

## ارزیابی اثرات زئولیت بر روی برخی فاکتورهای ایمنی و آنزیمی ماهی کپور دریای مازندران (*Cyprinus arpio*)

\*مهدی یوسفیان<sup>۱</sup>، مسعود هدایتی فرد<sup>۱</sup> و حسن صادقی فرد<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>استادیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائمشهر،

<sup>۲</sup>استادیار گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائمشهر

### چکیده

در این تحقیق نقش زئولیت در بهبود شرایط محیطی و بهبود قدرت ایمنی کپور دریایی *Cyprinus carpio* انجام شد. به این منظور اثر زئولیت با میزان ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر و بدون زئولیت با سه تکرار برای مدت ۶۰ روز بر رشد و برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی و ایمنی ماهی مورد تحقیق قرار گرفت. ماهیان این تحقیق از مرکز تکثیر و پرورش شهید رجایی تأمین گردید. میزان درجه حرارت، هدایت الکتریکی، شوری و سختی کل برای گروه شاهد و تیمار با زئولیت در طول آزمایش تقریباً یکسان بود. میزان یون آمونیوم و آمونیاک شاهد به مراتب بسیار بیشتر از گروه تیمار بوده است. میانگین وزن نهایی (گرم) ماهیانی که در تیمار بالاتر زئولیت قرار داشتند، نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد. این وضعیت در خصوص سایر پارامترهای رشد نیز مشابه بوده است. در این تحقیق بین تیمارهای زئولیت و شاهد برای میانگین مقدار آنزیم لیزوزیم، آلکالین فسفاتاز، کمپلمان C<sub>3</sub>، IgM اختلاف معنی‌داری را نشان داده است. نتایج کلی تحقیق نشان داده است که زئولیت به میزان محسوس آمونیاک استخر و حوضچه‌های پرورشی را کاهش داده و سبب افزایش اکسیژن و کاهش pH می‌شود. در این تحقیق با وجودی که بین تیمارهای زئولیت و شاهد اختلاف وزن وجود داشت، ولی این اختلاف معنی‌دار نبوده است. استفاده از زئولیت بر خصوصیات فیزیولوژیکی و ایمونولوژی ماهی تأثیر داشته و ایمنی ماهیان در شرایط وجود زئولیت افزایش یافته است.

**واژه‌های کلیدی:** آلکالین فسفاتاز، کمپلمان C<sub>3</sub>، IgM، لیزوزیم، ماهی کپور دریایی.

### مقدمه

دریای مازندران از مهم‌ترین دریاچه‌های طبیعی می‌باشد که دارای انواع ماهیان با ارزش اقتصادی و منحصر به فرد است. ماهی کپور دریایی از جمله مهم‌ترین ماهیان دریای مازندران محسوب می‌گردد که به دلیل فعالیت‌های انسانی و تغییر ساختار رودخانه‌ها ذخایر آن کاهش یافته است. به دلیل اهمیت ماهی کپور از بعد اقتصادی، کاهش شدید ذخایر آن و نیز کیفیت مطلوب گوشت و بازارپسندی آن، شرکت سهامی شیلات ایران نسبت به تکثیر و رهاسازی آن اقدام نموده است.

بررسی‌های اولیه در خصوص این ماهی نشان داده که برخلاف ماهی کپور پرورشی در محیط محصور از سرعت رشد بالایی برخوردار نیست (۴). در پرورش ماهی مدیریت استفاده از آب موفقیت تولید مطلوب را برای پرورش‌دهنده به همراه دارد. در بسیاری از موارد افزایش تراکم ناشی از افزایش رشد ماهی، استفاده مجدد از آب برگشتی و افزایش دما شرایط نامناسبی را برای ماهی پرورشی به وجود آورده و تلفات سنگین ماهی را به همراه دارد. یکی از دلایل عمده تلفات در استخرهای پرورش ماهی افزایش گازهای مضر در آب و به خصوص مسمومیت با آمونیاک است.

\*- مسئول مکاتبه: yousefianeco@yahoo.com

به دلیل اهمیتی که مسمومیت بالای آمونیاک در ماهیان دارد تحقیقات زیادی در این رابطه در جهان صورت گرفته است (۱۲). هوادهی و تعویض آب از راه کارهای متداول کاهش آمونیاک آب است ولی در فصل تابستان که آب برای مزارع کشاورزی استفاده می شود، امکان تعویض آب کم می شود، بنابراین استفاده از مواد کاهش دهنده آمونیاک آب در رفع این مشکل عمومی مزارع پرورش ماهی لازم است. در این خصوص استفاده از ژئولیت که کاربردهای فراوانی دارد پیشنهاد گردیده است. ژئولیت می تواند در جابه جایی یون ها، فیلتر کردن آب و حذف گازهای مضر استفاده شود. ژئولیت همچنین برای جذب یون های مضر آب نیز مؤثر واقع شده است.

ژئولیت ها، بلورهای آتشفشانی هیدراته سیلیکات آلومینیوم می باشند که از کاتیون های قلیائی و قلیائی خاکی هستند و ساختمان سه بعدی نامحدود دارند. آنزیمیت با جذب  $H_2S, NH_4$  که غلظت بیش از حد آن در آب برای انواع مختلف آبزیان خطرناک و کشنده می باشد، باعث بهبود کیفیت آب می شود. همچنین آنزیمیت از نوسانات pH آب جلوگیری می نماید. از آنجایی که ژئولیت ها کاربردهای وسیعی در صنایع مختلف دارند، تقاضای مصرف انواع طبیعی و مصنوعی بستگی به خواص فیزیکی و شیمیایی آنها دارد که این خواص خود نیز بستگی مستقیم به ترکیب شیمیایی و ساختمان بلوری آنها دارد (۱۹).

استفاده از فیلترهای ژئولیتی در سیستم پرورش ماهی می تواند جایگزین فیلترهای بیولوژیک گردد. همچنین در سیستم پرورش مدار بسته برای کاهش آمونیاک می توان از کلینوپتیلولیت به همان روش فیلتراسیون استفاده کرد (۶). براساس برخی مطالعات ژئولیت دارای تأثیر مثبتی بر روی بقاء، رشد و افزایش ایمنی ماهیان می شود (۱ و ۵). ژئولیت در پرورش ماهی برای تسهیل تجزیه باکتریایی باقی مانده مواد غذایی و تبدیل آمونیاک به نیتريت و نیترات مؤثر است (۱۶).

علاوه بر ژئولیت طبیعی که در طبیعت وجود دارد، امکان تهیه ژئولیت مصنوعی نیز وجود دارد و در سال های اخیر به دلیل کاربردهای وسیعی که ژئولیت پیدا نموده است، نسبت به تولید ژئولیت مصنوعی نیز اقدام شده است. در تهیه ژئولیت مصنوعی می توان مواد، خلل و فرج و کانال های ژئولیت را انتخاب و برای تبادل یونی ویژه استانداردسازی نمود (۱۵).

در تحقیق حاضر تأثیر ژئولیت بر برخی از شاخص های رشد و نیز شاخص های فیزیولوژیکی و ایمنی در بچه ماهی کپور دریایی مورد بررسی قرار گرفته است.

### مواد و روش ها

مقدمات اجرای این طرح از بهار سال ۱۳۸۷ در مرکز آبی پروری ساری انجام گرفت. ابتدا نسبت به تهیه بچه ماهی به تعداد ۱۰۰۰ قطعه با وزن متوسط ۱۳ گرم اقدام شد. پس از عادت دهی ماهیان به محیط جدید آزمایش اصلی به مدت ۶۰ روز شروع گردید. وزن ماهیان پس از عادت پذیری در بیومتری اولیه انجام شده ۲۲ گرم بوده است. تراکم ماهیان به تعداد ۲۰ عدد ماهی در هر مترمربع استخر در نظر گرفته شد.

آزمایش در یک طرح بلوک کامل تصادفی انجام گرفت. تیمارهای آزمایش بیهوشی ماهیان با استفاده از MS222 به نسبت به ترتیب A, B, C و D با نسبت ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی گرم ژئولیت در هر لیتر آب استخر انجام شد. هر تیمار با سه تکرار و یک گروه شاهد (E) با سه تیمار در نظر گرفته شد که مجموعاً ۱۵ حوضچه فایبرگلاس برای آزمایش اختصاص یافت.

اندازه گیری وزن و طول ماهی هر ۱۵ روز یکبار انجام می شد. به این منظور، ابتدا ماهیان را در یک سطل آب بی هوش نموده و سپس نسبت به اندازه گیری طول استاندارد و وزن ماهی با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اقدام گردید و میانگین وزنی ماهی های تیمارهای مختلف محاسبه گردید.

واریانس یک طرفه استفاده شد. به منظور مقایسه میانگین‌ها از آزمون Duncan استفاده شده و وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اعتماد ( $P=0/05$ ) تعیین گردید.

### نتایج

همان‌طور که در قسمت مواد و روش‌ها اشاره شد بچه‌ماهیان انگشت‌قد کپور وحشی به ۱۵ حوضچه فایرگلاس رهاسازی شدند پس از یک هفته دوره آدپتاسیون استفاده از ژئولیت با اضافه نمودن به آب آغاز شد، در این تحقیق تیمارهای A, B, C, D, E به ترتیب با دوز ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر و تیمار E بدون استفاده از ژئولیت (شاهد) مورد بررسی قرار گرفت. بررسی شاخص‌های رشد در پایان دوره و فاکتورهای فیزیولوژیکی و ایمنی در دو مرحله ۳۰ و ۶۰ روز بعد از آغاز تغذیه صورت گرفت.

تأثیر استفاده از ژئولیت بر میانگین افزایش وزن: نتایج پرورش دو ماهه بچه‌ماهیان کپور (جدول ۱) تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف آزمایشی از نظر وزن انتهایی، افزایش وزن، درصد بازماندگی و میزان رشد ویژه نشان نداد ( $P>0/05$ )، ولی ماهیان تیمار با ژئولیت و به خصوص در تیمارهای ۸۰ تا ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر ژئولیت افزایش و ضریب رشد بیشتری نسبت به شاهد بودند.

تأثیر استفاده از ژئولیت بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب: دو هفته پس از رهاسازی بچه‌ماهیان براساس میزان تیمارهای ۲۰ تا ۱۲۰ میلی‌گرم ژئولیت به استخر اضافه شد و ۲۴ ساعت پس از آن نمونه‌برداری از استخرهای تیمار و استخر شاهد در تاریخ ۸۷/۵/۱۴ انجام گرفت. بررسی تأثیر شیمیایی ژئولیت در آب در شرایط کارگاهی در ونیرو در هفته اول نمونه‌برداری در جدول ۲ نشان داده است. مراحل بعدی نمونه‌برداری که در مقاله مستقلی ارائه شده همین وضعیت را نشان می‌دهد.

صفات مورد بررسی شامل تعیین افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و بررسی شاخص‌های رشد بر اساس امتد Kissil و همکاران (۲۰۰۱) بوده است. علاوه بر آن آنزیم‌های لیزوزیم، آلکالین فسفاتاز، کمپلمان  $C_3$  و  $C_4$  و نیز IgM نیز اندازه‌گیری گردید. برای اندازه‌گیری آنزیم‌های فوق از کیت‌های پارس آزمون استفاده گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لیزوزیم به‌عنوان یکی از شاخص‌های ایمنی ذاتی با استفاده از سرم خون و روش جذب نوری به همراه سنجش کدورت صورت پذیرفت. Fast و همکاران (۲۰۰۲) از روش (Kinetic) به‌منظور تعیین مقادیر آلکالین فسفاتاز استفاده نمودند (۱۱). برای اندازه‌گیری کمپلمان  $C_3$  و  $C_4$ ، در این آزمایش  $C_3$  و  $C_4$  با آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال موجود در محلول تشکیل کمپلکس داده و باعث کدر شدن محلول می‌گردد. میزان کدورت ایجاد شده با مقدار  $C_3$  و  $C_4$  رابطه مستقیم دارد (۱۴ و ۲۲).

IgM نیز همانند کمپلمان‌ها با آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال موجود در محلول تشکیل کمپلکس داده و باعث کدر شدن محلول می‌شود. میزان کدورت ایجاد شده با مقدار IgM رابطه مستقیم دارد (۹). در این تحقیق از دستگاه اتولایزر (Eurolyser) ساخت شرکت هوشمند فناور تهران استفاده گردید.

### آزمایش‌های فیزیکی و شیمیایی آب

بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب رودخانه تجن: آزمایش‌های فیزیکی و شیمیایی آب با بهره‌گیری از روش‌های متداول Standard Method تألیف Clescert و همکاران (۱۹۸۹) انجام شده است. خصوصیات فیزیکوشیمیایی مورد بررسی شامل اندازه‌گیری اکسیژن، هدایت الکتریکی، pH،  $NH_4$ ،  $NH_3$ ،  $H_2S$ ،  $NO_2$ ،  $NO_3$  سختی کل، شوری و درجه حرارت آب بوده است.

روش تحقیق (مدل آماری آزمایش): برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS و از تست آنالیز

جدول ۱- مقایسه میانگین شاخص‌های رشد (M±SD) بچه‌ماهی کپور دریایی پرورش‌یافته در مقادیر مختلف آنزیمیت

تیمار	وزن اولیه	افزایش وزن	درصد افزایش وزن	ضریب رشد ویژه SGR	درصد بازماندگی SQ
A	13/64±2/3	8/42±0/65	61/73±3/7	0/80±0/02	91/7±1/3
B	13/84±1/4	9/13±0/52	62/97±4/5	0/84±0/01	95/30±1/3
C	12/79±0/9	10/67±0/83	83/42±3/3	1/01±0/03	94/20±2/5
D	13/55±0/7	10/30±0/6	76/01±5/4	0/94±0/02	96/07±3/4
E	13/69±1/8	8/14±0/7	59/46±6/1	0/78±0/03	93/7±2/5

جدول ۲- نتایج حاصل از اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب در مقابل نسبت‌های مختلف ژئولیت در فیبر گلاس

گروه	تکرار	درجه حرارت	اکسیژن mg/l	هدایت الکتریکی ms/cm	TDS g/l	pH	سختی کل mg/l	شوری (درصد)	NO <sub>2</sub>	NH <sub>4</sub>	NH <sub>3</sub>	NO <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> S mg/l
A	3	28	7	17/37	8/68	8/14	3800	11/29	0/004	0/001	0/0020	0/12	0/032
B	3	28	7	17/3	8/7	8	4000	11/3	0/004	0/093	0/0079	0/097	0/03
C	3	28	7/7	17/39	8/69	8/8	4200	11/31	0/002	0/082	0/0076	0/105	0/042
D	3	28	7/4	17/39	8/69	8/17	3500	11/31	0/001	0/072	0/0065	0/086	0/032
E	3	28	5/9	17/40	8/7	8/9	3300	11/33	0/038	0/128	0/011	0/089	0/053

آمونیم و آمونیاک در شاهد بیشتر از تیمارها و میزان اکسیژن آن کمتر بوده است. هر چند که این اختلاف بین تیمارهای ژئولیت و شاهد معنی‌دار نیست، ولی تأثیر وجود ژئولیت در استخر را نشان می‌دهد.

#### تأثیر ژئولیت بر فعالیت‌های آنزیمی

اندازه‌گیری آنزیم لیزوزیم: با توجه به جدول ۳ بیشترین میانگین آنزیم لیزوزیم در انتهای دوره مربوط به تیمار C (4/88 میلی‌گرم/میلی‌لیتر) می‌باشد که مقدار 80 میلی‌گرم در لیتر ژئولیت مصرف نموده و تیمار شاهد با مقدار لیزوزیم 2/6 قرار دارد.

متوسط درجه حرارت در زمان اول نمونه‌برداری 28 درجه سانتی‌گراد بوده است. در تمامی تیمارها و گروه شاهد هدایت الکتریکی در دامنه بسیار کم 17/3-17/4 و شوری با اختلاف بسیار جزئی 11/29-11/33 قرار داشت. سختی کل با تفاوت 13 درصدی در تیمار C نسبت به شاهد اندازه‌گیری گردید.

میزان یون آمونیم و آمونیاک شاهد به مراتب بسیار بیشتر از گروه‌های تیمار و اکسیژن در تیمار C و D به میزان 30 درصد بیشتر از شاهد نشان داده است. در مجموع در میان کلیه پارامترهای اندازه‌گیری شده میزان

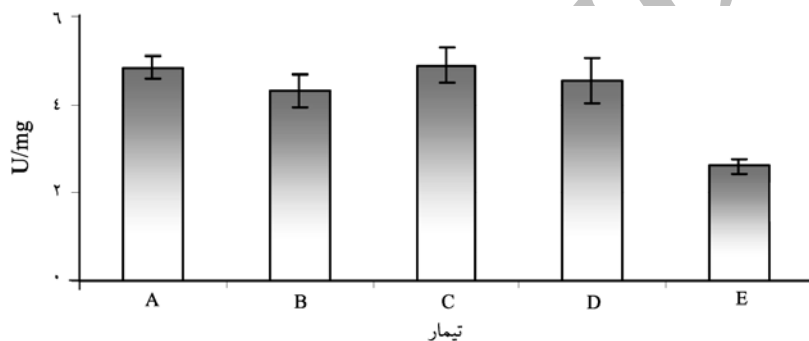
جدول ۳- میانگین مقدار آنزیم لیزوزیم (میلی‌گرم/میلی‌لیتر) بچه‌ماهی کپور وحشی در تیمارهای مختلف در انتهای دوره مصرف ژئولیت

تیمار	مقدار	لیزوزیم (±SD)
A	20 میلی‌گرم در لیتر	4/85±0/24*
B	40 میلی‌گرم در لیتر	4/33±0/37*
C	80 میلی‌گرم در لیتر	4/88±0/42*
D	120 میلی‌گرم در لیتر	4/55±0/25*
E	شاهد یا کنترل	2/6±0/16

اندازه‌گیری آنزیم آلکالین فسفاتاز: میزان فعالیت این آنزیم دو بار در طی دوره پرورش اندازه‌گیری شد. میانگین مقدار آلکالین فسفاتاز یک ماه پس از آغاز پرورش در محیط ژئولیت اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف و با شاهد نشان نمی‌دهد ( $P > 0/05$ )، ولی دو ماه پس از آغاز پرورش بین تیمار C با شاهد اختلاف دارد ( $P < 0/05$ ).

در نتیجه ژئولیت موجب افزایش آلکالین فسفاتاز در گروه تیمار ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر بوده است (شکل ۲).

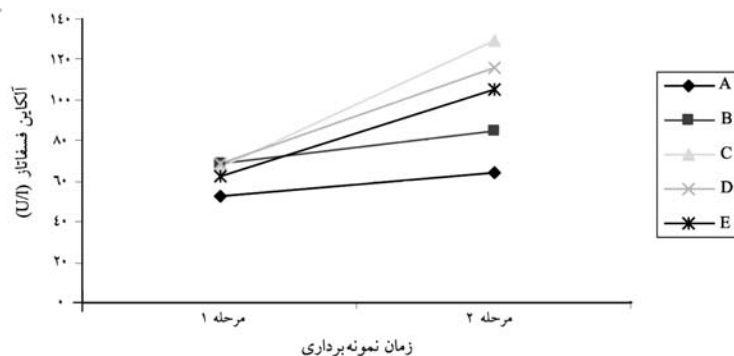
مطالعات آماری حاکی از اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای A، B، C، D با تیمار شاهد در سطح خطای ۵ درصد می‌باشد ( $P < 0/05$ ) می‌باشد. این مطالعات عدم اختلاف آماری در سطح ۵ درصد را بین تیمارهای A، B، C و D نشان می‌دهد ( $P < 0/05$ ). با توجه به جدول ۳ در اثر استفاده از ژئولیت میزان لیزوزیم در سرم خون ماهی بالا می‌رود و در دوز ۸۰ میلی‌گرم در لیتر در حد بالاتری قرار دارد (شکل ۱). آنزیم‌هایی مانند لیزوزیم و آلکالین فسفاتاز داخل موکوس قرار دارند و نقش مهمی را در ایمنی ذاتی ایفاء می‌نمایند.



شکل ۱- نمودار میانگین مقدار آنزیم لیزوزیم در بچه‌ماهی کپور دریای مازندران

جدول ۴- میانگین مقدار آنزیم آلکالین فسفاتاز ( $\mu/L$ ) بچه‌ماهیان کپور وحشی تیمارهای مختلف

تیمار	مقدار	ALP مرحله اول	ALP مرحله دوم
A	۲۰ میلی‌گرم در لیتر	۵۲/۷±۳/۴	۶۳/۸±۱۲/۷
B	۴۰ میلی‌گرم در لیتر	۶۸/۵±۱/۳	۸۴/۷±۱۶/۴
C	۸۰ میلی‌گرم در لیتر	۶۷/۳±۱۴/۲	۱۲۹±۳۰/۷۵*
D	۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر	۶۸/۷±۱۱/۵	۱۱۶/۶±۱۲/۷
E	شاهد یا کنترل	۶۲/۲۰±۴/۳	۱۰۵/۱۶±۱۸/۵۸



شکل ۲- نمودار تغییرات آلکالین فسفاتاز در سرم ماهی کپور دریای مازندران

اندازه‌گیری مقدار  $C_3$ : میزان فعالیت کمپلمان  $C_3$  دو بار در طی دوره پرورش اندازه‌گیری شد.

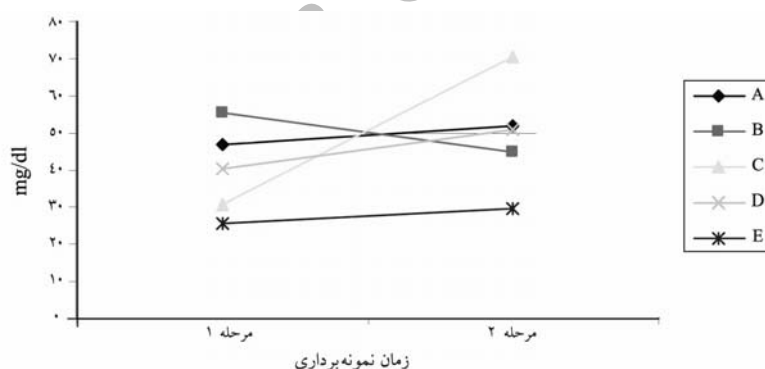
میانگین مقدار کمپلمان  $C_3$  یک ماه پس از آغاز استفاده از زئولیت اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف و با شاهد در سطح خطای ۵ درصد نشان نمی‌دهد ( $P > 0.05$ ) ولی دو ماه پس از آغاز پرورش مطالعات آماری حاکی از اختلاف معنی‌دار تیمار  $C$  و  $D$  نسبت به سایر تیمارها و به‌خصوص نسبت به شاهد در سطح خطای ۵ درصد بوده است ( $P < 0.05$ ).

نتایج دو ماه بررسی اثر زئولیت حاکی از تأثیر مثبت زئولیت با دو دوز ۸۰ میلی‌گرم در لیتر میزان  $C_3$  در مرحله دوم نمونه‌برداری بوده است (شکل ۳).

اندازه‌گیری مقدار  $C_4$ : میزان فعالیت کمپلمان  $C_4$  دو بار در طی دوره پرورش اندازه‌گیری شد. میانگین مقدار کمپلمان  $C_4$  در هر دو بار نمونه‌برداری، یک ماه و دو ماه پس از آغاز استفاده از زئولیت اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف و با شاهد در سطح خطای ۵ درصد نشان نمی‌دهد ( $P > 0.05$ ).

جدول ۵- میانگین مقدار  $C_3$  (mg/dl) بچه‌ماهیان کپور وحشی در مرحله اول و دوم نمونه‌برداری

تیمار	مقدار	$C_3$ مرحله اول	$C_3$ مرحله دوم
A	۲۰ میلی‌گرم در لیتر	$46.8 \pm 2.10$	$51.6 \pm 2.7$
B	۴۰ میلی‌گرم در لیتر	$55.4 \pm 2.7$	$45 \pm 4.2$
C	۸۰ میلی‌گرم در لیتر	$30.7 \pm 3.4$	$70.4 \pm 5.9^*$
D	۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر	$40.3 \pm 3.2$	$50.7 \pm 5.3^*$
E	شاهد یا کنترل	$25.46 \pm 3.7$	$29.57 \pm 4.6$



شکل ۳- نمودار تغییرات کمپلمان  $C_3$  در سرم ماهی کپور دریای مازندران

جدول ۶- میانگین مقدار  $C_4$  (mg/dl) بچه‌ماهیان کپور وحشی در مرحله اول و دوم نمونه‌برداری

تیمار	مقدار	$C_4$ مرحله اول	$C_4$ مرحله دوم
A	۲۰ میلی‌گرم در لیتر	$13.2 \pm 1.32$	$22.1 \pm 4.3$
B	۴۰ میلی‌گرم در لیتر	$13.8 \pm 1.18$	$23 \pm 4.5$
C	۸۰ میلی‌گرم در لیتر	$10.5 \pm 2.7$	$20.8 \pm 3.4$
D	۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر	$12.4 \pm 0.9$	$23.9 \pm 3.1$
E	شاهد یا کنترل	$12.86 \pm 1.31$	$22.96 \pm 3.5$

نتایج دو ماه بررسی اثر ژئولیت حاکی از تأثیر مثبت ژئولیت با دو دوز ۱۲۰ میلی گرم در لیتر میزان C<sub>۴</sub> در مرحله دوم نمونه برداری بوده است (شکل ۴). اندازه گیری مقدار IgM: میزان IgM در تیمارهای مختلف و در تیمار شاهد در جدول ۷ ارائه شده است.

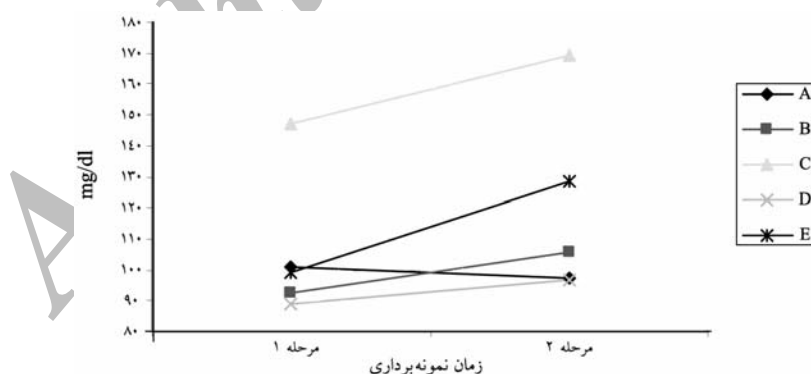
نتایج نشان می دهد که میزان IgM در مرحله دوم نمونه برداری به طور کلی بیشتر از مرحله اول بوده است و در تیمار C میزان آن نسبت به بقیه و نسبت به شاهد بیشتر بوده است (شکل ۵). مطالعات آماری حاکی از وجود اختلاف معنی دار بین تیمار C با سایر تیمارها و شاهد می باشد ( $P < 0/05$ ).



شکل ۴- نمودار تغییرات کمپلمان C<sub>۴</sub> در سرم ماهی کپور دریای مازندران

جدول ۷- میانگین نمونه برداری میانگین IgM (mg/dl) بچه ماهیان کپور وحشی در مرحله اول و دوم نمونه برداری

تیمار	مقدار	IgM مرحله اول	IgM مرحله دوم
A	۲۰ میلی گرم در لیتر	۱۰۱±۱۱/۷	۹۷/۵±۳/۹
B	۴۰ میلی گرم در لیتر	۹۲/۵±۴/۷	۱۰۶±۷/۶
C	۸۰ میلی گرم در لیتر	۱۴۷/۳±۹/۳*	۱۶۹/۳±۹/۸*
D	۱۲۰ میلی گرم در لیتر	۸۸/۹±۷/۶	۹۶/۶±۷/۵
E	شاهد یا کنترل	۹۹/۳۳±۱۸/۵۷	۱۲۸/۲۲±۸/۰۲



شکل ۵- نمودار تغییرات IgM در سرم ماهی کپور دریای مازندران

در تحقیق حاضر تأثیر ژئولیت بر رشد و بازماندگی و تحریک سیستم ایمنی بچه ماهی کپور دریایی مورد مطالعه قرار گرفت. در بررسی حاضر افزودن ژئولیت بیش از ۸۰ میلی گرم در لیتر منجر به افزایش وزن در گروه تیمار نسبت به شاهد شده است. در تحقیقی که توسط بیژنگ

## بحث و نتیجه گیری

ژئولیت ها بلورهای سیلیکات آلومینیوم هیدراته می باشند که دارای کاتیون هایی از خانواده فلزات هستند از ویژگی های این ترکیبات دارا بودن قابلیت برگشت پذیر جذب و دفع آب و کاتیون ها می باشند.

در شرایط استخر و بر روی ماهیان گرم آبی انجام گرفته است، افزایش تولید به مقدار ۸۸۶/۵ کیلوگرم در هکتار در استخرهای دارای زئولیت به دست آمد (۲).

ایجاد شرایط مناسب محیطی ضمن تأثیر بر روی پارامترهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی ماهیان سبب بهبود جذب مواد غذایی و افزایش سرعت رشد ماهیان می‌گردد. از جمله مکانیسم‌هایی که منجر به افزایش روند رشد در ماهیان می‌شود، افزایش آنزیم‌های گوارشی است. به این منظور در این تحقیق آنزیم روده‌ای الکلین فسفاتاز اندازه‌گیری شد. الکلین فسفاتاز آنزیمی است که دارای انواع روده‌ای، استخوانی و کبدی است و نوع روده‌ای آن از بافت داخل روده‌ها ترشح می‌گردد. میزان این آنزیم در روده بیانگر وضعیت فعالیت روده می‌باشد (۲۱).

مطالعات انجام شده توسط برخی محققان حاکی از این مطلب می‌باشد که میزان تغییرات سطح الکلین فسفاتاز تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی مانند وضعیت شیمیایی آب میزان جذب غذا، مصرف و نوع غذا، دما و سن ماهی و به علاوه ترکیبات موجود در جیره غذایی بویژه، فسفر می‌باشد (۲۱). میزان این آنزیم در تیارهای ۸۰ تا ۱۲۰ میلی‌گرم زئولیت در هر لیتر، بیش از سایر تیمارها و نیز تیمار شاهد بوده است.

یکی از فاکتورهای مورد بررسی به منظور دستیابی به شرایط سیستم ایمنی، فاکتور لیزوزیم می‌باشد. اگرچه لیزوزیم یکی از صدها فاکتور قابل بررسی جهت ارزیابی وضعیت سلامت آبزیان در جهت ایمنی ذاتی محسوب می‌شود اما در سال‌های اخیر میزان لیزوزیم موجود در خون و بافت نیز فاکتوری مناسب جهت ارزیابی توانایی ماهیان در بروز پاسخ‌های ایمنی ذاتی نسبت به عوامل استرس‌زا محسوب شده و در ماهیان بسیار فعال‌تر از مهره‌داران عالی‌تر است (۱۰). لیزوزیم قادر به شکستن باندهای گلیکوسیدیک موجود در لایه پپتیدوگلیکان موجود در دیواره سلولی باکتری‌ها بوده و در نتیجه منجر به مرگ پرتوپلاست می‌گردد. به عبارتی دیگر پلیمرهای

کمپلکس اسیدهای آمینه و قندهای موجود در دیواره سلولی را هیدرولیز می‌نماید (۷).

برخی از باکتری‌ها قادرند به‌طور مستقیم به‌وسیله لیزوزیم لیز شوند، اما در بسیاری موارد غشای سلولی باکتری‌ها ابتدا مورد حمله کمپلمان واقع شده تا لیزوزیم اثرات خود را القا نماید (۸).

در آزمایش حاضر میزان لیزوزیم سرم خون بچه‌ماهیان در انتهای دوره مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین میزان لیزوزیم متعلق به تیمارهای ۱۲۰-۸۰ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. نتایج آماری بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای زئولیت و شاهد را نشان می‌دهد. با توجه به این موضوع که مقادیر آنزیم لیزوزیم به‌ویژه، در سرم خون منعکس‌کننده فعالیت منوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و سلول‌های فاگوسیتوزکننده می‌باشند (۱۸).

بنابراین به‌طور مستقیم می‌توان تقویت سیستم ایمنی در کپور وحشی را در نتیجه افزایش این آنزیم در تیمارهای مربوط به زئولیت دانست.

علاوه بر لیزوزیم اندازه‌گیری میزان کمپلمان نیز در گروه‌های آزمایشی تغییرات سیستم ایمنی ماهی را نشان می‌دهد. در تحقیق حاضر بیشترین میزان C<sub>۳</sub> و C<sub>۴</sub> در مرحله اول نمونه‌برداری در هر دو فاکتور مربوط به تیمار B بوده است، ولی در مرحله دوم نمونه‌برداری برای فاکتورهای C و D بوده است.

در مقایسه فاکتور C<sub>۳</sub> در هر دو مرحله نمونه‌برداری بین تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد که نشانه تأثیر مثبت شرایط محیطی بر فاکتور کمپلمان می‌باشد. این نتیجه‌گیری در تحقیقات مختلف نیز ثابت شده است، Pirarat و همکاران (۲۰۰۶) نیز بیان داشتند شرایط زیست‌محیطی، تغذیه‌ای و تفاوت‌های فردی و گونه‌ای بر روی مقادیر این آنزیم مؤثر می‌باشد.

در تحقیق حاضر علاوه بر بررسی ایمنی ذاتی، IgM به‌عنوان فاکتوری از ایمنی اختصاصی نیز مورد بررسی قرار گرفت. نقش‌های حفاظتی آنتی‌بادی‌ها شامل خنثی‌سازی ویروسی، کشتن و چسبیدن به باکتری‌ها،



فعالیت سیستم کمپلمان و تسهیل نمودن بلع پاتوژن‌ها می‌شود. ماهیان استخوانی قادر به فراخواندن آنتی‌بادی همورال اختصاصی مؤثر در برابر آنتی‌ژن‌های مختلف می‌باشند. شدت این پاسخ در بین گونه‌های مختلف استخوانی و در شرایط مختلف محیطی متفاوت می‌باشد. علاوه بر پاسخ ایمنی اختصاصی، سطوح نسبی آنتی‌بادی‌های طبیعی در سرم اغلب ماهیان دیده شده است (۱۷).

حداکثر سطوح IgM در هردو دوره نمونه‌برداری به ترتیب متعلق به تیمارهای C بوده است که اختلاف معنی‌داری را با شاهد نشان داده است ( $P < 0/05$ ). این نتیجه نشان‌دهنده تأثیر مثبت زئولیت بر میزان IgM سرم می‌باشد. در بررسی آنزیم‌های سرمی به جز C، در مقادیر دیگر آنزیم‌ها تفاوت معنی‌داری در گروه‌های مختلف مشاهده

گردید. آنزیم‌های IgM و C<sub>3</sub> و ALP از جمله آنزیم‌هایی هستند که به‌طور معمول در تشخیص بیماری‌ها و سلامت ماهیان به کار برده می‌شوند.

آنزیم‌ها سرمی به‌طور عمده تحت‌تأثیر فاکتورهای فیزیولوژیکی و محیطی قرار دارند. برای مثال نوع جیره غذایی، دمای محیط، سن ماهی و شوری در میزان آنزیم‌های سرمی و فعالیت آنها مؤثر است (۲۰).

در تحقیق حاضر هر چند که وجود زئولیت در بسیاری از موارد سبب افزایش معنی‌دار بین تیمارهای مختلف نشد، و این امر به اثبات نرسید، ولی اثر آن در ایجاد شرایط بهینه برای پرورش ماهی کپور با نتایج به‌دست آمده در سایر آزمایش‌های آنزیمی و رویارویی به اثبات رسید.

#### منابع

- ۱- پیغان، رحیم، ۱۳۷۸. بررسی مسمومیت تجربی حاد با آمونیاک در ماهی کپور معمولی، براساس تغییرات هیستوپاتولوژیک و آنزیم‌های سرمی، و امکان پیش‌گیری آن با زئولیت. پایان‌نامه دکترای تخصص بهداشت و بیماری‌های آبزیان. دانشگاه دامپزشکی، دانشگاه تهران.
- ۲- بیژنگ، ع.ر، ۱۳۷۸. نقش زئولیت در پرورش ماهیان گرم آبی با تأکید بر تغییرات کمی فسفر در آب. پایان‌نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان.
- ۳- فغانی، ط، ۱۳۸۵. اثر ارگوسان و واکسن بر فاکتورهای رشد، بازماندگی، تحریک سیستم ایمنی و رویارویی با باکتری استرپتوکوک در قزل‌آلای رنگین‌کمان، پایان‌نامه کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، ۱۱۱ صفحه.
- ۴- شیلات ایران، ۱۳۸۶. سال‌نامه آماری شیلات ایران، دفتر طرح و توسعه، سازمان شیلات ایران، تهران.
- ۵- یوسفیان، م، ۱۳۸۷. بررسی کارایی زئولیت در بهبود کیفیت فیزیکی و شیمیایی آب استخرهای پرورش ماهیان گرم آبی، گزارش نهایی طرح تحقیقاتی، معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، ۹۷ صفحه.
6. Bowman, R.S., Li, Z., Roy, S.J., Burt, T., Johnson, T.L. and Johnson, I.L., 2001. Pilot test of a surfactant-modified zeolite permeable barrier for groundwater remediation. In: Smith, J.A., Burns, S. (Eds.), Physical and Chemical Remediation of Contaminated Aquifers. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp. 161-185.
7. Fast, M.D., Sims, D.E., Burka, G.F., Mustafa, A. and Ross, N.W., 2002. Skin morphology and humoral non-specific defence parameters of mucus and plasma in rainbow trout, coho and Atlantic salmon. *Comp. Biochem. Physiol.* 132 (A), 645-657.
8. Fevolden, S., Roed, K.H. and Fjalested, K.T., 2002, selection response of cortisol and lysozyme in rainbow trout and correlation to growth. *Aquaculture*. 205, 61-75.
9. Johnson, A.M., Rohlf, E.M. and Silverman, L.M., 1999. Textbook of clinical chemistry. In: Burtis, C.A., Ashwood, E.K., eds. *Tietz Textbook of clinical chemistry* 3 ed Philadelphia: W.B. Saunders company, 507p.
10. Kim, D.H. and Austin, B., 2006. Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) induced by probiotics. *Fish shellfish Immunology*, xx, pp.1-12.
11. Klin, Z., 1972. *Biochem.* 10, 182p.
12. Knoph, M.B., 1992. Acute toxicity of ammonia to Atlantic salmon, *Salmo salar*, parr. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 101(2), 275-282.

13. Kissil, G.W., Lupatsch, I., Elizur, A. and Zohar, Y., 2001. Long photoperiod delayed spawning and increased somatic growth in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 200, 363-379.
14. Labor, T., 1998. In *Clinical Laboratory Diagnostics, use and assessment of Clinical Laboratory Results*, Edition, 696p.
15. López-Ruiz, J.L., 1999. Zeolites in aquacultural primary production. In: Misaelides, P., *et al.*, (Ed.), *Natural Microporous Materials in Environmental Technology*. Kluwer Academic Publishing, Netherlands, pp. 319-326.
16. López-Ruiz, J.L. and Gómez, M.E.G., 1994. Marine nitrogen transformations. *Aquac. Eng.*, 13, 147-152.
17. Magnadóttir, B., 1998. Comparison of immunoglobulin (IgM) from four fish species. *BuvisinDi Icelandic Agricultural Sciences*, 12, 47-59.
18. Pirarat, N., Kobayashi, T., Katagiri, T., Maita, M. and End, M., 2006. Protective effects and mechanisms of a probiotic bacterium *Lactobacillus rhamnosus* against experimental *Edwardsiella tarda* in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Veterinary immunology and Immunopathology*, 113, 339-347.
19. Pond, W.G. and Mumpton, F.A., 1984. *Zeo-Agriculture: Use of natural zeolites in agriculture and aquaculture*. International committee on Natural Zeolites, Brockport, New York.
20. Sauer, D.M. and Heidar, G., 1979. Enzyme activities in the plasma of rainbow trout, *Salmo gairdneri*, Richardson: The effect of nutritional status and salinity. *Journal of fish biology*, 14, 407-412.
21. Sknoberg, D.I., Yogev, L., Hardy, R.W. and Dong, F.M., 1997. Metabolic response to dietary phosphorus intake in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 157, 11-24.
22. Whicher, J., 1996. Complement Component C Foundation for Blood. *Research*, 10, 1-7.

Archive of SID

---

## Evaluation of Zeolit effects on some immunity and enzymatic factors of Mazandran common carp (*Cyprinus carpio*)

M. Yousefian<sup>1</sup>, M. Hedayatifard<sup>1</sup> and H. Sadegifar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Assistant Prof., Dept. of Fisheries, College of Agriculture, Islamic Azad University, Ghaemshahre Branch,

<sup>2</sup>Assistant Prof., Dept. of Chemistry, College of Basic Sciences, Islamic Azad University, Ghaemshahre Branch

---

### Abstract

In the present study the rule of zeolit in improving environmental condition and immune potency of Mazandaran common carp (*Cyprinus carpio*) have investigated. For this propose the effect of zeolit with the range of 20, 40, 80 and 120 mg/l for 60 days in a completely randomized design in 3 replicate have investigated and compared with the control in growth and some physical and immune system of common carp. The fish of this research were obtained from propagation and culture fish of S. Rajaeii. Temperature, EC, Salinity, Total hardness was the same in treatment groups and control while the ion of Ammonium and Ammoniac was higher in control. The final weight (gr) of fish in treatment growth was not significantly higher than control. This situation in other parameter of growth factor was the same. In this study between zeolit treatment and control for the mean of lysozyme, Alkaline phosphatase, C3 complement, IgM, were significantly different ( $P<0.05$ ). The results of the research showed that zeolit had reduced the Ammoniac and pH and increased the oxygen of the pond. In spite of the presence of difference in weight of fish in treatment and control but this difference was not significant. The use of zeolit had the effect in physiological and immunological characteristics of fish and increased the immune response in zeolity presence condition.

**Keywords:** Alkaline phosphatase; C3 complement; IgM; lysozyme; Mazandran Common carp.

---

\*- Corresponding Author; Email: yousefianeco@yahoo.com