

اثرات تغذیه‌ای سطوح مختلف زئوتن بر رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مرحله انگشت قد

چکیده

این تحقیق باهدف مطالعه اثرات سطوح مختلف زئوتن در جیره غذایی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی کپور معمولی جوان (*Cyprinus carpio*) طراحی گردیده است. بدین منظور تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی کپور معمولی جوان با میانگین وزنی 20 ± 4 گرم به‌طور تصادفی در ۱۲ تانک پلی‌اتیلنی ۳۰۰ لیتری توزیع و با ۴ جیره غذایی با سطوح مختلف زئوتن شامل گروه شاهد (فاقد زئوتن)، تیمار اول (دو گرم در کیلوگرم)، تیمار دوم (چهار گرم در کیلوگرم)، تیمار سوم (هشت گرم در کیلوگرم) به مدت ۸ هفته و به میزان ۳ وعده در روز (در ساعات ۸:۰۰، ۱۲:۰۰ و ۱۶:۰۰) در حد سیری تغذیه شدند. در پایان دوره آزمایشی، شاخص‌های رشد و آنزیم‌های گوارشی تریپسین، کیموتریپسین، آلکالین فسفاتاز، لپاز و آلفا-آمیلاز موردسنجش قرار گرفتند. نتایج نشان داد میانگین وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه در تیمارهای اول و دوم به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد و تیمار سوم بالاتر بود ($P < 0.05$). همچنین استفاده از زئوتن بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی تریپسین، کیموتریپسین و آلکالین فسفاتاز به‌طور معنی‌داری تأثیر گذاشت ($P < 0.05$). در این پژوهش میزان فعالیت آنزیم‌های لپاز و آلفاآمیلاز تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ($P > 0.05$). بر اساس نتایج، زئوتن با تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های پروتئازی دستگاه گوارش ماهیان جوان کپور معمولی، منجر به تأثیر مثبت بر رشد این ماهی شده است. به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از زئوتن به‌عنوان مکمل در جیره غذایی ماهی کپور معمولی، با افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و بهبود فرآیند گوارش و هضم مواد غذایی، منجر به افزایش رشد در این گونه می‌شود و بر این اساس، می‌توان سطح ۴ گرم در کیلوگرم زئوتن را به‌عنوان یک مکمل در جیره غذایی تجاری کپور معمولی، معرفی نمود.

واژگان کلیدی: زئوتن، *Cyprinus carpio*، آنزیم‌های گوارشی، آلومینوسیلیکات کلسیم سدیم

هیدراته.

وحید روشن^۱

پریتا کوچنین^{*۲}

محمد ذاکری^۳

نسیم زنگویی^۴

سید محمد موسوی^۵

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

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

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

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

*مسئول مکاتبات:

pkochanian@gmail.com

کد مقاله: ۱۴۰۰۳۰۸۹۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۳۰

این مقاله پژوهشی و برگرفته از پایان‌نامه

کارشناسی ارشد است.

مقدمه

در بیشتر کشورهای آسیایی، اروپایی و برخی نواحی آمریکای مرکزی و از جمله ایران، ماهی کپور معمولی یکی از مهم‌ترین ماهیان پرورشی به شمار می‌آید. فون غالب ماهیان آب‌های داخلی ایران مربوط به خانواده کپور ماهیان است (عسگری، ۱۳۸۸؛ Kłoskowski, 2011; Murthy *et al.*, 2017). به علت مقاومت بالا نسبت به شرایط محیطی، سازش‌پذیری بالا، ویژگی‌های پرورشی مناسب و کیفیت بالای گوشت، گرایش



زیادی به تکثیر و پرورش این ماهی ایجاد شده است. از لحاظ ارزش غذایی، کپور ماهیان ارزش بالاتری نسبت به ماهیان دریایی دارند (Buchtova *et al.*, 2011). ماهی کپور معمولی دارای توانایی استفاده از جیره غذایی مصنوعی می‌باشد (Mraz, 2011). مواردی چون سرعت رشد مناسب، هزینه پایین تغذیه و نگهداری، پرورش در محیط‌های آبی با کیفیت نه‌چندان مطلوب و تطابق پذیری با سایر گونه‌ها و شرایط اقلیمی متفاوت، باعث شده است که این گونه در زمره سه گونه مهم پرورشی در جهان قرار گیرد، به طوری که در حال حاضر، به‌عنوان یک گونه مناسب در صنعت آبزی‌پروری برای پرورش در مزارع پرورشی در سطح جهان می‌باشد (مکتبی و همکاران، ۱۳۹۷؛ FAO, 2013).

ماده معدنی زئوتن بانام تجاری Zeo10 یکی از نادرترین مواد معدنی در دنیا می‌باشد. زئوتن نوعی سنگ معدنی است که شامل بیش از هفتاد ماده معدنی و عنصر کمیاب از جمله کلسیم، فسفر، منیزیم، آهن، روی و منگنز می‌باشد. زئوتن رسوبات آتشفشانی است که در اعماق دریا با باقیمانده گیاهان و جانوران و مواد معدنی مخلوط شده و غنی از عناصر خاکی کمیاب می‌باشد (Azam *et al.*, 2016; Tan *et al.*, 2014). نام شیمیایی این ماده آلومینوسیلیکات کلسیم سدیم هیدراته ($\text{NaK}_2\text{Ca}_5\text{Al}_3\text{Si}_{21}\text{O}_{706}\text{H}_2\text{O}$) بوده (Abdul Jaleel, 2015) که توسط سازمان بررسی مواد آلی (Organic Materials Review Institution, USA) OMRI به عنوان یک نوع از مواد معدنی طبیعی که می‌تواند در کشاورزی ارگانیک به‌کاربرده شود، به رسمیت شناخته شده است (Saiyad Musthafa *et al.*, 2016; Tan *et al.*, 2014). نام دیگر این ماده "آزومیت" می‌باشد. بررسی‌ها نشان می‌دهد زئوتن نه تنها عناصر کمیاب و خیلی کمیاب مورد نیاز گیاهان و حیوانات را تأمین می‌کند، بلکه به‌عنوان تنها منبع مواد معدنی مناسب جهت تغذیه و رشد نیز شناخته می‌شود (Hooge, 2008; Musthafa *et al.*, 2016). این ماده به‌عنوان مکمل غذایی در غلظت‌های پایین در حیواناتی چون گوسفند، خوک، خرگوش، اردک، مرغ، ماهی و میگو باعث افزایش عملکرد رشد شده است (Ahamed *et al.*, 2020; Tan *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2005). همچنین در آبزی‌پروری نیز باعث افزایش تولید و میزان بازماندگی در گونه‌هایی مثل آمور، کپور معمولی و کپور نقره‌ای شده است (ایمانی و همکاران، ۱۳۹۸؛ ایمانی و همکاران، ۱۳۹۹؛ Tang *et al.*, 1998; 1997). به دو دلیل استفاده از این ماده موفقیت‌آمیز می‌باشد: بهبود و افزایش آنزیم‌های ایمنی ذاتی (که منجر به بهبود قابلیت زیستی می‌شود) و افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی (Liu *et al.*, 2009; Fodge *et al.*, 2011). آزومیت یک محصول معدنی طبیعی بسیار مفید است که به‌وفور در آسیا مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ترکیب، یک تقویت‌کننده معدنی آلی است و به‌عنوان مکمل در غذای دام و آبزیان در سراسر جهان برای بیش از یک دهه استفاده می‌شود. همچنین از این ماده در خوراک طیور، میگو و تیلایا به‌عنوان مخلوط مواد معدنی ضروری و نادر برای چندین سال استفاده می‌شود و بر اساس تحقیقات صورت گرفته، بیان شده است که برای بهبود کیفیت خوراک، افزایش وزن، افزایش ضریب تبدیل غذایی و افزایش قابلیت خوراکی غذا، مورد استفاده قرار می‌گیرد. گزارش شده است که رژیم غذایی حاوی آزومیت باعث بهبود رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده، قابلیت هضم مواد مغذی و عملکرد ایمنی غیراختصاصی سرم در تیلایا (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) (Liu *et al.*, 2009)، کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idellus*) (Liu *et al.*, 2011)، میگوی سفید (*Litopenaeus vannamei*) (Tan *et al.*, 2014)، ماهی کپور کوئی (*Cyprinus carpio*) (Jaleel *et al.*, 2015)، گربه‌ماهی پنگوسی (*Pangasius pangasius*) (Batoool *et al.*, 2018) می‌شود. مواد معدنی موجود در ترکیب رژیم‌های غذایی ماهی، ضروری است؛ زیرا آن‌ها در فرآیندهای بیوشیمیایی مورد نیاز برای رشد و نمو معمولی ماهی شرکت می‌کنند (Hooge, 2008). Karimi و همکاران (۲۰۲۰)، کانی مونت موریلونیت را به‌عنوان یک مکمل رشد و ایمنی در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان معرفی نمودند. Hassaan و همکاران (۲۰۲۰)، اثرات مثبت سربیسیت (sericite) تغذیه‌ای را بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی، میکروبیوتای روده و پارامترهای هماتولوژی ماهی تیلایای نیل گزارش نمودند. همچنین Ucar و Guler (۲۰۲۰)، به بررسی اثرات زئولیت را بر رشد و هماتولوژی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداختند و اثرات مثبت آن را گزارش نمودند. آنزیم‌ها مهم‌ترین نقش در شکسته شدن و هضم و جذب غذا در دستگاه گوارش را بر عهده دارند. توانایی ماهی برای استفاده از مواد غذایی به فعالیت آنزیم‌های گوارشی بستگی دارد (Chong *et al.*, 2002). شکسته شدن مواد مغذی بزرگ به واحدهای کوچک قابل جذب در مجرای گوارش جانوران تا حد زیادی وابسته به سطح آنزیم‌های موجود است (Awad *et al.*, 2013). آگاهی از سطح فعالیت آنزیم‌ها می‌تواند

در پی بردن به قدرت هضمی ماهیان مؤثر باشد. همچنین رشد و بقای ماهی دارای ارتباط تنگاتنگ با رشد روده، هضم و ظرفیت جذب غذا می‌باشد (Hidalgo *et al.*, 1999). میزان بالای ترشح و افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی به معنای دسترسی به مواد مغذی در ماهی به‌منظور رشد و فرآیندهای سوخت و سازی است (Krogdahl *et al.*, 1994). مطالعه فیزیولوژی گوارش مسئله‌ای بسیار مهم است، زیرا اثربخشی کامل فرآیند گوارش عمدتاً به ساختمان و عملکرد آنزیم‌های گوارشی بستگی دارد (Gisbert, 2009) و نهایتاً ارزیابی فعالیت آنزیم‌های گوارشی در انتخاب اجزای غذایی جهت گونه‌های مختلف پرورشی می‌تواند مفید باشد (Lan and Pan, 1993) زیرا می‌توان با صرف هزینه کمتر، رشد بهتری به دست آورد، از این‌رو همواره فعالیت آنزیم‌های گوارشی به‌عنوان عوامل مؤثر بر رشد مورد مطالعه قرار گرفته است تا با بهینه کردن این عوامل و از آن مهم‌تر کنترل آن‌ها، رشد مطلوب حاصل آید (Applebaum *et al.*, 2003). با توجه به اهمیت گنجاندن آرومیت در رژیم‌های غذایی تجاری و تجاری در خوراک دام و طیور و تأثیرات آن بر رشد و زنده‌مانی در این گروه از موجودات، همچنین عدم وجود اطلاعات کافی در خصوص تأثیر آرومیت یا zeo10 بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهی کپور معمولی، بنابراین مطالعه حاضر به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف زئوتن بر عملکرد رشد و آنزیم‌های گوارشی ماهی کپور معمولی، طراحی و اجرا شده است.

مواد و روش‌ها

جهت انجام دوره پرورشی آزمایشی، تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی کپور معمولی انگشت قد (*Cyprinus carpio*) از مرکز تکثیر شهید ملکی اهواز تهیه و به کمک تانکر مجهز به سیستم اکسیژن دهی به آزمایشگاه خیس دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل گردید. سیستم آزمایشی با ۱۲ تانک ۳۰۰ لیتری پلی‌اتیلن استوانه‌ای شکل با میزان آب‌گیری ۲۵۰ لیتر، همراه با سیستم هوادهی طراحی گردید. برای هر تانک، یک سنگ هوا جهت تأمین اکسیژن قرار داده شد. همچنین محیط آزمایشگاه مجهز به سیستم گرمایشی برای ثابت نگه‌داشتن دما در دامنه مطلوب بود. پس از یک هفته دوره سازگاری، ماهیان سالم (بر اساس بررسی‌های ظاهری و تهیه گسترش لام مرطوب از پوست و آب‌شش به‌منظور بررسی انگل‌های خارجی احتمالی) با میانگین وزن 20 ± 4 گرم در ۱۲ تانک حاوی آب فیلتر شده به‌صورت طرح کاملاً تصادفی ذخیره‌سازی گردید (۱۵ ماهی در هر تانک). در این مطالعه به منظور بررسی اثرات تغذیه‌ای سطوح مختلف زئوتن بر رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی، چهار تیمار در سه تکرار با جیره‌های حاوی سطح ۲ گرم در کیلوگرم (تیمار ۱)، ۴ گرم در کیلوگرم (تیمار ۲)، ۸ گرم در کیلوگرم (تیمار ۳) از زئوتن (تهیه‌شده از تعاونی صنایع سیمان زودگیر شاهرود) و تیمار شاهد بدون افزودن زئوتن و از جیره تجاری در نظر گرفته شد. کلیه ماهی‌ها در تیمارهای تغذیه‌ای، به مدت ۸ هفته توسط جیره‌های تهیه‌شده، مورد تغذیه قرار گرفتند.

مراحل ساخت جیره‌های غذایی آزمایشی در آزمایشگاه شیلات دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انجام گردید، به این منظور ابتدا غذای تجاری مورد استفاده در این آزمایش (غذای تجاری رشد ۱ کپور (CG1)، کارخانه ۲۱ بیضاء، شیراز، ایران) که در دوره سازگاری استفاده می‌شد (رطوبت: ۱۲٪، پروتئین خام: ۳۶-۳۲٪، چربی خام: ۱۱-۷٪، فیبر خام: ۵-۲٪، خاکستر کل: ۱۳-۹٪، فسفر کل: ۱/۴-۱٪) را با کمک دستگاه آسیاب برقی خانگی آسیاب و به پودری نرم تبدیل شدند. سپس پودر زئوتن نیز به مخلوط اضافه‌شده به‌وسیله دستگاه همزن به مدت ۴۵ دقیقه با یکدیگر مخلوط شدند تا اطمینان حاصل شود که زئوتن به‌طور یکسان در کل مخلوط پخش شده است، در نهایت جهت ایجاد حالت خمیری، آب ولرم به میزان ۳۰ درصد جیره به مخلوط اضافه و مخلوط شدند، سپس خمیر حاصله با کمک دستگاه چرخ‌گوشته خانگی (Braun, Germany) چرخ شده و به پلت‌هایی به قطر یک میلی‌متر تبدیل شدند. پلت‌های مرطوب در دمای اتاق در معرض هوا خشک شدند. در پایان، جیره‌های غذایی آزمایشی در کیسه‌های پلاستیکی تیره و در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگهداری شدند. در طول دوره آزمایشی ماهیان به روش سیری و سه بار در روز در ساعات ۸:۰۰، ۱۲:۰۰، ۱۶:۰۰ در طول دوره آزمایشی به مدت ۵۶ روز و بر اساس جیره غذایی مختص هر تیمار به‌صورت دستی غذادهی شدند (Ebrahimi *et al.*, 2013). قبل از هر وعده غذادهی، جیره غذایی مربوط به هر تیمار به‌وسیله ترازوی دیجیتال

با دقت ۰/۰۱ توزین می‌شدند. در طول دوره آزمایش پارامترهای فیزیوشیمیایی آب مخازن شامل دما، اکسیژن محلول و pH به صورت روزانه توسط دستگاه مولتی‌متر (AZ, Taiwan) بررسی و ثبت گردید. مقادیر درجه حرارت، اکسیژن محلول و pH در آب به ترتیب 26 ± 1 درجه سانتی‌گراد، 6 ± 1 میلی‌گرم در لیتر و $7/5-7/8$ ، ثبت گردید. در طول مدت آزمایش روزانه ۱۰٪ حجم آب تعویض می‌گردید.

در انتهای دوره آزمایش، ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌برداری غذادهی قطع گردید تا دستگاه گوارش آن‌ها از مواد غذایی به‌خوبی تخلیه شود. ماهی‌ها قبل از نمونه‌برداری توسط عصاره گل میخک به میزان ۲۰۰ ppm بی‌هوش شدند (علی‌شاهی و همکاران، ۱۳۹۲؛ Mousavi *et al.*, 2012). زیست‌سنجی ماهیان در ابتدا و انتهای دوره آزمایش انجام شد و طول کل و وزن کل همه‌ی ماهی‌ها در تمامی تیمارها، اندازه‌گیری شد (Huang *et al.*, 2008). برای بررسی وضعیت رشد ماهیان و مقایسه‌ی بین تیمارها در این مطالعه، از شاخص‌های افزایش وزن و نرخ رشد ویژه طبق فرمول‌های زیر استفاده شد (Misra *et al.*, 2006; Mohanta *et al.*, 2008).

کل روزهای پرورش / $100 \times$ (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

به‌منظور بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی، ۶ عدد ماهی از هر تیمار آسان‌کشی (قطع نخاع) شده و سریعاً در مجاورت یخ قرار داده شدند تا با به حداقل رساندن تغییر فعالیت آنزیمی، کالبدگشایی آن‌ها صورت گیرد. در ادامه روده ماهیان خارج‌شده و جهت عدم اختلال در امر سنجش آنزیمی، کل چربی‌های دیواره بیرونی روده به‌وسیله اسکالپل جدا و با سرم فیزیولوژی شستشو و در نهایت توزین گردید و درون میکروتیوب قرار داده شد (Lemieux, 1999; Al-Saraji *et al.*, 2013). سپس جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های تریپسین، کیموتریپسین، آلکالین فسفاتاز، پروتئاز، لیپاز و آلفا-آمیلاز، بلافاصله در شرایط انجماد -196 درجه سانتی‌گراد (تانک ازت مایع) نگهداری شده و سریعاً به فریزر -80 درجه سانتی‌گراد (Operon, DFU128CE, South Korea) در آزمایشگاه شیلات دانشگاه منتقل شدند. لازم به ذکر است که تمام عملیات جداسازی و پاک‌سازی روده روی یخ صورت پذیرفت تا سرعت واکنش‌های آنزیمی کاهش پیدا کرده و محتوای آنزیمی آن حفظ گردد (Kuz'mina, 2010). برای سنجش فعالیت آنزیم‌های مذکور، ابتدا نمونه‌های فریز شده سریعاً پس از خارج شدن از فریزر -80 درجه سانتی‌گراد، توسط ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین گردیده و قبل از ذوب شدن کامل، به نسبت ۱ به ۹ (وزنی- حجمی) با بافر Tris-HCl ۱۰۰ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، Triton X-100 ۰/۱ درصد در pH ۷/۸، مخلوط و توسط هموژنایزر الکتریکی (AKA, USA) هموژن شدند (Rungruangsak-Torrissen and Male, 2000). در ادامه محصول هموژن شده به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفوژ یخچال دار (Eppendorf, Germany) در ۴ درجه سانتی‌گراد و دور ۱۰۰۰۰ g سانتریفوژ گردید و مایع رویی در میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری تقسیم و تا زمان سنجش در دمای -80 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Pérez-Jiménez *et al.*, 2007). برای سنجش فعالیت آنزیم تریپسین از روش Worthington و همکاران (۱۹۹۱) استفاده گردید. در این روش از N-بنزوئیل-L-آرژنین اتیل استر (BAEE) به‌عنوان سوبسترا استفاده شد. برای سنجش آنزیم کیموتریپسین از روش Hummel (۱۹۵۹) استفاده گردید. در این روش از N-بنزوئیل-L-تیروزین اتیل استر (BTEE) به‌عنوان سوبسترا استفاده گردید. جهت سنجش آنزیم آلکالین فسفاتاز از کیت تشخیص کمی آلکالین فسفاتاز شرکت پارس آزمون (تهران، ایران) و روش فتومتریک آنزیمی-کالریتری استفاده گردید (Moss, 1992). فعالیت آنزیم لیپاز با استفاده از کیت تولیدی شرکت پارس آزمون (تهران، ایران) و روش فتومتریک آنزیمی-کالریتری سنجش گردید (Tietz and Shuey, 1993; Graca *et al.*, 2005). فعالیت آنزیم آمیلاز بر اساس روش فتومتریک آنزیمی - کالریتری با استفاده از کیت تشخیص کمی آلفا- آمیلاز شرکت پارس آزمون (تهران، ایران) سنجیده شد (Hohenwallner *et al.*, 1989; Kruse-Jarres *et al.*, 1989).

این آزمایش به‌صورت یک طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. جهت آنالیز داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد، سپس اختلاف میان تیمارها در داده‌های به‌دست‌آمده در سطح احتمال ۹۵ درصد به کمک پس‌آزمون Duncan، بررسی شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (version 16) و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2007 استفاده شد. داده‌ها در فصل نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد (Mean \pm S.E) بیان گردید.

نتایج

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

جدول ۱: مقایسه پارامترهای رشد ماهیان جوان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با سطوح مختلف زئوتن در انتهای دوره ۸ هفته‌ای تغذیه آزمایشی (خرمشهر، ۱۳۹۶).

کلیه مقادیر برحسب میانگین \pm خطای استاندارد بیان شده است.

| تیمارهای آزمایشی | | | | پارامترهای رشد |
|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------------|
| تیمار ۳ | تیمار ۲ | تیمار ۱ | تیمار شاهد | |
| (۲ گرم در کیلوگرم) | | | | (۸ گرم در کیلوگرم) |
| $41/3 \pm 0/21^c$ | $46/28 \pm 0/36^a$ | $43/91 \pm 0/99^b$ | $41/88 \pm 0/29^c$ | میانگین وزن نهایی (گرم) |
| $20/84 \pm 0/28^c$ | $25/99 \pm 0/33^a$ | $23/57 \pm 1/04^b$ | $21/52 \pm 0/32^c$ | درصد افزایش وزن بدن (WG%) |
| $1/12 \pm 0/01^c$ | $1/31 \pm 0/01^a$ | $1/22 \pm 0/03^b$ | $1/14 \pm 0/01^c$ | نرخ رشد ویژه (SGR) |

* وجود حروف غیر همنام در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است.

جدول ۲، نتایج سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده ماهیان شامل فعالیت آنزیم‌های تریپسین، کیموتریپسین، آلکالین فسفاتاز، لیپاز و آمیلاز را تحت تأثیر سطوح مختلف زئوتن در جیره غذایی، نشان می‌دهد. بر اساس نتایج تحقیق حاضر، سطوح مختلف زئوتن باعث افزایش معنی‌دار ($P < 0/05$) میزان فعالیت آنزیم تریپسین، کیموتریپسین و آلکالین فسفاتاز شد، درحالی‌که تغییرات معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های لیپاز و آلفا-آمیلاز مشاهده نشد ($P > 0/05$). بیشترین میزان فعالیت آنزیم تریپسین روده مربوط به تیمار ۲ (۴ گرم زئوتن) و کمترین میزان آن مربوط به تیمار شاهد بوده است. همچنین بین تیمار ۲ (۴ گرم زئوتن) با تیمار شاهد و تیمار ۱ (۲ گرم زئوتن)، اختلاف معنی‌داری ($P < 0/05$) وجود داشت. بیشترین میزان فعالیت آنزیم کیموتریپسین در تیمار ۲ (۴ گرم زئوتن) و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده گردید، به طوری که اختلاف معنی‌داری ($P < 0/05$) بین تیمار شاهد و تیمار ۲ (۴ گرم زئوتن) وجود دارد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز مربوط به تیمار ۳ (۸ گرم زئوتن) و کمترین میزان آن مربوط به تیمار شاهد بوده است و اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) بین این دو تیمار وجود دارد.

جدول ۲: فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهیان جوان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تحت تأثیر سطوح مختلف زئوتن برحسب واحد در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه (U/mg protein/min) (خرم‌شهر، ۱۳۹۶).

کلیه مقادیر برحسب میانگین \pm خطای استاندارد بیان شده است.

| تیماهای آزمایشی | | | | |
|-----------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| فعالیت آنزیمی | تیمار شاهد | تیمار ۱ (۲ گرم در کیلوگرم) | تیمار ۲ (۴ گرم در کیلوگرم) | تیمار ۳ (۸ گرم در کیلوگرم) |
| تریپسین | ۲۵۳/۹۲ \pm ۲۳/۲۸ ^b | ۲۶۷/۵۰ \pm ۲۰/۶۲ ^b | ۳۸۳/۷۴ \pm ۳۹/۶۵ ^a | ۲۹۸/۰۳ \pm ۴۲/۵۴ ^{ab} |
| کیموتریپسین | ۰/۹۶ \pm ۰/۲۵ ^b | ۱/۶۳ \pm ۰/۱۳ ^{ab} | ۲/۰۲ \pm ۰/۴۵ ^a | ۱/۵۲ \pm ۰/۲۶ ^{ab} |
| آمیلاز | ۵/۸۸ \pm ۰/۷۷ ^a | ۶/۹۸ \pm ۰/۹۱ ^a | ۵/۲۵ \pm ۰/۴۷ ^a | ۵/۴۵ \pm ۰/۴۳ ^a |
| لیپاز | ۱۸/۷۹ \pm ۱/۸۰ ^a | ۲۰/۹۱ \pm ۱/۵۴ ^a | ۲۲/۲۶ \pm ۴/۰۴ ^a | ۲۴/۳۶ \pm ۱/۶۳ ^a |
| آلکالین فسفاتاز | ۱۷/۶۸ \pm ۰/۳۶ ^b | ۱۹/۹۸ \pm ۱/۵۷ ^{ab} | ۲۶/۹۶ \pm ۴/۱۸ ^{ab} | ۲۹/۸۰ \pm ۳/۸۸ ^a |

* وجود حروف غیر هم‌نام در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است.

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس گزارش‌های صورت گرفته، افزودن مکمل آزومیت به جیره غذایی باعث بهبود رشد، هضم پذیری مواد مغذی، بهبود کارایی غذا و فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده و فعالیت سیستم ایمنی غیراختصاصی و مقاومت در برابر بیماری در گونه‌های مختلف ماهیان پرورشی شده است (Tang *et al.*, 1997؛ Liu *et al.*, 2009, 2011؛ Fodge and Fodge, 2014). 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 به‌طور معنی‌داری بهتر از گروه شاهد و تیمار ۳ بود. بیشترین میانگین وزن نهایی (۴۶/۲۸ \pm ۰/۳۶ گرم) در تیمار ۲ مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد، همچنین تیمار ۱ از نظر میانگین وزن نهایی نسبت به گروه شاهد و تیمار ۳ دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P < 0.05$). بیشترین درصد افزایش وزن بدن (۰/۲۵ \pm ۹۹/۳۳ درصد) و بیشترین شاخص رشد ویژه (۱/۳۱ \pm ۰/۰۱) مربوط به تیمار ۲ بود که تفاوت معنی‌داری 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 معنی‌داری داشت ($P < 0.05$)؛ 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 کردن میکروفلور روده و بهبود جذب مواد مغذی را دارند (Nathanson *et al.*, 1976؛ Grajewski *et al.*, 1977). همچنین با توجه به نقش‌های متعدد مواد معدنی به‌ویژه نقش فعال و حیاتی آن‌ها در متابولیسم بدن به‌عنوان کوفاکتور و اجزای سیستم‌های آنزیمی (FAO, 2013)، 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 نگردید، احتمالاً زئوتن در مقادیر بالا می‌تواند منجر به تأثیر منفی بر فیزیولوژی ماهی و ایجاد استرس گردد. این تأثیر منفی ممکن است به دلیل وجود عناصری مانند آلومینیوم باشد (Ward *et al.*, 2001). حضور برخی ترکیبات در زئولیت نظیر آلومینیوم، سدیم و پتاسیم دارای قابلیت تغییر خاصیت بافری پی اچ مجرای گوارشی بوده و در مقادیر بالاتر این ترکیبات با تغییر بر میزان پی اچ دستگاه گوارش و تأثیر بر اپی‌تلیوم روده ماهی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌توانند منجر به کاهش هضم و جذب غذا و کاهش رشد شوند (Yildirim *et al.*, 2009). گزارش شده است که توانایی ذاتی زئولیت در اتصال به مخاط روده، باعث تقویت سد روده شده، به بازسازی اپیتلیوم روده کمک می‌کند و مخاط را از اثرات سمی داروها و سموم حفظ می‌نماید (Li and Kim, 2013). بر اساس تحقیقات صورت گرفته ثابت شده است که مخاط نقش اساسی در تغذیه و سلامت روده دارد (Montagne *et al.*, 2004). با توجه به اینکه دستگاه گوارش ماهی دارای میزان گردش پروتئین بالایی به‌عنوان یک فرآیند انرژی‌زا است (Kaushik and Seiliez, 2010; Tacchi *et al.*, 2012)، کاهش این بار، از طریق

بهبود سلامت روده به رشد کلی و استفاده از عملکرد تغذیه در حیوانات کمک می‌کند (Kaushik and Seiliez, 2010; Parisini *et al.*, 1999; Tacchi *et al.*, 2012). در واقع چنین استنباط می‌شود که افزایش سلامت روده از طریق استفاده از ژئولیت در رژیم غذایی باعث کاهش میزان گردش پروتئین در روده می‌شود و انرژی و پروتئین بیشتری را می‌تواند به سمت رشد هدایت کند (Kanyılmaz *et al.*, 2015). Jawahar و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ی خود 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 ژئولیت بهبود یافت. Khodanazary و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با جیره‌ی غذایی حاوی ۵ درصد ژئولیت رشد بهتری داشتند. Yildirim و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه‌ی خود روی تیلپیا گزارش کردند که افزودن ۱ و ۲ درصد ژئولیت به جیره غذایی این ماهی باعث افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب کارایی پروتئین و ضریب تبدیل غذایی می‌شود. Jaleel و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه‌ی روی ماهی *Koi* گزارش کردند که افزودن ۴ گرم بر کیلوگرم ترکیب معدنی آزومیت به جیره‌ی غذایی این ماهی عملکرد رشد را بهبود می‌بخشد. Azam و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که 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 روی ماهی *Ctenopharyngodon idella* مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند افزودن آزومیت به جیره‌ی غذایی کپور علفخوار باعث بهبود عملکرد رشد و ایمنی غیراختصاصی سرم شد. نتایج به دست آمده در این تحقیق با گزارشات فوق مطابقت دارد. رشد بهتر ماهی کپور را می‌توان به عناصر آومینوسیلیکات هیدراته غنی و همچنین عناصر کمیاب موجود در این مکمل نسبت داد. در واقع سموم و دیگر مواد مضر را جذب نموده (Ramos and Hernandez, 1997; Abbes *et al.*, 2006)، بنابراین منجر به حفاظت و بهبود رشد می‌گردد. از سوی دیگر، می‌تواند باعث تنظیم میکرو فلور روده شده و هضم مواد غذایی را بهبود می‌بخشد (Nathanson *et al.*, 1976; Grajewski *et al.*, 1977). هر چند که با افزایش سطوح آزومیت در جیره (۸ گرم در کیلوگرم غذا)، بهبودی در عملکرد رشد مشاهده نگردید که با نتایج Tan و همکاران (۲۰۱۴) روی میگوی سفید غربی، همخوانی دارد. دلایل وجود تفاوت در تحقیقات مختلف می‌تواند ناشی از تفاوت در گونه ماهی و یا گونه آبزی، شرایط فیزیولوژیک، منبع ژئولیت یا ماده معدنی مورد استفاده، نوع ژئولیت مورد استفاده، خصوصیات و سطوح تغذیه‌ای مواد مغذی جیره می‌باشد (Papaioannou *et al.*, 2005; Mumpton and Fisherman, 1977).

بر اساس جدول ۲، سطوح مختلف ژئوتن باعث افزایش معنی‌دار ($P < 0/05$) میزان فعالیت آنزیم تریپسین، کیموتریپسین و آلکالین فسفاتاز شد، در حالی که تغییرات معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های لیپاز و آلفا-آمیلاز مشاهده نشد ($P > 0/05$). در تحقیق انجام شده توسط Man-zi و همکاران (۲۰۱۱) سطوح ۲ و ۴ گرم ژئوتن باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهی کپور علفخوار شد. ژئوتن در ماهی کپور علفخوار (Liu و همکاران، ۲۰۱۱) و میگوی وانامی (Tan و همکاران، ۲۰۱۴) باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی گردید. افزایش فعالیت و ظرفیت آنزیم‌های گوارشی را می‌توان به اشغال یا جایگزینی محل‌های اتصال کلسیم توسط عناصر کمیاب نسبت داد (Moyle and Mitchel, 1977). مطالعات انجام شده در مورد ژئوتن نشان داد که افزودن ژئوتن به جیره غذایی باعث افزایش ارتفاع و تراکم پرزهای روده، افزایش تعداد سلول‌های جامی شکل، قابلیت هضم پروتئین و افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها در روده هیبرید ماهی تیلپایی نیل (*Oreochromis aureus* × *O. niloticus*) می‌شود (Liu *et al.*, 2009). در برخی مطالعات، اثرات برخی عناصر کمیاب روی حیوانات گزارش شده است. گزارش شده است که این عناصر فعالیت‌های آنزیمی، متابولیسم اسیدهای نوکلئیک، کربوهیدرات و لیپید را تحت تأثیر قرار داده و فلور روده را تنظیم می‌کند (Nathanson *et al.*, 1976; Grajewski *et al.*, 1977). تغذیه گاوهای نژاد سیمنتال با $LaCl_3$ می‌تواند باعث بهبود فرآیند تخمیر در دستگاه گوارش شده و هضم پذیری مواد غذایی را بهبود ببخشد (Liu *et al.*, 2008). کشت در شرایط آزمایشگاهی محتویات دستگاه گوارش نشان داد که هضم پذیری پروتئین خام در جیره‌های حاوی کلرید لانتانوم و کلرید سربوم به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود (Yang *et al.*, 2005). در بررسی نتایج، مشاهده گردید که سطوح مختلف ژئوتن باعث افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های لیپاز و آلفا آمیلاز نشده ولی از لحاظ مقایسه‌ای باعث افزایش جزئی این آنزیم‌ها نسبت به تیمار شاهد گردیده است. احتمالاً عدم افزایش معنی‌دار این آنزیم‌ها، کوتاه بودن دوره آزمایش (۵۶ روز) بوده است و احتمالاً با افزایش طول دوره، احتمال افزایش معنی‌دار این آنزیم‌ها نیز وجود دارد. با توجه به نتایج حاصل از فعالیت آنزیم‌های گوارشی در این تحقیق، افزایش رشد می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت این آنزیم‌ها و افزایش هضم پذیری مواد مغذی جیره باشد. به‌طور کلی نتایج

این تحقیق نشان داد که استفاده از زئوتن به‌عنوان مکمل در جیره غذایی ماهی کپور معمولی، با افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و بهبود فرآیند گوارش و هضم مواد غذایی، منجر به افزایش رشد در این‌گونه می‌شود و بر این اساس، می‌توان سطح ۴ گرم در کیلوگرم زئوتن را به‌عنوان یک مکمل در جیره غذایی تجاری کپور معمولی، معرفی نمود.

آنزیم‌های درون‌زا، نقش مهمی را در هضم مواد غذایی در ماهی بازی می‌کنند که به‌طور مستقیم منجر به افزایش قابلیت هضم می‌شوند (Wen et al., 2009; Adeoye et al., 2016). فعالیت‌های آنزیم‌های روده‌ای با توجه به عادات تغذیه‌ای و مورفولوژی روده در توزیع و شدت آن‌ها متفاوت است. در حال حاضر، اطلاعات زیادی در خصوص اثر زئوتن بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی وجود ندارد، اما Hu و همکاران (۲۰۰۸)، گزارش دادند که افزودن مونت موریلونیت غنی‌شده با $Cu2+$ در رژیم‌های غذایی تیلاپای نیل، باعث افزایش فعالیت آمیلاز روده، لیپاز و آلکالین فسفاتاز در مقایسه با رژیم کنترل می‌شود. بهبود آنزیم‌های روده‌ای را می‌توان با اتصال مواد معدنی طبیعی به مخاط، محافظت و تقویت سد مخاط روده توضیح داد؛ بنابراین به بازسازی اپیتلیوم روده کمک می‌کند (Hu et al., 2008; Girardeau, 1987; Albengres et al., 1985). علاوه بر این، ترکیب مواد معدنی (رسی) طبیعی، می‌تواند پی‌اچ مایعات دستگاه گوارش را بالا ببرند که منجر به تغییر در فعالیت‌های آنزیمی ترشحی دستگاه گوارش در موش‌ها شده است (Martin-Kleiner et al., 2001).

نتایج این تحقیق نشان داد که میانگین وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه در تیمارهای اول (دو گرم در کیلوگرم) و دوم (چهار گرم در کیلوگرم) به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد (فاقد زئوتن) و تیمار سوم (هشت گرم در کیلوگرم) بالاتر بود. همچنین استفاده از زئوتن بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی تریپسین، کیموتریپسین و آلکالین فسفاتاز به‌طور معنی‌داری تأثیر گذاشت، هرچند که میزان فعالیت آنزیم‌های لیپاز و آلفا‌آمیلاز تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند. بر اساس نتایج این تحقیق، زئوتن با تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های پروتئازی دستگاه گوارش ماهیان جوان کپور معمولی و اثر بر میزان بازبایی پروتئین در روده، منجر به تأثیر مثبت بر رشد این ماهی شده است. به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از زئوتن به‌عنوان مکمل در جیره غذایی ماهی کپور معمولی، با افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و بهبود فرآیند گوارش و هضم مواد غذایی، منجر به افزایش رشد در این‌گونه می‌شود و بر این اساس، می‌توان سطح ۴ گرم در کیلوگرم زئوتن را به‌عنوان یک مکمل در جیره غذایی تجاری کپور معمولی، معرفی نمود.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر می‌باشد. بدین‌وسیله نویسندگان مقاله از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر به علت حمایت مالی و معنوی جهت انجام این طرح تشکر و قدردانی می‌نمایند. این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته تکثیر و پرورش آبزیان می‌باشد.

منابع

- ایمانی، م. ج.، زنگویی، ن.، ذاکری، م. و موسوی، س. م.، ۱۳۹۸. اثرات سطوح مختلف زئوتن در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، ترکیب بیوشیمیایی لاشه و عملکرد سیستم ایمنی ماهی کپور معمولی انگشت قد، مجله فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۷ (۱): صفحات ۱۲۵-۱۰۳.
- ایمانی، م. ج.، زنگویی، ن.، ذاکری، م. و موسوی، س. م.، ۱۳۹۹. تأثیر سطوح مختلف زئوتن جیره بر برخی فاکتورهای خونی و شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، مجله بوم‌شناسی آبزیان، ۹ (۴): صفحات ۷۸-۶۸.
- عسگری، ر.، ۱۳۸۸. مروری بر ماهی‌شناسی سیستماتیک. انتشارات سرو، تهران. ۲۶۰ ص.
- علیشاهی، م.، چشمه، ب.، پیغان، ر.، قربانپور، م.، محمدیان، ت.، ۱۳۹۲. بررسی تأثیر بیهوشی با MS222، اسانس گل میخک و فنوکسی اتانول بر برخی شاخص‌های ایمنی ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio*. فصلنامه علمی پژوهشی اکو بیولوژی تالاب، ۵ (۱۸): صفحات ۲۳-۳۲.

- مکتبی، پ.، محمدی آذر، م.، ح.، پیغان، ر.، موسوی، س. م. و زارعی، م.، ۱۳۹۷. اثر اسید فرمیک، نمک پتاسیم دی فرمات و محلول نانوکیتوزان اسید فرمیک بر میزان بازماندگی، پارامترهای رشد و ترکیب لاشه در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). فصلنامه علمی پژوهشی اکوبیولوژی تالاب، ۱۰ (۳۸): ۵۴-۴۱.
- Abbes, S., Ouanes, Z., Salah-Abbes, J. B., Houas, Z., Oueslati, R., Bacha, H. and Othman, O., 2006. The protective effect of hydrated sodium calcium aluminosilicate against haematological, biochemical and pathological changes induced by zearalenone in mice. *Toxicon*, 47: 567-574.
- Abdul Jaleel, M., Saiyed Musthafa, M., Jawahar Ali, A., Jamal Mohamed, M., Arun Kumar, M. S., Natarajan, V. and Thiagarajan, G., 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 Naturem*, 4(3): 160-169.
- Adeoye, A., Jaramillo-Tores, A., Fox, S., Merrifield, D. and Davies, S., 2016. **Supplementation of formulated diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*) with selected exogenous enzymes: overall performance and effects on intestinal histology and microbiota.** *Animal Feed Science and Technology*, 215: 133-143.
- Ahamed, H. A., Mohamed, M. J., Arunachalam, K. D., Raiyaan, G. I. D., Musthafa, M. S., Begum, S. S., Doan, H. V., 2020. Effects of Azomite enriched diet on gonadal steroid hormone levels and milt quality indices in *Oreochromis mossambicus*. *Aquaculture Reports*, 17: 100341.
- Albengres, E., Urien, S., Tillement, J. P., Oury, P., Decourt, S., Flouvat, B. and Drieu, K. 1985. Interactions between smectite, a mucus stabilizer, and acidic and basic drugs. *In vitro* and *in vivo* studies. *European Journal Clinical Pharmacology*, 28: 601-605.
- Al-Saraji, A. Y. J. and Nasir, N. A. N., 2013. Effect of different dietary proteins and fats on the digestive enzymes activities in the common carp fingerlings (*Cyprinus carpio* L.) reared in floating cages. *Mesopotamian Journal of Marine Science*, 28: 121-130.
- Applebaum, S. and Holt, G., 2003. The digestive protease, chymotrypsin, as an indicator of nutritional condition in larval red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Marine Biology*, 142: 1159-1167.
- Awad, E., Austin, D. and Lyndon, A. R., 2013. Effect of black cumin seed oil (*Nigella sativa*) and nettle extract (Quercetin) on enhancement of immunity in rainbow trout, *Oocorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture*, 388: 193-197.
- 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.
- Batool, S. S., Khan, N., Atique, U., Azmat, H., Iqbal, Kh. J., Mughal, D. H., Ahmad, M. Sh., Batool, S., Munawar, S., Dogar, S., Nawaz, M. and Amjad, M., 2018. Impact of Azomite supplemented diets on the growth and body composition of catfish (*Pangasius hypophthalmus*). *Pakistan Journal of Zoology. Suppl. Ser.*, 13: 08-12.
- Buchtova, H., Svobodova, Z., Kocour, M. and Velisek, J., 2011. Chemical composition of fillets of mirror cross breed common carp (*cyprinus carpio* L.). *Acta Veterinaria Brno*, 79: 551-557.
- Chong, A. S. C., Hashim, R., Chow- Yang, L. and Ali, A. B., 2002. Partial characterization and activities of proteases from the digestive tract of discus fish (*Symphysodon aequifasciata*). *Aquaculture*, 203: 321-333.
- Ebrahimi, G., Ouraji, H., Firouzbakhsh, F. and Makhdomi, C., 2013. Effect of dietary lipid and protein levels with different protein to energy ratios on growth performance, feed utilization and body composition of *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, 1901) fingerlings. *Aquaculture research*, 44: 1447-1458.
- FAO., 2013. 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>
- Fodge, D. and Fodge, D. F., 2014. The nutritional and immune impact of azomite in tilapia and shrimp. *International Aquafeed*, 17: 44-46.
- Fodge, Rattanagulvaron, D. S. and Huong, N. T. M., 2011. Making strides in aquaculture with natural trace minerals. *Aquaculture Asia Pacific*, 7(3): 24-25.
- Girardeau, J. P., 1987. Smectite aggregation by *Escherichia coli*. *Acta Gastroenterol. Belg.* 50, 181-192.
- Gisbert, E., Gimenez, G., Fernandez, I., Kotzamanis, Y. and Estevez, A., 2009. Development of digestive enzymes in common dentex, *Dentex dentex* during early ontogeny. *Aquaculture*, 287: 381-387.
- Graca, L., Chen, T. C. and Le Moine, A., 2005. Dominant tolerance: activation thresholds for peripheral generation of regulatory T cells. *Trends in Immunology*, 26: 130-135.

- Grajewski, O., Von Lehmann, B., Arntz, H. R., Arvela, P. and 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.
- Guler, A. and Ucar, A., 2020.** Effects of zeolite on growth and hematology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) kept at low temperatures. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(5): 2354-2365.
- Hassaan, M. S., Mohammady, E. Y., Soaudy, M. R., Palma, J., Shower, E. E., El-Haroune, E., 2020.** The effect of dietary sericite on growth performance, digestive enzymes activity, gut microbiota and haematological parameters of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *Animal Feed Science and Technology*, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114400>
- Hidalgo, M., Urea, E. and Sanz, A., 1999.** Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. *Aquaculture*, 170: 267-283.
- Hohenwallner, W., Stein, W., Hafkenscheid, J. C., Kruse-Jarres, J. D., Kaiser, C. and Hubbuch, A., 1989.** Reference ranges for alpha-amylase in serum and urine with 4,6-ethylidene-(G7)-1-4-nitrophenyl-(G1)-alpha, D- maltoheptaoside as substrate. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 27: 97-101.
- Hooge, D., 2008.** Natural Minerals Can Benefit Broiler Diets, *Feedstuffs*. 80(3): 24-26.
- Hu, C. H., Xu, Y., Xia, M. S., Xiong, L., Xu, Z. R., 2008.** Effects of Cu²⁺-exchanged montmorillonite on intestinal microflora, digestibility and digestive enzyme activities of Nile tilapia. *Aquaculture Nutrition*, 14: 281-288.
- Huang, S. S. Y., Fu, C. H. L., Higgs, D. A., Balfry, S. K., Schulte, P. M. and Brauner, C. J., 2008.** Effects of dietary canola oil level on growth performance, fatty acid composition and ionoregulatory development of spring chinook salmon parr, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Aquaculture*, 274(1), 109-117.
- Hummel, B. C. W., 1959.** A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37: 1393-1399.
- Jaleel, M. A., Musthafa, M. S., Ali, A. J., Muhammad, M. J., Kumar, M. S. A., Natarajan, G. and Thiagarajan, V., 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, immunological role, and disease resistance in *Channa striatus* against *Aphanomyces invadans*. *Fish and shellfish immunology*, 51: 161-169.
- Kanyilmaz, M., Tekelioğlu, 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.
- Karimi, M., Mousavi, S. M., Zolgharnain, H. and Zakeri, M., 2020.** Dietary montmorillonite as growth promoter and immunomodulator in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Chemosphere*, 252: 126459.
- Kaushik, S. J. and Seiliez, I., 2010.** Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. *Aquaculture Research*, 41: 322-332.
- 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
- Kloskowski, J., 2011.** Impact of common carp *Cyprinus carpio* on aquatic communities: direct trophic effects versus habitat deterioration. *Fundamental and Applied Limnology*, 178(3): 245-255.
- Krogdahl, A., Lea, T. B. and Olli, J. J., 1994.** Soybean proteinase inhibitors affect intestinal trypsin activities and amino acid digestibilities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Comparative Biochemistry and physiology*, 107(1):215-219.
- Kruse-Jarres, J. D., Kaiser, C., Hafkenscheid, J. C., Hohenwallner W., Stein, W. and Bohner, J., 1989.** Evaluation of a new alpha- amylase assay using 4,6-ethylidene (G7)-1-4- nitrophenyl-(G1)-alpha, D- maltoheptaoside as substrate. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 27: 103-113.
- Kuz'mina, V., Shekovtsova, N. and Bolobonina, V., 2010.** Activity dynamics of proteinases and glycosidases of fish chyme with exposure in fresh and brackish water. *Biology Bulletin*, 37: 605-611.

- Lan, C. C. and Pan, B. S., 1993.** In-vitro digestibility simulating the proteolysis of feed protein in the midgut gland of grass shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, 109: 59-70.
- Lemieux, H., Blier, P. U. and Dutil, J-D., 1999.** Do digestive enzymes set physiological limiton growth rate and food conversion efficiency in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 20: 293-303.
- Li, J. and Kim, I. H., 2013.** Effects of dietary supplementation of sericite on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles and fecal microflora shedding in growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 184: 100-104.
- Liu, A. J., Leng, X. J., Li, X. Q., Wang, L. P., Luo, Y. X. and Zhu, R. J., 2009.** Effects of Azomite on growth, intestinal structure and non-specific immunity of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 21: 1006-1011.
- Liu, M. Z., Leng, X. J., Li, X. Q., Chang, X. and Chen, D. R., 2011.** Effects of Azomite on growth performance, intestinal digestive enzyme activities and serum nonspecific immune of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Science)*, 37: 312- 18.
- Man-zi, L., Xiang-jun, L., Xiao-qin, L., Chang-wu, X. and Dao-ren, Ch., 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.
- Martin-Kleiner, I., Flegar-Mestric, Z., Zadro, R., Breljak, D. and Stanovic, S., 2001.** The effect of the zeolite clinoptilolite on serum chemistry and hematopoiesis in mice. *Food Chemistry and Toxicology*, 39: 717-727.
- Misra, C. K., Das, B. K., Mukherjee, S. C. and Pattnaik, P., 2006.** Effect of long term administration of dietary β -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. *Aquaculture*, 255(1-4), 82-94.
- 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.
- Montagne, L., Piel, C. and Lalles, J. P., 2004.** Effect of diet on mucin kinetics and composition: nutrition and health implications. *Nutrition Reviews*, 62: 105-114.
- Moss, D., 1992.** Perspectives in alkaline phosphatase research. *Clinical Chemistry*, 2486-2492.
- Mousavi, S.M., Majdi Nasab, E., Yavari, V., Rajabzadeh Ghatrami, E. and Razi Jalali, M., 2012.** Effects of two anaesthetic regimes, MS-222 and eugenol, on plasma biochemical profile in *Barbus sharpeyi*. *Comparative Clinical Pathology*, 21: 859-863.
- Moyle, J. and Mitchell, P., 1977.** Electric charge stoicheiometry of calcium translocation in rat liver mitochondria. *FEBS Letter*, 73: 131.
- Mraz, J., 2011.** Lipid quality of common carp (*cyprinus carpio*) in pond culture. *Faculty of Natural Resources and Agriculture Sciences*, 26: 1101-1145.
- Mumpton, F. A. and Fishman, P. H., 1977.** The application of natural zeolites in animal science and aquaculture. *Journal of Animal Science*. 45, 1188-1203.
- Murthy, Sh., Shrikala, D., Patil, P. and Shankar, R., 2017.** Effect of dietary administration of carrageenan on growth, survival and feed utilization of Common Carp, *Cyprinus Carpio*. *Journal of Aquaculture and Marine Biology*, 5(1): 00106.
- Musthafa, M. S., Ali, A. J., Jamal Mohamed, M., Abdul Jaleel, M. M., Arun Kumar, M. S., Umaa Rani, K., Vasanth, K., Arockiaraj, J., Preetham, E., Balasundaram, Ch. and Harikrishnan, R., 2016.** Protective efficacy of Azomite enriched diet in *Oreochromis mossambicus* against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 451: 310-315.
- Nathanson, J.A., Freedman, R. and Hoffer, B. J., 1976.** Lanthanum inhibits brain adenylate cyclase and blocks noradrenergic depression of Purkinje cell discharge independent of calcium. *Nature*, 261(5558): 330-332.
- Papaioannou, D., Katsoulos, P.D., Panousis, N. and Karatzias, H., 2005.** The role of natural and synthetic zeolites as feed additives on the prevention and/ or the treatment of certain farm animal disease: a review. *Microporous Mesoporous Mater.* 84, 161-170.
- Parisini, P., Martelli, G., Sardi, L. and Escribano, F., 1999.** Protein and energy retention in pigs fed diets containing sepiolite. *Animal Feed Science and Technology*, 79: 155-162.
- Perez-Jimenez, A., Guedse, M. J., Morales, A. E. and Oliva-Teles, A., 2007.** Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax*. Effect of dietary composition. *Aquaculture*, 265: 325-335.

- Ramos, A. J. and Hernandez, E., 1997.** Prevention of aflatoxicosis in farm animals by means of hydrated sodium calcium aluminosilicate addition to feedstuffs: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 65: 197–206.
- Rungruangsak-Torrissen, K. and Male, R., 2000.** Trypsin isozymes: development, digestion and structure. *Seafood Enzymes, Utilization and Influence on Postharvest Seafood Quality*, 215-269.
- Saiyed Musthafa, M., Jawahar Ali, A. R., Mohamed, M. J., Abdul Jaleel, M. M., Arun Kumar, M. S., Rani, K.U., Vasanth, K., Arockiaraj, J., Preetham, E., Balasundaram, C. and Harikrishnan, R., 2016.** Protective efficacy of Azomite enriched diet in *Oreochromis mossambicus* against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 451: 310–315.
- Tacchi, L., Secombes, C., Bickerdike, R., Adler, M., Venegas, C., Takle, H. and Martin, S., 2012.** Transcriptomic and physiological responses to fishmeal substitution with plant proteins in formulated feed in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *BMC Genomics*, 13: 363.
- 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 (*Litopenaus vannamei*). *Aquaculture Nutrition*, 20: 324-331.
- Tang, Y., Xia, C. and Wang, L., 1998.** A comparative study of the effect of different REE compounds on growth performance of carp. *Chinese Journal of Fisheries*, 11: 47–49.
- 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. *Chinese Journal of Fisheries*, 10, 88-90.
- Tietz, N. W. and Shuey, D. F., 1993.** Lipase in serum-the elusive enzyme: an overview. *Clinical Chemistry*, 39(5): 746-56.
- Ward, R. J., Zhang, Y. and Crichton, R. R., 2001.** Aluminium toxicity and iron homeostasis, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 87(1-2): 9-14.
- Wen, Z. P., Zhou, X. Q., Feng, L., Jiang, J. and Liu, Y., 2009.** Effect of dietary pantothenic acid supplement on growth, body composition and intestinal enzyme activities of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture Nutrition*, 15 (5): 470–476.
- Worthington, C. C., 1991.** Worthington enzyme manual related Biochemical. 3th Edition. Freehold, New jersey, pp. 212-215.
- Yang, H., Zhang, W., Cheng, J., Zhang, H. and Zhu, Y., 2005.** Effect of Supplementation Rare-earth Complex Compound with Fumaric in Ration on Live weight Gain of Yellow Hybrid Broiler. *Chinese, Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 35 (3): 7-8.
- Yildirim, Ö., Türker, A. and 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.