اساس تکنولوژی بیوفلاک (توده ساز زیستی): تنظیم نسبت کربن به نیتروژن

محمد حسین خانجانی
گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه جیرفت، کرمان، ایران
m.h.khanjani@gmail.com

چکیده

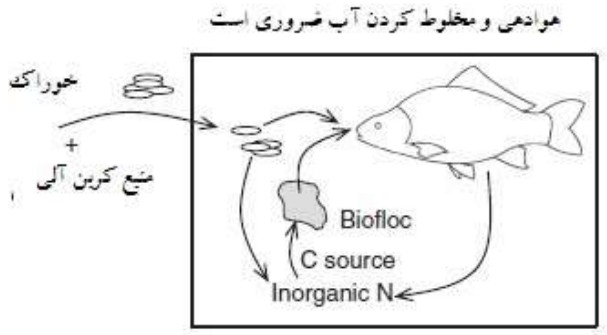
گسترش تولید آبزی پروری به دلیل اثرات زیست محیطی و وابستگی بیش از حد به پودر و روغن ماهی، با محدودیت مواجه شده است. فن آوری بیوفلاک (Biofloc technology) راه حل جدیدی برای حل مشکلات فوق در جهت رسیدن به اهداف توسعه آبزی پروری پایدار با استفاده از سیستم بدون تعویض آب می‌باشد. این تکنولوژی بر اساس تنظیم نسبت کربن به نیتروژن برای توسعه جوامع میکروبی و بیوفلاک است. با اضافه کردن کربوهیدرات به آب و تنظیم نسبت کربن به نیتروژن (C/N) باکتری‌های هتروتروف مواد مغذی را جذب نموده و تشکیل توده‌های زیستی را بهینه می‌نمایند و در نتیجه منجر به حذف نیتروژن آمونیاکی کل و نیتریت می گردند. اگر نسبت کربن به نیتروژن بخوبی در مخزن پرورش متعادل شود، مواد زائد نیتروژن دار به بیومس میکروبی تبدیل خواهد شد که توسط آبزی بعنوان خوراک مصرف می‌شود. در سیستم مذکور، رابطه میان افزودن کربوهیدرات، کاهش میزان آمونیاک و تولید پروتئین میکروبی بستگی به کارایی تبدیل میکروبی، نسبت کربن به نیتروژن در بیومس میکروبی و محتوای کربن مواد اضافه شده، دارد.در مطالعه حاضر اثرات مفید سیستم توده ساز زیستی، فرمول‌های پایه که نیاز هست نسبت کربن به نیتروژن تنظیم شود تا نیتروژن غیرآلی تجمع یافته در استخر کنترل شود، بحث خواهد شد.

کلمات کلیدی: سیستم توده ساز زیستی، نسبت کربن به نیتروژن

مقدمه

تکنولوژی بیوفلاک، تکنولوژی مناسب برای رسیدن به تولید پایدار و به‌عنوان سیستمی که توانایی فرایند خود نیتریفیکاسیون (Self-nitrification) را در استخرهای پرورش بدون تعویض آب دارد، شناخته شده است. آبزی از میکروارگانیسم‌های تجمع یافته به‌عنوان منبع غذایی مکمل استفاده می‌کند که در نتیجه افزایش تولید، کاهش ضریب تبدیل غذایی، افزایش امنیت زیستی، جلوگیری از وقوع بیماری‌ها و تولید پایدار اتفاق می‌افتد (آونیملچ، 2012) فناوری بیوفلاک در ابتدا به‌عنوان توده باکتریایی شناخته شد و در استخرهای پرورش تیلاپیا در اواخر 1980 (آونیملچ، 2012) و مزارع میگو در اواخر 1990 (مک این توش، 2000) بکارگیری شد. تکنولوژی مذکور از اواخر 2002 در استخرهای تجاری کوچک در اندونزی و مالزی استفاده شد (تاو، 2013). سیستم نیمه بیوفلاک (Semi-biofloc system) در استخرهای خاکی به‌طور موفقیت آمیز برای گونه‌های *P. monodon* (اسمیت، 2007) و *P. vannamei* (تاو، 2013) استفاده شده است. سیستم فوق متراکم بیوفلاک برای پرورش *P. vannamei* توسط موس (2006) و ساموچا (2007) مطالعه شد که به‌ترتیب به تولید 7/5 و 9/37 کیلوگرم بر مترمکعب رسیدند. برای ماهی تیلاپیا تولید 20 تا 40 کیلوگرم بر مترمکعب را در مخازن بتونی کوچک در سیستم بیوفلاک می‌توان انتظار داشت (آونیملچ، 2007). نیتروژن در سیستم بیوفلاک بصورت ازت مولکولی، آمونیاک، آمونیوم، نیتریت، نیترات و نیتروژن آلی وجود دارد. مشکل بزرگ در این سیستم نیتروژن غیرآلی (آمونیاک و نیتریت) می‌باشد که سمی هستند. بطور طبیعی به مقدار کافی نیتروژن در استخرها برای تولید سلول جدید وجود دارد. مواد پروتئینی فقیر و غنی از کربن (مثل سلولز، نشاسته بصورت آرد و ملاس) به سیستم بیوفلاک اضافه می‌شود که باکتری‌ها، کربوهیدرات و نیتروژن را به‌عنوان سوبسترا از آب می‌گیرند و پروتئین میکروبی تولید می کنند (شکل 1). مطالعات نشان داده که باکتری‌ها می‌توانند مقدار زیادی پروتئین (60 تا 600 کیلوگرم در هکتار در هر روز برای پرورش میگو و تیلاپیا) تولید کنند. باکتری‌ها و سایر میکروارگانیسم‌ها به‌عنوان "سیستم‌های بیوشیمیایی" بسیار کارآمد به کاهش و متابولیز بقایای آلی کمک می‌کنند (آونیملچ، 1999). به عبارت دیگر، آنها بازیافت مواد مغذی را از فرم مواد آلی و غیرآلی (خوراک‌های مصرف نشده و هضم نشده، بقایای متابولیکی و منبع کربن) به سلول های میکروبی جدید بسیار کارآمد انجام می‌دهند. همچنین در سیستم بیوفلاک باکتری‌های دنیتریفینگ (denitrifying) هوازی، منابع کربن آلی را برای رشد خود تحت شرایط هوازی مصرف می‌کنند و نیتروژن مولکولی را از نیتریت و نیترات موجود در آب پرورش با فرایند دنیتروفیکاسیون تولید می‌کنند. این فرایند، دلیل کاهش شدید میزان نیتریت در تانک‌های پرورشی است که به آن نشاسته

اضافه شده است (لی یو وهمکاران، 2014). کربوهیدرات‌های ساده مثل نشاسته و ملاس فورا توسط باکتری تجزیه شده و سریع واکنش نشان می‌دهند که بایستی بطور پیوسته جهت حفظ فعالیت بهینه باکتری‌های هتروتروف به مخزن پرورش اضافه شوند ولی کربوهیدرات‌های پیچیده مثل سلولز، آرد گندم و غلات نشاسته‌ای، به کندی توسط باکتری تجزیه شده که در نتیجه سطوح کربوهیدرات در تانک پرورش پایدار و زمان واکنش و پاسخ کندتر می‌باشد (سرا و همکاران، 2015; خانجانی و همکاران 2016). هدف از این مطالعه نحوی محاسبه و بکارگیری میزان کربوهیدرات مورد نیاز در سیستم بدون تعویض آب برای تنظیم نسبت کربن به نیتروژن می‌باشد.

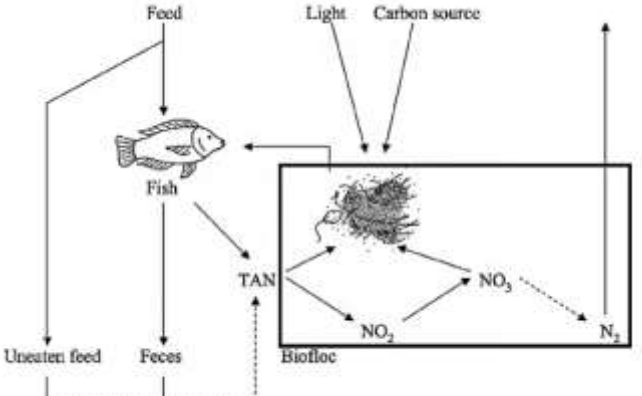


شکل 1- طرحی از سیستم بیوفلاک که می‌توان در سیستم آبزی پروری بکار گرفت.

حذف ترکیبات نیتروژن از استخرهای پرورش

آمونیوم یکی از محصولات انتهایی متابولیسم پروتئین و ماده اصلی دفعی حیوانات آبزی در سیستم آبزی‌پروری است (گائو و همکاران، 2012). آمونیاک و آمونیوم هر دو برای آبزی سمی هستند اما آمونیاک غیریونیزه در مقایسه با یون آمونیم سمیت بیشتری دارد. آستانه سمیت به شدت، اندازه و نوع گونه، اندازه ذرات، مقاومت مواد آلی، سطح فعالیت ترکیبات، فلزات، نیترات، شوری و pH بستگی دارد. آمونیاک و آمونیوم بسته به درجه حرارت و pH در تعادل هستند که مجموع این دو فرم کل نیتروژن آمونیاکی (Total ammonium nitrogen) نامیده می‌شود (بوید و تاکر، 2009). افزایش آمونیاک در استخر سمی بوده و غلظت بالای آن بر رشد، پوست‌اندازی (در سخت‌پوستان) و مصرف اکسیژن تاثیر داشته و حتی موجب مرگ و میر ماهی یا میگو می‌شود. افزایش غلظت نیتریت محیط نیز تاثیر منفی بر عملکرد رشد و بازماندگی ماهی و میگو دارد (مالاسن و والنتی، 2006) و همچنین مقاومت در برابر بیماری‌ها را کاهش می‌دهد (بروک و ماین، 1994). بسیاری از محققان در تلاش برای پیدا کردن راه‌حلی برای کاهش و یا حذف آمونیاک از سیستم‌های آبزی‌پروری هستند. تاکنون راه حل‌های مختلفی برای حذف آمونیاک از سیستم‌های آبزی‌پروری ارائه شده است از جمله، تعویض و جایگزین کردن آب، استفاده از سیستم‌های بیوفیلتراسیون در سیستم‌های مداربسته به کمک باکتری‌های شوره‌گذار (نیتروزوموناس و نیتروباکتر)، کاهش یا متوقف کردن غذادهی، متلاطم کردن آب استخر با وارد کردن آب تازه، کاهش تراکم ذخیره سازی، هوادهی استخر در مواقع اضطراری و کاهش سطح pH. این روش‌ها پرهزینه و در برخی مواقع پرزحمت بوده و به لحاظ اقتصادی امکان پذیر نیست یا سبب آسیب به آبزیان پرورشی می‌شود (تامپسون و همکاران 2002).

استفاده از سیستم مداربسته قابلیت حفظ سطوح آمونیاک و نیتریت را به‌وسیله فرایند نیتریفیکاسیون دارد (والنتی و دانیلس، 2000). با این حال، استفاده از این سیستم نسبتا گران بوده و در طی اختلال در این فرایند، ممکن است سطوح نیتریت در آب افزایش یابد (جنسن، 2003). تکنولوژی بیوفلاک، تکنیک جدید شناسایی شده برای حل مشکلات فوق می‌باشد (شکل 2).



میزان آمونیاک تولید شده در سی
(1) میزان آمونیاک تولید شده د
200) محاسبه نمود. رابطه
میگو را نشان می‌دهد.

$$P_{TAN} = F \times PC \times \quad (1)$$

0/092 (2)

در روابط فوق P_{TAN}: میزان تولید کل نیتروژن آ[illegible] ی (کیلوگرم در روز)، PC: میزان پروتئین در خوراک می‌باشد. 16 درصد پروتئین، نیتروژن می‌باشد، 80 درصد نیتروژن توسط آبزی جذب شده که 80 درصد از نیتروژن جذب شده، دفع می‌شود. 90 درصد از نیتروژن دفع شده بصورت نیتروژن آمونیاکی و ده درصد مابقی بصورت اوره دفع می‌شود (تیممونس و همکاران، 2002).

تنظیم نسبت کربن به نیتروژن در سیستم بیوفلاک

نسبت کربن به نیتروژن بالا برای تضمین رشد بهینه باکتری‌های هتروتروف ضروری است (امرنسیانو و همکاران، 2012) و از این انرژی برای نگهداری و همچنین برای تولید سلول‌های جدید استفاده می‌شود. منبع کربن به‌عنوان یک بستر برای سیستم‌های عامل بیوفلوک و تولید سلول‌های پروتئین میکروبی عمل می‌کند (آونیملچ، 2007). با اضافه کردن کربوهیدرات به آب و تنظیم نسبت کربن به نیتروژن باکتری‌های هتروتروف مواد مغذی را جذب نموده (خانجانی، 1394; خانجانی و همکاران 1394) و تشکیل بیوفلوک‌ها را بهینه می‌نمایند و در نتیجه منجر به حذف نیتروژن آمونیاکی کل (TAN) و نیتریت می‌گردند (خانجانی و همکاران، 2016). مطالعات نشان داده‌اند که پروتئین باکتریایی به‌دلیل رشد باکتری‌ها تحت شرایط تنظیم نسبت کربن به نیتروژن افزایش یافته که می‌تواند به عنوان منبع غذایی مکمل برای میگو مورد استفاده قرار گیرد و بنابراین سبب کاهش نیاز به پروتئین و هزینه غذا می‌شود (هری و همکاران، 2004; آسدوززمان و همکاران، 2008).

روش‌های محاسبه مقدار کربن مورد نیاز که بایستی به‌طور روزانه به سیستم اضافه شود تا نیتروژن زائد بدست آمده از خوراک خورده نشده و دفع شده توسط آبزی را حذف کرده و به تولید بیوفلاک کمک کند در مطالعات مختلف، متفاوت می‌باشد.

محاسبه کربن مورد نیاز برای تشکیل بیوفلاک بر اساس کرب و همکاران (2012)

- به‌فرض، غذادهی روزانه دو درصد وزن ماهی (کراگ و هل فریچ، 2002)
- 20 گرم غذا به ازای هر کیلوگرم ماهی در روز داده می‌شود
- اگر غذا حاوی 25٪ پروتئین باشد
- 5 گرم پروتئین به ازای هر کیلوگرم ماهی در روز اضافه می‌شود
- 16٪ پروتئین نیتروژن می‌باشد (کراگ و هل فریچ، 2002)
- 0/8 گرم نیتروژن به ازای هر کیلوگرم ماهی در هر روز اضافه می‌شود
- به‌طور میانگین 75٪ از نیتروژن غذا در آب آزاد می‌شود (آمونیفیکاسیون، غذای خورده نشده به‌همراه دفع) (پیدراهیتا، 2003)
- 0/6 گرم نیتروژن به ازای هر کیلوگرم ماهی در هر روز در آب آزاد می‌شود
- میکروارگانیسم‌ها حداقل به نسبت کربن به نیتروژن 10 نیاز دارند (آونیملچ، 1999).
- 6 گرم کربن به ازای هر کیلوگرم ماهی در هر روز برای تشکیل بیوفلاک نیاز است.
- 50٪ از ماده خشک اکثر ترکیبات آلی، کربن می‌باشد.
- روزانه 12 گرم از ماده خشک ترکیبات آلی کربن‌دار برای تشکیل بیوفلاک لازم است.

بکارگیری منابع مختلف کربن در سیستم بیوفلاک

جهت انتخاب نوع منبع کربن بایستی قابلیت هضم کربوهیدرات، میزان محتوای پروتئین و هزینه هر واحد آن در نظر گرفته شود. کربوهیدرات‌های پیچیده اغلب حاوی پروتئین هستند که در هنگام محاسبه کربوهیدرات مورد نیاز جهت حفظ نسبت بالای کربن به نیتروژن (15 تا 20) بایستی میزان پروتئین آنها لحاظ شود (آونیملچ، 2009). ملاحظات بسیاری برای انتخاب منبع کربن، مثل قابلیت دسترسی در محل، قابلیت تجزیه بیولوژیک، کارایی جذب توسط باکتری، توانایی پخش شدن در آب و مقرون به صرفه بودن به لحاظ اقتصادی وجود دارد. مواد آلی کربن‌دار را بایستی بصورت محلول و یا به‌خوبی به شکل پودر در آورد تا سرعت ته نشینی آن کاهش یابد

و در آب معلق گردد تا بیشتر در دسترس باکتری‌ها قرار گیرد (امرنسیانو و همکاران، 2012). کربوهیدرات‌های ساده مثل شکر و ملاس فورا توسط باکتری تجزیه شده و سریع واکنش نشان می‌دهند که بایستی به‌طور پیوسته جهت حفظ فعالیت بهینه باکتری‌های هتروتروف به مخزن پرورش اضافه شوند ولی کربوهیدرات‌های پیچیده مثل سلولز و غلات نشاسته‌ای، به کندی توسط باکتری تجزیه شده که در نتیجه سطوح کربوهیدرات در تانک پرورش پایدار و زمان واکنش و پاسخ کندتر می‌باشد (خانجانی و همکاران، 2016). هنگامی که منبع کربن به محیط پرورش اضافه می‌شود به سرعت توسط جامعه بیوفلوک ساکن در محیط متابولیز می‌شود. یک راه حل مناسب برای غلبه بر مشکل سمیت مواد زائد، اضافه کردن تدریجی مواد کربن‌دار به میزان کمتر نسبت به اضافه کردن یکباره به استخر می‌باشد (کرب و همکاران، 2010). مطالعات متعددی در خصوص استفاده از منابع مختلف کربن در سیستم بیوفلاک روی گونه‌های مختلف انجام شده است (جدول 2).

جدول 2- مطالعات انجام شده با گونه‌های مختلف و منبع کربن مورد استفاده در سیستم بیوفلاک

منابع	گونه پرورشی	نوع منبع کربنی
کرب و همکاران، 2009	Tilapia (Mozambique)	نشاسته
عظیم و لیتتلی، 2008	Tilapia	آرد گندم
آونیملچ، 2009	Tilapia	پودر سورگوم
امرنسیانو و همکاران، 2011	*F. paulensis*	سبوس گندم، ملاس
امرنسیانو و همکاران، 2012	*F. brasiliensis*	سبوس گندم، ملاس
سرآ و همکاران، 2015	*L. vannamei*	ملاس، دکستروز، آرد برنج
خانجانی و همکاران، 2016	*L. vannamei*	ملاس، آردگندم، نشاسته
خانجانی و همکاران، 2016	*L. vannamei*	مخلوط ملاس، آردگندم، نشاسته با نسبت وزنی یکسان

نتیجه گیری

تکنولوژی بیوفلاک سبب محدود شدن تعویض آب برای کاهش اثرات سمی نیتروژن غیرآلی تجمع یافته در طول دوره پرورش آبزی می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که پروتئین باکتریایی بدلیل رشد باکتری‌ها تحت شرایط تنظیم نسبت کربن به نیتروژن، افزایش یافته که می‌تواند به عنوان منبع غذایی مکمل برای میگو مورد استفاده قرار گیرد و بنابراین سبب کاهش نیاز به پروتئین و هزینه غذا می شود. اضافه کردن مواد کربن‌دار به‌عنوان یک روش مناسب برای جلوگیری از افزایش سطح نیتروژن غیرآلی در استخر پرورش شناخته شده است به‌طوری که 20 تا 25 گرم مواد کربن‌دار برای حذف 1 گرم نیتروژن غیرآلی نیاز است (آونیملچ، 2009). در مطالعه خانجانی (1394) مشخص شد افزودن منابع آلی کربن به سیستم بدون تعویض آب پرورش میگو مانع از افزایش ترکیب سمی آمونیاک می‌شود. در هنگام استفاده از کربوهیدرات‌های ساده نظیر ملاس، نشاسته و مخلوط آنها غلظت آمونیاک نسبت به هنگام استفاده از آرد گندم بیشتر کاهش نشان می‌دهد و عملکرد رشد و بقاء نیز در این تیمارها بهتر است (خانجانی و همکاران، 2016) کاهش سریع‌تر آمونیاک با استفاده از منابع کربن ساده نظیر ملاس و نشاسته احتمالا به‌دلیل سطوح بالاتر کربن به‌عنوان سوبسترا برای باکتری‌های هتروتروفیک باشد که آمونیاک را متابولیز کرده و در نتیجه کیفیت آب را بهبود می‌دهند. اضافه کردن منابع مختلف کربوهیدرات به ستون آب و تنظیم نسبت کربن به نیتروژن سبب کاهش و کنترل میزان ترکیبات سمی نیتروژن، افزایش مصرف اکسیژن (به‌دلیل فعالیت میکروب‌ها)، کاهش میزان pH و بهبود سطح بقاء می‌شود و اثر معنی‌داری بر تولید و رشد میگوی سفید غربی می‌گذارد (خانجانی، 1394). بنابراین تاثیر مثبت حضور بیوفلوک بر عملکرد رشد، بقاء، کیفیت آب و کاهش مصرف غذا در مخازن پرورش در شرایط بدون تعویض آب تائید می‌شود. اضافه کردن منابع کربن علاوه بر کنترل و کاهش تولید غلظت نیتروژن سمی غیرآلی در تانک های میگو با تنظیم نسبت کربن به نیتروژن و تولید فلوک به‌عنوان خوراک مکمل برای میگوها استفاده شده که می‌توان درصد پروتئین جیره و میزان جیره ورودی به مخازن پرورش را با جایگزین کردن فلوک‌ها کاهش داد. تحقیقات نیاز است تا منابع کربوهیدرات ارزانتر

مثل آرد ذرت، آرد برنج، نشاسته سیب زمینی، مواد زائد حاصل از فرآوری نیشکر و دیگر ضایعات کشاورزی در سیستم بدون تعویض آب جهت تحریک و توسعه فلوک استفاده شود و همچنین ترکیبات بیوشیمیایی فلوک‌های ایجاد شده در تیمارهای منابع مختلف کربوهیدرات جهت استفاده به‌عنوان خوراک آنالیز شود. راه‌اندازی این تکنولوژی به عنوان اساس آبزی‌پروری پایدار بویژه در پرورش ماهی تیلاپیا و میگوی سفید غربی نیازمند همکاری محققین و پرورش دهندگان می‌باشد. با مدیریت استخرهای بیوفلاک و تنظیم نسبت کربن به نیتروژن در این سیستم می‌توان تولید قابل قبول با سوددهی خوب را در صنعت آبزی پروری کشور مشاهده نمود.

منابع

Asaduzzaman, M., Wahab, M.A., Verdegem, M.C.J., Huque, S., Salam, M.A. and Azim, M.E. C/N ratio control and substrate addition for periphyton development jointly enhance .2008 Freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds. Aquaculture. 280: 117-123.

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

Avnimelech, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. Aquaculture. 264: 140-147.

Avnimelech, Y. 2009. Biofloc Technology: A Practical Guide Book. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. 182 pp.

Avnimelech, Y. 2012. Biofloc Technology: A Practical Guide Book, 2nd Edition. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States. 272p.

Avnimelech, Y. and Mokady, S. 1988. Protein biosynthesis in circulated ponds. In: Pullin RSV, Bhukaswan T, Tonguthai K, Maclean JL, editors. Proceedings of second international symposium on tilapia in aquaculture, Department of Fisheries of Thailand and ICLARM, Manila, Philippines, pp. 301–309.

Azim, M.E. and Little, D.C. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture. 283: 29-35.

Boyd, C.E. and Tucker, C.S. 2009. Pond aquaculture water quality management, Springer international editor, 700 pp.

Brock, J.A. and Main, K.L. 1994. A guide to the common problems and disease of cultured *Penaeus vannamei*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge. 242pp.

Burford, M.A., Sellars, M.J., Arnold, S.J., Keys, S.J., Crocos, P.J. and Preston, N.P. 2004. Contribution of the natural biota associated with substrates to the nutritional requirements of the post-larval shrimp, *Penaeus esculentus* (Haswell), in high-density rearing systems. Aquaculture Research. 35: 508- 515.

Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P. and Verstraete, W. 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. Aquaculture. 270: 1–14.

Crab, R., Chielens, B., Wille, M., Bossier, P. and Verstraete, W. 2010. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. Aquaculture Research. 41: 559-567.

Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P. and Verstraete, W. 2012. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. Aquaculture. 356–357: 351–356.

Crab, R., Kochva, M., Verstraete, W. and Avnimelech, Y. 2009. Bioflocs technology application in over-wintering of tilapia. Aquacultural Engineering.40: 105–112.

Craig, S. and Helfrich, L.A. 2002. Understanding fish nutrition, feeds and feeding (Publication 420–256). Virginia Cooperative Extension, Yorktown (Virginia). 4 pp.

Emerenciano, M., Ballester, E.L.C., Cavalli, R.O. and Wasielesky, W. 2012. Biofloc technology Pink shrimp source in a limited water exchange nursery system for application as a food 1817). Aquaculture Research. 43: 447–457. *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille,
Emerenciano, M., Ballester, E.L.C., Cavalli, R.O. and Wasielesky, W. 2011. Effect of biofloc technology (BFT) on the early postlarval stage of Pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: growth performance, floc composition and salinity stress tolerance. Aquaculture International. 19: 891-901.
Emerenciano, M., Ballester, E.L.C., Cavalli, R.O. and Wasielesky, W. 2012. Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for Pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille,1817). Aquaculture Research. 43: 447–457.
Gao, L., Shan, H.W., Zhang, T.W., Bao,W.Z. and Ma, S.J. 2012. Effects of carbohydrate addition on *Litopenaeus vannamei* intensive culture in a zero-water exchange system. Aquaculture. 343: 89-96.
Hari, B., Kurup, B.M., Varghese, J.T., Schrama, J.W. and Verdegem, M.C.J. 2004. Effects of carbohydrate addition on production in extensive shrimp culture systems. Aquaculture. 241: 179–194.
Jensen, F.B. 2003. Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. Comparative Biochemistry and Physiology. 135: 9-24.
Khanjani M. H., Alizadeh M., Sajjadi M.M. and Sourinejad I. 2015. Effects of different carbon sources on water quality, growth performance and survival of Western white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) in zero-water exchange system. Iranian Scientific Fisheries Journal. 24 (3): 77-91. (In Persian).
Khanjani M. H., Sajjadi M.M., Alizadeh 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. Iranian Scientific Fisheries Journal. 24 (2): 13-28. (In Persian).
Khanjani M. H., Sajjadi M.M., Alizadeh M. and Sourinejad I. 2016. Nursery performance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) cultivated in a biofloc system: the effect of adding different carbon sources. Aquaculture Research. 1–11, doi:10.1111/are.12985.
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 Iranian Journal of Fisheries Sciences. Accepted . feeding levels in zero water exchange system Unpublished.
Khanjani, M.H. 2016. the effect of different feeding levels in biofloc system on water quality, growth performance and body composition Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931). Thesis of Ph.D. Aquaculture (Propagation and Cultivation Aquatics). Hormozgan university. 165p. (In Persian).
Liu, L., Hu, Z., Dai, X. and Avnimelech, Y. 2014. Effects of addition of maize starch on the yield, water quality and formation of bioflocs in an integrated shrimp culture system. Aquaculture. 418-419: 79–86.
Mallasen, M. and Valenti, W.C. 2006. Effect of nitrite on larval development of the Giant river prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture. 261: 1292-1298.
McIntosh, R.P. 2000. Changing paradigms in shrimp farming. IV. Low protein feeds and feeding strategies. The Global Aquaculture Advocate. 44–50 (April).
Milstein, A., Anvimelech, Y., Zoran, M. and Joseph, D. 2001. Growth performance of hybrid bass and hybrid tilapia in conventional and active suspension intensive ponds. Bamidgeh. 53: 147-157.
Moss, S.M., Forster, I.P. and Tacon, A.G.J. 2006. Sparing effect of pond water on vitamins in shrimp diets. Aquaculture. 258. 388–395.

Piedrahita, R.H. 2003. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. Aquaculture. 226: 35–44.

Samocha, T.M., Patnaik, S., Speed, M., Ali, A.M., Burger, J.M., Almeida, R.V., Ayub, Z., Harisanto, M., Horowitz, A. and Brock, D.L. 2007. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. Aquacultural Engineering. 36: 184-191.

Serra, F.P., Gaona, C.A.P., Furtado, P.S., Poersch, L.H. and Wasielesky, W.Jr. 2015. Use of different carbon sources for the biofloc system adopted during the nursery and grow-out culture of *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture Internatinal. DOI 10.1007/s10499-015-9887-6

2007. Digestibility of Smith, D.M., Tabrett, S.J., Glencross, B.D., Irvin, S.J. and Barclay, M.C. shrimp, *Penaeus monodon*. Aquaculture. 264: lupin kernel meals in feeds for the Black tiger 353–362.

Suita, S.M., 2009. *O uso da Dextrose como fonte de carbono no desenvolvimento de bioflocos e desempenho do camarao- branco* (*Litopenaeus vannamei*) *cultivado em sistema sem renovacao de agua*.Tese demestrado. Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.

Taw, N. 2013. Malaysia shrimp project scales up for production in biosecure biofloc modules. St. Louis, Missouri, USA: Global Aquaculture Alliance..Global Aquaculture Advocate

Thompson, F.L., Abreu P.C. and Wasielesky, W. 2002. Importance of biofilm for water quality 278. -and nourishment in intensive shrimp culture. Aquaculture. 203: 263

Timmons, M.B., Ebeling, J.M., Wheaton, F.W., Summerfelt, S.T. and Vinci, B.J. 2002. Recirculating aquaculture systems. 2nd ed. Cayuga Aqua Ventures, New York, USA.

Valenti, W.C. and Daniels, W.H. 2000. Recirculation hatchery systems and management. In: New, M.B., Valenti, W.C. (Eds), Freshwater Prawn Culture. Blackwell, Oxford. pp. 69- 90.