

تأثیر تصفیه میکروبی پساب در سیستم باز چرخشی با سرعت‌های مختلف گردش آب بر متغیرهای رشد، فیزیکوشیمایی آب، تراکم باکتری‌های آب و دستگاه گوارش بچه فیل ماهی‌پرورشی (*Huso huso*)

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی تأثیر سرعت‌های مختلف گردش آب بر تصفیه‌کنندگی پساب با استفاده از غلظت 10^7 سلول در میلی‌لیتر از ترکیب باکتری‌ها (*Bacillus licheniformis*، *Corynebacterium ammoniagenes*، *Nitrosomonas europaea* و *Nitrobacter winogradskyi*) و اثر آن بر متغیرهای فیزیکوشیمایی آب، رشد ماهی‌ها، تراکم باکتری‌های آب و دستگاه گوارش ماهی در خلال ۱۵ تیر تا ۱۵ مرداد سال ۱۴۰۲ در کارگاه آبی‌پروری مرکز آموزش شیلاتی میرزا کوچک خان گیلان انجام شد. ۳ تیمار و ۱ شاهد (هر کدام ۳ تکرار) در آکواریوم‌ها ($160 \times 50 \times 50$)، با حجم آبیگری ۰/۴ مترمکعب و تراکم ۱۰ قطعه بچه فیل ماهی (*Huso huso*) شامل تیمار اول با دبی ۰/۰۴ لیتر بر ثانیه با گردش آب روزانه ۱ بار، تیمار دوم با دبی ۰/۰۸ لیتر بر ثانیه با گردش آب روزانه ۲ بار و تیمار سوم با دبی ۰/۱۲ لیتر بر ثانیه با گردش آب روزانه ۳ بار و تیمار شاهد نیز با دبی ۰/۰۴ لیتر بر ثانیه، با گردش روزانه یک بار، از پساب تصفیه شده بیوفیلترها به‌صورت باز چرخشی تأمین گردید. غذادهی ۳ بار در روز و با هوادهی یکسان انجام گرفته و ۴ روز پس از افزودن فیل ماهیان با وزن متوسط $65/3 \pm 58/13$ گرم به آکواریوم‌ها، مخلوطی از ۴ باکتری به‌صورت سوسپانسیون غلیظ با نسبت 10^7 (سلول در میلی‌لیتر) به بیوفیلترهای ۳ تیمار آزمایشی، که در محل خروجی پساب این مخازن قرار داده شده بودند، تلقیح شد. میزان آمونیاک، نیتريت و نیترات، وزن و شاخص‌های رشد بچه ماهی‌ها به‌صورت هفتگی ارزیابی شد. هر هفته یک بار وزن همه بچه فیل ماهیان موجود در مخازن برای تعیین میزان غذای روزانه و هفتگی اندازه‌گیری و ثبت گردید. پس از ۴ هفته تیمار با غلظت‌های مختلف ترکیب باکتریایی منتخب، اختلاف کیفیت آب، تیمارهای آزمایشی و شاهد معنی‌دار بود ($P < 0/05$). در طول دوره آزمایش، میزان pH، اکسیژن، آمونیاک، نیتريت و نیترات در تیمار شاهد روند افزایشی و در سه تیمار آزمایشی روند کاهشی داشت. درصد بقا، افزایش وزن و ضریب رشد ویژه در تیمارها نسبت به شاهد افزایش داشت. برعکس ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای آزمایشی بیشتر بود ($P < 0/05$). در مقایسه تیمارهای آزمایشی با همدیگر، اختلاف آماری معنی‌داری بین آنها وجود نداشت ($P > 0/05$). بنابراین بر اساس این نتایج، ترکیب باکتریایی منتخب کشت شده در بیوفیلتر با غلظت 10^7 سلول در میلی‌لیتر هر یک از تیمارهای آزمایشی ۱ و ۲ را برای بهبود کیفیت پساب خروجی، به‌منظور استفاده مجدد و بازگردش آب به مزارع پرورش فیل ماهی در نظر گرفت.

واژگان کلیدی: سیستم بازگردش آب، کیفیت آب، فیل ماهی، شاخص‌های رشد.

مقدمه

با افزایش جمعیت، توسعه صنعت آبی‌پروری به عنوان یکی از منابع مهم تولید مواد غذایی و پروتئین حیوانی ضروری است. رشد صنعت آبی‌پروری، آلودگی‌های محیط‌زیستی را در سال‌های اخیر به دنبال داشته است. از این رو توجه به مدیریت و نوع روش پرورش آبزیان که با محیط‌زیست سازگار باشد، کاملاً ضروری است. توسعه فن‌آوری پالایش پساب مزارع پرورشی، نه فقط برای رشد این صنعت، بلکه برای مدیریت پساب‌های آبی‌پروری جهت دستیابی به محیط‌زیست پایدار دارای اهمیت فراوانی است (Pourasadi et al., 2025). بحران جهانی کمبود آب شیرین، تمامی اشکال حیات را مورد تهدید قرار داده و در سال‌های اخیر، به جهت رشد مصارف انسانی، فعالیت‌های بشری و تغییرات اقلیمی رو به تشدید بوده است (Ghosh et al., 2017). از منظر آبی‌پروری نیز، اهمیت کمیت و کیفیت آب بر تمامی

محسن پوراسدی^۱
مهران آوخی کیسمی^{۱*}
مسعود ستاری^۲
حجت‌اله زمانی^۳

۱. گروه شیلات و آبزیان، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.
۲. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی صومعه‌سرا، دانشگاه گیلان.
۳. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان.

* نویسنده مسئول مکاتبات

dr.keysami@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۰۷

این مقاله برگرفته از پایان نامه دکتری تخصصی رشته بوم‌شناسی آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان است.

جنبه‌های زیست‌شناسی ماهی همچون بقاء، رشد و سلامت و همچنین، ظرفیت تولید مزارع پرورش ماهی به‌طور گسترده‌ای توسط متخصصان و فعالان این بخش تأیید شده است (Ghosh *et al.*, 2017).

به دلیل تغییرات شرایط اقلیمی و کمبود آب در کشور ما سیستم‌های مدار بسته و گردش آب، از بهترین روش‌های تولید تجاری پرورش ماهیان خاویاری قلمداد می‌شود. تولید تجاری ماهیان خاویاری شامل استفاده از سطح بالایی از تغذیه، حاوی پروتئین است. در فرآیند گوارش چربی و کربوهیدرات، آب و دی‌اکسید کربن به عنوان مواد زائد تولید می‌گردد و در هضم پروتئین، بازده ترکیبات نیتروژنی عمدتاً آمونیاک است (Rafatnezhad *et al.*, 2008; Kolarevic *et al.*, 2014; Huang *et al.*, 2020). روش‌های مختلفی برای تصفیه و کاهش سطح آمونیاک و نیتريت در محیط‌های پرورش آبی وجود دارد. در روش زیستی، فیلترهای زیستی با ارایه سطوح اتصال فراوان جوامع میکروبی مرکب از باکتری‌های هتروتروف طراحی می‌شوند. نیتروبیفیکاسیون به‌طور خلاصه شامل اکسیداسیون هوازی در تبدیل آمونیوم به نیتريت و سپس، نیترات است. این واکنش در دو مرحله به وسیله باکتری‌های اکسید کننده آمونیوم مانند *Nitrosomonas* و *Nitrobacter* صورت می‌گیرد (Hollocher *et al.*, 1981; Robles-Porchas *et al.*, 2020). میزان گاز آمونیاک در محیط پرورش ماهیان خاویاری با توجه به زمان طولانی دوره پرورش، در مقادیر کم نیز سبب اثرات نامساعد بر شرایط فیزیولوژیک طبیعی و نهایتاً عوارض مختلف، کاهش رشد، کیفیت گوشت و خاویار تولیدی می‌شود. سیستم‌های مختلفی برای تولید ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرند. معروف‌ترین روش تقسیم‌بندی سیستم‌های تولیدی بر مبنای میزان و دفعات استفاده از آب ورودی است که بر این اساس دو سیستم باز (جریان گذر) و سیستم‌های آبی‌پروری بازگردشی (آب برگشتی) تعریف شده است (Timmons *et al.*, 2002). در سیستم‌های پرورشی باز، آب ورودی تنها یک مرتبه مورد استفاده قرار می‌گیرد. اما در سیستم‌های بازگردشی، آب درون سیستم گردش می‌کند و بر حسب طراحی سیستم، درصدی از آب تعویض و تصفیه می‌شود که بر اساس سطح فن‌آوری و واحدهای تصفیه‌ای موجود به دو سیستم بازگردشی نسبی (در ایران موسوم به آب برگشتی) و بازگردشی کامل (مدار بسته) تقسیم‌بندی می‌شوند (Lal *et al.*, 2024). روش اصلی پرورش ماهیان خاویاری در ایران، پرورش در حوضچه‌های بتنی و فایبرگلاس و غیره است و عمدتاً برای تامین آب مورد نیاز از سیستم باز استفاده می‌گردد. اما به دلیل شرایط اقلیمی خاص و کمبود آب در کشور، سیستم‌های بسته و گردش از بهترین روش‌های تولید تجاری در صنعت آبی‌پروری محسوب می‌شوند.

از طرف دیگر اصلاح زیستی محیط‌های آبی به‌منظور بهینه‌سازی منابع آبی از جمله اهدافی است که با استفاده از برخی باکتری‌های زیست‌یار، که موجب از بین رفتن آلودگی‌ها و بهبود فاکتورهای کیفی آب می‌گردند، قابل دستیابی است. در برخی کشورها، توسعه پایدار آبی‌پروری با به‌کارگیری این باکتری‌ها رو به گسترش بوده که به‌ویژه باکتری‌هایی مانند *Bacillus* (*Bacillus* sp.)، *نیتروباکتر* و *نیتروزوموناس* را می‌توان نام برد (Frezza *et al.*, 2021). تأثیر مثبت بعضی از باکتری‌ها بر آبیان پرورشی با دیدگاه‌های متفاوتی نظیر بهینه‌سازی پارامترهای فیزیکی و شیمیایی محیط پرورشی آن‌ها، پیشگیری و مبارزه با عوامل بیماری‌زا و همچنین ارتقای عملکرد رشد آبیان پرورشی، در تحقیقات بسیاری توسط محققان شیلاتی تأیید شده است (Dutta *et al.*, 2018). استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید در صنایع آبی‌پروری به‌منظور مدیریت بیماری‌ها برای درمان و حتی پیشگیری بسیار جدی گرفته شده و حتی ارجحیت بیشتری از آنتی‌بیوتیک‌ها و ضدعفونی‌کننده‌ها یافته است (Yegane *et al.*, 2021). Tung Pang و همکاران (۲۰۲۰) ۱۶۹ گونه باکتری عمدتاً ترکیبی از باسیل‌های گرم مثبت را در ماهی حوض (*Carassius auratus*) گزارش کردند. آن‌ها با بررسی پنج گونه از باکتری‌های جداسازی شده که فعالیت آنتاگونیست بالا داشتند، گونه *Bacillus thuringiensis* را به‌عنوان پالایشگر پساب مطلوب در مبارزه با طیف گسترده‌ای از عوامل آسیب‌زای ماهی و مقاوم به عوامل محیط‌زیستی نامناسب از قبیل pH پایین و دمای بالا گزارش کردند. فلور باکتریایی قادرند تا از طریق بهبود وضعیت محیط زندگی، اتصال به آب و رسوب استخرها و کلنی‌سازی در آن، رقابت در مصرف مواد مغذی، تولید ترکیبات مفید (آنزیم‌ها، ویتامین‌ها، اسیدهای چرب و غیره)، تولید ترکیبات آنتاگونیستی و تحریک سیستم ایمنی به حفظ سلامتی موجود و ایجاد فلور روده‌ای متعادل کمک نمایند (Kolb *et al.*, 2019). استفاده از آن‌ها در آبی‌پروری موجب بهینه‌سازی تعادل جمعیت میکروبی آب و رسوب استخرهای پرورشی شده و تأثیرات بسیار مطلوبی را بر رشد و بقاء آن‌ها ایجاد می‌نماید (Talukdar *et al.*, 2016).

بر اساس نظر Herrera و همکاران (۲۰۲۳) ترکیب فلور میکروبی لوله گوارش ماهی به نوع غذا، مورفولوژی لوله گوارش، ظرفیت هضم و رفتارهای فیزیولوژیک ماهی بستگی دارد. باکتری‌های روده‌ای آبزیان با فلور باکتریایی محیط‌زیست‌شان به واسطه تغذیه آن‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Keysami *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2020; Monghit-Camarin *et al.*, 2020; Avakh Keysami *et al.*, 2025). از آنجا که زیستگاه ماهی آب و متاثر از رسوبات استخر است، جمعیت غالب باکتری‌های دستگاه گوارش ماهی نیز فلور باکتریایی آب و رسوبات استخر پرورش ماهی است (Ray *et al.*, 2012; 2020; Huang *et al.*, 2020; Keysami *et al.*, 2022). به عبارت دیگر، انواع مشابه باکتری‌هایی که از دستگاه گوارش ماهی و آب محیط پرورش آن‌ها جداسازی شده و فلور میکروبی ماهی را تشکیل می‌دهد، از طریق تغذیه وارد دستگاه گوارش ماهی شده‌اند (Ibrahem, 2015; Hanol Bektas, Ray *et al.*, 2012; Hanol Bektas, 2020) و جریان آب نیز تأثیر محیط اطراف را روی فلور میکروبی آبزیان افزایش می‌دهد (Kolarevic *et al.*, 2014). حتی اگر تعداد زیادی از باکتری‌های جداسازی شده بیماری‌زا نشان داده باشند (Keysami *et al.*, 2022; Bronzi *et al.*, 2019) اما آن‌ها پاتوژن اولیه نیستند (Ye *et al.*, 2014; Frozza *et al.*, 2021) و در درون و سطح بدن آبزیان و در آب دریا، مصب‌ها و محیط‌های آب شیرین به عنوان قسمتی از میکروفلورای طبیعی بدن آبزیان محسوب می‌شوند (Herrera *et al.*, 2023) و شاید در شرایط بروز استرس و تحلیل دستگاه ایمنی بدن آبزیان بیماری‌زایی نمایند (Ye *et al.*, 2014; Monghit-Camarin *et al.*, 2020; Pang *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2009).

به هنگام افزایش آمونیاک، نیتريت، سولفید هیدروژن و متان در محیط‌های آبی، میکروارگانیسم‌های موجود قادر به کاهش آن‌ها در کوتاه مدت نیستند و از طرفی تکثیر میکروارگانیسم‌های هتروتروف تجزیه کننده مواد آلی، باعث افزایش شرایط بی‌هوازی می‌شوند. به دنبال آن، کمبود اکسیژن به وجود می‌آید که دارای اثرات سوء بر آبزیان مختلف است (Neissi *et al.*, 2022). به منظور تقویت میکروارگانیسم‌های طبیعی آب، از باکتری‌های مفید تحت عنوان پروبیوتیک استفاده می‌شود که این باکتری‌ها باعث افزایش تجزیه مواد آلی، کاهش غلظت نیتروژن و فسفر، افزایش اکسیژن محلول، کاهش H_2S و سیانوباکتری‌ها می‌شوند. همچنین کنترل آمونیاک و نیتريت موجب جلوگیری از مسمومیت و شیوع بیماری و افزایش بقا و در نتیجه افزایش تولید می‌شود. Lal و همکاران (۲۰۲۴) در استفاده از میکروارگانیسم‌ها به منظور کاهش آلاینده‌های مختلف از جمله آمونیاک و نیتريت باید به عوامل مختلف از جمله pH، نوع میکروارگانیسم، غلظت و روش مورد استفاده، دما و سیستم هواده توجه کرد، زیرا عوامل ایجاد شده در ارتباط مستقیم با افزایش و یا کاهش واکنش‌های تجزیه‌ای هستند.

بنابراین از آنجا که فلور باکتریایی مفیدی وجود دارند که کیفیت آب مزرعه پرورشی را بهبود بخشیده و در رقابت، فلور باکتریایی بیماری‌زا را حذف می‌نماید. از نظر اکولوژیکی با توجه به تغییرات اقلیمی و کاهش منابع آبی مورد نیاز، مطالعه و بهره‌گیری از سیستم‌های نوین در پرورش ماهیان خاویاری برای استفاده مجدد از پساب برای آبی‌پروری مورد تأکید مجامع علمی قرار گرفته است (Yegane *et al.*, 2021). این تحقیق با هدف بررسی تأثیر یک غلظت مشخص از باکتری‌های منتخب تصفیه‌گر پساب 10^7 (سلول در میلی‌لیتر) تلقیح شده در بیوفیلترها تحت سرعت‌های مختلف گردش آب، بر میزان حذف آمونیاک و نیتريت و از سوی دیگر، با هدف اقتصادی یعنی تأثیر این عمل بر شاخص‌های رشد فیل ماهیان (*Huso huso*) پرورشی در قیاس با تیمار شاهد (دارای بیوفیلتر بدون اضافه کردن باکتری) انجام شد. اما از نظر اکولوژیکی نیز با توجه به تغییرات اقلیمی و کاهش منابع آبی مورد نیاز، بهره‌گیری از سیستم‌های بسته و گردشی در پرورش ماهیان خاویاری اجتناب ناپذیر است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش از ۱۵ تیر تا ۱۵ مرداد سال ۱۴۰۲ در بخش آبی‌پروری مرکز آموزش شیلاتی میرزا کوچک خان گیلان در قالب سه تیمار و یک شاهد و هر کدام با ۳ تکرار برای تصفیه زیستی پساب ۱۲ آکوارיום پرورش بچه ماهی به ابعاد $50 \times 50 \times 160$ با حجم آبیگری 0.4 متر مکعب و با تراکم ۱۰ قطعه فیل ماهی (*Huso huso*) با وزن متوسط $65/3 \pm 58/13$ گرم در هر آکوارיום انجام شد. این آزمایش در یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار آزمایشی و یک تیمار شاهد اجرا گردید (شکل ۱ و جدول ۱).



شکل ۱: چیدمان آکواریوم‌های تیمار و شاهد و بیوفیلترهای طراحی شده در کارگاه آبی پروری مرکز آموزش میرزا کوچک خان

جدول ۱: طرح آزمایش با ۳ تیمار تهیه شده با سرعت گردش متفاوت آب آکواریوم پرورش بچه فیل ماهیان در بیوفیلترهای حاوی غلظت 10^7 (سلول در میلی لیتر) از ترکیب باکتری‌ها (*Bacillus licheniformis*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Nitrosomonas europaea* و *Nitrobacter winogradskyi*) و یک تیمار شاهد (بدون تلقیح باکتری)

تیمار	شرح تیمار
C	تیمار شاهد: با گردش روزانه ۱ بار آب آکواریوم در بیوفیلتر (بدون تلقیح باکتری)
T ₁	تیمار ۱: با گردش روزانه ۱ بار آب آکواریوم در بیوفیلتر تلقیح شده با ترکیب باکتریایی
T ₂	تیمار ۲: با گردش روزانه ۲ بار آب آکواریوم در بیوفیلتر تلقیح شده با ترکیب باکتریایی
T ₃	تیمار ۳: با گردش روزانه ۳ بار آب آکواریوم در بیوفیلتر تلقیح شده با ترکیب باکتریایی

تهیه غلظت 10^7 (سلول در میلی لیتر) از ترکیب باکتری‌ها

چهار گونه باکتری تصفیه‌گر منتخب شامل *Corynebacterium ammoniagenes*, *Bacillus licheniformis*, *Nitrosomonas europaea* و *Nitrobacter winogradskyi* که از پساب مزارع پرورش ماهیان خاویاری جداسازی شده بودند و در غربالگری نسبت به یکدیگر خاصیت ضدباکتریایی نداشتند ولی دارای بیشترین خاصیت ضدباکتریایی علیه باکتری‌های *Aeromonas hydrophila* بر اساس روش انتشار در دیسک بودند، در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفتند (Pourasadi et al., 2025; Gao et al., 2017). باکتری‌های منتخب در محیط کشت مایع نوترینت براث (NB) پرورش و روی محیط کشت جامد نوترینت آگار (NA) نگهداری شدند. ترکیب باکتریایی *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Nitrosomonas* و *Nitrobacter* در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد و در ارلن ۲ لیتری در شیکر انکوباتور پرورش داده شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (آلمان Hermle, Fixatte, Labortechnik) و با سرم فیزیولوژی (NSS; NaCl 8.5 g/l) سه بار شستشو، تا زمان مصرف در یخچال (دمای ۴ درجه) نگهداری شدند. تعیین تراکم 10^7 (سلول در میلی لیتر) نیز با استفاده از لوله‌های مک‌فارلند و خواندن غلظت جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway, 6105، انگلستان) انجام گرفت.

طراحی و ساخت بیوفیلتر تصفیه باکتریایی پساب

برای انجام این آزمایش ابتدا ۱۲ عدد بیوفیلتر آزمایشگاهی طراحی و ساخته شد. به این ترتیب که برای تصفیه پساب خروجی مخازن پرورش ماهی ابتدا یک میکروبیولتر، شامل یک بطری آب نیم لیتری که دو سوم آن با سنگریزه پر شده، در داخل هر آکواریوم قرار داده شد. پساب خروجی ابتدا از فیلتر شنی با روش A.W.L. (انتقال آب با فشار هوا) به داخل بیوفیلتر که در پایین هر آکواریوم نصب شده بود، وارد شد (Otte and Rosenthal, 1979). بیوفیلترهای آماده شده، متشکل از ۶ عدد زانوی لوله پلیکا با قطر دهانه ۸۰ میلی‌متری بود که دو سوم حجم آن با پوک معدنی (Scoria) سنگ آذرین قروه کردستان به عنوان بستر کشت و رشد باکتری‌ها (Media) پر شد (شکل ۲).



شکل ۲: بیوفیلتر طراحی شده (آزمایشگاهی) برای تصفیه پساب خروجی در سیستم باز گردش آب

برای بازگردش کل پساب تصفیه شده از بیوفیلترها و برقراری جریان آبی مورد نظر از ۱۲ عدد الکتروپمپ (برای مکش آب‌های تصفیه شده با پرگنه‌های احتمالی واقع در مدار آب برگشتی) و دهش آب تصفیه شده و ایجاد جریان ورودی آب برگشتی برای مخازن پرورشی تیمارهای آزمایشی و شاهد استفاده گردید. در طول دوره آزمایش به منظور جبران تلفات آب هدررفته و تبخیری مخازن پرورشی، به میزان کاهش سطح آب این مخازن، از آب تازه ذخیره شده در تانک‌ها استفاده شد. میزان دبی پساب تصفیه شده بازگردشی در هر یک از آکواریوم های تیمار اول ۴ / ۰ / ۰ لیتر بر ثانیه با گردش آب روزانه ۱ بار، در تیمار دوم ۸ / ۰ / ۰ لیتر بر ثانیه با گردش آب روزانه ۲ بار و در تیمار سوم ۱۲ / ۰ / ۰ لیتر بر ثانیه با گردش آب روزانه ۳ بار در نظر گرفته شد.

در مجموع ۱۲ قطعه بچه فیل ماهی از بخش تکثیر و پرورش انستیتو بین‌المللی ماهیان خاویاری و کارگاه شهید بهشتی جمع آوری و در ۱۲ مخزن (آکواریوم) به ابعاد ۵۰×۵۰×۱۶۰ با حجم آبیگری ۰/۴ متر مکعب و با تراکم ۱۰ قطعه بچه ماهی خاویاری فیل ماهی در هر آکواریوم ذخیره سازی شدند. وزن متوسط ماهی‌ها در شروع آزمایش در ۳ تیمار آزمایشی (۶۵/۳۸±۲/۱۷) گرم بود که با وزن متوسط ماهی‌ها، در تیمار شاهد (۶۵/۳۱±۱/۹۵) گرم اختلاف معنی دار آماری نداشت ($P>0/05$). بچه ماهی‌ها به منظور سازگاری با شرایط آزمایش به مدت سه روز با ۳ وعده غذا روزانه تغذیه شده و در شرایط آزمایش نگهداری شدند. پس از اضافه کردن آب و ۱۰ قطعه از فیل ماهیان پرورشی به هر یک از مخازن شیشه‌ای، غذادهی به صورت معمول و با هوادهی یکسان به مدت ۴ روز انجام شد. اندازه‌گیری pH، دما و اکسیژن از شروع کشت ماهیان در داخل آکواریوم‌ها، ولی میزان آمونیاک، نیتريت و نیترات پس از ۴ روز بعد از تغذیه ماهیان اندازه‌گیری شد. pH با دستگاه pH متر (WTW، آلمان)، دما با دماسنج جیوه‌ای، اکسیژن محلول با اکسی متر (YSI، آمریکا) و متغیرهای NO₂، NO₃ و NH₃ با دستگاه نیتريت و نیترات و آمونیاک سنج (Hanna، HI93715، تایوان) و همچنین اسپکتروفوتومتر (Jenway، 6105، انگلستان) اندازه‌گیری و ثبت شد. میزان غذادهی با استفاده از غذای اکستروید ماهیان خاویاری (FFS1، فرادانه، ایران، جدول ۲) انجام شد. میزان غذادهی برحسب دمای آب، ۳-۴ درصد وزن بدن، سه بار در روز (صبح، ظهر و عصر) به بچه ماهیان داده شد. هر هفته یک بار وزن هر ۱۰ بچه ماهی آکواریوم‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم ثبت می‌شد تا مقدار غذادهی روزانه و شاخص‌های رشد ماهیان در طول هفته و دوره یک ماهه معین شود.

جدول ۲- مشخصات غذای اکستروید مورد استفاده بچه ماهیان فیل ماهی در طول آزمایش

اندازه غذای پروتئین خام	چربی خام	خاکستر	فیبرخام	رطوبت	فسفر	انرژی قابل هضم
(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	(کیلوکالری/کیلوگرم)
۰±۴۸/۶۴	۱۱/۰±۸/۵۲	۱۰/۰±۱/۰۵	۲/۰±۶/۰۴	۹/۰±۳/۰۳	۱/۰±۳/۰۲	۳۲±۳۶۰۰

در طول آزمایش ترکیب باکتری‌ها شامل ۴ گونه مختلف باکتری شامل *Corynebacterium*، *Bacillus licheniformis*، *Nitrosomonas europaea*، *ammoniaenes* و *Nitrobacter winogradskyi* با غلظت 10^7 (سلول در میلی‌لیتر) که در ارلن ۲ لیتری آماده شد و سپس به بیوفیلترهای آزمایشی (بستر کشت Scoria) در روز چهارم تلقیح گردید. میزان تراکم باکتری‌ها در هر بیوفیلتر

به صورت روزانه بررسی شد تا در صورت کاهش تراکم تعیین شده برای هر تیمار، نیاز روزانه تراکم باکتری‌های تیمارها با اضافه کردن ترکیب باکتریایی جبران شود. در طی دوره آزمایش، آکواریوم‌ها با یک پمپ (کمپرسور مرکزی) به‌طور یکسان هوادهی شدند. میزان دوره نوری به‌صورت طبیعی برای آکواریوم‌ها در نظر گرفته شد.

در پایان دوره پرورش با اطلاعات به دست آمده از وزن ماهیان، شاخص‌های رشد بچه فیل ماهیان بر اساس رابطه‌های زیر محاسبه گردید:

افزایش وزن (WG) (گرم) = وزن اولیه - وزن نهایی

افزایش وزن بدن (BWI) (درصد) = $100 \times \left(\frac{\text{میانگین وزن اولیه}}{\text{میانگین وزن نهایی}} \right)$ (Ronyai et al., 1990)

ضریب رشد ویژه (SGR) (درصد در روز) = $100 \times \left(\frac{\text{لگاریتم وزن اولیه}}{\text{لگاریتم وزن نهایی}} \right)$ (Qinghui et al., 2004)

ضریب تبدیل غذایی (FCR) = $100 \times \left(\frac{\text{مقدار غذای مصرفی (گرم)}}{\text{افزایش وزن کسب شده (گرم)}} \right)$ (Ronyai et al., 1990)

درصد بقا بچه ماهی‌ها (SR) = $100 \times \left(\frac{\text{تعداد ماهیان در ابتدای دوره}}{\text{تعداد ماهیان در انتهای دوره}} \right)$

تجزیه و تحلیل آماری

برای بررسی توزیع نرمال داده‌های فراسنجه‌های کیفیت آب، میانگین تعداد کل باکتری‌ها و شاخص‌های رشد در تیمارها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. در صورت نرمال بودن داده‌ها برای مقایسه آماری تیمارها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) برای مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. کلیه آزمون‌های آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام شد.

نتایج

بر اساس نتایج (جدول ۳) اندازه‌گیری متغیرهای کیفی آب آکواریوم‌های پرورش فیل ماهیان، (میزان اکسیژن و pH) تیمارهای آزمایشی (T_1 ، T_2 و T_3) و تیمار شاهد (C) اختلاف معنی‌دار آماری با هم داشتند ($P < 0.05$). به نحوی که میزان pH تیمار شاهد در طی چهار هفته متوالی افزایش پیدا کرد، اما در هر سه تیمار آزمایشی با کاهش همراه بود. در بین تیمارهای آزمایشی نیز تیمار اول (T_1) کاهش بیشتری داشته، ولی اختلاف بین آنها معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). همچنین میزان اکسیژن در تیمارهای آزمایشی دارای روند افزایشی بود، اما در تیمار شاهد روند کاهشی داشت. از نظر اکسیژن نیز تیمار اول (T_1) در بین تیمارهای آزمایشی افزایش بیشتری داشت، ولی اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. کیفیت پساب خروجی بیوفیلترها از نظر آمونیاک، نیتريت و نیترات بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بودند ($P < 0.05$). در تیمارهای آزمایشی، به غیر از هفته اول که نیتريت افزایش پیدا کرد، در طول سه هفته بعد ترکیبات نیتروژنه روند کاهشی داشتند. اما در بین سه تیمار آزمایشی (T_1 ، T_2 ، T_3) هرچند تیمار اول (T_1) از نظر میزان آمونیاک، نیتريت و نیترات، کاهش بیشتری را نشان داد، اما اختلاف آماری معنی‌داری بین آنها دیده نشد ($P > 0.05$). بر اساس نتایج به دست آمده، بین کیفیت آب گروه‌های تیمار و شاهد، اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت ($P < 0.05$). این نتایج بیانگر آن است که کاهش سرعت گردش آب به یک بار در روز (T_1) تأثیر مثبتی بر میزان تصفیه‌کنندگی ترکیب باکتریایی تلقیح شده در بیوفیلترها و بهبود کیفیت فیزیکوشیمیایی پساب خروجی مخازن پرورش فیل ماهی داشت. براساس نتایج به دست آمده (جدول ۴) لگاریتم تعداد کل باکتری‌ها در پساب خروجی تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد هیچ‌گونه اختلاف آماری معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ($P > 0.05$) به نحوی که تعداد کل باکتری‌ها هم در تیمار شاهد و هم در تیمارهای آزمایشی در طی چهار هفته دارای روند افزایشی تقریباً یکنواخت می‌باشند. قابل ذکر است تیمار شاهد دارای فلور باکتریایی طبیعی بوده اما در تیمارهای آزمایشی غالبیت باکتری‌ها مربوط به ترکیب باکتریایی تلقیح شده به بیوفیلترها است.

جدول ۳: نتایج بررسی ویژگیهای کیفی آب آکواریومهای پرورش فیل ماهیان با استفاده از ۳ تیمار تهیه شده با سرعت گردش متفاوت آب و پساب مخازن پرورش در بیوفیلترهای حاوی ترکیب باکتری‌ها شامل *Corynebacterium*, *Bacillus licheniformis* و *Nitrosomonas europaea ammoniagenes* با غلظت 10^7 (سلول در میلی لیتر) و شاهد بدون ترکیب باکتری‌های کاندید (میانگین $\pm$ انحراف معیار؛ سه تکرار)

متغیر	تیمار	زمان (هفته)			
		۰	۱	۲	۳
آمونیاک (mg/L)	C	$0.0 \pm 16/0.5$	$0.0 \pm 25/0.6$	$0.0 \pm 52/0.4$	$0.0 \pm 76/0.6$
	T ₁	$0.0 \pm 16/0.6$	$0.0 \pm 15/0.7$	$0.0 \pm 11/0.6$	$0.0 \pm 7/0.1^a$
	T ₂	$0.0 \pm 16/0.7$	$0.0 \pm 14/0.5$	$0.0 \pm 10/0.8$	$0.0 \pm 8/0.1^a$
	T ₃	$0.0 \pm 16/0.3$	$0.0 \pm 15/0.4$	$0.0 \pm 11/0.6$	$0.0 \pm 8/0.3^a$
نیتريت (mg/L)	C	$0.0 \pm 24/0.4$	$0.0 \pm 35/0.2$	$0.0 \pm 39/0.6$	$0.0 \pm 36/0.5$
	T ₁	$0.0 \pm 23/0.6$	$0.0 \pm 17/0.7$	$0.0 \pm 12/0.5$	$0.0 \pm 1/0.5^a$
	T ₂	$0.0 \pm 24/0.3$	$0.0 \pm 19/0.5$	$0.0 \pm 16/0.3$	$0.0 \pm 8/0.7^a$
	T ₃	$0.0 \pm 23/0.7$	$0.0 \pm 21/0.6$	$0.0 \pm 19/0.5$	$0.0 \pm 9/0.3^a$
نیترات (mg/L)	C	$3/0 \pm 64/13$	$3/0 \pm 70/63$	$3/0 \pm 76/26$	$3/0 \pm 83/36$
	T ₁	$3/0 \pm 64/15$	$3/0 \pm 11/33$	$2/0 \pm 76/31$	$2/0 \pm 12/16^a$
	T ₂	$3/0 \pm 64/41$	$3/0 \pm 24/16$	$2/0 \pm 43/22$	$2/0 \pm 8/47^a$
	T ₃	$3/0 \pm 64/33$	$3/0 \pm 25/41$	$2/0 \pm 65/35$	$2/0 \pm 15/16^a$
pH	C	$8/0 \pm 0.6/16$	$8/0 \pm 4/41$	$8/0 \pm 5/21$	$8/0 \pm 6/25$
	T ₁	$8/0 \pm 0.6/18$	$8/0 \pm 0.2/32$	$7/0 \pm 95/33$	$7/0 \pm 53/16^a$
	T ₂	$8/0 \pm 0.6/23$	$8/0 \pm 0.1/31$	$7/0 \pm 95/32$	$7/0 \pm 54/38^a$
	T ₃	$8/0 \pm 0.6/36$	$8/0 \pm 0.1/52$	$7/0 \pm 93/63$	$7/0 \pm 51/47^a$
اکسیژن محلول (mg/L)	C	$7/0 \pm 0.3/36$	$6/0 \pm 7/31$	$5/0 \pm 9/31$	$5/0 \pm 2/18^b$
	T ₁	$7/0 \pm 0.1/16$	$6/0 \pm 9/15$	$7/0 \pm 1/15$	$7/0 \pm 5/0.9^a$
	T ₂	$7/0 \pm 0.1/11$	$6/0 \pm 9/45$	$7/0 \pm 1/21$	$7/0 \pm 5/11^a$
	T ₃	$7/0 \pm 0.3/31$	$6/0 \pm 9/31$	$7/0 \pm 1/0.9$	$7/0 \pm 4/71^a$
دما (°C)	C	$21/0 \pm 6/15$	$22/0 \pm 2/95$	$22/0 \pm 3/81$	$22/0 \pm 8/91^a$
	T ₁	$21/0 \pm 6/61$	$22/0 \pm 2/99$	$22/0 \pm 3/91$	$22/0 \pm 8/71^a$
	T ₂	$21/0 \pm 6/81$	$22/0 \pm 2/71$	$22/0 \pm 3/62$	$22/0 \pm 8/58^a$
	T ₃	$21/0 \pm 6/73$	$22/0 \pm 2/45$	$22/0 \pm 3/64$	$22/0 \pm 8/75^a$

جدول ۴: لگاریتم تعداد کل باکتری‌های آب آکواریومهای پرورش فیل ماهیان با استفاده از ۳ تیمار تهیه شده با سرعت گردش متفاوت آب و پساب مخازن پرورشی در بیوفیلترهای حاوی غلظت 10^7 (سلول در میلی لیتر) از ترکیب باکتری‌های *Bacillus licheniformis*، *Corynebacterium ammoniagenes*، *Nitrosomonas europaea* و *Nitrobacter winogradskyi* و یک تیمار شاهد بدون باکتری‌های کاندید در دوره ۴ هفته‌ای آزمایش (میانگین $\pm$ انحراف معیار؛ سه تکرار)

زمان (هفته)	لگاریتم تعداد کل باکتری‌ها (CFU/mL)			
	C	T ₁	T ₂	T ₃
۰	$2/5 \pm 1$	$2/5 \pm 1$	$2/5 \pm 1$	$2/5 \pm 1$
۱	$3/4 \pm 1$	$3/7 \pm 1$	$3/7 \pm 2$	$3/8 \pm 2$
۲	$4/0 \pm 2$	$4/2 \pm 1$	$4/2 \pm 1$	$4/3 \pm 1$
۳	$4/7 \pm 3$	$4/9 \pm 2$	$5/0 \pm 2$	$5/1 \pm 3$
۴	$5/5 \pm 1$	$5/7 \pm 1$	$5/8 \pm 1$	$5/8 \pm 1$

اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$).

بر اساس نتایج (جدول ۵) در مورد شاخص‌های رشد بچه فیل ماهیان در آکواریوم‌های پرورشی، با سرعت گردش متفاوت آب و پساب مخازن پرورشی در بیوفیلترهای تلقیح شده با غلظت 10^7 (سلول در میلی‌لیتر) از ترکیب باکتریایی در بیوفیلتر یک سیستم بازگردشی، نسبت به تیمار شاهد (بدون تلقیح باکتری‌های منتخب)، در مقایسه میانگین وزن نهایی فیل ماهیان در تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد، اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P < 0.05$). در افزایش وزن فیل ماهیان بین تیمارهای آزمایشی و شاهد اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P < 0.05$). میانگین درصد افزایش وزن در تیمارهای آزمایشی به شکل معنی‌داری نسبت به شاهد بیشتر بود، اما اختلاف معنی‌داری در بین تیمارهای آزمایشی دیده نشد ($P > 0.05$). هر چند که تیمار ۱ و ۲ نسبت به تیمار سوم درصد افزایش وزن بیشتری را نشان دادند. در مقایسه میانگین ضریب تبدیل غذایی بین تیمارها و شاهد در پایان دوره، اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P < 0.05$). میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی به شکل معنی‌داری نسبت به شاهد از میزان کمتری برخوردار بوده و عملکرد غذا در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد بهتر بود. در ارزیابی شاخص ضریب تبدیل غذایی نیز بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$) اما تیمار اول نسبت به تیمارهای ۲ و ۳ ضریب تبدیل کمتری داشت. در مقایسه نرخ رشد ویژه فیل ماهیان در تیمارهای آزمایشی و شاهد، اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P < 0.05$). نتایج نشان داد که میانگین نرخ رشد ویژه در تیمارها به شکل معنی‌داری نسبت به شاهد بیشتر بود. از نظر میزان درصد بازماندگی بچه ماهیان نیز بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد اختلاف آماری معنی‌داری دیده شد ($P < 0.05$). تیمار شاهد کمترین میزان بازماندگی را نسبت به تیمارهای آزمایشی داشت ($93/3\%$). در بین تیمارهای آزمایشی نیز، تیمار اول بیشترین بازماندگی (100%) را نشان داد.

جدول ۵: شاخص‌های رشد فیل ماهیان پرورشی با استفاده از ۳ تیمار با سرعت گردش متفاوت آب آکواریوم با بیوفیلترهای حاوی غلظت 10^7 (سلول در میلی‌لیتر) از ترکیب باکتری‌های *Nitrosomonas*، *Corynebacterium ammoniagenes*، *Bacillus licheniformis* و *Nitrobacter winogradskyi* و *europaea* (میانگین $\pm$ انحراف معیار؛ سه تکرار)

تیمارها	T1	T2	T3	C
وزن اولیه (گرم)	$65/51 \pm 2/16^a$	$65/18 \pm 2/11^a$	$65/38 \pm 1/92^a$	$65/31 \pm 1/95^a$
وزن نهایی (گرم)	$133/21 \pm 4/11^b$	$132/75 \pm 3/52^b$	$127/91 \pm 4/20^{ab}$	$118/6 \pm 6/15^a$
درصدافزایش وزن بدن (BWI)	$103/34 \pm 0/28^b$	$103/66 \pm 0/52^b$	$95/64 \pm 0/18^{ab}$	$81/50 \pm 0/35^a$
نرخ رشد ویژه (SGR%)	$2/56 \pm 0/8^b$	$2/56 \pm 0/9^b$	$2/39 \pm 0/6^{ab}$	$2/02 \pm 0/9^a$
ضریب تبدیل غذا (FCR)	$1/22 \pm 0/16^b$	$1/21 \pm 0/19^b$	$1/25 \pm 0/24^b$	$1/35 \pm 0/12^a$
درصد بقاء (SR)	$100 \pm 0/0^b$	$96/6 \pm 0/4^{ab}$	$96/6 \pm 0/4^{ab}$	$93/3 \pm 0/03^a$

BWI: درصد افزایش وزن بدن؛ SGR: نرخ رشد ویژه؛ FCR: ضریب تبدیل غذا؛ SR: درصد بقاء.

در هر ردیف، حروف غیرهمسان نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

از مشکلات اساسی آبی‌پروری مزارع ماهیان خاویاری و به‌ویژه سیستم‌های بسته، افزایش آمونیاک و نیتريت حاصل از فعالیت‌های مختلف آبی در محیط پرورشی است (Kolarevic et al., 2014). از این رو، باید تدابیری اتخاذ کرد که آمونیاک و نیتريت تولیدی حذف و یا میزان سمیت آنها در آب به کمترین حدی برسد که آسیبی به آبزیان وارد نکند (Colt, 2006; Bronzi et al., 2019; Neissi et al., 2022). به هنگام افزایش آمونیاک، نیتريت، سولفید هیدروژن و متان در محیط‌های آبی، میکروارگانیسم‌های موجود قادر به کاهش آنها در کوتاه مدت نیستند و از طرفی تکثیر میکروارگانیسم‌های هتروتروف تجزیه کننده مواد آلی، باعث افزایش شرایط بی‌هوازی می‌شوند. به دنبال آن، کمبود اکسیژن به وجود می‌آید که دارای اثرات سوء بر آبزیان مختلف است (Colt, 2006). به منظور تقویت میکروارگانیسم‌های طبیعی آب، از باکتری‌های مفید تحت عنوان پروبیوتیک استفاده می‌شود که این باکتری‌ها باعث افزایش تجزیه مواد آلی، کاهش غلظت نیتروژن و فسفر، افزایش اکسیژن محلول، کاهش H_2S و سیانوباکتری‌ها می‌شوند. همچنین کنترل آمونیاک و نیتريت موجب جلوگیری از مسمومیت و شیوع بیماری و افزایش بقا و در نتیجه افزایش تولید می‌شود (Lal et al., 2024). بهینه‌سازی شرایط فیزیوشیمیایی آب با افزایش جمعیت گونه‌های خاص باکتریایی تصفیه‌گر و تحریک فعالیت‌های بیوشیمیایی آنها از روش‌های زیستی مدیریت کیفی آب است و در

مقایسه با روش‌های غیرزیستی مانند استفاده از مواد شیمیایی همانند ازن، کلر، عوامل اکسید کننده، شلاته کننده و غیرفعال کننده و روش‌های فیزیکی مانند فیلتراسیون، هوادهی و گرما دارای محاسن و معایب متفاوتی است (Karthik et al., 2018; Zommiti et al., 2020). در این پژوهش برای بهبود کیفیت آب و پساب مخازن پرورش فیل ماهیان و همچنین افزایش شاخص‌های رشد در ماهیان خاویاری مورد پرورش از ۵ گونه مختلف باکتری شامل *Nitrosomonas*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Bacillus licheniformis* و *Nitrobacter winogradskyi* استفاده شد که قبلاً تصفیه‌کنندگی آنها در آزمایش جداگانه‌ای به اثبات رسیده بود (Pourasadi et al., 2025). در فرایند نیتریفیکاسیون آمونیاک از طریق *Nitrosomonas* به نیتريت تبدیل می‌شود. علاوه بر *Nitrosomonas* برخی از باکتری‌ها مثل *Bacillus* قادر به انجام این واکنش هستند و در برخی از بسته‌های پروبیوتیک به جای *Nitrosomonas* از برخی سویه‌های *Bacillus* و *Pseudomonas* نیز استفاده می‌کنند. نیتريت تولید شده در ادامه فرایند نیتریفیکاسیون توسط *Nitrobacter* به نیترات تبدیل می‌شود و یا حتی توسط برخی از باکتری‌ها می‌تواند به N_2 تبدیل شود.

غلظت مورد استفاده باکتری‌ها بستگی به هدف مورد نظر و نوع فرایند متفاوت است. در مطالعات مربوط به تجزیه زیستی، ضریبی از 10^8 است که به مقدار ۵ درصد به محیط پایه اضافه می‌شود (Karthik et al., 2018; Todorov et al., 2024). غلظت پیش‌بینی شده و مورد استفاده در واقع مشابه تراکم باکتری‌های طبیعی استخر پرورش ماهی بوده و فاقد عوارض جانبی و بیماری‌زایی برای آبزیان است (Pourasadi et al., 2025). ترکیب باکتریایی مورد استفاده برای پالایش پساب و بهبود کیفیت آب باید هم در شرایط هوازی و هم در شرایط بی‌هوازی قادر به تجزیه آمونیاک، نیتريت و نیترات باشد (Von Ahnen et al., 2015; Robles-Porchas et al., 2020). در مطالعه دیگری گزارش شد هنگامی که باکتری‌های فتوسنتتیک نظیر *Sordomonas* به آب مزرعه پرورش ماهی اضافه شد، باعث حذف H_2S و آمونیاک شده، با تعدیل pH کیفیت آب را بهبود بخشید (Von Ahnen et al., 2015).

تاثیر ترکیب باکتریایی به کار رفته در این پژوهش در مورد افزایش درصد بقاء ماهیان، شاید ناشی از تغذیه مستقیم گونه مورد نظر توسط ماهی و یا از راه اثر تغذیه‌ی غیرمستقیم باشد. از طرفی گزارش شده است که این باکتری‌ها ترکیبات سمی و غیرتغذیه‌ای محیط را تجزیه و هضم کرده و سپس آبزی مورد پرورش می‌تواند غذای سالم را جذب کند (Balcazar, 2004). از طرف دیگر در بررسی شاخص‌های رشد و درصد بقاء انواعی از آبزیان پرورشی گزارش شده است که افزودن باکتری‌های آنتاگونیستیک به آب با کاهش تعداد باکتری‌های بیماری‌زا در افزایش درصد بقاء موثر است (Pekala-Safińska, 2018). علاوه بر این، بسیاری از باکتری‌ها، انواع مختلفی از آنزیم‌ها مثل پروتئاز و لیپاز و انواع دیگر آنزیم‌ها را تولید می‌کنند که این آنزیم‌ها می‌توانند انواع مواد آلی و مواد غذایی را تجزیه کرده و به مواد مغذی قابل جذب تبدیل کنند. همچنین ترکیب باکتریایی با تولید مواد ضدباکتریایی و رقابت در جذب املاح غذایی، از ازدیاد و تجمع باکتری‌های بیماری‌زا در محیط و در دستگاه گوارش ماهی جلوگیری می‌کند (Karthik et al., 2018).

مطابق نتایج به دست آمده در این پژوهش، خاصیت تصفیه‌کنندگی ترکیب باکتریایی به کار رفته در بیوفیلترها، با کاهش دادن تغییرات متغیرهای pH، آمونیاک، نیتريت و نیترات در پساب مخازن پرورش فیل ماهی بین تیمارهای آزمایشی با سرعت متفاوت بازگردش آب در بیوفیلترها نسبت به تیمار شاهد اثبات شد. از این رو، با بهبود کیفیت فیزیکوشیمیایی پساب خروجی مزارع پرورش ماهیان خاویاری می‌توان، دوباره از این پساب تصفیه شده در یک سیستم بازگردش آب برای پرورش ماهیان خاویاری استفاده کرد. همچنین با به کار بردن این ترکیب باکتریایی در بیوفیلترهای مورد استفاده شاخص‌های رشد ماهیان نیز کاملاً بهبود یافت. همان‌طور که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را در افزایش درصد بقاء، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل غذایی بین تیمارهای T_1 ، T_2 و T_3 با تیمار شاهد (بدون تلقیح باکتری) در طول دوره پرورش فیل ماهیان نشان داد. به‌طور مقایسه‌ای نیز در بین سه تیمار آزمایشی، تیمار ۱ با گردش آب یکبار در شبانه روز با 10^7 سلول در میلی‌لیتر از ترکیب باکتریایی، کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی و بیشترین میزان درصد بقاء را داشت. هم سو با این نتایج اثر سرعت بازگردش پساب تصفیه شده بیوفیلترها، بر کمیت و کیفیت آب، و تاثیر آن در تمامی جنبه‌های زیست‌شناسی ماهی، همچون بقاء، رشد و سلامت و همچنین ظرفیت تولید مزارع پرورش ماهی، توسط محققین مورد تأیید قرار گرفته است (Ellis et al., 2002). فناوری سیستم‌های آبزی‌پروری بازگردشی (RAS)، در سال‌های اخیر رشد و توسعه چشمگیری در جهان به‌ویژه کشورهای توسعه

یافته داشته است. در این نوع از سیستم ها، فقط درصد کمی از آب موجود در مخازن پرورشی تعویض می شود و مابقی آب مورد نیاز، از تصفیه و بازگردش فاضلاب خروجی از استخرها تأمین می شود (Timmons and Losordo, 1994)، درحالی که در سیستم باز، آب ورودی فقط یک مرتبه از داخل استخرها عبور داده می شود. سیستم های بازگردشی ظرفیت های جدیدی را با کاهش نیازمندی به آب تازه ورودی، ارتقاء امنیت زیستی کارگاه و سلامت ماهیان و نیز تولید سازگار با محیط زیست ایجاد کرده است (Pourasadi et al., 2025; Lal et al., 2024). در سیستم بازگردشی، ظرفیت تولیدی به ازای واحد سطح بایستی بیشتر در نظر گرفته شود که مستلزم تراکم نگهداری بالا در مخازن، یا استخرهای پرورشی است تا هزینه های سرمایه ای بالای مرتبط با طراحی و ساخت چنین تأسیساتی جبران شود (Pourasadi et al., 2025). از طرف دیگر، افزایش تراکم نگهداری، به عنوان یک عامل استرس زای مزمن، باعث ایجاد استرس، کاهش رشد و کاهش کیفیت آب بابت کاهش اکسیژن و تجمع مدفوع ماهیان، آمونیاک، دی اکسید کربن، نیتريت و متابولیت های باکتری ها می شود (Timmons and Losordo, 1994; Pourasadi et al., 2025). بازگردش آب در سیستم های بازگردشی نیز، باعث کاهش کیفیت آب سیستم می شود. کاهش کیفیت آب تولید استرس نموده و حساسیت ماهیان نسبت به بیماری ها را افزایش می دهد و بر مصرف غذا، رشد و سلامت ماهیان اثر سوء دارد (Teitge et al., 2020). داده های فیزیوشیمیایی و رشد و درصد بازماندگی ماهی ها در تیمار شاهد این تحقیق با این یافته های محققین همخوانی داشته است.

اگرچه یکی از استراتژی های مفید در جهت افزایش تولید ماهی به ازای مقدار آب ورودی، بازچرخش آب است ولی افزایش ذرات جامد، زائدات متابولیکی و عوامل بیماری زا باعث کاهش کیفیت آب می شود (Piedrahita, 2003). در این تحقیق استفاده از بیوفیلتر، به کمک تلقیح باکتری های تصفیه گر پساب، موجب گردید که فاکتورهای فیزیوشیمیایی سنجش شده آب در محدوده مجاز توصیه شده برای ماهیان خاویاری قرار گیرد. نتایج بهتر شاخص های رشد، در تیمار برتر یک بار آب برگشتی، می تواند به دلیل همین اصل فرآوری کامل پساب توسط بیوفیلتر در مدت زمان یک بار بازگردش (طی ۲۴ ساعت) در این پروژه باشد (Pandey and Kumar, 2022).

برخلاف یافته های این تحقیق، در تحقیق Ellis و همکاران (2002) که به بررسی تأثیر استفاده مجدد از آب برگشتی بر شاخص های رشد و بازماندگی ماهی قزل آلا پرداختند، به این نتایج دست یافتند که افزایش درصد جایگزینی آب در استخرهای پرورش ماهی قزل آلا رنگین کمان با آب برگشتی، سبب افزایش معنی داری در ضریب تبدیل غذایی، کاهش معنی داری در میزان بازماندگی و ضریب چاقی و افزایش معنی داری در میزان تلفات ماهیان و در نهایت کاهش میزان تولید نهایی گردید. با افزایش سرعت گردش روزانه آب، امکان فراوری و تصفیه کامل پساب قبل از برگشت به چرخه تولید میسر نیست (Lal et al., 2024). در این تحقیق نیز برخی از شاخص های رشد بچه فیل ماهیان در تیمارهای دو بار و سه بار بازگردش آب که فراوری کامل آب برگشتی در بیوفیلتر میسر نگردید پایین تر بود.

طی مطالعه 77 روزه روی قزل آلا رنگین کمان، تغییرات معنی داری در وزن کل طی بازه زمانی 1 تا 56 روز آزمایش بین دو سیستم باز و بازگردشی کامل مشاهده نشد. هرچند در بازه زمانی 57 تا 77 روز، کاهش 17٪ وزن در تیمار باز در مقایسه با تیمار بازگردشی کامل مشاهده شد (Pourasadi et al., 2025). همچنین اختلافی در عملکردهای رشد بچه ماهی های آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) بین دو سیستم باز و بازگردشی کامل طی مدت نگهداری در آب شیرین و پس از 4 ماه انتقال به قفس های دریایی مشاهده نشد (Kolarevic et al., 2014). آنها همچنین بیان داشتند که نتایج مطالعاتشان نشان داد که استفاده از آب برگشتی کاهش اندک برخی از عملکردهای رشد و افزایش میزان استرس ماهی را موجب می شود. نتایج این پژوهش ها نیز همسو با کاهش برخی از شاخص های رشد در تیمارهای ۲ و ۳ در این تحقیق بوده است.

در مجموع، بر اساس نتایج به دست آمده از این پژوهش، می توان گفت که به طور کلی سه تیمار آزمایشی با ترکیب باکتریایی منتخب خالص سازی و جدا شده از مخازن پرورش فیل ماهیان با تاکید بر تیمار اول (T1) می تواند، به عنوان یکی از عوامل کنترل کیفیت زیستی آب و پساب مزارع پرورش ماهیان خاویاری و افزایش رشد و تولید فیل ماهیان در مراکز تکثیر و پرورش ماهی به منظور بهره برداری بهینه و بیشینه از حداقل آب و زمین در دسترس با روش بیوفیلتراسیون و بازگردش کامل آب مورد استفاده قرار گیرند. توسعه این شیوه پرورشی کاملاً

منطبق با خشکسالی‌های اخیر کشور و در نتیجه کاهش دبی منابع آبی، آلودگی روز افزون آبهای جاری، ضرورت حفظ محیط‌زیست و افزایش توجیه اقتصادی مزارع پرورش ماهی می‌باشد.

قدردانی

در انجام این تحقیق از همکاری و مساعدت کارکنان موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس ماهیان و مرکز شهید بهشتی، کارکنان آزمایشگاه مرکز آموزش علوم و صنایع شیلاتی میرزا کوچک خان و دانشکده منابع طبیعی صومعه سرا، دانشگاه گیلان بهره‌مند گردیده‌ایم که بدینوسیله قدردانی می‌گردد.

منابع

- Avakh Keysami M., Mohammadpour A., Rehanandeh M. and Zoghi-Shalmani A. 2025.** Isolation and identification of bacterial populations from water and sediment of silver carp breeding ponds. *Journal of Microbial world*, 17(4): 300-312(in Persian).
- Balcazar J.L., Deblas I., Ruiz-Zarzuola I., Vendrell D. and Muzquiz J.L. 2004.** Probiotics: A tool for the future of fish and shellfish health management. *Aquaculture.Tropical*, 19: 239-242. doi: 10.1007/s10695-013-9897-0
- Bronzi P., Chebanov M., Michaels J.T., Wei Q., Rosenthal H. and Gessner J. 2019.** Sturgeon meat and caviar production: Global update 2017. *Journal of Applied Ichthyology*, 35(1): 257-266. doi: 10.1111/jai.13870
- Colt J. 2006.** Water quality requirements for reuse systems. *Aquacultural Engineering*, 34: 143-156. doi:10.1016/j.aquaeng.2005.08.011
- Dutta D., Banerjee S., Mukherjee A. and Ghosh, K. 2018.** Potential gut adherent probiotic bacteria isolated from rohu, *Labeo rohita* (Actinopterygii: Cypriniformes: Cyprinidae): Characterisation, exo-enzyme production, pathogen inhibition, cell surface hydrophobicity, and bio-film formation. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 48: 221-233.
- Ellis, T., North, B., Scott, A.P., Bromage, N.R., Porter, M. and Gadd, D., 2002.** The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. *Journal of fish biology*, 61(3): 493-531.
- Epikmen E. T., Avci H., Tanrikul T. T., Birincioglu S. S. and Aydoğan A. 2020.** Pathological and microbiological investigations of naturally infected rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with *Flavobacterium psychrophilum*: 172-178.
- Frozza A., Fiorini A., Vendruscolo E. C. G., Rosado F. R., Konrad D., Rodrigues M. C. G. and Ballester, E. L. C. 2021.** Probiotics in the rearing of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879) in a biofloc system. *Aquaculture Research*, 52(9): 4269-4277.
- Gao X. Y., Liu Y., Miao L. L., Li E. W., Sun G. X., Liu Y. and Liu Z. P. 2017.** Characterization and mechanism of anti-*Aeromonas salmonicida* activity of a marine probiotic strain, *Bacillus velezensis* V4. *Applied microbiology and biotechnology*, 101(9): 3759-3768.
- Ghosh K., Banerjee S., Moon U. M., Khan H. A. and Dutta D. 2017.** Evaluation of gut associated extracellular enzyme-producing and pathogen inhibitory microbial community as potential probiotics in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *International Journal of Aquaculture*, 7.
- Hanol Bektas Z. 2020.** Identification and probiotic properties of lactic acid bacterial isolated from freshwater fish. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(4):1795-807.
- Herrera M., Heras J., Catabay C., Connor K. and German D. 2023.** Dietary-induced changes in the hindgut microbiome and metabolism of a marine herbivorous fish. *Physiology*, 38(S1): 5733889.
- Huang Q., Sham RC, Deng Y., Mao Y., Wang C., Zhang T. and Leung KM. 2020.** Diversity of gut microbiomes in marine fishes is shaped by host-related factors. *Molecular ecology*, 29(24):5019-34.
- Hollocher T.C., Tate M.E. and Nicholas D.J.D. 1981.** Oxidation of ammonia by *Nitrosomonas europaea*. *The Journal of Biological Chemistry*, 256(21): 10834-10836. doi: 10.1016/S0021-9258(19)68518-2
- Ibrahim MD. 2015.** Evolution of probiotics in aquatic world: Potential effects, the current status in Egypt and recent perspectives. *Journal of advanced research*, 6(6):765-91.
- Keysami M.A., Saad C.R. and Mohamadpour M. 2012.** Probiotic activity of *Bacillus subtilis* in juvenile freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) at different methods of administration to the feed. *Aquaculture International*, 20: 499-511 doi: 10.1007/s10499-011-9481-5

- Keysami MA., Zoughi Shalmani A., Zahmatkesh Kumleh A. and Karimi A. 2022.** Screening of bacterial flora isolated from the gastrointestinal tract of silver carp broodstocks (*Hypophthalmichthys molitrix*) as probiotics. *Journal of Animal Environment*, 14(1): 285-292. (in Persian).
- Kolarevic J., Baeverfjord G., Takle H., Ytteborg E., Reiten B.K.M., Nergard S. and Terjesen B.F. 2014.** Performance and welfare of Atlantic salmon smolt reared in recirculating or flow through aquaculture systems. *Aquaculture*, 432: 15–25. doi: 10.1016/j.aquaculture. 2014.03.033
- Kolb SA., O'Loughlin EJ. and Gsell TC. 2019.** Characterization of phthalate-degrading bacteria from Asian carp microbiomes and riverine sediments. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 143: 104727.
- Karthik M., Bhavan PS. and Manjula T. 2018.** Growth promoting potential and colonization ability of probiotics (*Bacillus coagulans* and *Bacillus subtilis*) on the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* post-Larvae. *Insights in Biology and Medicine*, 2:7-18.
- Lal J., Vaishnav A., Deb S., Gautam P., Pavankalyan M., Kumari K. and Verma DK. 2024.** Re-Circulatory Aquaculture Systems: A Pathway to Sustainable Fish Farming. *Archives of Current Research International*, 24(5):799-810.
- Monghit-Camarin MA., Cruz-Lacierda ER., Pakingking Jr R., Cuvin-Aralar ML., Traifalgar RF., Añasco NC., Austin F. and Lawrence M. 2020.** Bacterial microbiota of hatchery-reared freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). *Asian Fish. Sci.*, 33:241-8.
- Neissi A., Rafiee G., Rahimi S., Farahmand H., Pandit S. and Mijakovic I. 2022.** Enriched microbial communities for ammonium and nitrite removal from recirculating aquaculture systems. *Chemosphere*, 295:133811.
- Otte G. and Rosenthal H. 1979.** Management of a closed brackish water system for high culture by biological and chemical water treatment. *Aquaculture*, 18: 169–181. doi:10.1016/0044-8486(79)90029
- Pandey PK. and Kumar VS. 2022.** Biofilm in aquaculture production. In *Advances in fisheries biotechnology*, 401-422. Singapore: Springer Nature Singapore.
- Pang ST., Ransangan J. and Hatai K. 2020.** Isolation, identification and preliminary characterization of candidate probiotic bacteria from the intestine of domesticated goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of fisheries and environment*, 44(2):39-52.
- Pękala-Safińska A. 2018.** Contemporary threats of bacterial infections in freshwater fish. *Journal of veterinary research*, 62(3): 261–267.
- Piedrahita, R.H. 2003.** Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation - *Aquaculture*, 226: 35–44
- Pourasadi, M., Sattari, M., Avakhkeysami, Mm and Zamani, H. 2025.** Microbial treatment of effluent from elephantfish (*Huso huso*) breeding tanks under the influence of different concentrations of a mixture of *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Nitrosomonas* and *Nitrobacter* bacteria in the water circulation system. *Aquatic Physiology and Biotechnology*, 12(4): 39-56.
- Rafatnezhad S., Falahatkar B. and Tolouei Gilani M.H. 2008.** Effects of stocking density on haematological parameters, growth and fin erosion of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Aquaculture Research*, 39(14): 1506–1513. doi: 10.1111/j.1365-2109.2008.02020
- Ray AK., Ghosh K. and Ringø E. 2012.** Enzyme-producing bacteria isolated from fish gut: a review. *Aquaculture Nutrition*, 5: 465-492. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2012.00943.x>.
- Robles-Porcas GR., Gollas-Galván T., Martínez-Porcas M., Martínez-Cordova LR., Miranda-Baeza A. and Vargas-Albores F. 2020.** The nitrification process for nitrogen removal in biofloc system aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 12(4):2228-49.
- Talukdar S., Ringø E. and Ghosh K. 2016.** Extracellular tannase-producing bacteria detected in the digestive tracts of freshwater fishes (Actinopterygii: Cyprinidae and Cichlidae). *Acta Ichthyologica Et Piscatoria*, 46(3):201-210. doi:10.3750/AIP2016.46.3.04.
- Tung Pang S., Ransangan J. and Hatai K. 2020.** Isolation, Identification and Preliminary Characterization of Candidate Probiotic Bacteria from the Intestine of Domesticated Goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of fisheries and environment*, 44 (2): 39-52.
- Thompson, F.L., Abreu, P.C. and Wasielesky, W. 2002.** Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. *Aquaculture*, 203: 263–278.
- Timmons M.B., Ebeling J.M., Wheaton F.W., Summerfelt S.T. and Vinci B.J. 2002.** Recirculating Aquaculture Systems. Cayuga Aqua Ventures, USA. P 210
- Todorov SD., Lima JM., Bucheli JE., Popov IV., Tiwari SK. and Chikindas ML. 2024.** Probiotics for aquaculture: Hope, truth, and reality. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 16(6):2007-20.

Teitge F., Peppler C., Steinhagen D. and Jung-Schroers V. 2020. Water disinfection by ozonation has advantages over UV irradiation in a brackish water recirculation aquaculture system for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Journal of fish diseases, 43(10):1259-85.

Von Ahnen M., Pedersen LF., Pedersen PB. and Dalsgaard J. 2015. Degradation of urea, ammonia and nitrite in moving bed biofilters operated at different feed loadings. Aquacultural engineering, 69:50-9.

Ye L., Amberg J. and Chapman D. 2014. Gaikowski M, Liu WT. Fish gut microbiota analysis differentiates physiology and behaviour of invasive Asian carp and indigenous American fish. The ISME Journal, 8: 541–551

Yegane H., Kazemi R., Shenavar Masoule A., SayedHassani H., Yousefi Jourdehi A., hosseinpour Zelti A. and Ghorbani Vaghei R. 2021. The effect of native probiotic on growth rate and some hematological and immune indices in *Huso huso* fingerling. Journal of Aquaculture Development, 15(1):125-36.

Zhao S., Hu N., Chen Z., Zhao B. and Liang Y. 2009. Bioremediation of reclaimed wastewater used as landscape water by using the denitrifying bacterium *Bacillus cereus*. Bulletin of environmental contamination and toxicology, 83:337-40.

Zommiti M., Chikindas ML. and Ferchichi M. 2020. Probiotics—live biotherapeutics: a story of success, limitations, and future prospects—not only for humans. Probiotics and antimicrobial proteins, 12(3):1266-89.

The effect of different water circulation speeds on the microbial treatment of effluent in a recirculating system for *Huso huso* culture

Mohsen Pourasadi¹
Mehran Avakh Keysami^{1*}
Masoud Sattari²
Hojatollah Zamani³

1. Department of Fisheries and Aquatics,
Agricultural Research and Education
Center and Natural Resources of Guilan
Province, Agricultural Research,
Education and Extension Organization,
Rasht, Iran.

2. Department of Fisheries, Faculty of
Natural Resources, University of Guilan,
Sowmeh Sara, Iran.

3. Department of Biology, Faculty of
Science, University of Guilan, Rasht,
Iran.

*Corresponding author:

dr.keysami@gmail.com

Received date: July/07/2025

Reception date: October/29/2025

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of different water circulation speeds on the purification of effluent using a bacterial consortium (*Bacillus*, *Corynebacterium*, *Nitrosomonas*, and *Nitrobacter*) at a concentration of 10^7 cells/mL. The study also examined the effects of this treatment on the physicochemical variables of water, fish growth, and the bacterial density in the water and digestive tract of the fish. The experiment was carried out at the Mirza Kuchak Khan Fisheries Training Center in Gilan. Three experimental treatments and one control (in triplicate) were used. The treatments involved different flow rates and daily water circulation frequencies: T1 with 0.004 L/s (once per day), T2 with 0.008 L/s (twice per day), and T3 with 0.012 L/s (three times per day). The control group (C) received a flow rate of 0.004 L/s with circulation once per day, but without bacterial inoculation. Water parameters (ammonia, nitrite, and nitrate levels) and fish growth indices (weight and growth indicators) were evaluated weekly. After four weeks, a significant difference was observed in water quality between the control and the experimental groups ($P < 0.05$). During the experiment, pH, oxygen, ammonia, nitrite, and nitrate levels in the control group showed an increasing trend, while in the three experimental treatments, they decreased. The survival rate, weight gain, and specific growth rate were higher in the treatments compared to the control group ($P < 0.05$). Conversely, the feed conversion ratio was higher in the control group. There was no statistically significant difference between the experimental treatments themselves ($P > 0.05$). Therefore, based on these results, treatments 1 and 2 can be considered for effluent treatment and improving water quality for reuse in sturgeon farming.

Keywords: Recirculating aquaculture system, Water quality, *Huso huso*, Growth indices.