

**تأثیر افزایش مواد معدنی جیره بر شاخص‌های رشد و پاسخ‌های خونی – ایمنی در ماهی تیلاپای نیل
(*Oreochromis niloticus*)**

ابراهیم متقی^۱، غلامرضا رفیعی^{۲*}، علیرضا میرواقفی^۲، باقر مجازی امیری^۲، عیسی ابراهیمی درچه^۱

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، اصفهان

۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، البرز

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۶/۱۵

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی اثر افزایش مواد معدنی در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، خونی و ایمنی ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) بود. تعداد ۱۸۰ عدد ماهی تیلاپیا با متوسط وزن $30 \pm 3/8$ گرم به ۹ واحد آزمایشی معرفی شدند (۳ واحد آزمایشی برای هر تیمار). تیمارهای آزمایش شامل افزایش سطوح مختلف صفر، ۲۵٪ و ۷۵٪ مواد معدنی بر اساس درصد مواد معدنی در محیط کشت کوپر یا هوکلند در جیره غذایی ماهی تیلاپیا بود تا با افزایش ورود مواد معدنی به واحد پرورشی از طریق غذا، شرایط رشد بهتری برای رشد گیاه فرضی ایجاد شود. ماهیان در یک دوره ۷۰ روزه با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند و شاخص‌های رشد، خون‌شناسی و ایمنی بررسی شد. کمترین ضریب تبدیل غذا ۱/۱۵ در تیمار ۲۵٪ به‌دست آمد که با گروه شاهد و تیمار بیشینه مواد معدنی (۷۵٪) اختلاف معنی‌دار داشت. در طول آزمایش EC با یک روند صعودی در تمامی تیمارها افزایش یافت و از مقدار ۵۶۰ میکروزیمنس بر سانتی‌متر در شروع آزمایش به میانگین حدود ۱۶۳۰ میکروزیمنس بر سانتی‌متر در پایان آزمایش رسید. نتایج به‌دست آمده، حاکی از تغییرات معنی‌دار ($p < 0/05$) شاخص‌های خونی و دستگاه ایمنی در تیمارها در مقایسه با گروه شاهد بود. بهبود شاخص‌های خون‌شناسی و تقویت دستگاه ایمنی در جیره‌های حاوی مواد معدنی نشان داد که با افزایش این مواد در جیره تیلاپیا، شرایط زیستی بهتری برای این ماهی ایجاد می‌شود.

کلمات کلیدی: تیلاپیا، جیره غذایی، شاخص‌های خون‌شناسی، سیستم ایمنی.

نویسنده مسئول: ghrafiee@ut.ac.ir

مقدمه

آن، شرایط بهتری را برای رشد گیاه یا موجود فتوسنتزکننده و جذب بیشتر ترکیبات نیتروژن دار ایجاد کرد. این کار چندان ساده نیست، زیرا ممکن است تأثیرات منفی بر پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک در ماهی هدف داشته باشد. لذا، نیاز است در ابتدا این اثرات با ارزیابی شاخص‌های خونی و ایمنی بررسی شوند. در این باره لازم است مواد مغذی در واحد پرورشی به طریقی افزایش یابد که تعادل یونی برای رشد ماهی و عملکرد باکتری‌های اتوتروف و یا هتروتروف به هم نخورد. به عبارت دیگر، ماده و انرژی در واحد پرورش به طریقی وارد شود که به مرور در پیکر ماهی و موجود فتوسنتزکننده ذخیره شود. از طرف دیگر، کیفیت تولید نیز از نظر بهداشت انسانی باید حفظ شود. بنابراین، در پژوهش حاضر سعی شد تأثیر افزایش مواد معدنی به جیره ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) بر شاخص‌های خونی در یک واحد پرورشی مطالعه شود. با ارزیابی نتایج این اثرات، امکان بهینه‌سازی روش‌های توأم کشت گیاه و ماهی نیز امکان‌پذیر خواهد بود.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایش

برای انجام این آزمایش، ابتدا یک مجموعه پرورشی مداربسته در گلخانه صنعتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان مستقر شد. گلخانه دارای ابعاد ۱۰ متر پهنا، ۲۰ متر درازا و ۵ متر ارتفاع بود. برای چیدمان مجموعه، مساحتی حدود ۸۰ متر مربع و حجم آب حدود ۳ متر مکعب در نظر گرفته شد. تعداد ۹ واحد آزمایشی در نظر گرفته شد. هر واحد شامل دو بخش از جمله تراف یا سینی هیدروپونیک و بخش آبی‌پروری بود که با لوله پلی‌اتیلن برای انتقال آب به هم اتصال داشت و به صورت مداربسته جریان آب از بخش پرورش به بخش هیدروپونیک منتقل، و مجدداً به بخش آبی‌پروری بازگردانده می‌شد. بخش آبی‌پروری از یک مخزن ۳۰۰ لیتری از جنس پلی‌اتیلن با حجم آبیگری ۲۵۰ لیتر، تشکیل می‌شد. بخش هیدروپونیک شامل یک تراف به طول ۲ متر، عرض ۰/۴ متر و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر با حجم آبیگری تقریبی ۱۰۰ لیتر بود و برای استقرار گیاهان در این بخش از صفحه یونولیت ۳ سانتی‌متری استفاده شد، ولی گیاهی در این

افزایش تقاضا برای غذا همراه با رشد جمعیت سبب افزایش فشار بر منابع طبیعی و بوم‌سازگان‌ها شده است. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که بیوسفر تحت تأثیر افزایش بیشتر نیتروژن و فسفر قرار دارد. این افزایش می‌تواند منجر به تخریب غیرقابل جبران در بوم‌سازگان‌های آبی شود (Steffen et al. 2015). با آگاهی از چگونگی چرخه مواد در بوم‌سازگان‌های مصنوعی و حتی طبیعی، امکان ایجاد تعادل زیستی فراهم می‌شود و مدیریت بوم‌سازگان‌ها به سمتی سوق داده می‌شود که با کاهش مواد دفعی و افزایش بازده در تولید آنها همراه باشد. این موضوع منجر به افزایش علاقه تولیدکنندگان به روش‌های مداربسته به خصوص پرورش توأم ماهی و گیاه یا آکوپونیک شده است (Love et al. 2014).

روش مداربسته آبی‌پروری از مخازن پرورش ماهی، فیلتر مکانیکی، بیوفیلتر (برای تبدیل اتوتروفیک آمونیاک به نیترات) و بخش رسوب‌گیر تشکیل شده است که با استفاده از پمپ، آب به‌طور دایم در حال چرخش است. اکسیژن توسط هواده تأمین می‌شود و دما نیز قابل کنترل است. در این روش، نیترات تمایل به انباشته شدن در آب دارد. نیترات از جمله مهم‌ترین ترکیبات سمی برای ماهی است که باعث می‌شود کارگاه به تعویض آب نیاز پیدا کند. این مسئله سبب معرفی روش هیدروپونیک با چرخش مداوم آب شده است (Rakocy et al. 1992). با وجود این، رسیدن به شرایط مطلوب رشد ماهی در چنین روشی هنوز به وضوح مشخص نشده و نیاز به مطالعه بیشتر دارد (Yildiz et al. 2017). سلامتی گیاه و رشد مناسب آن نیز وابسته به حضور مکمل‌های معدنی کم مصرف و پر مصرف مغذی، مانند پتاسیم، فسفر، کلسیم، منیزیم، سولفور، آهن، مس، روی، منگنز و مولیبدن به نسبت و غلظت معین است (Resh, 2012; Sonneveld, 2009).

تاکنون تأثیر افزایش مواد معدنی برای ایجاد بیشینه تعادل مواد معدنی و به تبع آن، افزایش کارایی واحد پرورشی بر اساس عملکرد گیاه و حتی ماهی بررسی نشده است و لازم است پیش‌بینی شود که چه موقع هدایت الکتریکی آب به حد مطلوب و مورد نیاز ماهی می‌رسد و چگونه می‌توان با افزایش

دادن مواد مغذی بیشتر به گیاه در سطوح مختلف صفر، ۲۵٪ و ۷۵٪ از غلظت پیشنهادی هوگلند و کوپر (رفیعی، ۱۳۸۴) استفاده شد.

بنابراین، تیمارهای آزمایشی را جیره‌های غذایی حاوی مواد معدنی با غلظت متفاوت تشکیل دادند و شامل گروه شاهد معدنی (۱)، جیره حاوی ۲۵٪ مواد معدنی به عنوان جیره کمینه مواد معدنی (۲) و جیره حاوی ۷۵٪ مواد معدنی به عنوان جیره بیشینه در نظر گرفته شدند (۳). مواد معدنی مورد استفاده به صورت ترکیباتی از نمک‌های معدنی به غذا اضافه شد تا غلظت‌های مورد نیاز ایجاد شود (جدول ۱). برای تهیه جیره پایه سعی شد از اقلام غذایی‌ای استفاده شود که دارای مواد معدنی بیشتر بودند تا مصرف مواد معدنی در جیره کاهش یابد. جیره پایه به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد و دیگر جیره‌ها با افزودن مواد معدنی به جیره پایه ساخته شد (جدول ۲).

بخش کشت داده نشد. دمای هوای گلخانه با استفاده از بخاری ترموستات‌دار دمنده که انرژی تأمین کننده آن گاز شهری بود، در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد در طول مدت آزمایش به صورت ثابت تنظیم شد.

در هر بخش آبی‌پروری، تعداد ۲۰ عدد ماهی تیلاپیا با متوسط وزن $3/8 \pm 30$ گرم و در مجموع، ۱۸۰ عدد به مجموعه معرفی شدند. هر مخزن پرورش ماهی با ۴۰ گرم غذا دو بار در روز غذاهای شد که این مقدار معادل ۵۰ گرم به ازای هر متر مربع از سطح زیر کشت (بخش هیدروپونیک) در نظر گرفته شد. این مقدار غذا در طی دوره آزمایش ثابت بود و مقدار مواد مغذی لازم برای اجزای مختلف مجموعه را تأمین کرد. مقدار غذای مصرفی در شروع آزمایش ۶/۷٪ وزن بود و در پایان آزمایش (۷۰ روز) به حدود ۱/۴٪ کاهش یافت. با توجه به هدف آزمایش، غذا با استفاده از اقلام غذایی حاوی مواد مغذی برای تأمین نیاز گیاه تنظیم شد و برای در اختیار

جدول ۱ انواع نمک های معدنی افزوده شده به جیره های غذایی و مقدار مورد استفاده در آنها

ترکیب شیمیایی (g/kg)	جیره یک (۰٪)	جیره دو (۲۵٪)	جیره سه (۷۵٪)
کلرید کلسیم	۰	۹/۱۸	۲۷/۵۶
سولفات آهن	۰	۱/۷۴	۵/۲۳
پتاسیم دی هیدروژن فسفات	۰	۱۱/۵۶	۳۴/۶۸
نیترات پتاسیم	۰	۸/۹۶	۲۶/۸۹
سولفات منیزیم	۰	۱۱/۴۱	۳۴/۲۳
سولفات مس	۰	۰/۰۱۲	۰/۰۳۵
سولفات روی	۰	۰/۰۲۶	۰/۰۸
نیترات سدیم	۰	۷/۵۳	۲۲/۶
کلرید منیزیم	۰	۱۰/۴۵	۳۱/۳۷
کلرید منگنز	۰	۰/۰۰۴	۰/۰۱۱

رفع کمبود مواد معدنی مورد نیاز گیاهان خشکی‌زی (طبق فرمول محلول هوگلند) به جیره پایه مواد معدنی افزوده شد (لازم به ذکر است که ۱۰۰٪ این فرمول به‌عنوان یک فرمول پایه و محیط کشت مناسب برای بسیاری از گیاهان خشکی‌زی در روش آبکشت یا هیدروپونیک به‌کار می‌رود).

تنظیم مواد معدنی جیره، با توجه به نیاز مواد معدنی گیاه تنظیم شد. به این ترتیب که با مصرف مقدار ۴۰ گرم غذا توسط ماهی‌ها در تیمارهای آزمایشی، با تجمع این مواد در آب، شرایط مناسبی برای رشد گیاه در حد فرمول کوپر و هوگلند (رفیعی، ۱۳۸۴) فراهم شود. بنابراین، جیره اول به عنوان جیره پایه یا شاهد با پروفیل مواد معدنی ذکر شده در جدول ۳ ساخته شد و برای ساخت جیره‌های دوم و سوم و

جدول ۲ ترکیب بیوشیمیایی جیره پایه ساخته شده در این پژوهش

اقلام غذایی	میزان استفاده (%)	پروتئین (%)	انرژی (Kcal/kg)	خاکستر (%)	چربی (%)	کربوهیدرات (%)	فیبر (%)
پودر ماهی	۲۷	۱۵/۹۳	۹۳۴	۵/۹۱	۱/۸۳	۳/۳۲	۰/۲۱
سویا	۱۳	۵/۸۲	۴۵۵	۰/۸۲	۰/۷۲	۵/۶۳	۰/۸۶
ذرت	۱۵	۱/۰۲	۴۴۴	۰/۲	۰/۵۲	۱۰/۲۵	۰/۲۸
گندم	۱۵	۲/۰۲	۵۴۰	۰/۲۸	۰/۲۵	۱۲/۴۳	۰/۴۳
برنج	۱۵	۲/۱۶	۵۴۴	۲/۳۲	۲/۰۹	۹/۴	۲/۱۸
پودر میگو	۳	۱/۴	۱۲۸	۱/۰۸	۰/۱۳	۱/۳۸	۰/۵۱
مخمر	۲	۰/۸۵	۷۰	۰/۱۳	۰/۰۲	۰/۹۹	۰/۰۶
ملاس	۳	۰/۱۸	۸۳	۰/۳۷	۰/۰۲	۲/۴۱	۰/۱۹
نمک	۲	۰	۰	۱/۸	۰	۰/۲	۰
روغن	۳	۰	۹۰	۰/۰۶	۲/۸۵	۰/۰۹	۰/۰۴
پودر یونجه	۱	۰/۳۷	۴۱	۰/۲۱	۰/۰۵	۱/۳۷	۰/۷
متیونین	۰/۵	۰/۴۹	۱۹	۰/۰۰۴	۰	۰/۰۰۶	۰
لیزین	۰/۵	۰/۴۹	۱۸	۰/۰۰۴	۰	۰/۰۰۶	۰
جمع	۱۰۰	۳۰/۷	۳۳۶۵	۱۳/۲۱	۸/۵	۴۷/۵۲	۵/۵

جدول ۳ سطوح مختلف مواد معدنی در جیره های مورد استفاده در این آزمایش

مواد مغذی	مقدار ماده مغذی		جیره یک (%)		جیره دو (۲۵٪)		جیره سه (۷۵٪)	
	جیره	هیدروپونیک * (mg/L)	اضافه	کمبود	اضافه	کمبود	اضافه	کمبود
	(g/kg)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
نیتروژن	۴۰/۹۲	۲۳۰	۱۶۸	۰	۶۲	۱۵/۵	۴۶/۵	۱۵/۵
پتاسیم	۱۰/۱۳	۲۵۰	۴۷	۰	۲۰۳	۵۰/۷۵	۱۵۲/۲۵	۵۰/۷۵
کلسیم	۲۰/۸۴	۲۰۰	۱۶۶/۱	۰	۳۳/۹	۸/۴۷۵	۲۵/۴۲۵	۸/۴۷۵
فسفر	۱۰/۶۲	۵۰	۳۰	۰	۲۰	۵	۱۵	۵
گوگرد	۴/۴۹	۱۰۰	۲۰/۲	۰	۷۹/۸	۱۹/۹۵	۵۹/۸۵	۱۹/۹۵
منیزیم	۵/۵	۵۰	۴۲/۶	۰	۷/۴	۱/۸۵	۵/۵۵	۱/۸۵
منگنز	۰/۲۱۹	۰/۵	۰/۰۹	۰	۰/۴	۰/۱	۰/۳	۰/۱
روی	۰/۷۹۱	۰/۰۵	۰/۰۲۶	۰	۰/۰۲۴	۰/۰۰۶	۰/۰۱۸	۰/۰۰۶
مس	۰/۱۳۱	۰/۰۵	۰/۰۳۸	۰	۰/۰۱۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۹	۰/۰۰۳
آهن	۰/۳۴۶	۴	۱/۹۱	۰	۲/۰۱	۰/۵۰۲۵	۱/۵۰۷۵	۰/۵۰۲۵

* مقدار مواد مغذی (معدنی) لازم برای هیدروپونیک بر اساس فرمول کوپر و هوگلدن (رفیعی، ۱۳۸۴).

نمونه برداری

در پایان آزمایش از هر واحد آزمایشی چهار قطعه ماهی به صورت تصادفی انتخاب و از آنها خون‌گیری به عمل آمد (یک روز قبل از خون‌گیری غذاهای قطع شد). خون‌گیری در تمام ماهیان، پس از بیهوشی با استفاده از محلول ۲۰۰ میلی-گرم در لیتر پودر گل میخک با استفاده از سرنگ و سرسوزن شماره ۲۱ از سیاهرگ ساقه دمی انجام شد (قبادی و همکاران، ۱۳۸۸). بخشی از خون ماهی بدون استفاده از مواد ضد انعقاد برای تهیه سرم خون آماده‌سازی شد و بخش دیگر با استفاده از مواد ضد انعقاد خون‌گیری شد.

سنجش شاخص‌های رشد

به منظور اندازه‌گیری شاخص‌های رشد، تمامی ماهیان هر تیمار آزمایشی، به صورت انفرادی در ابتدا و انتهای دوره آزمایش زیست‌سنجی شدند. با استفاده از داده‌های حاصل از زیست‌سنجی‌ها در انتهای آزمایش، شاخص‌های درصد افزایش وزن بدن (El-Sheek, et al. 2014)، میزان افزایش وزن بدن (El-Sheek, et al. 2014)، ضریب چاقی بدن (Khanzadeh, et al. 2015)، ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد ویژه تعیین شدند.

سنجش شاخص‌های خون‌شناسی و ایمنی

میزان هموگلوبین خون ماهی با استفاده از روش رنگ‌سنجی سیانومت-هموگلوبین اندازه‌گیری شد. در این روش، گلبول‌های قرمز با استفاده از محلول درابکین تجزیه، و هموگلوبین آنها آزاد می‌شود (Burtis et al. 2012). درصد هماتوکریت با استفاده از لوله مخصوص میکروههماتوکریت سنجش شد. لوله‌های هماتوکریت توسط دستگاه میکروههماتوکریت به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس درصد هماتوکریت با استفاده از خط‌کش مخصوص تعیین و برای هر ماهی از دو نمونه میانگین گرفته و گزارش شد. برای شمارش تعداد گلبول‌های قرمز، از خون حاوی ماده ضد انعقاد استفاده شد. با استفاده از پپیت ملانژور قرمز ۰/۵ واحد خون با ۲۰۰ میلی-لیتر سرم فیزیولوژیک ۰/۹٪ مخلوط شد و با استفاده از لام شمارش هموسایتومتر تعداد گلبول‌های قرمز در ۱۶ مربع کوچک شمارش شدند.

برای اندازه‌گیری فعالیت کمپلمان از آزمایش همولیز در ژل آگارز استفاده شد (Burtis et al. 2012). برای تعیین فعالیت لیزوزیم سرم خون، از روش لیزوپلیت که برای نخستین بار از جانب Lie در سال ۱۹۸۹ پیشنهاد و در سال ۱۹۹۳ از سوی Moyner و همکاران اصلاح شد، استفاده به عمل آمد. برای اندازه‌گیری قدرت باکتری‌کشی سرم از روش توصیه‌شده توسط Kajita و همکاران (۱۹۹۰)، با کمی تغییرات استفاده شد. برای این کار ابتدا باکتری آئروموناس هیدروفیلا به مدت ۶ ساعت در محیط TSB کشت، و سپس رقت $10^{-5} \times 2$ تهیه شد. نمونه‌های سرمی نیز به نسبت ۱:۳ با بافر فسفات رقیق شدند. سپس ۱۰ میکرولیتر از مخلوط سرم و باکتری در محیط کشت TSA کشت داده شد. تمامی مراحل در زیر هود و کنار شعله انجام شد. محیط‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری و سپس به کمک دستگاه کلونی‌کانتر تعداد پرگنه‌های باکتریایی رشد یافته روی محیط کشت شمارش شد.

سنجش کیفیت آب

روزانه به ماهیان مقدار ۵۰ گرم غذا داده شد. دما، اکسیژن محلول، هدایت الکتریکی، میزان جامدات محلول در آب (TDS)، pH، مجموع نیترژن آمونیاکی (TAN)، نیترات، نیتريت و آمونیوم سه بار در هفته اندازه‌گیری شد. سختی کل، مجموع جامدات کل غیرمحلول هر هفته اندازه‌گیری شد. نمونه‌برداری آب از خروجی بخش هیدروپونیک که در واقع ورودی بخش پرورش ماهی است و در صبح و قبل از غذاهای و تمیز کردن پمپ‌ها انجام شد. دما، EC و TDS با دستگاه Jenway مدل ۳۰۱۰، اکسیژن با دستگاه اکسیژن‌متر WTW مدل Oxi325i، مجموع نیترژن آمونیاکی به روش کلدال، نیترات و نیتريت با دستگاه اسپکتروفوتومتر Jenway با استفاده از روش‌های استاندارد و همچنین، آمونیوم با دستگاه یون آنالایزر Jenway مدل ۳۰۱۰ اندازه‌گیری شد. میانگین دما در حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد و pH در محدوده ۷-۸ بود که مناسب برای عملکرد گیاه، باکتری‌های نیتروبیئات و ماهی بودند.

تجزیه و تحلیل آماری

در ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. سپس برای تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به متغیرهای مورد بررسی از تجزیه واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و در ادامه برای تعیین سطح اختلاف بین میانگین‌ها از آزمون چند متغیره دانکن استفاده شد. تمامی تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نسخه ۱۹ نرم‌افزار SPSS انجام شد. تفاوت‌های آماری نیز در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ گزارش شده است.

نتایج

تعیین شاخص‌های رشد

استفاده از سطوح مختلف مواد معدنی در جیره غذایی اثر معنی‌داری ($p < 0/05$) بر شاخص‌های وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی، افزایش وزن، شاخص وضعیت و رشد ویژه در مقایسه با تیمار شاهد در طول دوره آزمایش داشت (جدول ۴). بهترین نتیجه در بهبود ضریب تبدیل غذایی، افزایش وزن و شاخص رشد ویژه مربوط به تیمار ۲ (۲۵٪ ماده معدنی در جیره) بود. استفاده از مواد معدنی تأثیر معنی‌دار ($p < 0/05$) بر کاهش ضریب تبدیل غذایی داشت و بیشترین ضریب تبدیل در تیمار شاهد مشاهده شد. با افزایش سطح مواد معدنی جیره، شاخص وضعیت افزایش یافت و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد ثبت شد. جیره ۳ بیشترین و جیره شاهد کمترین مقدار شاخص وضعیت را نشان داد ($p < 0/05$). بیشترین میزان شاخص رشد و افزایش وزن در جیره ۲ و کمترین مقدار آن در جیره شاهد به دست آمد.

جدول ۴ شاخص‌های رشد ماهی در بین تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (میانگین \pm انحراف معیار)

جیره	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)	ضریب تبدیل غذایی	شاخص وضعیت	نرخ رشد ویژه (٪/روز)	بقا (٪)
۱	۵۲/۶ \pm ۲/۶	۱۲۱/۵ \pm ۴/۱ ^a	۱ \pm ۰/۰۴۶ ^c	۱/۱ \pm ۹/۰۸ ^a	۱ \pm ۰/۲ ^a	۱۰۰
۲	۵۲/۶ \pm ۲/۹	۱۵۶/۹ \pm ۶/۸ ^b	۱ \pm ۰/۰۱۵ ^a	۱ \pm ۰/۱۸ ^{ab}	۱ \pm ۰/۳ ^b	۱۰۰
۳	۵۲/۷ \pm ۲/۳	۱۳۹/۶ \pm ۷/۴ ^{ab}	۱ \pm ۰/۰۳۹ ^b	۲ \pm ۰/۲۷ ^b	۱ \pm ۰/۴ ^{ab}	۱۰۰

حروف انگلیسی غیرمشترک در بالای اعداد در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($p < 0/05$).

۵) و سبب افزایش معنی‌دار ($p < 0/05$) هماتوکریت شد و بیشترین مقدار در جیره ۲ مشاهده شد. کمترین میزان هماتوکریت خون در جیره شاهد به دست آمد. تعداد گلبول‌های قرمز و سفید در جیره ۲ افزایش معنی‌دار نشان داد ($p < 0/05$). تعداد گلبول‌های قرمز تحت تأثیر جیره ۳ به طور معنی‌دار کاهش یافت ($p < 0/05$). سطوح مختلف مواد معدنی بر تعداد گلبول‌های قرمز و سفید تأثیر متفاوتی داشت، به این ترتیب که با افزایش مواد معدنی در جیره ۳ نسبت به تیمار ۲ کاهش معنی‌دار داشت ($p < 0/05$). سطوح مختلف مواد معدنی در جیره بر میزان هموگلوبین خون تأثیر معنی‌دار نداشت ($p > 0/05$).

استفاده از سطوح مختلف مواد معدنی در جیره خصوصاً سطح ۲۵٪ مواد معدنی سبب بهبود در افزایش وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی، درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت شد. ضریب تبدیل غذایی به طور معنی‌دار در تیمار حاوی ۲۵٪ مواد معدنی بهبود یافت ($p < 0/05$). در تمامی تیمارها میزان بقا صد درصد بود و مرگ و میری مشاهده نشد.

تغییرات شاخص‌های خونی

استفاده از جیره‌های دارای مواد معدنی بر درصد هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز و سفید تأثیر معنی‌دار داشت (جدول

جدول ۵ شاخص‌های خونی در تیمارهای حاوی مواد معدنی مختلف در پایان آزمایش (میانگین \pm انحراف معیار)

جیره	هماتوکریت (/)	هموگلوبین	گلبول‌های قرمز ($/\text{cm}^3$)	گلبول‌های سفید ($/\text{cm}^3$)
۱	$21/3 \pm 0/42^a$	$55/57 \pm 0/4$	$106/9 \pm 2/41 \times 10^4$	$937 \pm 5/72 \times 10^4$
۲	$26/5 \pm 0/56^b$	$24/38 \pm 0/6$	$106/7 \pm 2/55 \times 10^4$	$1044 \pm 5/93 \times 10^4$
۳	$24/8 \pm 1/3^{ab}$	$37/33 \pm 0/6$	$108/6 \pm 2/35 \times 10^4$	$851 \pm 5/53 \times 10^4$

حروف انگلیسی غیر مشترک در بالای اعداد در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($p < 0/05$).

های ۲ و ۳ کاهش معنی‌داری در درصد ترومبوسیت‌ها به همراه داشت. بیشترین درصد ترومبوسیت در جیره شاهد ثبت شد. نتایج شمارش افتراقی گویچه‌های سفید نشان می‌دهد که سطوح مختلف مواد معدنی اضافه‌شده به جیره، تأثیر معنی‌داری بر درصد لنفوسیت و گرانولوسیت ندارد ($p > 0/05$).

در جدول ۶ نتایج حاصل از تأثیر سطوح مختلف مواد معدنی بر شمارش افتراقی گویچه‌های سفید ارائه شده است. این نتایج نشان می‌دهد که افزایش سطح مواد معدنی در جیره باعث افزایش معنی‌دار ($p < 0/05$) درصد هتروسیت می‌شود، به طوری که بیشترین مقدار آن در جیره ۲ مشاهده شد. این در حالی است که افزایش سطوح مواد معدنی در جیره-

جدول ۶ میانگین انواع گویچه‌های سفید (درصد) خون در تیمارهای حاوی غلظت مختلف مواد معدنی در پایان دوره آزمایش (میانگین \pm انحراف معیار)

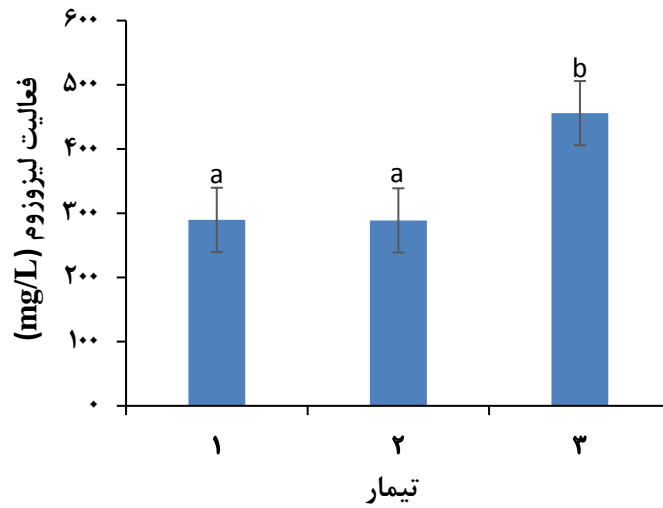
جیره	لنفوسیت	هتروسیت	ترومبوسیت	گرانولوسیت
۱	$80/5 \pm 0/42$	$14/8 \pm 0/94^a$	$0/33 \pm 6/3^b$	$0/83 \pm 16/1^a$
۲	$80 \pm 0/68$	$17/1 \pm 0/3^b$	$0/33 \pm 3/1^b$	$0/5 \pm 22/1^c$
۳	$81/1 \pm 0/79$	$16/57 \pm 0/0^{ab}$	$5/66 \pm 5/1^a$	$0/16 \pm 16/1^b$

حروف غیرمشترک در بالای اعداد در هر ستون، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($p < 0/05$).

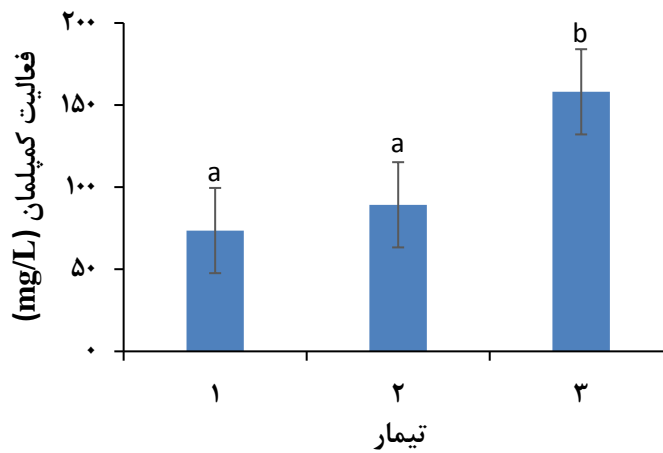
۳ دارای اختلاف معنی‌دار ($p < 0/05$) در مقایسه با شاهد بود (نمودار ۲). نتایج مربوط به تأثیر استفاده از سطوح مختلف مواد معدنی در جیره‌های مختلف بر فعالیت باکتری‌کشی سرم خون ماهی در نمودار ۳ ارائه شده است. نتایج به‌دست آمده حاکی از کاهش فعالیت باکتری‌کشی سرم ماهی تیلاپیا در تیمار ۳ در مقایسه با شاهد است ($p < 0/05$).

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر دستگاه ایمنی

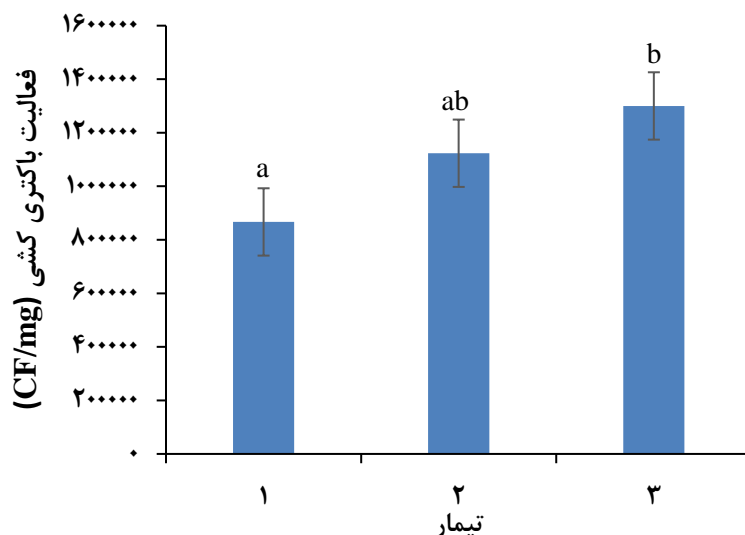
نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که فعالیت لیزوزیم سرم در تیمار ۳، در مقایسه با تیمار شاهد، افزایش معنی‌دار ($p < 0/05$) نشان داده است (شکل ۱). با وجود این، در تیمار ۲ هیچ اختلاف معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد نشان نداد ($p > 0/05$). به‌طور مشابه، فعالیت کمپلمان سرم نیز در تیمار



شکل ۱ میانگین تغییرات فعالیت سرمی لیزوزیم تحت تأثیر جیره‌های مختلف. حروف غیر مشترک نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($p < 0.05$).



شکل ۲ میانگین تغییرات فعالیت سرمی کمپلمان تحت تأثیر جیره‌های مختلف. حروف غیر مشترک نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($p < 0.05$).



شکل ۳ میانگین تغییرات فعالیت باکتری کشی سرم تحت تأثیر جیره‌های مختلف. حروف غیرمشترک نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($p < 0.05$).

معنی‌دار کمترین مقدار را داشت ($p < 0.05$). سختی کل در تیمار ۳ بیشترین مقدار و دارای اختلاف معنی‌دار با بقیه تیمارها بود ($p < 0.05$). تیمار ۳ بیشترین مقدار قلیائیت را داشت و افزایش معنی‌دار در تیمارهای ۲ و ۳ نسبت به تیمار شاهد در جامدات محلول آب نیز به دست آمد. مجموع جامدات غیرمحلول در تیمار ۳ کمترین مقدار بود و بیشترین مقدار، دارای اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) در تیمارهای ۱ و ۲ بود (جدول ۷).

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر کیفیت آب

نتایج به‌دست آمده از این آزمایش نشان می‌دهد که مواد معدنی اضافه شده به جیره تأثیر معنی‌داری بر pH آب ندارد، در حالی که در تیمار ۳ با ۷۵٪ مکمل مواد معدنی بیشترین هدایت الکتریکی را در بین تیمارها ایجاد کرد و نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد ($p < 0.05$). سختی کل، قلیائیت کل و مجموع جامدات محلول در تیمار شاهد به‌طور

جدول ۷ میانگین خصوصیات فیزیکو-شیمیایی آب در طی آزمایش (میانگین \pm انحراف معیار)

تیمار	دما ($^{\circ}\text{C}$)	pH	هدایت الکتریکی ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	اکسیژن محلول (mg/L)	سختی کل (mg/L) (CaCO_3)	قلیائیت (mg/L)	TDS (mg/L)	TSS (mg/L)
۱	۲۵/۹	۸/۰۵	1232 ± 59^a	۵/۹	$273/3 \pm 7/1^a$	$212/1 \pm 1^a$	$616/1 \pm 7^a$	$348/2 \pm 7^b$
۲	۲۶/۱	۷/۸۸	1469 ± 33^{ab}	۵/۹	$321/3 \pm 2/6^{ab}$	$240/6 \pm 1^b$	$744/3 \pm 7^b$	$362/9 \pm 5^b$
۳	۲۶	۷/۹۶	1734 ± 69^b	۵/۲	$344 \pm 2/3^b$	$264/2 \pm 3^c$	$890/2 \pm 7^c$	$225/2 \pm 3^a$

حروف غیر مشترک در بالای اعداد در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($p < 0.05$).

این مقدار در تیمار حاوی ۲۵٪ مواد معدنی بیشترین مقدار را نشان داد و با افزایش مقدار مواد معدنی میزان رشد کاهش یافت، ولی اختلاف معنی‌دار نشان نداد. در گروه شاهد،

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ماهیان در تیمارهای حاوی مواد معدنی، رشد بیشتری نسبت به گروه شاهد دارند.

که نرخ رشد ویژه ۲/۵ تا ۲/۷ گرم در روز به دست آمده، کمتر است (Abentin, 2018).

دمای آب در این پژوهش در حد ۲۶ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود. این دما بیشینه دمای مناسب برای رشد بیشتر گیاهان خشکی‌زی مانند گوجه فرنگی و یا خیار در روش هیدروپونیک یا آبکشت است، ولی ماهی تیلاپیا در دمای ۳۲-۲۸ درجه سانتی‌گراد بیشترین رشد را دارد (Timmons and Ebeling, 2013). نتایج حاصل از بررسی رشد در بین تیمارها نشان داد که افزایش مواد معدنی در سطح ۲۵٪ غلظت هوگلند محرک خوبی برای رشد ماهی تیلاپیا است و با افزایش این مواد تا سطح ۷۵٪ تأثیر منفی بر رشد ماهی ندارد. با افزودن مواد معدنی در جیره و از طریق دفع این مواد از طریق مدفوع، می‌توان سطح مواد مغذی را در آب برای رشد بیشتر گیاه در بخش هیدروپونیک تامین کرد. این یافته‌ها، برای کشت توأم ماهی و گیاه بسیار ارزشمند هستند.

در این تحقیق، افزایش مواد معدنی به همراه افزایش یون‌های آب اثر مثبتی بر افزایش میزان هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز داشت. بیشترین مقدار معنی‌داری هماتوکریت در جیره ۲ و حاوی ۲۵٪ مواد معدنی مشاهده شد که سطح کمینه مواد معدنی و آهن را داشت. میزان هماتوکریت در تیمار ۲ اختلاف معنی‌داری با جیره ۳ نشان نداد. همچنین، تعداد گلبول‌های قرمز و سفید در سطح کمینه مواد معدنی به طور معنی‌دار افزایش یافت و در سطح بیشینه یا تیمار سه کاهش یافت، ولی در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. افزایش هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز خون را می‌توان ناشی از افزایش یون آهن در حد مطلوب در جیره ۲ دانست که با جذب بیشتر این یون توسط ماهی افزایش تعداد گلبول-های قرمز را سبب می‌شود و درصد هماتوکریت نیز متعاقباً افزایش می‌یابد (Timmons and Ebeling, 2013).

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که تیمارهای دارای مس سبب افزایش معنی‌دار هموگلوبین، تعداد گلبول-های قرمز و درصد هماتوکریت در ماهی تیلاپیا شده است. عناصری مانند مس در سطح مطلوب می‌توانند در ترکیب خون تغییراتی ایجاد کنند که اساساً با تنظیم اکسیژن در ماهی مرتبط است. با توجه به اطلاعات موجود در خصوص آزاد ماهیان و کپور ماهیان، نشان داده شده است که در پی

میانگین وزن نهایی انفرادی ماهی $121/5 \pm 4/1$ گرم و در تیمار ۲۵٪، $7/4 \pm 139/6$ گرم بود. افزوده شدن مواد معدنی پرمصرف مانند فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم که نقش ساختاری دارند و همچنین، مواد معدنی کم‌مصرف مانند آهن، مس، روی و منگنز در سطح کمینه سبب افزایش رشد می‌شوند. در حالی که اضافه شدن این مواد در حد بیشینه به دلیل ایجاد سمیت در غلظت زیاد ممکن است ایجاد استرس کند و رشد ماهی محدود شود (Rafiee and Saad, 2005). لذا می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش مواد معدنی در سطح ۷۵٪ غلظت محلول هوگلند رشد ماهی با محدودیت مواجهه نمی‌شود و ماهیان می‌توانند تا این سطح مواد معدنی را در جیره غذایی خود در فرایندهای فیزیولوژیک هضم تحمل کنند. پژوهش‌های مختلف نشان داده است که جیره پایه تیلاپیای نیل می‌تواند نیازهای ماهی تیلاپیا را در حین پرورش فراهم کند. این مقدار در بسیاری از جیره‌های پایه به ترتیب برای کلسیم، پتاسیم، منیزیم، فسفر، آهن، روی، منگنز، مس مقادیر ۱/۷، ۰/۵۳، ۰/۴۳، ۱/۴۸، ۰/۱، ۰/۰۶، ۰/۰۳ و ۰/۰۲۴ تعیین شده است (Rafiee and Saad, 2005). در این تحقیق، کمترین ضریب تبدیل غذا ۱/۱۵ در تیمار ۲ به دست آمد و با گروه شاهد و تیمار ۳ (بیشینه مواد معدنی) اختلاف معنی‌دار داشت. این مقدار کمتر از میزان ۱/۷ تا ۱/۸ به دست آمده از بسیاری از پژوهش‌ها در پرورش ماهی تیلاپیا در سازگان توأم ماهی و گیاه یا اکوپونیک است (Rafiee and Saad, 2005; Rakocy et al. 2012). می‌توان احتمال داد که افزودن مواد معدنی در جیره با تأمین عناصر معدنی مغذی سبب افزایش کارایی در هضم و جذب غذا توسط ماهی شود. سطح ۲۵٪ مواد معدنی که سطح کمینه در این تحقیق است، نسبت به سطح ۷۵٪ یا بیشینه تأثیر بیشتری بر میزان جذب و هضم غذا داشت. در این آزمایش مقدار غذای مصرفی روزانه وابسته به افزایش وزن توده و درصد وزنی ماهی‌ها نبود و به مقدار ثابتی برای کنترل میزان مواد مغذی وارد شده به روش غذادهی انجام شد. بنابراین، میزان غذادهی با افزایش وزن ماهی افزایش نیافت. ثابت بودن میزان غذا می‌تواند دلیلی برای پایین بودن میزان رشد ویژه در ماهی‌ها باشد. در این مطالعه رشد ویژه ۱/۶۱ گرم در روز بود و در مقایسه با نتایج حاصل از مطالعات دیگر

بیشتر مس در مدت زمان طولانی ممکن است سبب بروز اثرات نامطلوب و معکوسی بر تولید مولکول هم شود. به هر حال، شاخص‌های یاد شده در بیان وضعیت ایجاد شده چندان گویا نیستند. بر این اساس، در برخی سطوح یون‌های فلزی کم‌مصرف توانسته‌اند با افزایش این شاخص‌ها در جهت بهبود ظرفیت خون برای حمل اکسیژن برآیند. از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که در سطح کمینه مواد معدنی افزوده شده به جیره، شاخص‌های خونی افزایش یافته است و با افزایش این مواد در جیره، این شاخص‌ها محدود شده و در سطح بیشینه یا ۷۵٪ اثراتی مشابه جیره شاهد دارد. بنابراین، با افزودن سطح مشخصی از مواد معدنی در غذای ماهی تیلاپیا تأثیر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد در شاخص‌های خونی ایجاد نمی‌شود. لذا، تعیین بهینه یا بیشینه تحمل ماهی تیلاپیا و یا دیگر ماهیان به غلظت این عناصر و نیز تنظیم نسبت این عناصر باید تعیین شود که برای رسیدن به این نتایج، نیاز به پژوهش‌های گسترده‌تری است. بنابراین، می‌توان این نتیجه را گرفت که با افزایش غلظت این عناصر، برعکس کاهش تولید هموگلوبین و گویچه‌های قرمز اتفاق می‌افتد و با رسیدن به غلظت‌های زیاد نشانه‌های بروز سمیت آشکار خواهد شد و در ماهیان کم‌خونی رخ خواهد داد (McKim et al. 1970). در این مطالعه تغییرات معنی‌داری در میزان فعالیت باکتری-کشی سرم خون، که از شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی محسوب می‌شود در ماهی تیلاپیا، به دنبال استفاده از سطوح مختلف مواد معدنی، در جیره مشاهده گردید. در جیره ۳ (سطح ۷۵ درصد) سطح فعالیت باکتری‌کشی سرم افزایش معنی‌داری را نشان داد. نتایج به دست آمده نشان داد که افزایش مواد معدنی در جیره سبب افزایش میزان فعالیت باکتری‌کشی در سرم می‌شود و در سطح ۷۵٪، بیشترین افزایش را به‌طور معنی‌دار نسبت به شاهد نشان داد. نتایج این پژوهش نشان داد که بیشتر شدن غلظت مواد معدنی پرمصرف و کم‌مصرف سبب مهیا شدن شرایط ازدیاد ریزموجودات و خصوصاً باکتری‌ها در آب می‌شود. نشان داده شده است که افزایش حضور باکتری‌ها در آب، سبب افزایش این باکتری‌ها در روده می‌شود و ممکن است موجب مهار یا ایجاد یک پاسخ ایمنی شود. مکانیسم‌های دفاعی غیراختصاصی شامل عمل بیگانه‌خواری است که ماکروفاژها در این مکانیسم دفاعی

استفاده از یون مس، میزان هموگلوبین و هماتوکریت افزایش می‌یابد (Dixon et al. 1970; Dick, 1985; McKim, 1994; Svobodova et al. 1994). از سوی دیگر، در بعضی ماهی‌ها افزایش بیش از حد مس در جیره پاسخ معکوسی نشان داده است و باعث کاهش میزان هموگلوبین و درصد هماتوکریت خون خواهد شد. در مطالعه Singh و همکاران (۲۰۰۸) نشان داده شد که تغذیه طولانی مدت ماهی با مس می‌تواند سبب کاهش تعداد گویچه‌های قرمز و هموگلوبین در ماهی *Channa punctatus* پس از ۱۵، ۳۰ و حتی ۴۵ روز شود. مشابه عملکرد یون مس، افزایش بیش از حد یون روی در جیره نیز کاهش هموگلوبین، هماتوکریت و حتی تعداد سلول‌های قرمز خون را در مقادیر بیش از نیاز این یون‌ها بعد از ۱۵ روز در گربه ماهی هیبرید *Heteroclaris* نشان داده است (Kori-Siakpere and Ubogu, 2008). محققان دیگر از جمله Ololade و Ogini (۲۰۰۹) نشان دادند که در کنار کاهش دیگر شاخص‌های خونی، میزان هموگلوبین و درصد هماتوکریت در گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) نیز بعد از ۹۶ ساعت افزایش میزان روی در جیره، کاهش می‌یابد. علاوه بر این، غلظت‌های زیاد روی و مس در جیره غذایی می‌توانند سبب ایجاد کم‌خونی همولیتیک در ماهیان شوند. به عبارت دیگر، میزان هموگلوبین در خون ماهیان کاهش می‌یابد (Nikinmaa, ; Soivio, 1981, Sampath, 1998). در کنار موارد مطرح شده، حجم پلازما در ماهی باس راه راه (*Morone saxatilis*) زمانی که در معرض مس قرار گرفت، نیز افزایش یافت (Courtois and Meyerhoff, 1975). این مطالعات نشان می‌دهد که افزایش غلظت فلزاتی مانند مس روی و تا حدودی منگنز در جیره می‌تواند سبب افزایش تراکم سلول‌ها و مواد خونی شود. افزایش این عناصر در آب نیز تأییدی بر این موضوع است. بنابراین، تأثیر عناصر بر شاخص‌های خونی در ماهیان مختلف متفاوت است. البته این امر ممکن است به دلیل تفاوت در نوع ماهی، غلظت و مدت زمان در معرض قرارگیری و حتی نوع حضور این عناصر باشد. رخداد چنین وضعیتی می‌تواند در نتیجه تأثیر مثبت مس و در پی آن سرولوپلاسمین و آهن در بیوسنتز مولکول هم باشد. این در حالی است که غلظت‌های

باکتری‌های مفید آب و با استفاده از ترکیبات معدنی ویژه به عنوان جایگزین عوامل ضدپاتوژن (آنتی‌بیوتیک‌ها) استفاده کرد و علاوه بر کاهش اثرات سوء زیست محیطی این ترکیبات، دستگاه ایمنی ماهی را تقویت کرد.

در مطالعه حاضر، متوسط دمای آب ۲۶ درجه سانتی‌گراد در یک بازه بین ۲۵/۹ تا ۲۶/۱ بود. این دما برای تیلاپیا مناسب بود، اما اغلب گرمتر از دمای مناسب مورد نیاز برای گیاه است (Resh, 2012). pH در طول آزمایش ابتدا افزایش یافت، به این صورت که در شروع آزمایش و با استفاده از آب شهری، حدود ۷/۸ بود و به مرور افزایش یافت و به ۸/۵ در هفته پنجم رسید. با ادامه آزمایش به میانگین ۷/۹ کاهش یافت. در بین تیمارها تغییرات pH اختلاف معنی‌داری نداشت، در حالی که هفته پنجم به طور معنی‌دار در تمامی تیمارها افزایش یافت و در هفته دهم کاهش نشان داد. در طول آزمایش با اضافه شدن روزانه غذا به مخزن پرورش ماهی، آمونیاک دفع شده توسط ماهی به آمونیوم تبدیل شد و باعث شد که pH افزایش یابد. به تدریج با شکل‌گیری جمعیت باکتری‌های نیتروفيکانت از هفته پنجم طی فرآیند نیتریفیکاسیون، آمونیوم به نیتريت و نیترات تبدیل شد که آزاد شدن یون H^+ را به همراه داشت (Martins, 2010). این پدیده، اسیدی شدن آب را باعث شد که اصلی‌ترین دلیل کاهش قلیائیت محسوب می‌شود. با توجه به اینکه در طول آزمایش، جایگزینی آب وجود نداشت و فقط آب برای جبران تبخیر اضافه شد، بنابراین، سبب تغییرات قابل توجه در pH نشد و این شرایط برای همه واحدهای آزمایشی مشابه بود. در طی آزمایش EC با یک روند صعودی در تمامی تیمارها افزایش یافت و از شروع آزمایش که ۵۶۰ میکروزیمنس بر سانتی‌متر مربع بود، به میانگین حدود ۱۶۳۰ میکروزیمنس بر سانتی‌متر در بین تیمارها در پایان آزمایش رسید. براساس نتایج به دست آمده و افزایش EC، مواد مغذی کم‌مصرف و پرمصرف افزایش یافت که نشان‌دهنده تجمع مواد غذایی در آب در طی آزمایش است که با ورود غذا و دفع توسط ماهی ایجاد می‌شود. نتایج نشان می‌دهد که در بین مواد مغذی نیترات و کلسیم سریع‌تر و بیشتر تجمع می‌یابند و سبب افزایش EC می‌شوند. به دلیل عدم جایگزینی آب در طی آزمایش هیچ ماده مغذی از واحد گردشی آب خارج نشد.

مهمترین نقش را دارند. حضور باکتری‌های اسیدلاکتیکی سبب فعال‌سازی ماکروفاژها و در نتیجه، بروز پاسخ ایمنی غیراختصاصی در میزبان می‌شود. همچنین، فعالیت ماکروفاژها می‌تواند موجب افزایش آنزیم‌های آزاد شامل لیزوزیم و دیگر آنزیم‌های باکتری‌کش موجود در سرم خون شود. این موضوع توسط پژوهشگران دیگر نیز بیان شده و نشان داده شده است که افزایش ریزموجودات و باکتری‌های موجود در آب، سبب تحریک پاسخ ایمنی خواهند شد و به دنبال آن، افزایش کارایی دستگاه ایمنی رخ خواهد داد (Bouizgarne, 2013).

در یک مطالعه، بیماری میگوهای پرورشی با استفاده از باکتری‌های باسیلوس ارزیابی شد. نتایج نشان داد که این باکتری‌ها با افزایش پاسخ ایمنی در میگو، توانایی جایگزینی ترکیبات ضدپاتوژن مانند آنتی‌بیوتیک‌ها را دارند (Moriarty, 1998). همچنین، نشان داده شده است که امکان کنترل بیماری *Yersinia ruckeri* در ماهی قزل-آلای رنگین‌کمان با استفاده از دو باکتری *Bacillus subtilis* و *B. licheniformis* وجود دارد. ثابت شده است که این دو باکتری سبب افزایش مقاومت ماهی در برابر یرسینیوزیس می‌شوند. نتایج بررسی وی نشان داد که گروه‌های استفاده‌کننده از باکتری‌های باسیلوس بعد از گذشت ۴۲ روز به طور معنی‌دار ماندگاری بهتری در مقایسه با گروه شاهد داشته‌اند (Moriarty, 1998; Moriarty, 2002). علاوه بر افزایش پاسخ ایمنی غیراختصاصی مانند فعالیت لیزوزومی ثابت شده است که باسیلوس‌ها ترکیباتی تولید می‌کنند که مانع رشد باکتری‌های بیماری‌زا می‌شوند. در بین این گونه ترکیبات، باکتریوسین‌ها بیشترین اهمیت را دارند (Gildberg et al. 1997; Ali et al. 2000). این مواد از جنس پروتئین هستند و توسط برخی از سویه‌های باکتری‌ها از جمله باسیلوس‌ها ترشح می‌شوند. در مطالعه حاضر، نتایج حاصل از اندازه‌گیری فعالیت ترکیبات باکتری‌کش در سرم خون ماهی، حاکی از این است که در بچه‌ماهیانی با میانگین وزنی بالاتر که میکروفلور طبیعی روده آنها شکل گرفته، باسیلوس‌های اضافه شده در جیره توانسته‌اند در روده استقرار یافته و سطح ایمنی بدن را بالا ببرند. بنابراین، می‌توان برای بهبود سلامتی ماهیان در حین دوره پرورش از جمعیت

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش شاخص‌های رشد و خون‌شناسی از جمله افزایش گلبول‌های قرمز و هماتوکریت و دستگاه ایمنی که با افزایش گویچه‌های سفید و فعالیت‌های لیزوزیم، باکتری-کشی و کمپلمان در سرم خون ماهی در جیره‌های حاوی مواد معدنی بهینه‌تر از جیره شاهد بود و با افزایش مواد معدنی در جیره غذایی ماهی تیلاپیا، شرایط بهتری برای رشد ماهی ایجاد شد.

تشکر و قدردانی

به این وسیله مراتب تشکر و قدردانی صمیمانه خود را از کلیه اعضای هیئت علمی و کارشناسان دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران و دانشگاه صنعتی اصفهان اعلام می‌دارد.

منابع

رفیعی، غ.، ۱۳۸۴. کتاب راهنمای آبکشت. (ترجمه)، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۴۰ ص.
قبادی، ش.، متین فر، ع.، نظامی، ش.ع.، سلطانی، م. ۱۳۸۸. عملکرد مکمل آنزیمی آویزیم بر جایگزینی آرد ماهی با آرد سویا و تأثیر آن بر رشد و بازماندگی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فن آوریهای نوین در توسعه آبی پروری (شیلات) ۳: ۲۲-۱۱.

Abentin, E., Syafiqah, S., Saleem, M. 2018. Water quality remediation using aquaponics sub-systems as biological and mechanical filters in aquaculture. *Journal of Water Process Engineering* 30: 45-57.
Ali, A. 2000. Probiotics in the fish farming. Evaluation of a bacterial mixture. PhD thesis Swedish University of Agriculture Sciences. Umea, Sweden.
Bouizgarne, B. 2013. Bacteria for plant growth promotion and disease management. In Maheshwari, D. *Bacteria in Agrobiolgy: Disease Management*,

بنابراین، افزایش EC مشاهده شد. تیمار ۳ کمترین مقدار مواد معلق و بیشترین مقدار مواد محلول در آب را نشان داد. در اثر فعالیت باکتری‌ها و افزایش توان تجزیه زیستی، مواد جامد معلق در آب تجزیه و به‌صورت معدنی در آمد و سبب افزایش هدایت الکتریکی شد. نتایج این پژوهش نشان داد که با تغذیه ماهیان با غذای حاوی مواد معدنی هدایت الکتریکی آب افزایش می‌یابد و در غلظت بیشینه مواد معدنی (سطح ۷۵٪) میزان هدایت الکتریکی در بازه مناسب برای کشت گیاهانی مانند کاهو و دیگر گیاهان به روش هیدروپونیک قرار می‌گیرد. با کشت گیاه در چنین روشی، مواد معدنی خصوصاً ترکیبات نیتروژن‌دار از آب جذب می‌شوند و به این طریق می‌توان یک سازگان متعادل زیستی را از طریق خودپالایی متابولیت‌ها توسط عملکرد باکتری‌ها و فتوسنتزکنندگان ایجاد کرد (Rafiee and Saad, 2005, 2006). در این شرایط، نیازی به تعویض آب در سازگان پرورشی نیست. در غیر این صورت، سازگان نیاز به تعویض آب به میزان ۳/۶ تا ۵/۲٪ در روز را برای حذف ترکیبات نیتروژن‌دار و کاهش هدایت الکتریکی خواهد داشت تا از تجمع مواد غذایی اضافی جلوگیری شود (Rafiee and Saad, 2005). در این مطالعه، نشان داده شد که افزایش مواد معدنی تا سطح ۷۵٪ در جیره غذایی ماهی تأثیری بر عملکردهای زیستی و سوخت‌وساز و ایمنی ماهی ندارد. در این شرایط، شاخص‌های کیفیت آب را می‌توان برای یک دوره پرورش ماهی و گیاه، در حد مناسب‌تری برای تولید گیاهان خشکی‌زی و ماهی در یک سازگان آکوپونیک بهبود بخشید.

Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, 15-47.
Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Bruns, D.E. 2012. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. 6th ed. Elsevier Health Sciences Press. United States of America, 952 p.
Courtois, LA., Meyerhoff, R.D. 1975. Effects of copper exposure on water balance. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 14: 221-224.
Dick, P., Dixon, D. 1985. Changes in circulating blood cell levels of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson,

- following acute and chronic exposure to copper. *Journal of Fish Biology* 26: 475-481.
- Gildberg, A., Mikkelsen, H., Sandaker, E., Ringo, E. 1997. Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of fry of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Hydrobiologia* 352: 279-285.
- Heath, AG. 1995. *Water Pollution and Fish Physiology*. CRC press. Washington, 384 p.
- Kajita, Y., Sakai, M., Atusta, S., Kobayashi, M. 1990. The immunomodulatory effects of levamisole on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Pathology* 25: 93-98.
- Kori-Siakpere, O., Ubogu, E.O. 2008. Sublethal haematological effects of zinc on the freshwater fish, *Heteroclaris* sp. (Osteichthyes: Clariidae). *African Journal of Biotechnology* 7: 2068-2073.
- Lie, O., Evansen, O., Sorensen, A., Froysadal, E. 1989. Study of lysozyme in some fish species. *Diseases of Aquatic Organisms* 6: 1-5.
- Love, D.C., Fry, J.P., Genello, L., Hill, E.S., Frederick, J.A., Li, X.; Semmens, K. 2014. An international survey of aquaponics practitioners. *PLoS One* 9: e102662.
- Martins, C.I.M., Eding, E.H., Verdegem, M. C.J., Heinsbroek, L.T.N., Schneider, O., Blancheton, J.P., d'Orbcastel, E.R., Verreth, J.A.J. 2010. New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability. *Aquaculture Engineering* 43: 83-93.
- McKim, J., Christensen, G., Hunt, EP. 1970. Changes in the blood of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) after short-term and long-term exposure to copper. *Journal of Fisheries Board of Canada* 10: 1883-1889.
- Moriarty, D.J.W. 1998. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture* 164: 351-358.
- Moyner, K., Roed, K.H., Sevatdal, S., Heum, M. 1993. Changes in non-specific immune parameters in Atlantic Salmon, *Salmo salar* L, induced by *Aeromonas salmonicida* infection. *Fish and Shellfish Immunology* 3: 253-265.
- Ololade, I., Ogini, O. 2009. Behavioural and hematological effects of zinc on African catfish, *Clarias gariepinus*. *International Journal of Fisheries and Aquaculture* 1: 22-27.
- Rafiee, Gh., Saad, Ch.R. 2006. The effect of natural zeolite (Clinoptilolite) on Aquaponics production of red tilapia (*Oreochromis* sp.) and Lettuce (*Lactuca sativa* var. longifolia), and improvement of water quality. *Iranian Journal of Agricultural Sciences and Technology* 8: 313-322.
- Rafiee, Gh., Saad, Ch.R. 2005. Nutrient cycle and sludge production during different stages of red tilapia (*Oreochromis* sp.) growth in a recirculating aquaculture system. *Aquaculture* 244: 109-118.
- Rafiee, Gh., Saad, Ch.R. 2006. The effect of natural zeolite (clinoptilolite) on aquaponic production of red tilapia (*Oreochromis* sp.) and lettuce (*Lactuca sativa* var. longifolia), and improvement of water quality. *Journal of Agricultural Sciences and Technology* 8: 313-322.
- Rakocy, J.E., Losordo, T.M., Masser, M.P. 1992. *Recirculating Aquaculture Tank Production Systems: Integrating Fish and Plant Culture*. SRAC Publication, Southern Region Aquaculture Center, Pub. 454, USA. 12 p.
- Rakocy, J.E. Masser, M.P., Losordo, T.M. 2012. *Aquaponics-Integrating Fish and Plant Culture*. Oklahoma Cooperative Extension Service, 454: 1-16.
- Resh, H.M. 2012. *Hydroponic Food Production: A definitive guidebook for the advanced home gardener and the commercial hydroponic grower*. CRC Press: Boca Raton, FL, 560p.

- Sampath, K., James, R., Ali, K.A. 1998. Effects of copper and zinc on blood parameters and prediction of their recovery in *Oreochromis mossambicus* (Pisces: Cichlidae). *Indian Journal of Fisheries* 45: 129-139.
- Singh, D., Nath, K., Trivedi, S., Sharma, Y. 2008. Impact of copper on haematological profile of freshwater fish, *Channa punctatus*. *Journal of Environmental Biology* 29: 253-267.
- Soivio, A., Nikinmaa, M. 1981. Swelling of erythrocytes in relation to the oxygen affinity of the blood of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. In: Pickering, AD. (ed). *Stress and Fish*. Academic Press, 103-119
- Sonneveld, C., Voogt, W. 2009. *Plant Nutrition of Greenhouse Crops*. Springer Netherlands, 431p.
- Steffen, W., Richardson, K., Rockström, J., Cornell, S. E., Fetzer, I., Bennett, E. M., Biggs, R.; Carpenter, S. R., De Vries, W., De Wit, C. A., Folke, C.; Gerten, D., Heinke, J., Mace, G. M., Persson, L. M.; Ramanathan, V., Reyers, B., Sörlin, S. 2015. Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. *Science* 347: 736-743.
- Svobodova, Z., Vykusova, B., Machova, J., Müller, R., Lloyd, R. 1994. Sublethal Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fish. In: Muller, R., Lloyd, R., Lugano, 39-52.
- Timmons, M.B., Ebeling, J.M. 2013. *Recirculating Aquaculture*; 3rd ed.; Ithaca Publishing Company LLC: Ithaca, NY, 788p.
- Yildiz, H. Y., Robaina, L.; Pirhonen, J., Mente, E., Dominguez, D., Parisi, G. 2017. Fish welfare in aquaponic systems: Its relation to water quality with an emphasis on feed and faeces - A review. *Water* 9: 1-17.

Effects of different levels of inorganic supplementation in hydroponic system on growth and hemato-immunological responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

Ebrahim Mottaghi¹, Gholamreza Rafiee^{2*}, Alireza Mirvaghefi², Bagher Mojazi Amiri², Eisa Ebrahimi Dorcheh³

Received 05 March 2019; accepted 06 August 2019

Abstract

The aim of the present study was to investigate the effect of different levels of inorganic supplements in hydroponic system with the water recycle system on some parameters related to the Nile tilapia health status. So, 180 fish weighing 30 ± 3.8 g was divided into 9 experimental units (3 for each treatment). The treatments included diets supplemented with 25% (T₂) and 75% (T₃) inorganic minerals in hydroponic system. The control group (T₁) fed diet with no supplementation. Following 70 days, blood samples were collected from caudal vein of 5 fish. Results indicated significant alterations in hematological and immunological indices in treatments compared to control ($p < 0.05$). Generally, the intestine epithelium development in addition to the enhanced hematological and immune indices indicates the better health status in Nile tilapia following dietary manipulation by inorganic supplementation.

Keywords: Tilapia, Immune system, Hematological factors, Diet

Corresponding author: ghrafiee@ut.ac.ir