

## "مقاله پژوهشی"

## اثرات سطوح مختلف مولتی آنزیم کمبو بر عملکرد رشد، فاکتورهای خونی و ایمنی بچه ماهیان استرلیاد (*Acipenser ruthenus*)

پادینا عطوفت شمسی<sup>۱</sup>، محمدرضا رحیمی‌بشر<sup>۱\*</sup>، اکرم تهرانی فرد<sup>۱</sup>

۱. گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۷/۱۵

### چکیده

گونه استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) از ماهیان خاویاری و دارای ارزش تجاری و پرورشی بالایی است. در این تحقیق در ابتدا ۷۲ قطعه ماهی بامیانگین وزن اولیه  $88/80 \pm 4/54$  گرم در ۴ تیمار با ۳ تکرار در حوضچه‌های مدور فایبرگلاس با حجم مفید آب ۱۰۰ لیتر رهاسازی شدند. غذا دهی به صورت روزانه با ۱۰ درصد وزن بدن ماهی با چهار جیره حاوی، صفر (شاهد)، ۰/۲۵، ۰/۷۵، ۱ گرم مولتی آنزیم کمبو در هر کیلوگرم غذا به مدت ۲ ماه صورت گرفت. زیست‌سنجی در ۵ مرحله انجام و نتایج نشان دادند که میانگین رشد روزانه، رشد ویژه و ضریب چاقی بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشته، ولی میزان تغییرات رشد روزانه و رشد ویژه در مراحل پایانی با دیگر مراحل متفاوت بوده است. فاکتورهای خونی و ایمنی شامل گلبول سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، MCH، نوتروفیل، لنفوسیت، کلسترول، پروتئین کل، آلبومین، ACH50، لیزوزیم، آمیلاز، ایمونوگلوبین کل و ایمونوگلوبین M از اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها برخوردار بودند. نتایج این تحقیق نشان دادند که افزودن مولتی آنزیم کمبو به جیره غذایی بچه ماهیان استرلیاد به میزان یک گرم در یک کیلوگرم غذا می‌تواند بر فاکتورهای خونی و سیستم ایمنی این ماهی اثرات مثبت و معنیداری داشته باشد، ولی اثرات معنی‌داری بر روی رشد این گونه را نشان نداده است.

**کلمات کلیدی:** مولتی آنزیم کمبو، ماهی استرلیاد، *Acipenser ruthenus*، خون، ایمنی، رشد.

\* عهده‌دار مکاتبات (✉). rahimibashar@yahoo.com

## مقدمه

افزایش رشد و مقاومت به بیماری در ماهیان پرورشی دو عوامل مهم تاثیر گذار در صنعت پرورش آبزیان می باشد (Lin *et al.*, 2007). البته شرایط محیط، تغذیه، و اعمال مدیریت نادرست سبب بروز استرس‌هایی شده و این مسئله با کاهش مقاومت، ایمنی و فاکتورهای رشد توأم خواهد شد (فقانی و همکاران، ۱۳۹۲). به همین دلایل، استفاده از افزودنی‌ها بعنوان محرک‌های رشد و ایمنی هر روزه گسترش بیشتری یافته و محرک‌های طبیعی نسبت به محرک‌های مصنوعی باتوجه به مزیت‌های در دسترس بودن، آسیب کمتر برای محیط زیست و قیمت پایین تر بیشتر مد نظر است (Francis *et al.*, 2001). گزارشات موفق متعددی در خصوص استفاده از این محرک‌ها در ماهیان مختلف در منابع علمی یافت می شود (Harikrishnan *et al.*, 2011). امروزه در اغلب کشورها، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها ممنوع و یا با محدودیت‌های شدیدی مواجه و از ترکیبات مختلفی مانند ویتامینها، آنزیمها و پروبیوتیکها استفاده می‌شود (فاطمی و میرزرگر، ۱۳۸۶). یکی از مواد جدیدتر مورد استفاده بعنوان مکمل غذایی در آبرزی پروری آنزیم‌ها هستند که بر طبق واکنشهایی که سبب کاتالیز شدن آنها می‌شود طبقه بندی و برای بهبود وضعیت تغذیه‌ای به کار می‌روند و استفاده از آنها در بسیاری از گونه‌ها ضروری نیز به نظر می‌رسد (Cain and Garling, 1995). آنزیمها اولاتجزیه کننده عوامل ضد مغذی اند که در هضم طبیعی اختلال ایجاد می کنند، دوم باعث افزایش قابلیت دسترسی به نشاسته، پروتئین‌ها و مواد معدنی داخل دیواره‌های سلول الیاف خام می شوند که جانوران قادر به هضم آنها نیستند؛ سوم،

موجب شکستن پیوندهای شیمیایی خاص در مواد خوراکی خام می‌شوند که قابل تجزیه به وسیله آنزیم‌های خود جانور نیست، و چهارم: به آنزیم‌های داخلی در ماهیان جوان کمک می‌کنند که بدلیل عدم بلوغ دستگاه گوارش، مقدار آنزیم‌های درونی شان کافی نیست (Castillo and Gatlin, 2015). یکی از راه‌های تشخیص اثرگذاری مکمل‌ها استفاده از علم خونشناسی است که علاوه بر مشخص کردن وضعیت فیزیولوژیک سلولهای خونی، راه مناسبی برای تشخیص و شناخت بیماریهای ماهی و به عنوان یک شاخص مهم سلامت در پرورش ماهیان بسیار حائز اهمیت (Alyakrinskyaya and Dolgova., 1984). سنجش پارامترهای خونی جهت تعیین احتیاجات غذایی، اجزای غذایی جدید و سایر افزودنی‌ها می‌تواند مفید واقع شوند (Affonso *et al.*, 2002). در بین فاکتورهای خونی تعداد گلبول‌های سفید یکی از شاخص‌های مهم سلامتی ماهیان است و می‌تواند واکنش‌های ایمنی غیراختصاصی و ایمنی سلولی را در ماهیان تحریک کنند (Klontz, 1994).

مطالعات متعددی در ایران و دیگر نقاط دنیا بر روی اثرات مکمل‌های آنزیمی و اسانس‌های گیاهی در آبرزی پروری انجام گرفته که از آن جمله: صفری و همکاران (۱۳۸۹) با نگرشی جدید در تولید کنسانتره پروتئینی کانولا نشان دادند که با افزایش غلظت فیتاز مقدار فیتات کاهش و میزان پروتئین خام افزایش یافت. قاسمی پیربلوطی و همکاران (۱۳۹۰) اعلام نمودند که افزودن اسانس پونه، مرزه بختیاری و زرین گیاه به جیره قزل‌آلای رنگین کمان به میزان یک درصد باعث تقویت سیستم ایمنی می‌شود. خراسانی‌نژاد و همکاران (۱۳۹۷) با بکارگیری آنزیم گلوکاناز و آنزیم زایلاناز

در جیره غذایی بر پایه ذرت، گندم و جو و اثر آنرا بر رشد و لاشه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نشان دادند. فغانی و همکاران (۱۳۹۲) در مطالعه‌ای با عنوان تاثیر آستاگزاتین طبیعی (*Haematococcus pluvialis*) بر شاخص‌های رشد، ترکیب آنالیز لاشه و کبد فیل ماهی جوان (*Huso huso*) به این نتیجه رسیدند که شاخص‌های رشد مثل درصد افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه، نسبت بازده پروتئین، شاخص وضعیت تفاوت‌های معنی داری بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی دیده نشد. رئیسی و همکاران (۱۳۹۳) با مطالعه تاثیر اسانس گیاهان پونه کوهی (*Mentha longifolia*)، مرزه معمولی (*Satureja hortensis*) و آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر ایمنی غیراختصاصی ماهی استرلیاد نشان دادند که درصد نوتروفیل‌ها در برخی گروه‌های آزمون نسبت به گروه شاهد به خصوص در مورد آویشن شیرازی و مرزه معمولی افزایش معنی‌داری داشته است. Askarian و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی اثر باکتری‌های اسید لاکتیک بر رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و میکروبی روده در ماهیان خاویاری ایرانی (*Acipenser persicus*) و فیل ماهی (*Huso huso*) نشان دادند که استفاده از آنزیم تاثیر مثبتی بر گوارش این ماهیان داشته است. Zamini و همکاران (۲۰۱۴) به مطالعه تاثیر سطوح مختلف مکمل آنزیمی ناتوزیوم و همی سل بر پارامترهای رشد و خون ماهی آزاد دریای خزر نشان دادند که ترکیب این دو آنزیم تاثیر بهتری نسبت به سایر ترکیبات دارد. Hasehem و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی اثر مکمل‌ها بر رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیک در ماهیان خاویاری سیبری (*Acipenser baerii*) نشان دادند که به طور متوسط

وزن نهایی (BWI)، نرخ رشد ویژه (SGR) و نرخ رشد روزانه (ADG) اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل برخوردار است. بازرگان پور و همکاران (۱۳۹۶) تاثیر سطوح مختلف مولتی آنزیم کمبو بر شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان سفید را بررسی و تایید کردند که این مولتی آنزیم باعث بهبود شاخص‌های خونی و ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی در این ماهی شده است.

در این بین یکی از ارزشمندترین خانواده‌هایی که در سالهای اخیر توجه ویژه‌ای به پرورش انواع گونه‌های آن شده، تاسماهیان هستند که تنها گونه از آنها که در آبهای شیرین (رودخانه) زندگی می‌کند استرلیاد می‌باشد. این گونه با توجه به امتیازاتی مانند عادت به شرایط پرورشی و دوره بلوغ جنسی کوتاه مدت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده (Holcik, 1989) و در کشورهای اتریش، آذربایجان، بلاروس، بوسنی، بلغارستان، چین، کرواسی، آلمان، مجارستان، قزاقستان، مولداوی، رومانی، فدراسیون روسیه، صربستان، اسلوانی و اوکراین پرورش داده می‌شود (Gessner et al., 2010). با توجه به اهمیت پرورشی این گونه، توجه به تغذیه و رشد آن بسیار ضروری به نظر رسیده و استفاده از مکمل‌های غذایی برای رشد بهینه و سلامتی این گونه مد نظر قرار دارد.

کمبو مولتی آنزیمی با عملکرد چندگانه است که دارای ۹ آنزیم متنوع شامل سلولاز، آمیلاز، پروتئاز قارچی، پروتئاز خنثی، پروتئاز قلیایی، زایلاناز، بتاگلوکاناز، همی سلولاز و لیپاز می‌باشد (نویخت و همکاران، ۱۳۹۱). اهداف این تحقیق،

محلول  $7 \pm 0.9$  میلی گرم در لیتر، سختی کل ۶۲۰ میلی-گرم در لیتر، pH ۸/۱ و قابلیت هدایت الکتریکی ۱۶۹۴ میکروموس بر سانتی متر مربع بود. همچنین در فواصل زمانی دو هفته یکبار ماهیان مورد زیست سنجی قرار گرفتند. سنجش طول ماهی بوسیله کولیس با دقت  $0.001$  سانتی متر و اندازه گیری وزن با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت  $0.001$  گرم بر اساس انجام شد (Bisswas *et al.*, 1993). غذا دهی به صورت روزانه برابر ۱۰ درصد وزن کل بدن ماهی (Vesal *et al.*, 2016) انجام می گرفت.

محاسبه رشد روزانه (معادله ۱)، ضریب رشد ویژه (معادله ۲)، ضریب تبدیل غذایی (معادله ۳) و ضریب چاقی (معادله ۴) بر اساس پروتکل Merrifield و همکاران (۲۰۱۰) صورت پذیرفت:

$$\text{رشد ویژه روزانه} = \frac{\text{وزن اولیه} - \text{وزن ثانویه}}{\text{تعداد روزها}}$$

$$100 \times \text{ضریب رشد ویژه} = \frac{\ln \text{وزن اولیه} - \ln \text{وزن نهایی}}{\text{تعداد روز}}$$

$$\text{ضریب تبدیل غذا} = \frac{\text{وزن خشک غذای مصرفی}}{\text{وزن اولیه} - \text{وزن نهایی}}$$

$$100 \times \text{ضریب چاقی} = \frac{\text{وزن کل ماهی}}{\text{طول کل ماهی}}$$

بررسی اثر استفاده از سطوح مختلف مولتی آنزیم کمبو بر شاخص های رشد، فاکتورهای خونی-ایمنی و ارائه و دستورالعمل اجرایی جهت استفاده از مولتی آنزیم کمبو برای افزایش بازماندگی در مزارع تکثیر و پرورش ماهی استرلیاد بوده است.

## مواد و روش ها

این تحقیق در مرکز تحقیقات علوم شیلاتی و فنون دریایی دکتر کیوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، واقع در شهر چمخاله در سال ۱۳۹۷ انجام گرفت. ۷۲ قطعه ماهی استرلیاد با میانگین وزن اولیه  $88/80 \pm 4/54$  (گرم) انتخاب شدند. ۴ تیمار و هریک با ۳ تکرار (در هر تکرار ۶ قطعه ماهی رهاسازی شدند) در نظر گرفته شدند، که شامل تیمار ۰ (شاهد)،  $0/25$ ،  $0/75$  و ۱ گرم مولتی آنزیم کمبود هر کیلو گرم غذا بودند. مولتی آنزیم کمبو به غذای تجاری مخصوص ماهیان خاویاری تولید شرکت کوپنز هلند افزوده شدند. این غذا حاوی ۵۴ درصد پروتئین، ۱۸ درصد چربی، ۱ درصد فیبر خام، ۹ درصد خاکستر، ۱۴ درصد فسفر کل و ۴ درصد مواد نگهدارنده بود (جدول ۱).

ماهیان در حوضچه های مدور فایبر گلاس با حجم مفید آب ۱۰۰ لیتر، مجهز به هواده و تخلیه آب مرکزی رهاسازی شدند. در طول دوره پرورش ۶۰ روزه، فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب اندازه گیری شدند. بطوریکه دما  $21 \pm 0/5$  درجه سانتی گراد، اکسیژن

تیمارهای مختلف نشان داد که بیشترین میانگین رشد روزانه در تیمار اول ( $0/651 \pm 0/013$  گرم) مشاهده شده ولی تفاوتها معنی دار نبودند ( $P > 0/05$ ). همچنین همانگونه که جدول ۲ نشان میدهد میانگین وزن نهایی در تمامی تیمارهای آزمایشی روند افزایشی داشته ولی ضریب رشد ویژه تفاوت معنی داری بین تیمارها نداشته است. درصد بقاء نیز بالا بوده و تفاوت معنی دار آماری بین تیمارها مشاهده نشده است.

نتایج نشان دادند که در بیشترین میانگین تعداد گلبول سفید، گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت در تیمار سوم بود ( $P < 0/05$ ). بیشترین میانگین MCH در تیمار اول، نوتروفیل در تیمار سوم و لنفوسیت در تیمار شاهد شد ( $P < 0/05$ ). اگرچه بیشترین میانگین MCV در تیمار اول، MCHC در تیمار دوم، مونوسیت در تیمار سوم، ائوزونوفیل در تیمار اول و سوم به مشاهده شد، ولی اختلافها معنی دار نبودند ( $P > 0/05$ ) (جدول ۳).

بیشترین میانگین کلسترول در تیمار دوم، پروتئین کل، ACH50، آمیلاز، ایمونوگلوبین کل و ایمونوگلوبین M در تیمار سوم و لیزوزیم فعال در تیمار دوم و سوم مشاهده شد ( $P < 0/05$ ) (جدول ۴).

در انتهای آزمایش، خون گیری از طریق ساقه دمی صورت گرفت. ابتدا محل مورد نظر توسط پارچه خشک شد، سپس با سرنگ ۵ CC هپارینه به مقدار ۲CC از سمت جانبی و با زاویه ۴۵ درجه درون ورید ساقه دمی قرار و خون گرفته به ویال هپارینه منتقل شدند. لوله های هپارینه به مدت ۸ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ و خون از پلاسما جدا گردید. نمونه های خونی در کوتاه ترین زمان ممکن (زیر ۳ ساعت) و در دمای زیر ۴ درجه سانتی گراد جهت بررسی فاکتورهای سلولی خونی (شمارش گلبول قرمز و سفید، اندازه گیری غلظت هموگلوبین و هماتوکریت) به آزمایشگاه انتقال داده شدند. شمارش گلبولها بر اساس پروتکل Douglas and Wardrop (۲۰۱۰) انجام گرفت. برای تعریف روابط بین گلبولی از پروتکل Houston (۱۹۹۰) استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام گرفت. ابتدا نرمال بودن داده ها توسط آزمون Shapiro-Wilk بررسی شد. از آزمون واریانس یکطرفه جهت مقایسه تیمارها و آزمون توکی برای مقایسه بین میانگین ها در سطح معنی داری ۰/۰۵ استفاده شد.

## نتایج

بررسی شاخص های رشد در بچه ماهیان استرلیاد تغذیه شده با مولتی آنزیم کمبو در

جدول ۲: میانگین شاخص‌های رشد بچه ماهیان استرلیاد در تیمارهای مختلف

سوم	دوم	اول	شاهد	تیمار شاخص
۹۱/۱۷±۶۷	۸۲/۸۹±۱۴/۱۳	۹۳±۱۲/۱۰	۸۷/۶۷±۱۴/۷۶	میانگین وزن اولیه (گرم)
۱۵۶/۱۴ ± ۳۳/۱۵	۱۴۴ ± ۳۰/۴۵	۱۶۲± ۳۶/۳۶	۱۴۱/۳۵±۵۶/۳۸	میانگین وزن نهایی (گرم)
۱/۳۹ <sup>a</sup>	۱/۴۱ <sup>a</sup>	۱/۳۲ <sup>a</sup>	۱/۲۶ <sup>a</sup>	ضریب چاقی (%)
۰/۸۷۷±۰/۴۹۳ <sup>a</sup>	۰/۹۲۰±۰/۵۰۰ <sup>a</sup>	۰/۹۲۴±۰/۵۷۴ <sup>a</sup>	۰/۸۹۰±۰/۵۰۱ <sup>a</sup>	ضریب رشد ویژه (%)
۳/۰۳ ± ۰/۳۲	۲/۸۳ ± ۰/۳۲	۲/۰۷ ± ۰/۱۴	۲/۰۲ ± ۰/۲۴	ضریب تبدیل غذایی
۹۴/۵ <sup>a</sup>	۸۸ <sup>a</sup>	۹۴/۵ <sup>a</sup>	۸۸ <sup>a</sup>	درصد بقاء (%)

حروف غیرمشترک نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشند (P&lt;۰/۰۵).

جدول ۳: میانگین شاخص‌های خون بچه ماهیان استرلیاد در تیمارهای مختلف

سوم	دوم	اول	شاهد	تیمار شاخص
۱۱۲۰±۱۰۵/۸۳ <sup>b</sup>	۱۰۷۵±۷۴/۴۹ <sup>b</sup>	۹۲۸/۳۳±۵۱/۹۲ <sup>a</sup>	۸۶۰±۴۰ <sup>a</sup>	گلبول قرمز (M/mm <sup>3</sup> )
۴۷۳۳/۳۳±۳۹۸/۳۳ <sup>d</sup>	۳۸۸۳/۳۳±۲۶۳/۹۴ <sup>c</sup>	۳۶۱۶/۶۷±۱۸۳/۴۸ <sup>b</sup>	۲۹۱۶/۶۷±۲۴۸/۳۲ <sup>a</sup>	گلبول سفید (Cell/mm <sup>3</sup> )
۷/۳۵±۰/۴۷ <sup>c</sup>	۷/۱۶±۰/۴۱ <sup>b</sup>	۶/۲۸±۰/۳۶ <sup>a</sup>	۵/۷۱±۰/۳۱ <sup>a</sup>	هموگلوبین (g/dl)
۳۹/۶۶±۲/۵۰ <sup>b</sup>	۳۸/۳۳±۲/۲۵ <sup>b</sup>	۳۳/۸۳±۲/۳۱ <sup>a</sup>	۳۱/۱۶±۱/۷۲ <sup>a</sup>	هماتوکریت (%)
۷۱±۱/۸۹ <sup>c</sup>	۷۳/۳۲±۳۳	۷۶/۶۶±۲/۰۶ <sup>a</sup>	۷۸/۱۶±۱/۴۷ <sup>a</sup>	لنفوسیت (%)
۲۳/۳۳±۰/۸۱ <sup>c</sup>	۲۰/۵۰±۱/۸۷ <sup>b</sup>	۱۸/۸۳±۰/۷۵ <sup>a</sup>	۱۷/۶۶±۰/۵۱ <sup>a</sup>	نوتروفیل (%)
۱/۵±۰/۷ <sup>a</sup>	۱/۰±۴/۵۴	۱/۵±۰/۷ <sup>a</sup>	۱±۰ <sup>a</sup>	ائوزینوفیل (%)
۳۵۱/۸۳±۷/۶۷ <sup>a</sup>	۳۵۶/۳۳±۵/۸۱ <sup>a</sup>	۳۶۳/۶۶±۶/۴۳ <sup>a</sup>	۳۶۱/۸۳±۹/۶۲ <sup>a</sup>	(MCV) (فمتولیت)
۶۵±۱/۴۱ <sup>c</sup>	۶۶/۳۳±۱/۰۳ <sup>a</sup>	۶۷/۱۶±۰/۷۵ <sup>b</sup>	۶۶±۰/۸۹ <sup>a</sup>	(MCH) (پیکوگرم)
۱۸/۵۳±۰/۱۰ <sup>a</sup>	۱۸/۶۳±۰/۱۵ <sup>a</sup>	۱۸/۵۶±۰/۲۶ <sup>a</sup>	۱۸/۳۰±۰/۳۴ <sup>a</sup>	(MCHC) (g/dl)

حروف غیرمشترک نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد (P&lt;۰/۰۵).

جدول ۴: میانگین فاکتورهای ایمنی خون بچه ماهیان استرلیاد در تیمارهای مختلف

سوم	دوم	اول	شاهد	تیمار	شاخص
۸۶/۵±۷/۰۶ <sup>d</sup>	۱۰۳/۳۳±۸/۵۲ <sup>c</sup>	۱۰۱/۸۳±۱۴/۷۹ <sup>a</sup>	۹۴/۵±۸/۵۹ <sup>a</sup>		کلسترول سرم خون (mg/dL)
۵۶۰/۳۳±۵۹/۰۵ <sup>a</sup>	۵۸۶ ± ۹۴/۰۱ <sup>a</sup>	۶۰۷/۶۶ ± ۱۴۳/۰۳ <sup>a</sup>	۵۶۸ ± ۲۸/۲۷ <sup>a</sup>		تری گلیسرید سرم خون (mg/dL)
۱/۴۸± ۰/۰۷ <sup>c</sup>	۱/۳۵± ۰/۰۸ <sup>ab</sup>	۱/۴۳± ۰/۰۸ <sup>ab</sup>	۱/۲۸± ۰/۱۱ <sup>a</sup>		آلبومین سرم خون (g/dL)
۱۳۴/۸۳ ± ۵/۹۴ <sup>c</sup>	۱۲۰/۶۶ ± ۶/۷۷ <sup>b</sup>	۱۲۱/۸۳ ± ۶/۱۱ <sup>b</sup>	۱۱۰/۱۶ ± ۷/۵۷ <sup>a</sup>		ACH50 سرم خون (mg/dL)
۳/۲۵ ± ۰/۱۸ <sup>c</sup>	۲/۶۸ ± ۰/۲۲ <sup>b</sup>	۲/۶۵ ± ۰/۲۱ <sup>b</sup>	۲/۳۵ ± ۰/۲۰ <sup>a</sup>		پروتئین کل سرم خون (g/dL)
۴۸ ± ۵/۱۷ <sup>c</sup>	۴۸ ± ۵/۸۳ <sup>c</sup>	۴۰/۱۶ ± ۸/۷۹ <sup>b</sup>	۲۸/۸۳ ± ۵/۲۳ <sup>a</sup>		لیزوزیم فعال سرم خون (mg/dL)
۷۳/۵۰ ± ۱۸/۲۰ <sup>c</sup>	۴۴/۱۶ ± ۳/۸۶ <sup>b</sup>	۴۴/۵ ± ۱۰/۴۸ <sup>b</sup>	۳۱/۳۳ ± ۶/۷۷ <sup>a</sup>		آمیلاز سرم خون (U/L)
۱۶/۸۵ ± ۰/۶۳ <sup>c</sup>	۱۳/۹۳ ± ۰/۹۵ <sup>b</sup>	۱۳/۳۵ ± ۰/۶۸ <sup>a</sup>	۱۲/۲۵ ± ۰/۲۸ <sup>a</sup>		ایمونوگلوبین کل سرم خون (g/dL)
۶۲/۱۶ ± ۶/۱۴ <sup>c</sup>	۴۹/۶۶ ± ۵/۷۵ <sup>b</sup>	۳۵ ± ۶/۶ <sup>a</sup>	۲۶/۶۶ ± ۲/۹۴ <sup>a</sup>		ایمونوگلوبین ام کل سرم خون (g/dL)

حروف غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی دار در بین تیمارها می باشد (P &lt; ۰/۰۵).

## بحث

مواد محرک ایمنی که در آبریان مورد استفاده قرار گرفته‌اند شامل مواد سنتتیک مانند لوامیزول، مواد بیولوژیک مانند مشتقات باکتریایی، پلی ساکاریدها و فاکتورهای تغذیه‌ای، ترکیبات حیوانی و گیاهی و انواع آنزیمها می‌باشند (Cermelli *et al.*, 2008). در کنار این موضوعات فاکتورهای خونی نیز در شناخت بیماری‌ها و تعیین سلامت آبریان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Bahmani *et al.*, 2001). تحقیقات گذشته بیان کردند که جیره غذایی حاوی مولتی آنزیم‌ها نه تنها مواد مغذی ضروری را تامین می‌کند بلکه می‌تواند یکی از بهترین راهکارها برای حفظ سلامت آبریان و افزایش مقاومت آنها در برابر عوامل بیماری‌زا باشد (Gatlin, 2002). نتایج نشان دادند که شاخص‌های رشد همچون رشد روزانه، ضریب رشد ویژه و ضریب چاقی اختلاف معنی‌داری در بین تیمارهای مختلف نسبت به یکدیگر ندارند، ولی زیست‌سنجی در بین دوره‌ها نشان داد که شاخص‌های رشد ویژه از اختلاف معنی‌داری بین دوره‌ها برخوردارند. در پژوهشی مشابه که فقانی و همکاران (۱۳۹۲) به بررسی تاثیر آستاگزانتین طبیعی (*Haematococcus pluvialis*) بر شاخصهای رشد، ترکیب آنالیز لاشه و کبد فیل ماهی جوان (*Huso huso*) پرداختند، در شاخص‌های رشد تفاوت‌های معنی‌داری بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی دیده نشد. همچنین طاعتی و تعادلی (۱۳۹۴) با تعیین عملکرد رشد و برخی از پارامترهای خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با سطوح مختلف کارواکرول، آنتول و لیمونن اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها مشاهده نکردند. نتایج این تحقیق با یافته‌های این محققین همخوانی دارد. نتایج تحقیقات

حاضر نشان داد که افزودن مولتی آنزیم کمبو به جیره غذایی بچه ماهیان استرلیاد بروی فاکتورهای خونی آنها موثر بوده و تعداد گلبول‌های قرمز، سفید و مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت با افزایش میزان آنزیم روند افزایشی و مثبت داشته‌اند، که شاخص مناسبی از نظر سلامت ماهیان بوده است. همچنین فاکتورهای ایمنی مانند ACH50, IgM، لیزوزیم و آلبومین سرم خون این بچه ماهیان با افزودن مولتی آنزیم کمبو روند افزایشی داشته‌اند. همچنانکه افزودن مولتی آنزیم کمبو باعث افزایش قابل توجه سیستم ایمنی در بچه ماهیان ماهی سفید شده، و موجب افزایش میانگین تعداد گلبول‌های قرمز و سفید و مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت و لیزوزیم این ماهی گردیده است (بازرگان پورو همکاران، ۱۳۹۶). بررسی‌ها نشان می‌دهد که سیستم عامل مکمل در ماهیان قادر به تشخیص طیف وسیعتری از عوامل بیگانه در مقایسه با پستانداران است (Boshra *et al.*, 2006). Hu و همکاران در سال ۲۰۱۵ بیان کردند که لیزوزیم یکی از اجزای اصلی سیستم دفاعی ایمنی بی‌مهرگان و مهره‌داران محسوب می‌شود. اگرچه نقش فزیولوژیکی آن دقیقاً مشخص نیست اما در دفاع علیه میکروارگانیسم‌های مهاجم شرکت می‌کند. میزان این آنزیم در سرم خون و موکوس پوست ماهیان به طور چشمگیری بالایی باشد و افزایش لیزوزیم با افزایش مولتی آنزیم شاخص مناسبی برای بالا رفتن سطح ایمنی بوده است. بررسی فاکتورهای خونی در پژوهش حاضر نشان داد که گلبول سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، MCH، نوتروفیل، لنفوسیت و هورمون‌هایی همچون آلبومین، ACH50، لیزوزیم، ایمونوگلوبین کل و ایمونوگلوبین M از اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها برخوردار بودند. علیشاهی

برعهده دارند. مهمترین Ig در ماهی‌ها IgM است که توانایی ایمنی اختصاصی در برابر H انتی ژن‌های خاص را دارد (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹). همانطور که نتایج این پژوهش نشان می‌دهد بیشترین میانگین ایمونوگلوبین ام در تیمار سوم مشاهده و اختلاف معنی داری را در بین ایمونوگلوبین ام تیمارها نسبت به یکدیگر وجود داشت.

در نتیجه گیری کلی باید بیان کرد که مولتی آنزیم کمبو در فاکتورهای رشد بچه ماهیان استرلیاد تاثیر معنی داری نداشته، ولی باعث بالا رفتن سطح ایمنی این ماهی شده است. بنابراین استفاده از مولتی آنزیم کمبو در مراحل رشد لاروی ماهی استرلیاد می‌تواند به مقاومت و ایمنی آن کمک کرده و درصد موفقیت پرورش آن را افزایش دهد.

### سپاسگزاری

از مدیریت و کارکنان محترم مرکز تحقیقات علوم دریایی و شیلاتی دکتر کیوان بندر چمخاله دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان که تمامی مراحل انجام این تحقیق در آن مرکز انجام گرفته، همچنین از آقای شهریار تقی‌پور کوه‌بند جهت پیشبرد اهداف علمی این پژوهش کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

### منابع

۱. بازرگان پور، ک.، رحیمی بشر، م.ر.، زمینی، ع.، ۱۳۹۶. تأثیر سطوح مختلف مولتی آنزیم کمبو بر شاخصهای خونی و ایمنی بچه ماهیان سفید (*Rutilus kutum*). مجله زیست‌شناسی دریا، ۹(۳۵)، ۲۲-۱۳.

و همکاران (۱۳۹۱) با مقایسه اثر برخی محرک‌های ایمنی شیمیایی - گیاهی در ماهی اسکار توسط سه عصاره گیاهان سرخارگل، آویشن و کندر به این نتیجه رسیدند که تعداد گلبول‌های سفید، میزان هماتوکریت، هموگلوبین و نیز غلظت هموگلوبین گلبولی (MCHC) در تیمارهای مختلف نسبت به گروه شاهد افزایش یافته، در صورتی که تعداد گلبول‌های قرمز، حجم متوسط گلبولی (MCV) و میزان هموگلوبین گلبولی (MCH) تحت تاثیر هیچکدام از مواد مورد آزمایش قرار نگرفتند. دلیل بالا رفتن سطح فاکتورهای مهم خونی که نقش اساسی در ایمنی خون بچه ماهیان دارند را می‌توان به نقش عصاره گیاهان دارویی دانست که سبب تحریک اجزاء ایمنی غیر اختصاصی از جمله سیستم عامل مکمل و لیزوزیم می‌شوند.

در این پژوهش میزان گلبول‌های قرمز خون بچه ماهیان استرلیاد تغذیه شده با مولتی آنزیم کمبو با مصرف مقدار بالاتری از مولتی آنزیم افزایش یافت و در تیمارهای بالاتر مقدار ایمنی بیشتری مشاهده گردید، که می‌تواند نشان دهنده بهبود کیفیت اکسیژن رسانی در سوخت و ساز باشد (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹). با افزایش مقادیر مولتی آنزیم کمبو میزان هماتوکریت نیز افزایش یافت؛ در واقع هماتوکریت تابعی از گلبول قرمز بوده (Tangestani et al., 2011) و رابطه مستقیمی بین افزایش گلبول قرمز و هماتوکریت وجود دارد. میزان نوتروفیل خون بچه ماهیان استرلیاد اختلاف معنی‌داری را در تیمارها نشان داد، عمده‌ترین فعالیت نوتروفیل عمل فاگوسیتوز بوده که نقش بالایی در سطح ایمنی همورال دارد. لنفوسیت‌ها گسترده‌ترین یاخته‌های خونی هستند که با تولید پادتن (آنتی بادی) فعالیت در ایمونوگلوبین خون را

- مختلف کارواکرول، آنتول و لیمون، مجله پژوهشی زیست‌شناسی دریا، ۲۵، ۴۲-۳۵.
۹. کاظمی، ر.، پوردهقانی، م.، یوسفی‌جوردهی، ا.، یارمحمدی، م.، نصری‌تجن، م.، ۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبریان و فنون کاربردی خون شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان. صفحه ۱۹۴.
۱۰. نوبخت، ع.، مهینی، ف.، خدایی، ص.، ۱۳۹۱. بررسی اثر استفاده از آنزیم‌های تجاری بر عملکرد و کیفیت لاشه جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های بر پایه گندم، و جو. نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران، ۳۱، ۳۸-۳۱.
11. Affonso, E. G., Polez, V., Correa, C., Mazon, A., Araujo, M., Moraes, G., Rantin, F. T., 2002. Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 133(3), 375-382.
12. Alyakrinskyaya, I., Dolgova, S., 1984. Hematological features of young sturgeons. *Vopr Ikhtiol*, 4, 135-139.
13. Askarian, F., Kousha, A., Salma, W., Ringø, E., 2011. The effect of lactic acid bacteria administration on growth, digestive enzyme activity and gut microbiota in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) and beluga (*Huso huso*) fry. *Aquaculture Nutrition*, 17(5), 488-497.
14. Bahmani, M., Kazemi, R., Donskaya, P., 2001. A comparative study of some hematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 24(2), 135-140.
15. Bedford, M. R. and Classen, H. L., 1992. Reduction of intestinal viscosity through manipulation of dietary rye and pentosanase concentration is effected through changes in the carbohydrate composition of the intestinal aqueous phase and results in improved growth rate and food conversion efficiency of broiler
۲. خراسانی نژاد، م.، طاعتی، ر.، عبدالله‌پور بی‌ریا، ح.، ۱۳۹۷. مقایسه سطوح مجزا و توام مولتی آنزیم‌های تجاری بر کارایی تغذیه و ترکیب شیمیایی لاشه ماهی کپور معمولی. *مجله تحقیقات دامپزشکی*، ۷۴(۱)، ۷۵-۳۴.
۳. صفری، ا.، فرهنگی، م.، کارتر، ک.، یخچالی، ب.، شورنگ، پ.، ۱۳۸۹. هیدرولیز *in vitro* محصولات کانولای (*Brassica napus*) فراوری شده منتخب با غلظت‌های مختلف آنزیم فیتاز و شستشو با محلول متانول آمونیاکی. *مجله الکترونیک فراوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱، ۹۰-۶۹.
۴. علیشاهی، م.، سلطانی، م.، مصباح، م.، زرگر، ا.، ۱۳۹۱. اثرات تحریک ایمنی و رشد لوامیزول، ارگوسان و سه عصاره گیاهی در ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio*، *مجله تحقیقات دامپزشکی*، ۲، ۱۴۲-۱۳۵.
۵. فاطمی، س.ا.، میرزرگر، س.س.، ۱۳۸۶. فارماکولوژی کاربردی ماهیان، نوشته: تروس براون، ک.م. انتشارات دانشگاه تهران، ۶۵۶ صفحه.
۶. فغانی، ط.، سلطانی، م.، شمسایی، م.، متین‌فر، ع.، ۱۳۹۲. تاثیر آستاگران‌تین طبیعی (*Haematococcus pluvialis*) بر شاخص‌های رشد، ترکیب آنالیز لاشه و کبد فیل ماهی جوان (*Huso huso*)، *مجله پژوهشی زیست‌شناسی دریا*، ۱، ۷۸-۶۹.
۷. قاسمی پیر بلوطی، ع.، پیرعلی، ا.، پیشکار، غ.، جلالی، م.ع.، رئیسی، م.، جعفریان، م.، حامدی، ب.، ۱۳۹۰. اثر اسانس چند گیاه دارویی بر سیستم ایمنی ماهی قزل-آلای رنگین‌کمان. *مجله داروهای گیاهی*، ۲، ۱۵۵-۱۴۹.
۸. طاعتی، ر.، تعادلی، نوعی، ح.، ۱۳۹۴. تعیین عملکرد رشد و برخی از پارامترهای خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با سطوح

26. Houston, A., 1990. Blood and circulation. Methods for fish biology, 415-488.
27. Hu, K., Zhang, J. X., Feng, L., Jiang, W. D., Wu, P., Liu, Y. and Zhou, X. Q., 2015. Effect of dietary glutamine on growth performance, non-specific immunity, expression of cytokine genes, phosphorylation of target of rapamycin (TOR), and anti-oxidative system in spleen and head kidney of Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). Fish physiology and biochemistry, 41(3), 635-649.
28. Klontz, G., 1994. Fish hematology. Techniques in fish immunology, 3, 121-131.
29. Lin, S., Mai, K., Tan, B., 2007. Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. Aquaculture research, 38(15), 1645-1653.
30. Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R.M.T., Bøgwald, J., Castex, M., Ringø, E., 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. Aquaculture, 302(1-2), 1-18.
31. Tangestani R., Alizadeh Doughikollae E., Ebrahimi E. and Zare P., 2011. Effects of Garlic essential oils an Immunostimulant on Hematological indices of juvenile beluga (*Huso huso*). Journal of Veterinary Research, 66(3), 209- 216.
32. Vesal, S.E., Mooraki. N. and Vosooghi, A., 2016. Effect of dietary fish oil on growth responses of severum (*Heros severus*).AAFL Bioflux, 9(1), 81-90.
33. Zamini, A., Kanani, H. G., Esmaeili, A.A., Ramezani, S., Zoriezahra, S. J., 2014. Effects of two dietary exogenous multi-enzyme supplementation, Natuzyme® and beta-mannanase (Hemicell®), on growth and blood parameters of Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*). Comparative Clinical Pathology, 23(1), 187-192.
- chicks. The Journal of nutrition, 122(3),560-569.
16. Bisswas, S., 1993. Manual of methods in fish biology: South Asian Publishers. 420 P.
17. Boshra H., Li J. and Sunyer, J.O., 2006. Recent advances on the complement system of teleost fish. Fish & shellfish immunology, 20,14-20.
18. Cain, K. D., Garling, D. L., 1995. Pretreatment of soybean meal with phytase for salmonid diets to reduce phosphorus concentrations in hatchery effluents. The Progressive Fish-Culturist, 57(2), 114-119.
19. Castillo, S., Gatlin, D. M., 2015. Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: a review. Aquaculture, 435, 286-292.
20. Cermelli, C., Fabio, A., Fabio, G. and Quaglio P., 2008. Effect of Eucalyptus Essential Oil on Respiratory Bacteria and Viruses. Current Microbiology, 56, 89-92.
21. Douglas, J. W., Wardrop, K. J., 2010. Schalm's veterinary hematology. Black Well, Philadelphia and Baltimore. 1232 P.
22. Francis, G., Makkar, H., Becker, K., 2001. Effects of *Quillaja saponins* on growth, metabolism, egg production and muscle cholesterol in individually reared Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 129(2), 105-114.
23. Gatlin D.M., 2002. Nutrition and fish health. In: Fish Nutrition, 3rd edn (ed. by J.E. Halver & R.W. Hardy), pp. 671-702. Academic Press, San Diego, CA.
24. Gessner, J., Freyhof, J., Kottelat, M., 2010. *Acipenser ruthenus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2010 e. T227A13039007.
25. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.-S., 2011. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. Aquaculture, 317(1), 1-15.