

بررسی تاثیر افزودن سطوح مختلف مونت موریلونیت (Montmorillonite) بر برخی شاخص های رشد و خونی بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*)

محمد کریمی^۱، سید محمد موسوی^{۱*}، حسین ذوالقرنین^۱، محمد ذاکری^۱

*seied1356@yahoo.com

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۶

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۷

چکیده

در این پژوهش تاثیر افزودن سطوح مختلف کانی مونت موریلونیت بر شاخص های رشد و برخی فاکتورهای خونی ماهی قزل آلائی رنگین کمان بررسی گردید. تحقیق با ۳ تیمار آزمایشی شامل افزودن سطوح مختلف کانی مونت موریلونیت به جیره غذایی تجاری با ۴ تکرار در هر تیمار به مدت ۱۲۳ روز انجام شد. در هر تکرار از هر تیمار تعداد ۴۵ قطعه بچه ماهی با میانگین وزن 50.0 ± 0.35 میلی گرم نگهداری شد. جهت انجام تحقیق از تانکهای فایبر گلاس مکعب مستطیل، با حجم ۳۰۰ لیتر استفاده شد و هر یک با ۲۰۰ لیتر آب، آبگیری شدند. تغذیه بچه ماهیان ۸ بار در روز انجام گرفت. اندازه گیری وزن ماهیان هر ۱۵ روز یکبار و نمونه گیری خون از سیاهرگ دمی یک بار در پایان دوره آزمایشی انجام شد. نتایج حاصله نشان دهنده بهبود معنی دار وزن نهایی، درصد افزایش وزن، افزایش وزن روزانه، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد بود ($p < 0.05$). از نظر ضریب کارایی پروتئین و شاخص کبدی اختلاف معنی دار آماری بین تیمارهای آزمایشی و شاهد وجود نداشت ($p > 0.05$). بالاترین افزایش وزن و بهترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار آزمایشی با ۲٪ مونت موریلونیت در غذا و بیشترین افزایش وزن روزانه و بالاترین نرخ رشد ویژه در تیمار آزمایشی با ۴٪ مونت موریلونیت در غذا مشاهده شد. در مورد شاخص های خونی، اختلاف معنی دار آماری بین تیمارهای آزمایشی و شاهد مشاهده نگردید ($p > 0.05$). بر اساس نتایج حاصله، استفاده از ۲٪ کانی مونت موریلونیت به عنوان افزودنی غذایی در تغذیه بچه ماهی قزل آلائی رنگین کمان، برای بهبود شاخص های رشد، بدون تاثیر منفی بر فاکتورهای خونی پیشنهاد می گردد.

لغات کلیدی: بچه ماهی قزل آلائی رنگین کمان، جیره غذایی، شاخص های رشد، فاکتورهای خون، مونت موریلونیت

*نویسنده مسئول

مقدمه

مونت مریلونیت^۱ جزو مهمترین ترکیبات رسی می باشد که با داشتن ذراتی به ابعاد حدود ۱۰ آنگستروم و خواصی منحصر به فرد، مانند تورم پذیری در محیط های قطبی، سطح ویژه بالا، خواص الکتریکی سطحی و ظرفیت تبادل یونی، توانسته کاربردهای زیادی در صنعت و تحقیقات پیدا کند (Ross and Hendricks, 1945). این کانی بیش از ۸۰٪ سنگ بنتونیت^۲ را تشکیل می دهد. ترکیب شیمیایی بنتونیت بسته به محل جغرافیایی و استخراج آن متغیر بوده و نمی توان فرمول ثابتی را برای آن پیشنهاد کرد ولی وجه اشتراک بنتونیت های شناخته شده، وجود حداقل ۸۰٪ مونت مریلونیت همراه حداکثر ۲۰٪ سایر کانی های رسی مثل ساپونیت^۳ و نانترونیت^۴ می باشد (Murray, 2007; Aghashahi et al., 2005). از سوی دیگر مونت مریلونیت از نظر ترکیب شیمیایی، ظرفیت تبادل یونی، جذب آب و تورم پذیری شباهت زیادی با دیگر کانی رسی یعنی زئولیت^۵ دارد. در حقیقت این دو کانی منشاء ساختاری یکسانی دارند و هر دو از دگرسانی خاکستر آتشفشانی بوجود آمده اند و تنها شرایط زمین شناسی متفاوت از نظر pH و تفاوت غلظت یونهای K^+ و Na^+ موجب تولید زئولیت یا مونت مریلونیت به عنوان محصول نهایی شده است (Hess, 1966; Christidis et al., 1995; Yildiz and Kescu, 2004). از مونت مریلونیت، بنتونیت، زئولیت و انواع دیگر کانی های رسی مانند کائولینیت^۶ و مسکویت^۷ در صنعت خوراک دام و طیور و آبزیان و حتی انسان برای افزایش سلامت، تقویت سیستم ایمنی و بهبود رشد استفاده می شود (شکوه سلجوقی و همکاران ۱۳۹۶; Ross and Hendricks, 1945; Williams et al., 2008; Parlat et al., 1999;

Phillips, 1999; Oguz and Kurtoglu, 2001; Murray, 2000; Safaeikatoouli et al., 2010; 1977; Pond and Mumpton and Fishman, 1984). Mumpton, 1984). گزارشات زیادی در مورد استفاده از این کانیها به عنوان افزودنی در غذای آبزیان مانند ماهی کوهو (*Onchorhynchus kisutch*) (Edsall and Smith, 1989), ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Hu et al., 2008; Yildirim et al., 2009), ماهی سی باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) (Dias et al., 1998), کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Kaniylmaz, 2008; Khodanazari et al., 2013) و میگو (*Litopenaeus shmitti*) (Galindo et al., 2006) وجود دارد. Dias و همکاران (۱۹۹۸) به بررسی تأثیر استفاده از زئولیت طبیعی در جیره بچه ماهی سی باس اروپایی (*D. labrax*) پرداختند. Ghiasi و همکاران (۲۰۱۲)، در خصوص تأثیر یک کانی رسی به نام کلینوپتیلولیت^۸ بر سرعت رشد، ضریب ویژه رشد و ضریب تبدیل غذایی در ماهی آکارایومی آنجل (*Pterophyllum scalare*) تحقیقاتی انجام دادند. Khodanazari و همکاران (۲۰۱۳)، اثر کاربرد زئولیت و دیگر کانی رسی به نام پرلیت^۹ را در جیره غذایی بچه ماهیان کپور معمولی (*C. carpio*) بر شاخص های رشد و برخی فاکتورهای خونی بررسی کردند. در تحقیقی دیگر El-Gendy و همکاران (۲۰۱۵)، تأثیر افزودن زئولیت به جیره غذایی بچه ماهیان تیلاپای نیل (*O. niloticus*) را بر روی شاخص های رشد مطالعه کردند. Palm و همکاران (۲۰۱۵) اثرات استفاده از مخلوط مونت مریلونیت، موسکویت و یک کانی رس یبه نام ایلیت^{۱۰} را در جیره غذایی میگوی پاسبید (*Litopenaeus vannamei*) مطالعه کردند. در تحقیقی دیگر Nafian (۲۰۱۶) تأثیر جیره غذایی حاوی مونت مریلونیت را بر روی شاخص های رشد بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان (*O. mykiss*) بررسی

^۱ Montmorillonite^۲ bentonite^۳ Saponite^۴ Nantronite^۵ Zeolite^۶ Kaolinite^۷ Moskovite^۸ Klinoptilolite^۹ Perlite^{۱۰} Illite

کرد. Oluwaseyi (۲۰۱۶)، در مورد تاثیر بنتونیت به عنوان افزودنی غذایی بر شاخص های رشد در گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) تحقیق کرد. Lanari و همکاران (۱۹۹۶) در یک تحقیق اثرات افزودن ژئولیت به جیره غذایی ماهی قزل آلاي رنگین کمان (*O. mykiss*) را بررسی کردند. با وجود گزارشات متعدد در مورد کاربرد کانیهای رسی در جیره غذایی آبزیان، به دلیل نتایج متفاوت حاصله در مورد برخی از این کانیهها مانند ژئولیت و پرلیت، نتیجه گیری قطعی در باره اثر بخش بودن همه این ترکیبات مشکل است و باید تحقیقات بیشتری در مورد اثرات آنها انجام شود (Khodanazari et al., 2013). از سویی، گزارش هایی وجود دارد که نشان میدهد تغذیه طولانی دام ها با جیره غذایی حاوی مکمل های معدنی و کانیهای رسی، می تواند باعث تغییر معنی دار برخی پارامترهای خونی مانند تعداد گلبولهای قرمز، مقدار هموگلوبین و درصد هماتوکریت گردد. محمدی و رجبی اسلامی (۱۳۹۵) در تحقیقی بر روی بچه ماهیان قزل آلاي رنگین کمان با استفاده از جیره غذایی حاوی نانوذره اکسید منگنز به عنوان مکمل غذایی افزایش معنی دار تعداد گلبولهای قرمز، افزایش مقدار هموگلوبین و افزایش درصد هماتوکریت خون تیمارها در مقایسه با شاهد را گزارش کردند. (Katsoulos et al., 2005; Eleroglu et al., 2011; Mohri et al., 2008; Martin-Kleiner et al., 2001). Kanyilmaz و همکاران (۲۰۱۵) نیز در تحقیقی بر روی ماهی شانک اروپایی (*Sparus aurata*) گزارش دادند تغذیه این ماهی با جیره حاوی ژئولیت میتواند باعث کاهش معنی دار برخی فاکتورهای خونی شود و لذا باید در استفاده از جیره های غذایی حاوی افزودنی های رسی به این نکته توجه کرد.

طی سالهای اخیر پرورش ماهی قزل آلاي رنگین کمان (*O. mykiss*) در ایران رشد چشم گیری داشته است و میزان تولید آن در سال ۱۳۹۵ به بیش از ۱۶۰ هزار تن رسیده است (سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۷). از آنجا که تغذیه این ماهی در مزارع پرورشی بیش از ۶۰٪ هزینه های جاری را

تشکیل می دهد (Sardar et al., 2009) لذا تهیه جیره های غذایی تجاری که بتواند ضمن داشتن قیمت مناسب حداکثر رشد و سلامت را برای این ماهی فراهم کند، همواره مورد توجه محققان بوده است (García-Meilán et al., 2012; Aprodu et al., 2013). در این راستا استفاده از افزودنی ها از جمله مونت موریلونیت می تواند به بهبود کیفیت غذای این ماهی و رشد بهتر آن کمک کند. به دلیل کم بودن گزارشها و تفاوت نتایج آنها در مورد تاثیر کانی مونت موریلونیت بر شاخص های رشد و فاکتورهای خونی ماهی (Khodanazari et al., 2013)، پژوهش حاضر جهت تعیین اثر کاربرد جیره غذایی حاوی سطوح مختلف کانی مونت موریلونیت بر روی شاخص های رشد و فاکتورهای خون شناسی بچه ماهیان قزل آلاي رنگین کمان (*O. mykiss*) انجام شد.

مواد و روش کار

برای انجام این تحقیق از ۷۲۰ قطعه بچه ماهی قزل آلاي رنگین کمان (*O. mykiss*) با وزن متوسط 50.0 ± 0.35 میلیگرم استفاده شد. مدت زمان انجام تحقیق ۱۲۳ روز بود که طی آن بچه ماهیان در سه تیمار آزمایشی و یک تیمار شاهد، هر کدام با ۴ تکرار در تانکهای فایبر گلاس مستطیلی با حجم ۳۰۰ لیتر که با ۲۰۰ لیتر آب، آبگیری شده بود، به صورت کاملاً تصادفی توزیع شدند. تعداد اولیه بچه ماهی در هر تکرار ۴۵ قطعه بود. مقدار کانی به کار رفته در جیره غذایی تیمارهای آزمایشی به ترتیب معادل ۱٪، ۲٪ و ۴٪ وزن غذا بود که با افزودن مقدار مورد نظر کانی مونت موریلونیت به غذای پایه، برای هر تیمار آزمایشی تهیه شد. (Prabhu et al., 2016; Palm et al., 2015; Hosseini et al., 2015; Kanyilmaz et al., 2015; Obradović et al., 2014; al., 2006) غذای مورد استفاده برای تیمار شاهد، غذای پایه، تهیه شده از شرکت کیمیاگران تغذیه شهرکرد (۱۳۹۶) بود. غذادهی بر اساس درصدهای مشخص بیوماس و پیشنهاد شرکت سازنده

وزن بچه ماهیان هر ۱۵ روز یکبار و شاخص های رشد در پایان دوره آزمایش، با استفاده از روابط ذیل اندازه گیری شد (Biswas, 1993):

$$\text{WGP} (\%) = \frac{\text{وزن نهایی بدن (گرم)} - \text{وزن اولیه (گرم)}}{\text{وزن اولیه بدن (گرم)}} \times 100$$

افزایش وزن بدن

$$\text{DWG} (\%) = \frac{\text{وزن نهایی بدن (گرم)} - \text{وزن اولیه (گرم)}}{\text{طول دوره پرورش (روز)}} \times 100$$

روزانه

$$\text{SGR} (\%) = \frac{\ln(\text{وزن نهایی بدن (گرم)}) - \ln(\text{وزن اولیه (گرم)})}{\text{طول دوره پرورش (روز)}} \times 100$$

(SGR) درصد نرخ رشد ویژه

$$\text{HSI} (\%) = \frac{\text{وزن کبد}}{\text{وزن بدن}} \times 100$$

(HSI) شاخص کبدی

$$\text{FCR} = \frac{\text{کل غذای مصرف شده (گرم)}}{\text{کل وزن به دست آمده (گرم)}} \times 100$$

(FCR) ضریب تبدیل غذایی

$$\text{PER} (\%) = \frac{\text{وزن نهایی بدن (گرم)} - \text{وزن اولیه (گرم)}}{\text{وزن پروتئین مصرف شده (گرم)}} \times 100$$

کارایی پروتئین

برای تعیین فاکتورهای خون، در پایان دوره آزمایش از سیاهرگ ساقه دمی خون گیری به عمل آمد. نمونه های خون بلافاصله در دمای چهار درجه سانتی گراد به آزمایشگاه منتقل شد (Blaxhall and Diasley, 1973). درصد هماتوکریت با روش میکرو هماتوکریت و مقدار هموگلوبین با روش مت هموگلوبین اندازه گیری شد (Rehulka, 2000). تعداد گلبولهای قرمز با استفاده از لام نئوبار و پس از رقیق کردن خون هپارینه با استفاده از محلول داسیس با رقت $\frac{1}{200}$ محاسبه شد (Houston, 1990). تحلیل آماری داده ها، براساس طرح بلوکهای کاملاً

خوراک، ۸ بار در روز انجام گردید. جدول ۱ ترکیبات مواد مغذی غذای مذکور را نشان می دهد.

جدول ۱: آنالیز جیره پایه بکار رفته در مطالعه (شرکت کیمیاگران تغذیه، ۱۳۹۶)

Table1: The analysis of basic feed used in this study (Kimiagran-Taghzieh Co. 2017).

ماده مغذی	درصد
پروتئین خام	۵۰
چربی خام	۱۵
فیبر خام	۱/۵
رطوبت	۱۰

کانی مونت مریلونیت مورد نیاز از شرکت زمین کاو واقع در استان خراسان رضوی تهیه گردید. جدول ۲ ترکیب مواد شیمیایی تشکیل دهنده کانی مونت مریلونیت مورد استفاده و درصد هر کدام از این مواد را نشان می دهد.

جدول ۲: مواد اصلی تشکیل دهنده و درصد هر یک از آنها در ترکیب کانی مونت مریلونیت مورد استفاده در آزمایش (شرکت زمین کاو خراسان رضوی، ۱۳۹۴)

Table 2: The main Constituents and percentage of them in Montmorillonite used in this study (Zamin Kav Co. 2015).

ردیف	ماده شیمیایی	درصد
۱	SiO ₂	۶۹/۸
۲	Al ₂ O ₃	۱۱/۸۸
۳	Fe ₂ O ₃	۱/۷۳
۴	CaO	۰/۹۶
۵	Na ₂ O	۲/۱
۶	MgO	۱/۴۲
۷	K ₂ O	۰/۴۷
۸	TiO ₂	۰/۱
۹	H ₂ O	۱۱/۵۴
جمع		۱۰۰

تصادفی و پس از بررسی نرمال بودن، با آزمون Shapiro-Wilk و با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن در سطح معنی داری ۰/۰۵ انجام شد. نرم افزار مورد استفاده، نسخه ۲۰۱۶ SPSS بود.

نتایج

نتایج حاصله نشان داد اختلاف معنی دار آماری از نظر وزن نهایی، درصد افزایش وزن نهایی، افزایش وزن روزانه و نرخ رشد ویژه بین تیمارهای آزمایشی و شاهد وجود دارد ($p < 0/05$) ولی اختلاف معنی دار آماری بین خود تیمارهای آزمایشی نبود (جدول ۳). بیشترین افزایش وزن نهایی و بیشترین درصد افزایش وزن نهایی در تیمار آزمایشی ۱٪ کانی در غذا بود. کمترین وزن نهایی و کمترین درصد افزایش وزن نهایی در تیمار شاهد دیده شد. بیشترین افزایش وزن روزانه در تیمار آزمایشی ۴٪ کانی در غذا و کمترین آن در تیمار شاهد دیده شد. بیشترین نرخ رشد ویژه در تیمارهای آزمایشی ۲٪ و ۴٪ کانی در غذا و کمترین آن در تیمار شاهد بود. از نظر ضریب تبدیل غذایی اختلاف معنی دار آماری بین تیمارهای آزمایشی و شاهد

وجود داشت ($p < 0/05$). همچنین ضریب تبدیل غذایی تیمار آزمایشی ۱٪ کانی در غذا اختلاف معنی دار آماری با تیمارهای آزمایشی ۲٪ و ۴٪ کانی در غذا داشت ($p < 0/05$). کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار آزمایشی ۱٪ کانی در غذا و بالاترین آن در تیمار شاهد دیده شد. از نظر ضریب کارایی پروتئین و شاخص کبدی، اختلاف معنی دار آماری بین تیمارهای آزمایشی و شاهد دیده نشد. نتایج به دست آمده در مورد شاخص‌های رشد مورد مطالعه در این آزمایش در جدول ۳ ارائه شده است:

در مورد پارامترهای خون‌شناسی مورد مطالعه، اختلاف معنی دار آماری بین تیمارهای آزمایشی و شاهد دیده نشد ($p > 0/05$). بیشترین مقدار هموگلوبین در تیمار آزمایشی دوم و کمترین آن در شاهد بود. بیشترین درصد هماتوکریت در تیمار آزمایشی سوم و کمترین آن در تیمار آزمایشی دوم بود. نتایج به دست آمده در مورد فاکتورهای خونی مورد مطالعه در این آزمایش در جدول ۴ ارائه شده است.

جدول شماره ۳: عملکرد برخی شاخص‌های رشد (انحراف از معیار $\pm$ میانگین) بچه ماهی قزل آلا رنگین کمان

تغذیه شده با سطوح مختلف کانی مونت‌موریلونیت طی ۱۲۳ روز

Table 3: The performance of some growth indices (average $\pm$ SD) in rainbow trout fry fed with different levels of Montmorillonite during 123 days.

شاخص	شاهد	۱٪ کانی در غذا	۲٪ کانی در غذا	۴٪ کانی در غذا
وزن نهایی (گرم)	$35/29 \pm 3/05^a$	$43/51 \pm 3/28^b$	$43/21 \pm 2/64^b$	$40/27 \pm 2/26^b$
افزایش وزن نهایی (درصد)	$6959/5 \pm 611^a$	8602 ± 658^b	8543 ± 530^b	$7955/5 \pm 453^b$
افزایش وزن روزانه (گرم/روز)	$0/28 \pm 0/3^a$	$0/35 \pm 0/3^b$	$0/35 \pm 0/3^b$	$0/36 \pm 0/2^b$
نرخ رشد ویژه	$3/45 \pm 0/06^a$	$3/57 \pm 0/05^b$	$3/6 \pm 0/08^b$	$3/6 \pm 0/08^b$
ضریب تبدیل غذایی	$1/27 \pm 0/01^c$	$1/1 \pm 0/01^a$	$1/15 \pm 0/02^b$	$1/17 \pm 0/02^b$
ضریب کارایی پروتئین	$1/7 \pm 0/01^a$	$1/8 \pm 0/02^a$	$1/8 \pm 0/05^a$	$1/7 \pm 0/03^a$
شاخص کبدی	$1/32 \pm 0/1^a$	$1/25 \pm 0/06^a$	$1/25 \pm 0/17^a$	$1/4 \pm 0/18^a$

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری بین گروه‌های آزمایشی است ($p < 0/05$)

جدول ۴: مقایسه برخی فاکتورهای خونی (انحراف از معیار $\pm$ میانگین) بچه ماهی قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف کانی مونت مریلونیت طی ۱۲۳ روز

Table 3: The comparison of some blood indices (average $\pm$ SD) in rainbow trout fry fed with different levels of Montmorillonite during 123 days.

شاخص	شاهد	۱٪ کانی در غذا	۲٪ کانی در غذا	۴٪ کانی در غذا
تعداد گلبولهای قرمز (میلیون عدد در میکرولیتر)	۳/۱۵ $\pm$ ۰/۲۳ ^a	۳/۱۵ $\pm$ ۰/۲۶ ^a	۳/۲۲ $\pm$ ۰/۳۱ ^a	۳/۲۱ $\pm$ ۰/۳۱ ^a
مقدار هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)	۹/۱۸ $\pm$ ۰/۴۲ ^a	۹/۴ $\pm$ ۰/۶۶ ^a	۹/۵۶ $\pm$ ۰/۶۴ ^a	۹/۴۶ $\pm$ ۰/۶۶ ^a
مقدار هماتوکریت (درصد)	۳۴/۹۲ $\pm$ ۳/۱ ^a	۳۶/۳۳ $\pm$ ۴/۲ ^a	۳۴/۹ $\pm$ ۲/۶ ^a	۳۵/۹۱ $\pm$ ۲/۶۳ ^a

حروف یکسان در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار آماری بین گروه های آزمایشی است ($p > 0.05$)

بحث

در این تحقیق از مونت مریلونیت به عنوان افزودنی غذا برای بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان (O. mykiss) استفاده شد. نتایج نشان داد که شاخص های وزن نهایی، درصد افزایش وزن نهایی، افزایش وزن روزانه و نرخ رشد ویژه در تیمارهای آزمایشی به صورت معنی دار بیشتر از تیمار شاهد بود. همچنین ضریب تبدیل غذایی همه تیمارهای آزمایشی، به صورت معنی دار بهتر از تیمار شاهد بود. Nafian Dehkordi (۲۰۱۶)، در آزمایشی مشابه بر روی بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان (O. mykiss) از جیره غذایی حاوی ۵٪ مونت مریلونیت استفاده نمود و افزایش معنی دار وزن نهایی و ضریب رشد ویژه در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد را گزارش کرد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. در تحقیقی دیگر El-Gendy و همکاران (۲۰۱۵) به مدت ۲۰ هفته تأثیر استفاده از جیره غذایی حاوی ۲٪ زئولیت را بر روی بچه ماهیان تیلاپیی نیل (O. niloticus) مطالعه کردند و افزایش معنی دار وزن روزانه، وزن نهایی و نرخ رشد ویژه تیمارهای آزمایشی را در مقایسه با شاهد گزارش نمودند که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. Leonard (۱۹۷۹) نیز در یک مطالعه از جیره غذایی حاوی ۲٪ زئولیت در بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان (O. mykiss) به مدت ۶۴ روز استفاده کرد و بهبود معنی دار افزایش وزن تیمار آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد را گزارش نمود که با

یافته های تحقیق حاضر مطابقت دارد. در تحقیقی دیگر Khodanazari و همکاران (۲۰۱۳) به مدت ۵۶ روز از جیره غذایی حاوی ۵٪ زئولیت برای تغذیه بچه ماهیان کپور معمولی (C. carpio) استفاده نمودند و افزایش معنی دار وزن نهایی و نرخ رشد ویژه تیمارهای آزمایشی را نسبت به شاهد گزارش کردند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد ولی آنها از نظر ضریب تبدیل غذایی اختلاف معنی دار بین تیمارها و شاهد مشاهده نکردند که مطابق یافته های تحقیق حاضر نیست و احتمالاً این امر به دلیل استفاده از گونه متفاوت ماهی و همچنین ماده معدنی مورد مطالعه می باشد. Oluwaseyi (۲۰۱۶)، در آزمایش مشابه روی بچه گربه ماهی آفریقایی (C. gariepinus) به مدت ۸۴ روز از جیره غذایی حاوی ۵٪ بنتونیت استفاده کرد و بهبود معنی دار ضریب تبدیل غذایی تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد را گزارش نمود که مطابق نتایج تحقیق حاضر است ولی اختلاف معنی دار آماری از نظر وزن نهایی، افزایش وزن روزانه و نرخ رشد ویژه بین تیمارهای آزمایشی و شاهد مشاهده نشد که با یافته های تحقیق حاضر همخوانی ندارد. این امر می تواند ناشی از شرایط متفاوت آزمایشی مانند استفاده از گونه متفاوت ماهی و نوع کانی به کار رفته به عنوان افزودنی غذایی باشد. در مجموع تحقیق حاضر نشان داد افزودن مونت مریلونیت به جیره غذایی ماهی قزل آلائی رنگین کمان میتواند باعث بهبود شاخص های رشد شامل وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی و نرخ

رشد ویژه در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گردد. این امر احتمالاً به دلیل تامین برخی عناصر معدنی مورد نیاز بدن ماهی مانند پتاسیم، منیزیم، سدیم، کلسیم و آهن توسط این کانی است. Mumpton و Fishman (۱۹۷۷) گزارش دادند که تأثیرات مثبت پارامترهای رشد ناشی از افزودن زئولیت به جیره غذایی ماهی احتمالاً مرتبط با نوع و خواص ترکیبات آن میباشد. علاوه بر آن Oliver (۱۹۸۹) گزارش داد کانیهای رسی باعث حرکت آهسته تر غذا در دستگاه گوارش ماهیان میشود و در نتیجه زمان هضم و جذب غذا در ماهیانی که از این ترکیبات در جیره غذایی استفاده می کنند افزایش می یابد که خود منجر به هضم و جذب بهتر مواد ریزمغذی در دستگاه گوارش آنها می شود. Harvey و همکاران (۱۹۹۳) گزارش دادند احتمالاً هضم و جذب بهتر غذا در ماهیانی که از جیره های حاوی کانیهای رسی استفاده می کنند به دلیل اثرات خنثی کنندگی این کانیها روی سمیت آمونیاک در بدن می باشد. آمونیاک ماده ای سمی برای سلولهای ماهی است که جلوگیری از تجمع آن در لوله گوارشی می تواند سبب بهبود عملکرد سلولهای اپی تلیال روده و در نتیجه جذب مواد مغذی بهتر گردد (Papaioannou et al., 2005). در تحقیقی دیگر Ergün و همکاران (۲۰۰۸)، گزارش دادند استفاده از کلینوپتیلولیت در جیره غذایی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان (*O. mykiss*) باعث کاهش معنی دار میزان آمونیاک دفعی آنها شده است. ترکیبات رسی قادرند آمونیاک حاصل از متابولیسم ماهی را با جذب آن از راه تبادل یون، از بین برده و اثرات سمی آن را مهار کنند (Willford et al., 1992; Briggs, 1996; Ashrafizadeh et al., 2008; Malekian and Eslamian, 2011). یکی دیگر از دلایل احتمالی تأثیر کانی های رسی در بهبود رشد، تأثیر آنها بر روی کاهش اثر سمی آفلاتوکسین در بدن ماهی است (Philips, 1999; Carraro, 2014). استفاده از ترکیبات رسی به ویژه مونت‌موریلونیت برای از بین بردن اثرات سمی آفلاتوکسین در غذای دامها از دهه ۱۹۷۰ میلادی اثبات شده است (Zychowski et al., 2013).

در تحقیق حاضر، اختلاف معنی دار آماری از نظر میزان هموگلوبین و درصد هماتوکریت بین تیمارهای آزمایشی و شاهد مشاهده نشد که با یافته های تحقیق Egrikilic (۲۰۰۹)، در مورد ماهی تیلایپای نیل (*O. niloticus*) مطابقت دارد. در یک پژوهش دیگر Tekellioglu و Kanyilmaz (۲۰۱۵)، تأثیر استفاده از درصدهای متفاوت زئولیت در جیره غذایی بچه ماهیان شانک اروپایی (*S. aurata*) را به مدت ۱۰ هفته مطالعه نمودند و اختلاف معنی دار آماری از نظر درصد هماتوکریت و مقدار هموگلوبین گزارش نکردند که با نتایجی که از تحقیق حاضر به دست آمده همخوانی دارد. Oluwaseyi (۲۰۱۶) نیز در یک تحقیق به مدت ۸۴ روز از جیره غذایی حاوی ۲٪ بنتونیت برای تغذیه بچه ماهیان گربه ماهی آفریقایی (*C. gariepinus*) استفاده کرد و اختلاف معنی دار آماری از نظر میزان هموگلوبین و درصد هماتوکریت گزارش نکرد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. لذا می توان نتیجه گیری کرد که استفاده از مونت موریلونیت به عنوان افزودنی غذایی با مقادیر ذکر شده در این مطالعه، تأثیر منفی بر پارامترهای هماتولوژیک بچه ماهیان قزل آلا ندارد.

در مجموع و براساس نتایج این تحقیق می توان گفت استفاده از جیره غذایی حاوی ۲٪ کانی مونت موریلونیت، برای تغذیه بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان، سبب بهبود شاخص های رشد بدون تأثیر منفی در پارامترهای خونی می گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر که شرایط انجام و اجرای این تحقیق را فراهم آوردند اعلام می دارند.

منابع

- (*Cyprinus carpio*) enriched in fatty acids. *Annals of the University "Dunarea de Jos" of Galati-Fascicle. Food Technology*, 36:61-73. DOI: 10.1111/j.1365-2109.1996.tb01257.x
- Ashrafizadeh, S.N., Khorasani, Z. and Gorjiara, M., 2008.** Ammonia Removal from Aqueous Solutions by Zeolite. *Separation Science and Technology*, 43(4):960-978. DOI: 10.1080/01496390701870614
- Biswas, S.P., 1993.** Manual of methods in fish biology, New Delhi, South Asian Publishers, India, 13: 978-7003158]
- Blaxhall, P.C. and Diasley, K.W., 1973.** Routine haematological methods for use with fish blood. *J. Fish Biology*, 5:771-781. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1973.tb04510.x.
- Briggs, M.R.P., 1996.** The effects of zeolites and other alumino-silicate clays on water quality at various salinities. University of Maryland, pp. 301-312. DOI: 10.1111/j.1365-2109.1996.tb01257.x.
- Carraro, A., De Giacomo, A., Giannossi, M.L., Medici, L., Muscarella, M., Palazzo, L., Quaranta, V. and Summa, V., 2014.** Clay minerals as adsorbents of aflatoxin M1 from contaminated milk and effects on milk quality. *Applied Clay Science*, 88-89: 92-99. DOI: 10.1016/j.clay.2013.11.028.
- Christidis, G., Scott, P. and Marcopolos T., 1995.** "Origin of the bentonite deposits of Eastern Milos, Aegean", Greece: eological,
- سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۷. سالنامه آماری شیلات ایران. انتشارات سازمان شیلات ایران، تهران، ۶۴ صفحه.
- شرکت زمین کاو خراسان رضوی، ۱۳۹۴. کاتالوگ محصولات شرکت زمین کاو رضوی. ایران، مشهد، ۲۳ صفحه.
- شرکت کیمیاگران تغذیه، ۱۳۹۶. کاتالوگ غذای ماهی قزل آلاي رنگين کمان. ایران، شهرکرد، ۱۴ صفحه.
- شکوه سلجوقی. ظ،. فرهادیان. ا،. رمضانیان. ن و مهربان. معصومه، ۱۳۹۶. بررسی اثر ضد باکتریایی کیتوزان حاوی اکسید نقره و بنتونیت اصلاح شده با سورفکتانت کاتیونی در مقابل یرسینیا راکری (*Yersinia ruckeri*) جدا شده از ماهی قزل آلاي رنگين کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مجله علمی شیلات ایران، ۱۱۲: ۱۰۳-۱۰۶ (۶)، (۲۶). URL: <http://isfj.ir/article-1856-1-fa.html>
- محمدي. ز،. رجبی اسلامی. ه. ۱۳۹۵. تأثیر مکمل معدنی نانوذره اکسید منگنز بر عملکرد رشد و یاخته‌های خونی بچه ماهی انگشت قد قزل آلاي رنگين کمان (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792)، مجله علمی شیلات ایران، ۲۱۵-۱۹۹ (۳): ۲۵. Doi:10.2292/ISFJ.2017.110270.
- Aghashahi, A., Nikkhah, A., Mirhadi, S.A., Zahedifar, M. and Mansouri, H., 2005.** Effects of different level of unprocessed bentonite, processed bentonite, and clinoptilolite at different rumen degradable protein level, on ammonia concentration, soluble and digestible protein (In-vitro). *Pajouhesh and Sazandegi*, 70:80-90.
- Aprodu, I., Vasile, A., Gurau, G., Ionescu, A. and Paltenea, E., 2012.** Evaluation of nutritional quality of the common carp

- Mineralogical and Geochemical evidence, *Clays and Clay Minerals*, 43(1):63-77.
- Dias, J., Huelvan, C., Dinis, M. and Metailler, R., 1998.** Influence of dietary bulk agents (silica, cellulose and a natural zeolite) on rotein digestibility, growth, feed intake and feed transit time in European seabass (*Dicentrarchus Zabrax*) juveniles. *Aquatic Living Resources*, 11(4):219–226. DOI: 10.1016/S0990-7440(98)89004-9.
- Edsall, D.A. and Smith, C.E., 1989.** Effects of Dietary Clinoptilolite on Levels of Effluent Ammonia from Hatchery Coho Salmon. *The Progressive Fish-Culturist*, 51: 98-100. DOI: 10.1577/1548-00(1989)051%3C0098:EODCOL%3E2.3.CO;2.
- Egrikilic, D., 2009.** Effects of dietary inclusion of zeolite (clinoptilolite) on blood parameters of tilapia (*Oreochromis niloticus*) infected by *Aeromonas hydrophila*. MSc. Thesis. Adana, Cukurova University
- Eleroglu, H., Yacin, H. and Yildirim, A., 2011.** Dietary effects of Ca-zeolite supplementation on some blood and tibial Bone characteristics of Broilers. *South African Journal of Animal Science*, 41 (4):319-330. DOI: 10.4314/sajas.v41i4.1.
- El-Gendy, M.O., Gouda, A.H. and Shehab El-Din, M.T., 2015.** Effect of Zeolite on Feeding Rates and Growth Performance for Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*). *International Journal of Scientific Research in Agricultural Sciences*, 2:18-24.
- Ergün, S., Tekesoglu, H. and Yigit, M., 2008.** Effects of dietary natural zeolite Levels on ammonia excretion rates in young Rainbow trouts (*Oncorhynchus mykiss*). *Fresenius Environmental Bulletin*, 17: 245-248.
- Galindo, J., Jaime, B., Fraga, I. and Alvarez, J.S., 2006.** Use of zeolite in White Shrimp *Litopenaeus schmitti* Feeding. IV Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura, 106-112.
- García-Meilán, I., Valentín, J., Fontanillas, R. and Gallardo, M., 2013.** Different protein to energy ratio diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*): Effects on digestive and absorptive processes. *Aquaculture*, 412:1-7. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.06.031
- Ghiasi, F. and Jasour, M.S., 2012.** The Effects of Natural Zeolite (Clinoptilolite) on Water Quality, Growth Performance and Nutritional Parameters of fresh water aquarium fish, Angel (*Pterophyllum scalare*). *International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture*. 2(3): 22-25.
- Harvey, R.B., Kubena L.F., Ellisalde, M.H. and Phillips, T.D., 1993.** Efficacy of zeolitic compounds on the toxicity of aflatoxin to growing broiler chickens. *Avian Diseases*, 37:67-73. DOI: 10.2307/1591459
- Hess, P.C., 1966.** Phase equilibria of some minerals in the K₂O, Na₂O, Al₂O₃, SiO₂,

- H2O system at 25~ and 1 atmosphere. American Journal of Science, 264: 289-309.
- Hosseini, S.H., Surinejad, I., Ashuri, S. and Moradinasab, A.A., 2014.** Effect of different levels of dietary inuline supplementation on growth performance, survival and some hematologic indices in Red pacu (*Piaractus brachypomus*) fry. Journal of Aquaculture Ecology. 4(1): 50-44. <http://jae.hormozgan.ac.ir/article-1-38-en.html>
- Hu, C.H., Xu, Y., Xia, M.S., Xiong, L. and Xu, Z.R., 2008.** Effects of Cu²⁺-exchanged montmorillonite on intestinal microflora, digestibility and digestive enzyme activities of Nile tilapia. Aquaculture Nutrition, 14:281-288.
- Houston, A.H., 1990.** Blood and circulation. In: Schreck CB, Moyle PB (eds) Methods in fish biology. American Fisheries Society. Bethesda, Maryland, 273-335
- Kanyilmaz, M., Tekelioğlu, N., Sevgili, H., Uysal, R. and Aksoy, A., 2015.** Effects of dietary zeolite (clinoptilolite) levels on growth performance, feed utilization and waste excretions by gilthead sea bream juveniles (*Sparus aurata*). Animal Feed Science and Technology, 200: 66-75. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2014.09.023
- Katsoulos, P.D., Roubies, N., Panousis, N., Christaki, E., Karatzanos, P. and Karatzias, H., 2005.** Effects of long term feeding dairy cows on a diet supplemented with clinoptilolite on certain Haematological parameters. Veterinarni Medicina, 50: 427-431.
- Khodanazari, A., Boldaji, F., Tatar, A. and Dastar, B., 2013.** Effects of dietary zeolite and perlite supplementations on growth and nutrient utilization performance, and some serum variables in Common carp, (*Cyprinus carpio*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 13: 495-501. DOI: 10.4194/1303-2712-v13_3_12
- Lanari, D. D'Agaro, E. and Turri, C., 1996.** Use of Cuban zeolites in trout diets, Rivista Italiana de Acquacoltura. 31: 23-33.
- Leonard, D.W., 1979.** The role of natural zeolites in industry. Transactions of the Society of Mining Engineers A.I.M.E. Preprint, 79: 380-401.
- Malekian, R. and Eslamian, S.S., 2011.** Use of Zeolite and Surfactant Modified Zeolite as Ion Exchangers to Control Nitrate Leaching. International Journal of Geological and Environmental Engineering, 5(4):715-719.
- Martin-Kleiner, I., Flegar-Mestric, Z., Zadro, R., Breljak, D., Stanovic-Janda, S., Stojkovic, R., Marusic, M., Radacic, M. and Boranic, M., 2001.** The effect of zeolite clinoptilolite on serum chemistry and hematopoiesis in mice. Food and Chemical Toxicology, 39: 717-727. DOI: 10.1061/s0278-6915(01)00004-7
- Mohri, M., Seifi, H.A. and Daraei, F., 2008.** Effects of short-term supplementation of clinoptilolite in colostrum and Milk on

- hematology, serum proteins, performance, and health in neonatal dairy calves. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 2112- 2117. DOI: 10.1016/j.fct.2008.02.003
- Mumpton, E.A. and Fishman, P.H., 1977.** The application of natural zeolites in animal science and aquaculture. *Journal of Animal Science*, 45: 1188-1203. DOI: 10.2527/jas1977.4551188x
- Murray, H.H., 2000.** Traditional and new applications for kaolin, smectite, and palygorskite : a general overview. *Applied Clay Science*, 17: 207–221. DOI: 10.1016/S0169-1317(00)00016
- Murray, H.H., 2007.** Applied clay mineralogy occurrences, processing and application of kaolines, bentonites, palygoreskite, and common clays, p. 12-13
- Nafian Dehkordi, I., 2016.** Evaluation of dietary Montmorillonite (MMT) on growth, some blood parameters, Lysozym activity and intestinal morphology of *Onchorhynchus mykiss*. Shahrekord University, Iran. 68p.
- .Obradović, S., Adamović, M., Vukašinović, M., Jovanović, R. and Levic, J., 2006.** The Application Effects of Natural Zeolite in Feed and Water on Production Results of *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Romanian Biotechnological Letters*, 11(6): 3005-3013.
- Oguz, H. and Kurtoglu, V., 2001.** Effect of clinoptilolite on performance of broiler chickens during experimental aflatoxicosis. *Journal of British Poultry Science* Volume 41. DOI: 10.1080/713654953
- Oliver, M.D., 1989.** Sodium bentonite as a component in layer diets. *South Africa British poultry science*, 30: 841-846. Doi: 10.1080/00071668908417210
- Oluwaseyi, A.M., 2016.** Application of dietary bentonite clay as feed additive on feed quality, water quality and production performance of African catfish (*Clarias gariepinus*). Ph.D. Thesis. Stellenbosch University, Faculty of AgriSciences, South Africa, 175P.
- Palm, H.W., Sörensen, H. and Knaus, U., 2015.** Montmorillonite Clay Minerals With or Without Microalgae as a Feed Additive in Larval White Leg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Annual Aquaculture Research*, 2(1): 1008.
- Papaioannou, D., Katsoulos, P.D., Panousis, N. and Karatzias, H., 2005.** The role of natural and synthetic zeolites as additives on the prevention and/or treatment of certain farmanimal diseases. *Microp. Mesop. Mat*, 84:161-170. Doi: 10.1016/j.micromeso.2005.05.030
- Parlat, S.S., Yildiz, A.O., and Oguz, H., 1999.** Effect of clinoptilolite on performance of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) during experimental aflatoxicosis. *British. Poultry Science*, 40: 495–500.DIO: 10.1080/00071669987269
- Phillips, T.D., 1999.** Dietary clay in the chemoprevention of aflatoxin-induced

- disease. *Toxicology Science*, 52:118–126. DOI: 10.1093/toxsci/52.suppl_1.118
- Pond, W.G., and Mumpton, F.A., 1984.** Zeo-Agriculture: use of natural zeolites in agriculture and aquaculture. International Committee in Natural Zeolites, Westview Press, Brockport, New York.
- Prabhu, P.A.J., Geurden, I., Dicharry, S.F., Veron, V., Larroquet, L., Mariojous, C., Schrama, J.W. and Kaushik, S., 2016.** Responses in micro-mineral metabolism in rainbow trout to change in dietary ingredient composition and inclusion of a micro-mineral premix. *PLOS ONE*, DOI: 10.1371/journal.pone.0149378
- Rehulka, J., 2000.** Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 190: 27-47. DOI: 10.1016/S0044-8486(00)00383-5
- Ross, C., and Hendricks, S., 1945.** MINERALS OF THE MONTMORILLONITE GROUP, United States printing Office, Washington, 79P.
- Safaeikatouli, M., Jafariahngari, Y. and Baharlouei, A., 2010.** Effects of dietary inclusion of sodium bentonite on biochemical characteristics of blood serum in broiler chickens. *International Journal of Agriculture and Biology*. 12(6):877– 880. DOI: 1814–959610–261/MSA/2010/12–6–877–880
- Sardar, P., Abid, M., Randhawa, H. and Prabhakar, S., 2009.** Effect of dietary lysine and methionine supplementation on growth, nutrient utilization, carcass compositions and haemato-biochemical status in Indian Major Carp, Rohu (*Labeo rohita* H.) fed soy protein based diet. *Aquaculture nutrition*, 15:339–346. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2008.00598.x
- Williams, L., Haydel, Sh., Giese, R. and Eberl, D., 2008.** Chemical and mineralogical characteristics of French green clays used for healing. NIH public access. *Clay Mineral*, 56(4): 437–452. DOI: 10.17221/8584-VETMED
- Willford, C.W., Reynolds, W.R. and Quiros, M., 1992.** Clinoptilolite removal of ammonia from simulated and natural catfish pond waters. *Applied Clay Science*, 6(4), 277–291. DOI: 10.1016/S0169-1317(09)90003-5
- Yıldırım, Ö., Türker, A. and Şenel, B., 2009.** Effects of natural zeolite (Clinoptilolite) levels in fish diet on water quality, growth performance and nutrient utilization of Tilapia (*Tilapia zillii*) fry. *Fresenius Environmental Bulletin*, 18:1567-1571
- Yildiz, A. and Kusu, M., 2004.** "Origin of the Basoren (Kutahya W Turkey) bentonite deposits", *Clay Minerals*, 39: 219-231
- Zychowski, K.E., Hoffmann, A.R., Ly, H.J., Pohlenz, C., Buentello, A., Romoser, A., Gatlin, D.M. and Phillips, T.D. 2013.** The effect of aflatoxin-B1 on red drum (*Sciaenops ocellatus*) and assessment of dietary supplementation of NovaSil for the prevention of aflatoxicosis. *Toxins*. 5(9):1555–73. DOI: 10.3390/toxins5091555

Evaluation of Effect of Adding Different Levels of Montmorillonite on Some Growth and Blood Indices of Rainbow Trout (*Onchorhynchus mykiss*) Fry

Karimi M.¹; Mousavi.S.M.^{1*}; Zolgharnain.H.¹; Zakeri M.¹

*seied1356@yahoo.com

1-Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology

Abstract:

In this study, the effect of adding different levels of Montmorillonite, on growth indices and some blood factors of rainbow trout fry was investigated. Study carried out during 123 day within 3 experimental treatments, consist of adding different levels of Montmorillonite to the commercial diet with 4 replication in each treatment. In each replication 45pcs of fry with average weight of 500 ± 0.35 mlg were distributed. For this study, fiberglass rectangular tanks with 300_L capacity, filled with 200_L water were used. Frys were fed eight times daily. Weight measurement of frys done each 15 days and blood sampling from caudal vein was carried out at the end of experimental period. The results showed significant improve in final weight, percentage of weight gain, daily weight gain, SGR and FCR in experimental treatments comparing control ($p < 0.05$). The PER and HSI, showed no significant statistical difference between experimental treatments and control ($p > 0.05$). The highest final weight and highest percentage of final weight and the best FCR was observed in experimental treatment with 2% Montmorillonite in feed and highest daily weight gain and highest SGR was observed in experimental treatment with 4% Montmorillonite in feed. The blood factors, showed no significant difference between experimental treatments and control ($p > 0.05$). Based on this results, use of 2% Montmorillonite as a feed additive, in rainbow trout fry feeding, is recommended to improve growth indices without negative effect on blood factors.

Keywords: Rainbow trout, Dietary, Montmorillonite, Growth indices, Blood factors

*Corresponding author