مقاله کامل علمی- ترویجی

بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد نهم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۹
۹۳-۱۰۷
http://japu.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/japu.2020.16425.1489

مدیریت جوامع میکروبی در سیستم آبزی‌پروری تولید توده زیستی

محمدحسین خانجانی*

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه جیرفت، کرمان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۱٤

چکیده

فن‌آوری نوین آبزی‌پروری پایدار به‌عنوان فن‌آوری توده ساز زیستی نامیده می‌شود که در آن مواد غذایی زائد، مواد آلی و ترکیبات تولید شده در سیستم توسط آبزی مصرف می‌شود. جوامع میکروبی در توده زیستی دو نقش مهم دارند: حفظ کیفیت آب با جذب ترکیبات نیتروژن و تولید پروتئین میکروبی که در نتیجه ضریب تبدیل غذایی و هزینه‌ها را کاهش می‌دهد. توده زیستی یک منبع طبیعی غنی از پروتئین و چربی که ٢٤ ساعت شبانه روز در دسترس آبزی می‌باشد. مسأله حاضر در سیستم توده‌ساز زیستی مشکل کنترل و مدیریت ترکیب جوامع باکتریایی برای به‌دست آوردن کیفیت آب مطلوب و سلامتی آبزی است. بیش از ۲۰۰۰ گونه باکتریایی در آب حاوی توده زیستی به خوبی توسعه می‌یابد که بیش‌تر شامل جوامع فتواتوتروفیک، شیمواتوتروفیک و هتروتروفیک هستند و نقش اصلی را باکتری‌های هتروتروف بازی می‌کنند. این مطالعه مروری اطلاعات توصیفی در مورد جوامع میکروبی مرتبط با توده زیستی و تأثیراتش روی فلور میکروبی دستگاه گوارش آبزی ارائه می‌دهد که می‌تواند بیش‌تر در زمینه پژوهش‌هایی روی ایمنی، مقاومت به بیماری و تغذیه در آبزی‌پروری به‌کار گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: آبزی‌پروری، پروتئین میکروبی، توده زیستی، جوامع میکروبی، کیفیت آب

* مسئول مکاتبه: m.h.khanjani@gmail.com

مقدمه

جوامع میکروبی در محیط زندگی آبزی با تغییر شرایط محیط به سرعت واکنش نشان می‌دهند. این واکنش می‌تواند به‌صورت فعال‌سازی یا غیرفعال نمودن روش‌های متابولیسمی خاص یا تغییر در ترکیبات و عملکرد آن‌ها باشد (بنتزون و همکاران، ۲۰۱٦). میکروارگانیسم‌های گوناگونی در سیستم‌های تولید آبزی‌پروری حضور دارند که می‌توانند تأثیر مثبتی بر تبدیل مواد آلی و ترکیبات تولید شده در سیستم داشته باشند. آن‌ها به‌عنوان منبع بیومس میکروبی در دسترس، توسط ارگانیسم‌های با سایز بزرگ‌تر مصرف می‌شوند، هم‌چنین به‌صورت عامل منفی و بیماری‌زا در پاسخ به تغییر شرایط محیطی می‌توانند بروز نمایند (دی‌سچریور و همکاران، ۲۰۰۸). اخیراً مطالعات نشان داده‌اند دستکاری مناسب جوامع میکروبی می‌تواند به بهبود کیفیت آب سیستم پرورشی (از طریق جذب و کاهش ترکیبات نیتروژن غیرآلی) کمک کند و در نهایت منجر به بقای بهتر گونه پرورش یافته می‌شود بدون این‌که از ترکیبات شیمیایی سمی و آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده گردد (پریندل و همکاران، ۲۰۱۲؛ بنتزون و همکاران ۲۰۱٦).

گروه‌های میکروارگانیسم مهم در سیستم‌های متراکم آبزی‌پروری بدون تعویض آب شامل، جلبک، زئوپلانکتون و باکتری‌ها هستند. جلبک‌ها نیتروژن آمونیاکی را مصرف می‌کنند و ترکیبات نیترات و فسفات را جذب کرده و پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها را تولید می‌کنند. دیاتومه‌ها دارای ارزش غذایی بالا (اسیدهای آمینه ضروری و اسیدهای چرب غیراشباع) بوده که برای میگو مفید و رشد را بهبود می‌دهند (جو و همکاران، ۲۰۰۹؛ موس و همکاران ۲۰۰۱). برخی جلبک‌های سبز- آبی (سیانوباکترها) در سیستم پرورش ترکیبات سمی تولید می‌کنند که رشد میگو را کاهش و سبب مرگ و میر می‌شوند (آلونسو- رودریگز و پائز- اوسانا، ۲۰۰۳؛ زیمبا و همکاران ۲۰۰٦). زئوپلانکتون‌ها، جلبک و باکتری را مصرف می‌کنند و نقش مهمی را در انتقال مواد مغذی از تولیدکننده اولیه به مصرف‌کننده ثانویه دارند. زئوپلانکتوها مثل روتیفر قادر هستند نیازهای انرژی و پروتئین میگو را فراهم کنند (فوکن و همکاران، ۱۹۹۸). باکتری‌های هتروتروف و باکتری‌های شوره‌ساز (نیتریفینگ) شیمواتوتروفیک نقش مهمی در بهبود کیفیت آب در سیستم‌های متراکم با تعویض آب محدود دارند (هارگریوس، ۲۰۰٦). بخشی از جوامع میکروبی به همراه ذرات دیگر در سیستم‌های پرورش متراکم بدون تعویض آب توده زیستی را ایجاد می‌کنند.

توده زیستی، مزیت‌های مختلفی شامل حفاظت از شکارچی‌ها (مثل پروتوزوآ)، دست‌یابی مستقیم به مواد مغذی و سطوح مناسب برای استقرار میکروب‌ها و باکتری‌های متصل به آن را دارد (دی‌سچریور و همکاران، ۲۰۰۸). یکی از فن‌آوری‌های به‌کارگیری شده در آبزی‌پروری استفاده از پروبیوتیک‌ها است (پاندیان و همکاران، ۲۰۱۳). بقای بهتر آبزی و بهبود کیفیت آب در استفاده از پروبیوتیک‌ها مشاهده شده است. تحریک پاسخ ایمنی در مقابل پاتوژن‌ها، بهبود فعالیت آنزیم‌های گوارشی در جهت کمک به هضم و جذب مواد مغذی، کاهش ترکیبات نیتروژن (یاماشیتا و همکاران، ۲۰۱٦؛ داس و همکاران، ۲۰۱۷) در حضور پروبیوتیک‌ها اتفاق افتاده است. فن آوری توده زیستی[1] اخیرا در برخی کشورهای جهان به‌عنوان یک سیستم بیولوژیک به‌کار گرفته شده که این سیستم به‌دلیل محدود کردن تبادلات آبی، بازچرخ غذای خورده نشده و مواد دفعی از طریق تامین شرایط محیطی لازم برای رشد باکتری‌ها (افزودن مواد آلی کربن‌دار و هوادهی شدید)، کنترل باکتری‌ها و کیفیت

1- Biofloc Technology, BFT

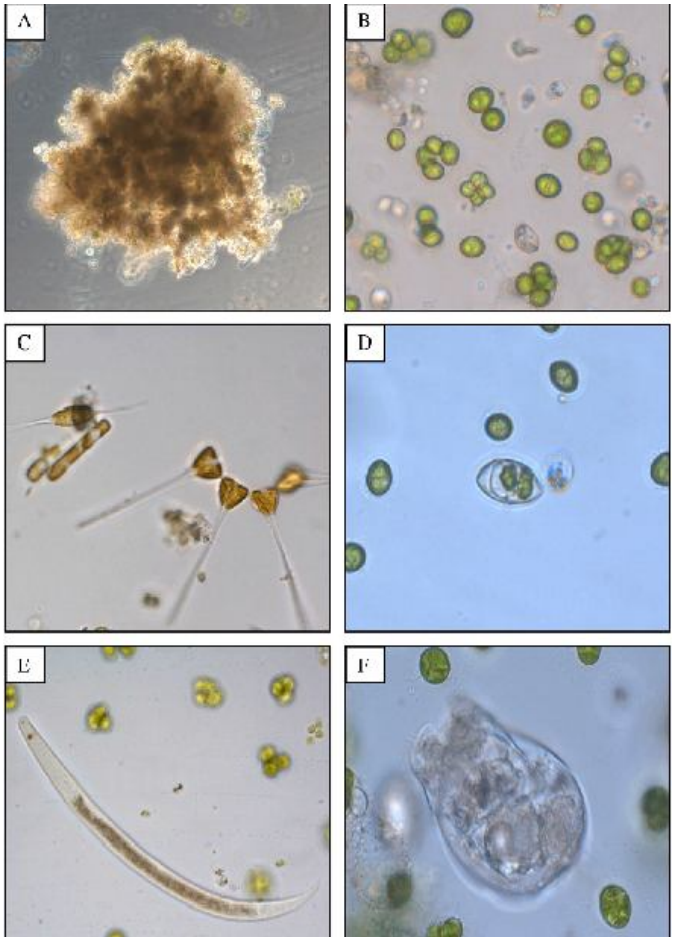
آب، از اهمیت بالائی برخوردار می‌باشد (فرریرا و همکاران، ۲۰۱۵). داشتن اطلاعات در زمینه ترکیبات جوامع میکروبی و توانایی پایش تغییرات آن‌ها ضروری است. بررسی ترکیب میکروبی در طول دوره پروش، مدیریت آن‌ها، تغییرات جوامع میکروبی در هنگام کاهش و حذف توده‌زیستی در سیستم بدون تعویض آب مهم می‌باشد. پایش میکروارگانیسم‌ها به شناخت ویژگی آن‌ها برای تغذیه تکمیلی و هم‌چنین به مدیر مزرعه در جهت تشخیص ارگانیسم‌های مشکل‌زا کمک می‌کند، در نتیجه شناخت آن‌ها تصمیم صحیح مدیریتی را بهبود می‌دهد. در مطالعه حاضر توجه به سیستم توده‌ساز زیستی، جوامع میکروبی و باکتریایی فعال در این سیستم مورد بررسی قرار گرفته است.

توده زیستی: توده‌های زیستی مخلوطی از سلول‌های زنده، مرده و دتریتوس (ذرات آلی) هستند و مجموعه‌ای از ارگانیسم‌های مختلف شامل باکتری‌ها، جلبک‌های رشته‌ای، پروتوزوآ، نماتودها، کپه‌پودها، روتیفرها، ذرات آلی و غیرآلی را تشکیل می‌دهند (واللی و همکاران، ۲۰۱۵). در مطالعه خانجانی و همکاران (۲۰۱۵ و ۲۰۱٦) با افزایش دوره آزمایش اندازه توده تولید شده در سیستم پرورش بزرگ‌تر و فلاک‌های تولیدی سبک، متخلخل و دارای انبوهی از باکتری‌ها بودند که به‌صورت زنجیره‌وار به هم متصل شده بودند. باکتری‌های هتروتروف، مواد آلی کربن‌دار و نیتروژن زائد را از آب گرفته و از آن‌ها برای تولید پروتئین میکروبی استفاده می‌کنند و با این کار، غلظت نیتروژن غیرآلی را در آب کاهش می‌دهند (خانجانی و همکاران، ۲۰۱۷). عامل تحریک برای توسعه میکروب‌ها علاوه بر مواد آلی کربن‌دار، منبع مهم خوراک آبزی می‌باشد (بارفورد و همکاران، ۲۰۰٤). افزایش باکتری‌ها در مطالعه خانجانی و همکاران (۲۰۱٦) در انتهای آزمایش با شیب ملایم‌تری اتفاق افتاد که احتمالاً نشان‌دهنده مصرف باکتری‌های چسبیده به توده‌ها توسط زئوپلانکتون‌های موجود در تانک یا تغییر در ترکیبات و فراوانی میکروبیوتا به‌دلیل توالی در زنجیره غذایی باشد (امرنسیانو و همکاران، ۲۰۱۲). باکتری‌های موجود در توده بسیار کوچک و قطری حدود یک میکرومتر دارند و در اغلب مواردی که بیومس میکروبی متراکم تولید می‌شود، باکتری‌ها تمایل به تجمع داشته و توده‌ها را ایجاد می‌کنند. تجمعات میکروبی قطری در محدوده ۰/۱ تا ۲ میلی‌متر و هر سانتی‌مترمکعب آن شامل ۱۰ تا ۳۰ میلی‌گرم ماده خشک است (آونیملچ، ۲۰۱۲).

در مطالعه‌ای روی تیلاپیا در سیستم بدون تعویض آب مشخص شد که زمان ماندگاری ارگانیسم‌ها در توده حدود ۱۰ ساعت می‌باشد (آونیملچ و همکاران، ۱۹۹٤). به این معنی است که توسط ماهی و احتمالاً دیگر ارگانیسم‌ها مصرف می‌شوند. کاهش تعداد میکروب‌ها و از طرف دیگر تولید میکروب‌های جدید در توده‌ها ۲ تا ۳ بار در روز تغییر می‌کند که عمدتاً سلول‌های جدید و فعال جایگزین می‌شوند (دی‌سچریور و همکاران، ۲۰۰۸). از ویژگی‌های دیگر توده زیستی، ساختار باز توده‌ها می باشد. این ویژگی مهم سبب می‌شود آب و مواد شیمیایی از سرتاسر توده جریان یابد که برای تامین مواد مغذی و حذف متابولیت‌های داخل و خارج بیومس در توده مؤثر است. یک باکتری در توده قابلیت بیش‌تری نسبت به باکتری تنها دارد و انتقال آن کارآمدتر است، تخلخل بالای توده زیستی سبب می‌شود چگالی فلاکه‌ها نسبتاً پایین بیاید که این عمل توده‌ها را معلق در آب حفظ می‌کند و سرعت رسوب را کاهش می‌دهد (آونیملچ، ۲۰۰۹).

در سیستم‌های تولید توده زیستی، به توده‌های سبک که در ستون آب معلق بمانند نیاز می‌باشد که فرآیندهای هوازی را تسهیل و تماس گسترده بین

توده‌ها و آبزی (ماهی و میگو) را تامین کنند و برداشت توده زیستی توسط آبزی را تسهیل نمایند. نمونه‌های توده زیستی در مطالعه خانجانی و همکاران (۲۰۱٦) شامل ارگانیسم‌های مانند پروتوزوآی مژک‌دار و تاژک‌دار، میکروجلبک‌ها و نماتودها بود و پروتوزوآ فراوان‌ترین گروه میکروارگانیسم در توده زیستی بودند همین روند در مطالعات عظیم و لیتلی (۲۰۰۸) و امرنسیانو و همکاران (۲۰۱۲) به‌دست آمد (شکل ۱).



شکل ۱- ترکیبات رایج در سیستم‌های پرورش متراکم بدون تعویض. (A) توده زیستی که شامل برخی جوامع میکروبی است. (B)، مجموعه‌ای از جلبک‌های سبز- کلروفیت‌ها، (C) سه نوع دیاتومه که در شرایط آب شور در سیستم بدون تعویض به وفور دیده می‌شود. (D)، دینوفلاژلاته هتروتروفیک. (E)، نماتود. (F)، روتیفر (برگرفته از رآی و همکاران، ۲۰۱۰).

جوامع میکروبی در توده زیستی: بر طبق پژوهش‌های این-کون (۲۰۱۲) بیش از ۲۰۰۰ گونه باکتریایی در آب توده زیستی به‌خوبی توسعه می‌یابد. در سیستم توده‌ساز زیستی در پرورش میگوی سفید غربی انواع مختلفی از گروه‌های باکتریایی وجود دارند که غالب آن‌ها گروه‌های *Vibrio* sp، *Vibrio rotiferianus*، *Photobacterium* sp، *Proteus mirabilis* و *Marinobacter goseongensis* می‌باشند که گونه *Vibrio rotiferianus* بیش‌ترین فراوانی را داراست (لوئیس- ویلاسنور و همکاران، ۲۰۱٦).

در مطالعه کاردونا و همکاران (۲۰۱٦) شاخه‌های مختلفی از باکتری‌ها شامل *Protobacteria*،

Actinobacteria، *Cyanobacteria*، *Bacteroidetes*، *Verrumibrobia*، *Planctomycetes* را در سیستم پرورش توده‌ساز زیستی میگوی *Litopenaeus stylirostris* شناسایی کردند که در آغاز شکل‌گیری توده زیستی *Protobacteria* بیش‌ترین فراوانی (با ٦٠ درصد) را در تیمار توده‌ساز داشت. این شاخه از باکتری‌ها در آب دریا پراکنش وسیع دارند و نقش مهمی در فرآیندهای بازیافت مواد مغذی و معدنی کردن ترکیبات آلی دارند (کرستر و همکاران، ٢٠٠٦). شاخه *Bacteroidetes* رتبه دوم فراوانی نسبی را در تیمار توده‌ساز (٢١/٩ درصد) و تیمار آب شفاف (٣٠ درصد) نشان داد، این گروه از باکتری‌ها عضو غالب باکتریوپلانکتون هتروتروفیک دریایی هستند و به‌صورت کلونی‌های ماکروسکوپی روی ذرات آلی یافت می‌شوند (وبکن و همکاران، ٢٠٠٧). شاخه *Cyanobacteria* رتبه سوم فراوانی نسبی را در تیمار توده‌ساز (٨/٥ درصد) و تیمار آب شفاف (١٣ درصد) دارا بود به‌طوری‌که این سه شاخه بیش از ٩٠ درصد کل باکتری‌های فعال در دو سیستم را به خود اختصاص دادند (جدول ١).

جدول ١- فراوانی نسبی برخی از گروه‌های باکتریایی شناسایی‌شده در دو سیستم پرورش تعویض آب و سیستم توده‌ساز زیستی در پرورش متراکم میگوی *L. stylirostris* (کاردونا و همکاران، ٢٠١٦).

شاخه باکتریایی	تیمار تعویض آب	تیمار توده‌ساز زیستی
Proteobacteria	٥٠/٤٠	٦٠/٠٧
Bacteroidetes	٣٠/٠٤	٢١/٨٦
Cyanobacteria	١٢/٩٦	٨/٤٨
Euryarchaeota	٢/٧٧	٠
Actinobacteria	٢/٢٠	٢/١٣
Planctomycetes	٠/٣٦	١/٥٨
Verrumibrobia	٠/٣٣	١/٣٧
Chloroflexi	٠/٣١	٠/٣١
Crenarchaeota	٠/١٧	٠

در تیمار توده‌ساز زیستی *Leucothrix* (٢٠/١ درصد)، *Rhodobacteraceae* (١٦/٤ درصد)، *Stramenoliles* (٨ درصد)، *Oceanospirillaceae* (٥/٥ درصد) و *Saprospiraceae* (٤/٧ درصد) غالب‌ترین واحدهای تاکسونومیک بودند. در شرایط تعویض آب *Cryomorpgaceae* (٢٤/٦ درصد)، *Pelagibacteraceae* (١٠/١ درصد)، *Stramenopiles* (٨/٤ درصد)، *Glaciecola* (٥/٦ درصد) و *Colwelliaceae* (٤/٩ درصد) بیش‌ترین واحدهای تاکسونومیک باکتریایی را نشان دادند. تغییر در فراوانی نسبی پنج گروه اصلی غالب در تیمار توده‌ساز زیستی می‌تواند به‌دلیل تغییر در فاکتورهای شرایط زیست باشد. در تیمار توده‌ساز زیستی پارامترهای فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی مثل کلروفیل a، نیتریت و کل نیتروژن آمونیاکی در هر زمان قابل تغییر است اما در شرایط تعویض آب پارامترهای مذکور روند ثابتی را نشان می‌دهند، که تغییر شرایط محیطی بر تراکم باکتری‌ها تأثیر می‌گذارد (کاردونا و همکاران، ٢٠١٦).

تراکم باکتری جنس *Leucotrix* با افزایش طول دوره پرورش در سیستم توده‌ساز زیستی افزایش نشان داد به‌طوری‌که پیک آن ٤٠/٢ درصد از کل باکتری را شامل شد (کاردونا و همکاران، ٢٠١٦). نیتریت به‌عنوان یک منبع رشد برای این جنس می‌باشد علاوه بر این جنس *Leucotrix* برای بقاء نیاز است که به یک سطح بچسبد، غلظت بالای توده‌های زیستی در سیستم توده زیستی می‌تواند به‌عنوان سطح مناسب برای این جنس باکتری استفاده شود (بلند و بروک، ١٩٧٣).

خانواده باکتریایی *Oceanospirillaceae* قبل از شروع آزمایش تراکم (٤٣/١ درصد از کل باکتری‌ها) را نشان داد ولی به‌طور قابل‌توجهی تراکم آن بعد از ٢ روز از آزمایش کاهش (١/٢ درصد) یافت. جنس *Marinomonas* بیش‌ترین تغییر را بعد از شروع آزمایش نشان داد، تغییر ناگهانی در تراکم این باکتری را می‌توان به افزایش بیش‌تر بیومس میگو بین شروع آزمایش و نقطه‌ای که توده‌های زیستی به‌خوبی توسعه یافتند، نسبت داد (کاردونا و همکاران، ٢٠١٦). باکتری‌های *Bacteroidetes Saprospiraceae* فقط در تیمارهای توده زیستی یافت می‌شوند که ارتباط مثبتی با غلظت آمونیاک دارند این رده از باکتری‌ها می‌توانند به آسانی مواد آلی را مصرف کنند (گائو و همکاران، ٢٠١٢). باکتری *Rhodobacteraceae*، در تراکم بالا در توده‌های زیستی یافت می‌شود که به وفور در سیستم‌های بیوفیلم آبزی‌پروری یافت شده است (هجیلم و همکاران، ٢٠٠٤). این باکتری به‌عنوان ارگانیسم فعال تشکیل‌دهنده بیوفیلم می‌باشد و هم‌چنین در تشکیل کلنی‌های سطحی به‌عنوان گروه اول و غالب در محیط‌های دریایی شناخته می‌شود (دنگ و لوول، ٢٠٠٢). توانایی آن‌ها در تشکیل کلنی‌های سطحی مزیت قابل‌توجهی به باکتری *Rhodobacteraceae* در سیستم توده‌ساز زیستی می‌دهد که در تشکیل کل مواد جامد معلق دارای اهمیت هستند. به‌علاوه این خانواده باکتریایی فعالیت‌های متابولیکی وسیعی از خود بروز می‌دهد. گروه باکتریایی *Rhodobacter* می‌تواند یک جامعه باکتریایی مفید (مخالف پاتوژن) در محیط پرورش لارو ماهی توربوت ایجاد کند و بدین‌وسیله رشد و بقای باکتری‌های بیماری‌زا را محدود می‌کند (هجیلم و همکاران ٢٠٠٤).

در مطالعه کاردونا و همکاران (٢٠١٦) خانواده باکتری *Rhodobacteraceae* نقش مهمی در حفظ و سلامتی سیستم پرورش بازی کردند، به‌طوری‌که جمعیت باکتریایی *Vibrionales* بیماری‌زا در تیمار آب شفاف ٦ درصد کل (١/٣ درصد *Pseudoalteromonadaceae* و ٤/٧ درصد *Vibrionaceae*)، در شرایط توده زیستی فقط ١/٥ درصد (١/٤ درصد *Pseudoalteromonadaceae* و ٠/١ درصد *Vibrionaceae*) را نشان داد. باکتری ویبریو متعلق به خانواده *Vibrionaceae* به‌عنوان عامل بیماری‌زا برای دوره لاروی و جوونایل سخت‌پوستان- میگو شناخته می‌شود (وبستر و همکاران، ٢٠٠٦). باکتری ویبریو تراکم کم‌تری در تیمار توده زیستی نسبت به تیمار کنترل (٠/٠١ درصد در تیمار توده زیستی در مقابل ٠/٧٣ درصد در تیمار آب شفاف) نشان می‌دهد در نتیجه میگوهای پرورش‌یافته در سیستم توده‌ساز زیستی کم‌تر در معرض بیماری ویبریوزیس قرار می‌گیرند. در شرایط تعویض آب ٨٠/٢ درصد از کل باکتری‌های *Vibrionaceae* گونه *Photobacterium damaselae* می‌باشد، این گونه به‌عنوان عامل بیماری‌زا برای آبزیان دریایی شناخته شده است (فوز و همکاران، ٢٠٠٠). سیستم توده‌ساز زیستی می‌تواند افزایش تراکم این گونه را در سیستم پرورش محدوده کرده و خطر بیماری‌زایی آن را به حداقل برساند. خانواده باکتریایی

Rhodobacteraceae می‌تواند بقاء باکتری‌های بیماری‌زا را در سیستم توده زیستی نسبت به سیستم تعویض آب محدود کند (کاردونا و همکاران، ۲۰۱٦). توده زیستی فعالیت بیوکنترلی در برابر *Vibrio harveyi* نشان می‌دهد که بیماری‌زایی آن می‌تواند با فرآیندهای ارتباطی سلول به سلول که دریافت احاطه حداکثری[1] نامیده می‌شود، کنترل شود (کرب و همکاران ۲۰۱۰). تفاوت در جوامع میکروبی سیستم‌های توده‌ساز زیستی و تعویض آب به سطح بالای مواد آلی و غلظت مواد مغذی موجود در سیستم BFT مربوط است. تیمارهای توده زیستی با باکتری‌های متعلق به *Gammaproteobacteria Thiotrichaceae Leucothrix*، *Alphaproteobacteria Rhodobacteraceae* و *Bacteroidetes Saprospiraceae* مشخص می‌شوند (کاردونا و همکاران، ۲۰۱٦). این باکتری‌ها برای رشد و توسعه مواد آلی و ترکیبات نیتروژن را استفاده می‌کنند که این شرایط در سیستم توده‌ساز زیستی وجود دارد. توانایی چسبیدن به ذرات معلق و سطوح و هم‌چنین استفاده از مواد آلی از ویژگی‌های فیزیولوژیکی قابل‌توجه باکتری‌ها در توده زیستی می‌باشد. گروه‌های باکتریایی شناخته شده در سیستم‌های تعویض آب اساسا شامل خانواده‌های *Alteromonadaceae*، *Cryomorphaceae* و *Pelagibacteraceae* هستند که خاصیت‌های از آب‌های الیگو تروف دارند (کاردونا و همکاران، ۲۰۱٦).

در مطالعه مایا و همکاران (۲۰۱٦) در سیستم توده‌ساز زیستی برای پرورش ماهی *Puntius conchonius*، باکتری‌های مرتبط با توده زیستی آنالیز گردید در هفته‌های اول دوره پرورش باکتری جنس‌های *Aeromonas* و *Vibrio* غالب بودند. در هفته ۱۲ غلظت این دو باکتری در محیط پرورش خیلی پایین نشان داد اما در دو هفته آخر تراکم باکتری *Bacillus subtilis* و مخمر *Rhodotorulla* sp افزایش یافت که خاصیت پروبیوتیکی از خود بروز دادند. پژوهشگران بیان کردند که سیستم توده‌ساز زیستی می‌تواند به‌عنوان مدل توالی اکولوژیکی میکروبی مورد بررسی قرار گیرد. در مطالعه مونروی و همکاران (۲۰۱۳) شناسایی و تخمین فراوانی میکروارگانیسم‌های مرتبط به سیستم پرورش توده زیستی (در پرورش ماهی تیلاپیا) را بررسی کردند. نتایج نشان داد که در فراوانی جوامع میکروارگانیسم‌های مختلف مرتبط با توده‌های زیستی در طول دوره ۱٤ هفته آزمایش تغییراتی وجود دارد، در هفته‌های اول تراکم باکتری‌های بیماری‌زا (*Aeromonas* و *Vibrio*) بالا بود اما بتدریج با افزایش دوره تراکم باکتری‌های هتروتروف افزایش نشان داد. گروه‌های اصلی یافت شده در توده شامل باکتری‌ها، جلبک‌ها، مژک‌داران، تاژک‌داران، روتیفرها و نماتودها بودند. نتایج تأیید کرد که توده زیستی‌ها به‌طور قابل‌توجهی به‌عنوان منبع غذایی طبیعی در مخازن پرورش ماهی تیلاپیا مشارکت دارند. تعداد زیادی از ارگانیسم‌هایی که مرتبط با توده زیستی بودند شامل جوامع میکروبی هتروتروفیک مانند جنس‌های *Sphingomonas* (*Sphingomonas paucimobilis*)، *Pseudomonas* (*Pseudomonas luteola*، *Pseudomonas mendocina*)، *Bacillus*، *Micrococcus*، *Nitrospira*، *Nitrobacter* و مخمر *Rhodotorula* می‌باشند، در پایان اشاره کردند که این میکروارگانیسم‌ها برای حفظ کیفیت آب و سلامت فیزیولوژیکی آبزی مورد پرورش مناسب هستند. در سیستم تولید توده زیستی توسعه گروه‌های میکروبی می‌تواند با توجه به نوع گونه پرورش، شرایط محیطی، میزان غذا و به‌ویژه منبع کربن استفاده شده، متغیر باشد (مونروی و همکاران، ۲۰۱۳).

1- Quorum sensing

در مطالعه فرریرا و همکاران (۲۰۱۷) گونه‌های از جنس *Bacillus*، از توده‌های میکروبی در سیستم پرورش توده زیستی میگوی سفید غربی جداسازی گردید، مشخص گردید که سیستم پرورش توده‌ساز زیستی می‌تواند به‌عنوان یک منبع طبیعی پروبیوتیک عمل کند و به نوعی قادر باشد کنترل زیستی آب را در سیستم‌های فوق متراکم آبزی‌پروری بر عهده گیرد. سیستم توده‌ساز زیستی یک استراتژی جدید برای کنترل پاتوژن‌های بیماری‌زا می‌باشد بدون این‌که از مواد شیمیایی آنتی‌بیوتیک و آنتی‌قارچ‌ها استفاده گردد، مدفوع خارج شده توسط آبزی با جوامع مفید میکروبی موجود در سیستم پیوند شده و یک سیستم غنی را ایجاد می‌کند. با اضافه کردن مواد آلی کربن‌دار به سیستم تراکم باکتری‌های مفید افزایش یافته در نتیجه رقابت شدید بین باکتری‌های پروبیوتیک طبیعی با پاتوژن‌ها در سیستم شکل می‌گیرد که منجر به منزوی شدن پاتوژن‌های بیماری‌زا می‌گردد (مونروی و همکاران، ۲۰۱۵؛ کرب و همکاران، ۲۰۱۰).

در برخی مطالعات جوامع میکروبی فعال در سیستم توده‌ساز زیستی با اضافه کردن پروبیوتیک به سیستم مورد بررسی قرار گرفته که اثرات آن بهبود کیفیت آب محیط پرورش (تبدیل ترکیبات نیتروژنی مضر سریع‌تر اتفاق افتاد)، افزایش عملکرد رشد آبزی پرورش یافته، جذب بهتر مواد مغذی و بهبود پاسخ ایمنی بوده است (یاماشیتا و همکاران، ۲۰۱۶؛ فرریرا و همکاران، ۲۰۱۷). در مطالعه رآی و همکاران (۲۰۱۰) ویژگی‌های جوامع میکروبی در سیستم آبزی‌پروری با تعویض آب محدود تحت‌تأثیر مدیریت مواد جامد معلق را بررسی کردند. در پایان بیان کردند که حذف مواد جامد از محیط پرورش به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) فراوانی نماتودها، روتیفرها، سیانوباکترها و باکتری‌ها را کاهش می‌دهد و تأثیر آن بر فراوانی کلروفیت‌ها، دیاتومه‌ها و دینوفلاژلاتا معنی‌دار نبود. در مطالعه لوآریرو و همکاران (۲۰۱۲) استفاده از پروتوزوآ، روتیفرها و نماتودها به‌عنوان غذای زنده برای پرورش پست‌لاروی میگوی سفید غربی در سیستم توده‌ساز زیستی را بررسی کردند. آنالیز محتوای روده میگو نشان داد که میگوها از مژه‌داران تغذیه می‌کنند. در اغلب تیمارها، در ابتدای دوره افزایش قابل‌توجهی از تاژک‌داران، در اواسط دوره آزمایش کاهش مژه‌داران و در انتهای دوره آزمایش افزایش در فراوانی مژه‌داران و روتیفرها مشاهده شد. در پایان اشاره کردند که این ارگانیسم‌ها به‌طور مؤثر و مفید توسط میگوها شکار می‌شوند و مطالعه آن‌ها نشان داد که مژه‌داران، روتیفرها و نماتودها نقش مهمی را به‌عنوان غذای زنده در تفریخگاه‌های میگوی سفید غربی به‌دلیل سایز مناسب، ارزش غذایی و جذب بالا بازی می‌کنند. در مطالعه گودوی و همکاران (۲۰۱۲) تأثیر حضور دیاتومه‌ها در طول دوره پرورش نوزادی میگوی سفید غربی در سیستم پرورشی با تعویض آب محدود و هتروتروفیک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آن‌ها بر اهمیت دیاتومه‌ها در سیستم‌های بدون تعویض آب بر پایه توده زیستی تاکید کرد که استفاده از دیاتومه در این سیستم سبب بهبود عملکرد میگوی سفید غربی می‌شود. مطالعات مختلفی در زمینه به‌کارگیری پروبیوتیک‌ها در سیستم توده‌ساز زیستی انجام گرفته است در مطالعه پرنتا و همکاران (۲۰۱۶) استفاده از پروبیوتیک *Bacillus amyloliquefaciens* در جهت بهبود سیستم ایمنی میگوی سفید غربی بررسی شد که نتیجه آن مثبت ارزیابی گردید. پرورش جوونایل‌های *Clarias gariepinus* در سیستم توده‌ساز زیستی با

اضافه کردن پروبیوتیک *Bacillus* sp و ملاس انجام گرفت. طبق نتایج، عملکرد بهتر رشد (۳۰ درصد بیش‌تر) در حضور فلاک و پروبیوتیک نسبت به تیمار کنترل به‌دست آمد (هاپساری، ۲۰۱٦). در مطالعه کراممنور و همکاران (۲۰۱٤) پروبیوتیک‌های تجاری به سیستم توده‌ساز زیستی برای پرورش میگوی سفید غربی اضافه گردید نتایج نشان داد که بیماری ویبریوزیس کنترل شده و میزان بقاء نیز در تیمارهای توده زیستی نسبت به کنترل افزایش نشان داد. برخی از مطالعات انجام‌شده در زمینه به‌کارگیری پروبیوتیک‌ها در سیستم توده‌ساز زیستی در جدول ۲ ارائه شده است.

تاثیر محیط پرورش بر جوامع میکروبی دستگاه گوارش: در سیستم پرورش رابطه‌ای نزدیک بین میکروارگانیسم‌های محیط و میکروفلور بومی لوله گوارش آبزی وجود دارد (گاتسوپی، ۱۹۹۹). در مطالعه کاردونا و همکاران (۲۰۱٦) ترکیب و توزیع باکتریایی در دستگاه گوارش میگوی *L. stylirostris* بعد از ۳۵ روز پرورش در دو سیستم تعویض آب و توده‌ساز زیستی بررسی شد. فراوانی نسبی باکتری‌های دستگاه گوارش میگو تحت پرورش در دو سیستم BFT و CW در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۲- برخی از مطالعات انجام شده در زمینه به‌کارگیری پروبیوتیک‌ها در سیستم تولید توده زیستی.

نتایج بدست آمده	نوع پروبیوتیک استفاده‌شده	گونه مورد مطالعه	محقق
پروبیوتیک استفاده شده همراه با ملاس از رشد پاتوژن‌ها جلوگیری کرده و باکتری‌های مفید را تحریک می‌کند.	*Bacillus*	*Litopenaeus vannamei*	هو و همکاران، ۲۰۱۷
حضور پروبیوتیک در سیستم توده زیستی ایمنی همورال میگو را بهبود می‌دهد.	*Bacillus subtilis* & *Lactobacillus*	*Macrobrachium rosenbergii*	می‌آیو و همکاران، ۲۰۱۷
از تشدید تراکم باکتری ویبریو در حضور پروبیوتیک و توده زیستی کاسته شد و میزان غلظت آن کنترل گردید.	*Bacillus subtilis* & *B. licheniformis*	*Litopenaeus vannamei*	فرریرا و همکاران، ۲۰۱۷
عملکرد رشد و پاسخ‌های ایمنی میگو در غلظت‌های مختلف پروبیوتیک و توده زیستی نسبت به تیمار کنترل بهبود نشان داد.	*Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp. & *Rhodobacter* sp.	*Fennerpenaeus chinensis*	کیم و همکاران، ۲۰۱۵
میزان بقاء و وزن ماهی به‌طور قابل‌توجهی در تیمارهای توده زیستی با افزودن پروبیوتیک نسبت به گروه کنترل بالاتر بود.	*Bacillus subtilis* & *Lactobacillus acidophilus*	*Oreochromis niloticus*	آلی و همکاران، ۲۰۰۸

فلور میکروبی دستگاه گوارش میگو در دو سیستم پرورش با باکتری‌های *Gammaproteobacteria* *Vibrionales* غالب بود، که در تیمارهای CW (٦۹/۲ درصد) و در تیمار میگوهای پرورش‌یافته در سیستم BFT (۵۸/٦ درصد از کل فراوانی) با این باکتری‌ها مشخص گردید. در مطالعات دیگر نیز گزارش شده که این گروه از باکتری‌ها دارای فراوانی نسبی بالایی در دستگاه گوارش *Peneaus monodon* ،*Litopenaeus vannamei* و *Fenneropenaeus chinensis* هستند (ژانگ و همکاران، ۲۰۱٤).

جدول ۳- فراوانی نسبی باکتری‌های شناسایی‌شده در دستگاه گوارش میگو *L. stylirostris* در شرایط مختلف پرورش تیمار تعویض آب (CW) و تیمار توده‌ساز زیستی (BFT) را نشان می‌دهد (کاردونا و همکاران، ۲۰۱۶).

Taxa	تیمار تعویض آب	تیمار توده‌ساز زیستی
Gammaproteobacteria Vibrionales	٦٩/١٨	٥٨/٦٠
Alphaproteobacteria Rhodobacterales	١٢/٩٩	٢/٠٢
Chloroplast Stramenopiles	١٠/٥٣	٠/١٤
Bacteroidia Bacteroidales	٠/٠١	٦/٧٤
Flavobacteriia Flavobacteriales	١/٨٧	٥/٥٣
Gammaproteobacteria Alteromonadales	١/٥٧	١/١١
Mollicutes	١/٢٩	٥/٩٥

باکتری‌های *Alphaproteobacteria Rhodobacterales* رتبه دوم فراوانی نسبی دستگاه گوارش میگو به‌میزان ۱۳ درصد (در تیمار CW) و ۲ درصد (در تیمار BFT) را نشان دادند. در فراوانی باکتری‌های *Chloroplast Stramenopiles* تفاوت معنی‌داری بین تیمارها (۱۰/۵ درصد در دستگاه گوارش میگو CW و کم‌تر از ۲ درصد در دستگاه گوارش میگو BFT) به‌دست آمد. باکتری‌های *Flavobacteriia Flavobacteriales* و *Bacteroidia Bacteroidales* متعلق به *Bacteroidetes* و باکتری‌های *Mollicutes* متعلق به شاخه *Tenericutes* به‌ترتیب فراوانی نسبی ۵/۵، ٦/٧ و ٦ درصد در دستگاه گوارش میگوهای BFT و کم‌تر از ۲ درصد در دستگاه گوارش میگوهای CW مشاهده شد. باکتری‌های خانواده *Pseudoalteromonadaceae* به‌ترتیب ۸/۲ درصد و ۰/۸ درصد در دستگاه گوارش میگوهای CW و BFT نشان داد. فراوانی خانواده *Vibrionaceae* ٥٧/٦ درصد و ٥٤/٥ درصد به‌ترتیب در دستگاه گوارش میگوهای CW و BFT نشان دادند. *Photobacterium* ۸۲ تا ۸۹ درصد از کل باکتری‌های *Vibrionaceae* را در دستگاه گوارش همه میگوها تشکیل داد در حالی‌که باکتری *Vibrio* بقیه را به خود اختصاص داد و میزان کم‌تری در دستگاه گوارش میگوها دارا بود (کاردونا و همکاران، ۲۰۱٦). مطالعات نشان داده فلور میکروبی دستگاه گوارش میگو برخواسته از محیط پرورش می‌باشد (ونگ و همکاران، ۲۰۱٤). در مطالعه کاردونا و همکاران (۲۰۱٦) جوامع میکروبی دستگاه گوارش میگو در تیمارهای تعویض آب و توده زیستی مورد بررسی قرار گرفت که فقط ۲۷ درصد تشابه فلور میکروبی وجود داشت. نتایج آن‌ها نشان داد که ترکیب جوامع میکروبی دستگاه گوارش میگوی پرورش یافته در سیستم تعویض آب نسبتاً شبیه به جوامع میکروبی محیط پرورش بود. طبق آنالیز شبیه‌سازی، سه دسته اصلی عدم تجانس بین دو تیمار (CW و BFT) باکتری‌های *Cryomorphaceae* sp.، *Photobacterium damselae* و *Pelagibacteraceae* (به‌ترتیب ١٣/٦، ١٣/٣ و ٦/٥ درصد) بودند. به‌طور قابل‌توجهی فراوانی این سه دسته باکتری در دستگاه گوارش میگوهای پرورش‌یافته در تیمار CW و محیط آب پرورش آن بالاتر از تیمار BFT و محیط آب آن بود که اثرپذیری فلور میکروبی دستگاه گوارش از محیط آب اطراف را تائید می‌کند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که ترکیب باکتریایی محیط آب پرورش BFT بر روی جوامع و

فلور میکروبی دستگاه گوارش میگو تأثیر می‌گذارد. با این وجود جوامع میکروبی دستگاه گوارش میگوهای پرورش‌یافته در سیستم توده‌ساز زیستی و سیستم تعویض آب تفاوت ویژه‌ای دارند.

نتیجه‌گیری

فن‌آوری تولید توده زیستی از جمله فن‌آوری‌های قابل‌قبول در صنعت پرورش آبزیان می‌باشد که در دهه اخیر در خیلی از کشورها با استقبال روبه رو شده است. امروزه این فن‌آوری به‌طور موفقیت‌آمیزی در کشورهای مختلف در حال به‌کارگیری می‌باشد. طبق مطالعات جوامع میکروبی نقش فعالی را در سیستم توده‌ساز زیستی بر عهده دارند. افزایش عملکرد رشد، بهبود کیفیت آب، پاسخ ایمنی بهتر در مقابل پاتوژن‌ها از فواید حضور جوامع میکروبی در سیستم بدون تعویض آب است. پرورش ماهی و میگو در سیستم بدون تعویض آب توده‌ساز زیستی عملکرد محصول بالاتری می‌دهد هم‌چنین میزان استفاده از غذای کنسانتره را تا بیش از ۳۰ درصد کاهش داده، استفاده محدود از آب و بهبود کیفیت آب با تبدیل ترکیبات زائد نیتروژن به فرم‌های دیگر از مزایای دیگر این سیستم می‌باشد. جوامع میکروبی در محیط‌های پرورشی مختلف (سیستم‌های توده‌ساز زیستی و تعویض آب) و در دستگاه گوارش میگوهای پرورش‌یافته در این سیستم‌ها، متنوع و تفاوت ویژه‌ای دارند. محیط پرورش نیز متقابلاً از جوامع میکروبی دستگاه گوارش تأثیر می‌پذیرد. طبق مطالعات محیط آب سیستم پرورش تنوع جوامع میکروبی را تعیین می‌کند به‌طوری‌که چهار تا از پنج جوامع باکتریایی مهم بین دو سیستم پرورش توده‌ساز زیستی و تعویض آب متفاوت هستند. تأثیر حضور جوامع میکروبی در سیستم توده‌ساز زیستی نیاز به بررسی بیش‌تر دارد. به‌دلیل این‌که نتایج، بیش‌تر به نوع جوامع میکروبی و غلظت آن‌ها در سیستم بستگی دارد. در پایان نتیجه می‌شود که در جوامع میکروبی وابسته به توده انواع مختلفی از جنس‌ها و گونه‌های باکتریایی وجود دارد که در بین آن‌ها باکتری‌های فتواتوتروفیک، شیمواتوتروفیک و هتروتروفیک از باکتری‌های فعال در جذب ترکیبات غیرآلی نیتروژن هستند. هم‌چنین انواعی از باکتری‌های مضر و بیماری‌زا از جمله انواع ویبریوها نیز در توده شکل می‌گیرند که با افزودن منبع آلی کربن‌دار سیستم را به‌سمت رشد و توسعه باکتری‌های مفید مانند انواع باسیلوس‌ها هدایت کرده که این باکتری‌ها منجر به احاطه‌سازی و محدود کردن باکتری‌های بیماری‌زا به‌صورت سیستم ارتباطی سلول به سلول می‌گردد که یک استراتژی جدید برای کنترل باکتری‌های بیماری‌زا در آبزی‌پروری است. در جوامع میکروبی مرتبط با توده‌های زیستی در طول دوره پرورش تغییراتی وجود دارد، به‌طوری‌که در هفته‌های اول تراکم باکتری‌های بیماری‌زا (آئروموناس، ویبریو و ...) بالا بوده اما به‌تدریج با افزایش دوره تراکم باکتری‌های مفید هتروتروف (باسیلوس‌ها، لاکتوباسیلوس‌ها و ...) افزایش نشان می‌دهد. هوادهی، افزودن مواد آلی کربن‌دار به سیستم، تنظیم نسبت کربن به نیتروژن، کنترل میزان مواد جامد قابل ته‌نشین از جمله اقدامات مؤثر در جهت کنترل تراکم باکتری‌های مفید و محدود کردن باکتری‌های مضر در این سیستم می‌باشد. مطالعات پویایی جوامع میکروبی برای افزایش دانش در این زمینه (برای پژوهشگران، مدیر مزارع و پرورش‌دهندگان) بسیار دارای اهمیت است. مطالعه روی میکروبیوم توده زیستی دید وسیعی در فراوانی، تنوع و اکولوژی باکتری‌ها می‌دهد و می‌توان به شناخت دقیق عملکرد باکتری‌ها به‌عنوان یک بیوتکنولوژی در آبزی‌پروری رسید.

منابع

1. Alonso-Rodriguez, R., and Paez-Osuna, F. 2003. Nutrients, phytoplankton and harmful algal blooms in shrimp ponds: a review with special reference to the situation in the Gulf of California. *Aquaculture*, 219: 317-336.
2. Aly, S.M., Ahmed, Y.A., Ghareeb, A.A., and Mohamed, M.F. 2008. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus,* as potential probiotics, on the immune response and resistance of Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish & Shellfish Immunology*, 25: 1. 128-136.
3. Avnimelech, Y. 2009. Biofloc Technology: A Practical Guide Book. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. 182p.
4. Avnimelech, Y. 2012. Biofloc technology. A practical guide book. *The World Aquaculture Society*, Baton Rouge, 272p.
5. Avnimelech, Y., Kochva, M., and Diab, S. 1994. Development of controlled intensive aquaculture systems with a limited water exchange and adjusted carbon to nitrogen ratio. *Bamidgeh*, 46: 119-131.
6. 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: 3590-3599.
7. Bentzon, T.M., Sonnenschein, E.C., and Gram, L. 2016. Monitoring and managing microbes in aquaculture–Towards a sustainable industry. *Microbial Biotechnology*, 9: 5. 576-584.
8. Bland, J.A., and Brock, T.D. 1973. The marine bacterium *Leucothrix mucor* as an algal epiphyte. *Marine Biology*, 23: 4. 283-292.
9. Burford, M.A., Thompson, P.J., McIntosh, R.P., Bauman, R.H., and Pearson, D.C. 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. *Aquaculture,* 232: 525-537.
10. Cardona, E., Gueguen, Y., Magré, K., Lorgeoux, B., Piquemal, D., and Pierrat, F. 2016. Bacterial community characterization of water and intestine of the shrimp *Litopenaeus stylirostris* in a biofloc system. *BMC Microbiology*, 16: 1. 1-9.
11. 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*. *J. Appl. Microbiol.* 109: 5. 1643-1649.
12. Dang, H., and Lovell, C.R. 2002. Numerical dominance and phylotype diversity of marine *Rhodobacter* species during early colonization of submerged surfaces in coastal marine waters as determined by 16S ribosomal DNA sequence analysis and fluorescence in situ hybridization. *Applied Environmental Microbiology*, 68: 2. 496-504.
13. Das, S., Mondal, K., and Haque, S. 2017. A review on application of probiotic, prebiotic and symbiotic for sustainable development of aquaculture. *J. Entomol. Zool. Stud.* 5: 2. 422-429.
14. De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., and Verstraete, W. 2008. The basics of bioflocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture*, 277: 3. 125-137.
15. Emerenciano, M., Ballester, E., OCavalli, R., and Wasielesky, W. 2012. Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for Pink shrimp *Ferfantepanaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquaculture Research*, 43: 3. 447-457.
16. Ferreira, G.S., Bolivar, N.C., Pereira, S.A., Guertler, C., do Nascimento Vieira, F., and Mouriño, J.L.P. 2015. Microbial biofloc as source of probiotic bacteria for the culture of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 448: 273-279.
17. Ferreira, M.G.P., Melo, F.P., Lima, J.P.V., Andrade, H.A., Severi, W., and Correia, E.S. 2017. Bioremediation and biocontrol of commercial probiotic in

marine shrimp culture with biofloc. *Latin Amer. J. Aqua. Res.* 45: 1. 167-176.
18. Focken, U., Groth, A., Coloso, R.M., and Becker, K. 1998. Contribution of natural food and supplemental feed to the gut content of Penaeus monodon Fabricius in a semi intensive pond system in the Philippines. *Aquaculture*, 164: 105-116.
19. Fouz, B., Toranzo, A.E., Milan, M., and Amaro, C. 2000. Evidence that water transmits the disease caused by the fish pathogen *Photobacterium damselae* subsp. *damselae. J. Appl. Microbiol.* 88: 3. 531-5.
20. Gao, D.W., Tao, Y., and An, R. 2012. Digested sewage treatment using membrane-based process at different hydraulic retention times. *Desalination J.* 286: 187-92.
21. Gatesoupe, F.J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, 180: 1. 147-65.
22. Godoy, L.C., Odebrecht, C., Ballester, E., Martins, T.G., and Wasielesky, W.Jr. 2012. Effect of diatom supplementation during the nursery rearing of *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in a heterotrophic culture system. *Aquaculture International*, 20: 559-569.
23. Hapsari, F. 2016. The effect of fermented and non-fermented biofloc inoculated with bacterium *Bacillus cereus* for catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. *AACL Bioflux*, 9: 2. 334-339.
24. Hargreaves, J.A. 2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. Aquacultural Engineering, 34: 344-363.
25. Hjelm, M., Riaza, A., Formoso, F., Melchiorsen, J., and Gram, L. 2004. Seasonal incidence of autochthonous antagonistic Roseobacter spp. and *Vibrionaceae* strains in a turbot larva (*Scophthalmus maximus*) rearing system. *Applied Environmental Microbiology*, 70: 12. 7288-94.
26. Hu, X., Cao, Y., Wen, G., Zhang, X., Xu, Y., and Xu, W. 2017. Effect of combined use of *Bacillus* and molasses on microbial communities in shrimp cultural enclosure systems. *Aquaculture Research*, 48: 6. 2691-2705.
27. In-Kwon, J. 2012. Biofloc as disease control. International Water Congress, Busan, Korea.
28. Ju, Z.Y., Forster, I.P., and Dominy, W.G. 2009. Effects of supplementing two species of marine algae or their fractions to a formulated diet on growth, survival and composition of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture, 292: 237-243.
29. Kerster, K., De Vos, P., Gillis, M., Swings, J., Vandamme, P., and Stackebrandt, E. 2006. Introduction to the Proteobacteria. The Prokaryotes. In: Proteobacteria: *Alpha and Beta Subclasses*, 5: 3-37.
30. Khanjani, M.H., Sajjadi, M.M., Alizadeh, M., and Sourinejad, I. 2017 Nursery performance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) cultivated in a biofloc system: the effect of adding different carbon sources. *Aquaculture Research,* 48: 4. 1491-1501.
31. Khanjani, M.H., Sajjadi, M.M., Alizadeh, M., and Sourinejad, I. 2016. Study on nursery growth performance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) under different feeding levels in zero water exchange system. *Iran. J. Fish. Sci.* 15: 4. 1465-1484.
32. Khanjani, M.H., Alizadeh, M., Sajjadi M.M., and Sourinejad, I. 2015. Effect of different feeding levels on water quality, growth performance and survival of western white shrimp (*litopenaeus vannamei* boone, 1931) post larvae with application of biofloc technology. *Iran. Sci. Fish. J.* 24: 2. 13-28. (In Persian)
33. Khanjani, M.H., Alizadeh, M., Sajjadi M.M., and Sourinejad, I. 2016. Production and evaluation of biofloc for use in zero- water exchange rearing system, *J. Aquacul. Dev.* 10: 1. 33-40. (In Persian)
34. Kim, M.S., Min, E., Kim, J.H., Koo, J.K., and Kang, J.C. 2015. Growth performance and immunological and antioxidant status of Chinese shrimp, *Fennerpenaeus chinensis* reared in biofloc culture system using probiotics. *Fish & shellfish immunology*, 47: 1. 141-146.

35. Krummenauer, D., Samocha, T., Poersch, L., Lara, G., and Wasielesky, W. 2014. The reuse of water on the culture of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in BFT system. *J. World Aquacul. Soc.* 45: 1. 3-14.
36. Loureiro, C.K., Wasielesky, W.Jr., and Abreu, P.C. 2012. The use of protozoan, rotifers and nematodes as live food for shrimp raised in BFT system. *Atlantica, Rio Grande*, 34: 1. 5-12.
37. Luis-Villaseñor, I.E., Voltolina, D., Audelo, J.M., Pacheco, M.R., and Herrera, V.E. 2016. Romero E. Effects of biofloc promotion on water quality, growth, biomass yield and heterotrophic community in *Litopenaeus Vannamei* (Boone, 1931) experimental intensive culture. *Ital. J. Anim. Sci.* 14: 3. 332-337.
38. Maya, G.S., Monroy, D.M.C., Hamdan, P.A., Castro, M.J., and Rodríguez, M.G. 2016. Effect of two carbon sources in microbial abundance in a Biofloc culture system with *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Inter. J. Fish. Aqua. Stud.* 4: 3. 421-427.
39. Miao, S., Zhu, J., Zhao, C., Sun, L., Zhang, X., and Chen, G. 2017. Effects of C/N ratio control combined with probiotics on the immune response, disease resistance, intestinal microbiota and morphology of Giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *Aquaculture,* 476: 125-133.
40. Monroy, M.C., De Lara, R., Castro, J., and Castro, G. 2013. Emerenciano M. Microbiology community composition and abundance associated to biofloc in tilapia aquaculture. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 48: 3. 511-520.
41. Monroy, M.C., Rodriguez, G., Castro, J., and Becerril, D. 2015. Importance and function of microbial communities in aquaculture systems with no water exchange. *Sci. J. Anim. Sci.* 4: 9. 103-110.
42. Moss, S.M., Divakaran, S., and Kim, B.G. 2001. Stimulating effects of pond water on digestive enzyme activity in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquaculture Research*, 32: 125-131.
43. Pandiyan, P., Balaraman, D., Thirunavukkarasu, R., George, E.G.J., Subaramaniyan, K., and Manikkam, S. 2013. Probiotics in aquaculture. *Drug Invention Today*, 5: 1. 55-59.
44. Prentu, B.I., Giaccaglia, S.L.F., and Sempere, F.L. 2016. Aplicación de un probiótico compuesto por *Bacillus amyloliquefaciens* para mejorar el sistema inmunológico del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en sistemas de bioflóculos. Ciencias Ambientales. Gandia, 39.
45. Prindle, A., Samayoa, P., Razinkov, I., Danino, T., Tsimring, L.S., and Hasty, J. 2012. Sensing array of radically coupled genetic biopixels. *Nature*, 481: 7379. 39-44.
46. Ray, A.J., Lewis, B.L., Browdy, C.L., and Leffler, J.W. 2010. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, super intensive culture systems. *Aquaculture*, 299: 89-98.
47. Ray, A.J., Seaborn, G., Leffler, J.W., Wilde, S.B., Lawson, A., and Browdy, C.L. 2010. Characterization of microbial communities in minimal exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. *Aquaculture*, 310: 130-138.
48. Valle, B.C.S., Dantas, E.M., Silva, J.F.X., Bezerra, R.S., Correia, E.S., and Peixoto, S.R.M. 2015. Replacement of fishmeal by fish protein hydrolysate and biofloc in the diets of *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *Aquaculture Nutrition*, 21: 1. 105-112.
49. Wang, C.Z., Lin, G.R., Yan, T., Zheng, Z.P., Chen, B., and Sun, F.L. 2014. The cellular community in the intestine of the shrimp *Penaeus penicillatus* and its culture environments. *Fisherise Science*, 80: 5. 1001-1007.
50. Webster, N.S., Bourne, D.G., and Hall, M., 2006. *Vibrionaceae* infection in phyllosomas of the tropical rock lobster *Panulirus ornatus* as detected by fluorescence in situ hybridisation. *Aquaculture*, 255: 1. 173-8.

51. Woebken, D., Fuchs, B.M., Kuypers, M.M., and Amann, R. 2007. Potential interactions of practicle associated anammox bacteria with bacterial and archaeal partners in the Namibian upwelling system. *Applied Environmental Microbiology*, 73: 14. 4648-57.
52. Yamashita, T., Emoto, T., Sasaki, N., and Hirata, K.I. 2016. Gut microbiota and coronary artery disease. *Inter. Heart J.* 57: 6. 663-671.
53. Zhang, M., Sun, Y., Chen, K., Yu, N., Zhou, Z., Chen, L., Du, Z., and Li, E. 2014. Characterization of the intestinal microbiota in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed diets with different lipid sources. *Aquaculture*, 434: 449-55.
54. Zimba, P.V., Camus, A., Allen, E.H., and Burkholder, J.M. 2006. Co-occurrence of white shrimp, Litopenaeus vannamei, mortalities and microcystin toxin in a southeastern USA shrimp facility. *Aquaculture*, 261: 1048-1055.