



## تأثیر سطوح مختلف زئوتن جیره بر برخی فاکتورهای خونی و شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

محمد جواد ایمانی، نسیم زنگویی\*، محمد ذاکری، سید محمد موسوی

دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ایران

### نوع مقاله:

### پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۶/۱۲/۱۷

اصلاح: ۹۷/۰۴/۰۱

پذیرش: ۹۷/۰۴/۲۶

### چکیده

در این مطالعه تأثیر زئوتن، به عنوان یک مکمل معدنی خوراکی طبیعی، بر برخی شاخص‌های رشد و خون‌شناسی ماهی کپور معمولی بررسی گردید. تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی، با میانگین وزنی  $20.3 \pm 0.1$  گرم، به طور تصادفی به گروه‌های شاهد و تیمارهای ۱، ۲ و ۳ تقسیم و به مدت ۸ هفته، به ترتیب با جیره‌های حاوی ۰، ۲، ۴ و ۸ گرم زئوتن بر کیلوگرم جیره، تغذیه شدند. نتایج نشان داد میانگین وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه و همچنین تعداد گلبول‌های قرمز در تیمارهای ۱ و ۲ به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد و سایر تیمارها بالاتر بود ( $P < 0.05$ ). میزان هماتوکریت، هموگلوبین و همچنین تعداد گلبول‌های سفید در تیمار ۳ در مقایسه با گروه شاهد و سایر تیمارها به طور معنی‌داری پایین‌تر بود ( $P < 0.05$ ) اما از لحاظ این فاکتورها بین تیمار ۱ و ۲ با یکدیگر و با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. هر چند از لحاظ عددی بیش‌ترین میزان هماتوکریت و هموگلوبین در تیمار ۲ و بیش‌ترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمار ۱ مشاهده شد اما این اختلاف معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ). شمارش افتراقی گلبول‌های سفید نشان‌دهنده بیش‌ترین درصد لنفوسیت در تیمار ۱ و بیش‌ترین درصد نوتروفیل در تیمار ۲ بود که به طور معنی‌داری بالاتر از سایر گروه‌ها قرار داشت ( $P < 0.05$ ). بر اساس نتایج این تحقیق، افزودن زئوتن به جیره‌ی غذایی ماهی کپور معمولی می‌تواند موجب بهبود شاخص‌های رشد و خون‌شناسی در این ماهی گردد.

### کلمات کلیدی:

رشد

زئوتن

فاکتورهای خونی

کپور معمولی

### مقدمه

با توجه به نیاز روز افزون بشر به منابع غذایی با کیفیت و سالم، محققین تلاش زیادی در جهت ارائه راهکارهای مناسب به منظور افزایش میزان تولید و در عین حال منابع پروتئینی سالم و به دور از عوارض جانبی برای انسان نموده‌اند. تحقیقات و تلاش برای بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه در ماهیان پرورشی با استفاده از جیره‌های مناسب و مقوی که علاوه بر تأمین نیازهای پایه‌ای و ضروری آبی به رشد بهتر و تولید بیشتر در واحد سطح یا حجم منجر گردد، همواره در حال انجام بوده است (Cook *et al.*, 2003). استفاده از مکمل‌های غذایی مؤثر بر رشد و ایمنی، یکی از روش‌های متداول برای بهبود افزایش وزن، کارایی غذا و مقاومت به بیماری در ماهیان پرورشی است (Cho and Lee, 2012). ریزمغذی‌ها و عناصر میکرو در بهبود عملکرد سیستم ایمنی نقش دارند (Deveci *et al.*, 2000). نقش مثبت عناصر میکرو در تغذیه آبزیان جهت داشتن زندگی

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: [n\\_zanguee@yahoo.com](mailto:n_zanguee@yahoo.com)

سالم به اثبات رسیده است. ماهیان برخی از این مواد معدنی را از غذا و آب پیرامون خود تأمین می‌کنند (Ghobadi *et al.*, 2014). اضافه کردن عناصر میکرو به غذا در آبی‌پروری، بازدهی و بازماندگی گونه‌های متعددی از ماهیان از جمله کپور علفخوار، کپور سیاه، کپور معمولی، کپور نقره‌ای و میگو را افزایش می‌دهد (Tang *et al.*, 1998; Zhen-ying *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2009; Tan *et al.*, 2014).

بیماری‌ها، همواره عامل محدود کننده‌ای در پرورش ماهی محسوب می‌شوند (Dugenci *et al.*, 2003). هر چند تاکنون بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی جهت درمان یا پیشگیری از بیماری‌ها و یا به منظور تحریک رشد در ماهیان مختلف از جمله کپورماهیان، آزادماهیان و تیلاپیا استفاده شده و می‌شود (Aly *et al.*, 2008) اما همواره نگرانی‌هایی در مورد استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و سایر مواد شیمیایی در آبی‌پروری وجود دارد. این مواد موجب افزایش خطر مقاومت عامل بیماری‌زا در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها، تأثیر نامطلوب بر مصرف‌کنندگان آبزیان و ایجاد آلودگی‌های گسترده در محیط‌زیست می‌گردند (Shalaby *et al.*, 2006). به همین دلیل استفاده از مواد طبیعی می‌تواند جایگزینی مناسب برای مواد شیمیایی محسوب شود (Amagase, 2006; Ratti *et al.*, 2007; Siddeshwar *et al.*, 2008).

ماده معدنی زئوتن با نام تجاری Zeotene یکی از نادرترین مواد معدنی در دنیاست که در واقع نوعی رسوب آتشفشانی زیردریایی و آلومینو سیلیکات سدیم کلسیم هیدراته می‌باشد. این ماده شامل تعداد زیادی از عناصر از قبیل عناصر مغذی ماکرو و میکرو و نیز عناصر نادر و کمیابی است که استفاده‌ی آن در بخش کشاورزی تأثیرات شگرفی بر روی گیاهان به همراه داشته است. از جمله مهم‌ترین این عناصر می‌توان به فسفر، سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آلومینیم، مس، گوگرد و منگنز به ترتیب با درصدهای وزنی ۰/۱۶، ۳/۹، ۱/۴، ۴/۸، ۴/۷، ۱۵/۵، ناچیز و ۰/۰۸ اشاره کرد. زئوتن از نظر ترکیب بسیار شبیه به آزومیت است که در بخش کشاورزی (Yan *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2007) و آبی‌پروری تأثیرات بسیار مثبتی 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.*).

تجزیه و تحلیل پارامترهای خونی یک راهنمای ارزشمند در ارزیابی وضعیت سلامت موجودات آبی است (Kader *et al.*, 2011; Ahmadifar *et al.*, 2010). عوامل زنده و غیره زنده متعددی می‌توانند بر فاکتورهای خونی تأثیرگذار باشند. از جمله این عوامل می‌توان به استرس، بیماری، وضعیت تغذیه‌ای، فاکتورهای فیزیکیوشیمیایی محیط آب روش نمونه‌گیری و نگهداری نمونه‌ها اشاره کرد (Tavares-Dias and Mataqueiro, 2004). شاخص‌های خونی ماهی ارتباط نزدیکی با واکنش ماهی در برابر عوامل محیطی و بیولوژیکی دارد (Deng *et al.*, 2006). تعداد گلبول‌های سفید و نسبت انواع آن‌ها یکی از شاخص‌های مهم سلامتی و وضعیت ایمنی در جانوران می‌باشد (Shalaby *et al.*, 2006). سطح هماتوکریت نیز شاخصی از وضعیت سلامتی ماهی بوده و نابه‌هنجاری‌ها را نشان می‌دهد (Dorucu *et al.*, 2009). هموگلوبین در گلبول‌های قرمز خون ماهیان جای دارد و مسئول حمل اکسیژن از آبشش به تمام بافت‌های بدن و دی‌اکسیدکربن از بافت‌ها به آبشش‌ها است. مقدار هموگلوبین در ماهی به عنوان شاخص مناسبی برای شرایط محیطی بیان شده است، زیرا با هرگونه تغییر در شرایط محیطی مانند درجه حرارت، شوری و pH اولین واکنش فیزیولوژیک آبی جهت مقابله با شرایط ایجاد شده مصرف بیشتر انرژی و متعاقب آن بالا رفتن نیاز اکسیژنی است که از طریق هموگلوبین به خوبی این تغییرات مشهود است (Morshedi *et al.*, 2014). نقش مثبت میکروالمنت‌ها در تغذیه آبزیان جهت داشتن زندگی سالم به اثبات رسیده است (Ghobadi *et al.*, 2014). Liu و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند افزودن آزومیت به جیره‌ی غذایی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) می‌تواند عملکرد رشد و همچنین ایمنی غیراختصاصی را بهبود ببخشد. Shin و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند در کفشک ماهیان زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) تغذیه شده با جیره‌های حاوی باردون (Bardon) یک ترکیب قلیایی با pH=۱۳/۵ است که حاوی یون‌های مختلفی نظیر سیلیسیم، نقره، سدیم و پتاسیم است، مصرف غذا و قابلیت هضم بهبود یافت و همچنین این ماده اثرات مثبتی بر روی بافت‌شناسی دستگاه گوارش و سیستم ایمنی ذاتی داشت. Jaleel و همکاران (۲۰۱۵) پس از مطالعه تأثیر آزومیت بر روی رشد و ایمنی کپور معمولی انگشت‌قد (*Cyprinus carpio*)، بیان کردند که این ماده موجب بهبود عملکرد رشد

و پاسخ‌های ایمنی در این گونه می‌گردد. Jawahar و همکاران (۲۰۱۶) پس از مطالعه‌ای تأثیر زئولیت بر ماهی *Channa striatus*، بیان کردند که زئولیت باعث افزایش رشد، بهبود فاکتورهای بیوشیمیایی خون و پاسخ ایمنی و نیز افزایش مقاومت در برابر قارچ بیماری‌زای آفانومایسس اینوایدانس (*Aphanomyces invadans*) می‌گردد. تغذیه کپور معمولی با جیره‌های حاوی پرلیت و زئولیت، سبب بهبود عملکرد رشد شده و همچنین میزان خاکستر استخوان و فلس را به طور معنی‌دار افزایش داد (Khodanazary et al., 2013). در مطالعه‌ای دیگر بر روی ماهی شانک سرطلایی (*Sparus aurata*)، استفاده از جیره‌های حاوی زئولیت اثر معنی‌داری بر روی افزایش وزن نهایی و نرخ رشد ویژه داشت همچنین عملکرد رشد را بهبود بخشید و باعث افزایش میزان خاکستر و پروتئین لاشه نیز شد (Kanyilmaz et al., 2015).

ماهی کپور معمولی به دلیل داشتن ویژگی‌های مطلوب به یکی از گونه‌های مهم پرورشی در سطح جهان تبدیل شده است (Enache et al., 2012). به طوری که در حال حاضر به عنوان یک گونه‌ی مناسب در صنعت آبزی‌پروری، برای پرورش در مزارع پرورشی در سطح جهان می‌باشد (FAO, 2013a). از طرفی بر اساس گزارش فائو، گونه‌های آب شیرین مانند کپور ماهیان، گربه‌ماهیان و تیلاپیا، بیش‌ترین افزایش در تولیدات آبزی‌پروری را خواهند داشت و در سال ۲۰۲۵ حدود ۶۰ درصد از کل تولیدات آبزی‌پروری را به خود اختصاص خواهند داد (FAO, 2016). با توجه به نتایج مطالعات مختلفی که نشان‌دهنده‌ی تأثیرات مثبت ترکیبات معدنی مشابه زئوتن (مانند آزومیت، زئولیت و باردون) بر روی ماهیان می‌باشد و نیز نبود مطالعه‌ی مشابه در خصوص تأثیر زئوتن بر روی رشد و فاکتورهای خونی ماهی کپور معمولی، این آزمایش به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف زئوتن بر پارامترهای رشد و خون‌شناسی ماهی کپور معمولی طراحی گردید.

## مواد و روش‌ها

### طراحی سیستم آزمایش

در این تحقیق، تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی کپور معمولی با وزن تقریبی  $(20/3 \pm 0/1)$  گرم) به طور کاملاً تصادفی بین ۱۲ تانک فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری توزیع شدند (۱۵ قطعه ماهی به ازای هر تانک)، سه گروه تیمار و یک گروه شاهد با سه تکرار در نظر گرفته شد. گروه شاهد با جیره فاقد زئوتن و تیمارهای یک، دو و سه به ترتیب با جیره‌های حاوی ۲، ۴ و ۸ گرم بر کیلوگرم زئوتن در حد سیری تغذیه شدند. ماهی‌ها سه بار در روز در ساعات ۰۸:۰۰، ۱۲:۰۰ و ۱۶:۰۰، غذادهی می‌شدند. زئوتن مورد استفاده در این مطالعه از شرکت بایولند (Bioland) واقع در شاهرود (شهرک صنعتی، خیابان کارگر ۵) تهیه شد. آنالیز زئوتن توسط مرکز پژوهش متالورژی رازی انجام شد. این آزمایش ۵۶ روز به طول انجامید.

### زیست‌سنجی و شاخص‌های رشد

زیست‌سنجی ماهیان در ابتدا و انتهای دوره آزمایش انجام شد. به این منظور شاخص‌های رشد نظیر طول کل و وزن برای همه‌ی ماهیان در تمامی تیمارها، اندازه‌گیری شد (Huang et al., 2008). در این مطالعه برای بررسی وضعیت ماهیان و مقایسه‌ی بین تیمارها، از شاخص‌های رشد و تغذیه طبق فرمول‌های زیر استفاده شد (Misra et al., 2006; Mohanta et al., 2008).

کل روزهای پرورش / ۱۰۰ × (لگاریتم میانگین وزن اولیه بدن - لگاریتم میانگین وزن نهایی بدن) = (نرخ رشد ویژه) SGR

میانگین وزن اولیه بدن - میانگین وزن نهایی بدن = (افزایش وزن بدن) WG

### شاخص‌های خونی

در پایان دوره‌ی آزمایش (روز ۵۶)، به صورت کاملاً تصادفی ۹ ماهی از هر تیمار (هر تکرار سه قطعه ماهی) (Siwicki *et al.*, 1994)، صید شد و پس از بیهوشی با استفاده از عصاره گل میخک با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (Velisek *et al.*, 2005)، خون‌گیری از ناحیه ساقه‌ی دمی ماهیان انجام گرفت. یک روز قبل از خون‌گیری و نمونه‌برداری، غذادهی قطع گردید. خون‌گیری با استفاده از سرنگ ۲/۵ سی‌سی و از سیاهرگ ساقه دمی انجام شد و به داخل میکروتیوپ‌های (حاوی هپارین به عنوان ماده ضد انعقاد) ریخته شد.

#### اندازه‌گیری هماتوکریت<sup>۱</sup> (Hct) و هموگلوبین<sup>۲</sup> (Hb)

برای تعیین میزان هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت استفاده شد (Thrall *et al.*, 2004). ابتدا دو سوم لوله‌ی هماتوکریت از خون پر شد، سپس لوله‌ها درون دستگاه سانتریفیوژ میکروهماتوکریت قرار گرفت و پس از سپری شدن ۳ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ (rpm)، مقدار هماتوکریت به وسیله‌ی خط‌کش مخصوص اندازه‌گیری و قرائت شد. برای تعیین مقدار هموگلوبین از روش استاندارد سیانومت هموگلوبین استفاده شد. به این صورت که مقدار ۲۰ میکرولیتر خون با ۵ ml محلول درابکین<sup>۳</sup> مخلوط شد و ۵ دقیقه در محیط تاریک قرار گرفت. سپس به وسیله‌ی اسپکتروفتومتر<sup>۴</sup> (Unico-UV-2100، ساخت آلمان)، در طول موج ۵۴۰ نانومتر مقدار جذب قرائت شد و در نهایت مقدار هموگلوبین نمونه مورد نظر به وسیله منحنی استاندارد و بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید. برای تهیه‌ی محلول درابکین ۰/۱ گرم فری سیانید پتاسیم با ۲ گرم بی‌کربنات سدیم و ۲/۳ گرم سیانید پتاسیم مخلوط و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد (Houston., 1990).

جذب نوری استاندارد × (غلظت استاندارد/ جذب نوری خون) = (گرم در دسی لیتر) هموگلوبین

#### شمارش گلبول‌های قرمز (RBC<sup>۵</sup>)

برای شمارش گلبول‌های قرمز از پیت ملانژور مخصوص شمارش گلبول‌های قرمز و همچنین از لام نئوبار استفاده شد. به این صورت که خون هپارینه با محلول رقیق‌کننده داسیس (رقت ۱/۲۰۰) تا ارتفاع تعیین شده در ملانژور کشیده شد. سپس از مربع میانی (۵ مربع از ۲۵ مربع میانی) لام نئوبار (هماسیتومتر<sup>۶</sup>) برای شمارش گلبول قرمز استفاده و طبق رابطه زیر تعداد گلبول‌های قرمز در میلی‌متر مکعب محاسبه گردید. برای تهیه محلول داسیس ابتدا ۰/۱ گرم بریلیانت کریزل آبی را با ۳/۸ گرم سدیم سیترات و ۰/۲ میلی لیتر فرمالین ۳۷٪ مخلوط، سپس ترکیب حاصل با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد (Donaldson, 1981).

(۰/۲۰) / تعداد گلبول شمارش شده × ۲۰۰ = (میلی‌متر مکعب/ میلیون سلول) تعداد گلبول قرمز

#### شمارش کلی گلبول‌های سفید (TWBC<sup>۷</sup>)

برای شمارش تعداد گلبول‌های سفید از پیت ملانژور گلبول‌های سفید استفاده شد. تعداد گلبول‌های سفید با استفاده از لام نئوبار بعد از رقیق‌سازی خون با محلول داسیس (رقت ۱/۵۰) شمارش شد. از ۴ مربع کناری لام نئوبار برای شمارش گلبول‌های سفید استفاده گردید. تعداد گلبول‌های سفید در یک میلی‌متر مکعب خون محاسبه می‌شود (Thrall, 2004).

<sup>۱</sup> Hematocrit

<sup>۲</sup> Hemoglobin

<sup>۳</sup> Drabkin

<sup>۴</sup> Spectrophotometer

<sup>۵</sup> Red blood cell

<sup>۶</sup> Haemocytometer

<sup>۷</sup> Total white blood cell

(۲۰/۰/ تعداد گلبول شمارش شده)  $\times 200 =$  (میلی‌متر مکعب/ هزار سلول) تعداد گلبول سفید

### شمارش افتراقی گلبول‌های سفید

شمارش افتراقی گلبول‌های سفید با تهیه گسترش خونی<sup>۸</sup> و مشاهده‌ی آن زیر میکروسکوپ نوری جهت تعیین درصد لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها انجام گرفت. به منظور تهیه گسترش خونی ابتدا یک قطره خون روی لام به نحوی کشیده شد که انتهای گسترش حالت شعله شمع داشت. پس از خشک شدن نمونه از متانول خالص برای فیکس کردن و از رنگ گیمسای ۵ درصد جهت رنگ‌آمیزی لام‌ها استفاده شد. ۲۰ دقیقه پس از رنگ‌آمیزی، لام‌ها شستشو داده شده، در دمای اتاق خشک گردید و نهایتاً با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی  $100\times$  مشاهده شد. از قسمت‌های نازک لام جهت شمارش استفاده شد. ۱۰۰ عدد گلبول سفید شمارش شده و بر اساس شکل آن‌ها شمارش افتراقی گلبول‌های سفید صورت گرفت (Houston, 1990).

### آنالیز آماری

هر تانک به عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد و نتایج به صورت (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) گزارش گردید. در این مطالعه کلیه محاسبات آماری در دو نرم افزار SPSS نگارش ۱۹ و Microsoft Office Excel 2010 انجام شد. پس از اطمینان از توزیع نرمال داده‌ها و یکنواختی واریانس‌ها از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) برای مقایسه واریانس تیمارها و از آزمون چند دامنه دانکن<sup>۹</sup> در سطح ۰/۰۵ (۵ درصد خطا) برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارها استفاده شد.

### نتایج

#### فاکتورهای رشد

با توجه به جدول شماره ۱، در انتهای دوره آزمایش بیش‌ترین میانگین وزن نهایی ( $46/28 \pm 0/36$  گرم) در تیمار ۲ مشاهده گردید که اختلاف معناداری با سایر گروه‌ها نشان داد؛ همچنین تیمار ۱ از نظر میانگین وزن نهایی نسبت به گروه شاهد و تیمار ۳ اختلاف معناداری داشت ( $P < 0/05$ ). بیش‌ترین درصد افزایش وزن بدن ( $0/33 \pm 25/99$ ٪) و بیش‌ترین شاخص رشد ویژه ( $0/01 \pm 1/31$ ) مربوط به تیمار ۲ بود، که تفاوت معناداری با گروه شاهد و تیمارهای ۱ و ۳ نشان داد ( $P < 0/05$ ). همچنین این دو فاکتور در تیمار ۱ نسبت به گروه شاهد و تیمار ۳ اختلاف معناداری داشت ( $P < 0/05$ ).

#### شاخص‌های خونی

با توجه به جدول شماره ۲، تعداد گلبول‌های قرمز در تیمارهای ۱ و ۲ با گروه شاهد و تیمار ۳ اختلاف معنی‌دار داشت ( $P < 0/05$ ) و بیش‌ترین تعداد گلبول‌های قرمز مربوط به تیمار ۱ ( $10^6 \text{ cell/mm}^3 \pm 0/01$ ) و کم‌ترین تعداد آن مربوط به تیمار ۳ ( $10^6 \text{ cell/mm}^3 \pm 0/06$ ) بود. میزان هماتوکریت و هموگلوبین در تیمار ۳ زئوتن اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد و سایر تیمارها نشان داد ( $P < 0/05$ ) و دارای کم‌ترین میزان بود. این دو شاخص در بین گروه شاهد با تیمار ۱ و ۲ اختلاف معنی‌داری نداشت اما از نظر عددی بیش‌ترین میزان هماتوکریت ( $1/27 \pm 47/10$ ٪) و هموگلوبین ( $1/69 \text{ g/dl} \pm 14/86$ ) مربوط به تیمار ۲ بود. تعداد گلبول‌های سفید در تیمار ۳ به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد و تیمار ۱ و ۲ پایین‌تر بود ( $P < 0/05$ ) و در بین گروه شاهد و تیمار ۱ و ۲ بیش‌ترین تعداد گلبول‌های سفید از نظر عددی ( $49 \text{ cell/mm}^3 \pm 2117/61$ ) مربوط به تیمار ۱ بود.

## شمارش افتراقی گلبول‌های سفید (WBCs)

با توجه به جدول شماره ۳، بیش‌ترین درصد لنفوسیت ( $3/77 \pm 1/86$ ) مربوط به تیمار ۱ بود که نسبت به تیمار ۲ دارای اختلاف معنی‌داری بود ( $P < 0/05$ )، اما با گروه شاهد و تیمار ۳ اختلاف معنی‌داری نداشت ( $P > 0/05$ ). بیش‌ترین درصد نوتروفیل ( $2/46 \pm 13/90$ ) مربوط به تیمار ۲ بود که با سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت ( $P < 0/05$ ). درصد مونوسیت و بازوفیل در بین هیچ‌کدام از گروه‌ها اختلاف معنی‌داری نداشت ( $P > 0/05$ ).

جدول ۱. مقایسه شاخص‌های رشد ماهیان جوان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف زئوتن در پایان آزمایش

شاخص	گروه شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
میانگین وزن نهایی (گرم)	$41/88 \pm 0/29^c$	$43/91 \pm 0/99^b$	$46/28 \pm 0/36^a$	$41/30 \pm 0/21^c$
درصد افزایش وزن بدن (%WG)	$21/52 \pm 0/32^c$	$23/57 \pm 1/04^b$	$25/99 \pm 0/33^a$	$20/84 \pm 0/28^c$
نرخ رشد ویژه (SGR)	$1/14 \pm 0/01^c$	$1/22 \pm 0/03^b$	$1/31 \pm 0/01^a$	$1/12 \pm 0/01^c$

مقادیر بر اساس (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) بیان شده است. مقادیر با حروف متفاوت در هر ردیف، دارای اختلاف معنی‌داری با یکدیگر هستند.

جدول ۲. مقایسه‌ی شاخص‌های خونی ماهیان جوان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف زئوتن در پایان آزمایش

شاخص	گروه شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
تعداد گلبول قرمز ( $10^6 \text{ cell/mm}^3$ )	$2/4 \pm 0/03^b$	$2/51 \pm 0/01^a$	$2/49 \pm 0/01^a$	$2/35 \pm 0/06^b$
هماتوکریت (%)	$43/52 \pm 2/19^a$	$45/66 \pm 0/64^a$	$47/10 \pm 1/27^a$	$37/58 \pm 2/09^b$
هموگلوبین (g/dl)	$12/66 \pm 1/08^a$	$14/11 \pm 1/27^a$	$14/86 \pm 1/69^a$	$10/77 \pm 0/11^b$
تعداد گلبول سفید ( $\text{cell/mm}^3$ )	$1946/58 \pm 26^a$	$2117/61 \pm 49^a$	$2069/44 \pm 84^a$	$1714/72 \pm 36^b$

مقادیر بر اساس (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) بیان شده است. میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ردیف، دارای اختلاف معنی‌داری با یکدیگر هستند.

جدول ۳. مقایسه شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون ماهیان جوان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف زئوتن در پایان آزمایش

شاخص (درصد)	گروه شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
لنفوسیت	$80/80 \pm 4/44^{ab}$	$81/86 \pm 3/77^a$	$78/10 \pm 3/66^b$	$80/80 \pm 3/14^{ab}$
نوتروفیل	$10/50 \pm 1/26^b$	$9/73 \pm 2/40^b$	$13/90 \pm 2/46^a$	$11/20 \pm 2/39^b$
مونوسیت	$7/40 \pm 1/71$	$6/93 \pm 1/75$	$6/80 \pm 1/61$	$7/2 \pm 1/82$
بازوفیل	$1/30 \pm 0/15$	$1/48 \pm 0/19$	$1/20 \pm 0/21$	$0/80 \pm 0/07$

مقادیر بر اساس (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) بیان شده است. میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ردیف، دارای اختلاف معنی‌داری با یکدیگر هستند.

## بحث

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات تغذیه‌ای سطوح مختلف زئوتن بر شاخص‌های رشد و خون‌شناسی ماهی کپور معمولی، به مدت ۵۶ روز انجام شد. نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از زئوتن در جیره غذایی کپور معمولی می‌تواند عملکرد رشد و برخی شاخص‌های خون‌شناسی را بهبود بخشد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که فاکتورهای رشد از جمله میانگین وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن و شاخص رشد ویژه در تیمارهای ۱ و ۲ به طور معنی‌داری بهتر از گروه شاهد و تیمار ۳ بود. بنابراین به نظر می‌رسد افزودن زئوتن به جیره‌ی غذایی ماهی کپور معمولی منجر به بهبود رشد شده است. با توجه به اینکه میکروالمنت‌ها توانایی تنظیم میکرو فلور روده و بهبود جذب مواد مغذی را دارند (Nathanson et al., 1976; Grajewski et al., 1977)، همچنین با توجه به نقش‌های متعدد

مواد معدنی در بدن، به ویژه نقش فعال و حیاتی آن‌ها در متابولیسم به عنوان کوفاکتور و اجزای سیستم‌های آنزیمی (FAO, 2013b) می‌توان احتمال داد که ماده معدنی زئوتن با تقویت متابولیسم و افزایش سنتز پروتئین، جذب و تجمع آن، باعث بهبود رشد در تیمارهای ۱ و ۲ شده است. هرچند در تیمار ۳ تغییری در میزان رشد در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نشد. احتمالاً زئوتن در دوزهای بالا موجب تأثیر منفی بر فیزیولوژی ماهی و ایجاد استرس می‌گردد. این تأثیر منفی ممکن است به دلیل وجود عناصری مانند آلومینیوم باشد (Ward et al., 2001).

Jawahar و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ی خود بر روی ماهی *Channa striatus* گزارش کردند وزن نهایی، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و ضریب کارایی پروتئین در ماهیان تغذیه شده با ۴ و ۶ درصد زئولیت بهبود یافت. Khodanazary و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با جیره‌ی غذایی حاوی ۵ درصد زئولیت رشد بهتری داشتند. Yildirim و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه‌ی خود بر روی تیلپیا گزارش کردند افزودن ۱ و ۲ درصد زئولیت به جیره غذایی این ماهی باعث افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب کارایی پروتئین و ضریب تبدیل غذایی می‌شود. Jaleel و همکاران (۲۰۱۵) پس از مطالعه روی ماهی کوی (Koi) گزارش کردند افزودن ۴ گرم بر کیلوگرم ترکیب معدنی آزومیت به جیره غذایی این ماهی عملکرد رشد را بهبود می‌بخشد. Azam و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند افزودن ۰/۷۵ درصد آزومیت به جیره غذایی ماهیان انگشت قد تیلپیا که از لحاظ ژنتیکی نر هستند، رشد را تقویت می‌کند. Liu و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه‌ی تأثیر ترکیب معدنی آزومیت را بر روی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند افزودن آزومیت به جیره‌ی غذایی این ماهی باعث بهبود عملکرد رشد و ایمنی غیراختصاصی سرم شد. در مطالعه حاضر نیز افزودن سطوح ۲ و ۴ گرم بر کیلوگرم زئوتن به جیره غذایی باعث بهبود رشد ماهی کپور معمولی گردید.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تعداد گلبول‌های قرمز در تیمارهای ۱ و ۲ نسبت به گروه شاهد و تیمار ۳ به صورت معنی‌داری بالاتر بود، همچنین درصد هماتوکریت، تعداد گلبول‌های سفید و مقدار هموگلوبین در تیمار شاهد، تیمار ۱ و تیمار ۲ نسبت به تیمار ۳ به طور معناداری بالاتر بود ( $P < 0/05$ ) که از لحاظ عددی مقدار آن‌ها در تیمارهای ۱ و ۲ بالاتر از گروه شاهد و تیمار ۳ مشاهده شد. به نظر می‌رسد افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و میزان هموگلوبین و هماتوکریت در تیمارهای ۱ و ۲ به معنای افزایش عملکرد خون‌سازی و کاهش همولیز در واکنش به سطوح زئوتن در این دو تیمار است. احتمالاً این تغییرات را می‌توان به عملکرد عناصر موجود در ترکیب معدنی زئوتن، مانند آهن (جزء اصلی رنگدانه‌های تنفسی هموگلوبین و میوگلوبین)، منگنز (به عنوان جزء کلیدی سیستم آنزیمی بازسازی گلبول‌های قرمز) و مس (به عنوان بخشی از آنزیم سروپلاسمین) نسبت داد. این عناصر به طور متناوب در متابولیسم آهن و در نتیجه سنتز هموگلوبین و تولید گلبول‌های قرمز نقش دارند و باعث افزایش خون‌سازی می‌شوند (FAO, 2013b). دلیل کاهش تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار ۳ را می‌توان به کاهش خون‌سازی در بافت‌های خون‌ساز یا تغییر شکل و کاهش عمر گلبول‌های قرمز خونی نسبت داد (Morgan et al., 1980). به نظر می‌رسد دوزهای بالای زئوتن بر شرایط فیزیولوژیکی و در نتیجه شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی تأثیر منفی داشته است. به طور کلی عواملی که باعث کاهش تعداد گلبول‌های قرمز می‌شوند، باعث کم شدن هماتوکریت نیز می‌شوند (Banaei et al., 2008). بنابراین می‌توان پایین بودن میزان هماتوکریت در تیمار ۳ نسبت به تیمار ۱ و ۲ را به کاهش نسبی RBC نسبت داد (Narain and Srivastava, 1989). همچنین گلبول‌های قرمز حاوی هموگلوبین هستند، بنابراین اختلالات گلبول‌های قرمز در میزان هموگلوبین نیز تأثیرگذار است. دوزهای ۲ و ۴ گرم زئوتن باعث افزایش تکثیر گلبول‌های سفید خونی در بافت‌های خون‌ساز و بهبود سیستم ایمنی ماهی در تیمارهای ۱ و ۲ شده است. گلبول‌های سفید نقش مهمی در ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی دارند و تعداد آن‌ها می‌تواند به عنوان شاخص وضعیت ایمنی در نظر گرفته شود (Roberts, 1978; Fazlolahzadeh et al., 2011).

Jawahar و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ی بر روی ماهی *Channa striatus*، گزارش کردند تعداد گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، سطوح هماتوکریت و هموگلوبین در تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی زئولیت نسبت به گروه شاهد به طور

معنی داری بالاتر بود. Lim و همکاران (۲۰۰۰) در مطالعه‌ای روی گربه‌ماهیان کانالی گزارش کردند در ماهیان تغذیه شده با جیره‌ی بدون آهن (گروه شاهد)، مقدار گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در مقایسه با تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آهن به طور معنی‌داری پایین‌تر بود.

از میان گلبول‌های سفید در ماهی‌ها، بیش‌ترین درصد را لنفوسیت‌ها به خود اختصاص می‌دهند که جزء اصلی دستگاه ایمنی و دارای گیرنده‌های اختصاصی با اندازه کوچک هستند (Ahmadi *et al.*, 2010). یکی از اجزای سیستم ایمنی که در پاسخ اولیه و سریع میزبان به عفونت‌ها نقش مهمی دارند مونوسیت‌ها هستند که از طریق فاگوسیتوز، ترشح سایتوکاین‌های التهابی و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (به عنوان آغازکننده پاسخ‌های التهابی) در فعال‌سازی توسط سیستم ایمنی نقش دارند (Parkin and Cohen, 2001; Parihar *et al.*, 2011). فعالیت نوتروفیل‌ها می‌تواند به عنوان شاخصی برای پاسخ ایمنی غیراختصاصی باشد (Kishimoto *et al.*, 1989). پراکسید موجود در گرانول‌های یاخته‌های نوتروفیل مسئول مرگ باکتری‌ها است (Parkin and Cohen, 2001; Alishahi *et al.*, 2012). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که درصد لنفوسیت‌ها در تیمار ۲ به طور معنی‌دار از گروه شاهد و تیمار ۱ و ۳ پایین‌تر و درصد نوتروفیل‌ها در همین تیمار نسبت به گروه شاهد و تیمار ۱ و ۳ به طور معنی‌دار بالاتر بود که نشان می‌دهد اضافه نمودن زئوتن در سطح تیمار ۲، می‌تواند منجر به افزایش نسبی لنفوسیت‌ها به عنوان مهم‌ترین سلول‌های ترشح‌کننده لیزوزیم در بدن باشد که این سلول‌ها می‌توانند نقش مهمی در سیستم ایمنی غیراختصاصی داشته باشند (Pickering, 1981). Saffari و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه‌ای با افزودن مواد معدنی سلنومتیونین و نانوسلنیوم به جیره غذایی کپور معمولی، افزایش درصد نوتروفیل‌ها را گزارش کردند.

در این تحقیق افزودن زئوتن به جیره‌ی غذایی، موجب بهبود شاخص‌های رشد و همچنین برخی فاکتورهای خون‌شناسی ماهی کپور معمولی گردید. بر اساس نتایج این مطالعه، استفاده از زئوتن به عنوان مکمل غذایی، به میزان ۲ و ۴ گرم در کیلوگرم جیره، به منظور بهبود رشد و ایمنی ماهی کپور معمولی پیشنهاد می‌شود. هرچند تأثیرات این ماده‌ی معدنی ممکن است در شرایط و گونه‌های مختلف، متفاوت باشد. بنابراین، نیاز به تحقیقات بیش‌تری برای روشن شدن نحوه‌ی عملکرد زئوتن در گونه‌های مختلف آبزیان پرورشی وجود دارد.

## 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

- Ahmadifar, E., Akrami, R., Ghelichi, A., Zarejabad, A.M. 2011. Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Journal of Comparative Clinical Pathology*. 20(5): 447-451.
- Ahmadi, K., Vosoghi, A.A., Mirvaghefi, A.R., Ataiemehr, B., Banaee, M. 2010. Effect of herbal extract *Silybum marianum* on some nonspecific immune system factors of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Marine Biology*. 42(2):113-120.
- Alishahi, M., Soltani, M., Mesbah, M., Zargar, A. 2012. Immunostimulatory and growth stimulation effects of Ergosan, Levamisole and herbal extracts in *Cyprinus carpio*. *Journal of Veterinary Research*. 67(2): 135-142. (in Persian)
- Aly, S.M., Atti, N.M., Mohamed, M.F. 2008. Effect of garlic on the survival, growth, resistance and quality of *Oreochromis niloticus*. In *International Symposium on Tilapia in Aquaculture*. 2008: 277-296.
- Amagase, H. 2006. Clarifying the real bioactive constituents of garlic. *Journal of Nutrition*. 136(3): 716S-725S.

- Azam, A.R., Khan, N., 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.
- Banaee, M., Mirvagefei, A.R., Rafei, G.R., Amiri, B.M. 2008. Effect of sub-lethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. *International Journal of Environmental Science*. 2(2): 189-198.
- Chen, H.Y., Zheng, C.R., Han, F.L., Jiang, S.M., Duan, C.Q. 2007. Effect of Azomite on non-anthocyanins phenolic compounds in *Cabernet Sauvignon* wine. *Sino-overseas Grapevine and Wine*. 3(5): 12-15.
- Cho, S.H., Lee, S.M. 2012. Onion powder in the diet of the olive flounder (*Paralichthys olivaceus*): Effects on the growth, body composition, and lysozyme activity. *Journal of the World Aquaculture Society*. 43(1): 30-38.
- Cook, M.T., Hayball, P.J., Hutchinson, W., Nowak, B.F., 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. *Journal of Fish and Shellfish Immunology*. 14(4): 333-345.
- Deng, J., Mai, K., Ai, Q., Zhang, W., Wang, X., Xu, W., Liufu, Z. 2006. Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate on feed intake and growth of juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Journal of Aquaculture*. 258(1): 503-513.
- Deveci, M., Eski, M., Sengezer, M., Kisa, U. 2000. Effects of cerium nitrate bathing and prompt burn wound excision on IL-6 and TNF- $\alpha$  levels in burned rats. *Journal of Burns*. 26(1): 41-45.
- Donaldson, E.M. 1981. Pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. *Journal of Stress and Fish*. 6(1): 11-47.
- Dorucu, M., Colak, S.O., Ispir, U., Altinterim, B., Celayir, Y. 2009. The effect of black cumin seeds, *Nigella sativa*, on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Mediterranean Journal of Aquaculture*. 2(1): 27-33.
- Dugenci, S.K., Arda, N., Candan, A. 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *Journal of Ethnopharmacology*. 88(1): 99-106.
- Enache, I., Cristea, V., Ionescu, T., Dedi, L., Docan, A. 2012. The influence of intensity on the growth performance of common carp in a recirculating aquaculture system condition. *University of Agricultural Sciences and Veterinary medicine Iasi*. pp. 234-240.
- FAO. 2013a. The Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp; a Training Manual. 1: The Essential Nutrients Mineral. <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab470e/AB470E06.htm>.
- FAO. 2013b. The state of world Fisheries and Aquaculture (SOFIA) FAO Fisheries and Aquaculture Department Food and Agriculture organization of the United Nations Rome. Italy.
- FAO. 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200 p.
- Fazlolahzadeh, F., Keramati, K., Nazifi, S., Shirian, S., Seifi, S. 2011. Effect of garlic (*Allium sativum*) on hematological parameters and plasma activities of ALT and AST of rainbow trout in temperature stress. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 5(9): 84-90. (in Persian)
- Fodge, D., Fodge, D.U., Meyer, L. 2014. The nutritional and immune impact of Azomite in Tilapia and Shrimp. *Survival. International Journal of Aquaculture Feed*. 17(3): 44-46.
- Ghobadi, S., Rajabi, H., Hosseini, M., 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. (in Persian)
- Grajewski, O., Von Lehmann, B., Arntz, H.R., Arvela, P., Oberdisse, E. 1977. Alterations of rat serum lipoproteins and lecithin-cholesterol-acyltransferase activity in praseodymium-induced liver damage. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 301(1): 65-73.
- Houston, A.H. 1990. Blood and circulation. In: Schreck, C.B., Moyle, P.B. (eds.). *Methods in Fish Biology*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland. pp. 273-335.
- Huang, S.Y., Fu, C.H.L., Higgs, D.A., Balfry, S.K., Schulte, P.M.V., Brauner, C.J. 2008. Effects of dietary canola oil level on growth performance, fatty acid composition and ion regulatory development of spring Chinook salmon parr (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Journal of Aquaculture*. 274(1): 109-117.

- Jaleel, M.A., Mustafa, M.S., Ali, A.J., Mohamed, M.J., 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., 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.
- Kader, M.A., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Bulbul, M. 2010. Supplemental effects of some crude ingredients in improving nutritive values of low fishmeal diets for red sea bream (*Pagrus major*). *Journal of Aquaculture*. 308(3-4): 136-144.
- Kanyılmaz, M., Tekelioğlu, N., Sevgili, H., Uysal, R., Aksoy, A. 2015. Effects of dietary zeolite (clinoptilolite) levels on growth performance, feed utilization and waste excretions by gilthead sea bream juveniles (*Sparus aurata*). *Journal of Animal Feed Science and Technology*. 200: 66-75.
- Khodanazary, A., Boldaji, F., 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.
- Kishimoto, T.K., Jutila, M.A., Berg, E.L., Butcher, E.C. 1989. Neutrophil Mac-1 and MEL-14 adhesion proteins inversely regulated by chemotactic factors. *Journal of Science*. 245(4923): 1238-1241.
- Lim, C., Klesius, P.H., Li, M.H., Robinson, E.H. 2000. Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. *Journal of Aquaculture*. 185(3-4): 313-327.
- Liu, A., Leng, X., Li, X., Wang, L., Luo, Y., 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., 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 (Agriculture and Life Sciences)*. 37: 312-318.
- Misra, C.K., Das, B.K., Mukherjee, S.C., Pattnaik, P. 2006. Effect of long-term administration of dietary  $\beta$ -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. *Journal of Aquaculture*. 255(1-4): 82-94.
- Mohanta, K.N., Mohanty, S.N., Jena, J.K., 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. *Journal of Aquaculture Nutrition*. 14(4): 350-359.
- Morgan, D.P., Stockdale, E.M., Roberts, R.J., Walter, A.W. 1980. Anemia associated with exposure to lindane. *Archives International Journal of Environmental Health*. 35(5): 307-310.
- Morshedi, V., Kochanian, P., Yazdani, M.A., Porali Fashtami, H.R., Ashouri, Gh., Azodi, M. 2014. Comparison of change in hemoglobin, hematocrit and red and white blood cells count during food deprivation in Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) and cultured juvenile beluga (*Huso huso*). *Iranian Journal of Biology*. 27(2): 282-290. (in Persian)
- Musthafa, M.S., Ali, A.R.J., Mohamed, M.J., Jaleel, M.M.A., Kumar, M.S.A., Rani, K.U., Vasanth, K., Arockiaraj, J., Preetham, E., Balasundaram, C., Harikrishnan, R. 2016. Protective efficacy of Azomite enriched diet in *Oreochromis mossambicus* against *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture*. 451: 310-315.
- Narain, A.S., Srivastava, P.N. 1989. Anemia in the freshwater teleost, *Heteropneustes fossilis*, under the stress of environmental pollution. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 43(4): 627-634.
- Parihar, A., Eubank, T.D., Doseff, A.I. 2010. Monocytes and macrophages regulate immunity through dynamic networks of survival and cell death. *Journal of Innate Immunity*. 2(3): 204-215.
- Parkin, J., Cohen, B. 2001. An overview of the immune system. *The Lancet*. 357(9270): 1777-1789.

- Nathanson, J.A., Freedman, R., Hoffer, B.J. 1976. Lanthanum inhibits brain adenylate cyclase and blocks noradrenergic depression of Purkinje cell discharge independent of calcium. *Journal of Nature*. 261(5558): 330-332.
- Pickering, A.D. 1981. The concept of biological stress. In: Pickering, A.D. (ed.). *stress and fish*. Academic Press, London. pp. 38-48.
- Roberts, R.J. 1978. The pathophysiology and systemic pathology of teleost. *Journal of Fish Pathology*. 55e91. London; Bailliere Tindal.
- Ratti, C., Araya-Farias, M., Mendez-Lagunas, L., Makhlof, J. 2007. Drying of garlic (*Allium sativum*) and its effect on allicin retention. *Journal of Drying Technology*. 25(2): 349-356.
- Saffari, S., Keyvanshokoh, S., Zakeri, M., Johari, S.A., Pasha-Zanoosi, H. 2017. Effects of different dietary selenium sources (sodium selenite, selenomethionine and nano selenium) on growth performance, muscle composition, blood enzymes and antioxidant status of common carp (*Cyprinus carpio*). *Jornal of Aquaculture Nutrition*. (in Persian)
- Shalaby, A.M., Khattab, Y.A., Abdel Rahman, A.M. 2006. Effects of Garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*. 12(2): 172-201.
- Shin, C.H., Cha, J.H., Rahimnejad, S., Jeong, J.B., Yoo, B.W., Lee, B.K., Kim, J.D. 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): 27(3):383-90.
- Siddeshwar, S., Reddy, K.K., Rao, T.M., Arun, K., Reddy, P.V.M. 2008. Screening and estimation of pre-biotic oligosaccharides in fruits and vegetables. *Journal of Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*. 2(1): 183-191.
- Siwicki, A.K., Anderson, D.P., Rumsey, G.L. 1994. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Journal of Veterinary Immunology and Immunopathology*. 41(1-2): 125-139.
- Tan, C.G., Li, X.Q., Leng, X.J., Su, X.G., Chen, L., Liu, B., Ma, F., Cai, X.Q., Guo, T. 2014. Effects of supplemental azomite in diets on growth, immune function and disease resistance of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Jornal of Aquaculture Nutrition*. 20(3): 324-331.
- Tang, Y., Xia, C., Wang, L. 1998. A comparative study of the effect of different REE compounds on growth performance of carp. *Chinese Journal of Fisheries*. 11(1): 47-49.
- Tavares-Dias, M., Mataqueiro, M.I. 2004. Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. *Acta Scientiarum. Journal of Biological Sciences*. 26(2): 157-162.
- Thrall, M.A., Baker, D.C., Campbell, T.W., Denicola, D., Fettman, M.J., Lassen, E.D., Weiser, G. 2004. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. (ed) Lippincott Williams and Wilkins.
- Velisek, J., Svobodova, Z., Piackova, V., Groch, L., Nepejchalova, L. 2005. Effects of clove oil anesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of Veterinary Medicine*. 50(6): 269-275.
- Ward, R.J., Zhang, Y., Crichton, R.R. 2001. Aluminum toxicity and iron homeostasis. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 87(1-2): 9-14.
- Yan, B., Pang, J., Li, W. 2006. Application of Azomite on *Cabernet sauvignon*. *Sino-overseas Grapevine and Wine*. 4(1): 10-14.
- Yıldırım, Ö., Türker, A., Şenel, 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.
- Zhen-ying, J.I., Yun-suo, H., Hai-tao, Z.F. 2007. Effect of rare earth elements on digest enzyme and growth of intestinal in Common Carp (*Cyprinus Carpio*). *Chinese Journal of Animal Nutrition*. 7(1): 54-58.