

کارایی نانوزئولیت بر کیفیت آب، عملکرد رشد و تغذیه، آنزیم‌های گوارشی و ایمنی بچه ماهیان کپور

(*Cyprinus carpio*) در سیستم بایوفلاک

زینب صداقت، حسین آدینه*، محمد هرسیج، محمد فرهنگی

گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، ایران

چکیده

نوع مقاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۱۵

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۱/۰۶/۳۰

*نویسنده مسول:

adineh.h@gonbad.ac.ir

فناوری بایوفلاک به‌عنوان یک سیستم پرورش برای کاهش اثرات زیست محیطی تولید ماهی در نظر گرفته می‌شود. در مطالعه حاضر تاثیر نانوذرات زئولیت بر کیفیت آب، عملکرد رشد، آنزیم‌های گوارشی و پاسخ ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرورش یافته در شرایط بایوفلاک مورد بررسی قرار گرفت. بچه ماهیان (وزن اولیه 0.36 ± 0.07 گرم) در ۴ تیمار تقسیم شدند و با ۴ سطح از نانوذره زئولیت به‌میزان ۰ (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی در سیستم بایوفلاک (NZ1، NZ2 و NZ3) به‌مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. نسبت کربن به ازت (۱:۱۵) با استفاده از ساکارز تامین گردید. پارامترهای کیفیت آب مانند ترکیبات نیتروژنی در طول دوره آزمایش اندازه‌گیری شد. پایان دوره آزمایش، بالاترین شاخص‌های رشد و کمترین ضریب تبدیل غذایی در جیره ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (NZ1) به دست آمد. فعالیت پروتئاز روده در تیمارهای NZ1 و NZ2 به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود، و بیشترین فعالیت لیپاز و آمیلاز مربوط به تیمار NZ1 بود. جیره‌های ۵۰ و ۱۰۰ نانوزئولیت در شرایط بایوفلاک به‌طور قابل توجهی فعالیت سیستم ایمنی ماهی را افزایش دادند. مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مکمل غذایی با ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم نانوذرات زئولیت در سیستم بایوفلاک به‌طور قابل توجهی باعث افزایش عملکرد رشد، آنزیم‌های گوارشی و پاسخ ایمنی در ماهی کپور معمولی در مخازن پرورش ماهی می‌شود.

کلید واژه‌ها: نانوذرات زئولیت، ماهی کپور معمولی، بایوفلاک، فیزیولوژی

مقدمه

فن‌آوری بایوفلاک به‌عنوان یکی از ابزارهای مهم برای تامین غذا و بهبود وضعیت اقتصادی صنعت آبی‌پروری می‌باشد^[۱]، بر این اساس در این سیستم پرورشی با تبدیل ضایعات نیتروژنی به زیست توده میکروبی به‌عنوان منبع غذایی با تامین پروتئین (اسیدهای آمینه ضروری)، اسیدهای چرب اشباع نشده، ویتامین‌ها و مواد معدنی در محیط پرورش ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرد^[۲،۳،۴]. در سیستم‌های بایوفلاک، میکروارگانیسم‌ها نقش مهمی در بهبود باروری، چرخه عناصر، کیفیت آب و تغذیه آبزیان دارند^[۵]. در این فن‌آوری، ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با داشتن توان سازگاری زیستی نسبت به نوسانات دمایی، اکسیژن، کدورت، تراکم و کیفیت آب و همچنین قابلیت کفزی‌خواری و فیلترکنندگی به‌عنوان یکی از کاندیدهای مهم محسوب می‌شود از اینرو محیط بایوفلاک را یک محیط پرورش ضد استرس برای پرورش ماهی کپور معمولی معرفی می‌شود^[۶].

یکی از راهکارهای بهبود وضعیت تغذیه و بالا بردن کیفیت آب محیط پرورش آبزیان استفاده از نانوذرات با خاصیت خوراکی و زیست‌سازگار است. نانوذرات ترکیباتی با اندازه ۱۰-۱۰۰ نانومتر هستند که با افزایش نسبت سطح به حجم باعث افزایش فعالیت و اثر گذاری بیشتر آن‌ها می‌شود^[۷]. از ویژگی‌های نانوذرات می‌توان به سطح کیفیت بالا، کوچکی اندازه، وزن سبک و همچنین دارا بودن نیمه عمر طولانی و کم خطر بودن آنها اشاره کرد^[۸]. از جمله مکمل‌های دارای قابلیت خوراکی با خاصیت ضد میکروبی و قارچی در دستگاه گوارش می‌توان به زئولیت اشاره کرد. زئولیت‌ها

به‌عنوان مواد خوراکی غیرسمی برای تامین کمبود مواد معدنی بدن و همچنین برای جلوگیری از مسمومیت تدریجی ناشی از مواد مضر در محیط زیست استفاده می‌شود [۹ و ۱۰].

استفاده از فناوری بیوفلاک برای پرورش آبزیان از جنبه‌ها مختلف مورد تحقیق و پژوهش قرار گرفته است بطوریکه می‌توان به مطالعات مرتبط با استفاده از افزودنی در جیره غذایی ماهیان در محیط بیوفلاک به تحقیقات منتشر شده با موضوع تعیین سطح مناسب پروتئین جیره غذایی بچه ماهیان کپور معمولی [۱۲]، اثر افزودن ملاس در آب و جیره غذایی ماهی کپور [۱۳]، تاثیر افزودن پروبیوتیک های تجاری در جیره غذایی ماهی کپور [۱۴]، تاثیر افزودن پوست قهوه در جیره غذایی ماهی تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) [۱۵]، اثرات استفاده از جیره غذایی حاوی پودر پوست آناناس و لاکتوباسیلوس پلانتروم (*Lactobacillus plantarum*) بر میزان مقاومت ماهی تیلایپای نیل [۱۶]، بکارگیری مکمل چریش (*Azadirachta indica* A. Juss) در جیره غذایی ماهی کپور معمولی [۱۷] اشاره کرد.

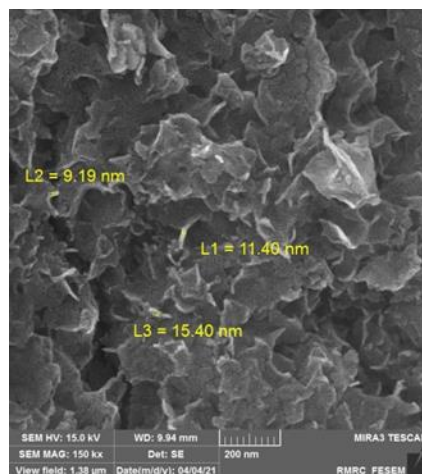
مطالعات متعدد در خصوص کارایی اشکال مختلف زئولیت به‌منظور کنترل باکتری پرسینا روکری (*Yersinia ruckeri*) در مخزن پرورش ماهی [۱۸]، کنترل ترکیبات نیتروژنی آب محیط پرورش ماهی ماکرو (*Labidochromis caeruleus*) [۱۹]، کنترل قارچ آفلاتوکسین B1 موجود در جیره غذایی بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) [۲۰]، افزایش عملکرد رشد و بازماندگی ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) [۲۱]، تقویت آنزیم‌های گوارشی و ظرفیت آنتی‌اکسیدان ماهی تیلایپای نیل [۲۲]، پیشگیری از مایکوتوکسیکوز با استفاده از زئولیت اصلاح شده به‌عنوان افزودنی خوراک در رژیم غذایی ماهی تیلایپای نیل [۲۳]، کاهش سمیت سرب در ماهی تیلایپای نیل تغذیه شده با زئولیت [۲۴]، افزایش تراکم ذخیره‌سازی ماهی تیلایپای نیل تغذیه شده با زئولیت [۲۵] و کاربرد استفاده از زئولیت بر بهبود عملکرد فیزیولوژیکی ماهی تیلایپای نیل [۲۶] اشاره کرد.

تاکنون تحقیقی در خصوص بکارگیری نانوذره زئولیت در جیره غذایی ماهی کپور پرورش یافته در سیستم بیوفلاک منتشر نشده است بنابراین هدف از این مطالعه بهبود وضعیت تغذیه، پاسخ ایمنی غیر اختصاصی و کاهش میزان آمونیاک ترشحی ماهی کپور معمولی در محیط پرورش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای آماده‌سازی فلاک اولیه از دو مخزن مدور با حجم آبیگری ۴۰ لیتر (۲۰ لیتر آب مزرعه پرورش ماهی و ۲۰ لیتر آب معمولی) استفاده شد. به‌منظور تسریع در تشکیل فلاک تعداد ۱۰ قطعه ماهی کپور در مخازن رهاسازی و روزانه به‌میزان ۲ درصد وزن بدن با جیره حاوی ۳۸/۴ درصد پروتئین جهت تامین ازت و ساکارز (کربن حدود ۹۹٪) برای تامین کربن استفاده شد. در طول دوره تهیه فلاک اولیه، دمای آب بالای ۲۲ درجه‌سانتی‌گراد، هوادهی شدید استفاده شد. هنگامی که مقدار جامدات معلق کل در آب (TSS) به حدود ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر رسید [۲۷]، هوادهی قطع و استوک بیوفلاک تشکیل شده از توری با چشمه ۱۰ میکرومتر عبور داده شد. به هر مخزن در تیمار آزمایشی بیوفلاک مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر در لیتر از استوک اولیه بیوفلاک تزریق شد [۲۸].

نانوزئولیت از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان - مشهد با سایز ۵۰ نانومتر تهیه شد (شکل ۱). برای تهیه جیره پایه اقلام غذایی مانند پودر ماهی، پودر گوشت، آرد سویا، آرد و سبوس گندم، روغن ماهی، روغن سویا، لسیتین، متیونین، لایزین، مکمل معدنی و مکمل ویتامینه تهیه و توسط نرم‌افزار جیره‌نویسی UFFDA تنظیم گردید (جدول ۱). بعد از تهیه اقلام غذایی، ابتدا مواد اولیه آسیاب و برای جداسازی مواد پودر شده از الک ۱۰۰ میکرونی استفاده شد. برای تهیه خمیر از آب استریل استفاده شد و سپس خمیر به ۴ قسمت مساوی تقسیم گردید. ۴ تیمار آزمایشی حاوی سطوح صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم نانوزئولیت در کیلوگرم غذا بطور مجزا آماده گردید. خمیر آماده شده هر تیمار بطور مجزا از چرخ گوشت عبور داده شده تا رشته‌های غذایی تهیه و سپس توسط باد پنکه خشک گردید. غذای ساخته شده پس از خورد شدن به اندازه سایز دهان ماهی بسته‌بندی و در یخچال نگهداری شد.



شکل ۱: تصویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) نانو ذرات زئولیت مورد استفاده در مطالعه حاضر (ارائه شده توسط شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان)

جدول ۱-۲- اجزای تشکیل دهنده و آنالیز تقریبی جیره

درصد	آنالیز تقریبی غذا	درصد	اقدام غذایی
۹۱/۵	ماده خشک	۱۵	پودر ماهی
۳۸/۴	پروتئین (%)	۱۵	پودر گوشت
۸/۷۰	چربی	۲۰	آرد سویا
۸/۹۱	خاکستر	۳۴	آرد گندم
		۱۰	پودر ذرت
		۱/۵	روغن ماهی
		۱/۵	روغن سویا
		۰/۴	لیزین
		۰/۶	متیونین
		۱	مکمل ویتامینه
		۱	مکمل معدنی

تعداد کل ۳۰۰ قطعه ماهی کپور معمولی برای سازگاری به مدت ۱۰ روز به آزمایشگاه شیلات دانشگاه گنبد کاووس انتقال و در یک مخزن مستطیلی با حجم آبگیری ۴۰۰ لیتر نگهداری شد. زمان شروع آزمایش تعداد ۲۴۰ قطعه ماهی با میانگین وزنی $7/99 \pm 0/36$ گرم در ۴ تیمار آزمایشی هر یک با ۳ تکرار در مخازن ۳۵ لیتری با سطوح صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم نانوزئولیت در کیلوگرم غذا برای ۶۰ روز دوره پرورش بصورت تصادفی توزیع شدند.

فاکتورهای کمی و کیفی آب از قبیل دمای آب، شوری، میزان اکسیژن محلول و هدایت الکتریکی (EC) توسط دستگاه پورتابل کیفیت سنج آب ساخت شرکت هک آمریکا مدل D40 اندازه گیری شد. میزان pH آب با استفاده از pH متر مدل ۸۲۷ مترم سوئیس سنجش شد. قلیائیت به روش تیتراسیون و غلظت نیترژن غیر آلی محلول شامل آمونیاک کل (TAN)، نیترات ($-NO_3$) و فسفات (PO_4^{3-}) با استفاده از اسپکتروفوتومتر بر اساس استاندارد آزمایشگاه سنجش شد^[۳۹]. بطور کلی کیفیت آب مخازن پرورش ماهی هر ۱۰ روز یکبار مورد سنجش قرار گرفت.

در پایان دوره آزمایش، ۲۴ ساعت قبل از زیست سنجی بچه ماهیان عملیات غذایی متوقف گردید. وزن نهایی و طول کل بچه ماهیان کپور بترتیب توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ و تخته بیومتری با دقت ۰/۱ سانتی متر اندازه گیری تا پارامترهایی چون وزن نهایی، افزایش وزن، درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب چاقی، ضریب تبدیل غذایی، کارایی تبدیل غذا و کارایی تبدیل پروتئین به شرح ذیل محاسبه شود^[۴۰]:

افزایش وزن (WG, g) = میانگین وزن نهایی (گرم) - میانگین وزن اولیه (گرم)
 ضریب رشد ویژه (SGR, \%day^{-1}) = $(\ln(\text{وزن نهایی (گرم)} - \ln(\text{وزن اولیه (گرم)})) / \text{مدت زمان پرورش (روز)}) \times 100$
 ضریب چاقی (CF) = (وزن نهایی (گرم)) / توان سوم طول کل ماهی (سانتی‌متر) $\times 100$
 ضریب تبدیل غذایی (FCR) = مقدار غذای مصرف شده (گرم) / (وزن نهایی (گرم) - وزن اولیه (گرم))
 کارایی تبدیل غذا (FCE, %) = (وزن بدست آمده (گرم)) / مقدار غذای مصرف شده (گرم) $\times 100$
 نسبت کارایی پروتئین (PER) = (وزن بدست آمده (گرم)) / مقدار مصرف پروتئین (گرم)

پایان دوره آزمایش تعداد ۳ قطعه ماهی کپور بطور تصادفی از هر تکرار صید شد. محوطه شکمی ماهی با الکل ضدعفونی سپس کل روده از بدن جدا و توسط سرم فیزیولوژی شستشو داده شد. نمونه‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن و سپس به نسبت وزنی- حجمی (۱ به ۹) محلول بافر توزین شدند^[۳۰]. جهت تهیه عصاره آنزیمی ابتدا بافر ساخته شد که بدین منظور ۱۰۰ میلی‌مولار Tris-Hcl، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، ۰/۱ درصد Triton در پی‌اچ ۷/۸ با دستگاه هموژنایزر نیز مخلوط شدند^[۳۱]. نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار (مدل Combi514R ساخت کشور کره) با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد که در نهایت مایع رویی بدست آمده به‌عنوان عصاره آنزیمی برای سنجش جدا گردید. فعالیت آنزیم آمیلاز به روش دستی با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی و فعالیت آنزیم لیپاز به روش آنزیمی، کالریتری با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. طبق دستور العمل شرکت سازنده، آمیلاز و پروتئاز بر اساس روش ورتینگتون^[۳۲] و فعالیت لیپاز با هیدرولیز ۰/۵ میلی‌مولار از p-nitrophenyl myristate، ۰/۲۵ میلی‌مولار از 2-methoxy ethanol، ۵ میلی‌مولار از sodium cholate و ۰/۲۵ میلی‌مولار بافر Tris/Hcl مورد سنجش قرار گرفت^[۳۳].

به‌منظور سنجش برخی از پارامترهای ایمنی غیر اختصاصی ماهی کپور پرورش یافته، ۳ ماهی بطور تصادفی از هر تکرار صید و پس از بی‌هوشی با ۵ میلی‌گرم در لیتر پودر گل میخک با استفاده از سرنگ ۲ سی‌سی از ورید ساقه دمی عمل خونگیری انجام شد. میکروتیوب حاوی خون ماهی در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار با سرعت ۳۰۰۰ دور در ثانیه به مدت ۷ دقیقه سانتریفیوژ شد^[۱۱]. در نهایت سرم از لخته جدا و به تیوب‌های جدید منتقل و تا زمان شروع آزمایشات مربوط به بررسی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

برای تعیین میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم سرم از روش ارائه‌شده توسط (ELLIS ۱۹۹۰)^[۳۴] استفاده شد. بدین منظور مقدار ۲۵ میکرولیتر از پلاسما به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای شکل الایزا افزوده شد. سپس مقدار ۱۷۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococcus Lysodeiکتیکوس*) در غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر در ۰/۵ میلی‌مولار بافر فسفات با پی‌اچ ۶/۲ اضافه شد. با استفاده از دستگاه الایزایدر Bio-Tek آمریکا جذب نوری اولیه در طول موج ۵۳۰ nm قرائت و پس از یک ساعت نگهداری در دمای اتاق، مجدداً جذب نوری اندازه‌گیری شد. هر واحد از فعالیت آنزیم لیزوزیم بر اساس کاهش جذب (۰/۰۰۱ در دقیقه) تعیین شد. میزان ایمونوگلوبولین توسط کیت مخصوص به روش کدورت‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. فعالیت کمپلمان ۵۰ (ACH₅₀) به روش Sunyer و Tort (۱۹۹۵)^[۳۵] تعیین شد، بدین منظور فعالیت مکمل بر اساس همولیز گلبول‌های قرمز خرگوش اندازه‌گیری گردید. گلبول‌های قرمز خرگوش سه مرتبه با بافر اتیلن گلیکول تترا استیک اسید-منیزیم-ژلاتین ورنال شسته شده و تعداد سلول‌های آن به کمک لام نئوبار در هر میلی‌لیتر بافر 2×10^8 سلول در میلی‌لیتر تنظیم شد. ابتدا جذب نوری لیز ۱۰۰ درصد گلبول‌های قرمز خرگوش با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون فوق به ۳/۴ میلی‌لیتر آب مقطر تعیین و سپس نمونه‌های سرم ۱۰۰ برابر با بافر فوق، رقیق شده و حجم‌های متفاوتی از آن در لوله آزمایش استریل تهیه و حجم همه لوله‌ها به کمک بافر به ۲۵۰ میکرولیتر رسانده شد. سرانجام به همه لوله‌ها ۱۰۰ میکرولیتر گلبول قرمز خرگوش اضافه و مخلوط فوق در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه قرار داده شده و در پایان به هر کدام از لوله‌ها ۳/۱۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۸۵ درصد کلرید سدیم افزوده می‌شود. سپس لوله‌ها در ۱۶۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و جذب نوری محلول رویی در طول موج ۴۱۴ نانومتر قرائت گردید^[۳۵]. حجمی از سرم که سبب ۵۰ درصد همولیز می‌شود (k)، تعیین شده و جهت محاسبه فعالیت مکمل نمونه‌ها مورد استفاده قرار گردید:

$$\text{فعالیت مکمل (ACH}_{50}\text{)} = k \times \text{بر میلی لیتر} = 0.5 \text{ U}$$

میزان پروتئین کل و آلبومین سرم با استفاده از کیت‌های تجاری (پارس آزمون، کرج، ایران) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده و به روش رنگ‌سنجی تعیین گردید. فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP)، آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) سرم با استفاده از کیت‌های تجاری پارس آزمون (کرج، ایران) و با دستگاه فتومتر بیوشیمی (مدل AE-600F ساخت کشور ژاپن) تعیین شدند. نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون شاپیرو-ولیک بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در تیمارهای مختلف آزمایشی استفاده شد. در آزمون‌های آماری سطح معنی‌دار ۰/۰۵ در نظر گرفته شد ($P < 0.05$). رسم نمودار و تجزیه و تحلیل داده‌ها به ترتیب با استفاده از نرم افزار Excel و SPSS نسخه ۱۶ در محیط ویندوز انجام گرفت.

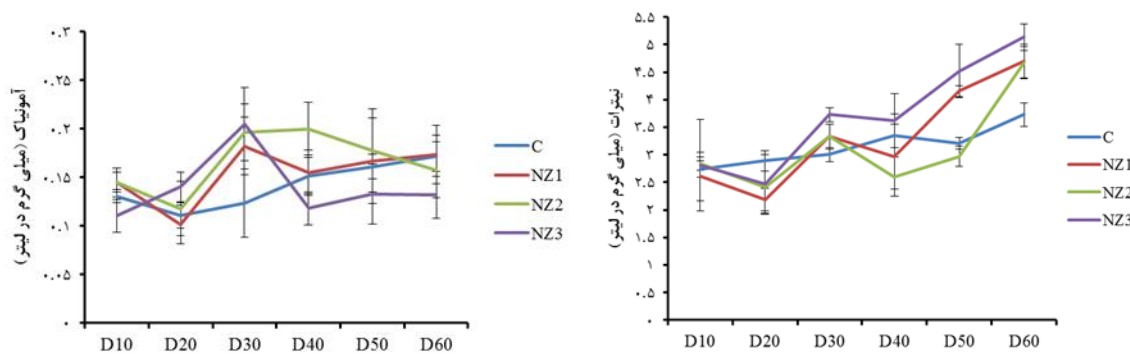
نتایج

کیفیت آب محیط پرورش ماهی کپور معمولی سنجش و مورد آنالیز آماری قرار گرفت (جدول ۲). درجه حرارت، اکسیژن محلول، پی‌اچ، شوری، هدایت الکتریکی، کل مواد جامد معلق، قلیائیت، حجم فلاک و فسفات بین تیمارهای آزمایشی اختلاف آماری نداشت. مقادیر بدست آمده از آمونیاک کل و نیترات در شکل ۲ نشان داده شده است. بین تیمارهای تغذیه شده ماهی کپور معمولی با سطوح مختلف نانوزئولیت در سیستم بایوفلاک اختلاف آماری مشاهده نشد.

جدول ۲- فاکتورهای فیزیکی-شیمیایی آب محیط پرورش ماهی کپور معمولی در سیستم بایوفلاک (میانگین \pm انحراف معیار)

NZ3 (۲۰۰ نانوزئولیت)	NZ2 (۱۰۰ نانوزئولیت)	NZ1 (۵۰ نانوزئولیت)	شاهد (بدون نانوزئولیت)	
۲۶/۲۴ \pm ۰/۱۸	۲۶/۱۰ \pm ۰/۲۹	۲۶/۲۰ \pm ۰/۲۶	۲۶/۰۳ \pm ۰/۴۶	درجه حرارت (سانتیگراد)
۶/۹۰ \pm ۰/۲۶	۶/۸۰ \pm ۰/۲۷	۶/۸۴ \pm ۰/۲۲	۶/۹۰ \pm ۰/۱۸	اکسیژن (میلی‌گرم در لیتر)
۰/۴۱ \pm ۰/۰۰۲	۰/۴۱ \pm ۰/۰۰۳	۰/۴۱ \pm ۰/۰۰۷	۰/۴۲ \pm ۰/۰۰۲	شوری (گرم در لیتر)
۷/۵۳ \pm ۰/۱۰	۷/۵۵ \pm ۰/۱۰	۷/۵۶ \pm ۰/۱۹	۷/۴۶ \pm ۰/۰۸	پی‌اچ
۸۴۱/۶۷ \pm ۲۰/۳۳	۸۴۵/۳۳ \pm ۲۷/۰۲	۸۳۸/۸۰ \pm ۱۹/۷۳	۸۳۹/۶۷ \pm ۱۸/۶۲	هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتیمتر)
۴۱۵/۳۳ \pm ۱۵/۰۸	۴۱۴/۹۳ \pm ۱۵/۱۵	۴۱۲/۴۰ \pm ۱۵/۳۳	۴۱۷/۹۳ \pm ۱۴/۱۵	کل مواد جامد محلول (میلی‌گرم در لیتر)
۳۳۸/۶۷ \pm ۸/۰۱	۳۲۰/۲۵ \pm ۸/۸۸	۳۳۰/۲۰ \pm ۷/۰۱	۳۳۶/۴۰ \pm ۱۲/۵۹	قلیائیت (میلی‌گرم در لیتر کربنات کلسیم)
۰/۲۹ \pm ۰/۰۹	۰/۲۸ \pm ۰/۰۹	۰/۲۹ \pm ۰/۱۰	۰/۲۸ \pm ۰/۰۹	فسفات (میلی‌گرم در لیتر)
۱۶/۷۰ \pm ۲/۵۲	۱۴/۰۰ \pm ۱/۱۱	۱۳/۸۰ \pm ۲/۹۸	۱۵/۵۸ \pm ۱/۶۶	حجم فلاک (میلی‌گرم در لیتر)

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار ($P < 0.05$) می‌باشد.



شکل ۲- غلظت آمونیاک کل و نیترات محیط پرورش ماهی کپور در سیستم بایوفلاک

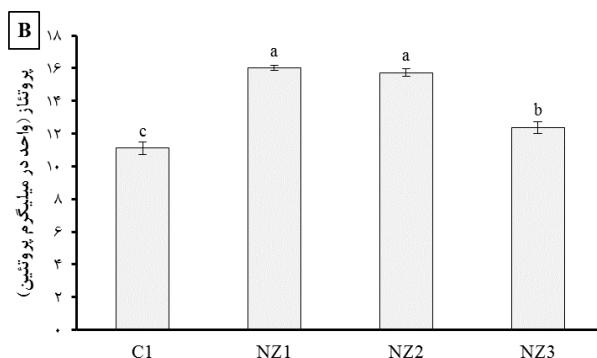
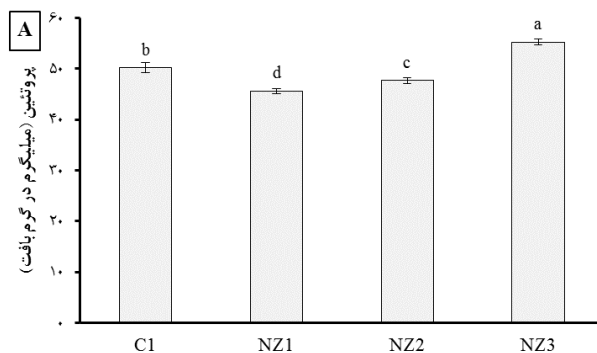
تیمارهای شاهد بدون نانوزئولیت (C)، تیمارهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم نانوزئولیت در کیلوگرم جیره غذایی در سیستم بایوفلاک بترتیب (NZ1، NZ2 و NZ3)

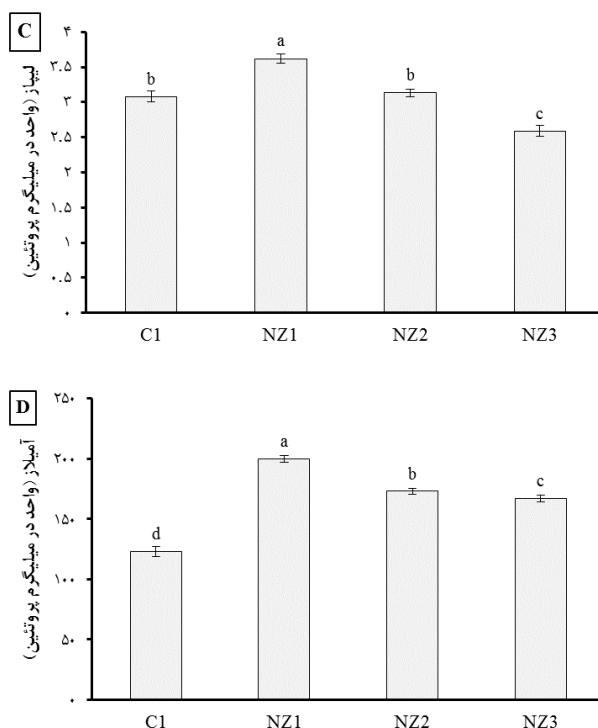
نتایج آنالیز واریانس یکطرفه بر عملکرد رشد و تغذیه ماهی کپور تغذیه شده با سطوح مختلف نانوزئولیت در سیستم بایوفلاک در جدول ۳ آورده شده است. وزن اولیه بین تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف آماری نداشت. پایان دوره تغذیه با نانوزئولیت در محیط بایوفلاک بیشترین وزن نهایی، افزایش وزن و درصد افزایش وزن در تیمار NZ1 و کمترین مقدار این فاکتورها در تیمار شاهد بدست آمد. نرخ رشد ویژه و ضریب چاقی در تیمار NZ1 افزایش معنی‌دار آماری در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی داشت. کمترین و بیشترین مقدار ضریب تبدیل غذایی بترتیب در تیمارهای NZ1 و شاهد بدست آمد درحالیکه بین تیمارها NZ2 و NZ3 تفاوت آماری وجود نداشت. بیشترین مقدار کارایی تبدیل غذا و پروتئین در تیمار NZ1 و کمترین آنها در تیمار شاهد مشاهده شد.

جدول ۳- عملکرد تولید ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف نانوزئولیت در سیستم بایوفلاک

تیمارها	شاهد (بدون نانوزئولیت)	NZ1 (۵۰ نانوزئولیت)	NZ2 (۱۰۰ نانوزئولیت)	NZ3 (۲۰۰ نانوزئولیت)
وزن اولیه (گرم)	۷/۹۱ ± ۰/۴۳	۷/۹۶ ± ۰/۳۳	۸/۰۴ ± ۰/۳۵	۸/۰۸ ± ۰/۳۶
وزن نهایی (گرم)	۱۶/۰۵ ± ۱/۴۰ ^c	۱۸/۴۵ ± ۱/۴۳ ^a	۱۶/۸۲ ± ۱/۱۹ ^b	۱۶/۵۹ ± ۱/۱۸ ^{bc}
افزایش وزن (گرم)	۸/۱۴ ± ۱/۴۰ ^c	۱۰/۴۸ ± ۱/۵۳ ^a	۸/۷۷ ± ۲/۲۳ ^b	۸/۵۰ ± ۱/۲۶ ^{bc}
درصد افزایش وزن	۱۰۳/۳۴ ± ۱۹/۶۹ ^b	۱۳۲/۱۰ ± ۲۱/۹۸ ^a	۱۰۹/۴۸ ± ۱۷/۰۹ ^b	۱۰۵/۶۸ ± ۱۸/۲۱ ^b
نرخ رشد ویژه (درصد/روز)	۱/۱۷ ± ۰/۱۵ ^b	۱/۳۹ ± ۰/۱۵ ^a	۱/۲۲ ± ۰/۱۳ ^b	۱/۱۹ ± ۰/۱۴ ^b
ضریب چاقی	۱/۳۶ ± ۰/۲۶ ^b	۱/۵۳ ± ۰/۲۹ ^a	۱/۴۹ ± ۰/۳۰ ^{ab}	۱/۴۳ ± ۰/۲۷ ^{ab}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۷۹ ± ۰/۲۹ ^a	۱/۳۸ ± ۰/۲۱ ^c	۱/۶۳ ± ۰/۲۲ ^b	۱/۶۸ ± ۰/۲۴ ^b
کارایی تبدیل غذا	۵۷/۲۲ ± ۱۰/۰۳ ^c	۷۳/۷۶ ± ۱۰/۷۵ ^a	۶۲/۴۵ ± ۸/۶۲ ^b	۶۰/۵۶ ± ۸/۹۶ ^{bc}
کارایی تبدیل پروتئین	۱/۵۰ ± ۰/۲۶ ^c	۱/۹۴ ± ۰/۲۸ ^a	۱/۶۴ ± ۰/۲۲ ^b	۱/۵۹ ± ۰/۲۳ ^{bc}

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ($p < 0.05$).





شکل ۳- ترشحات آنزیم‌های گوارشی ماهی کپور تغذیه شده با سطوح مختلف نانوزئولیت در محیط بایوفلاک

آنالیز آنزیم‌های گوارشی همچون پروتئاز، آمیلاز و لیپاز در شکل ۳ نشان داده شده است. مقدار پروتئین کل بین تیمارها اختلاف آماری معنی‌دار داشت بطوریکه بیشترین و کمترین آن بترتیب در تیمارهای NZ2 و NZ3 بدست آمد. مقدار پروتئاز بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری داشت، بیشترین مقدار پروتئاز در تیمارهای NZ1 و NZ2 بدست آمد. مقدار لیپاز در تیمار NZ1 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی اختلاف آماری معنی‌دار داشت. مقدار آمیلاز در تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف نانوزئولیت اختلاف آماری معنی‌دار داشت بطوریکه بیشترین و کمترین آن بترتیب در تیمارهای NZ1 و NZ3 مشاهده شد.

آنالیز فاکتورهای ایمنی ماهی کپور تغذیه شده با سطوح مختلف نانوزئولیت در محیط بایوفلاک در جدول ۴ آورده شده است. فعالیت لیزوزیم در تیمار NZ2 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی بیشترین مقدار داشت. سطح ایمونوگلوبولین کل سرم خون در تیمارهای NZ1 و NZ2 نسبت به دیگر تیمارهای تغذیه‌ای با نانوذرات زئولیت به بالاترین سطح خود رسید. غلظت کمپلمان بین تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف آماری داشتند، بطوریکه بیشترین مقدار آن در تیمارهای NZ1 و NZ3 در مقایسه با تیمار شاهد بدست آمد. مقدار گلوکز و پروتئین سرم خون در تیمار NZ1 در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌دار آماری داشت. غلظت آنزیم‌های کبدی همچون آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در تیمار شاهد در مقایسه با دیگر تیمارهای تغذیه‌ای با نانوزئولیت در محیط بایوفلاک افزایش معنی‌دار آماری داشت.

جدول ۴- پاسخ ایمنی سرم خون ماهی کپور تغذیه شده با سطوح مختلف نانوزئولیت در محیط بایوفلاک

تیمارها	شاهد (بدون نانوزئولیت)	NZ1 (۵۰ نانوزئولیت)	NZ2 (۱۰۰ نانوزئولیت)	NZ3 (۲۰۰ نانوزئولیت)
فعالیت لیزوزیم (واحد/میلی-لیتر/دقیقه)	۲۶/۰۸ ± ۰/۴۵ ^c	۲۸/۹۶ ± ۰/۳۳ ^b	۳۱/۱۴ ± ۰/۳۳ ^a	۲۵/۴۳ ± ۰/۴۴ ^c
ایمونوگلوبولین کل (میلی گرم/میلی لیتر)	۱۱/۷۵ ± ۰/۱۲ ^c	۱۳/۹۹ ± ۰/۵۰ ^a	۱۳/۶۰ ± ۰/۱۳ ^a	۱۲/۶۶ ± ۰/۱۴ ^b
کمپلمان ۵۰ (واحد/میلی لیتر)	۱۳۵/۴۶ ± ۲/۷۱ ^c	۱۴۲/۰۷ ± ۱/۱۵ ^a	۱۳۸/۶۴ ± ۲/۵۶ ^{ab}	۱۴۱/۲۰ ± ۲/۷۰ ^a
گلوکز (میلی گرم/دسی لیتر)	۹۶/۶۰ ± ۱/۵۰ ^c	۱۱۸/۵۶ ± ۱/۵۲ ^a	۸۵/۴۵ ± ۳/۲۰ ^d	۱۰۷/۳۴ ± ۲/۹۸ ^b
پروتئین کل (گرم/دسی لیتر)	۲/۱۲ ± ۰/۰۸ ^c	۲/۷۱ ± ۰/۰۳ ^a	۲/۴۹ ± ۰/۰۸ ^b	۲/۳۹ ± ۰/۰۴ ^b
آلبومین (گرم/دسی لیتر)	۰/۹۳ ± ۰/۰۱۰ ^c	۰/۹۷ ± ۰/۰۱۰ ^c	۱/۱۶ ± ۰/۰۱۷ ^a	۱/۰۹ ± ۰/۰۰۶ ^b
آسیارات آمینوترانسفراز (واحد/لیتر)	۲۴۴/۷۴ ± ۵/۵۸ ^a	۱۱۱/۰۵ ± ۳/۸۵ ^c	۱۵۵/۲۵ ± ۴/۹۷ ^b	۱۰۰/۹۴ ± ۳/۸۲ ^d
آلانین آمینوترانسفراز (واحد/لیتر)	۴۰/۶۷ ± ۱/۶۲ ^a	۲۸/۴۱ ± ۱/۳۳ ^c	۳۴/۶۹ ± ۱/۴۵ ^b	۳۷/۲۸ ± ۱/۸۸ ^b
آلکالین فسفاتاز (واحد/لیتر)	۲۴۶/۲۷ ± ۵/۷۸ ^a	۱۸۹/۸۵ ± ۵/۱۱ ^d	۲۰۴/۶۵ ± ۸/۷۶ ^c	۲۲۷/۲۲ ± ۳/۱۴ ^b

بحث

بایوفلاک یک فناوری دوستدار محیط زیست است و روشی برای دستیابی به آبرزی پروری پایدار می باشد که در آن بازیافت مداوم و استفاده مجدد از مواد مغذی انجام می‌گردد [۳۶، ۳۷]. در این محیط با تنظیم نسبت کربن به ازت از طریق افزودن منابع کربنی با قابلیت جذب بالا توسط باکتری‌های هتروتروف می‌توان در تولید بایوفلاک در زمان کمتر کمک نمود [۳۸]، از اینرو با فعال شدن باکتری‌های هتروتروفی مانند باکتری‌های نیتروفایر در محیط بایوفلاک تبدیل آمونیاک به نیترات تسریع یافته و وضعیت کیفی آب بهبود پیدا می‌کند [۳۹]. علاوه بر این، گزارشات نشان می‌دهد که زئولیت‌ها از جمله مواد معدنی افزایش‌دهنده‌ی کیفیت آب محسوب می‌شوند که میل ترکیبی بالایی با آمونیاک دارد [۴۰]. در این پژوهش از نانوذرات زئولیت با خاصیت خوراکی و زیست‌سازگار در جیره غذایی ماهی کپور معمولی به‌منظور کاهش ترشحات آمونیاک ماهی در محیط آب استفاده شد. نتایج بدست آمده از سنجش پارامترهای آب نشان داد که بین تیمارهای تغذیه‌ای با نانوزئولیت در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت، بنابراین در پژوهش حاضر نانوزئولیت در جیره غذایی نتوانست باعث کاهش آمونیاک کل در سیستم بایوفلاک در مقایسه با تیمار شاهد بدون نانوزئولیت شود. گزارش شده که بکارگیری ۱ و ۲ درصد زئولیت در جیره غذایی ماهی تیلاپیا (*Tilapia zillii*) باعث کاهش آمونیاک کل در محدوده ۰/۳۴ و ۰/۳۶ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با تیمار شاهد بدون زئولیت به‌میزان ۰/۳۹ میلی‌گرم در لیتر گردید [۴۱].

که با مطالعه ما در تضاد بود. نوسانات آمونیاک کل (TAN) در طول دوره پرورش ماهی کپور در سیستم بایوفلاک ممکن است بدلیل تجزیه زیست توده فلاک حاوی نیتروژن و آزاد شدن نیتروژن در آب به شکل نیترات باشد [۴۲].

توده‌های فلاک با دارا بودن اسیدهای آمینه ضروری، اسیدهای چرب غیر اشباع، ویتامین‌ها و مواد معدنی به‌عنوان منبع غذایی قابل دسترس برای آبی محسوب می‌شود [۳، ۲]. که می‌تواند بطور مداوم در حدود ۲۰ تا ۳۰ درصد بجای غذای تجاری در سیستم پرورش جایگزین شده [۴۴، ۴۳، ۲۷] و باعث تحریک فعالیت آنزیم‌های گوارشی و بهبود هضم مواد مغذی در روده ماهی شود [۴۵، ۲۷]. در سال‌های اخیر گزارشات متعددی در خصوص اثرات مثبت بکارگیری سیستم‌های بایوفلاک بر عملکرد رشد، تغذیه و همچنین ترشحات آنزیم‌های گوارشی ماهی کپور معمولی منتشر شده است [۴۸، ۴۷، ۴۶، ۱۱، ۶]. در مطالعه حاضر سطوح مختلف نانوزئولیت در جیره غذایی ماهی پرورش یافته در محیط بایوفلاک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که، بهترین عملکرد رشد و تغذیه در تیمار حاوی ۵۰ میلی‌گرم نانوزئولیت در کیلوگرم غذای پایه (NZ1) در مقایسه با تیمار شاهد بدست آمد. بیشترین مقدار غلظت آنزیم گوارشی پروتئاز در تیمارهای NZ1 و NZ2 با مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم نانوزئولیت در یک کیلوگرم غذای پایه بدست آمد. زئولیت با افزایش جذب مواد غذایی در دستگاه گوارش و افزایش راندمان مصرف مواد مغذی، می‌تواند به طور غیرمستقیم سبب افزایش رشد و بقای جاندار آبی شود [۴۹]. در تحقیقی بکارگیری ۶ درصد زئولیت در جیره غذایی ماهی کپور باعث بهبود رشد و بازماندگی شد [۲۱]. درحالیکه در مقابل گزارش شده است که مصرف خوراکی نانوزئولیت بر شاخص‌های رشد و بازماندگی قزل‌آلای رنگین کمان بیانگر این مسئله است که عدم مصرف چنین ترکیب نانو تکنولوژیکی در جیره غذایی بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مطلوب است [۵۰]. نانوذرات بدلیل بالا بودن نسبت سطح به حجم دارای اثرگذاری بیشتری بر سلول‌های بدن دارند و بسته به مقدار مصرف می‌تواند باعث برهمکنش در سلول‌های مختلف بدن شود [۷] از اینرو در این مطالعه افزایش مقادیر ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم نانوزئولیت در کیلوگرم غذا نتوانست باعث افزایش راندمان تولید ماهی کپور معمولی در سیستم بایوفلاک شود. در مطالعه‌ای گزارش شد که استفاده از ۵ و ۱۰ گرم نانوزئولیت در کیلوگرم غذا حاوی آفلاتوکسین منجر به بهبود رشد و ترشحات آنزیم گوارشی در مقایسه با تیمار شاهد بدون نانوزئولیت در ماهی تیلاپیای نیل شد [۲۲]. همچنین بکارگیری سطوح مختلف ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ گرم زئولیت در جیره غذایی ماهی شانک سرطلایی (*Sparus aurata*) باعث افزایش معنی‌دار وزن نهایی، نرخ رشد ویژه، کارایی تبدیلی غذا و بهبود کارایی تبدیلی پروتئین شد [۵۱].

محیط بایوفلاک منبع غنی از ترکیبات فعال زیستی مانند کلروفیل‌ها، کاروتنوئیدها، فیتوستول‌ها، بروموفنل‌ها، قندهای آمینو [۵۲] و ترکیبات ضد باکتری [۱] است که اثرات مثبتی روی پارامترهای ایمنی دارد. گزارش شده است که برخی از ترکیبات فعال زیستی در بایوفلاک قادر به بهبود وضعیت سلامت فیزیولوژیک موجودات پرورشی می‌باشد و ممکن است به‌عنوان محرک کننده ایمنی عمل کند [۵۳]. علاوه بر این زئولیت به‌عنوان بهبوددهنده سیستم ایمنی برای مهار سمیت مواد همچون آفلاتوکسین در جیره غذایی و پیشگیری از بیماری مایکوتوکسیکوز ماهی تیلاپیای نیل [۲۳، ۲۲]، کاهش‌دهنده سمیت سرب و آمونیاک در محیط پرورش ماهی تیلاپیای نیل [۲۵، ۲۴] و کنترل باکتری یرسینا روکری (*Yersinia ruckeri*) در مخزن پرورش ماهی [۱۸] بکار گرفته شده است. خون به‌عنوان بافتی سیال از مهمترین مایعات زیستی بدن موجودات زنده است که ترکیبات آن تحت تاثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک دست‌خوش نوسانات می‌گردد، لذا بررسی چگونگی تغییرات پارامترهای خونی همواره از ابزارهای مهم برای تشخیص سلامت آبیان است [۵۴]. در مطالعه حاضر از سطوح مختلف نانوزئولیت در جیره غذایی به‌منظور کاهش ترشحات آمونیاکی دفعی از بدن ماهی در راستای تقویت شرایط فیزیولوژیکی سیستم ایمنی استفاده شد. بر اساس گزارشات منتشر شده استفاده از ۴ و ۶ درصد زئولیت در

جیره غذایی باعث افزایش رشد، بهبود فاکتورهای بیوشیمیایی خون و پاسخ ایمنی و افزایش مقاومت در برابر قارچ آفانومیسیس اینوایدانس (*Aphanomyces invadans*) در ماهی *Channa striatus* می‌شود^[۵۵]. همچنین در پژوهش اثرات ۴ گرم بر کیلوگرم زئولیت در جیره غذایی ماهی کوی انگشت‌قد بطور معنی‌داری باعث افزایش ایمونوگلوبین شد^[۵۶]، که با تحقیق ما همسو بود. بطور کلی نتایج نشان داد که استفاده از ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوزئولیت در جیره غذایی ماهی کپور معمولی در سیستم بایوفلاک می‌تواند منجر به بهبود عملکرد رشد و تغذیه، ترشحات آنزیم‌های گوارشی و ایمنی در مقایسه با تیمار شاهد بدون استفاده از نانوزئولیت شود درحالی‌که نانوزئولیت نتوانست بر کیفیت آب بویژه غلظت آمونیاک آب تاثیر معنی‌دار داشته باشد.

منابع

- Crab R, Chielens B, Wille M, Bossier P, Verstraete W. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquaculture Research*. 2010; 41(4): 559-567.
- De Schryver P, Crab R, Defoirdt T, Boon N, Verstraete W. The basics of bioflocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture*. 2008; 277: 125-137.
- Azim ME, Little DC. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*. 2008; 283(1-4): 29-35.
- Avnimelech Y.. Biofloc technology. A practical guide book. The World Aquaculture Society, Baton Rouge. 2009; 182.
- McIntosh D, Samocha TM, Jones ER, Lawrence AL, McKee DA, Horowitz S, Horowitz A. The effect of a bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with low-protein diet in outdoor tank system and no water exchange. *Aquacultural Engineering*. 2000; 21:215-227.
- Adineh H, Naderi M, Hamidi MK, Harsij M. Biofloc technology improves growth, innate immune responses, oxidative status, and resistance to acute stress in common carp (*Cyprinus carpio*) under high stocking density. *Fish and shellfish immunology*. 2019; 95: 440-448.
- Miller G, Senjen R. Nanotechnology used for food packaging and food contact materials. *Nanotechnology in food and Agriculture*. 2008; 2: 14-68.
- Papaioannou D, Katsoulos PD, Panousis N, Karatzias H. The role of natural and synthetic zeolites as feed additives on the prevention and/or the treatment of certain farm animal diseases: A review. *Microporous and mesoporous materials*. 2005; 84(1-3); 161-170.
- Papaioannou DS, Kyriakis SC, Papasteriadis A, Roubies N, Yannakopoulos A, Alexopoulos C. Effect of in-feed inclusion of a natural zeolite (clinoptilolite) on certain vitamin, macro and trace element concentrations in the blood, liver and kidney tissues of sows. *Research in veterinary science*. 2002; 72(1): 61-68.
- Auerbach SM, Carrado KA, Dutta PK. Handbook of zeolite science and technology, CRC press. 2003.
- Adineh H, Jafaryan H, Khademi Hamidi M, Karimtabar FZ, Sedaghat Z. The effects of reducing the feeding rates on growth and feed performance, blood biochemical parameters, and water quality in bio-floc common carp (*Cyprinus carpio*) culture and clean systems. *Journal of Fisheries*. 2021; 74(3): 453-466.
- Mahmoudi Khoshdareghi M. Haji Moradloo A, Dastar B. Determining the appropriate level of protein in diet of *Cyprinus carpio* fry based on some parameters of growth, blood and serum biochemistry in biofloc system. *Journal of Applied Ichthyological Research*. 2019; 7(1): 61-84.
- Khademi Hamidi M, Adineh H, Harsij M, Gholipour Kanani H. Effects of adding molasses in water and diet of common carp on growth, blood biochemical indices, digestive enzymes and water quality in a biofloc system. *Aquatic Animals Nutrition*. 2019; 5(1): 25-34.
- Karimtabar FZ, Jafaryan H, Adineh H. The effect of commercial probiotics addition in biofloc system: Water quality, feed and growth performance and body composition of Common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Sciences*. 2020; 141-151.
- Van Doan H, Lumsangkul C, Hoseinifar SH, Harikrishnan R, Balasundaram C, Jaturasitha S. Effects of coffee silverskin on growth performance, immune response, and disease resistance of Nile tilapia culture under biofloc system. *Aquaculture*. 2021; 736995.
- Van Doan H, Hoseinifar SH, Naraballoh W, Jaturasitha S, Tongsi S, Chitmanat C, Ringø E. Dietary inclusion of Orange peels derived pectin and *Lactobacillus plantarum* for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured under indoor biofloc systems. *Aquaculture*. 2019; 508: 98-105.
- Dinda R, Mandal A, Das SK. Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) supplemented biofloc medium as alternative feed in common carp (*Cyprinus carpio* var. *communis* Linnaeus) culture. *Journal of Applied Aquaculture*. 2020; 32(4): 361-379.

18. Alishiri Joonaghani M, Mirvaghefi A, Rezaei Tavabe K. Using the Polyethylenimine Polymer (PEI) -Coated Zeolite (Clinoptilolite) to control *Yersinia ruckeri* in fish tank. Journal of Fisheries. 2020; 73(3): 395-406.
19. Baratizadeh S, Peyghan R, Razijalali M. Combined effect of filtration method (carbon, zeolite and simple filtration) and stock density of Macro (*Labidochromis caeruleus*) on growth and nitrogenous compounds of water. Iranian Veterinary Journal. 2017; 13(3): 15-23.
20. Faridi Kalourazi M, Falahatkar B, Alinezhad S, Davoodi D. Effects of Zeolite Nano-Structure on Experimental Chronic Toxicity of Aflatoxin B1 in the Diet of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mkiss*) and Evaluation of Growth and Physiological Indices. Journal of Fisheries. 2016; 69(1): 101-114.
21. Mohammadnejad Shamushki M, Mir Aghazadeh S. The Effect of Zeolite on Growth Factors and Survival of *Cyprinus carpio* (*Cyprinus carpio*). Journal of Animal Biology. 2011; 4(1): 69-74.
22. Hassaan MS, Nssar KM, Mohammady EY, Amin A, Tayel SI, El-Haroun ER. Nano-zeolite efficiency to mitigate the aflatoxin B1 (AFB1) toxicity: Effects on growth, digestive enzymes, antioxidant, DNA damage and bioaccumulation of AFB1 residues in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture. 2020; 523: 735123.
23. Zahran E, Risha E, Hamed M, Ibrahim T, Palić D.. Dietary mycotoxicosis prevention with modified zeolite (Clinoptilolite) feed additive in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture. 2020; 515: 734562.
24. Abbas WT, Ali SE, Melegy AA, Gamil AA. Fish diet supplemented with Yemeni Zeolite improves growth performance and reduces lead toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture Research. 2021; 52(12), 6678-6688.
25. Hong KB, Jani M, Zain RAMM, Fauzi NM. Effect of stocking density on the growth performance of red tilapia in zeolite supplemented closed system. Jurnal Teknologi. 2021; 83(5): 85-92.
26. M Shalaby A, K Khames M, Fathy A, A Gharieb A, A Abdel-Hamid E. The Impact of Zeolite on Ammonia Toxicity, Growth Performance and Physiological Status of the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries. 2021; 25(1): 643-663.
27. Najdegerami EH, Bakhshi F, Lakani FB. Effects of biofloc on growth performance, digestive enzyme activities and liver histology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings in zero-water exchange system. Fish Physiology and Biochemistry. 2016; 42(2): 457-465.
28. Xu WJ, Pan LQ. Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. Aquaculture. 2013; 412: 117-124.
29. American Public Health Association (APHA). In: Clescert, L., Greenberg, A., Eaton, A. (Eds.), Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th edition. Washington, USA. 1998.
30. Cahu CL, Zambonino-Infante JL, Quazuguel P, Le Gall MM. Protein hydrolysate vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. Aquaculture. 1999; 171:109- 119.
31. Rungruangsak-Torrissen K, Rustad A, Sunde J, Eiane SA, Jensen HB, Opstvedt J, Nygard E, Samuelsen TA, Mundheim H, Luzzana U. In vitro digestibility based on fish crude enzyme extract for prediction of feed quality in growth trials. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2002; 82: 644-654.
32. Worthington CC. Worthington Enzyme Manual. Enzymes and related Biochemicals Worthington Chemical. New Jersey. USA. 730 P. 1993.
33. Iijima N, Tanaka S, Ota Y. Purification and characterization of bile salt activated Lipase from the hepatopancreas of red sea bream (*Pagrus major*). Journal of Fish Physiology and Biochemistry. 1998; 18: 59-69.
34. Ellis A.E. Lysozyme assays. In: Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, Robertson BS, Van Muiswinkel. publication. pp. 101-103.W.B. (eds.). Techniques in Fish Immunology. Fair Haven, NJ, USA: SOS. 1990.
35. Sunyer JO, Tort L. Natural hemolytic and bactericidal activities of sea bream *Sparus aurata* serum are affected by the alternative complement pathway. Veterinary Immunology and Immunopathology. 1995; 45: 333-345.
36. Avnimelech Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. Aquaculture. 2007; 264: 140-147.
37. Kuhn DD, Boardman GD, Lawrence AL, Marsh L, Flick Jr, GJ. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. Aquaculture. 2009; 296: 51-57.
38. Hargreaves JA. Biofloc production systems for aquaculture (Vol. 4503, pp. 1-11). Stoneville, MS: Southern Regional Aquaculture Center. 2013.
39. Schneider O, Sereti V, Eding EH, Verreth JAJ. Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. Aquaculture Engineering. 2005; 32: 379-401.
40. Li M, Zhu X, Zhu F, Ren G, Cao G, Song L. Application of modified zeolite for ammonium removal from drinking water. Desalination. 2011; 271(1-3): 295-300.
41. Yıldırım Ö, Türker A, Şenel B. 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. 2009; 18(9): 1567-1571.
42. Luo G, Wang C, Liu W, Sun D, Li L, Tan H. Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. Aquaculture. 2014; 422-423: 1-7.

43. Adineh H, Harsij M. Effect of different levels of biofloc on water quality, growth performance and survival of *Litopenaeus vannamei* post larvae. Journal of Veterinary Research. 2018; 73(4): 393-401.
44. Panjaitan P. Field and laboratory study of *Penaeus monodon* culture with zero water exchange and limited water exchange model using molasses as a carbon source. Ph.D. Thesis, Charles Darwin Univ., Darwin, NT, Australia. 2004.
45. Liu G, Ye Z, Liu D, Zhao J, Sivaramasamy E, Deng Y, Zhu S. Influence of stocking density on growth, digestive enzyme activities, immune responses, antioxidant of *Oreochromis niloticus* fingerlings in biofloc systems. Fish & shellfish immunology. 2018; 81: 416-422.
46. Bakhshi F, Najdegerami EH, Manaffar R, Tukmechi A, Farah KR. Use of different carbon sources for the biofloc system during the grow-out culture of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. Aquaculture. 2018; 484: 259-267.
47. Minabi K, Sourinejad I, Alizadeh M, Ghatrami ER, Khanjani MH. Effects of different carbon to nitrogen ratios in the biofloc system on water quality, growth, and body composition of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. Aquaculture International. 2020; 28(5): 1883-1898.
48. Abiri SA, Chitsaz H, Najdegerami EH, Akrami R, Jalali AS. Influence of wheat and rice bran fermentation on water quality, growth performance, and health status of Common carp (*Cyprinus carpio* L.) juveniles in a biofloc-based system. Aquaculture. 2022; 555: 738168.
49. Faridi Kalourazi M, Falahatkar B, Alinezhad S, Davoodi D. Effects of Zeolite Nano-Structure on Experimental Chronic Toxicity of Aflatoxin B1 in the Diet of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Evaluation of Growth and Physiological Indices. Journal of Fisheries. 2016; 69(1): 101-114.
50. Mohammadi M, Shamsai Mehrjan M, Abbasi Ghadiklaie H, Afsar A, Soltani A, Rezaei D. The effect of oral administration of nano zeolite on growth and survival indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Aquaculture Development. 2014; 8(2): 55-65.
51. Kanyilmaz M, Tekelioğlu N, Sevgili H, Uysal R, Aksoy A. 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. 2015; 200: 66-75.
52. Ju ZY, Forster I, Conquest L, Dominy W. Enhanced growth effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet. Aquaculture Nutrition. 2008; 14(6): 533-543.
53. Zhao ZG, Xu QY, Luo L, Yin JS, Wang CA. Effect of adding carbon source on growth of fish and water quality in Songpu mirror carp (*Cyprinus specularis Songpu*) pond. Journal of Northeast Agricultural University. 2013; 44: 105-112.
54. Ballarin L, Dall'Oro M, Bertotto D, Libertini A, Francescon A, Barbaro A. Haematological parameters in *Umbrina cirrosa* (Teleostei, Sciaenidae): a comparison between diploid and triploid specimens. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. 2004; 138(1): 45-51.
55. Jawahar S, Nafar A, Vasanth K, Musthafa MS, Arockiaraj J, Balasundaram C, Harikrishnan R. Dietary supplementation of Zeolite on growth performance, immunological role, and disease resistance in *Channa striatus* against *Aphanomyces invadans*. Fish & Shellfish Immunology. 2016; 51: 161-169.
56. Jaleel MA, Musthafa MS, Ali AJ, Mohamed MJ, Kumar MA, Natarajan V, Thiagarajan G. 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. 2015; 4(3): 160-169.

Efficiency of nano-zeolite on water quality, feed and growth performance, digestive enzymes and immunity of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerling in biofloc system

Zeynab Sedaqat, Hossein Adineh, Mohammad Harsij, Mohammad Farhangi

Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Iran.

ABSTRACT

Biofloc technology is considered as a culture system for fish production reduced environmental impacts. In the present study investigated the impact of zeolite nanoparticle on water quality, growth performance, digestive enzymes and immune response of common carp (*Cyprinus carpio*) reared under biofloc conditions. Fish fingerlings (initial weight of 7.99 ± 0.36 g) were divided into four treatments and fed four levels of zeolite nanoparticles in the following 0 (control), 50, 100 and 200 mg kg⁻¹ diet in biofloc system (NZ1, NZ2 and NZ3) for 60 days. Carbon to nitrogen ratio (15:1) was provided using sucrose. Water quality parameters such as nitrogen compounds were measured during the test period. At the end of the experiment, the highest growth indices and the lowest feed conversion ratio were obtained in 50 mg kg⁻¹ diet (NZ1). Intestinal protease activities in NZ1 and NZ2 treatments were significantly higher than in the other treatments, and the highest lipase and amylase activity was related to the NZ1 treatment. The 50 and 100 Zeolite diets in biofloc conditions significantly enhanced fish immune system activity. The present study suggests that dietary supplementation with 50 and 100 mg Zeolite nanoparticles in biofloc system significantly increases growth performance, digestive enzyme, and immunological response in common carp in fish culture tanks.

KEYWORDS: Zeolite nanoparticle, Common carp, Biofloc, Physiology

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 10 May 2022

Accepted: 6 September 2022

ePublished: 11 September 2022

* Corresponding Author:

Email address: adineh.h@gonbad.ac.ir

Tel: +(98) 9112790643

© Published by Tarbiat Modares University