

ارزیابی تغییرات برخی شاخص‌های خونی، سرمی و ایمنی ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی زمستان گذرانی

مریم قیاسی^{۱*}، نغمه سلیمانی^۲، لیدا شجاعی^۲، محمد بینایی^۱

۱- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

۲- گروه شیلات، واحد قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم شهر، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۳۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۲۷

چکیده

باتوجه به کاهش شدید و یا عدم تغذیه ماهیان کپور طی زمستان و تاثیرات سوء تغذیه بر سلامت ماهیان، هدف از این مطالعه تعیین تاثیر تغییرات شاخص‌های خونی و برخی از شاخص‌های سرمی و ایمنی ماهیان کپور معمولی طی زمستان گذرانی بود. جهت انجام این مطالعه از ماهیان کپور معمولی طی دو مرحله، اسفند ۱۳۹۵ (از ۳۰ عدد ماهی با میانگین وزن $14/7 \pm 152/3$ گرم) و اردیبهشت ۱۳۹۶ (از ۳۰ عدد ماهی با میانگین وزن $13/2 \pm 181/2$ گرم) (در مجموع ۶۰ ماهی) از یک استخر پرورشی در منطقه بهشهر صید و خونگیری انجام شد. طی این بررسی میزان گلبولهای قرمز و سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، حجم متوسط سلولی (MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (MCHC)، گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین تام سرم، آلبومین، IgM تام سرم، آلکالین فسفاتاز (ALP)، کراتین فسفو کیناز (CPK) و فعالیت لیزوزیم سرم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد تعداد گلبولهای قرمز و سفید، هماتوکریت گلوکز، پروتئین تام سرم، آلکالین فسفاتاز (ALP)، کراتین فسفو کیناز (CPK) کلسترول، تری‌گلیسرید، IgM تام سرم و فعالیت لیزوزیم در نمونه های بدست آمده در اسفند بطور معنی داری ($P \leq 0.05$) کمتر از اردیبهشت بود. همچنین میزان هموگلوبین، آلبومین، MCV، MCH و MCHC علیرغم تفاوت عددی فاقد تفاوت معنی دار بودند. نتایج این بررسی نشان داد که کاهش شاخص‌های خونی، سرمی و ایمنی در طی زمستان گذرانی که احتمالاً به دلیل کاهش متابولیسم و عدم تغذیه ماهیان کپور بوده امری اجتناب ناپذیر است و همین امر می‌تواند یکی از علل احتمالی تلفات ماهیان طی زمستان و افزایش حساسیت آنها به بعضی از بیماریهای عفونی باشد. لذا توصیه می‌شود پرورش دهندگان با افزایش دما و شروع تغذیه فعال ماهیان از جیره‌های با کیفیت و حاوی محرک‌های ایمنی جهت جبران سریع‌تر شاخص‌های خونی، سرمی و ایمنی استفاده نمایند.

کلمات کلیدی: زمستان گذرانی، کپور، کراتین فسفو کیناز، هموگلوبین، لیزوزیم.

مقدمه

ماهی کپور معمولی از خانواده Cyprinidae با نام علمی *Cyprinus carpio* یکی از ماهیان پرورشی مهم اقتصادی در آب شیرین است که به دلیل سهولت پرورش، بطور وسیعی در جهان پرورش داده می شود و جزء سومین گونه معرفی شده به صنعت آبی پروری در دنیا است. این گونه نسبت به تغییرات دمای آب، اکسیژن محلول و گل آلودگی از تحمل بالایی برخوردار بوده و نسبت به دیگر آبزیان پرورشی از سازش بیشتری در برابر تغییرات نامناسب محیطی برخوردار است (هرسیچ و آدینه، ۱۳۹۶). ماهی کپور از گروه ماهیان گرم آبی بوده و دمای مناسب رشد و تغذیه آن بین ۲۸ - ۲۰ درجه سانتی گراد است. با کاهش دمای آب نیازمندی ماهی کپور به انرژی کم شده و ظرفیت هضم مواد غذایی آن نیز کاهش می یابد (Bauera and Schlot, 2004).

پرورش ماهی کپور در ایران و بسیاری از نقاط جهان در استخرهای خاکی و یا آبنندان انجام می شود و در کشورهایی که چهار فصل مشخص دارند (برخلاف کشورهای واقع در مناطق استوایی) کاهش دمای آب در فصل زمستان در استخرهای خاکی و یا آبنندانها به گونه ای است که ماهیان دست از تغذیه برداشته و یا میزان آن به حداقل ممکن می رسد (Watt et al., 1988). هنگامی که دمای آب به کمتر از ۱۰ درجه سانتی گراد می رسد، متابولیسم ماهی به شدت کاهش یافته و در حرارت کمتر از ۸ درجه سانتی گراد حرکت و تغذیه ماهی کپور به حداقل و یا صفر می رسد (Prchal et al., 2018). ماهیان کپور طی زمستان گذرانی رفتارهای مشخصی را از خود نشان می دهند که شامل قرار گرفتن در گروه های دسته جمعی، رفتن به

قعر استخر و سپری کردن زمستان در محل استقرار بدون حرکت و تغذیه است (Bauera and Schlot, 2004).

در شرایط زمستان گذرانی، این ماهیان از انرژی کاتابولیسمی به عنوان راه تامین انرژی استفاده می کنند، به این ترتیب که ابتدا از ذخایر چربی سپس از ذخایر گلی کوژن موجود در کبد و عضلات و در نهایت از پروتئین عضلات استفاده نموده و این امر موجب کاهش وزن آنها می شود و البته در این زمان نیازمندی ماهی به کالری نیز در حداقل مقدار ممکن است (Urbànek et al., 2010; Bauera and Schlot, 2004). مطالعات نشان داده که تغییرات متابولیسمی بوجود آمده طی دوره زمستان گذرانی بستگی به طول دوره و مدت زمان آن دارد. اصولاً ماهیان به دلیل خونسرد بودن تحمل بیشتری در برابر گرسنگی دارند و انرژی مورد نیاز متابولیسمی آنها تنها ۲۰ - ۱۰٪ یک جانور خون گرم در سائز و وزن مشابه است (McCue, 2010). در کپور ماهیان با متابولیسم شدن چربی و پروتئین ها و ایجاد روند گلیکونئوزنزیمس کاهش در ترکیبات چربی و پروتئینی سرم طی دوره زمستان گذرانی ایجاد می شود (Al-Niaem et al., 2010).

فاکتورهای خونی و سرمی شاخصی مهم در ارزیابی وضعیت فیزیولوژی ماهیان است و اغلب از آنها در جهت ارزیابی سلامت و کفایت سیستم ایمنی ماهی استفاده می شود. بسیاری از مطالعات نشان داده است که طی مدت زمستان گذرانی به دلیل کاهش تغذیه و افت متابولیسم در ماهیان کپور روند خونسازی و فعالیت سیستم ایمنی ماهیان با نقصان روبرو شده و طی این مدت با کاهش تعداد گلبولهای خونی اکسیژن رسانی بافتی و نیز عملکرد سیستم ایمنی در ماهیان کپور

مواد و روش‌ها

نمونه برداری

تعداد ۳۰ قطعه ماهی کپور پرورشی با میانگین وزن $14/7 \pm 152/3$ گرم در اسفند ۱۳۹۵ (قبل از آغاز تغذیه فعال در دوره زمستان گذرانی) و ۳۰ قطعه دیگر با میانگین وزن $13/2 \pm 181/2$ گرم در اردیبهشت ماه ۱۳۹۶ (شروع تغذیه فعال) از یک استخر یک هکتاری در منطقه بهشهر صید شدند. در زمان نمونه برداری در اسفند ماه میزان دما، pH و اکسیژن محلول به ترتیب $10/5$ درجه سانتی گراد، $8/3$ و $8/6$ میلی گرم در لیتر و میزان دما، pH و اکسیژن محلول در اردیبهشت به ترتیب $19/4$ درجه سانتی گراد، $8/5$ و $7/9$ میلی گرم در لیتر بود.

خون گیری

پس از صید، ماهیان با استفاده از پودر گل میخک ($0/5$ گرم در لیتر) بیهوش شدند. خون گیری از ساقه دمی ماهیان با استفاده از سرنگ استریل انجام شد و یک و نیم میلی لیتر خون از سیاهرگ ساقه دمی گرفته شد. میزان نیم میلی لیتر از خون گرفته شده به میکروتیوب حاوی ماده ضد انعقاد هپارین ($0/2$ میلی گرم در هر لیتر خون) و بقیه آن به میکروتیوب فاقد هپارین منتقل شد. نمونه‌ها در کنار یخ سریعاً به آزمایشگاه خون‌شناسی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر فرستاده شدند.

اندازه گیری شاخص‌های خونی

برای شمارش گلبول قرمز و سفید، نمونه با محلول ریس به نسبت ۱ به ۲۰۰ (برای گلبول قرمز) و ۱ به ۲۰ (برای گلبول سفید) رقیق شده و در نهایت سلولها با

تضعیف می‌شود (Kondera et al., 2017). با کاهش عملکرد و ضعف سیستم ایمنی حساسیت ماهیان نسبت به بروز برخی بیماری‌های عفونی افزایش یافته و شاید به همین دلیل باشد که بروز بعضی از بیماری‌ها در ماهیان کپور مانند ویرمی بهاره کپور ماهیان (SVC)^۱ و نیز بروز تلفات ناشی از هرپس ویروس ماهی کوی (KHV)^۲ در پایان دوره زمستان گذرانی و آغاز تغذیه فعال ماهیان کپور دامن گیر آنها می‌شود (Ahne et al., 2002; Svetlana et al., 2004; Ødegård et al., 2010; Prchal et al., 2018; Phelps et al., 2012).

هرچند زمستان گذرانی موجب افت وزن و کاهش شاخص‌های خونی و سرمی ماهیان کپور می‌شود ولی مطالعات نشان داده است با افزایش دما و تغذیه فعال، ماهیان افزایش وزن یافته و این شاخص‌ها به شرایط مناسب بازگشته و حساسیت ماهیان به عوامل عفونی خصوصاً دو بیماری ویروسی ذکر شده عملاً از بین می‌رود (Arslan et al., 2015).

از آنجایی که تاکنون اطلاعاتی در خصوص ارزیابی تغییرات شاخص‌های خونی، سرمی و ایمنی ماهیان کپور در مدت زمستان گذرانی در استان مازندران در دست نبود، در این بررسی ارزیابی این شاخص‌ها در ماهیان کپور در زمان زمستان گذرانی و بعد از آن مورد ارزیابی قرار گرفته است تا اطلاعات اولیه در خصوص تغییرات تابلو خونی و برخی از شاخص‌های سرمی و ایمنی ماهیان کپور را طی این مدت در اختیار قرار دهد.

¹ - Spring Viremia of Carp

² - Koi herpes virus

وجود تفاوت معنی دار بین داده ها از آزمون independent T- test استفاده گردید (Zar, 2007).

نتایج

در این بررسی میانگین وزن ماهیان صید شده در اسفند $14/7 \pm 152/3$ گرم بود در حالیکه میانگین وزن ماهیان صید شده در اردیبهشت $13/2 \pm 181/2$ گرم بود. اگرچه تفاوت معنی داری بین میانگین وزن وجود نداشت ولی میانگین وزن ماهیان صید شده در اردیبهشت ماه از نظر عدی بیشتر از ماهیان صید شده در اسفند بود.

طی این بررسی مشخص گردید که تعداد گلبول-های قرمز و سفید و هماتوکریت در ماهیان کپور صید شده در اسفند بطور معنی داری کمتر از میزان این شاخص ها در ماهیان کپور صید شده در اردیبهشت بوده ($P \leq 0.05$) ولی میزان هموگلوبین و حجم متوسط سلولی (MCV) علی رغم افزایش عددی در ماهیان صید شده در اردیبهشت فاقد تفاوت معنی دار بین دو گروه بود ($P \geq 0.05$). میزان متوسط هموگلوبین سلولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (MCHC) نشان داد علی رغم افزایش عددی این شاخص ها در ماهیان صید شده در اسفند ماه تفاوت معنی داری با شاخص های فوق در ماهیان صید شده در اردیبهشت وجود ندارد ($P \geq 0.05$). نتایج مربوط به شاخص های خونی در جدول ۱ آمده است. در ارزیابی شاخص های سرمی مشخص گردید که میزان گلوکز، پروتئین تام سرم، آلکالین فسفاتاز (ALP)، کراتین فسفو کیناز (CPK)، کلاسترول و تری گلیسرید در ماهیان صید شده در اسفند بطور معنی داری کمتر از میزان این

استفاده از لام هموسیستمتر شمارش شدند. میزان هماتوکریت با استفاده از لوله میکروهماتوکریت پس از سانتریفوژ (۵ دقیقه در 10000 rpm) با استفاده از خط-کش مخصوص قرائت گردید. میزان هموگلوبین نیز با استفاده از روش سیانومت هموگلوبین اندازه گیری شد (Blaxhall and Daisley, 1973). محاسبه شاخص های خونی شامل حجم متوسط سلولی (MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (MCHC) بر اساس فرمول و میزان گلبولهای قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت انجام گردید (Binaii et al., 2014).

اندازه گیری شاخص های سرمی

ارزیابی فاکتورهای سرمی شامل گلوکز، کلاسترول، تری گلیسرید، پروتئین تام سرم، آلبومین، IgM تام سرم، آلکالین فسفاتاز (ALP) و کراتین فسفو کیناز (CPK) با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Eurolayzer ساخت بلژیک) و با استفاده از کیت تجاری (شرکت پارس آزمون، ایران) انجام شد (Binaii et al., 2014). برای تعیین میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روش رایج شده توسط Ellis (۱۹۹۰) استفاده شد. سطح فعالیت لیزوزیم به روش کدورت سنجی و با استفاده از سوسپانسیون باکتری میکروکوکوس لیزودیکتیکوس *Micrococcus lysodeikticus* (سیگما، آمریکا) و آنزیم مورامیداز صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

داده های بدست آمده از آزمایش شاخص های خونی و سرمی جهت آنالیز آماری در نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ ثبت گردید و جهت تعیین وجود یا عدم

در ارزیابی شاخصهای ایمنی، نتایج این بررسی نشان داد که میزان IgM تام سرم و لیزوزیم در ماهیان صید شده در اردیبهشت ماه بطور معنی داری بیشتر از ماهیان صید شده در اسفند ماه بوده است ($P \leq 0.05$) (شکل‌های ۱ و ۲).

شاخص‌ها در ماهیان صید شده در اردیبهشت ماه است ($P \leq 0.05$) و میزان آلبومین علی رغم افزایش عددی در ماهیان صید شده در اردیبهشت تفاوت معنی داری با ماهیان صید شده در اسفند ندارد ($P \geq 0.05$). نتایج مربوط به شاخص‌های سرمی در جدول ۲ آمده است.

جدول ۱: مقایسه میانگین شاخص‌های خونی کپور ماهیان پرورشی طی ماه‌های اسفند و اردیبهشت

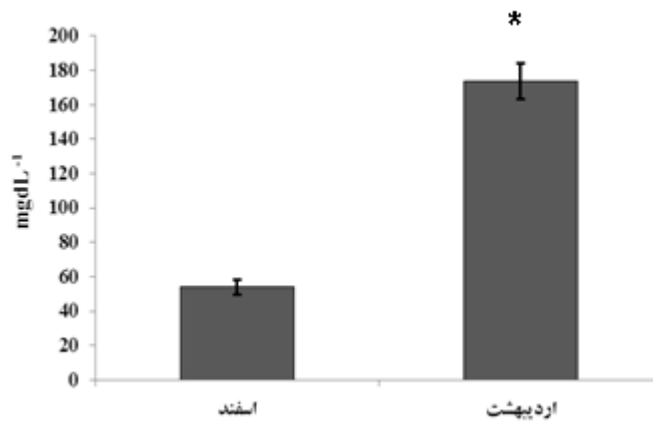
t - test		اردیبهشت	اسفند	شاخص
t - value	P			
-۷/۷۲۶	۰/۰۰۳	۲/۱۱ ± ۰/۸۹*	۱/۳۴ ± ۰/۰۴	گلبول قرمز × ۱۰ ^۵ (سلول در میلی متر مکعب)
-۱۰/۰۶۵	۰/۰۱۹	۱۳/۵۲ ± ۰/۵۵*	۷/۸۶ ± ۰/۳۷	گلبول سفید × ۱۰ ^۳ (سلول در میلی متر مکعب)
-۶/۶۰۰	۰/۰۰۱	۳۸/۶۵ ± ۱/۳۷*	۲۸/۴۵ ± ۰/۷۰	هماتوکریت (درصد)
-۸/۰۵۲	۰/۰۹۱	۱۰/۰۳ ± ۰/۱۴*	۹/۸۹ ± ۰/۱۳	هموگلوبین (gdL ⁻¹)
-۲/۰۳۳	۰/۰۶۲	۲۲۰/۱۵ ± ۱/۳۸	۲۱۳/۶۷ ± ۲/۸۸	متوسط حجم گلبولی (MCV) (فمتولتر)
-۱۱/۸۰۶	۰/۵۸۸	۵۲/۷۲ ± ۱/۶۸	۷۳/۳۳ ± ۱/۲۹	وزن هموگلوبین گلبولی (MCH) (پیکوگرم)
-۱۲/۳۶۰	۰/۴۹۷	۲۳/۹۵ ± ۰/۵۲	۳۴/۳۹ ± ۰/۶۵	غلظت هموگلوبین گلبولی (MCHC) (درصد)

وجود علامت* در هر ردیف نشانه تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها است

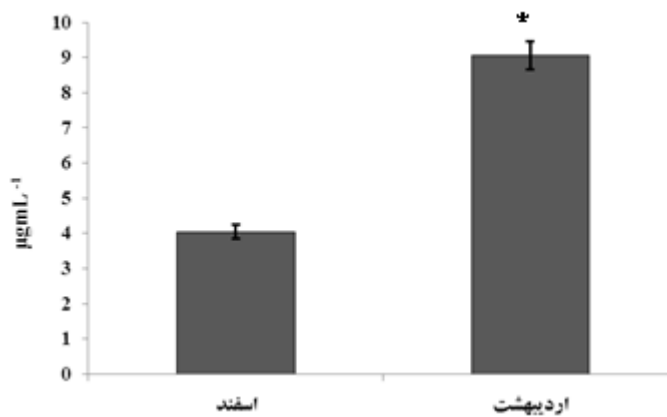
جدول ۲: مقایسه میانگین شاخصهای سرمی کپور ماهیان پرورشی طی ماه‌های اسفند و اردیبهشت

t - test		اردیبهشت	اسفند	شاخص
t - value	P			
-۵/۹۰۵	۰/۰۰۶	۱۳۰/۶۷ ± ۱/۲۲*	۶۰/۶۸ ± ۳/۸۱	گلوکز (mgdL ⁻¹)
-۳/۵۸۵	۰/۰۴۵	۲۲۸/۳۱ ± ۱۲/۴۰*	۱۳۷/۲۰ ± ۷/۱۱	تری گلیسرید (mgdL ⁻¹)
-۶/۲۱۰	۰/۰۴۱	۲۰۳/۰۳ ± ۱۱/۶۰*	۱۷۷/۰۸ ± ۸/۱۰	کلسترول (mgdL ⁻¹)
-۵/۴۱۲	۰/۰۰۱	۴/۳۶ ± ۰/۲۸*	۲/۷۴ ± ۰/۰۹	پروتئین تام سرم (gdL ⁻¹)
-۶/۰۴	۰/۱۹۲	۲/۲ ± ۰/۰۹	۱/۴۴ ± ۰/۰۹	آلبومین (gdL ⁻¹)
-۱۵/۲۶۷	۰/۰۰۰	۴۹/۴ ± ۱۲/۵*	۱۵/۴ ± ۴/۱	ALP (IUdL ⁻¹)
-۳/۷۳۱	۰/۰۰۰	۱۹۲۸۷/۸۰ ± ۲۸۱۵/۸۹*	۸۳۸۴/۵۵ ± ۷۸۰/۵۲	CPK (IUdL ⁻¹)

وجود علامت* در هر ردیف نشانه تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها است



شکل ۱- مقایسه میانگین IgM تام سرم کپور ماهیان پرورشی طی ماه های اسفند و اردیبهشت (وجود علامت* روی ستون نشانه تفاوت معنی دار بین میانگین ها است)



شکل ۲- مقایسه میانگین فعالیت لیزوزیم سرم کپور ماهیان پرورشی طی ماه های اسفند و اردیبهشت (وجود علامت* روی ستون نشانه تفاوت معنی دار بین میانگین ها است)

معنی دار در این شاخص ها ایجاد شده است. نتایج این مطالعه نشان داد میزان گلبول های قرمز و هماتوکریت در اسفند از کاهش معنی داری در مقایسه با اردیبهشت برخوردار بود و البته این تغییرات در کنار کاهش میزان MCV گلبول های قرمز در اسفند بود. در مطالعات Guijarro و همکاران (۲۰۰۳) که بر روی تغییرات فصلی تابلو خونی لای ماهی (*Tinca tinca*) (گونه ای از خانواده کپور ماهیان) انجام دادند مشخص شد که میزان گلبول های قرمز و هماتوکریت در زمستان در کمترین مقدار در مقایسه با فصول دیگر سال بود. Kondera و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که زمستان

بحث

مطالعات مربوط به اثرات زمستان گذرانی و یا گرسنگی طولانی مدت بر شاخص های خونی و سرمی ماهیان با نتایج متناقضی همراه بوده است. در حقیقت اثرات فیزیولوژی زمستان گذرانی و یا گرسنگی طولانی مدت بطور قابل توجهی به گونه، سن ماهی و نیز طول دوره محرومیت غذایی مرتبط است (Sultan et al., 2013). براساس نتایج حاصل از این بررسی مشخص شد که پدیده زمستان گذرانی موجب تغییراتی در تابلو خونی، سرمی و ایمنی ماهیان کپور شده ولی با افزایش دما و تغذیه مجدد ماهیان، روند صعودی

گذرانی در ماهی کپور کاهش معنی‌داری در میزان هموگلوبین ایجاد نمی‌نماید ولی بطور معنی‌داری موجب کاهش گلبول‌های قرمز و هماتوکریت می‌شود. در بررسی‌هایی که در خصوص ساختار خونی ماهیان در زمستان گذرانی و یا گرسنگی طولانی مدت انجام شده مشخص شده است که به دلیل محرومیت ماهی از ترکیبات غذایی از یک سو روند تولید گلبول‌های قرمز کند می‌شود و از سوی دیگر سرعت انهدام گلبول‌های قرمز تولید شده کاهش یافته و در نتیجه حجم بالایی از گلبول‌های قرمز خون ماهی در طی این مدت به دلیل عدم جایگزینی با سلولهای جوان، پیر هستند. این ر حالی است که حجم گلبول‌های قرمز جوان بیشتر از گلبول‌های پیر است (Rios et al., 2005; Svobodova et al., 2008). احتمالاً کمتر بودن میزان MCV در اسفند در مقایسه با اردیبهشت به همین خاطر باشد.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر میزان گلبول‌های سفید، IgM تام سرم و لیزوزیم به عنوان شاخص‌های ایمنی ماهیان در اسفند کاهش معنی‌داری در مقایسه با اردیبهشت داشته است. دما به عنوان یک عامل تعیین کننده در عملکرد پاسخ‌های ایمنی موجودات خونسرد از جمله ماهیان شناخته شده است و این نقش عمدتاً به اثر تعیین کننده دما بر فعالیت کنالیکی آنزیم‌ها باز می‌گردد (Klyachko et al., 1998). بر اساس مطالعات مختلف، کاهش دما اثرات سرکوب کنندگی بر سیستم ایمنی ماهیان کپور دارد و این اثر ممانعت کنندگی هم بر سیستم ایمنی هومورال و هم سلولی کاملاً به اثبات رسیده است (Szumiec and Pilarczyk, 2001).

بررسی‌ها نشان داده است که تولید IgM در دمای ۱۰ - ۵ درجه سانتی‌گراد در ماهیان کپور کاملاً سرکوب و متوقف می‌شود (Ahne et al., 2002). همچنین با کاهش دما تخریب ایمونوگلوبولین‌ها در ماهیان کپور افزایش می‌یابد (Svetlana et al., 2004; Varga et al., 2016). همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند با نگهداری ماهیان سوف سرطلایی (*Sparus aurata*) در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ روز تعداد گلبول‌های سفید ماهیان بطور معنی‌داری در مقایسه با ماهیان نگهداری شده در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد کاهش یافته است. به نظر می‌رسد کاهش دما در شرایط زمستان گذرانی بر گلبول‌های سفید تاثیرات مشابه با گلبول‌های قرمز ایجاد می‌کند و طی این مدت به دلیل اختلال در روند تولید گلبول‌های خونی (اریتروپویزیس)، تعداد گلبول‌های خونی اعم از سفید و قرمز کاهش می‌یابد (Kondera et al., 2017).

لیزوزیم یک مولکول دفاعی مهم در ایمنی ذاتی کپور ماهیان است. این ترکیب با خاصیت موکولیتیکی از لکوسیت‌های خون ترشح شده و مستقیماً موجب تخریب دیواره باکتریهای گرم مثبت می‌شود ولی در تخریب باکتریهای گرم منفی نیازمند کمپلمان است (Bayne and Gerwick, 2001). میزان لیزوزیم در ماهی کپور بزرگ هندی (*Labeo rohita*) به شدت تحت تاثیر درجه حرارت محیط است بطوری که در تابستان و فصل بارندگی میزان این ترکیب در بالاترین مقدار خود است ولی در زمستان به حداقل مقدار خود می‌رسد و یکی از دلایل حساسیت کپور بزرگ هندی به بسیاری از عفونت‌ها در فصل سرما به دلیل پایین بودن میزان لیزوزیم در زمستان نسبت داده شده است (Bayne and Gerwick, 2001; Das and Das, 1997).

بر اساس نتایج این مطالعه میزان پروتئین تام سرم، گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید ماهیان در اسفند بطور

بر اساس نتایج مطالعه حاضر میزان گلبول‌های سفید، IgM تام سرم و لیزوزیم به عنوان شاخص‌های ایمنی ماهیان در اسفند کاهش معنی‌داری در مقایسه با اردیبهشت داشته است. دما به عنوان یک عامل تعیین کننده در عملکرد پاسخ‌های ایمنی موجودات خونسرد از جمله ماهیان شناخته شده است و این نقش عمدتاً به اثر تعیین کننده دما بر فعالیت کنالیکی آنزیم‌ها باز می‌گردد (Klyachko et al., 1998). بر اساس مطالعات مختلف، کاهش دما اثرات سرکوب کنندگی بر سیستم ایمنی ماهیان کپور دارد و این اثر ممانعت کنندگی هم بر سیستم ایمنی هومورال و هم سلولی کاملاً به اثبات رسیده است (Szumiec and Pilarczyk, 2001).

بررسی‌ها نشان داده است که تولید IgM در دمای ۱۰ - ۵ درجه سانتی‌گراد در ماهیان کپور کاملاً سرکوب و

آنزیم در ماهیان در اسفند ماه (کاهش گلوکز، تری-گلیسرید و کلسترول) به نظر می‌رسد کاهش این آنزیم قابل توجه است و این امر پاسخگوی بیحالی و کم تحرکی ماهیان در زمستان نیز می‌تواند باشد. ALP از دسته آنزیم‌های متصل به غشا سلول است که نقش آن برداشتن عامل فسفات از استرهای آلی حاوی فسفات و نیز تسهیل حرکت مواد از غشا سلول است. از مهمترین موارد کاهش این آنزیم می‌توان به کمبود اسید فولیک، ویتامین C، سوء تغذیه یا مصرف اندک پروتئین اشاره نمود (Percin and Konyalioglu, 2008) که به دلیل عدم تغذیه طولانی مدت ماهیان در طی زمستان گذرانی قابل توجه است.

در یک نتیجه‌گیری کلی مشخص است که طی زمستان گذرانی شاخص‌های خونی و ایمنی ماهیان کپور به شدت تحت تاثیر قرار می‌گیرند ولی بتدریج با افزایش دما و تغذیه فعال این شاخص‌ها بتدریج افزایش می‌یابند. مطالعات مختلف نشان داده به دلیل کاهش شاخصهای ایمنی، ماهیان در این زمان بسیار حساس به بروز برخی بیماریهای عفونی از جمله بیماریهای ویروسی مانند SVC و KHV هستند. لیکن مطالعات نشان داده است تغذیه ماهیان کپور با جیره‌های حاوی پروتئین بیشتر و عوامل محرک ایمنی از جمله پروبیوتیکها (باعثی و همکاران، ۱۳۹۵) در پایان دوره زمستان گذرانی و آغاز تغذیه فعال کمک شایانی به بهبود هرچه سریعتر این شاخص‌ها نموده و موجب می‌گردد تا آنها سریع‌تر به دامنه نرمال خود برگشته و با افزایش مقاومت ماهیان حساسیت آنها را در برابر عوامل عفونی یاد شده کاهش دهند (Bocioc et al., 2015). لذا توصیه می‌شود در مراکز تکثیر و پرورش ماهیان کپور با آغاز تغذیه فعال پرورش دهندگان از جیره‌های

معنی‌داری کمتر از اردیبهشت بود. مطالعات مختلف نشان داده است که طی زمستان گذرانی ماهیان کپور برای حفظ بقا ابتدا ذخایر چربی و سپس به دنبال آن از گلیکوژن و در نهایت از ذخایر پروتئینی خود برای بقا استفاده می‌نمایند (Prchal et al., 2018). Guijarro و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که میزان گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید در لای ماهی طی زمستان گذرانی نسبت به سایر فصول بصورت معنی‌داری کاهش می‌یابد. در مطالعه انجام شده بر روی بچه ماهیان کپور نگهداری شده در شرایط سرما مشخص گردید میزان پروتئین تام سرم، تری‌گلیسرید و کلسترول بطور معنی‌داری طی ۱۲ هفته نگهداری کاهش معنی‌داری داشته‌اند. این در حالی بود که میزان آلبومین تغییر کاهشی اندکی داشت (Varga et al., 2016). به نظر می‌رسد از آنجایی که آلبومین نقش بسیار مهمی در نقل و انتقال مواد مغذی در خون داشته و مسئول حفظ فشار کلوئیدی خون است لذا در فرایند زمستان گذرانی و حتی طی گرسنگی طولانی مدت برای حفظ حیات ماهی کمتر دستخوش تغییر می‌شود (Michelis et al., 2006).

در ارزیابی آنزیمهای سرمی در این مطالعه میزان ALT و CPK کاهش معنی‌داری در اسفند نسبت به اردیبهشت داشت. مهمترین وظیفه CPK تامین منابع غنی از فسفوکراتین برای سلولها (خصوصا سلول‌های ماهیچه و مغز) است تا انرژی لازم برای فعالیت‌های سلول را با تولید ATP فراهم کند. در واقع این آنزیم با کنترل گلیکولیز منبع انرژی مناسب را در اختیار سلول قرار می‌دهد. تغییرات این آنزیم در سرم تابع تغییرات سوپسترای این آنزیم می‌باشد (Witzemann, 1985). با توجه به کاهش منابع تولید انرژی و سوپسترای این

5. Arslan, G., Sahin, T., Hisar, O. & Hisar, S.A., 2015. Effects of low temperature and starvation on plasma cortisol, triiodothyronine, thyroxine, thyroid-stimulating hormone and prolactin levels of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). Marine Science and Technology Bulletin, 4(2): 5-9.
6. Bauera, C. & Schlott, G., 2004. Overwintering of farmed common carp (*Cyprinus carpio* L.) in the ponds of a central European aquaculture facility—measurement of activity by radio telemetry. Aquaculture, 241: 301–317.
7. Bayne, C.J., Gerwick, L., 2001. The acute phase response and innate immunity of fish. Developmental and Comparative Immunology, 25:725-743.
8. Bocioc, E., Cristea, V., Patriche, N., Grecu, I., Placintă, S., Mocanu, M. & Tiberiu, M., 2015. Assessment of the effect of temperature on the carp physiology (*Cyprinus carpio*, L., 1758) fed with probiotics in condition of a recirculating aquaculture system. Animal Science and Biotechnologies, 48 (2): 97-103.
9. Binaii, M., Ghiasi, M., Farabi, S. M. V., Pourgholam, R., Fazli, H., Safari, R., Alavi, S.E., Taghavi, M.J. & Bankehsaz, Z., 2014. Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*). Fish and Shellfish Immunology, 36: 46-51.
10. Blaxhall, P.C. & Daisley, W., 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology, 5: 771-81.
11. Das, M.K. & Das, R.K., 1997. Disease caused by bacteria. In: Fish and Prawn Diseases in India, Diagnosis and Control (ed. by M.K. Das & R.K. Das), Inland Fisheries Society, Barrackpore, West Bengal, India.
12. Ellis, A.E., 1990. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Robertson, B.S., Van Muiswinkel W.R., editors. Lysozyme assay in techniques in fish immunology. Fair Haven, NJ, USA: SOS Publications.

غذایی با کیفیت در کنار عوامل محرک ایمنی استفاده نمایند تا با روند بهبود شاخص‌های نامبرده در حداقل زمان ممکن ماهیان در برابر بروز بیماری‌های عفونی احتمالی از مقاومت بیشتری برخوردار گردند.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. باعنی، ف.، آبرومند، ع.، سعید ضیائینژاد، س. و جواهری بابلی، م.، ۱۳۹۵. تاثیر لاکتوباسیل‌های پروبیوتیکی تجاری بر پارامترهای رشد، بقاء و شاخص‌های تغذیه‌ای ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۰(۴): ۴۱-۴۸.
۲. هرسیج، م. و آدینه، ح.، ۱۳۹۶. امکان سنجی پرورش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در پساب تصفیه شده از ضایعات کشتارگاهی طیور: بررسی کیفیت آب، عملکرد رشد و ترکیبات بدن، نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۱(۳): ۱۲۳-۱۳۵.
3. Ahne, W., Bjorklund, H.V., Essbauer, S., Fijan, N., Kurath, G. & Winton, J.R., 2002. Spring viremia of carp (SVC). Diseases Aquatic Organisms, 52: 261–272.
4. Al-Niaeem, K. S., AL-Hamadan, Q. H., AL-Tameemi, R. A., 2010. Histopathological changes in the intestine, liver and pancreas of the common carp *Cyprinus carpio* during starvation. Proceeding of 6th International Conference of Biology Science (Zoology), 6: 1- 6.

- Minnesota. Journal of Aquatic Animal Health, 24,232–237.
21. Prchal, M., Kause, A., Vandeputte, M., Gela, D., Allamellou J.M., Kumar, G., Bestin, A., Bugeon, J., Zhao, J. & Kocour, M., 2018. The genetics of overwintering performance in two-year old common carp and its relation to performance until market size. PLoS One. 13(5): e0197820.
 22. Rios, F.S., Oba, E.T., Fernandes, M.N., Kalinin, A.L. & Rantin, F.T., 2005. Erythrocyte senescence and haematological changes induced by starvation in the neotropical fish traíra, *Hoplias malabaricus* (*Characiformes, Erythrinidae*). *Comparativen Biochemistry and Physiology A*, 140: 281–287.
 23. Sala-Rabanal, M., Sánchez, J., Ibarz, A., Fernández-Borràs, J., Blasco, J. & Gallardo, M.A., 2003. Effects of low temperatures and fasting on hematology and plasma composition of Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 29:105–115.
 24. Sultan, F.A.M., 2013. Effect of starvation on oxygen consumption and some blood parameters of the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Basrah Journal of Agricultural Sciences*, 26 (2): 20-36.
 25. Svettna, J., Dobrila, J. D. & Jević, R., 2004. Dissemination of spring viremia of carp (SVC) in Serbia during the period 1999 – 2002. *Acta Veterinaria*, 54(4), 289-299.
 26. Svobodová, Z., Kroupov, H., Modrà, H., Flajšhans, M., Randák, T., Savina, L. V. & Gela, D., 2008. Haematological profile of common carp spawners of various breeds. *Journal of Applied Ichthyology*, 24: 55–59.
 27. Szumiec, M.A. & Pilarczyk, A., 2001. Effect of temperature decrease on carp, *Cyprinus carpio* L. culture in a temperate climate. Pt. 1. Survival of carp juvenile in ponds and swim bladder inflammation. *Archives of Polish Fisheries*, 9 (1): 87-96.
 28. Urbánek, M., Hartvich, P., Vácha, F. & Rost, M., 2010. Investigation of fat content in market size common carp (*Cyprinus carpio*) flesh during the growing season. *Aquaculture Nutrition*, 16: 511-519.
 13. Guijarro, A.I., Lopez-Patiño, M.A., Pinillos, M.L., Isorna, E., De Pedro, N., Alonso-Gomez, A.L., Alonso – Bedate, M. & Delgado, M.J., 2003. Seasonal changes in haematology and metabolic resources in the tench. *Journal of Fish Biology*, 62: 803–815.
 14. Klyachko, O.S. & Ozernyuk, N.D., 1998. Functional and structural properties of lactate dehydrogenase form embryos of different fishes”. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 119: 77-80.
 15. Kondera, E., Kościuszko, A., Dmowska, A. & Małgorzata, W., 2017. Haematological and haematopoietic effects of feeding different diets and starvation in common carp *Cyprinus carpio*. *Journal of Applied Animal Research*, 45(1): 623–628.
 16. McCue, M.D., 2010. Starvation physiology, reviewing the different strategies animals use to survive a common challenge. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 156:1–18.
 17. Michaelis, K., Hoffmann, M.M., Dreis, S., Herbert, E., Alyautdin, R.N., Michaelis, M., Kreuter, J. & Langer, K., 2006. Covalent linkage of apolipoprotein E to albumin nanoparticles strongly enhances drug transport into the brain. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 317:1246–1253.
 18. Ødegård, J., Olesen, I., Dixon, P., Jeney, Z., Nielsen, H. M., Way, K., Joiner, C., Jeney, G., Ardó, L., Rónyai, A. & Gjerde, B., 2010, Genetic analysis of common carp (*Cyprinus carpio*) strains. II: Resistance to koi herpesvirus and *Aeromonas hydrophila* and their relationship with pond survival. *Aquaculture*, 304:7–13.
 19. Percin. F. & Konyalioglu. S., 2008. Serum biochemical profiles of captive and wild northern bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L. 1758) in the Eastern Mediterranean, *Aquaculture Research*, 39: 945-953.
 20. Phelps, N.B.D., Armien, A.G., Mor, S.K., Goyal, S.M., Warg, J.V., Bhagyam, R. & Monahan, T., 2012. Spring Viremia of Carp Virus in Minnehaha Creek,

- temperatures. *Fish Physiology and Biochemistry*, 4(4):165-173.
31. Witzemann, V., 1985. Creatine phosphokinase: isoenzymes in *Torpedo marmorata*. *European Journal of Biochemistry*, 150: 201 -210.
32. Zar, J.H., 2007. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall, New Jersey.
29. Varga, D., Hancz, Cs., Molnár, T. & Szabó, A., 2016. Alterations in serum metabolites and enzymes of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*) during long-term starvation. *Acta Agraria Kaposváriensis*, 20(1):36-39.
30. Watt, P.W., Marshall, P.A., Heap, S.P., Loughna P.T. & Goldspink, G., 1988. Protein synthesis in tissues of fed and starved carp, acclimated to different