطح پایین‌تری حفظ کند. این موضوع بیانگر نقش باسیلوس‌های بومی در تسريع معدنی‌شدن مواد آلی و جلوگیری از تجمع ترکیبات محلول در ستون آب است. اگرچه افزایش TDS در سیستم‌های بیوفلاک تا حدی ناشی از تشکیل زیست‌توده میکروبی و تجمع ذرات آلی مفید است، اما افزایش بیش از حد آن می‌تواند تقاضای بیولوژیکی اکسیژن را افزایش داده و کیفیت آب را تحت تأثیر قرار دهد. در مطالعه حاضر، افزایش TDS در تیمار BFT با کاهش نسبی اکسیژن محلول همراه بود که احتمالاً ناشی از مصرف بیشتر اکسیژن برای تجزیه مواد آلی انباشته‌شده است. در مقابل، حضور پروبیوتیک‌ها موجب کنترل بهتر بار آلی، پایداری بیشتر اکسیژن محلول و کاهش نیاز به تعویض آب شد. این نتایج با گزارش‌های Li و همکاران (۲۰۲۰)، Luo و همکاران (۲۰۲۱)، Emerenciano و همکاران (۲۰۲۲) و Zhou و همکاران (۲۰۲۴) مطابقت دارد.

از نظر پاسخ‌های فیزیولوژیک، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی CAT و SOD در تیمارهای مبتنی بر بیوفلاک به طور معنی‌داری افزایش یافت، در حالی که غلظت MDA کاهش نشان داد. این نتایج بیانگر کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی ماهیان پرورش‌یافته در این سیستم‌ها است. مقایسه دو تیمار بیوفلاک نشان داد که حضور باسیلوس‌های بومی موجب افزایش بیشتر فعالیت آنزیم‌های دفاعی و کاهش بیشتر پراکسیداسیون لیپیدی شده است. این اثر احتمالاً ناشی از تعدیل میکروبیوتای روده، تولید متابولیت‌های زیست‌فعال و تحریک پاسخ‌های ایمنی ذاتی توسط پروبیوتیک‌ها است که در نهایت منجر به کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود. جالب توجه آنکه شدت این پاسخ‌ها در فاز استخرهای خاکی بیشتر از فاز مخازن بود که احتمالاً به دلیل پیچیدگی بیشتر شرایط محیطی و افزایش فشارهای محیطی در مرحله نیمه‌تجاری پرورش است. عدم تغییر معنی‌دار GSH نیز نشان داد که سیستم دفاع آنزیمی ماهی برای خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد کافی بوده و نیاز به فعال‌سازی بیشتر این مسیر وجود نداشته است. این نتایج با یافته‌های Wang و همکاران (۲۰۲۳)، Van Doan و همکاران (۲۰۲۲)، Emerenciano و همکاران (۲۰۲۲) و Xiong و همکاران (۲۰۲۴) مطابقت دارد. در این پژوهش تمرکز اصلی بر ایجاد زیرساخت استاندارد جمع‌آوری و مدیریت داده‌ها بود. ثبت منظم داده‌های فیزیوشیمیایی و زیستی و ایجاد بانک اطلاعاتی ساختاریافته، امکان

شناسایی الگوهای رفتاری پارامترهای کلیدی و ارتباط آن‌ها با شاخص‌های رشد، بقا و سلامت ماهی را فراهم کرد. اگرچه در این مطالعه مدل‌های پیش‌بینی مبتنی بر یادگیری ماشین توسعه نیافت، اما داده‌های حاصل می‌توانند به عنوان زیرساخت اولیه برای طراحی سامانه‌های هوشمند پایش و تصمیم‌یار در آبی‌پروری مورد استفاده قرار گیرند. در این راستا، Zhang و همکاران (۲۰۲۳) نیز تأکید کرده‌اند که کیفیت و پیوستگی داده‌های مزرعه‌ای، مهم‌ترین پیش‌نیاز توسعه سامانه‌های هوش مصنوعی در مدیریت مزارع آبی‌پروری است.

نتایج این پژوهش نشان داد که سیستم بایوفلاک-چرخشی همراه با پروبیوتیک‌های درون‌زاد، ضمن کاهش مصرف آب، بهبود معنی‌داری در کنترل ترکیبات نیتروژنی، تثبیت پارامترهای کیفی آب و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ماهی کپور معمولی ایجاد می‌کند. حضور باسیلوس‌های بومی نقش مهمی در بهبود چرخه نیتروژن، کاهش TDS، تثبیت اکسیژن محلول و کاهش استرس اکسیداتیو ایفا نمود.

هرچند سیستم چرخشی سنتی در فاز دوم عملکرد مطلوبی در کنترل برخی پارامترها داشت، اما از منظر پایداری منابع و کاهش مصرف آب، سیستم بایوفلاک-چرخشی گزینه مناسب‌تری محسوب می‌شود. همچنین ایجاد بانک داده ساختاریافته، بستر لازم برای توسعه مدل‌های هوش مصنوعی در مدیریت هوشمند مزارع آبی‌پروری را فراهم ساخت.

در مجموع، ترکیب فناوری بایوفلاک با پروبیوتیک‌های بومی و بهره‌گیری از زیرساخت‌های داده‌محور، می‌تواند راهکاری پایدار، کارآمد و قابل توسعه برای ارتقای بهره‌وری و سلامت در سیستم‌های پرورش مزارک ماهی کپور باشد.

### حمایت مالی

این کار با حمایت مالی مرکز مطالعات و همکاری‌های علمی و بین‌المللی وزارت علوم تحقیقات و فناوری تأمین شد.

### References

1. Abdulaziz, M. A., Mohammadian, T., Mesbah, M., Gharibi, D., & Jalali, S. M. (2024). Efficacy of indigenous bacteria with quorum quencher properties on biochemical factors of Common carp (*Cyprinus carpio*). *Sustainable Aquaculture and Health Management Journal*, 10(2), 13-34.
2. Ahmadi, A., Lilimantik, E., & Sri Mahreda, E. (2021). Marketing efficiency of the climbing perch (*Anabas testudineus*) cultured with biofloc system. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 25(2), 561-572.
3. Ahmad, I., Babitha Rani, A. M., Verma, A. K., & Maqsood, M. (2017). Biofloc technology: an emerging avenue in aquatic animal healthcare and nutrition. *Aquaculture international*, 25, 1215-1226.
4. Ajamhasani, E., Akrami, R., Najdegerami, E. H., Chitsaz, H., & Shamloofar, M. (2023). Different carbon sources and probiotics in biofloc based common carp (*Cyprinus carpio*) culture: Effects on water quality, growth performance, fish welfare and liver histopathology. *Journal of the World Aquaculture Society*, 54(6), 1546-1562.
5. Alishahi, M., Shirali, T., Tabandeh, M. R., & Ghorbanpour, M. (2022). Influence of p-coumaric acid, as a medicinal plant phenolic compound, on expression of virulence genes and pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* in common carp. *Aquaculture International*, 30(6), 2997-3016.
6. Allam, M. F., Ekasari, J., Fauzi, I. A., & Wiyoto, W. (2024). Characteristics and quality of biofloc in vannamei shrimp culture with different carbon sources. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 23(1), 92-100.
7. Azim, M.E., Little, D.C. and 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(9), pp.3590-3599.
8. FAO. (2024). The State of World Fisheries and Aquaculture. 200 pp.
9. Crab, R., Lambert, A., Defoirdt, T., Bossier, P. and Verstraete, W., 2010. The application of bioflocs technology to protect brine shrimp (*Artemia franciscana*) from pathogenic *Vibrio harveyi*. *Journal of applied microbiology*, 109(5), pp.1643-1649.
10. Chen, Q., et al. (2021). Enzymatic and non-enzymatic antioxidant responses in fish under intensive culture. *Fish Physiology and Biochemistry*, 47, 1761-1774.
11. dos Santos, D. K. M., Kojima, J. T., Santana, T. M., de Castro, D. P., Serra, P. T., Dantas, N. S. M., ... & Gonçalves, L. U. (2021). Farming tambaqui (*Colossoma macropomum*) in static clear water versus a biofloc system with or without *Bacillus subtilis* supplementation. *Aquaculture International*, 29(1), 207-218.

12. Day, S. B., Salie, K., & Stander, H. B. (2016). A growth comparison among three commercial tilapia species in a biofloc system. *Aquaculture international*, 24, 1309-1322.
13. Emerenciano, M.G.C., et al. (2022). Biofloc technology and microbial-host interactions in aquaculture. *Aquaculture*, 546, 737365.
14. Ghanei-Motlagh, R., Gharibi, D., Mohammadian, T., Khosravi, M., Mahmoudi, E., Zarea, M., ... & El-Matbouli, M. (2021). Feed supplementation with quorum quenching probiotics with anti-virulence potential improved innate immune responses, antioxidant capacity and disease resistance in Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Aquaculture*, 535, 736345.
15. Guler, G. O., Kiztanir, B., Aktumsek, A., Citil, O. B., & Ozparlak, H. (2008). Determination of the seasonal changes on total fatty acid composition and  $\omega 3/\omega 6$  ratios of carp (*Cyprinus carpio* L.) muscle lipids in Beysehir Lake (Turkey). *Food Chemistry*, 108(2), 689-694.
16. Haghparast, M. M. H., Alishahi, M., Ghorbanpour, M., & Shahriari, A. (2018). Studying the effect of different carbon-nitrogen ratios in dense biofloc culture system on growth and health indices of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Animal Environment*, 10(2).
17. Haghparast, M. M., Alishahi, M., Ghorbanpour, M., & Shahriari, A. (2020). Evaluation of hemato-immunological parameters and stress indicators of common carp (*Cyprinus carpio*) in different C/N ratio of biofloc system. *Aquaculture International*, 28(6), 2191-2206.
18. Haraz, Y. G., Shourbela, R. M., El-Hawarry, W. N., Mansour, A. M., & Elblehi, S. S. (2023). Performance of juvenile *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia) raised in conventional and biofloc technology systems as influenced by probiotic water supplementation. *Aquaculture*, 566, 739180.
19. Hari, B., et al. (2020). Functional roles of *Bacillus* spp. in aquaculture systems. *Journal of Applied Microbiology*, 129, 13-25.
20. Holanda, M., Ravagnan, E., Lara, G., Santana, G., Furtado, P., Cardozo, A., ... & Poersch, L. H. (2023). Integrated multitrophic culture of shrimp *Litopenaeus vannamei* and tilapia *Oreochromis niloticus* in biofloc system: A pilot scale study. *Frontiers in Marine Science*, 10, 1060846.
21. Khanjani, M. H., Sharifinia, M., & Emerenciano, M. G. C. (2024). Biofloc technology (BFT) in aquaculture: What goes right, what goes wrong? A scientific-based snapshot. *Aquaculture Nutrition*, 2024(1), 7496572.
22. Jin, Y., Meng, S., Xu, H., Song, C., Fan, L., Qiu, L., & Li, D. (2024). Characteristics of Water Environment and Intestinal Microbial Community of Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*) Cultured Under Biofloc Model. *Microorganisms*, 12(11), 2158.
23. Kuhn, D.D., Lawrence, A.L., Boardman, G.D., Patnaik, S., Marsh, L. and Flick, G.J., 2010. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 303(1), pp.28-33.
24. Li, C., Ge, Z., Dai, L., & Chen, Y. (2025). *Integrated application of biofloc technology in aquaculture: a review. Water* 17: 2107.
25. Lin, Y.H., & Wang, W.D. (2022). Glutathione dynamics in fish exposed to environmental stressors. *Aquaculture Research*, 53, 3215-3226.
26. Liu, H., Li, H., Wei, H., Zhu, X., Han, D., Jin, J., ... & Xie, S. (2019). Biofloc formation improves water quality and fish yield in a freshwater pond aquaculture system. *Aquaculture*, 506, 256-269.
27. Liu, W., Lv, X., Ye, J., Tan, H., Luo, G., & Wan, Y. (2022). Effects of different biofloc sizes on the short-term stress of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvier), juveniles reared in biofloc aquaculture systems. *Aquaculture Research*, 53(5), 1995-2003.
28. Liu, G., Verdegem, M., Ye, Z., Zhao, J., Xiao, J., Liu, X., ... & Zhu, S. (2025). Advancing Aquaculture Sustainability: A Comprehensive Review of Biofloc Technology Trends, Innovative Research Approaches, and Future Prospects. *Reviews in Aquaculture*, 17(1), e12970.
29. Martins, C.I.M., et al. (2020). Environmental stress and oxidative balance in pond-reared fish. *Aquaculture Research*, 51, 423-438.
30. Matishov, G., Meskhi, B., Rudoy, D., Olshevskaya, A., Shevchenko, V., Golovko, L., ... & Teplyakova, S. (2025). Using BioFloc Technology to Improve Aquaculture Efficiency. *Fishes*, 10(4), 144.

31. Maulianawati, D., Kiing, H., Dewi, D. P., Irawati, H., Mardiana, T. Y., & Amien, M. (2024). The Application of Different Types of Diffusers for African Catfish (*Clarias gariepinus*) Culture in Biofloc Systems: Effects on Growth and Water Quality. *Journal of Aquaculture & Fish Health*, 13(1).
32. Mohammadi, G., Adorian, T. J., & Rafiee, G. (2020). Beneficial effects of *Bacillus subtilis* on water quality, growth, immune responses, endotoxemia and protection against lipopolysaccharide-induced damages in *Oreochromis niloticus* under biofloc technology system. *Aquaculture Nutrition*, 26(5), 1476-1492.
33. Mohammadian, T., Monjezi, N., Peyghan, R., & Mohammadian, B. (2022). Effects of dietary probiotic supplements on growth, digestive enzymes activity, intestinal histomorphology and innate immunity of common carp (*Cyprinus carpio*): a field study. *Aquaculture*, 549, 737787.
34. Panigrahi, A., Esakkiraj, P., Saranya, C., Das, R. R., Sundaram, M., Sudheer, N. S., ... & Jayanthi, M. (2022). A biofloc-based aquaculture system bio-augmented with probiotic bacteria *Bacillus tequilensis* AP BFT3 improves culture environment, production performances, and proteomic changes in *Penaeus vannamei*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 14(2), 277-287.
35. Ramadhani, A. W., Aisyah, D., Syahira, L., Kurniawati, T., Putra, R. T., Faqih, A., ... & Supriyadi, S. (2025). Digestive Enzyme Activity as a Biological Indicator for Assessing the Sustainability of Biofloc and Non-Biofloc Systems in the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Culture. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries*, 29(5).
36. Ramasubburayan, R., Prakash, S., Immanuel, G., Mubarakali, D., Rajakumar, G., Thirumurugan, D., & Palavesam, A. (2025). The transformative role of prebiotics, probiotics, and microbiomes in biofloc systems for sustainable aquaculture: a comprehensive review. *Reviews in Aquaculture*, 17(1), e13000.
37. Raza, B., Zheng, Z., Zhu, J., & Yang, W. (2024). A review: Microbes and their effect on growth performance of *Litopenaeus vannamei* (white leg shrimps) during culture in biofloc technology system. *Microorganisms*, 12(5), 1013.
38. Van Doan, H., et al. (2021). Probiotics, biofloc, and oxidative stress mitigation in fish. *Aquaculture Reports*, 20, 100713.
39. Wang, G., Yu, E., Xie, J., Yu, D., Li, Z., Luo, W., Qiu, L. and Zheng, Z., 2015. Effect of C/N ratio on water quality in zero-water exchange tanks and the biofloc supplementation in feed on the growth performance of crucian carp, *Carassius auratus*. *Aquaculture*, 443, pp.98-104.
40. Wang, L., et al. (2023). Comparative antioxidant responses of fish reared in different culture systems. *Aquaculture*, 562, 738798.
41. Xiong, J., et al. (2022). Oxidative stress biomarkers in intensive aquaculture environments. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 10225-10235.
42. Zhang, H., Sun, T., Tan, H., Lv, X., Liu, W., & Luo, G. (2023). Using black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) converted the bioflocs produced with shrimp solid waste. *Aquaculture*, 568, 739329.
43. Zhou, X., Tian, Z., Wang, Y., & Li, W. (2010). Effect of treatment with probiotics as water additives on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Fish physiology and biochemistry*, 36, 501-509.
44. Zhou, H., Wei, J., Tao, M., Zhao, J., Zhang, R., & Xu, Q. (2024). Effects of replacing glucose with fructooligosaccharide on microbial community structure in biofloc system. *Aquaculture International*, 32(6), 8417-8436