"مقاله پژوهشی"

آنزیم‌های سرم خون و سیستم آنتی‌اکسیدانی کبد ماهیان کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) تغذیه شده با سطوح مختلف مخمر نانوایی (*Saccharomyces cerevisiae*)

پریا اکبری[1*]

۱. گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۵/۳۰

چکیده

اخیرا استفاده از پروبیوتیک‌ها به‌منظور افزایش سلامت و ایمنی آبزیان مورد توجه قرار گرفته است. لذا هدف از مطالعه حاضر، بررسی تاثیر سطوح مختلف مخمر نانوایی (*Saccharomyces cerevisiae*) بر آنزیم‌های سرم خون (آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارتات اسپارتات آمینوترانسفراز (AST) وآلانین آمینوترانسفراز (ALT)) و سیستم آنتی اکسیدانی کبد (سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و کاتالاز (CAT)) ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) به مدت ۶۰ روز بود. این آزمایش به‌صورت طرح کاملا تصادفی در قالب ۴ تیمار و هر یک در ۳ تکرار طراحی شد. مخمر ساکارمایسیس سروزیا در ۳ سطح ۲، ۴ و ۶ درصد وزن غذا به جیره غذایی پایه اضافه شد. همچنین یک تیمار بدون افزودن مخمر بعنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد. ماهیان کفال-خاکستری با وزن اولیه ۵/۵۶ گرم به‌صورت تصادفی در ۱۲ مخزن فایبر گلاس ۶۰ لیتری با تعداد ۲۰ قطعه ماهی در هر مخزن توزیع شدند. در پایان دوره آزمایش، نتایج نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم‌های CAT، SOD و کمترین فعالیت آنزیم‌های ALT وALP و میزان MDA در تیمار حاوی ۶ درصد مخمر مشاهده شد که با بقیه تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مخمر مایسیس سروزیا اثرات مطلوبی بر میزان فعالیت آنزیم‌های سرم خون و سیستم آنتی‌اکسیدانی کبد ماهی کفال خاکستری دارد.

کلمات کلیدی: ماهی کفال خاکستری، مخمر ساکارومایسیس سروزیا، سیستم آنتی اکسیدانی، آنزیم‌های کبد

*عهده دار مکاتبات paria.akbary@gmail.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.3.5.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.3.1]

مقدمه

آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز از خانواده ترانس آمینازها در ماهیان، در بافت کبد تغلیظ می‌شوند و مقادیر آن‌ها در بیماری نکروتیک حاد کبد در اثر تماس با سموم کبدی افزایش می‌یابد. در بیماری‌های حاد کبدی که منجر به ایجاد صدمات غشایی یا نکروز سلولی می‌شوند، فعالیت آمینوترانسفراز در سرم خون به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (Akrami *et al*., 2015). آلکالین فسفاتاز آنزیمی است که دارای انواع استخوانی، روده‌ای و کبدی است. میزان این آنزیم در بیماری حاد کبدی افزایش می‌یابد و به محض گذر از مرحله حاد سطح سرمی آن به ناگهان کاهش می‌یابد (Soochan *et al*., 2012).

مطالب زیادی در زمینه دخالت استرس اکسیداتیو در زمینه تعدادی از بیماری‌های دامی و انسانی وجود دارد (Hoeschen, 1997; Ames *et al*., 1998; Lykkesfeldt and Svendsen, 2007). ماهی‌ها همانند تمام موجودات خشکی‌زی به‌خاطر مقادیر بالای اسید-های چرب اشباع‌نشده، به طور خاص مستعد روبه‌رو شدن با انواع رادیکال‌های آزاد هستند. برخی از بیماری‌های ماهی، مانند دیستروفی عضلانی، همولیز شدن، و یرقان تحت تاثیر آسیب اکسیداتیو به بافت ایجاد می‌گردند (Santacroce *et al*., 2012). فرم فعال اکسیژن (Reactive Oxygen species ROS) یکی از انواع رادیکال‌های آزاد است که در شرایط نامتعادل واکنش‌های اکسیداسیون و احیای درون سلولی تولید می‌شود که قدرت اکسیدکنندگی بالا و توانایی زیادی جهت آسیب زدن به اجزای حیاتی سلول از قبیل لیپید-ها، DNA، پروتئین‌ها و آنزیم‌ها دارند (Agarwal and Sekhon, 2010). علی‌رغم وجودآنتی‌اکسیدان‌های مختلف در بدن، سیستم دفاعی بدن به تنهایی قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در بدن نیست به‌همین جهت نیاز به تامین آنتی‌اکسیدان از منابع خارجی دارد که از طریق مواد غذایی تامین می‌شود (Tovar-Ramı´rez *et al*., 2010).

در سال‌های اخیر از مخمر به‌دلیل ارزش غذایی آن از قبیل پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، رنگدانه‌ها و کربو هیدرات‌های بسیار پیچیده، برای مثال بتا – ۱، ۳ گلوکان، تری هالوز، مانان به‌عنوان مواد غذایی برای انسان و حیوانات استفاده شده است (Ravindra, 2000) مانن‌های مخمر به‌عنوان محرک ایمنی دارای خاصیت ضد توموری هستند و منجر به تحریک فعالیت ماکروفاژها می‌شود (Nakano *et al*., 1999). هر هر چند تحقیقات متعددی در زمینه اثر انواع گونه مخمر بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی ماهی، از جمله مخمر قرمز (*Phaffia rhodozyma*) در ماهی قزل‌آلای رنگین-کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Nakano *et al*., 1999)، مخمر زنده *Debaryomyces hansenii* در ماهی هامور (*Mycteroperca rosacea*) (Reyes-Becerril *et al*., 2008) مخمر نانوایی (*Saccaromyces cerevisiae*) در ماهی باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) (Tovar-Ramı´rez *et al*., 2010; Santacroce *et al*., 2012) و بر میزان فعالیت آنزیم-های سرم خون از جمله مخمر ساکارمایسیس سروزیا بر ماهی تیلاپیا (*Sarotherodon galilaeus*) (Abdel-Tawwab *et al*., 2010) و فیل ماهی (*Huso huso*) (Hassanpour Fatahi *et al*., 2014) صورت گرفته است. با این حال اطلاعات محدودی در زمینه اثر مخمر ساکارومایسیس سروزیا به‌عنوان پروبیوتیک بر آنزیم-

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.3.5.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.3.1]

های سرم خون و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ماهی وجود دارد.

ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) متعلق به خانواده کفال ماهیان (*Mugilidea*) یکی از ماهیان استخوانی دریایی با ارزش تجاری بالا است که قادر به تحمل دامنه وسیعی از شوری و درجه حرارت می‌باشد و به‌صورت نیمه‌متراکم در استخرها پرورش داده می‌شود (Balamurngan and Munuswami, 2017). این گونه به‌دلیل دارا بودن شرایط مناسب جهت پرورش، ضریب رشد خوب، ضریب تبدیل غذایی مناسب، بازارپسندی عالی، امکان پرورش با سایر گونه ها یکی از بهترین گونه‌های ماهیان دریایی پرورشی در سراسر جهان به‌شمار می‌آید (Rostami *et al*., 2015). کفال ماهیان عموما دتریت‌خوار بوده و قدرت تبدیل این مواد را به پروتئین دارند. مقاوم بودن این ماهیان در برابر تغییرات شوری و تغذیه در سطوح پایین هرم غذایی، موجب شده تا آن‌ها را به‌عنوان گونه‌ای بسیار ممتاز و یک منبع پروتئین حیوانی ارزان قیمت که برای پرورش در شرایط مناسب می‌با شند، معرفی نماید (Dahhar *et al*., 2014). از طرف دیگر، وجود منابع آب شور و لب شور فراوان در نواحی ساحلی شمال و جنوب و استان‌های مرکزی و همچنین زمین‌های نامرغوب و کم بازده از نظر کشاورزی که برای پرورش این گونه مناسب تشخیص داده شده است (Rostami *et al*., 2015).

اولین گام در تشخیص آسیب کبدی انجام آزمایش ساده خون است که حضور آنزیم‌های خاص را نشان می‌دهد . تحت شرایط عادی این آنزیم‌ها درون سلول‌های کبدی وجود دارند اما زمانی که کبدی آسیب می‌بیند این آنزیم‌ها وارد جریان خون می‌شوند. حساسترین و پرمصرف‌ترین آنزیم‌های کبدی آمینوترانسفرازها هستند (Ahmed and Khater 2001; Kumar *et al*., 2004). سنجش آنزیم‌های کبدی از جمله آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارتات-آمینوترانسفراز(ASP) و آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) برای بررسی وضعیت تغذیه‌ای، سیستم عروق و عملکرد کبد در ماهی‌ها از ارزش تشخیصی قابل توجهی برخوردار است (Kumar *et al*., 2004). موجودات زنده سیستم آنتی‌اکسیدانی پیچیده‌ای جهت مقابله با گونه‌های فعال رادیکال‌های آزاد و کاهش مخرب آن‌ها دارند. سیستم آنتی‌اکسیدانی به‌صورت سیستم دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی عمل می‌کنند (Morales et al.,2004). آنزیم‌ها دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل سوپر-اکسید دیسموتاز (Super Oxide Dismutase (SOD))، کاتالاز ((catalase(CAT) اشاره کرد که به‌همراه دیگر آنزیم‌ها مجموعه‌ای از دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی را تشکیل می‌دهند و نقش حذف رادیکال‌های آزاد را بر عهده دارند علی‌رغم وجود آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در بدن، سیستم دفاعی بدن به تنهایی قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در بدن نیست به‌همین جهت نیاز به تامین آنتی‌اکسیدان از منابع خارجی دارد که از طریق مواد غذایی تامین می‌شودet (Vettrivel *et al*., 2013).

تحقیق حاضر برای ارزیابی اثر مخمرساکارمایسیس سروزیا در سطوح مختلف بر آنزیم های سرم خون و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی ماهی کفال خاکستری طراحی شد.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.3.5.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.3.1]

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط پرورش

این تحقیق در سالن مرکز تحقیقات شیلات آب‌های دور چابهار در قالب طرح کاملا تصادفی در آذرماه ۱۳۹۵،با ۴ تیمار و سه تکرار به‌مدت ۶۰ روز انجام گرفت. ماهیان مورد استفاده در این مطالعه، از سواحل چابهار صید و پس از سازگاری اولیه (۲ هفته)، تعداد ۲۰ قطعه ماهی به ازای هر تکرار، در مخازن فایبر گلاس ۶۰ لیتری با میانگین وزنی ۰/۶۵± ۵/۵۶ گرم و طولی ۰/۴۹ ±۳/۴۰ سانتی متر ذخیره‌سازی شدند. جیره غذایی مورد استفاده در این مطالعه، جیره تجاری ساخت شرکت هورراش تولید غذای میگو و آبزیان بوشهر با سایز ۱/۲ میلی‌متر (۳۹ درصد پروتئین، ۷ درصد چربی، ۸ درصد خاکستر و ۵ درصد رطوبت) بود که ماهیان در طول دوره آزمایش، روزانه به میزان ۵ درصد وزن بدن طی دو مرحله (ساعت ۹ و ۱۷) تغذیه شدند (Sudagar *et al*.,2004). مخمر ساکارمایسیس سروزیا سویه الیپسوئیدوس (*Saccaromyces cerevisiae* var ellipsoidous) با نام تجاری Amax (تپاکس ایران) تهیه شده از شرکت داکسال ایتالیا وارداتی شرکت داروسازان ایران، در سطوح ۲، ۴ و ۶ درصد وزن غذا از طریق روغن ماهی کاد (۳۲ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم غذا) پوشش دار و سوسپانسیون حاوی مخمر و روغن ماهی کاد به غذا اسپری شد و به جیره غذایی تیمار شاهد، تنها روغن ماهی کاد اسپری شد (Chang and Liu, 2002; Wache *et al*., 2006).

بقایای مواد غذایی با استفاده از سیفون با دقت از مخازن روزانه پیش از غذادهی جمع‌آوری می‌شد. طول مدت روشنایی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد. درجه حرارت آب ۰/۷۸±۲۸/۴۵ درجه سانتی‌گراد و pH آب ۷/۹-۷/۵ بود و در طول دوره آزمایش، میزان اکسیژن محلول آب ۸ میلی‌گرم بر لیتر نگه داشته شد. آب مورد نیاز پرورش از دریا با شوری ۳۵ گرم بر لیتر پمپاژ شد و به کارگاه انتقال داده شد.

خون‌گیری و سنجش آنزیم‌های سرم خون

در پایان دوره آزمایش (روز۶۰)، ۲۴ ساعت پس از قطع غذا به‌صورت تصادفی از ۳ ماهی هر تکرار پس از بیهوشی (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره گل میخک) (Velisek *et al*., 2005) از رگ ساقه دمی آن‌ها خون گیری صورت گرفت و خون جمع‌آوری شده از هر تکرار به میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری بدون هپارین منتقل گردید. سپس با استفاده از سانتریفیوژ (مدلHettich, DV200، ژاپن) به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه سرم آن جدا و در دمای۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Jalali hajiabadi *et al*., 2009، علیزاده رودپشتی و همکاران، ۱۳۹۶،اکبری و همکاران، ۱۴۰۰).

سنجش آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) در طول موج ۵۰۵ نانومتر و آلکالین فسفاتاز (ALP) در طول موج ۴۱۰ نانومتر توسط روش Liu و همکاران (۲۰۱۶) صورت گرفت.

نمونه‌برداری کبد و سنجش سیستم آنتی اکسیدانی

در پایان دوره آزمایش (روز ۶۰)، ۱۸ ماهی از هر تیمار (۶ ماهی از هر تکرار) بعد از ۲۴ ساعت قطع غذا به‌صورت تصادفی صید و پس از بیهوش نمودن با پودر گل میخک (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) (Santacroce *et al*., 2012)، برای تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.3.5.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.3.1]

اکسیدانی کبدی و میزان گلوتاتیون احیاء سریعاً در مجاورت یخ (به‌منظور به‌حداقل رساندن تغییر فعالیت آنزیمی) کالبدشکافی آن‌ها صورت گرفت وکبد آن‌ها با دقت جدا شد و بلافاصله در شرایط انجماد در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Chong *et al.*, 2002). بافت کبد با نسبت (۱:۱۰ حجم / وزن) در بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی‌مولارEDTA، ۰/۱۵ مولارKCL، ۰/۱ میلی مولار فلوراید سولفونیل متیل فنیل (PMSF) و ۱ میلی‌مولار دی تیوتریتول (DTT) با PH ۷/۴ هموژن شد. برای اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدئید نیمی از نمونه هموژن شده هر تیمار، به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۸۰۰ برای حذف سلول های شکسته نشده دردمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نیمی دیگر نمونه‌های هموژن شده در دور ۶۰۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سوپر ناتانت‌های تهیه شده از هر دو طریق سانتریفیوژ به‌ترتیب برای سنجش میزان مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و مورد استفاده قرار گرفتند (Santacroce *et al.*, 2012).

سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسیداز دیسموتاز طبق روش Misra (۱۹۸۵)، با استفاده از کیت ارزیابی این آنزیم بر اساس دستورالعمل سازنده آن (راندوکس، انگلیس) در طول موج ۵۰۵ نانومتر صورت گرفت. سوپر اکسیددیسموتاز (SOD) در دیسموتاسیون رادیکال سمی O_2^- تولید شده در طی مراحل اکسیداتیو انرژی به O_2 و H_2O_2 شرکت می‌کند. در این روش از گزانتین و گزانتین اکسیداز (XOD) جهت تولید رادیکالهای سوپر اکساید استفاده می‌شودکه با Int (فنیل‌تترازولیوم‌کلراید - ۵- (نیتروفنل -۴) - ۳- (یدوفنل -۴) -۲) واکنش می‌دهند و رنگ قرمز فورمازون تولید می‌شود که در طول موج ۵/۵ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. در صورت وجود آنزیم SOD در نمونه رادیکال‌های سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و O_2 تبدیل شده و از ایجاد رنگ قرمز فورمازان ممانعت می‌شود و فعالیت آنزیم SOD بوسیله درجه ممانعت از این واکنش تعیین می‌شود. یک واحد SOD باعث مهار ۵۰ درصد سرعت احیا Int یا مهار ۵۰ درصد مقدار اکسیداسیون NADPH تحت غلظت‌های اندازه‌گیری می‌باشد. و مقدار آنزیم در بافت به‌صورت واحد بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد. سنجش آنزیم کاتلاز طبق روش Clairborne (۱۹۸۵) صورت گرفت اساس واکنش در این روش هیدروژن پراکساید توسط آنزیم کاتالاز به آب و اکسیژن تجزیه می‌شود که در طول موج ۲۴۰ نانومتر به روش اسپکتروفتومتری تجزیه H_2O_2 مستقیماً با کاهش جذب همراه است. یک واحد فعالیت آنزیمی عبارت است از مقدار آنزیمی که باعث تولید یک میلی‌مول H_2O_2 در دقیقه در یک غلظت ابتدایی ۱۰ میلی‌مول در لیتر در pH=۷/۴ در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد می‌شود. و مقدار آنزیم در بافت به‌صورت واحد بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد. سنجش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز مطابق روش Lawrence و Burk (۱۹۷۶) صورت گرفت. آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز واکنش اکسیداسیون گلوتاتیون (GSH) را توسط کومن هیدروپراکسید (Cumene Hyroperoxide) کاتالیز می‌نماید. در حضور آنزیم گلوتاتیون ردوکتازو NADPH، گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) مجدداً به گلوتاتیون احیاء تبدیل می‌شود که این احیاء با اکسیداسیون همزمان ADPH به $NADP^+$ همراه است. در این واکنش کاهش جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.3.5.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.3.1]

اندازه‌گیری می‌شود. سنجش مالانون دی‌آلدئید توسط روش Buege و Aust (۱۹۷۸) صورت گرفت. به ۱ میلی‌لیتر از سوپرناتنت حاصل ۱ میلی‌لیتر تری-کلرواستیک اسید ۲۰ درصد (وزنی به حجمی) در ۰/۶ مولار اسیدکلریدریک افزوده، و پس از مخلوط کردن، در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد در دور ۲۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. ۰/۳ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱۲ مولار تیوباربیتوریک اسید در ۰/۲۶ مولار تریس با اسیدیته ۷ را به ۱/۵ میلی لیتر از محلول رویی سانتریفیوژ شده افزوده و و سپس در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به-مدت ۱۵دقیقه انکوبه شد و پس از سردشدن در مجاورت یخ، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۵ نانومتری قرائت شد و نتایج بر حسب واحد مالون دی-آلدئید بر حسب میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

تجزیه و تحلیل‌های آماری

ارزیابی تغییرات متغیرهای بین تیمارهای تحت مطالعه، از طریق آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (one way analysis of variance ANOVA) و مقایسه میانگین بین تیمارها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌دار ۵ درصد استفاده شد. با استفاده از تست کالموگراف اسمیرنوف نرمال بودن داده‌ها و از تست لون برابری واریانس‌ها استفاده شد تجزیه و تحیل کلیه داده‌ها توسط نرم افزار SPSS ویرایش ۱۹ صورت گرفت و جهت محاسبات آماری از نرم افزار Excel ویرایش ۲۰۱۰ استفاده شد.

نتایج

آنزیم‌های سرم خون

با افزایش میزان مخمر در جیره غذایی میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینو ترانسفراز کاهش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد و بین سایر تیمارها این اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) (جدول ۱). کمترین میزان فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در تیمار ۳ و ۴ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با تیمار ۲ و شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵) ولی از نظر میزان فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز بین تیمار ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (جدول ۱).

جدول ۱. مقایسه میانگین (میانگین± خطای معیار) آنزیم‌های سرم خون ماهی کفال خاکستری در تیمارهای مختلف

فعالیت آنزیم های سرم خون (واحد بر لیتر)	تیمار			
	۱	۲	۳	۴
آلانین آمینوترانسفراز (ALT)	۴/۲۵±۰/۱۲^{a}	۳/۸۵±۰/۱۵^{b}	۳/۶۱±۰/۱۲^{c}	۳/۲۰±۰/۱۲^{d}
آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)	۴۵/۳۳±۲/۰۸^{a}	۴۳±۲/۶۴^{ab}	۴۱/۳۳±۲/۰۸^{c}	۴۱/۱۶±۱/۷۶^{c}
آلکالین فسفاتاز (ALP)	۳۳۶±۱۵/۲۵^{d}	۳۲۶±۱۰^{b}	۳۱۸±۰/۱۲^{c}	۳۱۰±۱۱^{d}

وجود حروف غیر همسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

سنجش سیستم آنتی‌اکسیدانی کبد

بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)، مالون دی آلدئید (MDA) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در تیمار ۴ مشاهده که اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵). همچنین بیشترین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در تیمار ۳ و ۴ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با تیمار ۲ و شاهد نشان داد (P<۰/۰۵) (جدول ۲).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.3.5.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.3.1]

جدول ۲. مقایسه میانگین (میانگین± خطای معیار) سیستم آنتی اکسیدانی ماهی کفال خاکستری در تیمارهای مختلف

سیستم آنتی‌اکسیدانی	تیمار			
(واحد بر میلی لیتر)	۱	۲	۳	۴
سوپر اکسیداز دیسموتاز (SOD)	۱۲۷/۲۶±۱۱/۱۲^{c}	۱۲۹±۱۴/۰۲^{c}	۱۳۵/۶۶±۱۲/۵۱^{b}	۱۴۵/۳۳±۱۶/۱۲^{a}
گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)	۸۰۰±۲۰/۱۲^{c}	۸۲۸/۶۶±۲۸/۰۸^{b}	۸۶۰±۱۵/۱۷^{a}	۸۷۱/۶۶±۱۱/۵۲^{a}
مالون دی آلدئید (MDA)	۵/۸۲±۰/۵۲^{d}	۶/۳۶±۰/۳۳^{c}	۷/۰۶±۰/۲۵^{b}	۷/۷۴±۰/۲۲^{a}
کاتالاز (CAT)	۳۶۷/۳۳±۱۷/۷۴^{d}	۳۸۲±۱۵/۲۹^{c}	۳۹۹/۳۳±۱۰/۰۶^{b}	۴۱۴/۱۶±۱۴/۱۶^{a}

وجود حروف غیر همسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

بحث

سنجش فعالیت این آنزیم‌ها از اهمیت زیادی در بررسی وضعیت سلامتی ماهی برخوردار است (Satheeshkumar *et al*., 2012). آنزیم‌های ALT، AST و ALP در میتوکندری سلول‌ها به‌ویژه سلول‌های کبدی قراردارند لذا هرگونه التهاب یا آسیب سلول‌های کبدی منجر به رهاسازی این آنزیم‌ها و افزایش سطح این آنزیم‌ها در سرم می‌شود (Dadras *et a*l., 2016). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز (ALP) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) با افزایش غلظت مخمر ساکارمایسیس سروزیا در جیره غذایی ماهی کفال خاکستری کاهش معنی‌داری پیدا کردند به‌طوری که در تیمار حاوی ۶ درصد مخمر ساکارمایسیس سروزیا کمترین مقادیر فعالیت این آنزیم‌ها مشاهده شد و بین همه تیمارها از نظر فعالیت آنزیم‌های مذکور این اختلاف معنی‌دار بود. کمترین میزان فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز نیز در تیمار ۳ و ۴ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان دادند. در تایید نتایج این تحقیق، Hassanpour Fatahi و همکاران (۱۳۹۳) مشاهده نمودند که استفاده از سطوح مختلف مخمر ساکارومایسیس سروزیا (۱۰^{۶}× ۲ و۱۰^{۶}× ۴ و۱۰^{۶}×۶ سلول در گرم غذا) در جیره غذایی فیل ماهی (*Huso huso*) سبب کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های ALT وALP در مقایسه با تیمار شاهد شد. می‌توان گفت که کاهش سطح فعالیت این آنزیم‌ها در سرم ماهیان تحت تاثیر مخمر ساکارومایسیس سروزیا به‌عنوان پروبیوتیک، نشان دهنده وضعیت سلامتی بافت‌های کفال ماهیان و دلیلی بر عملکرد مناسب کبد می‌باشد (SeyhaneyildizCan *et al*., 2014) . مغایر با نتایج حاصل از این تحقیق، Abdel-Tawwab و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که هر چند استفاده از ۱۰ گرم مخمر ساکارومایسیس سروزیا زنده در جیره غذایی تیلاپیا (*Sarotherodon galilaeus*)تاثیر معنی‌داری را بر میزان فعالیت آنزیم-

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.3.5.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.3.1]

های AST وALT نداشت ولی این موضوع نشان داد که استفاده از مخمر ساکارمایسیس سروزیا فاقد اثرات سمی برای ماهی تیلاپیا است همچنین آن‌ها گزارش نمودند که بعد از آلودگی ماهی تیلاپیا با مس استفاده از مخمر ساکارومایسیس سروزیا در جیره غذایی ماهی تیلاپیا منجر به کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم AST وALT شد و مقاومت ماهی ماهی را در برابر آلودگی با مس افزایش داد. همچنین SeyhaneyildizCan و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک کفیر (Kefir) در سطوح مختلف (۱۰،۲۰ و ۴۰ گرم بر کیلوگرم غذا) در جیره غذایی ماهی سالمون کوهو (*Salmo corhensis*) منجر به افزایش میزان فعالیت آنزیم‌ها ALT و AST در مقایسه با شاهد شد ولی این اختلاف معنی‌دار نبود که با نتایج حاصل از این تحقیق همخوانی نداشت. می‌توان گفت که عواملی نظیر میزان مخمر در جیره غذایی، مدت زمان استفاده از آن و نوع گونه ماهی می‌تواند در نتایج به‌دست آمده تاثیرگذار باشد.

آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نقش اساسی در کنترل آسیب های ناشی از رادیکال‌های آزاد داشته و کنترل فعالیت آن‌ها سلول‌ها و بافت‌ها را در برابر فشار استرس اکسیداتیو محافظت می‌نماید (Reda *et al*., 2018). سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) سوپر اکسید (O_2^-) را به اکسیژن مولکولی (O_2) یا پراکسید هیدروژن (H_2O_2) تبدیل می‌کند.گلوتاتیون پراکسیداز در برابر استرس اکسیداتیو سلول‌ها را از طریق غیر فعال سازی و دفع گاز هیدروژن و پراکسیداسیون لیپید محافظت می‌کند. مالون دی‌آلدئید یکی از محصولات اسیدهای چرب اشباع شده است که به عنوان شاخص مناسبی برای پراکسیداسیون لیپید و استرس اکسیداتیو در نظر گرفته شده است (Hayyan *et al*., 2016). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های GPX و CAT و کمترین میزان MDA در تیمار حاوی ۶ درصد مخمر ساکارومایسیس سروزیا مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد و بیشترین فعالیت آنزیم SOD در تیمار حاوی ۴ و ۶ درصد مخمر ساکارمایسیس سروزیا مشاهده شده اختلاف معنی‌داری را بین آن‌ها از این نظر مشاهده نشد. Xu و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که استفاده از ۰/۶ و ۱/۲ گرم نوکلئوتید مستخرج شده از مخمر ساکارمایسیس سروزیا بر کیلوگرم غذا منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم SOD و کاهش معنی‌دار میزان MDA در سرم خون ماهی تیلاپیای هیبرید (*Oreochromis niloticus*×*O.aureus*) در مقایسه با تیمار شاهد شد که با نتایج این تحقیق همخوانی داشت. می‌توان گفت که استفاده از مخمر ساکارمایسیس سروزیا در جیره غذایی ماهی کفال خاکستری می‌تواند منجر به تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی کبد آن ها شود. Meng و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که استفاده از ۰/۱۵ تا ۳ گرم نوکلئوتید مستخرج شده از مخمر ساکارمایسیس سروزیا بر کیلوگرم غذا منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم گلوتاتیون پر اکسیداز در ماهی

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.3.5.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.3.1]

توربوت (*Scophthalmus maximus*) در مقایسه با تیمار شاهد شد و کمترین میزان فعالیت مالون دی آلدئید در تیمار حاوی ۰/۳ گرم نوکلئوتید مخمر بر کیلوگرم غذا شد که با نتایج حاصل از این تحقیق همخوانی داشت. در حالی که استفاده از نوکلئوتید مخمر بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در ماهی توربوت تاثیر معنی‌داری نداشت که با نتایج این تحقیق همخوانی نداشت.

با توجه به بررسی فعالیت آنزیم‌های سرم خون و سیستم آنتی اکسیدانی کبد ماهی کفال خاکستری تغذیه شده با سطوح مختلف مخمر ساکارومایسیس سروزیا استفاده از ۶ درصد مخمر ساکارومایسیس سروزیا در جیره غذایی به منظور بهبود فعالیت آنزیم‌های کبدی (ALT، ALP و AST) و تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی کبد کفال ماهیان توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری ریاست و پرسنل محترم مرکز تحقیقات شیلات چابهار به دلیل فراهم آوردن امکانات پژوهش و کارشناسان محترم آزمایشگاه تخصصی پاتوبیولوژی صدف چابهار و شرکت میزان سنجش پاسارگاد تهران تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. اکبری، ح.، حسینی شکرایی، س.پ.، سلطانی، م.، شمسایی مهرجان، م.، ۱۴۰۰. تاثیر مقادیر مختلف پروبیوتیک *Enterococcus faecium* بر برخی شاخص‌های ایمنی سرم خون و موکوس پوست بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۵(۲)، ۱۵-۲۶.

۲. علیزاده رودپشتی، م.، شناور ماسوله، ع.، خلیل پور، ح.، معصوم زاده، م.، بازاری مقدم، ل.، یگانه، ه.، عزیززاده، ل.، ۱۳۹۶. اثر انتروکوکوس فکالیس به عنوان پروبیوتیک بر شاخص های خونی و سرمی بچه تاس ماهی ایرانی *Acipencer persicus*. نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۱ (۱)، ۸۳-۱۰۳.

3. Abdel-Tawwab, M., Mousa, M.A.A. and Mohammed, M.A., 2010. Use of Live Baker's Yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, in Practical Diet to Enhance the Growth Performance of Galilee Tilapia, *Sarotherodon galilaeus* (L.), and Its Resistance to Environmental Copper Toxicity. Journal of the World Aquaculture Society, 41, 214-223.
4. Agarwal, A. and Sekhon, L., 2010. The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility. Human Fertility, 13, 217–225.
5. Ahmed, M.B. and Khater, M.R. 2001. Evaluation of protective potential of Ambrosia martimia extract on acetaminophen-induced liver damage, Journal of ethnopharmacology, 75(2-3), 169-74.
6. Akrami, R., Gharaeib, A., Razeghi Mansourc, M.and Galeshi, A., 2015. Effects of dietary onion (*Allium cepa*) powder on growth, innateimmune response and hematoebiochemical parameters of beluga (*Huso huso* Linnaeus, 1754) juvenile. Fish and Shellfish Immunology, 45, 828-834.
7. Ames, B.N., Gold, L.S. and Willett, W.C., 1998. The causes and prevention of cancer. The role of environment. Biotherapy, 11,205–220.
8. Balamurugan, R., Munuswami, N., 2017. Cryopreservation of sperm in Grey mullet

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.3.5.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.3.1]

Mugil cephalus (Linnaeus, 1758). Animal reproduction science, 185, 205-203.

9. Buege, J.A. and Aust, S.D., 1978. Microsomal lipid peroxidation. Methods in Enzymology, 52, 302-310.
10. Chang, C.I.W. and Liu, W.Y., 2002. An evaluation of two bacterial strains, *Enterococcus faecium* SF68 and *Bacillus toyoi*, for reducing *Edward siellosis* in cultured European eel, *Anguilla anguilla* L. Journal of Fish Diseases, 25, 311-315.
11. Chong, A.S.C., Hashim, R. M., Chow-Tang, L. and Ali, A. B., 2002. Parrtial characterization and activities of protease from the digestiove tract of discus fish (*Symphysodon aequifasciata*). Aquacultur, 203, 321-331.
12. Clairborne, A., 1985. Catalase activity. In: Greenwald RA (ed) CRC handbook of methods for oxygen radical research. CRC Press, Boca Raton, pp, 283–284.
13. Dadras, H., Hayatbakhsh, M.R., Shelton, W.L. and Golpour, A., 2016. Effects of dietary administration of Rose hip and Safflower on growth performance, haematological, biochemical parameters and innate immune response of Beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). Fish and Shellfish Immunology, 59, 109-114.
14. Dahhar A.A., Salama M.E., Moustafa, Y.T. and Elmorshedy, E.M., 2014. Effect of using Equal Mixture of Seaweeds and Marine Algae in Striped Mullet (*Mugil Cephalus*) Larval Diets on Growth Performance and Feed Utilization. Journal of the Arabian Aquaculture Society, 9(1), 145-160.
15. Hassanpour Fatahi, A., Jafarian, H., Khosravi, A., Gholipour, H. and Kanani, H., 2014. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus niger* Isolated from Beluga Adult Digestive Tract on the Feeding Efficiency and Blood Serum Enzymes of Beluga Juvenile Sturgeon (*Huso huso*). Journal of Fisheries Science and Technology, 3(1), 1-13.
16. Hayyan, M., Hashim, M.A. and inashef, I.M., 2016. Superoxide ion: generation and chemical implications, Chemical Review. 116, 3029–3085.
17. Hoeschen, R.J., 1997. Oxidative stress and cardiovascular disease. Canadian Journal of Cardiology, 13, 1021–1025.
18. Jalali hajiabadi, M. A., Sadeghi, A. A., Mahbobi sofiyani, N., Chamani, M. and Riyazi, Gh., 2009. The effect of dietary L-carnitine supplementation on blood factors and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Agriculture Science and Natural resource, 47,105-115.
19. Kumar, S., Sahu, N. P., Pal, A. K., Choudhury, D., Yengkokpam, S. and Mukherjee, S. C. 2005. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *Labeo rohita* juveniles. Fish and Shellfish Immunology, 19(4), 331 - 344.
20. Lawrence, R.A. and Burk, R.F. 1976. Gluthatione peroxidase activity in selenium-deficiency rat liver biochemical and biophysics research communitations, 71, 952-958.
21. Liu, F., Shi, H., Guo, Q., Yu, Y., Wang, A., Lv, F. and Shen, W., 2016. Effects of astaxanthin and emodin on the growth, stress resistance and disease resistance of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). Fish and Shellfish Immunology, 51, 125-135.
22. Lykkesfeldt, J. and Svendsen, O., 2007. Oxidant and antioxidant in disease: oxidative stress in farm animals. Veterinary Journal, 173, 502–511.
23. Meng, Y., Ma, R., Ma, J., Han, D., Xu, W. and Zhang, W., 2017. Dietary nucleotides improve the growth performance, antioxidative capacity and intestinal morphology of turbot (*Scophthalmus maximus*), Aquacult. Nutr, 23 (2017) 585–593.
24. Misra, H.P., 1985. Adrenochrome assay. In: Greenwald RA (ed) Handbook of methods for oxygen radical research. CRCPress, Boca Raton, pp, 237–241.
25. Morales, A.E., Pérez-Jiménez, A., Hidalgo, M.C., Abellán, E. and Cardenete, G., 2004. Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in Dentex dentex liver. Comparative Biochemistry and Physiology, 139, 153-161.
26. Nakano, T., Kanmuri, T., Sato, M. and Takeuchi, M., 1999. Effect of astaxanthin rich red yeast (*Phaffia rhodozyma*) on oxidative stress in rainbow trout. Biochimistry Biophysic Acta, 1426, 119–125.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.3.5.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.3.1]

Vannagen) growth stimulant supplementation on the growth and survival rate of grand beluga juvenile (*Huso huso*). Iranan Journal of Marin Science, 3, 33-38.

36. Tovar-Ramı´rez, D., Mazurais, D., Gatesoupe, J.F., Quazuguel, P., Cahu, C.L. and Zambonino-Infante, J.L., 2010. Dietary probiotic live yeast modulates antioxidant enzyme activities and gene expression of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Aquaculture, 300,142–147.
37. Vettrivel, C., Pugazhendy, K., Meenambal, M., Jayanthi, C., 2013. Curative Efficacy of Spirulina against Lead Acetate Toxicity on the *Cyprinus carpio* Fresh Water Fish. International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives, 4(3), 537-542.
38. Velisek, J., Svobodova, Z. and Piaakova, V., 2005. Effects of clove oil anaesthesia on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Acta Veterinaria Brno, 74, 139-146.
39. Waché, Y., Auffray, F., Gatesoupe, F.J., Zambonino, J., Gayet, V., Labbé, L. and Quentel, C., 2006. Cross effects of the strain of dietary Saccharomyces cerevisiaeand rearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*, fry. Aquaculture, 258, 470-478.
40. Xu, L., Ran, C., He, S., Zhang, J., Hu, J. and Yang, Y., 2015. Effects of dietary yeast nucleotides on growth, non-specific immunity, intestine growth and intestinal microbiota of juvenile hybrid tilapia *Oreochromis niloticus*♀×*Oreochromis aureus*♂. Animal Nutrition, 244–251.
27. Ravindra, A.P., 2000. Value-added food: single cell protein.Biotechnology Advance, 18,459–479.
28. Reda, R.M., Selim, K.M., Mahmoud, R. and El-Araby, I.E., 2018. Effect of dietary yeast nucleotide on antioxidant activity, non-specific immunity, intestinal cytokines, and disease resistance in Nile Tilapia. Fish and Shellfish Immunology, 80, 281–290.
29. Reyes-Becerril, M., Tovar-Ramı´rez, D., Ascencio-Valle, F., CiveraCerecedo, R., Gracia- Lo´pez, V. and Barbosa-Solomieu, V., 2008. Effects of dietary live yeast *Debaryomyces hanseniion* the immune and antioxidant system in juvenile leopard grouper *Mycteroperca rosacea* exposed to stress.Aquaculture, 280, 39–44.
30. Rostami, S.A., Anini, K., Jorjani, M., 2015. The effect of density and stocking weight on growth rate and production of grey mullet (*Mugil cephalus* L.). Iranian Scientific Fisheries Journal, 24(3), 23-27.
31. Santacroce, M.P., Merra, E., Centoducati, G., Zacchino, V. and Casalino, E., 2012. Effects of dietary yeast *Saccaromyces cerevisiae* on the antioxidant system in the liver of juvenile sea bass *Dicentrarchus labrax.* Fish Physiology and Biochemistry, 1, 1-10.
32. Satheeshkumar P., Ananthan G., Senthil Kumar D. and Jagadeesan, L., 2012. Haematologyandbiochemicalparameters of different feeding behaviour of teleost fishes from Vellar estuary, India. Comparative Clinical Pathology, 21(6), 1187–1191.
33. Seyhaneyildizcan, S., Kutluyer, F., Can, E., Kayis, S., Delihasasonay, F., Aksu, Ö., Erdamar, H., Yigitoglu, R. and Kayim, M., 2014. Effect of dietary Kefir on the digestive and liver enzymes activities and glucose lenel of coruh trout, *Salmo coruhensis* (Actinopterygil salmoniformes, salmonidae). Acta Ichthyologica Aetpiscatoria, 44(2), 167-170.
34. Soochan, D., Keough, V., Wanless, I. and Molinari, M., 2012. Intra and extra-hepatic cystadenoma of the biliary duct. Review of literature and radiological and pathological characteristics of a very rare case. BMJ Case Report, 4, 2012-2014.
35. Sudagar, M., Imanpoor, M. and Hoseinifar, S.H., 2004. Effect of optimum (Ascogen or

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.3.5.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.3.1]