فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال هفتم، شماره اول، بهار ۱۳۹۸

مقاله پژوهشی

اثرات سطوح مختلف زئوتن در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، ترکیب بیوشیمیایی لاشه و عملکرد سیستم ایمنی ماهی کپور معمولی انگشت‌قد (*Cyprinus carpio*)

محمد جواد ایمانی[۱]، نسیم زنگویی[۲]*، محمد ذاکری[۳]، سید محمد موسوی[۳]

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۹۷ تاریخ پذیرش: مرداد ۹۷

چکیده

در این مطالعه، تاثیر زئوتن بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و ایمنی کپور معمولی انگشت‌قد بررسی شد. به این ترتیب که ۱۸۰ قطعه ماهی (میانگین وزن ۰/۱±۲۰/۳ گرم) به طور تصادفی به چهار تیمار تقسیم و به مدت ۸ هفته، به ترتیب با جیره‌های حاوی ۰ (تیمار شاهد)، ۲، ۴ و ۸ گرم زئوتن بر کیلوگرم جیره، تغذیه شدند. در پایان دوره آزمایش، در تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن میانگین وزن نهایی، ضریب چاقی، کارایی غذایی، ضریب کارایی پروتئین، شاخص کبدی و شاخص احشایی افزایش و FCR کاهش نشان داد ($P<0/05$). بالاترین میزان رطوبت لاشه و همچنین پایین‌ترین میزان چربی لاشه مربوط به تیمارهای ۲ و ۴ گرم بود ($P<0/05$). خاکستر لاشه در تیمار ۸ گرم بالاترین میزان را داشت ($P<0/05$). شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی سرم خون، میزان گلوبولین، لیزوزیم، کمپلمان و IgM در تیمار ۴ گرم به صورت معنادار بالاتر از تیمار شاهد و تیمار ۸ گرم بود ($P<0/05$). کمترین و بیشترین تعداد گلبول‌های سفید به ترتیب در تیمارهای ۸ گرم و ۲ گرم زئوتن مشاهده شد. بالاترین درصد لنفوسیت و نوتروفیل به ترتیب در تیمارهای ۲ گرم و ۴ گرم زئوتن دیده شد. در مجموع، زئوتن با سطوح ۲ تا ۴ گرم بر کیلوگرم موجب بهبود رشد، کیفیت لاشه و شاخص‌های ایمنی کپور معمولی انگشت‌قد می‌شود.

واژگان کلیدی: *زئوتن، رشد، ترکیب بیوشیمیایی لاشه، ایمنی، کپور معمولی.*

۱- کارشناس ارشد 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- دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.
* نویسنده مسئول: n_zanguee@yahoo.com

مقدمه

با توجه به نیاز روز افزون بشر به منابع غذایی با کیفیت و سالم، پژوهشگران تلاش‌های زیادی در جهت ارائه راهکارهای مناسب برای افزایش میزان تولید و در عین حال منابع پروتئینی سالم و به دور از عوارض جانبی برای انسان کرده‌اند (Cook et al., 2003). افزایش رشد آبزیان از مهم‌ترین اهداف آبزی‌پروری است، به همین دلیل امروزه گرایش به استفاده از محرک‌های رشد و ایمنی روند فزاینده‌ای یافته است (Affonso et al., 2002). تغذیه از مهم‌ترین ارکان پرورش تجاری ماهیان و نیز از عوامل تعیین کننده موفقیت در آبزی‌پروری است (Kim et al., 2007). استفاده از مکمل‌های غذایی که در بهبود سیستم ایمنی نقش دارند از جمله راهکارهایی است که علاوه بر تامین مواد مغذی لازم در جهت حمایت از رشد و تکامل موجودات آبزی، می‌توانند در افزایش سلامت، مقاومت به استرس و عوامل بیماری‌زا مفید واقع شوند (Vulevic et al., 2004). همچنین استفاده از مواد معدنی طبیعی در مقایسه با ترکیبات شیمیایی می‌تواند فعالیت سیستم ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی ماهی را بهبود دهد و علاوه بر افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها و کنترل عوامل بیماری‌زا به ویژه باکتری‌ها و قارچ‌ها، موجب افزایش رشد، بهبود کیفیت لاشه، بهبود ضریب تبدیل غذایی و همچنین ارتقا سلامت ماهی شود (Ortuno et al., 2001; Slowing et al., 2001; Amagase, 2006).

ماده معدنی زئوتن یکی از نادرترین مواد معدنی و نوعی رسوب آتشفشانی زیردریایی و حاوی آلومینوسیلیکات سدیم کلسیم هیدراته[1] است. این رسوب که از مخلوط شدن بقایای گیاهان، جانوران و مواد معدنی به وجود آمده است، شامل تعداد زیادی از عناصر مانند عناصر مغذی ماکرو و میکرو و نیز عناصر نادر و کمیابی است که استفاده آن در بخش کشاورزی تاثیرات شگرفی را بر روی گیاهان به همراه داشته است. از جمله مهم‌ترین این عناصر می‌توان به فسفر، سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آلومینیم، مس، گوگرد و منگنز اشاره کرد.

نقش و اهمیت ریز مغذی‌های جیره در سلامت آبزیان به اثبات رسیده است (Ghobadi et al., 2014). در مطالعات پیشین اثرات مثبت ترکیبات معدنی از جمله زئولیت، آزومیت

1- Hydrated Calcium Sodium Aluminosilicate

(ترکیبی معدنی شامل بیش از ۷۰ عنصر)، Barodon (یک ترکیب قلیایی با pH ۱۳/۵ و حاوی یون‌های مختلفی مانند سیلیسیم، نقره، سدیم و پتاسیم) و زئوتن در برخی گونه‌های پرورشی ذکر شده است. در ماهی تیلاپیا (*Tilapia zillii*) زئولیت باعث افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، نرخ کارایی پروتئین و مصرف غذا شد (Yildirim et al., 2009). افزودن آزومیت به جیره غذایی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) موجب بهبود عملکرد رشد و همچنین بهبود فعالیت سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهی شد (Liu et al., 2011). در کپور معمولی هم تغذیه با جیره‌های حاوی پرلیت و زئولیت، عملکرد رشد را بهبود بخشید و همچنین میزان خاکستر استخوان و فلس را در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی پرلیت و زئولیت به طور معنی‌دار افزایش داد (Khodanazary et al., 2013). تغذیه با جیره حاوی آزومیت، باعث بهبود عملکرد رشد و ایمنی در ماهی کوی (*Cyprinus carpio koi*) انگشت‌قد شد (Jaleel et al., 2015). جیره‌های حاوی زئولیت اثر معنی‌داری بر روی افزایش وزن نهایی و نرخ رشد ویژه در ماهی شانک سرطلایی (*Sparus aurata*) داشت و عملکرد رشد را بهبود بخشید و همچنین باعث افزایش میزان خاکستر و پروتئین لاشه شد (Kanyilmaz et al., 2015). عملکرد رشد در ماهی *Channa striatus* که با جیره‌های حاوی ۴ و ۶ درصد زئولیت تغذیه شده بودند، افزایش یافت (Jawahar et al., 2016). زئوتن باعث بهبود فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) شد (روشن، ۱۳۹۶).

با توجه به اثرات مثبت گزارش شده در مطالعات پیشین از زئوتن و سایر ترکیبات معدنی شبیه به زئوتن مانند آزومیت، زئولیت و Barodon بر روی آبزیان و همچنین نبود مطالعه مشابه از زئوتن در ایران، مطالعه حاضر برای بررسی اثرات ماده معدنی زئوتن بر روی عملکرد رشد و ترکیب بیوشیمیایی لاشه و سیستم ایمنی غیراختصاصی کپور معمولی انگشت‌قد و تعیین مناسب‌ترین سطح آن در جیره طراحی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهیان

در این مطالعه، تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی کپور معمولی انگشت‌قد با وزن تقریبی (۰/۱±۲۰/۳ گرم) از کارگاه شهید ملکی اهواز با استفاده از کیسه‌های پلاستیکی دوجداره مخصوص که حاوی یک سوم آب و دو سوم اکسیژن بود، به

آزمایشگاه خیس دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انتقال داده شدند.

تیماربندی و غذادهی ماهیان

ماهیان به طور کاملا تصادفی بین ۱۲ وان فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری توزیع شدند (۱۵ قطعه ماهی به ازای هر وان). دوره سازگار کردن ماهیان با شرایط جدید دو هفته به طول انجامید. در طول دوره سازگاری از غذای کنسانتره تجاری کپور (۲۱ بیضا، ایران) استفاده شد. ترکیبات جیره پایه شامل ۴۰۰۰-۳۸۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی قابل هضم، ۳۷-۳۵ درصد پروتئین خام، ۱۲-۱۰ درصد چربی خام، فیبر خام حداکثر ۵ درصد، رطوبت کمتر از ۱۰ درصد، خاکستر کمتر از ۱۰ درصد و TVBN (بازهای ازته فرار) کمتر از ۴۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بود. برای تیماربندی ماهیان، ۴ تیمار با سه تکرار در نظر گرفته شد. ماهی‌ها با جیره‌های حاوی ۰ (تیمار شاهد)، ۲، ۴ و ۸ گرم بر کیلوگرم زئوتن سه بار در روز در ساعت‌های ۰۸:۰۰، ۱۲:۰۰ و ۱۶:۰۰ و بر اساس روش سیری به مدت ۵۶ روز غذادهی شدند. میزان زئوتن جیره‌ها بر اساس میزان ترکیبات مشابه زئوتن از جمله زئولیت، آزومیت و Barodon در مطالعات مشابه تعیین شد (Tan et al., 2014; Jaleelet al., 2015; Azam et al., 2016; Musthafa et al., 2016).

آماده‌سازی جیره‌ها

زئوتن مورد استفاده در این مطالعه از شرکت تعاونی منابع سیمان زودگیر شاهرود تهیه شد. به منظور آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی، ابتدا جیره پایه آسیاب و پودر شد، سپس زئوتن به میزان لازم به آن اضافه شد و ترکیب به مدت ۴۵ دقیقه مخلوط شد. در نهایت با افزودن آب و ایجاد حالت خمیری و عبور دادن آن از چرخ گوشت، پلت‌های غذایی به قطر دو میلی‌متر به دست آمد. به منظور کاهش رطوبت و رسیدن به میزان رطوبت ۱۰-۸ درصد، پلت‌ها به مدت ۳ ساعت در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس به مدت ۱۲ ساعت در محیط آزمایشگاه قرار گرفت. پس از آن، پلت‌های غذایی آماده شده تا زمان مصرف، در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

محاسبه شاخص‌های رشد و تغذیه

پس از اتمام دوره پرورش و مشخص شدن وزن نهایی و وزن خوراک مصرف شده

شاخص‌های ضریب کارایی پروتئین (PER)[1]، ضریب تبدیل غذایی (FCR)[2]، نسبت کارایی غذایی (FER)[3]، ضریب چاقی (CF)[4]، شاخص کبدی (HSI)[5] و شاخص احشایی (VSI)[6] برای هر تیمار طبق رابطه‌های ۱ تا ۶ محاسبه شد (Mohanta et al., 2008).

رابطه ۱:

$$PER = WG / P$$

WG: وزن تر به دست آمده (گرم)؛ P: وزن خشک پروتئین مصرف شده (گرم).

رابطه ۲:

$$FCR = F / (WG)$$

F: غذای مصرف شده (گرم)؛ WG: افزایش وزن (گرم).

رابطه ۳:

$$FER\,(\%) = (WG / F) \times 100$$

WG: افزایش وزن (گرم)؛ F: غذای مصرف شده (گرم).

رابطه ۴:

$$CF = (W / L^3) \times 100$$

W: وزن نهایی (گرم)؛ L: طول نهایی (سانتی‌متر).

رابطه ۵:

$$HSI\,(\%) = (W_H / W_B) \times 100$$

W_H: وزن کبد (گرم)؛ W_B: وزن بدن (گرم).

رابطه ۶:

$$HVI\,(\%) = (W_V / W_B) \times 100$$

W_V: وزن کل دستگاه گوارش (گرم)؛ W_B: وزن بدن (گرم).

بررسی ترکیب لاشه

در پایان دوره آزمایش به منظور تعیین ترکیب بیوشیمیایی لاشه، غذادهی به مدت ۲۴ ساعت قطع شد و سپس از هر تکرار ۳ قطعه ماهی صید و کل بدن ماهی به آزمایشگاه اداره کل دامپزشکی خوزستان منتقل شد. درصد رطوبت، خاکستر، پروتئین و چربی در جیره غذایی و ترکیب لاشه ماهیان با استفاده از روش استاندارد آنالیزهای AOAC (۲۰۰۲) تعیین شد.

شاخص‌های خونی

در پایان دوره آزمایش (روز ۵۶)، غذادهی به مدت ۲۴ ساعت قطع شد و سپس به صورت

1- Protein Efficiency Ratio
2- Feed Conversion Ratio
3- Feed Efficiency Ratio
4- Condition Factor
5- Hepatosomatic Index
6- Viscerosomatic Index

کاملا تصادفی ۹ ماهی از هر تیمار (سه ماهی از هر تکرار) صید شد و پس از بیهوش کردن ماهیان با استفاده از عصاره گل میخک با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (Velisek et al.,2005)، خون‌گیری با استفاده از سرنگ ۵ میلی‌لیتری از سیاهرگ ساقه دمی انجام شد. بخشی از نمونه‌های خون برای بررسی شاخص‌های گلبول سفید به داخل تیوب‌های اپندورف (حاوی هپارین به عنوان ماده ضدانعقاد) منتقل شد و بخش دیگر (یک میلی‌لیتر خون) برای سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی به لوله‌های فاقد ماده ضدانعقاد انتقال داده شد.

بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی خون

به منظور جداسازی سرم، نمونه خون فاقد ماده ضدانعقاد درون دستگاه سانتریفیوژ (D-7200، Hettich، ساخت آلمان) به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۶۰۰۰rpm قرار گرفت. سرم پس از جداسازی در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد (DFU-128CE، Operon، کره جنوبی) تا زمان اندازه‌گیری شاخص‌ها نگهداری شد.

میزان پروتئین کل[1] سرم با روش بیوره مشخص شد (Annino and Giese, 1976). مقدار آلبومین[2] کل سرم به صورت فتومتریک و به روش BCG[3] اندازه‌گیری شد (Duman, 2004). میزان گلوبولین[4] از تفاضل مقادیر پروتئین کل و آلبومین محاسبه شد.

سطوح لیزوزیم سرم، به روش کدورت‌سنجی و بر اساس روش Ellis (۱۹۹۰) با کمی تغییرات صورت پذیرفت. به این منظور ۱۰ میکرولیتر از سرم خون و ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در ۰/۰۵ مول بافر فسفات سدیم (pH ۶/۲) در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای الایزا مخلوط شد. سپس جذب نوری نمونه ها پس از ۱ و ۶ دقیقه با استفاده از دستگاه پلیت‌خوان الایزا (MR-69A، Mindrey، چین) در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده شد و بافر فسفات سدیم به عنوان بلانک مورد استفاده قرار گرفت. هر واحد فعالیت آنزیم به صورت مقادیری از آنزیم که باعث کاهش جذب به میزان ۰/۰۰۱ به ازای هر دقیقه در میلی‌لیتر سرم شود،

1- Total Protein
2- Albumin
3- Bromocresol Green
4- Globulin

محاسبه شد. غلظت‌های مختلف لیزوزیم با استفاده از منحنی‌های استاندارد غلظت‌های لیزوزیم سفیده تخم مرغ (Sigma، آمریکا) مقایسه شد.

میزان کمپلمان (مسیر فرعی کمپلمان[1]، ACH_{50}) به این صورت اندازه‌گیری شد که رقت‌های متوالی سرم در بافر ورونال تهیه شد. سپس سوسپانسیونی از گلبول‌های قرمز گوسفند ($۲/۵ \times ۱۰^{۸} Cell.mL^{-1}$) در همان بافر، به هر رقت سرم اضافه شد و نمونه‌ها در دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه انکوبه شدند. بعد از سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه) مایع رویی در طول موج ۴۱۴ توسط اسپکتروفتومتر (DR6000، HACH، آمریکا) خوانده شد. درصد لیز (Y) از تقسیم طول موج خوانده شده بر ۱۰۰ درصد لیز (لیز در آب مقطر) به دست آمد. نمودار لگاریتمی نقاط $y/۱-y$ و عکس رقت بر روی صفحه لگاریتمی (log-log Graph Paper) رسم و سپس عکس رقتی که ۵۰ درصد همولیز را داشت یا ($ACH_{50}(Unit.mL^{-1})$ از منحنی به دست آمده، خوانده شد (Matsuyama et al., 1988).

میزان ایمونوگلوبولین M در نمونه‌های سرم با روش کدورت‌سنجی (Yamamoto and Yonemasu, 1999) و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (BS-200، Mindrey، چین) در طول موج ۳۲۰ نانومترسنجش شد.

شمارش تعداد گلبول‌های سفید

برای شمارش تعداد گلبول سفید از پیپت ملانژور سفید استفاده شد. تعداد آن‌ها با استفاده از لام نئوبار بعد از رقیق سازی خون با محلول داسیس، شمارش شد (Thrall et al., 2004).

شمارش افتراقی گلبول‌های سفید

شمارش افتراقی گلبول‌های سفید با تهیه گسترش خونی و بررسی آن با میکروسکوپ نوری طبق روش Houston (۱۹۹۰) برای تعیین درصد لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

هر وان به عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد. در این مطالعه کلیه محاسبات آماری در دو نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ و

1- Alternative Complement Hemolysis Test

Microsoft Office Excel 2010 انجام شد. پس از اطمینان از توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov–Smirnov) و یکنواختی واریانس‌ها[1]، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و پس‌آزمون چند دامنه‌ای دانکن[2] در سطح اطمینان ۹۵ درصد (۵ درصد خطا) برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها استفاده شد.

نتایج

شاخص‌های رشد و تغذیه

نتایج اثرات سطوح مختلف زئوتن بر شاخص‌های رشد و تغذیه بچه ماهیان انگشت‌قد کپور معمولی در جدول ۱ آمده است. در انتهای دوره آزمایش بیشترین میانگین وزن نهایی در تیمار ۴ گرم زئوتن (۲۸/۳۶±۴۶/۰ گرم) مشاهده شد که اختلاف معناداری با تیمار شاهد و تیمار ۲ گرم و ۸ گرم زئوتن نشان داد ($P<0/05$).

جدول ۱: شاخص‌های رشد و تغذیه ماهیان انگشت‌قد کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف زئوتن در پایان دوره تیمار (میانگین ± انحراف معیار)

شاخص	تیمار شاهد	تیمار ۲ گرم زئوتن	تیمار ۴ گرم زئوتن	تیمار ۸ گرم زئوتن
میانگین وزن نهایی (گرم)	۴۱/۸۸±۰/۲۹ c	۴۳/۹۱±۰/۹۹ b	۴۶/۲۸±۰/۳۶ a	۴۱/۳۰±۰/۲۱ c
ضریب چاقی	۱/۴۴±۰/۱۵ a	۱/۵۹±۰/۰۸ a	۱/۵۸±۰/۰۴ a	۱/۵۴±۰/۰۲ a
کارایی غذایی (٪)	۳۶/۵۷±۲/۴۴ b	۴۲/۹۵±۴/۰۵ a	۴۷/۸۹±۲/۱۷ a	۳۵/۹۱±۱/۲۰ b
کارایی پروتئین (٪)	۱/۰۴±۰/۰۷ b	۱/۲۲±۰/۱۱ a	۱/۳۷±۰/۰۶ a	۱/۰۲±۰/۰۳ b
ضریب تبدیل غذایی	۲/۷۴±۰/۱۸ b	۲/۳۴±۰/۲۲ a	۲/۰۹±۰/۰۹ a	۲/۷۸±۰/۰۹ b
شاخص کبدی (٪)	۲/۱۶±۰/۱۷ a	۲/۱۳±۰/۲۰ a	۲/۶۱±۰/۱۶ a	۲/۲۴±۰/۱۲ a
شاخص احشایی (٪)	۱۰/۰۰±۴/۲۷ a	۱۰/۰۷±۴/۰۴ a	۱۰/۸۵±۴/۷۹ a	۱۱/۵۹±۴/۵۴ a

حروف متفاوت در هر ردیف، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P<0/05$).

1- Homogeneity of Variance
2- Duncans Multiple Range Test

همچنین تیمار ۲ گرم زئوتن نیز از نظر میانگین وزن نهایی نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۸ گرم زئوتن اختلاف معناداری داشت (P< ۰/۰۵). شاخص احشایی و شاخص کبدی تحت تاثیر مقادیر متفاوت زئوتن در جیره غذایی قرار نگرفتند و اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد (P>۰/۰۵). همچنین اختلاف معنی‌داری بین فاکتور وضعیت (ضریب چاقی) در تیمارهای حاضر در آزمایش مشاهده نشد (P>۰/۰۵). اما ضریب تبدیل غذایی (FCR) در تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۸ گرم زئوتن اختلاف معناداری داشت (P<۰/۰۵). کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۴ گرم زئوتن (۲/۰±۰۹/۰۹) مشاهده شد. با توجه به جدول شماره ۱، کارایی غذایی و کارایی پروتئین نیز در تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۸ گرم زئوتن اختلاف معناداری نشان دادند (P<۰/۰۵) و بیشترین میزان آن‌ها به ترتیب با مقدار ۴۷/۲±۸۹/۱۷ درصد و ۱/۰±۳۷/۰۶ درصد در تیمار ۴ گرم زئوتن مشاهده شد.

ترکیب لاشه

با توجه به جدول شماره ۲، میزان محتوای پروتئین در تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۸ گرم زئوتن افزایش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵). بالاترین میزان خاکستر در تیمار ۸ گرم زئوتن (۰/۱۷±۰/۰۲ درصد) مشاهده شد که نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵).

جدول ۲: ترکیبات بیوشیمیایی بدن ماهیان انگشت‌قد کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف زئوتن در پایان دوره تیمار (میانگین ± انحراف معیار)

ترکیبات لاشه (٪)	تیمار شاهد	تیمار ۲ گرم زئوتن	تیمار ۴ گرم زئوتن	تیمار ۸ گرم زئوتن
پروتئین	۵۲/۸۶±۲/۶۱ a	۵۶/۹۱±۱/۰۶ a	۵۸/۱۱±۲/۰۷ a	۵۱/۱۱±۳/۱۴ a
چربی	۳۳/۷۱±۱/۶۵ a	۲۹/۱۴±۲/۱۷ b	۲۹/۰۳±۱/۶۵ b	۳۴/۱۶±۲/۴۴ a
خاکستر	۰/۰۷±۰/۰۱ b	۰/۰۸±۰/۰۰ b	۰/۱۱±۰/۰۱ b	۰/۱۷±۰/۰۲ a
رطوبت	۴۱/۸۸±۱/۸۳ c	۴۳/۹۱±۲/۰۳ b	۴۶/۲۸±۱/۶۷ a	۴۱/۱۸±۲/۳۷ c

حروف متفاوت در هر ردیف، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).

میزان چربی در تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۸ گرم زئوتن به طور معنادار پایین‌تر بود (P<۰/۰۵) و بیشترین میزان چربی (۲/۴۴±۳۴/۱۶ درصد) در تیمار ۸ گرم زئوتن مشاهده شد. بالاترین درصد رطوبت (۲۸/۶۷±۴۶/۱ درصد)، مربوط به تیمار ۴ گرم زئوتن بود که اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵). همچنین درصد رطوبت در تیمار ۲ گرم زئوتن با مقدار (۹۱/۰۳±۴۳/۲ درصد)، نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۸ گرم زئوتن اختلاف معنادار نشان داد (P<۰/۰۵).

شاخص‌های خونی

با توجه به جدول شماره ۳، تعداد گلبول‌های سفید در تیمار ۸ گرم زئوتن به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد و تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن پایین‌تر بود و بیشترین تعداد گلبول‌های سفید (۴۹±۲۱۱۷/۶۱ در میلی‌متر مکعب) مربوط به تیمار ۲ گرم زئوتن بود. بیشترین درصد لنفوسیت (۳/۷۷±۸۱/۸۶ درصد) مربوط به تیمار ۲ گرم زئوتن بود که نسبت به تیمار ۴ گرم زئوتن اختلاف معناداری را نشان داد (P<۰/۰۵)، اما با تیمار شاهد و تیمار ۸ گرم زئوتن اختلاف معناداری نداشت.

جدول ۳: شاخص‌های خونی ماهیان انگشت‌قد کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف زئوتن در پایان دوره تیمار (میانگین ± انحراف معیار)

شاخص‌های گلبول سفید	تیمار شاهد	تیمار ۲ گرم زئوتن	تیمار ۴ گرم زئوتن	تیمار ۸ گرم زئوتن
تعداد گلبول سفید (cell/mm^3)	۱۹۴۶/۵۸±۲۶ ^{a}	۲۱۱۷/۶۱±۴۹ ^{a}	۲۰۶۹/۴۴±۸۴ ^{a}	۱۷۱۴/۷۲±۳۶ ^{b}
لنفوسیت (٪)	۸۰/۸۰±۴/۴۴ ^{ab}	۸۱/۸۶±۳/۷۷ ^{a}	۷۸/۱۰±۳/۶۶ ^{b}	۸۰/۸۰±۳/۱۴ ^{ab}
نوتروفیل (٪)	۱۰/۵۰±۱/۲۶ ^{b}	۹/۷۳±۲/۴۰ ^{b}	۱۳/۹۰±۲/۴۶ ^{a}	۱۱/۲۰±۲/۳۹ ^{b}
مونوسیت (٪)	۷/۴۰±۱/۷۱	۶/۹۳±۱/۷۵	۶/۸۰±۱/۶۱	۷/۲۰±۱/۸۲
بازوفیل (٪)	۱/۳۰±۰/۱۵	۱/۴۸±۰/۱۹	۱/۲۰±۰/۲۱	۰/۸۰±۰/۰۷

حروف متفاوت در هر ردیف، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).

بیشترین درصد نوتروفیل (۲/۴۶±۱۳/۹۰) مربوط به تیمار ۴ گرم زئوتن بود که با تیمار شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). درصد مونوسیت و بازوفیل در بین هیچ کدام از تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵).

شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی خون

با توجه به جدول شماره ۴، مقدار پروتئین کل در تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۸ گرم زئوتن دارای اختلاف معنی‌داری بود (P<۰/۰۵) و بیشترین مقدار آن (۲/۱۷±۳/۹۴ گرم بر دسی‌لیتر) مربوط به تیمار ۴ گرم زئوتن بود. مقدار آلبومین در تیمار ۴ گرم زئوتن دارای کمترین مقدار (۰/۰۸±۰/۹۳ گرم بر دسی‌لیتر) بود و اختلاف معناداری با تیمار شاهد و سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵). میزان گلوبولین سرم در تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۸ گرم زئوتن به طور معنادار بالاتر بود (P<۰/۰۵) و مقدار آن در تیمار ۴ گرم زئوتن (۰/۴۱±۲/۷۱ گرم بر دسی‌لیتر) بیشترین مقدار بود. میزان لیزوزیم در تیمار ۴ گرم زئوتن بیشترین مقدار (۰/۷۲±۸/۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود که نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۸ گرم زئوتن دارای اختلاف معنی‌داری بود (P<۰/۰۵)، اما با تیمار ۲ گرم زئوتن اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۴: شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی خون ماهیان انگشت‌قد کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف زئوتن در پایان دوره تیمار (میانگین ± انحراف معیار)

شاخص	تیمار شاهد	تیمار ۲ گرم زئوتن	تیمار ۴ گرم زئوتن	تیمار ۸ گرم زئوتن
پروتئین کل (g/dL)	۲/۹۱±۰/۱۱ ^{b}	۳/۱۷±۰/۳۴ ^{a}	۳/۹۴±۲/۱۷ ^{a}	۲/۹۴±۰/۶۳ ^{b}
آلبومین (g/dL)	۱/۱۹±۰/۱۴ ^{a}	۱/۰۳±۰/۱۲ ^{a}	۰/۹۳±۰/۰۸ ^{b}	۱/۲۷±۰/۱۵ ^{a}
گلوبولین (g/dL)	۱/۶۵±۰/۱۷ ^{b}	۲/۱۳±۰/۲۶ ^{a}	۲/۷۱±۰/۴۱ ^{a}	۱/۵۳±۰/۳۳ ^{b}
لیزوزیم (µg/mL)	۵/۴۴±۰/۶۶ ^{b}	۶/۷۹±۰/۹۴ ^{ab}	۸/۱۱±۰/۷۲ ^{a}	۶/۰۸±۰/۳۹ ^{b}
IgM (µg/mL)	۳۷/۰۰±۴/۰۰ ^{b}	۴۲/۳۳±۳/۰۵ ^{ab}	۴۸/۰۰±۲/۶۴ ^{a}	۳۶/۶۶±۵/۱۳ ^{b}
ACH_{50} (µg/mL)	۳۱/۳۳±۵/۶۸ ^{b}	۳۶/۶۶±۵/۱۳ ^{ab}	۴۳/۶۶±۴/۵۰ ^{a}	۳۲/۳۳±۳/۵۱ ^{b}

حروف متفاوت در هر ردیف، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).

بیشترین مقدار IgM و ACH_{50} به ترتیب با مقادیر ۲/۶۴±۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و ۴/۵۰±۴۳/۶۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) مربوط به تیمار ۴ گرم زئوتن بود که نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۸ گرم زئوتن دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P<0/05$)، اما با تیمار ۲ گرم زئوتن اختلاف معنی‌داری نداشت ($P>0/05$).

بحث

بر اساس نتایج به دست آمده در پایان دوره تیمار مشخص شد که ماده معدنی زئوتن مورد استفاده در جیره غذایی بچه ماهیان انگشت‌قد کپور معمولی باعث بهبود عملکرد رشد و تغذیه، ترکیب بیوشیمیایی لاشه و ایمنی شد.

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که شاخص‌های رشد شامل میانگین وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن، شاخص رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، نسبت کارایی غذایی و کارایی پروتئین در تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن به طور معنی‌داری بهتر از سایر تیمارها بود و افزودن زئوتن به جیره غذایی ماهی کپور معمولی منجر به بهبود رشد شد. تطابق تقریبی نتایج شاخص‌های رشد و ایمنی در بین تیمارها تایید کننده این است که در تیمارهایی که وضعیت سیستم ایمنی بدن بهبود پیدا کرده بود شرایط رشد نیز بهبود یافت. بنابرین، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالا تقویت ایمنی ماهی می‌تواند رشد ماهی را نیز تسریع کند. البته می‌توان این احتمال را نیز در نظر گرفت که ماده معدنی زئوتن به صورت مستقیم باعث بهبود وضعیت رشد شده است و بهبود وضعیت رشد ناشی از بهبود سیستم ایمنی بدن ماهی نیست. با توجه به نقش‌های متعدد مواد معدنی در بدن به ویژه نقش فعال و حیاتی آن‌ها در متابولیسم بدن به عنوان کوفاکتور یا اجزای سیستم‌های آنزیمی متعدد (FAO, 2013) می‌توان عنوان کرد که ماده معدنی زئوتن با تقویت متابولیسم و افزایش ساخت پروتئین (که منجر به تولید مولکول‌های پروتئینی بیشتر می‌شود) و همچنین جذب و تجمع آن باعث بهبود رشد در تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن شده است. در تیمار ۸ گرم زئوتن کاهش رشد مشاهده شد، احتمالا زئوتن در مقادیر بالا می‌تواند منجر به تاثیر منفی بر فیزیولوژی ماهی و ایجاد استرس شود. این تاثیر منفی ممکن است به دلیل وجود عناصری مانند آلومینیوم باشد (Ward et al., 2001).

Khodanazary و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۵ درصد زئولیت رشد بهتری داشتند. Yildirim و همکاران (۲۰۰۹) در

مطالعه خود بر روی تیلاپیا گزارش دادند افزودن ۱ و ۲ درصد زئولیت به جیره غذایی این ماهی باعث افزایش وزن، ضریب کارایی پروتئین و بهبود ضریب تبدیل غذایی شد. Jaleel و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند افزودن ۴ گرم بر کیلوگرم ماده معدنی آزومیت به جیره غذایی ماهی کوی موجب بهبود عملکرد رشد شد. Azam و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند افزودن ۰/۷۵ درصد آزومیت به جیره غذایی ماهی تیلاپیای نر انگشت‌قد، موجب بهبود رشد شد. Liu و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند افزودن ماده معدنی آزومیت به جیره غذایی کپور علفخوار می‌تواند عملکرد رشد را بهبود ببخشد. تغذیه ماهیان هامور (*Epinephelus coioides*) با جیره فاقد فسفر، کاهش رشد و کارایی ضعیف تغذیه را به دنبال داشت که علت آن را اختلالات متابولیکی ناشی از کمبود فسفر گزارش کردند (Ye et al., 2006).

به طور کلی ترکیب بدن ماهیان همواره تحت تاثیر ترکیب جیره، مقدار غذادهی و درصد غذادهی روزانه قرار می‌گیرد. ترکیبات مختلف غذایی دارای اثرات متفاوتی بر ترکیب لاشه ماهیان هستند. علاوه بر آن کیفیت غذایی مصرفی ماهیان پرورشی از مهم‌ترین عوامل کنترل کیفی برای این موجودات محسوب می‌شود (Gawlicka et al., 2002). در مطالعه حاضر افزودن ماده معدنی زئوتن به جیره غذایی تاثیرات مثبتی بر ترکیب لاشه داشته است، به این صورت که در تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن مقدار پروتئین از نظر عددی افزایش یافت اما معنی‌دار نبود. این افزایش احتمالا به دلیل وجود عناصری مانند منیزیم (نقش در متابولیسم کربوهیدرات، پروتئین و چربی)، پتاسیم (نقش در سنتز پروتئین و گلیکوژن همچنین تجزیه متابولیک گلوکز)، منگنز (نقش در متابولیسم کربوهیدرات)، گوگرد (جزء ضروری چندین آمینواسید کلیدی) و روی (نقش در متابولیسم لیپید، کربوهیدرات به ویژه ساخت و متابولیسم پروتئین) است که باعث صرف چربی و کربوهیدرات برای انرژی و ابقا پروتئین شده است. مقدار چربی به طور معنی‌داری در تیمارهای ۲ گرم و ۴ گرم زئوتن کاهش یافته بود که احتمال می‌رود حضور عناصری مانند کلسیم (نقش فعال کنندگی آنزیم لیپاز پانکراس)، منیزیم (نقش مهم در متابولیسم کربوهیدرات، پروتئین و چربی) و روی (نقش در متابولیسم لیپید) (FAO, 2013) باعث کاهش ذخایر چربی بدن موجود از طریق افزایش قابلیت هضم چربی شده است که باعث ارتقای کیفیت لاشه می‌شود (Ghosh et al., 2002). همچنین

درصد رطوبت لاشه در تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن بالاتر از تیمار شاهد و تیمار ۸ گرم زئوتن بود. از طرفی میزان چربی لاشه در تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن پایین‌تر از تیمار شاهد و تیمار ۸ گرم زئوتن بود. رابطه بین رطوبت و چربی موجود در بدن ماهی ثابت شده است به طوری که کاهش چربی باعث افزایش رطوبت می‌شود، زیرا چربی‌های کاتابولیز شده با حجم برابری از آب جایگزین می‌شوند (Halver and Hardy, 2002). بنابراین به نظر می‌رسد میزان چربی لاشه کاسته شده در تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن با آب جایگزین شده باشد. همچنین میزان خاکستر روند افزایشی داشت که این میزان در تیمار ۸ گرم زئوتن به صورت معنادار بالاتر از تیمار شاهد و سایر تیمارها بود. به نظر می‌رسد وجود برخی مواد معدنی موجود در زئوتن مانند کلسیم، فسفر، منیزیم و منگنز که نقش مهمی در شکل‌گیری استخوان دارند (FAO, 2013) در محتوای معدنی لاشه ماهی کپور تاثیر می‌گذارد. دسترسی دائمی به غذا و جذب مواد معدنی و عناصر موجود در غذا از سوی جاندار در میزان خاکستر لاشه تاثیرگذار است.

Ye و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند در ماهی هامور تغذیه شده با جیره بدون فسفر، خاکستر لاشه کاهش و محتوای چربی لاشه افزایش یافت. Azam و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای بر روی ماهی تیلاپیای نر انگشت‌قد گزارش کردند تغذیه با جیره‌های حاوی سطوح مختلف آزومیت باعث کاهش میزان چربی و خاکستر و افزایش میزان پروتئین لاشه نسبت به تیمار شاهد شد. البته در مطالعه‌ای دیگر Wang و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند افزایش میزان فسفر در جیره غذایی ماهی *Hucho taimen* (Pallas,1773) تاثیر معنی‌داری بر میزان پروتئین و رطوبت لاشه نداشت، اما میزان چربی به طور معناداری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت و میزان خاکستر به طور معناداری بیشتر از تیمار شاهد بود. Shen و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای بر روی ماهی هیبرید *Channa argus* × *Channa maculata* گزارش کردند با افزایش میزان فسفر در جیره غذایی این ماهیان، چربی کاهش و میزان خاکستر افزایش یافت اما میزان پروتئین و رطوبت اختلاف معناداری بین تیمارها نداشت.

اهمیت اندازه‌گیری پروتئین‌های سرم خون به دلیل تغییر مقادیر آن‌ها در شرایط مختلف فیزیولوژیک و بیماری و نوع گونه متفاوت است (Sabri et al., 2009). نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که در تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی،

مقدار پروتئین کل و گلوبولین به طور معنی‌داری افزایش یافت، از طرفی تعداد گلبول‌های سفید در این دو تیمار به شکل معنی‌دار بالاتر از تیمار شاهد و تیمار ۸ گرم زئوتن بود، بنابراین به نظر می‌رسد احتمالا افزایش پروتئین کل در نتیجه افزایش تعداد گلبول‌های سفید که منبع مهم تولید انواع ترکیبات بیوشیمیایی مانند پروتئین سرم، لیزوزیم، عوامل کمپلمان و پپتیدهای ضدباکتریایی است، باشد (Misra et al., 2006) و همچنین غلظت‌های بالای سطوح پروتئین کل و گلوبولین در تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن در نتیجه بهبود پاسخ‌های ایمنی ذاتی ماهی است (Jawahar et al., 2016). میزان آلبومین در تیمار ۴ گرم زئوتن به صورت معنی‌داری پایین‌تر از سایر تیمارها بود که کاهش نسبت آلبومین به گلوبولین، بهبود وضعیت سیستم ایمنی بدن را تایید می‌کند (Bunglavan et al., 2014).

Ashouri و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه‌ای بر روی ماهیان کپور معمولی گزارش کردند در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۲ میلی‌گرم نانوسلنیوم در کیلوگرم در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی مقدار پروتئین کل و گلوبولین به طور معنی‌داری افزایش و غلظت آلبومین سرم به طور معنی‌داری کاهش یافت. Jawahar و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای بر روی ماهی *Channa striatus* که به آن قارچ *Aphanomyces invadans* تزریق و با جیره‌های حاوی ۰، ۲، ۴ و ۶ درصد زئولیت تغذیه شده بود، گزارش کردند میزان پروتئین کل در هفته چهارم در تیمارهای ۴ و ۶ درصد زئولیت بالاتر از تیمار شاهد و تیمار ۲ درصد زئولیت بود. همچنین میزان گلوبولین در تیمار ۴ درصد زئولیت بالاتر از سایر تیمارها مشاهده شد، ولی میزان آلبومین در تمام تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی زئولیت، بالاتر از تیمار شاهد بود. دلیل تفاوت بین نتایج را می‌توان این طور توجیه کرد که غلظت آلبومین در پلاسمای خون ماهیان استخوانی می‌تواند به صورت اساسی نوسان داشته باشد و نوسان سطوح آلبومین به میزان تحرک طبیعی، فصل، تغذیه، مرحله رسیدگی جنسی و عوامل دیگر بستگی دارد (Andreeva, 1999).

لیزوزیم دارای خواص ضدباکتریایی، ضدویروسی و ضدالتهاب است. لیزوزیم، پپتیدوگلیکان موجود در دیواره باکتری‌ها را می‌شکند و بدین ترتیب به طور غیراختصاصی از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا جلوگیری می‌کند. در نتیجه به عنوان یک بخش مهم از مکانیسم دفاع غیراختصاصی به شمار می‌رود (Sahu et al., 2007). نتایج حاصل از مطالعه

حاضر نشان داد که میزان لیزوزیم در تیمار ۴ گرم زئوتن نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۸ گرم زئوتن به صورت معنی‌داری بالاتر بود اما با تیمار ۲ گرم زئوتن اختلاف معنی‌دار نداشت. با توجه به این که در این مطالعه بیشترین میزان فاگوسیت‌ها به ویژه نوتروفیل در تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن بود، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالا افزایش میزان لیزوزیم در این تیمارها نتیجه افزایش فاگوسیت‌ها به ویژه نوتروفیل‌ها باشد. این آنزیم ضدباکتریایی توسط فاگوسیت‌ها به ویژه مونوسیت‌ها، ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها تولید می‌شود (Sitja-Bobadilla et al., 2008). از طرفی محرک‌های ایمنی می‌توانند فعالیت لیزوزیم سرمی را هم از طریق افزایش در تعداد فاگوسیت‌ها و هم از طریق افزایش حجم لیزوزیم ترشح شده از هر سلول فاگوسیت (نوتروفیل، مونوسیت و ماکروفاژ) افزایش دهند (Engstad et al., 1992).

Jaleel و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه‌ای بر روی ماهی کپور انگشت‌قد کوی گزارش کردند میزان لیزوزیم ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۴ گرم بر کیلوگرم زئولیت در مقایسه با تیمار شاهد به طور معنی‌دار افزایش یافت. Shin و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه‌ای بر روی ماهی کفشک زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) گزارش کردند ماده معدنی Barodon تاثیر مثبتی بر ایمنی ذاتی این ماهی داشت و فعالیت لیزوزیم، سوپراکسیداز دیسموتاز و میلوپروکسیداز به طور معنی‌داری در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی Barodon افزایش یافت. Tan و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه‌ای بر روی میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*)، گزارش کردند در میگوهای تغذیه شده با جیره‌های غذایی محتوی سطوح مختلف آزومیت (۲، ۴ و ۶ گرم در کیلوگرم در جیره)، فعالیت لیزوزیم در مقایسه با گروه تغذیه شده با جیره بدون آزومیت بهبود یافته بود.

فعالیت IgM و کمپلمان پاسخ اصلی ایمنی هومورال اکتسابی و ایمنی ذاتی است (Sumpter, 1997). مسیر فرعی کمپلمان (ACH_{50}) به عنوان یک مکانیسم دفاعی غیراختصاصی قدرتمند برای حفاظت ماهی در برابر طیف وسیعی از موجودات مهاجم بالقوه مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها و انگل‌ها نمایان می‌شود (Muller-Eberhard, 1988). نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که میزان ACH_{50} و IgM در تیمار ۴ گرم زئوتن به طور معناداری بالاتر از تیمار شاهد و ۸ گرم زئوتن بود اما با تیمار ۲ گرم زئوتن اختلاف معناداری نداشت. با توجه به این که لیزوزیم

توانایی فعال‌سازی کمپلمان را دارد (Musthafa et al., 2016)، این احتمال را می‌توان در نظر گرفت که افزایش میزان کمپلمان در تیمارهای ۲ و ۴ گرم زئوتن به دنبال افزایش لیزوزیم سرم در این تیمارها بود. ایمونوگلوبولین‌ها دسته‌ای از مولکول‌های زیستی هستند که در سیستم ایمنی اختصاصی فعال هستند. این مولکول‌ها به طور اختصاصی توسط لنفوسیت‌های B علیه آنتی‌ژن‌ها تولید می‌شوند (Abbas et al., 2014)، بنابرین می‌توان این طور نتیجه گرفت که ترکیبات معدنی موجود در زئوتن با تحریک تولید لنفوسیت‌ها موجب افزایش میزان ایمونوگلوبولین در این تیمارها شد.

Jaleel و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه‌ای بر روی ماهی انگشت‌قد کوی گزارش کردند میزان ایمونوگلوبولین در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۴ گرم بر کیلوگرم زئولیت نسبت به تیمار شاهد به طور معنی‌دار افزایش پیدا کرد. Jokinen و همکاران (۲۰۰۳) در مطالعه‌ای بر روی سفید ماهی اروپایی تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف فسفر گزارش کردند میزان IgM در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح بالاتر فسفر نسبت به سایر گروه‌ها بالاتر بود. Wang و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای بر روی ماهی *Hucho taimen* تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف فسفر (۲/۳ گرم بر کیلوگرم در گروه شاهد و در سایر تیمارها ۴، ۵/۶، ۷/۵، ۹/۱ و ۱۰/۸ گرم بر کیلوگرم) گزارش کردند میزان IgM پلاسما به صورت خطی با افزایش فسفر جیره از ۴ گرم بر کیلوگرم تا ۹ گرم بر کیلوگرم افزایش و سپس کاهش یافت. در همین پژوهش سطوح مختلف فسفر اثر معنی‌داری بر پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین و لیزوزیم سرم در مقایسه با تیمار شاهد نداشت (Wang et al., 2016). Jawahar و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای بر روی گونه *Channa striatus* که به مدت ۸ هفته با جیره‌های حاوی سطوح مختلف زئولیت تغذیه شده بودند، گزارش کردند فعالیت کمپلمان در هفته‌های اول و دوم در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۶ درصد زئولیت به صورت معنادار بالاتر از سایر تیمارها بود، همچنین در هفته هشتم در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۲ درصد زئولیت، فعالیت کمپلمان به صورت معنادار بالاتر از سایر تیمارها بود. Musthafa و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه خود بر روی ماهیان تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) که با سطوح مختلف آزومیت تغذیه شده بودند و به آن‌ها باکتری *Aeromonas hydrophila* تزریق شده بود، گزارش کردند فعالیت کمپلمان در هفته اول

تا چهارم بعد از تزریق باکتری به صورت معناداری در تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی ۴ و ۶ گرم بر کیلوگرم آزومیت، بالاتر بود. بررسی ترکیب بیوشیمیایی سرم در مطالعه حاضر نشان داد استفاده از سطوح ۲ و ۴ گرم در کیلوگرم زئوتن در جیره غذایی ماهی کپور معمولی با تحریک ترکیبات بیوشیمیایی سرم و بهبود آن‌ها تاثیر مثبتی بر روی ارتقای عملکرد ایمنی را در ماهی کپور معمولی داشت.

بر اساس یافته‌های این پژوهش به نظر می‌رسد استفاده از غلظت ۴ گرم زئوتن در کیلوگرم جیره غذایی کپور معمولی موجب بهبود عملکرد رشد و تغذیه، ترکیب لاشه و عملکرد سیستم ایمنی غیراختصاصی در کپور معمولی انگشت‌قد شده است. همچنین با توجه به اینکه ذخایر زئوتن به طور طبیعی در ایران وجود دارد پیشنهاد می‌شود اثرات زئوتن در جیره غذایی بر روی رشد و سلامت گونه‌های دیگر ماهیان، سایر آبزیان و جانوران نیز مطالعه شود و زمینه معرفی این ماده به صنعت دامپروری فراهم شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند مراتب تقدیر و تشکر خود را از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر به جهت حمایت مالی از انجام مراحل مختلف این پژوهش اعلام نمایند.

منابع

روشن و. ۱۳۹۶. اثرات تغذیه‌ای سطوح مختلف آزومایت بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مرحله انگشت‌قد. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر. ۹۷ص.

Abbas A.K., Lichtman A.H. and Pillai S. 2014. Cellular and Molecular Immunology. Elsevier Health Sciences. 544P.

Affonso E.G., Polez V.L.P., Correa C.F., Mazon A.F., Araujo M.R.R., Moraes G. and Rantin F.T. 2002. Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. Comparative Biochemistry and Physiology (C), 133(3): 375–382.

Amagase H. 2006. Clarifying the real bioactive constituents of garlic. The Journal of Nutrition, 136(3): 716–725.

Andreeva A.M. 1999. Structural and functional organization of the albumin system of fish blood. Journal of Ichthyology, 39(9): 788–794.

Annino J.S. and Giese R.W. 1976. Clinical Chemistry Principles and Procedures. Little, Brown and Company, USA. 412P.

AOAC. 2002. Association of Official Analytical, Official Methods of Analysis of AOAC International, AOAC International, USA.

Ashouri S., Keyvanshokooh S., Salati A.P., Johari S.A. and Pasha-Zanoosi H. 2015. Effects of different levels of dietary selenium nanoparticles on growth performance, muscle composition, blood biochemical profiles and antioxidant status of common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture, 446: 25–29.

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.

Bunglavan S.J., Garg A.K., Dass R.S. and Shrivastava S. 2014. Effect of supplementation of different levels of selenium as nanoparticles/sodium selenite on blood biochemical profile and humoral immunity in male Wistar rats. Veterinary World, 7(12): 1075–1081.

Cook M.T., Hayball P.J., Hutchinson W., Nowak B.F. and Hayball J.D. 2003. Administration of a commercial immunostimulant preparation, EcoActiva™ as a feed

supplement enhances macrophage respiratory burst and the growth rate of snapper (*Pagrus auratus*, Sparidae (Bloch and Schneider)) in winter. Fish and Shellfish Immunology, 14(4): 333–345.

Duman E. 2004. Reproductive biology of *Capoeta trutta* Heckel, 1843 (Pisces: Cyprinidae) living in Keban Dam Lake. F.U. Fen ve Muhendislik Bilimleri Dergisi, 16(1): 145–150.

Ellis A.E. 1990. Lysozyme assays. Techniques in Fish Immunology, 1: 101–103.

Engstad R.E., Robertsen B. and Frivold E. 1992. Yeast glucan induces increase in lysozyme and complement-mediated haemolytic activity in Atlantic salmon blood. Fish and Shellfish Immunology, 2(4): 287–297.

FAO (Food and Agricultural Organization). 2013. The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp- A training manual. The Essential Nutrients- Mineral. http://www.fao.org/tempref/FI/CDrom/aquaculture/a0845t/volume2/docrep/field/003/ab470e/AB470E06.htm.

Gawlicka A., Herold M.A., Barrows F.T., Noue G.D.L. and Hung S.S.O. 2002. Effect of dietary lipid on growth, fatty acid composition, intestinal absorption and hepatic storage in white sturgeon (*Acipenser transmontanus* R.) larvae. Applied Ichthyology, 18: 673–681.

Ghobadi S., Rajabi H., Hosseinifard M. and Palangi L. 2014. Survey on effects of different levels of nano iron on growth and nutrition performance in rainbow trout. Breeding and Aquaculture Sciences Journal, 1(1): 67–82.

Ghosh K., Sen S.K. and Ray A.K. 2002. Characterization of bacilli isolated from the gut of rohu, *Labeo rohita*, fingerlings and its significance in digestion. Journal of Applied Aquaculture, 12(3): 33–42.

Halver J.E. and Hardy R.W. 2002. Fish Nutrition. Academic Press, USA. 824P.

Houston A.H. 1990. Blood and circulation. P: 273–335. In: Schreck C.B. and Moyle P.B. (Eds.). Methods in Fish Biology. American Fisheries Society, USA.

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., Musthafa M.S., Arockiaraj J., Balasundaram C. and Harikrishnan R. 2016. Dietary supplementation of zeolite on growth performance, immunelogical

role, and disease resistance in *Channa striatus* against *Aphanomyces invadans*. Fish and Shellfish Immunology, 51: 161–169.

Jokinen E., Vielma J., Aaltonen T. and Koskela J. 2003. The effect of dietary phosphorus deficiency on the immune responses of European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.). Fish and Shellfish Immunology, 15: 159–168.

Kanyilmaz M., Tekelioglu N., Sevgili H., Uysal R. and Aksoy A. 2015. Effects of dietary zeolite (clinoptilolite) levels on growth performance, feed utilization and waste excretions by gilthead sea bream juveniles (*Sparus aurata*). Animal Feed Science and Technology, 200: 66–75.

Khodanazary A., Boldaji F. and Dastar B. 2013. Effects of dietary zeolite and perlite supplementations on growth and nutrient utilization performance, and some serum variables in common carp (*Cyprinus carpio*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 13(3): 495–501.

Kim K.D., Kang Y.J. and Kim W. 2007. Effects of feeding rate on growth and decomposition of juvenile flounder (*Paralichthys*). Journal of the World Aquaculture Society, 38(1): 745–749.

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, 37(3): 312–318.

Matsuyama H., Tanaka K., Nakao M. and Yano T. 1988. Characterization of the alternative complement pathway of carp. Developmental and Comparative Immunology, 12(2): 403–408.

Misra C.K., Das B.K., Mukherjee S.C. and Meher P.K. 2006. The immunomodulatory effects of tuftsin on the non-specific immune system of Indian major carp, *Labeo rohita*. Fish and Shellfish Immunology, 20(5): 728–738.

Mohanta K.N., Mohanty S.N., Jena J.K. and Sahu N.P. 2008. Optimal dietary lipid level of silver barb, *Puntius gonionotus* fingerlings in relation to growth, nutrient retention and digestibility, muscle nucleic acid content and digestive enzyme activity. Aquaculture Nutrition, 14(4): 350–359.

Muller-Eberhard H.J. 1988. Molecular organization and function of the complement system. Annual Review of Biochemistry, 57: 321–347.

Musthafa M.S., Ali A.R.J., Mohamed M.J., Jaleel M.M.A., Kumar M.S.A., Rani K.U. and Harikrishnan R. 2016. Protective efficacy of azomite enriched diet in *Oreochromis mossambicus* against

Aeromonas hydrophila. Aquaculture, 451: 310–315

Ortuno J., Cuesta A., Esteban M.A. and Meseguer J. 2001. Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. Veterinary immunology and immunopathology, 79(3): 167–180.

Sabri D.M., Danasoury M.M., Eissa I.A.M. and Khouraiba H.M. 2009. Alteration in serum protein fractions and Na-K-ATPase activity in *Clarias gariepinus* infected with henneguyosis in Ismailia Egypt. African Journal of Aquatic Science, 34(1): 103–107.

Sahu S., Das B., Mishra B., Pradhan J. and Sarangi N. 2007. Effect of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. Journal of Applied Ichthyology, 23: 80–86.

Shen H.M., Chen X.R., Chen W.Y., Lin S.M., Chen Y.J., Zhang L. and Luo L. 2016. Influence of dietary phosphorus levels on growth, body composition, metabolic response and antioxidant capacity of juvenile snakehead (*Channa argus* × *Channa maculata*). Aquaculture Nutrition, 23(4): 662–670.

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 Lee 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.

Sitja-Bobadilla A., Palenzuela O. and Alvarez-Pellitero P. 2008. Immune response of turbot, *Psetta maxima* (L.) (Pisces: Teleostei), to formalin-killed scuticociliates (Ciliophora) and adjuvanted formulations. Fish and Shellfish Immunology, 24(1): 1–10.

Slowing K., Ganado P., Sanz M., Ruiz E. and Tejerina T. 2001. Study of garlic extracts and fractions on cholesterol plasma levels and vascular reactivity in cholesterol-fed rats. The Journal of Nutrition, 131(3): 994–999.

Sumpter J.P. 1997. The endocrinology of stress. Fish Stress and Health in Aquaculture, 819: 95–118.

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*). Aquaculture Nutrition, 20(3): 324–331.

Thrall M.A., Baker D.C., Campbell T.W., Denicola D., Fettman M.J.,

Lassen E.D. and Weiser G. 2004. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Lippincott Williams and Wilkins, USA. 776P.

Velisek J., Svobodova Z., Piackova V., Groch L. and Nepejchalova L. 2005. Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.). Veterinary Medicine, 50(6): 269–275.

Vulevic J., Rastall R.A. and Gibson G.R. 2004. Developing a quantitative approach for determining the in vitro prebiotic potential of dietary oligosaccharides. FEMS Microbiology Letters, 236(1): 153–159.

Wang C.A., Li J., Wang L., Zhao Z., Luo L., Du X. and Xu Q. 2016. Effects of dietary phosphorus on growth, body composition and immunity of young taimen *Hucho taimen* (Pallas, 1773). Aquaculture Research, 25(6): 2135–2148.

Ward R.J., Zhang Y. and Crichton R.R. 2001. Aluminium toxicity and iron homeostasis. Journal of Inorganic Biochemistry, 87(1-2): 9–14.

Yamamoto T. and Yonemasu K. 1999. Multiple molecular forms of serum immunoglobulin M in a patient with Waldenstrom's macroglobulinemia. Clinica Chimica Acta, 289(1): 173–176.

Ye C.X., Liu Y.J., Tian L.X., Mai K.S., Du Z.Y., Yang H.J. and Niu J. 2006. Effect of dietary calcium and phosphorus on growth, feed efficiency, mineral content and body composition of juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. Aquaculture, 255(1): 263–271.

Yildirim O., Turker A. and Senel B. 2009. Effects of natural zeolite (Clinoptilolite) levels in fish diet on water quality, growth performance and nutrient utilization of tilapia (*Tilapia zillii*) fry. Fresenius Environmental Bulletin, 18(9): 1567–1571.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 7, No. 1, Spring 2019

Research Paper

The effects of different levels of dietary zeotene on growth, carcass biochemical composition and immune system function of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerling

Mohammad Javad Imani[1], Nasim Zanguee[2]*, Mohammad Zakeri[3], Seyed Mohammad Mousavi[3]

Received: May 2018 Accepted: August 2018

Abstract

In this study, the effect of zeotene, was studied on some growth parameters, carcass composition and immunity of common carp fingerlings. 180 fish (mean weight 20.3±0.1g) were randomly divided into 4 treatments and fed for 8 weeks, with diets containing 0 (control), 2, 4 and 8g/Kg zeotene. At the end of the experiment, the average of final weight, condition factor, feed efficiency ratio, protein efficiency ratio, hepatosomatic index and viscerosomatic index increased and FCR decreased in treatments 2 and 4 grams of zeotene ($P<0.05$). The highest carcass moisture content and the lowest carcass fat were related to treatments 2 and 4 grams of zeotene ($P<0.05$). Carcass ash in treatment 8 grams of zeotene was the highest ($P<0.05$). Among serum biochemical parameters, the amounts of globulin, lysozyme, complement and IgM in treatment 4 grams of zeotene was significantly higher than control and treatment 8 grams of zeotene ($P<0.05$). The lowest and the highest numbers of WBCs were seen in 8 and 2 grams of zeotene, respectively. The highest and the lowest percentage of lymphocytes and neutrophils were seen in 2 and 4 grams of zeotene, respectively. In conclusion, 4 grams of zeotene per kilogram diet can improve growth factors, carcass quality and immune parameters of common carp.

Key words: *Zeotene, Growth, Carcass Biochemical Composition, Immunity, Common Carp.*

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- Associate 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