

مقاله پژوهشی

اثرات سطوح مختلف آزومايت در جيره غذايی بر دفاع آنتی اکسیدانی عضله،
بازماندگی و مقاومت در برابر باکتری *Aeromonas hydrophila* در کپور
معمولی (*Cyprinus carpio*) جوان

منا تفانی^۱، نسیم زنگویی^{۲*}، امیر پرویز سلاطی^۳، محمد ذاکری^۳، سید محمد موسوی^۳، محمد جواد ایمانی^۱

تاریخ پذیرش: مهر ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: شهریور ۱۴۰۰

چکیده

هدف این مطالعه بررسی اثرات مکمل معدنی آزومايت بر دفاع آنتی اکسیدانی عضله، میزان بازماندگی و مقاومت در برابر عفونت تجربی باکتری *Aeromonas hydrophila* در ماهی کپور معمولی جوان بود. به این منظور ۱۸۰ قطعه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی $20/05 \pm 4/15$ گرم، به طور تصادفی به چهار تیمار تقسیم شدند و به مدت ۸ هفته با جیره‌هایی با سطوح مختلف آزومايت شامل گروه شاهد (فاقد آزومايت)، تیمار ۱ (۲ گرم در کیلوگرم)، تیمار ۲ (۴ گرم در کیلوگرم) و تیمار ۳ (۸ گرم در کیلوگرم) غذادهی شدند. نتایج نشان داد که دفاع آنتی اکسیدانی عضله تحت تاثیر مصرف آزومايت قرار نگرفت ($P > 0/05$)، اما بالاترین فعالیت کاتالاز و گلوکاتیون پراکسیداز در تیمار ۳ مشاهده شد. تجویز خوراکی آزومايت بر میزان بازماندگی ماهیان در طی دوره، اثر معنی داری نداشت ($P > 0/05$)، اما مقاومت در برابر باکتری *A. hydrophila* را به طور معنی داری افزایش داد ($P < 0/05$) و بالاترین مقاومت در برابر باکتری (پایین ترین درصد تلفات)، مربوط به تیمار ۲ بود که با گروه شاهد اختلاف معنی داری نشان داد ($P < 0/05$). با توجه به نتایج به دست آمده می توان پیشنهاد کرد که با افزودن ۴ گرم آزومايت به هر کیلوگرم جیره، بدون ایجاد اثر منفی بر شاخص های دفاع آنتی اکسیدانی می توان مقاومت ماهی کپور معمولی جوان را در برابر عفونت باکتریایی *A. hydrophila* افزایش داد.

واژگان کلیدی: کپور معمولی، آزومايت، دفاع آنتی اکسیدانی عضله، *Aeromonas hydrophila*

۱- کارشناس ارشد شیلات، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.

۲- استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.

۳- استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.

* نویسنده مسئول: n_zanguee@yahoo.com

مقدمه

می‌کنند. بنابراین فقر جیره غذایی از حیث این مواد، منجر به اختلالات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی می‌شود. پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند که مکمل‌های معدنی می‌توانند باعث بهبود عملکرد سیستم ایمنی ماهیان شوند. از این رو، امروزه در صنعت آبزی‌پروری، انواعی از مکمل‌های معدنی و ویتامینی به منظور بهبود رشد و سلامت ماهیان به جیره‌های غذایی اضافه می‌شود و مطالعات زیادی در زمینه اثرات افزودن مواد معدنی مانند بارودون، زئولیت و آزومایت به جیره غذایی آبزیان انجام شده است. آزومایت (Azomite) یا زئوتن، یک ماده معدنی طبیعی، گرفته شده از خاکسترهای آتشفشانی بسیار قدیمی و متشکل از آلومینوسیلیکات سدیم کلسیم هیدراته (Hydrated Calcium Sodium Aluminosilicate) است که از مخلوط شدن بقایای گیاهان، جانوران و مواد معدنی به وجود آمده است و سرشار از مواد معدنی از جمله عناصر کمیاب است (Juzaitis-Boelter et al., 2021). این ماده، شامل بیش از ۷۰ نوع عنصر شامل عناصر مغذی ماکرو و میکرو و نیز عناصر نادر و کمیاب است. از جمله عناصر موجود در آزومایت می‌توان به سیلیس، فسفر، سدیم،

دستیابی به موفقیت و حداکثر تولید در پرورش ماهی، در گرو سلامت و ایمنی ماهیان است. سیستم ایمنی ماهیان شبیه به مهره‌داران خونگرم، از دو بخش ایمنی ذاتی و ایمنی اکتسابی تشکیل شده است. مقاومت در برابر بیماری‌ها به عملکرد مطلوب هر دو بخش سیستم ایمنی بستگی دارد. بخش قابل توجهی از تلفات و خسارات در سیستم آبزی‌پروری ناشی از بیماری‌های عفونی است. از این رو، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و دیگر مواد شیمیایی، هم به منظور درمان و هم برای پیشگیری، در این صنعت متداول بوده است. اما همواره نگرانی‌هایی در مورد استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و دیگر مواد شیمیایی صنعتی در آبزی‌پروری وجود دارد، چرا که استفاده از این مواد می‌تواند منجر به ایجاد مقاومت‌های دارویی در ماهیان، داشتن اثرات نامطلوب و گاه ناشناخته بر مصرف‌کنندگان و همچنین ایجاد آلودگی‌های گسترده در محیط زیست شود. از این رو، استفاده از مواد طبیعی، با هدف بهبود عملکرد سیستم ایمنی و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا می‌تواند جایگزین مواد شیمیایی مورد استفاده، شود.

موجودات زنده، قادر به ساختن مواد معدنی نیستند و این مواد غذایی را از جیره دریافت

پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آلومینیم، مس، گوگرد و منگنز اشاره کرد (جدول ۱). این محصول توسط سازمان بررسی مواد آلی آمریکا (Organic Materials Review Institute) به عنوان یک ماده معدنی طبیعی که می‌تواند در کشاورزی ارگانیک به کار برده شود به رسمیت شناخته شده است. استفاده از آرومایت در بخش کشاورزی، پرورش دام و طیور و آبی‌پروری تاثیرات مثبت قابل توجهی به دنبال داشته است (Liu et al., 2009; Liu et al., 2011; Fodge et al., 2014; Tan et al., 2014; Jaleel et al., 2015; Azam et al., 2016; Juzaitis-Boelter et al., 2021). از این رو، آرومایت به عنوان یک مکمل غذایی در آبی‌پروری در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است.

مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که افزودن آرومایت و همچنین عناصر معدنی کمیاب به غذا توانسته است عملکرد رشد، پاسخ ایمنی ذاتی و مقاومت در برابر بیماری در برخی جانوران را به طور قابل توجهی افزایش دهد. از جمله این جانوران می‌توان به مرغ‌های گوشتی و تخم‌گذار (Juzaitis-Boelter et al., 2021) میگوی پارسفید غربی (*Litopenaeus*) (Tan et al., 2014) و ماهیانی مانند کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Tang et al., 1997) کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) (Liu et al., 2011) و تیلاپپای دورگه (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) (Liu et al., 2009) اشاره کرد. ایمانی و همکاران (۱۳۹۸) در مطالعه‌ای، پس از افزودن آرومایت به جیره غذایی کپور معمولی انگشت‌قد، گزارش کردند که آرومایت به طور معنی‌داری باعث بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه، ترکیب بیوشیمیایی لاشه و شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی خون شد. روشن (۱۳۹۶) نیز اثرات بهبود دهنده آرومایت بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی کپور معمولی را گزارش کرد. Liu و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند افزودن آرومایت به جیره ماهی تیلاپپای دورگه می‌تواند موجب افزایش وزن نهایی، کاهش ضریب تبدیل غذایی و بهبود وضعیت سیستم ایمنی غیراختصاصی در این ماهی شود.

ماهی‌ها نیز مانند جانوران دیگر برای زنده ماندن نیاز به اکسیژن دارند، اما در طرف مقابل مصرف اکسیژن باعث ایجاد گونه‌های واکنشگر اکسیژنی (Reactive Oxygen Species) می‌شود که با تخریب مولکول‌های زیستی باعث

(Dismutase: SOD)، کاتالاز (Catalase:) و گلووتاتیون پراکسیداز (CAT) و GPx (Peroxidase: GPx) هستند (Kalaiselvi and Panneerselvam, 1998).

امروزه استفاده از آرومایت، به عنوان یک مکمل معدنی طبیعی، در پرورش دام، طیور و نیز آبزیان مورد توجه قرار گرفته است. هر چند اثرات افزودن آرومایت به جیره، بر عملکرد رشد، ترکیب بیوشیمیایی لاشه (ایمانی و همکاران ۱۳۹۸)، برخی شاخص‌های ایمنی و مقاومت در برابر برخی باکتری‌های بیماری‌زا، در برخی گونه‌های ماهیان بررسی شده است، اما تاثیر آن بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ماهیان، هنوز به روشنی مشخص نیست و در این زمینه مطالعات اندکی انجام گرفته است. آرومایت حاوی تعدادی از عناصر خاکی کمیاب و فلزات از جمله آلومینیوم است که می‌تواند تاثیرات سوء احتمالی بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ماهیان داشته باشد. مطالعات مختلفی نشان داده است که فلزات می‌توانند با ایجاد رادیکال‌های آزاد و گونه‌های واکنشگر اکسیژن، استرس اکسیداتیو را تحریک کنند (Atli and Canli, 2007). بنابراین، این ماده به موازات ایجاد اثرات مطلوب ممکن است اثرات نامطلوبی نیز به همراه داشته باشد. از این رو، پژوهشگران آبی‌پروری، نیاز به

بر هم خوردن هومئوستاز می‌شوند. به نظر می‌رسد بیشترین آثار زیانبار اکسیژن در ارتباط با گونه‌های واکنشگری است که به عنوان اکسید کننده (Oxidant) عمل می‌کنند. تولید و تخریب این گونه‌ها در شرایط هومئوستاتیک در تعادل است، اما افزایش تولید یا ساز و کارهای دفاعی ناکافی در مقابل آنها، فرآیندهای سلولی را دچار اختلال می‌کند (Skrha, 2012). در واقع این گونه‌های واکنشگر با درشت‌مولکول‌های زیستی مستعد واکنش می‌دهند و با تولید فرآورده‌هایی مانند پروتئین کربونیل‌ها، لیپید هیدروپراکسیدها و آسیب به DNA استرس اکسیداتیو را القا می‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در بدن، می‌توانند موجود زنده را در برابر اثرات رادیکال‌های آزاد و گونه‌های واکنشگر اکسیژن حفظ کنند و مانع پیشرفت بسیاری از بیماری‌های مزمن و همچنین پراکسیداسیون چربی‌ها شوند (Kalaiselvi and Panneerselvam, 1998). آنتی‌اکسیدان‌هایی که در بدن تولید می‌شوند با دو سیستم دفاع آنزیمی و دفاع غیرآنزیمی به مقابله با رادیکال‌های آزاد می‌پردازند (Halliwell and Chirico, 1993). آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی شامل سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide

غذای تجاری کپور معمولی (۲۱ بیضا، ایران) سه بار در روز (ساعت‌های ۸، ۱۶ و ۲۴)، تا حد سیری غذادهی شدند.

تهیه آزمونیت

در این پژوهش، برای تغذیه ماهیان از جیره‌هایی با چهار سطح مختلف آزمونیت (۰، ۲، ۴ و ۸ گرم در کیلوگرم) استفاده شد. آزمونیت مورد استفاده در این مطالعه از شرکت بایولند (Bioland) واقع در شاهرود (شهرک صنعتی، خیابان کارگر ۵) تهیه شد و تعیین ترکیب آن، توسط مرکز پژوهش متالوژی رازی تهران و توسط دستگاه XRF (ARL Perform X) Thermo Fisher، آمریکا انجام شد (جدول ۱).

آماده‌سازی جیره

برای تهیه جیره‌های آزمایش، از جیره پایه تجاری کپور معمولی (۲۱ بیضا، ایران) استفاده شد. بر اساس اطلاعات شرکت سازنده، جیره پایه دارای ۳۲-۳۸ درصد پروتئین، ۵-۸ درصد چربی، ۵/۵ درصد فیبر خام، ۱۲ درصد خاکستر و ۳۶۰۰-۳۸۰۰ کالری انرژی قابل هضم (به ازای هر کیلوگرم) بود. به منظور ساخت جیره آزمایشی، ابتدا پلت‌های جیره پایه توسط آسیاب

اطلاعات کامل‌تری درباره اثرات این ماده بر سلامت آبزیان برای تعیین سطوح بی‌ضرر آن در جیره دارند. بر همین اساس، مطالعه حاضر برای بررسی تاثیر آزمونیت خوراکی بر روی بازماندگی و مقاومت در برابر عفونت تجربی با باکتری *Aeromonas hydrophila* و همچنین اثرات آن بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی کپور معمولی جوان و تعیین مناسب‌ترین و ایمن‌ترین سطح آن در جیره طراحی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهیان

تعداد ۱۸۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، بامیانگین وزن 20 ± 4 گرم از کارگاه پرورش ماهیان گرمابی شهید ملکی اهواز خریداری و توسط کیسه‌های پلاستیکی دو جداره مخصوص، به آزمایشگاه خیس دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل شد. ماهیان در بدو ورود با استفاده از محلول کلرید سدیم ۳ درصد ضدعفونی و سپس، به طور کاملاً تصادفی و به تعداد مساوی بین ۱۲ وان ۳۰۰ لیتری توزیع شدند. دوره قرنطینه و سازگار شدن ماهیان با شرایط آزمایش، دو هفته به طول انجامید. طی این دوره، شرایط نوری، بر اساس شرایط طبیعی شبانه روز بود و ماهیان با

برقی پودر شد. سپس با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم، میزان مورد نیاز آزمونیت، توزین و به آن اضافه شد. جیره پایه به همراه آزمونیت به اضافه آب (به میزان ۳۰ درصد وزن جیره) توسط همزن برقی با هم مخلوط شدند. پس از ایجاد حالت خمیری، مخلوط به دست آمده از چرخ گوشت عبور داده شد تا پلت‌هایی به قطر دو میلی‌متر ساخته شود.

جدول ۱: درصد وزنی عناصر تشکیل دهنده آزمونیت مورد استفاده در این مطالعه

ترکیب	درصد وزنی	ترکیب	درصد وزنی
SiO ₂	۵۳/۶	Cl	۰/۰۶
Al ₂ O ₃	۱۵/۵	MnO	۰/۰۸
Fe ₂ O ₃	۵/۶	ZnO	۰/۰۱
CaO	۴/۸	Ce ₂ O ₃	۰/۰۴
MgO	۴/۷	Cr ₂ O ₃	N.D*
Na ₂ O	۳/۹	CuO	N. D
TiO ₂	۰/۵۱	MoO ₃	N. D
SO ₃	۰/۳۳	NiO	N. D
P ₂ O ₅	۰/۱۶	As ₂ O ₃	N. D
SrO	۰/۱۴	La ₂ O ₃	N. D
K ₂ O	۱/۴	La&Lu	<۱

N.D: به علت ناچیز بودن قابل شناسایی نبود و کمتر از محدوده اندازه‌گیری دستگاه بود.

نمونه‌برداری از ماهیان

در پایان دوره آزمایش و ۲۴ ساعت پیش از زمان نمونه‌برداری، غذادهی ماهیان قطع شد. سپس ماهیان به وسیله پودر گل میخک به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش شدند. برای سنجش شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی عضله، از هر تکرار از سه قطعه ماهی نمونه‌برداری شد. به این منظور، با استفاده از تیغ اسکالپل، قطعاتی از عضله بیرون آورده شد و درون میکروتیوب‌های ۵ میلی‌لیتری گذاشته شد. سپس نمونه‌های جمع‌آوری شده به فریزر (Operon, DFU 128CE، کره جنوبی) ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

برای سنجش شاخص‌های مربوط به دفاع آنتی‌اکسیدانی عضله، نمونه‌ها پس از توزین، با محلول نرمال سالین شستشو داده شدند و سپس با استفاده از دستگاه هموژنایزر الکتریکی (JKA, Basic، آلمان) به نسبت ۱ به ۵ با بافر (Phosphate-Buffered Saline) PBS هموژن شد. محلول هموژن شده به مدت ۱۰ دقیقه، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ شد. در پایان، محلول رویی برای سنجش شاخص‌های مورد نظر جدا شد (Han et al., 2011).

به منظور کاهش رطوبت غذا تا میزان ۸-۱۰ درصد، پلت‌ها ابتدا به مدت ۳ ساعت در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس درون کیسه‌های پلاستیکی تیره بسته‌بندی و تا زمان مصرف، در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تیمار بندی و غذادهی ماهیان

به منظور تیمار بندی، ماهیان بین ۱۲ وان ۳۰۰ لیتری (چهار تیمار، هر یک با سه تکرار) به تعداد ۱۵ قطعه ماهی توزیع و به مدت ۵۶ روز با جیره‌هایی با سطوح مختلف آزمونیت تغذیه شدند. جیره گروه شاهد فاقد آزمونیت بود و تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به ترتیب دارای ۲، ۴ و ۸ گرم آزمونیت در هر کیلوگرم جیره بودند. سطوح مختلف آزمونیت جیره، بر اساس مطالعات مشابه تعیین شد (Jaleel et al., 2015; Azam et al., 2016; Jawahar et al., 2016). ماهیان در طی دوره آزمایش، سه بار در روز، تا حد سیری غذادهی شدند. در طول دوره آزمایش شاخص‌های کلیدی فیزیوشیمیایی آب مخازن شامل دما، pH و اکسیژن محلول با استفاده از دستگاه مولتی‌متر (Hatch, HQ40d، آلمان) به صورت روزانه پایش و ثبت شد. شرایط نوری، بر اساس شرایط طبیعی شبانه روز بود.

به مدت ۱ دقیقه در بن ماری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۳۴۰ نانومتر برای ۵ دقیقه خوانده شد. کاهش جذب نوری در محلول بین دومین و چهارمین دقیقه به عنوان فعالیت آنزیم بر حسب واحد در هر میلی‌گرم بافت، بیان شد.

به منظور سنجش مالون دی‌آلدئید (MDA: Malondialdehyde) از روش رنگ‌سنجی استفاده شد. اساس این روش واکنش MDA با تیوباربیوتیک اسید (TBA) است که در نتیجه آن کمپلکس رنگی MDA-TBA2 ایجاد می‌شود که بیشترین جذب آن در طول موج ۵۳۵ نانومتر اتفاق می‌افتد (Buege et al., 1978).

درصد بازماندگی

طی ۵۶ روز دوره آزمایش، تلفات ماهی‌های هر مخزن به صورت روزانه شمارش و ثبت شد و در پایان دوره، درصد بازماندگی یا میزان بقا (SR) از رابطه ۱ محاسبه شد (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱).

رابطه ۱:

$$SR (\%) = [(N_i - M) / N_i] \times 100$$

N_i : تعداد اولیه؛ M : تعداد تلفات.

اندازه‌گیری شاخص‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس روش Goth (۱۹۹۱) که بر اساس بافر فسفات است صورت گرفت. در این روش بافر فسفات با نمونه مخلوط و به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. سپس جذب نوری محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر (Genway، انگلستان) در طول موج ۲۴۰ نانومتر خوانده شد. ۰/۰۵ کاهش در جذب نوری محلول به عنوان یک واحد فعالیت آنزیم کاتالاز اندازه‌گیری در نظر گرفته شد.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز بر اساس درگیری رادیکال سوپراکسید در اکسیداسیون خودبخودی پیروگالول و مطابق با روش Marklund و Marklund (۱۹۷۴) و بر حسب واحد در هر میلی‌گرم بافت، انجام گرفت. فعالیت آنزیم گلوکاتینون پراکسیداز (GPx) بر اساس روش ارائه شده توسط Paglia و Valentine (۱۹۶۷) و با استفاده از کیت تشخیص (Randox، ایرلند) اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب که ابتدا درون یک لوله آزمایش مقدار ۲۰ میکرولیتر نمونه و ۱ میلی‌لیتر معرف R_1 (محلول آنزیمی که تمام اجزای واکنش را دارد) و ۴۰ میکرولیتر معرف R_2 (محلول آنزیمی که تمام اجزای واکنش را دارد) قرار داده شد و

چالش باکتریایی

به منظور انجام چالش باکتریایی، در پایان دوره آزمایش، تعداد ۱۰ قطعه ماهی از هر تکرار انتخاب شد و سپس با باکتری زنده *Aeromonas hydrophila* تهیه شده از دانشکده دامپزشکی شهید چمران اهواز، به میزان دو برابر مقدار ایجاد کننده ۵۰ درصد تلفات، به صورت داخل صفاقی تزریق شدند. به این منظور، باکتری *A. hydrophila* که در محیط TSB (Tryptic Soy Broth) کشت داده شده بود، به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. سپس باکتری در فاز رشد لگاریتمی با استفاده از سانتریفیوژ، از محیط کشت جدا و به سرم فیزیولوژی استریل منتقل شد. با استفاده از لوله‌های مک‌فارلند، غلظت باکتری در سرم فیزیولوژی به میزان $2/4 \times 10^2$ تنظیم شد (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱). به گروه شاهد نیز، به همان روش سرم فیزیولوژی استریل تزریق شد. تعداد تلفات روزانه گروه شاهد و تیمارها، به مدت ۷ روز بررسی و ثبت شد و در نهایت تلفات تجمعی هر گروه محاسبه شد. از قسمت قدامی کلیه ماهیان تلف شده، کشت باکتریایی انجام شد تا اطمینان حاصل شود که علت مرگ ماهیان، عفونت با باکتری

A. hydrophila بوده است (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱).

تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش به صورت طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. شاخص‌های مورد مطالعه در این پژوهش بر اساس آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0/05$) ارزیابی شد و در صورت معنی‌دار بودن اختلاف با پس‌آزمون Duncan برای مقایسه میانگین‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و رسم نمودارها در Microsoft Excel 2013 انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد (Mean \pm SE) بیان شده است.

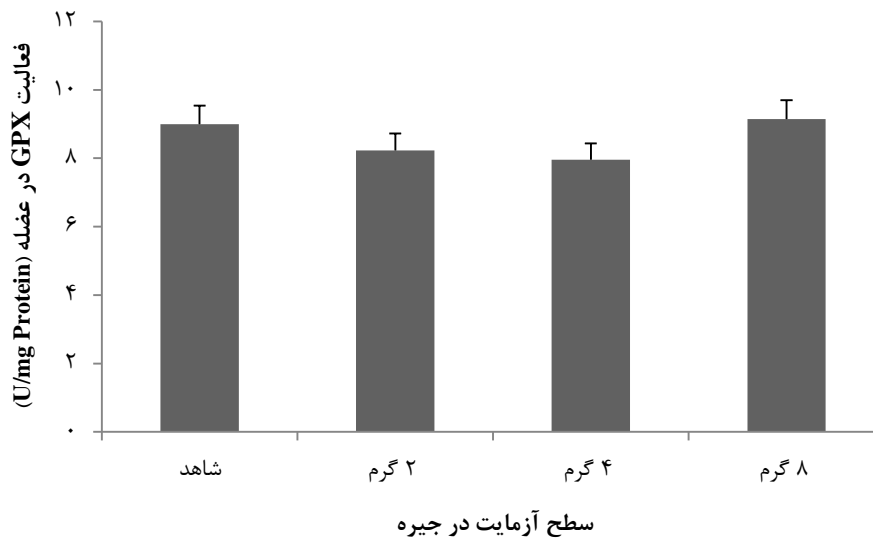
نتایج

شاخص‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی

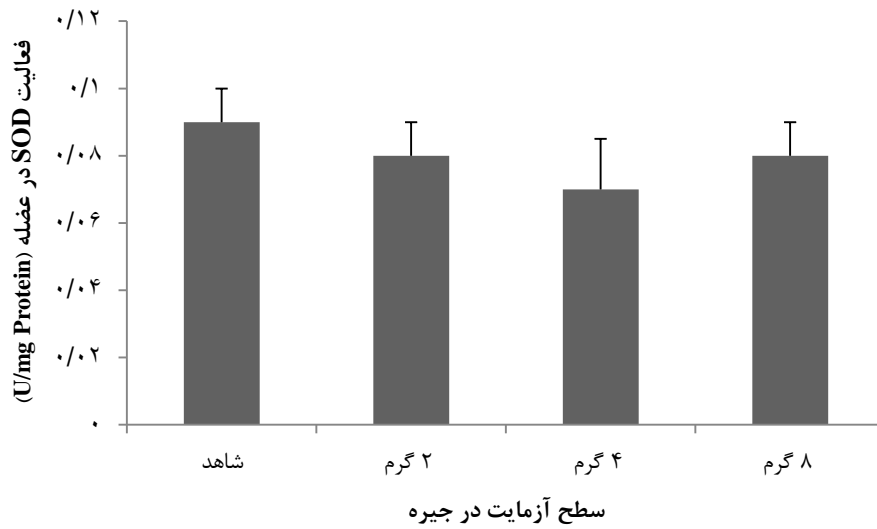
نتایج اندازه‌گیری مقادیر شاخص‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی عضله کپور معمولی جوان، پس از یک دوره ۵۶ روزه تغذیه با جیره‌های دارای سطوح مختلف آرومایت، در شکل‌های ۱ تا ۴ نشان داده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه، از نظر میزان فعالیت آنزیم

گلوکوتایون پراکسیداز (GPx) در عضله ماهیان کپور معمولی، بین تیمارهای مختلف با یکدیگر و با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$ ؛ شکل ۱). میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در عضله ماهیان کپور معمولی تحت تاثیر مکمل غذایی آزومایت در جیره قرار نگرفته و اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف با یکدیگر و با گروه شاهد مشاهده نشد ($P > 0.05$ ؛ شکل ۳).

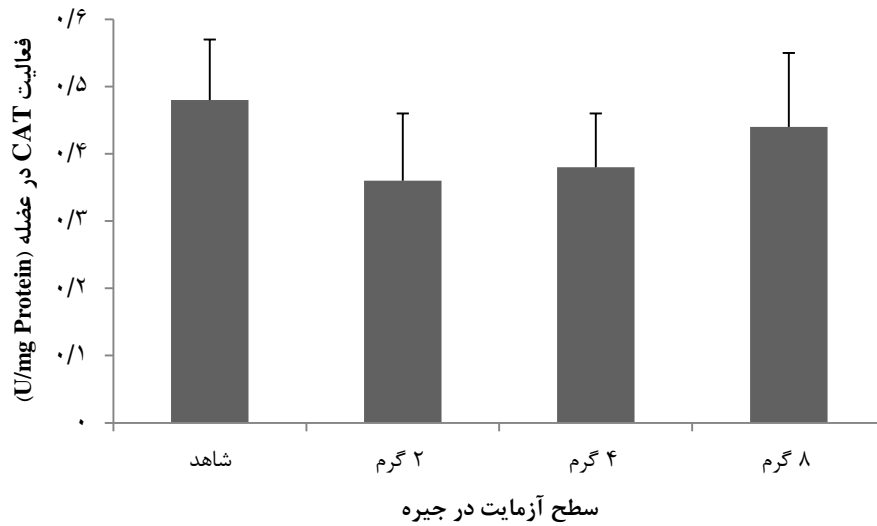
میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در عضله ماهیان کپور معمولی جوان تحت تاثیر مکمل غذایی آزومایت در جیره غذایی، قرار نگرفت و اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف با یکدیگر و با گروه شاهد مشاهده نشد ($P > 0.05$ ؛ شکل ۲).



شکل ۱: میزان فعالیت آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز (GPx) در عضله ماهی کپور معمولی جوان تغذیه شده با سطوح مختلف آزومایت پس از ۵۶ روز (میانگین \pm خطای استاندارد). اختلاف معنی‌دار بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$).



شکل ۲: میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در عضله ماهی کپور معمولی جوان تغذیه شده با سطوح مختلف آرومایت پس از ۵۶ روز (میانگین \pm خطای استاندارد). اختلاف معنی‌دار بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$).



شکل ۳: میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در عضله ماهی کپور معمولی جوان تغذیه شده با سطوح مختلف آرومایت پس از ۵۶ روز (میانگین \pm خطای استاندارد). اختلاف معنی‌دار بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$).

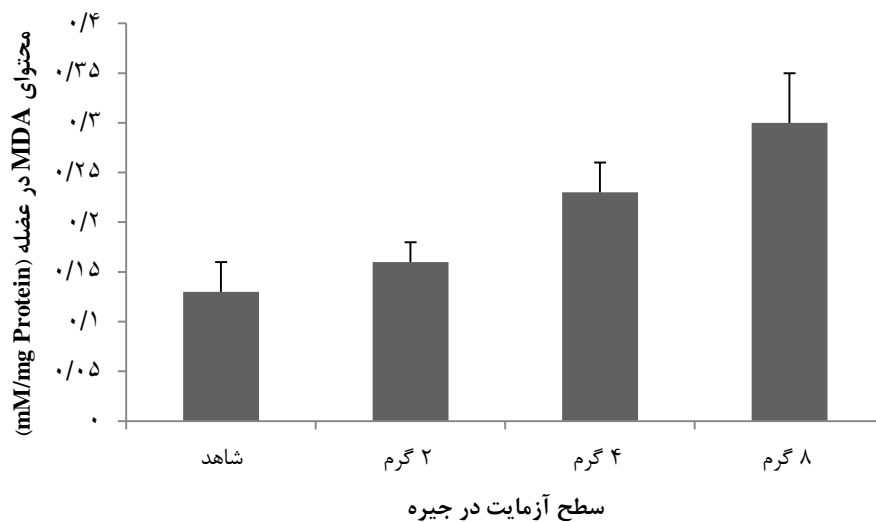
چالش باکتریایی

در شکل ۶، درصد تلفات ماهیان کپور معمولی جوان تغذیه شده با سطوح مختلف آزومایت پس از رویایی با باکتری *Aeromonas hydrophila* نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود پایین‌ترین درصد تلفات، مربوط به تیمار ۲ بود که با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0.05$) اما بین تیمارهای دیگر با هم و با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$; شکل ۶).

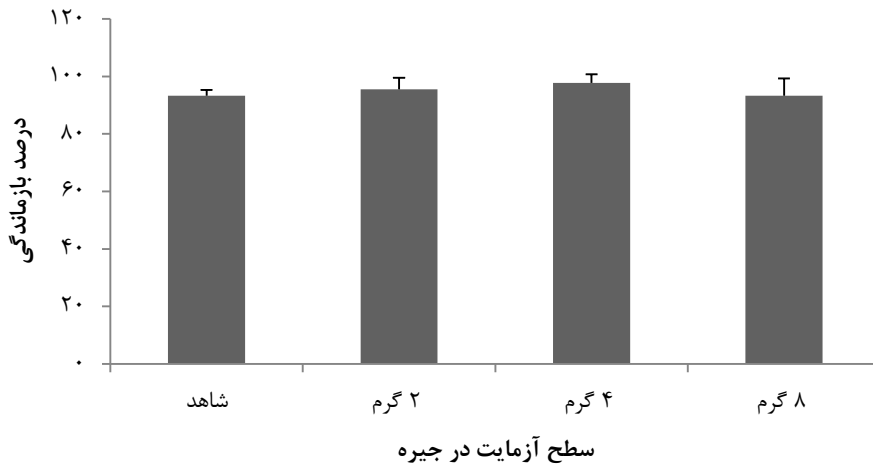
از نظر غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA) در عضله ماهیان کپور معمولی جوان، بین تیمارهای مختلف با هم و با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$; شکل ۴).

درصد بازماندگی

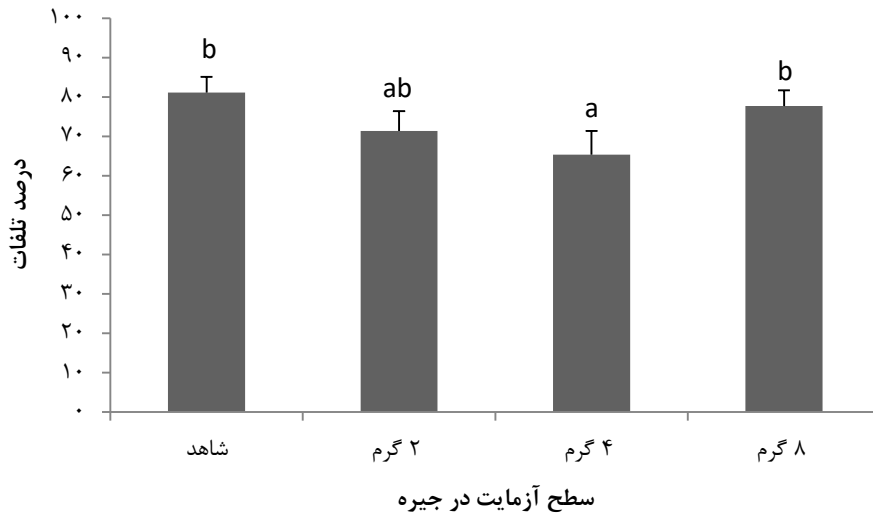
درصد بازماندگی ماهیان در پایان دوره ۵۶ روزه آزمایش در شکل ۵ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود از لحاظ میزان بقا یا درصد بازماندگی، بین تیمارهای مختلف با یکدیگر و با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$; شکل ۵).



شکل ۴: محتوای مالون دی‌آلدئید (MDA) در عضله ماهی کپور معمولی جوان تغذیه شده با سطوح مختلف آزومایت پس از ۵۶ روز (میانگین \pm خطای استاندارد). اختلاف معنی‌دار بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$).



شکل ۵: درصد با ماندگی ماهیان کپور معمولی جوان تغذیه شده با سطوح مختلف آزمونیت پس از ۵۶ روز (میانگین \pm خطای استاندارد). اختلاف معنی‌دار بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$).



شکل ۶: درصد تلفات پس از چالش باکتریایی در ماهیان کپور معمولی جوان تغذیه شده با سطوح مختلف آزمونیت (میانگین \pm خطای استاندارد). حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P < 0.05$).

بحث

پتانسیل بالقوه آن برای اثرات نامطلوب است (Yokel, 2002). آلومینیوم ویژگی‌های مشابه آهن دارد و در غلظت‌های بالا با پروتئین‌های متصل شونده به آهن مانند فریتین و ترانسفرین متصل و با آهن موجود در این مولکول‌ها جابه‌جا می‌شود، در نتیجه غلظت آهن در داخل سلول افزایش می‌یابد. یون‌های آهن آزاد شده دارای قدرت کاتالیزوری بالایی هستند که می‌توانند تجزیه پراکسید هیدروژن به رادیکال‌های واکنش‌پذیر هیدروکسیل را از طریق واکنش فنتون تسریع ببخشند. این واکنش‌پذیری بالای رادیکال‌های هیدروکسیل می‌تواند آسیب سلولی را آغاز کند (Ward et al., 2001). از سوی دیگر آلومینیوم با غلظت بالا، می‌تواند به طور مستقیم به میتوکندری آسیب برساند و از این طریق بر انتقال الکترون در زنجیره تنفسی تاثیر می‌گذارد و تولید ROS افزایش می‌یابد (Bondy and Cambell, 2001). عنصر دیگر موجود در آزومايت مس (Cu) است که با تاثیر بر ساختمان سلولی منجر به تولید اکسی‌رادیکال‌ها و در نتیجه باعث فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌شود. بنابراین توانایی تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن را دارد. سطح بالای مس در ماهی باعث کاهش رشد، مسمومیت، افزایش مرگ و میر، بروز استرس

نظر به این که استفاده از آزومايت، به عنوان یک مکمل معدنی طبیعی در جیره آبزيان نتايج مطلوبی به همراه داشته است در این پژوهش، تاثیر آن بر بازماندگی، مقاومت در برابر چالش باکتریایی و نیز دفاع آنتی‌اکسیدانی ماهی کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتايج به دست آمده در این مطالعه که در شکل‌های ۱ تا ۴ نشان داده شده است، دفاع آنتی‌اکسیدانی عضله تحت تاثیر مصرف آزومايت قرار نگرفت ($P > 0.05$)، اما بالاترین فعالیت کاتالاز و گلوکاتیون پراکسیداز در تیمار ۳ (۸ گرم در کیلوگرم) مشاهده شد. به نظر می‌رسد آزومايت در سطوح بیشتر از ۴ گرم در کیلوگرم، اثرات نامطلوبی بر فیزیولوژی ماهی داشته باشد که این تاثیر منفی به ترکیبات موجود در آزومايت مربوط می‌شود. وجود عناصری مانند آلومینیوم، مس و برخی فلزات در مقادیر بالا در جیره می‌تواند موجب ایجاد اثرات سمی و بروز استرس در ماهی شود (Ward et al., 2001). میزان ۱۵/۵ درصد از آزومايت مورد استفاده در این مطالعه را آلومینیوم تشکیل می‌دهد. توانایی آلومینیوم برای جایگزین شدن با کاتیون‌های زیستی (Ca, Fe, Zn, Cu و Mg) در جایگاه‌های اتصال دهنده آنها، نشان دهنده

ايمي بدن ماهيان انجام گرفته است که نتايج آنها همسو با نتايج به دست آمده از اين پژوهش است. Liu و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند افزودن ۸ گرم در کيلوگرم آزومايت به جيره غذايي کپور علفخوار مي تواند عملکرد رشد و ايمي غيراختصاصي سرم را بهبود ببخشد. Shin و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه‌اي پس از افزودن مکمل معدني بارودون به جيره غذايي کفشک ماهيان زيتوني (*Paralichthys olivaceus*) دريافتند که اين ماده، ميزان بازماندگي ماهيان، سلول‌هاي جامي شکل و فعاليت ليزوزيم و همچنين ميلوپراکسيداز را به طور معني داري افزايش داد و اثرات مثبتي بر روي بافت شناسي دستگاه گوارش و سيستم ايمي ذاتي داشت. Jaleel و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه‌اي به مدت ۸ هفته تاثير آزومايت با سطوح ۲، ۴ و ۸ گرم در کيلوگرم در جيره را بر روي ماهي کوي انگشت قد (*Cyprinus carpio koi*) بررسي و گزارش کردند جيره حاوي ۴ گرم در کيلوگرم آزومايت، شاخص‌هاي وزن نهايي، نرخ رشد ويژه، فعاليت فاگوسيتوزي کل، شاخص فاگوسيتي، ميزان NBT، ليزوزيم، پروتئين کل و سطوح ايمونوگلوبولين را به طور معني داري نسبت به گروه شاهد افزايش داد. Jawahar و همکاران (۲۰۱۶) پس از انجام

اکسيداتي و کاهش پاسخ ايمي مي شود (Berntssen et al., 2000).

از نظر درصد بقا يا شاخص بازماندگي، بين تيمارهاي مختلف با يکديگر و با گروه شاهد اختلاف معني داري مشاهده نشد ($P > 0.05$). اما آزومايت خوراكي بر درصد تلفات پس از چالش باکتريايي اثرگذار بود. درصد تلفات در همه تيمارها نسبت به گروه شاهد پايين تر بود. با اين وجود تنها تيمار ۲ با گروه شاهد اختلاف معني دار داشت ($P < 0.05$). عفونت‌هاي باکتريايي همواره عامل تلفات در ماهيان پرورشي هستند. در بين باکترهاي بيماري‌زا، *Aeromonas* هاي متحرک بويژه *A. hydrophila* بسيار مورد توجه است، زيرا يکي از باکترهاي بيماري‌زاي مهم و شايع در صنعت پرورش ماهيان گرمابي است که مي تواند سبب ايجاد تلفات شود. در اين مطالعه، افزودن آزومايت به جيره غذايي کپور معمولي، باعث افزايش مقاومت در برابر بيماري ناشي از باکتر *A. hydrophila* شد. پايين ترين درصد تلفات پس از چالش باکتريايي، در تيمار ۴ گرم بر کيلوگرم آزومايت مشاهده شد که با گروه شاهد اختلاف معني داري داشت. مطالعات مختلفی با محوريت تاثير مواد معدني مانند آزومايت، بارودون و زئوليت بر جنبه‌هاي مختلف سيستم

معدنی موجود در آزومايت، دارای نقش‌های کلیدی و حیاتی در بدن موجودات زنده هستند. کلسیم، عنصر مهمی در سیستم کمپلمان است. آهن جزء اصلی رنگدانه‌های تنفسی هموگلوبین و میوگلوبین است. منگنز به عنوان جزء کلیدی سیستم آنزیمی بازسازی گلبول‌های قرمز و مس به عنوان بخشی از ساختار آنزیم سرولوپلاسمین است. این عناصر در متابولیسم آهن و در نتیجه ساخته شدن هموگلوبین و تولید گلبول‌های قرمز نقش دارند و باعث افزایش خونسازی می‌شوند. همچنین میکروالمنت‌ها توانایی تنظیم کردن میکروفلور روده و بهبود جذب مواد مغذی را دارند که در نتیجه می‌تواند بهبود رشد و ایمنی را به دنبال داشته باشد. هر چه وضعیت و عملکرد سیستم ایمنی بدن ماهیان بهتر باشد، مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زای مختلف بویژه عوامل بیماری‌زای ثانویه بالاتر و به دنبال آن درصد مرگ و میر ناشی از بیماری، پایین‌تر خواهد بود. مطالعات متعدد، حاکی از تاثیر مثبت آزومايت خوراکی بر شاخص‌های رشد، سلامت و ایمنی گونه‌های مختلف ماهیان است. آزومايت خوراکی می‌تواند موجب افزایش تعداد و همچنین قطر پرزهای روده ماهیان شود که در نتیجه آن جذب مواد مغذی از روده افزایش می‌یابد. آزومايت همچنین می‌تواند تعداد

مطالعه بر روی ماهی سر ماری (*Channa striatus*) بیان کردند جیره‌های حاوی ۴ و ۶ گرم در کیلوگرم زئولیت به طور قابل توجهی باعث افزایش رشد، تغییرات خونی-بیوشیمیایی، پاسخ ایمنی و مقاومت به بیماری در برابر قارچ *Aphanomyces invadans* در این گونه شد. Liu و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند افزودن آزومايت به میزان ۲/۵ و ۵ گرم به هر کیلوگرم جیره ماهی تیلاپیای دورگه می‌تواند موجب افزایش وزن نهایی، کاهش ضریب تبدیل غذایی و بهبود وضعیت سیستم ایمنی غیراختصاصی در این ماهی شود. ایمنی و همکاران (۱۳۹۸) در مطالعه‌ای تاثیر آزومايت خوراکی با سطوح ۲، ۴ و ۸ گرم در کیلوگرم جیره بر ماهی کپور معمولی را بررسی و بیان کردند آزومايت با سطوح ۲ و ۴ گرم در کیلوگرم، موجب بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه و شاخص‌های خونی و ایمنی این گونه شد. در آن مطالعه مطلوب‌ترین شاخص‌های رشد و ایمنی در تیمار ۴ گرم در کیلوگرم آزومايت مشاهده شد (ایمنی و همکاران، ۱۳۹۸).

وجود مواد معدنی به میزان مناسب در جیره، به علت نقش‌های مختلفی که در واکنش‌های بیوشیمیایی بدن دارند، برای حفظ عملکرد طبیعی بدن جانوران ضروری است. عناصر

لاکتوباسیل‌ها را در روده ماهی افزایش دهد (Liu et al., 2009) لاکتوباسیل‌ها، متداول‌ترین نوع باکتری‌هایی هستند که به عنوان پروبیوتیک در آبی‌پروری استفاده می‌شوند. این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند فلور باکتریایی روده ماهیان را به نحوی تغییر دهند که جمعیت میکروبی مضر دستگاه گوارش کاهش پیدا کند، در نتیجه تاثیرات مفیدی بر وضعیت سلامتی ماهی خواهند داشت. مطالعات نشان می‌دهند بعضی از باکتری‌های استفاده شده به عنوان پروبیوتیک (از جمله لاکتوباسیل‌ها) قادر هستند سیستم ایمنی میزبان را تحریک و میزبان را در برابر عوامل بیماری‌زا محافظت کنند (Irianto and Austin, 2002). تجویز خوراکی لاکتوباسیل‌ها به دلیل افزایش جمعیت این باکتری‌های مفید در روده ماهیان، می‌تواند سبب افزایش مقاومت ماهی در برابر عفونت تجربی با باکتری‌های بیماری‌زا (چالش باکتریایی) شود. آرومایت همچنین باعث افزایش تکثیر و تمایز گلبول‌های سفید و قرمز در بافت‌های خونساز ماهی کپور معمولی می‌شود (ایمانی و همکاران ۱۳۹۹). مکمل‌های معدنی همچنین می‌توانند تعداد گلبول‌های قرمز و سطح هماتوکریت و هموگلوبین را افزایش دهند (Jawahar et al., 2016). واکنش ماهی در برابر میکروبه‌های بیماری‌زا، ارتباط نزدیکی با شاخص‌های خونی ماهی دارد. گلبول‌های سفید، پایه و اساس هر دو نوع ایمنی یعنی ایمنی اختصاصی و ایمنی غیراختصاصی (سلولی و هومورال) ماهیان هستند. گلبول‌های سفید منبع مهم تولید انواع ترکیبات بیوشیمیایی مانند انواع پروتئین‌های سرم، لیزوزیم، اجزای سیستم کمپلمان و نیز ایمنوگلوبولین‌های غیراختصاصی و همچنین آنتی‌بادی‌های اختصاصی هستند. آنها همچنین مسئولیت فعالیت بیگانه‌خواری در برابر میکروبه‌ها و دیگر عوامل آسیب‌رسان را به عهده دارند که مهم‌ترین مکانیزم دفاع ضدباکتریایی است و در ماهیان عمدتاً توسط نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها انجام می‌شود. انفجار تنفسی، از دیگر وظایف این سلول‌ها است (Harikrishnan et al., 2011). پس می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که با افزایش تعداد گلبول‌های سفید، این شاخص‌های ایمنی نیز تقویت می‌شوند. احتمالاً غلظت‌های بالاتر این شاخص‌ها، در تیمارهای ۱ و ۲ در مطالعه حاضر، عامل بهبود عملکرد سیستم ایمنی، افزایش مقاومت نسبت به بیماری و در نتیجه کمتر بودن درصد تلفات در این دو تیمار است. در مطالعه ایمانی و همکاران (۱۳۹۸) بر روی کپور معمولی، مطلوب‌ترین شاخص‌های

در مجموع، بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، می‌توان بیان کرد که استفاده از آزومایت به میزان ۴ گرم در هر کیلوگرم جیره غذایی کپور معمولی جوان، می‌تواند موجب افزایش مقاومت این ماهی در برابر عفونت *Aeromonas hydrophila* شود. در حالی که این سطح، واجد هیچگونه اثرات منفی بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی نیست.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر و از محل پژوهانه نویسندگان انجام شده است. نویسندگان این مقاله بدین وسیله مراتب قدردانی خود را از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر اعلام می‌نمایند.

رشد و بهترین عملکرد سیستم ایمنی (از نظر تعداد گلبول‌های سفید، میزان لیزوزیم، پروتئین کل، گلوبولین، IgM و ACH50) در تیمار ۴ گرم آزومایت مشاهده شد که با نتایج پژوهش حاضر کاملاً همخوانی دارد. نتایج این پژوهش همچنین با نتایج مطالعه Jaleel و همکاران (۲۰۱۵) بر روی ماهی انگشت‌قد کوی که بالاترین فعالیت فاگوسیتوزی کل، شاخص فاگوسیتی، میزان NBT، میزان لیزوزیم، پروتئین کل و سطوح ایمونوگلوبولین را در جیره حاوی ۴ گرم در کیلوگرم آزومایت، مشاهده کردند، همخوانی دارد. Jawahar و همکاران (۲۰۱۶) نیز در مطالعه خود روی ماهی سر ماری بهترین نتیجه را از جیره حاوی ۴ و ۶ گرم در کیلوگرم آزومایت به دست آوردند که با نتایج مطالعه حاضر شباهت دارد.

منابع

- روشن و. ۱۳۹۶. اثرات تغذيه‌اي سطوح مختلف آزومايت بر فعاليت آنزيم‌هاي گوارشي کپور معمولي در مرحله انگشت‌قد. پايان‌نامه کارشناسي ارشد، دانشگاه علوم و فنون دريائي خرمشهر. ۸۰ص.
- عليشاهي م.، سلطاني م.، مصباح م. و زرگر ا. ۱۳۹۱. اثر تحريکات رشد و ايمني سه عصاره گياهي در کپور معمولي (*Cyprinus carpio*). مجله تحقيقات دامپزشکي، ۶۷(۲): ۱۴۲-۱۳۵.
- Atli G. and Canli M. 2007.** Enzymatic responses to metal exposures in a freshwater fish *Oreochromis niloticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 145: 282–287.
- Azam A.R., Khan N. and Iqbal K.J. 2016.** Impact of azomite supplemented diets on the growth, body composition and endogenous enzymes in genetically male tilapia. *Pakistan Journal of Zoology*, 48(4): 1205–1208.
- Berntssen M.H.G., Lundebye A.K. and Hamre K. 2000.** Tissue lipid peroxidative responses in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr fed high levels of dietary copper and cadmium. *Fish Physiology and Biochemistry*, 23: 35–48.
- Bondy S.C. and Cambell A. 2001.** Oxidative and inflammatory properties of aluminium: Possible relevance in Alzheimer's disease. P: 311–321. In: Exley C. (Ed.). *Aluminium and Alzheimer's Disease, The Science That Describes the Link*. Elsevier, Netherlands.
- Buege J.A. and Aust S.D. 1978.** Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 52: 302–310.
- Fodge D., Fodge D.U. and Meyer L. 2014.** The nutritional and immune impact of azomite in tilapia and shrimp survival. *International Journal of Aquafeed*, 17(3): 44–46.
- Goth L. 1991.** A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference rang. *International Journal of Clinical Chemistry*, 196(2): 143–152.
- ايماني م.ج.، زنگويي ن.، ذاکري م. و موسوي س.م. ۱۳۹۸. اثرات سطوح مختلف زئوتن در جيره غذايي بر شاخص‌هاي رشد و تغذيه، ترکيب بيوشيميائي لاشه و عملکرد سيستم ايمني ماهي کپور معمولي. مجله فزيولوژي و بيوتکنولوژي آبزبان، ۷(۱): ۱۲۶-۱۰۳.
- ايماني م.ج.، زنگويي ن.، ذاکري م. و موسوي م. ۱۳۹۹. اثرات سطوح مختلف زئوتن بر برخي فاکتورهاي خوني و شاخص‌هاي رشد ماهي کپور معمولي. مجله بوم‌شناسي آبزبان، ۴(۹): ۶۷-۷۸.

- Halliwell B. and Chirico S. 1993.** Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement, and significance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 57(5): 715–725.
- Han D., Xie S., Liu M., Xiao X., Liu H., Zhu X. and Yang Y. 2011.** The effects of dietary selenium on growth performances, oxidative stress and tissue selenium concentration of Gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture Nutrition*, 17(3): 741–749.
- Harikrishnan R., Balasundaram C. and Heo M.S. 2011.** Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*, 317(1): 1–15.
- Irianto A. and Austin B. 2002.** Probiotics in aquaculture. *Journal of Fish and Disease*, 25(11): 643–642.
- Jaleel M.A., Musthafa M.S., Ali A.J., Mohamed M.J. and Arun Kumar M. 2015.** Studies on the growth performance and immune response of Koi carp fingerlings (*Cyprinus carpio koi*) fed with azomite supplemented diet. *Journal of Biology and Nature*, 4: 160–169.
- Jawahar S., Nafar A., Vasanth K., Mustafa M.S., Arockiaraj J., Balasundaram C. and Harikrishnan R. 2016.** Dietary supplementation of zeolite on growth performance, immunological role, and disease resistance in *Channa striatus* against *Aphanomyces* invadans. *Journal of Fish and Shellfish Immunology*, 5(1): 161–169.
- Juzaitis-Boelter C.P., Benson A.P., Ahammad M.U., Jones M.K., Ferrel J. and Davis A.J. 2021.** Dietary inclusion of azomite improves feed efficiency in broilers and egg production in laying and broiler breeder hens. *Poultry Science*, 100(6): 1–9 (101144).
- Kalaiselvi T. and Panneerselvam C. 1998.** Effect of L-carnitine on the status of lipid peroxidation and antioxidants in aging rats. *Journal of Nutrition and Biochemistry*, 9: 575–581.
- Liu A., Leng X., Li X., Wang L., Luo Y. and Zhu R. 2009.** Effects of azomite on growth, intestinal structure and non-specific immunity of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 21(6): 1006–1011.
- Liu M.Z., Leng X.J., Li X.Q., Xiao C.W. and Chen D.R. 2011.** Effects of azomite on growth performance, intestinal digestive enzyme activities and serum nonspecific immune of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Journal of Zhejiang University*, 7: 312–318.
- Marklund S. and Marklund G. 1974.** Involvement of the

- superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, 47(3): 469–474.
- Paglia D.E. and Valentine W.N. 1967.** Studies on quantitative and qualitative characterization of erythrocytes. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70(1): 158–169.
- Shin C.H., Cha J.H., Rahimnejad S., Jeong J.B., Yoo B.W., Lee B.K., Ahn H.J., Choi S.I., Choi Y.J., Park Y.H., Kim J.D. and K.J. 2014.** Effects of dietary supplementation of Barodon, an anionic alkali mineral complex, on growth performance, feed utilization, innate immunity, goblet cell and digestibility in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27(3): 383–390.
- Skrha J. 2012.** Caloric restriction and oxidative stress. P: 83–103. In: Farooqui A.A. and Farooqui T. (Eds.). *Oxidative Stress in Vertebrates and Invertebrates*. Wiley-Blackwell Press, USA.
- Tan C.G., Li X.Q., Leng X.J., Su X.G., Chen L., Liu B., Ma F., Cai X.Q. and Guo T. 2014.** Effects of supplemental azomite in diets on growth, immune function and disease resistance of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Aquaculture Nutrition*, 20(3): 324–331.
- Tang Y., Zhang B., Wang L. and Li J. 1997.** Effect of dietary rare earth elements-amino acid compounds on growth performance of carp and rainbow trout. *Journal of Fisheries of China*, 10: 88–90.
- Ward R.J., Zhang Y. and Crichton R.R. 2001.** Aluminum toxicity and iron homeostasis. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 87: 9–14.
- Yokel R.A. 2002.** Brain uptake, retention, and efflux of aluminum and manganese. *Environmental Health Perspectives*, 110: 699–704.



Research Paper

Effects of different dietary levels of Azomite on muscle antioxidant defense, survival rate and resistance to *Aeromonas hydrophila* in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*)

Mona Tafani¹, Nasim Zanguee^{2*}, Amir Parviz Salati³, Mohammad Zakeri³, Seyed Mohammad Mousavi³, Mohammad Javad Imani¹

Received: September 2021

Accepted: October 2021

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effects of Azomite on muscle antioxidant defense, survival rate and resistance to *Aeromonas hydrophila* experimental infection in juvenile common carp. For this purpose, a total of 180 fish, with initial average weight of 20.05 ± 4.15 g, were randomly divided in 4 treatments and fed 4 different diets including control group (without Azomite), treatment 1 (2g/kg Azomite), treatment 2 (4g/kg Azomite) and treatment 3 (8g/kg Azomite) for a period of 8 weeks. The results showed that the muscle antioxidant defense was not significantly affected by Azomite consumption ($P > 0.05$). However, the highest activity of catalase and glutathione peroxidase was observed in treatment 3. Oral administration of Azomite had no significant effect on the fish survival rate during the period of experiment ($P > 0.05$). But the resistance to *A. hydrophila* was significantly increased and the highest resistance (the lowest mortality rate) was related to treatment 2, which showed a significant difference with the control group ($P < 0.05$). According to results, it can be suggested that adding 4g/kg of Azomite to common carp diet can increase resistance to *A. hydrophila* infection without having any negative effect on muscle antioxidant defense system.

Key words: *Cyprinus carpio*, Azomite, Muscle Antioxidant Defense, *Aeromonas hydrophila*.

1- M.Sc. in Fisheries, Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

2- Assistant Professor in Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

3- Professor in Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

*Corresponding Author: n_zanguee@yahoo.com