



## تأثیر سطوح مختلف مکمل ساپونین کویلاجا بر عملکرد رشد و تغذیه، فعالیت آنزیم‌های گوارشی، ایمنی غیر اختصاصی و کیفیت آب مخازن پرورش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در سیستم بیوفلاک

امین شیخ، حسین آدینه\*، حجت‌ا... جعفریان، بهروز محمدزاده

گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران

### چکیده

این مطالعه با هدف بررسی اثرات سطوح مختلف ساپونین کویلاجا در جیره غذایی بر عملکرد رشد، آنزیم‌های گوارشی، کیفیت آب و پاسخ ایمنی ماهی کپور معمولی در سیستم بیوفلاک انجام شد. ماهی‌ها ( $8/06 \pm 0/59$  گرم) به مدت ۶۰ روز با جیره‌های حاوی ۰ (BC)، ۱۵ (BS1)، ۳۰ (BS2) و ۶۰ (BS3) میلی‌گرم بر کیلوگرم پودر ساپونین تغذیه شدند. عملکرد رشد و پروتئاز در ماهیان تغذیه شده با جیره ساپونین در محیط بیوفلاک به طور معنی‌داری بالاتر بود ( $p < 0/05$ ) در حالی که هیچ تأثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی و آنزیم لپاز نداشت ( $p > 0/05$ ). غلظت نیتروژن آمونیاک کل در گروه‌های تغذیه شده با ساپونین به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ( $p < 0/05$ ). بیشترین میزان فعالیت ایمونوگلوبولین کل سرم، فعالیت لیزوزیم و مسیر فرعی کمپلمان (ACH50) در جیره حاوی پودر ساپونین در سیستم بیوفلاک مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). نتایج حاضر نشان می‌دهد که ساپونین کویلاجا می‌تواند به عنوان یک افزودنی خوراکی بالقوه برای ماهیان پرورشی در سیستم بیوفلاک استفاده شود.

### واژه‌های کلیدی:

پودر ساپونین، عملکرد تولید، ماهی کپور، بیوفلاک.

### نوع مقاله:

پژوهشی اصیل

### تاریخچه مقاله:

دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۲۷

پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۲

### نویسنده مسئول مکاتبه:

حسین آدینه، گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران.

ایمیل: [adineh.h@gmail.com](mailto:adineh.h@gmail.com)

### ۱ | مقدمه

صنعت آبی‌پروری در طی سالیان اخیر رشد و توسعه قابل توجهی داشته است به طوری که میزان رشد آن قابل قیاس با سایر بخش‌های تولید کننده غذا برای انسان نیست. در سال‌های اخیر در کنار این رشد قابل توجه، آبی‌پروری همواره با مشکلاتی از قبیل تغییر کیفیت آب و مشکلات تغذیه‌ای مواجه بوده است (Hoseinifar *et al.*, 2015)، زیرا این دو عامل در محیط پرورش می‌تواند بر سلامت ماهی اثرگذار باشد. یکی از راه‌های حفظ کیفیت آب و تامین غذا استفاده از سیستم‌های مدرن پرورش آبزیان همچون سیستم بیوفلاک است. تکنولوژی بیوفلاک به عنوان یک سیستم آبی‌پروری دوست‌دار محیط زیست و بر پایه رشد میکروارگانیسم در محیط پرورش استوار است و بخاطر تبادل کم آب یا عدم تبادل آب، سیستمی سودمند و مفید می‌باشد. این میکروارگانیسم‌ها دو نقش مهم دارند که شامل حفظ کیفیت آب (جذب ترکیبات نیتروژنی در تولید پروتئین میکروبی) و تغذیه (کاهش هزینه‌های غذایی) می‌باشد (Emerenciano *et al.*, 2013). از آنجائی که تحقیقات نشان داده است که همه گونه‌های آبی‌زی نمی‌توانند در سیستم بیوفلاک عملکرد مناسبی داشته باشند بنابراین آبزیانی همچون ماهی کپور معمولی با داشتن رژیم غذایی همه‌چیزخواری، فیلترکنندگی و قابلیت سازگاری دستگاه گوارش به جذب بهتر ذرات میکروبی کاندیدی

مناسبی برای زیست در محیط ضد استرس بیوفلاک می‌باشد (Adineh *et al.*, 2019).

ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) از جمله ماهیان گرمابی است که به طور گسترده به سراسر دنیا معرفی شده و دارای ارزش اقتصادی بالایی است (Rahman, 2015). میزان تولید جهانی این گونه در سال ۲۰۱۸ در حدود ۸۲/۱ میلیون تن بوده که نسبت به سال قبل در حدود ۳/۲ درصد رشد داشته است (FAO yearbook, 2020). این گونه بدلیل ارزش پروتئینی زیاد، سریع‌الرشد بودن، سهولت پرورش و بازدهی بالای تولید، تغذیه از طیف وسیع مواد غذایی در استخر، تراکم-پذیری بالا و تحمل نوسانات دمایی و اکسیژن به عنوان یکی از گونه‌های اصلی پرورش در ایران و جهان شناخته شده است.

ساپونین‌ها به عنوان متابولیت‌های ثانویه گیاهی و پلی‌فنول‌ها دارای اثرات زیادی بر بهبود کیفیت آب و افزایش راندمان فرایند هضم و جذب مواد مغذی دارد (Cheeke *et al.*, 2006). وجود ساپونین در غذای ماهی در غلظت‌های بالا مانند یک ماده ضد مغذی باعث بروز اثرات منفی بر روی رشد و بازماندگی می‌شوند (Cheeke, 1996). از سوی دیگر ساپونین به خاطر دارا بودن ترکیبات فعال می‌تواند برای ماهی سودمند باشد. مواد اولیه غنی از ساپونین با آمونیم تشکیل پیوند

به‌منظور تسریع در تشکیل فلاک دو مخزن مدور با حجم آبگیری ۴۰ لیتر (۲۰ لیتر آب مزرعه پرورش ماهی و ۲۰ لیتر آب معمولی) تهیه و تعداد ۱۰ قطعه ماهی کپور در مخازن رهاسازی شد. غذادهی روزانه به‌میزان ۲ درصد وزن بدن با جیره حاوی ۳۸/۴ درصد پروتئین جهت تامین ازت انجام شد. برای تامین کربن از شکر (کربن حدود ۰/۹۹٪) حل شده در آب یک ساعت پس از غذادهی استفاده شد (Adineh et al., 2019; Hargreaves, 2013). در زمان تشکیل فلاک اولیه دمای آب بالای ۲۲ درجه‌سانتی‌گراد، هوادهی شدید و محیط تاریک فراهم شد. زمانیکه مقدار جامدات معلق کل در آب (TSS) در محدوده ۲۵۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود، هوادهی قطع و استوک بیوفلاک از توری با چشمه ۱۰ میکرومتر عبور داده شد. مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر در لیتر از استوک اولیه بیوفلاک فیلترشده به هر مخزن آزمایشی اضافه شد (Xu and Pan, 2013).

۲۵۰ قطعه ماهی کپور معمولی تهیه و به آزمایشگاه شیلات دانشگاه گنبد کاووس جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاهی به‌مدت ۱۰ روز انتقال داده شد. ۱۸۰ قطعه ماهی با میانگین وزن  $± ۰/۵۹$  گرم در ۱۲ تیمار آزمایشی (هر یک با ۳ تکرار) در سیستم بیوفلاک تحت تغذیه با سطوح مختلف ساپونین بطور تصادفی جایابی شدند. تغذیه روزانه ۲/۵ درصد وزن بدن با تنظیم نسبت کربن به ازت (۱۵:۱) به‌مدت ۶۰ روز انجام شد (Adineh et al., 2022).

در طول دوره آزمایش، حجم فلاک توسط کیف ایمهوف مشاهده و ثبت گردید. درجه حرارت آب و غلظت اکسیژن محلول توسط دستگاه پورتابل کیفیت سنج آب اندازه‌گیری شد. کلیات به روش تیتراسیون و غلظت فسفات، آمونیاک کل (TAN) و نیترات توسط دستگاه اسپکتروفتومتر بر اساس استاندارد آزمایشگاهی سنجش شد (APHA, 1998).

پایان آزمایش با اندازه‌گیری وزن ماهی توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ و طول کل ماهی بوسیله تخته بیومتری با دقت ۰/۱ سانتی-متر و بکارگیری فرمول‌های ذیل برخی از شاخص‌های رشد و تغذیه محاسبه گردید:

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

برای تخلیه مواد اضافی از روده ماهیان به‌مدت ۲۴ ساعت قطع غذادهی انجام شد. از هر تکرار ۳ قطعه ماهی (۹ قطعه از هر تیمار) بطور تصادفی صید و محوطه شکم با الکل ضدعفونی سپس روده از بدن جدا و توسط سرم فیزیولوژی شست‌وشو شد. نمونه‌های هر تکرار درون

داده و از میزان آزادسازی آن می‌کاهد (Cheeke, 1996; Makkar et al., 1999). همچنین از آن‌ها به‌عنوان یک مکمل غذایی به‌منظور تعدیل فلور میکروبی در روده، نقش آن در سیستم ایمنی و جذب مواد مغذی، کاهش غلظت آمونیاک استفاده می‌شود (Cheeke et al., 2006). استفاده از ساپونین‌ها به‌عنوان ترکیبات حامل کمی در تجویز واکسن‌های خوراکی، از بین برنده پروتوزوا و قارچ، کنترل انگل‌های روده، اثرات ضد تورم مفاصل بر متابولیسم نیتروژن در نشخوارکنندگان تأثیرگذار بوده و باعث کاهش اوره و آمونیاک سرم می‌گردد. بر اساس گزارشات منتشر شده، ساپونین‌ها به‌عنوان پلی‌فنول‌های گیاهی دارای اثرات زیادی بر کاهش غلظت آمونیاک و تحریک سیستم ایمنی و جذب مواد غذایی دارد و بکارگیری تکنولوژی بیوفلاک به‌عنوان یک سیستم مدرن برای پرورش آبزیان توسط بسیاری از محققین در سال‌های اخیر توصیه شده است، بنابراین هدف از اجرای این پژوهش بکارگیری مکمل ساپونین در جیره غذایی ماهی کپور پرورش یافته در سیستم بیوفلاک به‌منظور بهبود عملکرد رشد، ایمنی و کاهش ترکیبات نیتروژنی آب است.

## ۲ | مواد و روش‌ها

ساپونین کویلاجا (*Quillaja saponin*) ساخت شرکت سیگما آلدریج آمریکا (Sigma- Aldrich, USA) تهیه شد. برای آماده‌سازی جیره پایه اقلام غذایی مانند پودر ماهی، پودر گوشت، آرد سویا، آرد گندم، پودر ذرت، روغن ماهی، روغن سویا، لیزین، متیونین، مکمل ویتامینه و مکمل معدنی تهیه و توسط نرم‌افزار جیره‌نویسی UFFDA تنظیم گردید (جدول ۱). بعد از تهیه اقلام غذایی، ابتدا مواد اولیه آسیاب سپس توسط الک ۱۰۰ میکرونی عبور داده تا مواد به‌صورت پودری و همگن شود. برای تهیه خمیر از آب استریل استفاده شد و سپس خمیر به ۴ قسمت مساوی تقسیم گردید. ۴ تیمار آزمایشی حاوی سطوح صفر (شاهد)، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم پودر ساپونین در کیلوگرم غذای پایه بطور مجزا آماده گردید. خمیر آماده شده هر تیمار بطور مجزا از چرخ گوشت عبور داده شده تا رشته‌های غذایی تهیه و سپس خشک گردید. غذای ساخته شده پس از خورد شدن به اندازه سایز دهان ماهی بسته‌بندی و در یخچال نگهداری شد.

جدول ۱- اجزای تشکیل‌دهنده و آنالیز تقریبی جیره حاوی ساپونین کویلاجا

اقلام غذایی	درصد	آنالیز تقریبی غذا	درصد
پودر ماهی	۱۵	ماده خشک	۹۱/۳
پودر گوشت	۱۵	پروتئین (٪)	۳۸/۲
آرد سویا	۲۰	چربی	۸/۶۶
آرد گندم	۳۴	خاکستر	۸/۸۹
آرد ذرت	۱۰		
روغن ماهی	۱/۵		
روغن سویا	۱/۵		
لیزین	۰/۴		
متیونین	۰/۶		
مکمل ویتامینه	۱		
مکمل معدنی	۱		

Sunyer and Tort, 1995) alternative (ACH<sub>50</sub>) به روش سانیر و تورت، تعیین شد، بدین منظور فعالیت مکمل بر اساس همولیز گلبول‌های قرمز خرگوش اندازه‌گیری گردید. گلبول‌های قرمز خرگوش سه مرتبه با بافر اتیلن گلیکول تتراسد-اسید-منیزیم-ژلاتین ورنال شسته شده و تعداد سلول‌های آن به کمک لام نئوبار در هر میلی لیتر بافر  $10^8 \times 2$  سلول در میلی لیتر تنظیم شد. ابتدا جذب نوری لیز ۱۰۰ درصد گلبول‌های قرمز خرگوش با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون فوق به  $3/4$  میلی لیتر 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  $3/15$  میلی لیتر محلول  $0/85$  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.

پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون شاپیرو-ولیک (Shapiro-Wilk Test) از آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) برای مقایسه آماری تیمارها و از روش دانکن برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها تیمارهای آزمایشی در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد ( $p < 0/05$ ). برای رسم نمودار از نرم افزار Excel و تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS در محیط ویندوز استفاده گردید.

### ۳ | نتایج

نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری پارامترهای رشد و تغذیه ماهی کپور تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل ساپونین کویلاجا در سیستم بیوفلاک در جدول ۲ ارائه شده است. وزن اولیه با میانگین  $8/06 \pm 0/59$  گرم بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت آماری نداشت. پس از ۶۰ روز دوره پرورش پارامترهای رشد همچون وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و ضریب چاقی بین تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل ساپونین کویلاجا در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف آماری معنی‌داری داشت ( $p < 0/05$ ). نتایج نشان داد که پارامترهای فوق الذکر تفاوت معنی‌دار آماری بین تیمارهای با سطوح ۱۵، ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل ساپونین کویلاجا (BS1، BS2 و BS3) نداشت ( $p > 0/05$ ). مقادیر بدست آمده از کارایی تبدیل پروتئین، ضریب تبدیل غذایی و کارایی تبدیل غذا بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری وجود نداشت ( $p > 0/05$ ).

نتایج به دست آمده از آنالیز آماری فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل ساپونین کویلاجا در سیستم بیوفلاک در شکل ۱ آمده است. غلظت آنزیم پروتئاز افزایش معنی‌دار آماری در تیمارهای تغذیه در مقایسه با تیمار شاهد داشت درحالی‌که مقدار پروتئین بدست آمده از روده کاهش معنی‌دار

میکروتیوب‌های استریل درب دار قرار داده و سپس در فریزر با دمای  $-80$  درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز آنزیم‌های گوارشی آمیلاز، لیپاز و پروتئاز ذخیره‌سازی شدند. برای انجام آنالیز، نمونه‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت  $0/001$  گرم و سپس به نسبت وزنی-حجمی (۱ به ۹) محلول بافر هموژن شد (Cahu *et al.*, 1999). جهت تهیه عصاره آنزیمی ابتدا بافر ساخته شد که بدین منظور ۱۰۰ میلی‌مولار Tris-HCl،  $0/1$  میلی‌مولار EDTA،  $0/1$  درصد Triton در پی‌اچ  $7/8$  با هموژن شدند (Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2002). نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد که در نهایت مایع رویی به دست آمده به عنوان عصاره آنزیمی برای سنجش جدا گردید. فعالیت آنزیم آمیلاز به روش دستی با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی و فعالیت آنزیم لیپاز به روش آنزیمی، کالریمتری 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 (Worthington, 1993) و فعالیت لیپاز با هیدرولیز  $0/5$  میلی‌مولار از p-nitrophenyl myristate،  $0/25$  میلی‌مولار از 2-methoxy ethanol،  $5$  میلی‌مولار از sodium cholate و  $0/25$  مولار بافر Tris/HCl مورد سنجش قرار گرفت (Iijima *et al.*, 1998).

پایان دوره تغذیه برای سنجش فاکتورهای خونی از هر تکرار بطور تصادفی ۳ قطعه ماهی صید گردید. برای جداسازی سرم، لوله‌های سرولوژی فاقد ماده ضد انعقاد به مدت یک ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه نگهداری و پس از ته‌نشین شدن لخته، در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار با سرعت  $5000$  دور در ثانیه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد (Adineh *et al.*, 2021). 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  $-80$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پروتئین و گلوکز سرم خون با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد (Borges *et al.*, 2004). فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP)، آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) سرم با استفاده از کیت‌های تجاری پارس آزمون (کرج، ایران) و با دستگاه آنالیزور بیوشیمیایی خودکار تعیین شدند. میزان ایمنوگلوبولین کل توسط کیت مخصوص شرکت پارس آزمون به روش کدورت‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. برای تعیین میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روش ارائه شده توسط (Ellis, 1990) استفاده شد. مقدار ۲۵ میکرولیتر از پلاسما به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای شکل الیزا افزوده شد. سپس مقدار ۱۷۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococcus Lysodeikticus*) در غلظت  $0/02$  میلی‌گرم در لیتر در  $0/5$  مولار بافر فسفات با پی‌اچ  $6/2$  اضافه شد. با استفاده از دستگاه الیزا ریدر Bio-Tek آمریکا جذب نوری اولیه در طول موج  $530$  nm قرائت و پس از یکساعت نگهداری در دمای اتاق، مجدداً جذب نوری اندازه‌گیری شد. هر واحد از فعالیت لایزوزیم بر اساس کاهش جذب ( $0/001$  در دقیقه) تعیین شد. فعالیت مکمل

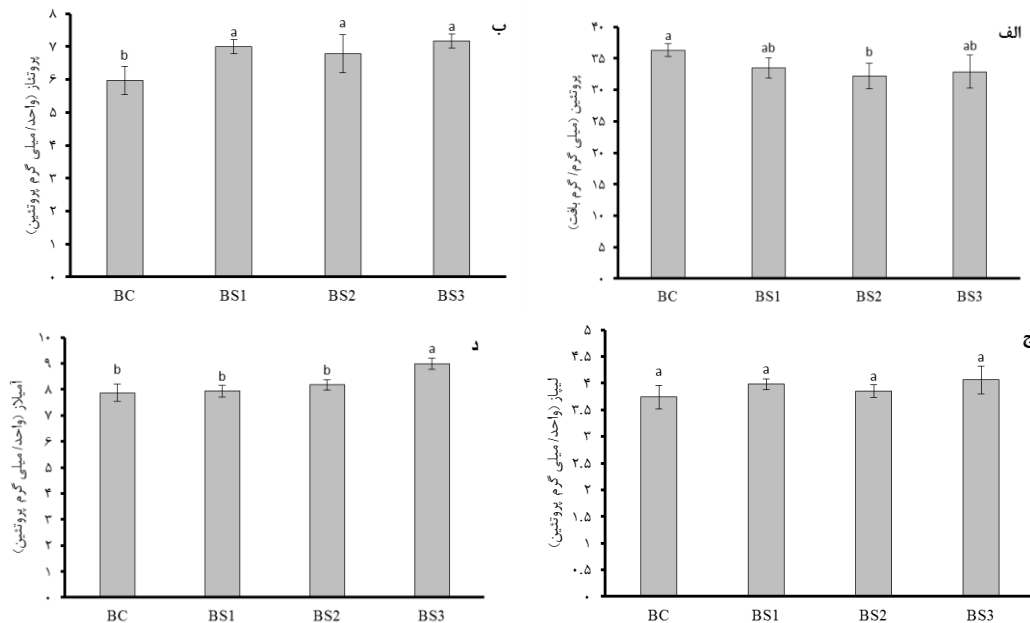
نشان داد ( $p < 0.05$ ). غلظت آنزیم لیپاز بین تیمارهای مختلف تغذیه-ای با تیمار شاهد تفاوت آماری معنی‌دار نداشت ( $p > 0.05$ ). غلظت آنزیم آمیلاز در تیمار BS3 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار آماری داشت ( $p < 0.05$ ).

جدول ۲- پارامترهای رشد و تغذیه ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف ساپونین کویلاجا به مدت ۶۰ روز در

سیستم بیوفلاک

تیمارها	معیارها	BC (شاهد؛ ۰ میلی‌گرم)	BS1 (۱۵ میلی‌گرم)	BS2 (۳۰ میلی‌گرم)	BS3 (۶۰ میلی‌گرم)
وزن اولیه (گرم)		۸/۰۳ ± ۰/۶۲	۸/۲۰ ± ۰/۵۰	۸/۱۰ ± ۰/۷۲	۷/۹۴ ± ۰/۵۴
وزن نهایی (گرم)		۱۳/۹۸ ± ۱/۰۵ <sup>b</sup>	۱۶/۲۴ ± ۱/۳۰ <sup>a</sup>	۱۶/۳۸ ± ۱/۵۰ <sup>a</sup>	۱۶/۲۵ ± ۰/۹۵ <sup>a</sup>
افزایش وزن (گرم)		۵/۹۵ ± ۱/۲۲ <sup>b</sup>	۸/۰۳ ± ۱/۳۲ <sup>a</sup>	۸/۲۸ ± ۱/۴۶ <sup>a</sup>	۸/۳۰ ± ۰/۹۶ <sup>a</sup>
نرخ رشد ویژه		۰/۹۲ ± ۰/۱۷ <sup>b</sup>	۱/۱۳ ± ۰/۱۵ <sup>a</sup>	۱/۱۷ ± ۰/۱۷ <sup>a</sup>	۰/۹۹ ± ۰/۱۲ <sup>a</sup>
ضریب چاقی		۱/۰۶ ± ۰/۱۴ <sup>b</sup>	۱/۴۷ ± ۰/۳۸ <sup>a</sup>	۱/۳۷ ± ۰/۲۳ <sup>a</sup>	۱/۴۱ ± ۰/۲۹ <sup>a</sup>
کارایی تبدیل پروتئین		۱/۶۷ ± ۰/۲۷	۱/۸۰ ± ۰/۳۷	۱/۸۴ ± ۰/۳۱	۱/۹۰ ± ۰/۲۴
ضریب تبدیل غذایی		۱/۷۳ ± ۰/۲۵	۱/۶۴ ± ۰/۲۶	۱/۵۷ ± ۰/۲۵	۱/۵۸ ± ۰/۱۹
کارایی تبدیل غذا		۵۸/۹۴ ± ۸/۴۸	۶۲/۴۱ ± ۱۰/۷۲	۶۵/۲۵ ± ۱۱/۹۶	۶۳/۸۳ ± ۸/۰۲

حروف انگلیسی غیر مشابه در هر ردیف نشان از وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ( $p < 0.05$ ).



شکل ۱- ترشحات آنزیم‌های گوارشی روده ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف ساپونین کویلاجا در سیستم بیوفلاک. حروف غیر مشابه در هر ستون نشان از تفاوت معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ( $p < 0.05$ ). حروف BC، BS1، BS2 و BS3 به ترتیب دوزهای ۰ (شاهد)، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم پودر مکمل ساپونین کویلاجا در کیلوگرم غذای پایه

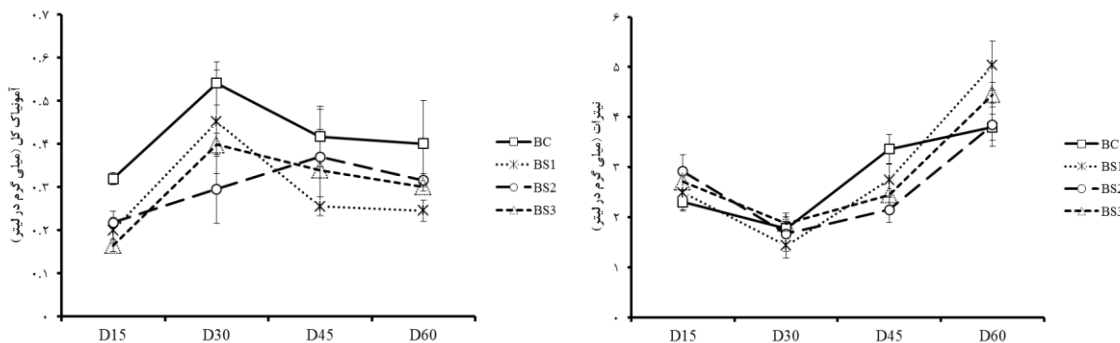
در جدول ۴ آمده است. پروتئین کل و آلومین در تیمار شاهد (BC) در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی کاهش معنی‌دار آماری داشت ( $p < 0.05$ ). آنزیم‌های کبدی همچون آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در تیمار شاهد در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار آماری داشت ( $p < 0.05$ ). مقادیر غلظت برخی از فاکتورهای ایمنی در شکل ۳ آمده است. غلظت ایمنوگلوبولین کل و فعالیت لیزوزیم بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار آماری داشت ( $p < 0.05$ ) به طوری که بیشترین و کمترین مقادیر به ترتیب در تیمارهای BS1 و BS2 بدست آمد. مسیر فرعی کمپلمان در تیمار BS2 افزایش معنی‌دار آماری در مقایسه با تیمار شاهد BS داشت ( $p < 0.05$ ).

کیفیت آب محیط بیوفلاک حاوی ماهی کپور تغذیه شده با سطوح مختلف پودر ساپونین کویلاجا در جدول ۳ آمده است. در طول دوره پرورش سنجش فاکتورهای آب مانند حجم فلاک، درجه حرارت، اکسیژن، فسفات و قلیائیت انجام شد که نشان از عدم تفاوت معنی‌دار آماری بین تیمارهای مختلف آزمایشی در سیستم بیوفلاک بود ( $p > 0.05$ ). مقادیر آمونیاک کل و نیترات در روزهای ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ آزمایش مورد سنجش قرار گرفت (شکل ۲). نتایج آنالیز آمونیاک کل نشان از افزایش آن در روز ۳۰ آزمایش در مقایسه با دیگر روزهای آزمایشی بود در حالی که در آن زمان مقدار نیترات کاهش یافت. نتایج بدست آمده از سنجش پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی کپور تغذیه شده با سطوح مختلف پودر ساپونین کویلاجا در محیط بیوفلاک

جدول ۳- کیفیت آب محیط پرورش ماهی کپور تغذیه شده با سطوح مختلف پودر ساپونین کویلاجا در محیط بیوفلاک

BS3 (۶۰ میلی گرم)	BS2 (۳۰ میلی گرم)	BS1 (۱۵ میلی گرم)	BC (شاهد؛ ۰ میلی گرم)	تیمارها
۱۵/۸۶ ± ۲/۱۳	۱۵/۱۶ ± ۱/۵۸	۱۷/۱۶ ± ۱/۲۵	۱۶/۵۳ ± ۱/۴۰	حجم فلاک (میلی لیتر در لیتر)
۲۵/۱۰ ± ۰/۱۰	۲۵/۱۳ ± ۰/۱۵	۲۵/۳۰ ± ۰/۳۶	۲۴/۹۰ ± ۰/۲۶	درجه حرارت (سانتیمتر)
۷/۳۸ ± ۰/۱۶	۶/۹۸ ± ۰/۰۸	۷/۳۹ ± ۰/۳۴	۷/۴۰ ± ۰/۲۴	اکسیژن (میلیگرم در لیتر)
۰/۲۷ ± ۰/۰۲	۰/۲۳ ± ۰/۰۴	۰/۲۳ ± ۰/۰۳	۰/۳۱ ± ۰/۰۶	فسفات (میلیگرم در لیتر)
۵۰۳/۸۶ ± ۱۲/۶۹ <sup>b</sup>	۵۲۲/۴۸ ± ۱۲/۳۱ <sup>ab</sup>	۵۱۵/۳۰ ± ۵/۲۷ <sup>ab</sup>	۵۲۵/۱۸ ± ۴/۸۳ <sup>a</sup>	کل مواد جامد معلق (میلیگرم در لیتر)
۳۰۰/۹۱ ± ۸/۵۹	۳۰۳/۴۷ ± ۵/۷۹	۲۹۰/۲۳ ± ۱۱/۱۶	۲۸۸/۷۸ ± ۱۰/۳۶	قلیائیت (میلیگرم در لیتر کربنات کلسیم)

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای آزمایشی است ( $p < 0.05$ ).

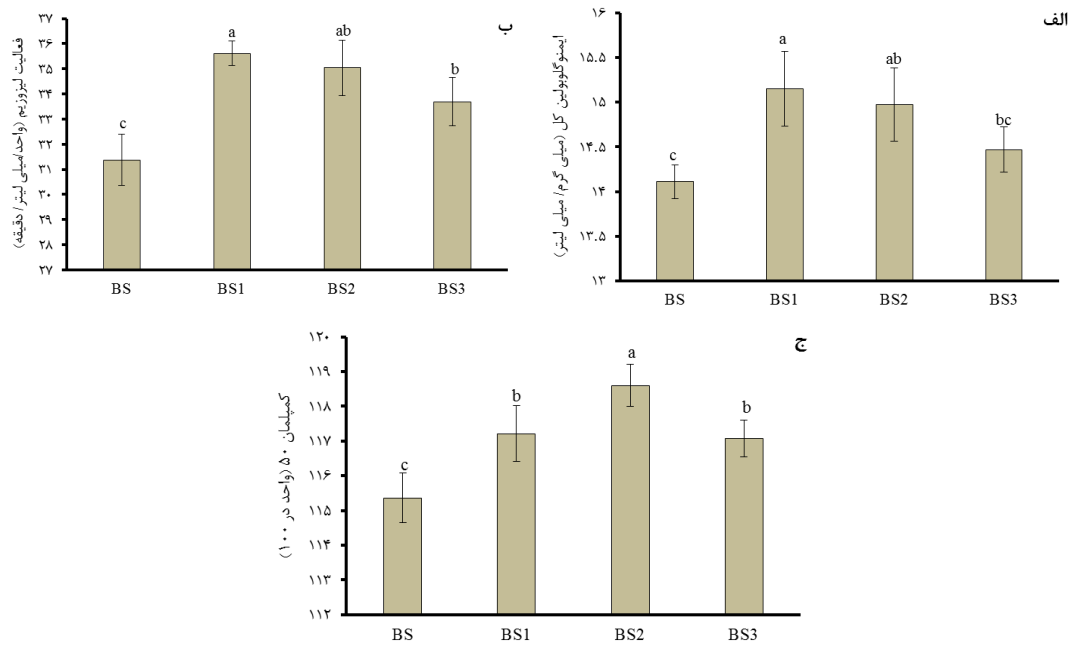


شکل ۲- مقادیر غلظت آمونیاک و نیترات محیط پرورش ماهی کپور تغذیه شده با ساپونین کویلاجا در طول دوره آزمایش. حروف D15, D30, D45 و D60 به ترتیب روزهای ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ سنجش ترکیبات نیتروژنی است. حروف BC, BS1, BS2 و BS3 به ترتیب دوزهای ۰ (شاهد)، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ میلی گرم پودر مکمل ساپونین کویلاجا در کیلوگرم غذای پایه.

جدول ۴- پارامترهای بیوشیمیایی ماهی کپور تغذیه شده با سطوح مختلف پودر ساپونین کویلاجا در محیط بیوفلاک

BS3 (۶۰ میلی گرم)	BS2 (۳۰ میلی گرم)	BS1 (۱۵ میلی گرم)	BC (شاهد؛ ۰ میلی گرم)	تیمارها
۲/۳۲ ± ۰/۰۷ <sup>bc</sup>	۲/۳۶ ± ۰/۰۴ <sup>b</sup>	۲/۵۵ ± ۰/۰۷ <sup>a</sup>	۲/۲۱ ± ۰/۰۲ <sup>c</sup>	پروتئین کل (گرم/دسی لیتر)
۰/۹۶ ± ۰/۰۱۰ <sup>bc</sup>	۱/۰۲ ± ۰/۰۶۲ <sup>a</sup>	۱/۰۰ ± ۰/۰۲۰ <sup>ab</sup>	۰/۹۲ ± ۰/۰۰۵ <sup>c</sup>	آلبومین (گرم/دسی لیتر)
۷۶/۲۳ ± ۴/۹۱	۹۵/۲۴ ± ۰/۹۵	۹۳/۹۸ ± ۱/۳۱	۶۵/۰۰ ± ۲/۰۳	گلوکز (میلی گرم/دسی لیتر)
۱۵۰/۰۴ ± ۳/۱۷ <sup>b</sup>	۱۳۲/۹۲ ± ۲/۲۷ <sup>c</sup>	۱۲۷/۶۷ ± ۱/۸۱ <sup>c</sup>	۱۹۸/۴۶ ± ۵/۷۷ <sup>a</sup>	آسپاراتات آمینوترانسفراز (واحد/لیتر)
۱۴/۷۰ ± ۱/۷۰ <sup>b</sup>	۱۴/۸۵ ± ۰/۹۲ <sup>b</sup>	۱۲/۹۶ ± ۰/۷۲ <sup>b</sup>	۱۹/۱۰ ± ۱/۸۶ <sup>a</sup>	آلانین آمینوترانسفراز (واحد/لیتر)
۱۹۲/۱۰ ± ۶/۱۸ <sup>bc</sup>	۲۰۹/۸۱ ± ۴/۴۱ <sup>a</sup>	۱۸۲/۹۲ ± ۵/۷۳ <sup>c</sup>	۲۰۲/۶۸ ± ۶/۶۰ <sup>ab</sup>	آلکالین فسفاتاز (واحد/لیتر)

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای آزمایشی است ( $p < 0.05$ ).



شکل ۳- پاسخ ایمنی ماهی کپور تغذیه شده با سطوح مختلف ساپونین کویلاجا در محیط بیوفلاک. حروف غیرمشابه در هر ستون نشان از اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی است ( $p < 0.05$ ). حروف BS, BS1, BS2, BS3 به ترتیب دوزهای ۰ (شاهد)، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم پودر مکمل ساپونین کویلاجا در کیلوگرم غذای پایه.

#### ۴ | بحث و نتیجه‌گیری

ترشح‌کننده آنزیم‌های سلولولیتیک و آمیلولیتیک هستند (Wang *et al.*, 2000). این آنزیم‌ها هضم پروتئین‌های ساده و پیچیده، چربی‌ها، سلولز و کیتین را در روده تسهیل می‌نمایند (Bairagi *et al.*, 2002). نتایج ما نشان داد که غلظت پروتئاز در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌دار آماری داشت درحالی‌که اختلاف در سطوح مختلف استفاده از ساپونین مشاهده نشد. مقدار آمیلاز در تیمار BS3 در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار داشت. غلظت لیپاز روده تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها نداشت. ساپونین‌های و به‌طور خاص ساپونین‌های استروئیدی با افزایش نفوذپذیری در روده موجب افزایش جذب مواد مغذی می‌شود (Francis *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2015). همچنین بکارگیری این ترکیبات می‌تواند یکپارچگی دیواره روده را با افزایش ضخامت مخاط روده و افزایش رشد باکتری‌ها بهبود بخشد (Huang *et al.*, 2005). بنابراین در این مطالعه افزایش راندمان رشد نشان از قابلیت هضم‌پذیری در جیره حاوی مکمل ساپونین کویلاجا بود.

به‌منظور رشد و تکثیر باکتری‌های هتروتروفی در محیط بیوفلاک نیاز به وجود ترکیبات قندی مانند کربوهیدرات‌ها می‌باشد بنابراین استفاده از ساپونین‌ها می‌تواند در روند تشکیل زیست توده فلاک کمک نماید، از اینرو محققین بکارگیری منابع مختلف کربنی برای بهبود کیفیت آب را مورد آزمایش قرار دادند (Khanjani *et al.*, 2017; Bakhshi *et al.*, 2018; Ahmad *et al.*, 2019; Putra *et al.*, 2020). نتایج کیفی آب نشان داد که، مقدار آمونیاک کل در روز ۳۰ آزمایش افزایش داشت که با حذف فلاک اضافی موجب کنترل آمونیاک شد. در طول دوره آزمایش با گذشت زمان بدلیل افزایش رشد و انباشته

ساپونین‌ها به‌عنوان مکمل غذایی حاوی پلی‌ساکاریدها، پلی‌فنول‌ها و استروئیدها هستند که توانایی تعدیل فلور میکروبی در روده، تقویت سیستم ایمنی، جذب مواد مغذی و کاهش غلظت آمونیاک را دارند (Cheeke *et al.*, 2006). در تحقیقات استفاده از مکمل ساپونین متمرکز بر استفاده از ساپونین یوکا و ساپونین کویلاجا بوده است که در تحقیق حاضر از ساپونین کویلاجا در جیره غذایی ماهی کپور پرورش یافته در محیط بیوفلاک استفاده شد. در مطالعه حاضر بکارگیری غلظت‌های مختلف مکمل ساپونین کویلاجا در جیره غذایی ماهی کپور پرورش یافته در سیستم بیوفلاک نشان از افزایش معنی‌دار آماری پارامترهای رشد در مقایسه با تیمار شاهد بود. در تحقیقی، بکارگیری ۱/۵ درصد عصاره گیاه یوکا با داشتن ساپونین در جیره غذایی ماهی کپور معمولی منجر به بهبود عملکرد رشد و تغذیه شد (Adineh *et al.*, 2018)، درحالی‌که استفاده از سطوح مختلف ساپونین کویلاجا در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نتوانست بر رشد و تغذیه این گونه تاثیر معنی‌داری داشته باشد که دلیل آن را مربوط به وجود کربوهیدرات در ساپونین می‌دانند (Chegini *et al.*, 2011). ضریب تبدیل غذایی به‌عنوان یکی از شاخص‌های عملکرد در تغذیه آبزیان می‌باشد که در این تحقیق بین تیمارهای مختلف تغذیه‌ای با شاهد تفاوت آماری نداشت. محیط بیوفلاک غنی از پروتئین (اسیدهای آمینه ضروری)، اسیدهای چرب غیر اشباع، ویتامین‌ها و مواد معدنی است و آیزی به‌طور دائم درحال تغذیه از این ترکیبات می‌باشد بنابراین یکی از دلایل عدم وجود اختلاف در مقادیر ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی، را می‌توان به نوع سیستم پرورش ماهی کپور ارتباط داد. ساپونین‌های استروئیدی جزء ترکیبات دیواره سلولی باکتری‌های

نامیده می‌شود. در این مطالعه مقادیر ایمنوگلوبولین، فعالیت لیزوزیم و مسیر فرعی کمپلمان در تیمارهای تغذیه‌ای با ساپونین کویلاجا در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌دار داشت. نتایج بدست آمده از کاهش فعالیت لیزوزیم، مسیر فرعی کمپلمان و غلظت ایمنوگلوبولین در تیمار شاهد نشانه‌های افت سیستم ایمنی (Tort, 2011) در مقایسه با تیمارهای تغذیه‌ای با ساپونین کویلاجا بود. گزارش شده است که استفاده از عصاره یوکا حاوی ساپونین باعث افزایش غلظت ایمنوگلوبولین در سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شد در حالیکه مقادیر مسیر فرعی کمپلمان تغییر معنی‌دار آماری نداشت (Masoumi et al., 2019). به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از سطوح ۱۵، ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم مکمل ساپونین کویلاجا در جیره غذایی ماهی کپور معمولی پرورش‌یافته در محیط بیوفلاک می‌تواند بر عملکرد رشد، ترشح آنزیم گوارشی پروتئاز روده، غلظت آمونیاک آب و فاکتورهای ایمنی تاثیر مثبت داشته باشد، در حالیکه ضریب تبدیل غذایی بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت آماری نداشت.

#### پست الکترونیک نویسندگان

امین شیخ: aminmobile2015@gmail.com  
حسین آدینه: adineh.h@gmail.com  
حجت ا. جعفریان: hojat.jafaryan@gmail.com  
بهروز محمدزاده: behrooz9@gmail.com

#### REFERENCES

- Adineh H., Harsij M., Nazer A. 2018. Effects of *Yucca schidigera* extract on the growth performance, feed efficiency, body composition of Common Carp (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) and culture water quality. Iranian Scientific Fisheries Journal, 27 (3):11-21.
- Adineh H., Naderi M., Hamidi M.K., Harsij M. 2019. 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, 95: 440-448.
- Adineh H., Naderi M., Jafaryan H., Khademi Hamidi M., Yousefi M., Ahmadifar E. 2022. Effect of Stocking Density and Dietary Protein Level in Biofloc System on the Growth, Digestive and Antioxidant Enzyme Activities, Health, and Resistance to Acute Crowding Stress in Juvenile Common Carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture Nutrition, doi:10.22124/JAPB.2022.21823.1459
- Adineh H., Naderi M., Yousefi M., Khademi Hamidi M., Ahmadifar E., Hoseini S.M. 2021. Dietary licorice (*Glycyrrhiza glabra*) improves growth, lipid metabolism, antioxidant and immune responses, and resistance to crowding stress in common carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture Nutrition, 27(2): 417-426.
- Ahmad I., Leya T., Saharan N., Asanaru Majeedkutty B.R., Rathore G., Gora A.H., Verma A.K. 2019. Carbon sources affect water quality and haemato-biochemical responses of *Labeo rohita* in

شدن فضولات ماهی و همچنین کم بودن حجم تعویض آب، حجم فلاک نیز افزایش می‌یابد و به منظور کنترل کیفیت آب به‌ویژه آمونیاک بایستی فلاک اضافه از سیستم پرورش خارج شده و در محدوده قابل کنترل نگهداری شود بنابراین در مطالعه حاضر حجم فلاک در حدود ۱۵ میلی‌لیتر در لیتر نکه داشته شد. ساپونین‌ها ظرفیت جذب ترکیبات فرار مانند آمونیاک و سوبفیدهدروژن را دارد (Yang et al., 2015)، بنابراین در این پژوهش با اینکه غلظت آمونیاک دارای نوسان بود اما مقدار آن در حد نرمال و کمتر از ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر بود. بکارگیری ساپونین عصاره گیاه یوکا بر رشد، میزان دفع و سمیت آمونیاک در گربه ماهی کانال نشان داد که عصاره یوکا می‌تواند باعث ارتقاء رشد و کاهش سطح آمونیاک گردد (Kelly and Kohler, 2003). اثربخشی گیاه یوکا بر کیفیت آب و کارایی رشد بچه ماهی تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*, L) نشان داد که، افزودن یوکا به میزان ۷۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره ماهی در سیستم متراکم پرورش می‌تواند باعث کاهش سطح آمونیاک و نیتريت آب و همچنین تحریک رشد برای بهبود کارایی رشد و بهره‌وری تغذیه گردد (El-Saidy and Gaber, 2004).

پارامترهای خونی تحت تاثیر عوامل زیست‌محیطی، غذا و تغذیه، تراکم ذخیره‌سازی، سیستم پرورش و غیره قرار می‌گیرد (Fanouraki et al., 2007)، بنابراین سنجش پارامترهای خونی ماهیان یکی از ابزارهای مناسب برای بررسی سلامت و ایمنی است. بیوفلاک منبع غنی از ترکیبات فعال زیستی مانند کلروفیل‌ها، کاروتنوئیدها، فیتوستول‌ها، بروموفنل‌ها، قندهای آمینو (Ju et al., 2008) و ترکیبات ضد باکتری (Crab et al., 2010) است که بر پارامترهای بیوشیمیایی و پاسخ ایمنی اثرات مثبتی دارد (Adineh et al., 2019). در همین راستا گزارش شده است بکارگیری منابع مختلف کربن همچون ملاس نیشکر، سبوس برنج، مخلوط ملاس و سبوس با دو سطح پروتئین در سیستم بیوفلاک باعث بهبود فاکتورهای ایمنی ماهی کپور معمولی شد (Ebrahimi et al., 2020). همچنین در تحقیقی تاثیر پوست قهوه به-میزان ۰ (شاهد)، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ گرم بر کیلوگرم غذا بر راندمان رشد، تغییرات فاکتورهای ایمنی ماهی تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) در سیستم بیوفلاک نشان داد که استفاده از ۲۰ گرم بر کیلوگرم مکمل در غذا باعث بهبود رشد و تقویت ایمنی سرم خون می‌شود (Van Doan et al., 2021).

ساپونین‌ها به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه گیاهی در جیره غذایی می‌تواند موجب تحریک سیستم ایمنی شود (Cheeke et al., 2006). نتایج بدست آمده از سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی و ایمنی نشان داد که مقادیر آنزیم‌های کبدی در تیمار شاهد در مقایسه با تیمارهای تغذیه‌ای افزایش معنی‌دار آماری داشت. ایمنوگلوبولین‌ها نقش مهمی را در ایمنی همورال ایفا می‌کنند که به‌عنوان ایمنی اکتسابی ماهیان توسط لنفوسیت‌های B ترشح می‌شوند. لیزوزیم یکی از مهمترین آنزیم‌های ضدباکتریایی در ایمنی ذاتی علیه عوامل عفونی است (Saurabh and Sahoo, 2008) که در طیف وسیعی از مهره‌داران از جمله ماهیان و سخت‌پوستان وجود دارد و به‌عنوان عامل ضدباکتریایی

- zero-water exchange biofloc system. *Aquaculture research*, 50(10): 2879-2887.
- American Public Health Association (APHA). 1998. In: Clescert, L., Greenberg, A., Eaton, A. (Eds.), *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20th edition. Washington, USA.
- Bairagi A., Ghosh K., Sen S.K., Ray A.K. 2002. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. *Aquaculture International*, 10: 109-121.
- Bakhshi F., Najdegerami E.H., Manaffar R., Tukmechi A., Farah K.R. 2018. Use of different carbon sources for the biofloc system during the grow-out culture of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. *Aquaculture*, 484: 259-267.
- Borges A., Scotti L.V., Siqueira D.R., Jurinitz D.F., Wassermann G.F. 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 30: 21-25.
- Cahu C.L, Zambonino-Infante J.L., Quazuguel P., Le Gall M.M. 1999. Protein hydrolysate vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. *Aquaculture*, 171:109- 119.
- Cheeke P.R. 1996. Biological effects of feed and forage saponins and their impact on Animal production. In *Saponins Used in Food and Agriculture* (ed. by G.R Waller & Y. Yamasaki), pp: 377-386. Plenum Press, New York.
- Cheeke P.R., Piacente S., Oleszek W. 2006. Anti-inflammatory and anti-arthritic effects of *yucca schidigera*: a review. *Journal of inflammation*, 3: 1-7.
- Chegini H., Karamat Amirkalai A.S. Jafarpour S.A., Firouzbaksh F. 2011. The effect of saponin (*Quillaja saponaria*) on the growth performance and body composition of rainbow trout larvae (*Oncorhynchus mykiss*). *Utilization and Cultivation of Aquatics*, 1(1): 1-14.
- Crab R., Chielens B., Wille M., Bossier P., Verstraete W. 2010. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquacultural Engineering*, 41: 559-567.
- Ebrahimi A., Akrami R., Najdegerami E.H., Ghiasvand Z., Koohsari H. 2020. Effects of different protein levels and carbon sources on water quality, antioxidant status and performance of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles raised in biofloc based system. *Aquaculture*, 516: 734639.
- Ellis A.E. 1990. Lysozyme assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Robertson B.S., Van Muiswinkel publication. pp: 101-103.
- El-Saidy D.M.S., Gaber M.M.A. 2004. Effect of *yucca schidigera* on water quality and growth performance of Nile tilapia (*O. niloticus* L) fingerlings. *Egyptian Journal of aquatic Biology and Fisheries*, 8: 33-50.
- Emerenciano M., Gaxiola G., Cuzon G. 2013. Biofloc Technology: A review for aquaculture application and animal food industry. pp: 301-328.
- Fanouraki E., Divanach P., Pavlidis M. 2007. Baseline values for acute and chronic stress indicators in sexually immature red porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture*, 265 (1-4): 294-304.
- FAO. (2020). *FAO yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics*. 2018. Rome, Italy.
- Hargreaves J.A. 2013. *Biofloc Production Systems for Aquaculture*. pp: 1-11.
- Hoseinifar S.H., Roosta Z., Hajimoradloo A., Vakili F. 2015. The effects of *Lactobacillus acidophilus* as feed supplement on skin mucosal immune parameters, intestinal microbiota, and stress resistance and growth performance of black sword tail (*Xiphophorus helleri*). *Fish and Shellfish Immunology*, 42: 533-8.
- Huang H.Q., Zheng G.H., Chen F.R. 2005. *Yucca schidigera* planta natural multi-functional feed additives. *Animal Science Abroad*, 32(10): 61-64.
- Iijima N., Tanaka S., Ota Y. 1998. Purification and characterization of bile salt activated Lipase from the hepatopancreas of red sea bream (*Pagrus major*). *Journal of Fish Physiology and Biochemistry*, 18: 59-69.
- Ju Z.Y., Forster I., Conquest L., Dominy W. 2008. Enhanced growth effects on shrimp, *Litopenaeus vannamei* from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet. *Aquaculture Nutrition*, 14: 533-543.
- Kelly A.M., Kohler C.C. 2003. Effects of *Yucca schidigera* extract on growth, nitrogen retention, ammonia excretion, and toxicity in channel catfish *Ictalurus punctatus* and hybrid tilapia *O. mossambicus* × *O. niloticus*. *Journal of World Aquaculture Society*, 34 (2): 156-161.
- Khanjani M.H., Sajjadi M.M., Alizadeh M., Sourinejad I. 2017. Nursery performance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) cultivated in a biofloc system: the effect of adding different carbon sources. *Aquaculture Research*, 48(4): 1491-1501.
- Makkar H.P.S., Aregheore E.M., Becker K. 1999. Effects of saponins and plant extracts containing saponins on the recovery of ammonia during urea ammoniation of wheat straw and fermentation kinetics of the treated straw. *Journal of Agriculture Science, Cambridge*, 132: 313-321.
- Masoumi S.H., Adineh H., Harsij M., Jafaryan H., Gholipour Kaanany H. 2019. Effects of different levels of *Yucca schidigera* extract on growth performance, nonspecific immunity and culture water quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the recirculating system. *Aquaculture Sciences*, 7(1): 68-80.
- Putra I., Effendi I., Lukistyowati I., Tang U.M., Fauzi M., Suharman I., Muchlisin Z.A. 2020. Effect of different biofloc starters on ammonia, nitrate, and nitrite concentrations in the cultured tilapia *Oreochromis niloticus* system. *Flo Research*, 9: 293.
- Rahman M.M. 2015. Role of Common Carp (*Cyprinus carpio*) in aquaculture production systems. *Frontiers in Life Science*, 1-12.
- Rungruangsak-Torrissen K., Rustad A., Sunde J., Eiane S.A., Jensen H.B., Opstvedt J., Nygard E., Samuelsen T.A., Mundheim H., Luzzana U. 2002. 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*, 82: 644-654.

- Saurabh S., Sahoo P.K. 2008. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture research*, 39(3): 223-239.
- Sunyer J.O., Tort L. 1995. Natural hemolytic and bactericidal activities of sea bream *Sparus aurata* serum are affected by the alternative complement pathway. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 45: 333-345.
- Tort L. 2011. Stress and immune modulation in fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 35(12): 1366-1375.
- Van Doan H., Lumsangkul C., Hoseinifar S.H., Harikrishnan R., Balasundaram C., Jaturasitha S. 2021. Effects of coffee silverskin on growth performance, immune response, and disease resistance of Nile tilapia culture under biofloc system. *Aquaculture*, 736995.
- Wang Y., McAllister T.A., Yanke L.J., Xu Z.J., Cheeke P.R., Cheng K.J. 2000. In vitro effects of steroidal saponins from *Yucca schidigera* extract on rumen microbial protein synthesis and rumen fermentation. *Journal of the science of food and agriculture*, 80: 2122-2214.
- Worthington C.C. 1993. *Worthington Enzyme Manual. Enzymes and related Biochemicals* Worthington Chemical. New Jersey. USA. 730p.
- Xu W.J., Pan L.Q. 2013. 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*, 412: 117-124.
- Yang Q.H., Tan B.P., Dong X.H., Chi S.Y., Liu H.Y. 2015. Effects of different levels of *Yucca schidigera* extract on the growth and nonspecific immunity of

Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and on culture water quality. *Aquaculture*, 439: 39-44.

#### نحوه استناد به این مقاله:

شیخ ا.، آدینه ح.، جعفریان ح.، محمدزاده ب. تأثیر سطوح مختلف مکمل ساپونین کویلاجا بر عملکرد رشد و تغذیه، فعالیت آنزیم‌های گوارشی، ایمنی غیر اختصاصی و کیفیت آب مخازن پرورش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در سیستم بیوفلاک. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبدکاووس. ۱۴۰۱. ۷۹-۷۰ (۴): ۱۰.

Sheikh A., Adineh H., Jafaryan H., Mohammadzadeh B. Effects of different levels of *Quillaja Saponin* supplementation on growth and feed performance, digestive enzymes activity, nonspecific immunity and culture water quality of common carp (*Cyprinus carpio*) in Biofloc system. *Journal of Applied Ichthyological Research*, University of Gonbad Kavous. 2021, 10(4): 70-79.

## Effects of different levels of *Quillaja Saponin* supplementation on growth and feed performance, digestive enzymes activity, nonspecific immunity and culture water quality of common carp (*Cyprinus carpio*) in Biofloc system

Sheikh A., Adineh H\*, Jafaryan H., Mohammadzadeh B.

Dept. of Fisheries, Faculty of Agriculture science and natural resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.

### Type:

Original Research Paper

### Paper History:

Received: 18-11-2022

Accepted: 12-01- 2023

### Corresponding author:

Adineh H. Dept. of Fisheries, Faculty of Agriculture science and natural resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.

Email: adineh.h@gmail.com

### Abstract

This study aimed to evaluate the effects of different levels of dietary *Quillaja saponin* on the growth performance, digestive enzymes, water quality, and immune response of common carp in biofloc system. The fish ( $8.06 \pm 0.59$  g) were fed diets containing 0 (BC), 15 (BS1), 30 (BS2), and 60 (BS3) mg/kg saponin powder for 60 days. The growth performance and protease were significantly higher in the fish fed with a saponin diet in biofloc environment, while no significant effects on Food conversion ratio and lipase enzyme. Total ammonia nitrogen (TAN) concentration was significantly lower in the saponin-fed groups than in the control. The highest serum total immunoglobulin levels, lysozyme, and complement (ACH50) activities were observed in the diet containing saponin powder in biofloc system. The present results show that *Quillaja saponin* can be used as a potential feed additive for farmed fish in biofloc system.

**Keywords:** Saponin powder, production performance, common carp, biofloc.