Archive of SID

مقایسه اثر برخی محرک‌های ایمنی و عصاره‌های گیاهی بر فاکتورهای رشد و مقاومت ماهی برزم در برابر استرس‌های محیطی

مجتبی علیشاهی[۱]، مهدی پورمهدی‌بروجنی[۲] و اسماعیل عبدی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۰/۳/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۲۷

خلاصه

در این تحقیق اثرات تحریک رشد و افزایش مقاومت در برابر برخی استرس‌های محیطی (تراکم، حمل و نقل و عفونت باکتریایی) به دنبال تجویز برخی محرک‌های ایمنی (لوامیزول، ارگوسان، ویتامین C) و عصاره‌های گیاهی (سرخارگل، آلوئه ورا، داروash و سیاه دانه) در ماهی برزم مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ۱۲۰۰ قطعه بچه ماهی‌های برزم (با وزن متوسط ۰/۱۲±۱/۹ گرم) به ۸ تیمار در سه تکرار تقسیم گردیدند. خوراک ماهی‌ها در هر تیمار با محرک ایمنی مربوطه غنی شده و به مدت ۶ هفته ماهی‌ها با این خوراک‌ها تغذیه گردیدند. تلفات ماهی‌ها در طول دوره، وزن متوسط ابتدا و انتهای دوره و میزان خوراک مصرفی در هر تیمار اندازه‌گیری و ثبت گردید. در انتهای دوره تست استرس تراکم، استرس حمل و نقل و چالش با باکتری زنده آئروموناس هیدروفیلا در مورد هر تیمار انجام گرفت. نتایج مشخص ساخت که در تیمارهای لوامیزول، ارگوسان، ویتامین C، سرخارگل، آلوئه‌ورا و داروash فاکتورهای رشد، شامل نرخ رشد ویژه (SGR)، درصد افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی، به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد بهبود یافته است ($P<0/05$)، در صورتی که عصاره سیاه دانه تاثیری در فاکتورهای رشد ماهی برزم نداشت ($P>0/05$). در مورد تلفات بعد از چالش با باکتری زنده آئروموناس هیدروفیلا نیز تیمارهای ارگوسان، سرخارگل و داروash کمترین تلفات را داشتند، البته به جز تیمار سیاه دانه و ویتامین C، تلفات در بقیه تیمارها به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافته بود ($P<0/05$). تلفات حاصل از استرس تراکم نیز در تمام تیمارها به جز تیمار سیاه دانه و ویتامین C کاهش معنی‌داری نسبت به کنترل داشت ($P<0/05$). تفاوت معنی‌داری در تلفات طول دوره و تلفات تست استرس در هیچکدام از تیمارها نسبت به تیمار کنترل مشاهده نگردید ($P>0/05$). به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که از عصاره‌های به کار رفته در این تحقیق، داروash و سرخارگل اثرات تحریک رشد و ایمنی قابل رقابت با محرک‌های ایمنی پذیرفته شده‌ای مثل ارگوسان و لوامیزول داشته و می‌توان از آنها به عنوان محرک‌های ایمنی در آبزیان استفاده نمود.

کلمات کلیدی: ماهی برزم، محرک‌های ایمنی، فاکتورهای رشد، عصاره‌های گیاهی، استرس محیطی

مقدمه

ماهی برزم[۱] یکی از ماهیان بومی آب‌های داخلی ایران می‌باشد. این گونه در حوزه رودخانه‌های کر و کارون و همچنین دجله و فرات و برخی مناطق در حوزه آبریز خلیج فارس دیده می‌شود. این گونه از بعضی منابع آبی داخل کشور نیز گزارش شده است (۸). ویژگی‌هایی چون رشد مناسب، توقع غذایی کم، بازارپسندی و مقاومت در برابر بیماری‌ها (۸) باعث توجه به ویژگی‌های پرورشی این گونه شده است. از آنجا که تنوع گونه‌های پرورشی با تاکید بر گونه‌های بومی کشور در اولویت‌های متولیان آبزی پروری در کشور قرار دارد، این گونه کاندید مناسبی برای پرورش به صورت پلی کالچر به همراه سایر کپور ماهیان کشور می‌باشد. با وجود آغاز تکثیر مصنوعی

[۱] استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز E-mail: alishahim@scu.ac.ir (نویسنده مسئول)
[۲] استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز
[۳] دانشجوی دکترای عمومی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

1- *Barbus barbulus*

www.SID.ir

Archive of SID

و پرورش این گونه در کشور، به علت بومی و وحشی بودن این گونه و فقدان اطلاعات در زمینه تکثیر و پرورش آن، تلفاتی در بچه ماهی‌های این گونه در رویارویی با استرس‌های محیطی مشاهده شده است. لذا افزایش مقاومت این ماهی در برابر این استرس‌ها و بهبود فاکتورهای رشد، به توسعه پرورش این گونه بومی کشور کمک شایانی خواهد نمود.

مکمل‌های غذایی با اثرات تحریک ایمنی در آبزیان با اهداف مختلف استفاده می‌گردند (۳۱). سیستم ایمنی ماهی به علت ویژگی‌های خاص نسبت به سیستم ایمنی حیوانات خون‌گرم، از جمله کارایی بیشتر ایمنی غیر اختصاصی (طبیعی) نسبت به ایمنی اختصاصی (واکسیناسیون) تاثیر این مکمل‌های غذایی را بیشتر نشان می‌دهد (۱۹). این مکمل‌های غذایی علاوه بر افزایش مقاومت ماهی نسبت به استرس‌های محیطی (۴ و ۳۱) و بیماری‌های عفونی (۲۴)، بهبود فاکتورهای رشد ماهی (۱۸ و ۲۵) را نیز باعث می‌شوند. برخی محرک‌های ایمنی اثرات ثابت شده‌ای در ماهی دارند که لوامیزول یکی از آنهاست (۲۷). هر چند لوامیزول ابتدا به عنوان یک داروی ضد انگلی در آبزیان مطرح شد، ولی امروزه اثرات تحریک ایمنی ثابت شده آن در آبزیان شهرت بیشتری به این دارو داده است (۲۲) و گزارشات متعددی از تحریک ایمنی و رشد ماهی به دنبال افزودن این ماده به خوراک یا آب ماهی وجود دارد (۱، ۳ و ۲۷). ویتامین C نیز یکی از این مکمل‌های غذایی ماهی است که ماهی قادر به ساختن آن نبوده و باید حتماً در جیره وجود داشته باشد. ثابت شده است که رشد و تحمل استرس در ماهی با افزودن این ویتامین به خوراک افزایش می‌یابد و می‌توان از این ویتامین به عنوان یک محرک ایمنی یاد نمود (۶ و ۹). ارگوسان[1] نیز یکی محرک‌های ایمنی دیگر در ماهی است، این ماده یک محصول جلبکی (حاصل از جلبک لامیناریا دیجیتاتا[2]) است حاوی حدود ۱٪ آلجینیک اسید[3] و ۹۹٪ مواد حامل جلبکی می‌باشد. گزارشات مختلفی از اثرات تحریک ایمنی و رشد ماهی و افزایش مقاومت در برابر انواع استرس‌های محیطی گزارش شده است (۳، ۱۷ و ۲۸).

انواع طبیعی محرک‌های ایمنی و رشد به ویژه انواعی که منشاء گیاهی دارند، مزیت‌های متعددی نسبت به محرک‌های ایمنی و رشد صناعی دارند، که از این مزیت‌ها می‌توان به در دسترس بودن، آسیب کمتر برای محیط زیست و جانور و امکان تولید در سطح وسیع با قیمت پایین اشاره نمود (۲ ، ۱۳ و ۲۰). گیاه سرخارگل یا اکیناسه پورپورآ[4] یکی از گیاهان دارای اثر تحریک ایمنی ثابت شده در حیوانات خون‌گرم بوده و افزایش کارایی سیستم ایمنی به دنبال تجویز فراورده‌های مختلف سرخارگل در این حیوانات گزارش شده است (۱۲ و ۳۰). اثرات این گیاه در تحریک ایمنی ماهی کپور علفخوار نیز تایید شده است (۵). آلوئه‌ورا[5] نیز یکی از گیاهان دارویی دارای اثرات ثابت شده تحریک ایمنی در حیوانات خون‌گرم است که گزارشاتی نیز از تحریک ایمنی این گیاه در ماهی وجود دارد (۱۰ و ۲۳). همچنین گزارشاتی از تحریک ایمنی گیاه دارواش[6] در حیوانات خون‌گرم (۳۲) و نیز ماهی (۱۴) وجود دارد. اثرات مشابه تحریک ایمنی از گیاه سیاه دانه[7] نیز در برخی حیوانات خون‌گرم گزارش شده است (۲۶).

با توجه به بومی و وحشی بودن گونه برزم که به تازگی در حال اضافه شدن به گونه‌های پرورشی استان خوزستان است، ضروری به نظر می‌رسد، برای بهبود

1- Ergosan
2- Laminaria digitata
3- Alginic acid
4- *Echinacea purpurea*
5- *Aloe vera*
6- *Viscum album*
7- *Nigella sativa*

www.SID.ir

Archive of SID

مقاومت ماهی‌ها نسبت به استرس‌های محیطی و مقاومت در برابر بیماری‌ها، از مکمل غذایی مناسب که دارای اثرات تحریک ایمنی و رشد باشند، استفاده گردد. به این منظور در این تحقیق اثر ویتامین C ، لوامیزول و ارگوسان که اثرات ثابت شده تحریک ایمنی و رشد در ماهی دارند و نیز عصاره گیاهان آلوئه ورا، سرخارگل، داروواش و سیاه دانه که اثرات تحریک ایمنی در حیوانات خون‌گرم و بعضاً در آبزیان دارند، بر رشد، بازماندگی، مقاومت در برابر استرس تراکم و حمل و نقل و مقاومت در برابر عفونت باکتریایی این ماهی مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش کار

ماهی

در این تحقیق از ۱۲۰۰ قطعه ماهی برزم با وزن متوسط ۱/۹±۰/۱۲ گرم که سالم بودن آنها با آزمایشات انگل‌شناسی و باکتری‌شناسی اثبات شده بود، استفاده شد. این ماهی‌ها از مرکز تکثیر ماهیان بومی سوسنگرد واقع در ۴۰ کیلومتری جاده اهواز – سوسنگرد تهیه گردیده و با رعایت شرایط انتقال ماهی به سالن آکواریوم دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل شدند. شرایط آب محل انجام تحقیق به شرح زیر بود:

دما: ۲۵±۱°c، اکسیژن محلول: ۸-۱۰ ppm، pH: ۷/۸±۰/۲۳؛ NO2<۰/۰۱ ppm ؛ NH3<۰/۰۱ ppm؛ میزان سختی آب ۹۶۰ میکروزیمنس بر سانتی‌متر مربع و میزان تعویض روزانه آب حداقل ۱۰ درصد حجم آب بود. بیوفیلترهای خارج از آب، غذاده اتوماتیک و ترمومترهای ترموستات‌دار برای هر آکواریوم استفاده گردید.

تیماربندی ماهی‌ها

ابتدا سازش‌یابی بچه ماهی‌ها با شرایط آزمایش به مدت یک هفته انجام گرفت، سپس ماهی‌ها به صورت مساوی و تصادفی به ۸ تیمار در سه تکرار تقسیم گردیدند (۲۴ آکواریوم و هر آکواریوم ۵۰ قطعه ماهی). تیمارها به صورت زیر نامگذاری شدند:

۱-آلوئه‌ورا، ۲- ویتامین C، ۳- داروواش، ۴- سیاه دانه، ۵- لوامیزول، ۶- سرخارگل، ۷- ارگوسان و ۸- کنترل

تهیه محرک‌های ایمنی

ویتامین C: به صورت پودر و در شکل اسکوربیک (ال اسکوربیل-۲-=پلی فسفات؛ F. Haffman la Roche) به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم خوراک استفاده گردید (۶).

لوامیزول: در این تحقیق لوامیزول محلول در آب و سفید رنگ لوامیزول هیدروکلراید که به صورت گرانول تهیه شده است، استفاده شد. میزان مصرف این ماده نیز ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم خوارک بود. این ماده پودر سفید کریستاله است که به راحتی در آب حل می‌شود.

ارگوسان: از ارگوسان تولیدی شرکت آمریکایی شرین پلاو (schring plough) استفاده گردید. این ماده به صورت پودر تیره رنگ با ۱ درصد ماده موثره آلجینیک اسید می‌باشد.

تهیه عصاره‌ها

به منظور تهیه عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی سیاه دانه، داروواش، آلوئه‌ورا و سرخارگل از روش معمول عصاره‌گیری هیدروالکلی یا روش هضمی[1] با استفاده از بالن تقطیر[2] استفاده گردید (۲). در این روش ابتدا گیاهان تهیه شده برای هر تیمار بعد از خشک نمودن در شرایط تاریکی آسیاب گردید. پودر حاصل وزن شده و ۵ برابر وزن گیاه الکل ۸۰ درصد به پودر حاصل اضافه شد. این مخلوط در ارلن به مدت ۳ روز در آزمایشگاه نگهداری

1- Maceration
2- Evaporator

www.SID.ir

Archive of SID

گردید. روزانه سه بار ارلن کاملاً و به مدت ۳۰ دقیقه هم زده شد. بعد از خارج نمودن عصاره خام از گیاه، مایع حاصل به وسیله مگنت مغناطیسی کاملاً مخلوط گردیده و به وسیله کاغذ صافی فیلتر گردید. عصاره الکلی خام برای صاف نمودن نهایی در ارلن بوخنر ریخته شد، تا تمام ذرات جامد آن گرفته شود. مایع به دست آمده را در بالن تقطیر ریخته شده و تا خارج شدن کامل عصاره از الکل تقطیرانجام شد. آنچه در ارلن باقی می‌ماند عصاره گیاه مورد نظر است که رقیق می‌باشد. برای غلیظ‌تر شدن عصاره از بن ماری ۴۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. بعد از آن که الکل به اندازه کافی از عصاره خارج گردید، عصاره حالت نیمه جامد یافته و برای مرحله بعد و اضافه نمودن به خوراک قابل استفاده است.

تهیه خوراک حاوی محرک‌های ایمنی

خوراک مخصوص کپور معمولی خریداری شده از شرکت بیضاء شیراز که با نیازهای غذایی ماهی برزم مطابقت دارد به عنوان جیره پایه در نظر گرفته شد (گروه کنترل)، به منظور مخلوط نمودن یکنواخت محرک‌های ایمنی با خوراک ماهی، ابتدا خوراک ماهی با آب مقطر به صورت خمیر در آمد. میزان مورد نیاز از مکمل‌های غذایی برای ایجاد دوز مورد نظر هر ماده (در مورد عصاره‌ها ۰/۵ درصد)، با استفاده از دستگاه همزن برقی به صورت همگن با خوراک مخلوط گردید. سپس خوراک خمیری شکل مخلوط شده با عصاره با استفاده از چرخ گوشت خوراک سازی با پنجره خروجی ۲ میلی‌متری به صورت رشته‌ای شکل گرفته و بعد از رطوبت‌گیری، خوراک به صورت پلت‌های ریز در آمد. خوراک به دست آمده در فور ۴۵ درجه سانتی‌گراد خشک شده و سپس در کیسه‌های نایلونی بسته‌بندی و در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان تجویز نگهداری گردید. ماهی‌های هر گروه با خوراک‌های مخصوص هر تیمار به مدت شش هفته تغذیه گردیدند.

آزمایشات انجام شده روی نمونه‌ها

وزن ماهی‌ها در هر تیمار در ابتدای تحقیق اندازه‌گیری شد. بعد از تغذیه تیمارها با خوراک‌های مشخص شده به مدت ۶ هفته، تعداد تلفات ماهی در طول تحقیق، میزان خوراک مصرفی و وزن نهایی ماهی‌های نیز ثبت گردید.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد

بعد از اتمام تیمار و مشخص شدن وزن نهایی، وزن خوراک مصرف شده فاکتورهای زیر در هر تیمار مشخص و ثبت گردید.

درصد افزایش وزن بدن از فرمول:

۱۰۰× [وزن اولیه/(وزن اولیه- وزن نهایی)] = درصد افزایش وزن بدن (Growth rate)

FCR یا ضریب تبدیل غذایی از فرمول:

اختلاف وزن نهایی و وزن اولیه / میزان غذای مصرف شده در طول دوره=FCR (Food Conversion Rate)

نرخ رشد ویژه (SGR) از فرمول:

SGR= Ln (وزن نهایی – وزن اولیه) / (روز) زمان (Specific Growth Rate)

درصد بازماندگی یا میزان بقاء از فرمول:

۱۰۰× [تعداد اولیه / (تعداد تلفات – تعداد اولیه)] =درصد بازماندگی(Survival Rate)

استرس تراکم

بعد از پایان تیمار تعداد ۱۵ قطعه ماهی در هر تیمار در آکواریوم‌ها ۱ لیتری با هوا دهی ملایم قرار داده شده و روزانه تلفات ثبت و از آکواریوم‌ها خارج می‌گردید. ثبت تلفات به مدت ۵ روز انجام شد.

استرس حمل و نقل

بدین منظور از هر آکواریوم تعداد ۱۵ قطعه بچه ماهی با رعایت استانداردهای حمل و نقل ماهی در کیسه‌های پلاستیکی مناسب با اکسیژن خالص بسته‌بندی شده و در دمای ۲۰ درجه نگهداری گردیدند. کیسه‌های پلاستیکی

www.SID.ir

Archive of SID

روزانه سه بار جابجا می‌شدند. کیسه‌ها هر ۱۲ ساعت یک بار و به مدت سه روز مورد بررسی قرار گرفته و تعداد ماهیان تلف شده در هر کیسه شمارش و ثبت می‌گردید.

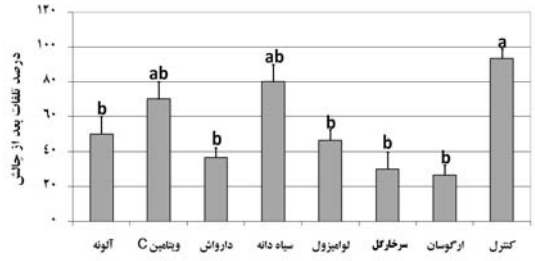
درصد تلفات بعد از چالش با باکتری زنده *آئروموناس هیدروفیلا*

به منظور بررسی مقاومت ماهی در برابر عفونت باکتریایی بعد از پایان دوره ماهی‌های باقی مانده در هر تیمار با باکتری زنده *آئروموناس هیدروفیلا* به میزان دو برابر LD_{50} به روش تزریق داخل صفاقی، تزریق گردیدند. به این منظور باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* که در محیط TSB کشت داده شده بود به مدت ۳۶ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید، باکتری در فاز رشد لگاریتمی به وسیله سانتریفوژ از محیط کشت باکتریایی جداسازی و با سرم فیزیولوژی استریل شستشو شده و در سرم فیزیولوژی به صورت سوسپانسیون شد. با استفاده از روش کشت غلظت‌های متوالی بر مبنای ده باکتری، و با توجه به یافته‌های قبلی در مورد غلظت ایجاد کننده تلفات بعد از ۹۶ ساعت، غلظت باکتری در سرم فیزیولوژی به میزان $۲/۴\times۱۰^{۷}$ تنظیم گردید. تعداد تلفات بعد از تزریق باکتری، به مدت یک هفته به صورت روزانه ثبت شده و تلفات تجمعی هر تیمار در انتهای یک هفته مشخص گردید.

نتایج

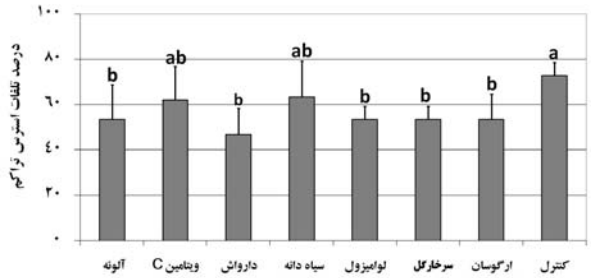
نتایج تحقیق در نمودارهای ۱ و ۲ و همچنین در جدول ۱ آورده شده است.

همانطور که در نمودار مشخص است، تلفات بعد از چالش با باکتری آئروموناس هیدروفیلا در تیمارهای مختلف تحت تاثیر مکمل‌های غذایی قرار گرفت ($P<۰/۰۵$). به طوری که تیمارهای ارگوسان، سرخارگل و داروواش به ترتیب کمترین تلفات و تیمارهای سیاه دانه و کنترل بیشترین تلفات را داشته‌اند. با این وجود تلفات در تیمارهای ویتامین C و آلوئه‌ورا نیز کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار کنترل داشت ($P<۰/۰۵$).



نمودار ۱: درصد تلفات تجمعی تا یک هفته بعد از چالش با باکتری زنده آئروموناس هیدروفیلا در تیمارهای مختلف (Mean±SD). حروف غیر همنام روی میله انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

نتایج مربوط به تلفات بعد از اعمال استرس تراکم (نمودار ۲) نشان داد که تیمارهای داروواش، ارگوسان، لوامیزول و سرخارگل به ترتیب کمترین تلفات و بیشترین میزان بازماندگی را بعد از استرس تراکم داشته‌اند، ولی تفاوت معنی بین هیچ یک از مکمل‌ها با یکدیگر مشاهده نگردید ($P>۰/۰۵$) ولی تیمار کنترل با تمام تیمارها به جز سیاه دانه و ویتامین C تفاوت معنی‌داری نشان داد ($P<۰/۰۵$).



نمودار ۲: درصد تلفات بعد از اعمال استرس تراکم در تیمارهای مختلف (Mean±SD). حروف غیر همنام روی میله انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

www.SID.ir

Archive of SID

مقایسه فاکتورهای رشد بین تیمارهای مختلف (جدول ۱) نیز حاکی از تاثیر برخی از محرک‌های ایمنی به کار رفته در این تحقیق بر فاکتورهای رشد بود، به طوری که ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد ویژه (SGR) و درصد افزایش وزن در طول تحقیق در تیمارهای ارگوسان، سرخارگل، ویتامین C ، آلوئه و داروواش به طور معنی‌داری نسبت به تیمار کنترل بهبود یافت (P<۰/۰۵)، در صورتی که این فاکتورها در تیمار سیاه دانه تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نداشت (P>۰/۰۵) و حتی در برخی موارد از تیمار شاهد نیز کمتر بود. علی‌رغم تفاوت معنی‌دار فاکتورهای رشد در اکثر تیمارهای تغذیه شده با این محرک‌ها، تفاوت معنی‌داری در درصد بازماندگی ماهی‌ها در تیمارهای مختلف مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). هر چند ظاهراً بازماندگی در تیمار تغذیه شده با عصاره داروواش از سایر تیمارها بیشتر بود. تلفات هر تیمار در طول دوره تحقیق و نیز تلفات بعد از اعمال استرس حمل و نقل در تیمارهای مختلف فاقد تفاوت معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد بود.

جدول ۱: مقایسه برخی فاکتورهای رشد، تلفات طول دوره و تلفات استرس حمل و نقل بین تیمارهای مختلف در دوره تحقیق

فاکتور مورد بررسی / تیمار	تلفات استرس حمل و نقل (٪)	تلفات طول دوره (٪)	درصد افزایش وزن (٪)	نرخ رشد ویژه	ضریب تبدیل غذایی
آلوئه	^{a}۳/۳۳±۵/۷۷	^{a}۴/۴۴±۱/۹۲	^{b}۲۱/۰۵±۶/۱۱	^{b}۰/۰۱۸±۰/۰۰۵	۳/۴۳±۰/۸۴^{b}
ویتامین C	۳/۳۳±۵/۷۷ ^{a}	^{a}۵/۵۶±۱/۹۲	^{b}۲۲/۹۹±۱/۹۵	^{b}۰/۰۱۹±۰/۰۰۳	۳/۹۲±۱/۵۲ ^{b}
داروواش	^{a}۰	^{a}۳/۳۳±۵/۷۷	۱۹/۷۱±۴/۱۷^{b}	۰/۰۱۷±۰/۰۰۴^{b}	۴/۳۹±۱/۲۳ ^{b}
سیاه دانه	^{a}۶/۶۷±۵/۷۷	^{a}۶/۶۷±۵/۷۷	۱۳/۱±۵/۵۹^{c}	۰/۰۱۱±۰/۰۰۵^{a}	۶/۲±۱/۹ ^{a}
لوامیزول	^{a}۰	^{a}۴/۴۴±۵/۰۹	^{a}۲۵/۳۲±۸/۹۳	^{b}۰/۰۲±۰/۰۰۷	۳/۹۱±۰/۶۷ ^{b}
سرخارگل	^{a}۰	^{a}۴/۴۴±۳/۸۵	^{a}۲۷/۸۶±۶/۴۲	^{b}۰/۰۲۲±۰/۰۰۵	۴/۳۲±۱/۳۵ ^{b}
ارگوسان	^{a}۳/۳۳±۵/۷۷	^{a}۵/۵۶±۵/۰۹	^{a}۲۹/۷۲±۷/۱۶	^{b}۰/۰۲۳±۰/۰۰۵	^{b}۳/۲۲±۰/۶۷
کنترل	^{a}۳/۳۳±۵/۷۷	۶/۶۷±۳/۳۳^{a}	۱۳/۳±۱/۴۶^{c}	۰/۰۱۱±۰/۰۰۱^{a}	۵/۷۵±۰/۶۷^{a}

حروف غیر همنام نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

تلفات استرس حمل و نقل در تیمارهای مختلف بین صفر تا ۶/۷ درصد متفاوت بود، ولی این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

بحث

ماهی برزم یکی از ماهی‌های بومی با ویژگی‌های مناسب پرورشی در کشور است (۸) که اخیراً برای ایجاد تنوع گونه‌ای بیشتر در بین ماهیان گرمابی پرورشی مورد توجه متولیان آبزی پروری کشور قرار گرفته است. با توجه به نقش مکمل‌های غذایی در بهبود شاخص‌های پرورشی (۴ و ۳۱)، در این تحقیق اثر برخی مکمل‌های غذایی بر مقاومت ماهی در برابر استرس‌های محیطی و بیماری‌ها و نیز بهبود فاکتورهای رشد ماهی برزم بررسی گردید. اکثر مکمل‌های غذایی استفاده شده در تحقیق دارای اثر تحریک رشد و افزایش مقاومت در برابر عفونت باکتریایی بودند، به طوری که عصاره‌های سرخارگل، داروواش و آلوئه‌ورا و نیز ارگوسان، لوامیزول و ویتامین C باعث کاهش ضریب تبدیل غذایی، افزایش نرخ رشد ویژه و درصد افزایش وزن و نیز کاهش تلفات بعد از چالش با باکتری آئروموناس هیدروفیلا در ماهی‌های مورد تیمار نسبت به تیمار شاهد گردیدند (P<۰/۰۵) ولی این فاکتورها در تیمار سیاه دانه تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نداشت (P>۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

گزارشات مشابهی از تحریک ایمنی و رشد مواد مورد استفاده در این تحقیق در ماهی‌های مختلف وجود دارد، که با نتایج این تحقیق در ماهی برزم منطبق است، از جمله اثر لوامیزول در ماهی کپور معمولی (۱۶)، ارگوسان در ماهی قزل‌آلا (۱۱ و ۲۸)، ویتامین C در تاس ماهی (۶)، عصاره داروash در ماهی کپور (۷) و مار ماهی (۱۴)، آلوئه‌ورا در ماهی راک فیش (۲۳) و سرخارگل در ماهی کپور علفخوار (۵).

بهبود فاکتورهای رشد متعاقب تجویز این مکمل‌های غذایی را علاوه بر اثر مستقیم ماده موثره این مواد بر رشد، می‌توان به اثر آنها بر تحریک ایمنی غیر اختصاصی ماهی نسبت داد، چرا که بهبود فاکتورهای ایمنی ماهی به صورت غیر مستقیم بهبود رشد ماهی را نیز باعث می‌گردد (۱۹ و ۲۹). از طرفی تطابق تقریبی نتایج فاکتورهای رشد و میزان مقاومت در برابر عفونت باکتریایی در بین تیمارها، تایید کننده این فرضیه است که با تقویت ایمنی ماهی می‌توان رشد ماهی را نیز تسریع نمود. تحقیقات مشابه روی محرک‌های ایمنی ماهی نیز چنین فرضیه‌ای را تایید می‌نماید (۱۳، ۱۵ و ۳۳). تلفات بعد از چالش نسبت مستقیمی با میزان مقاومت میزبان نسبت به عفونت باکتریایی ایجاد شده دارد که این مقاومت در اثر تحریک ایمنی غیر اختصاصی ماهی ایجاد می‌شود (۳، ۲۱ و ۲۷). لذا در تیمارهای با بقای بیشتر نوعی تحریک ایمنی ایجاد گردیده که این تحریک در اثر مواد موثره موجود در آنها بوده است. در مورد استرس تراکم نیز به جز عصاره سیاه دانه و ویتامین C بقیه تیمارها کاهش معنی‌دار تلفات را نشان دادند ($P<0/05$)، که نشان دهنده افزایش مقاومت ماهی‌ها نسبت به استرس تراکم می‌باشد. در بین عصاره‌های گیاهی به کار رفته در این تحقیق عصاره سرخارگل و داروash نتایج مناسب‌تری را در تحریک ایمنی، رشد، مقاومت در برابر عفونت باکتریایی و استرس تراکم نشان دادند که حتی برخی اثرات آنها برتر از اثر محرک‌های ایمنی و رشد ثابت شده‌ای مثل ارگوسان و لوامیزول بود. این نتایج تایید کننده گزارشات اثرات مشابه این عصاره‌ها در حیوانات خونگرم (۱۲ و ۳۲) و ماهی (۵ و ۱۴) است. عصاره آلوئه‌ورا تاثیر کمتری در فاکتورهای مورد بررسی داشته و عصاره سیاه دانه علی‌رغم گزارش تحریک ایمنی در حیوانات خونگرم (۲۶) فاقد چنین اثری در ماهی کپور بود. علت اثرات متفاوت این عصاره در حیوانات خونگرم و ماهی را می‌توان به تفاوت مکانیسم‌های ایمنی ماهی نسبت به حیوانات خونگرم نسبت داد. احتمالاً علت عدم مشاهده تفاوت معنی‌دار در تلفات طول دوره، کوتاه بودن دوره (۶ هفته) بوده است و به نظر می‌رسد در صورت انجام تحقیق در دوره طولانی‌تر (یک دوره پرورش) اثرات این محرک‌های ایمنی و رشد به صورت کاهش معنی‌دار تلفات طول دوره نیز بروز نماید. تلفات بسیار کم ماهی‌ها حتی در تیمار شاهد (۳/۴ درصد) پس از سه روز استرس حمل و نقل را نیز می‌توان به مقاومت بالای این ماهی نسبت به کمبود اکسیژن و استرس حمل و نقل دانست، که این مقاومت باعث عدم امکان مشاهده اثر مواد مورد استفاده در این تحقیق بر استرس حمل و نقل گردید. به طور کلی بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان ادعا نمود که اثرات تحریک رشد و ایمنی و نیز افزایش مقاومت در برابر استرس‌ها (تراکم، عفونت باکتریایی) در ماهی برزم به دنبال تجویز خوراکی دو عصاره گیاهی سرخارگل و داروash، قابل رقابت با اثرات محرک‌های رشد و ایمنی پذیرفته شده‌ای مثل ارگوسان، امیزول و ویتامین C بوده و امکان استفاده از این عصاره‌ها در این ماهی و احتمالاً سایر ماهی‌های پرورشی وجود دارد و می‌توان برای افزایش مقاومت این ماهی نسبت به استرس‌های طول دوره از عصاره‌های فوق نیز علاوه بر محرک‌های رشد و ایمنی دیگر استفاده نمود.

www.SID.ir

Archive of SID

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز و از محل پژوهانه حمایت مالی گردیده است.

منابع

۱- اخلاقی مصطفی و انبارکی‌مطلق محمد (۱۳۸۳). تغییرات فاگوسیتوز در ماهی کپور معمولی به دنبال استفاده از محرک‌های ایمنی کوئیل آ و لوامیزول. مجله علمی شیلات ایران (فارسی) شماره ۱۳ (۳) پاییز ۸۳ ، صفحات ۱۲-۱.

۲- زرگری علی (۱۳۷۲). گیاهان دارویی ایران، جلد چهارم، چاپ پنجم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۱۱۵ و ۶۱۲-۶۰۵.

۳- علیشاهی مجتبی و مصباح مهرزاد (۱۳۸۸). بررسی اثر لوامیزول و ارگوسان بر میزان مقاومت ماهی اسکار در برابر سپتی سمی آئروموناسی، کتابچه همایش علمی توسعه صنعت گیاهان دارویی ایران، تهران، صفحه ۲۳۵.

۴- علیشاهی مجتبی (۱۳۸۳). نقش محرک‌های ایمنی در آبزی‌پروری، مجله سازمان نظام دامپزشکی کشور، سال چهارم، شماره سوم، پاییز ۱۳۸۳، صفحات ۳۸-۳۳.

۵- علیشاهی مجتبی، مصباح مهرزاد، نجف‌زاده حسین و خواجه غلامحسین (۱۳۸۸). اثر اکیناسه پورپوراً *Echinacea purpurea* بر پاسخ ایمنی ماهی کپور علفخوار *Ctenopharyngodon idella*، طرح تحقیقاتی دانشگاه شهید چمران اهواز، شماره طرح ۶۱۹ .

۶- فلاحتکار بهرام، سلطانی مهدی، علیشاهی مجتبی و زرگر اشکان (۱۳۸۷). تاثیر سطوح مختلف اسید اسکوربیک بر برخی از شاخص‌های ایمنی فیل ماهیان جوان، مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۶۳، شماره ۵، ۳۳۷-۳۴۳.

۷- قنواتی مریم (۱۳۸۸). اثر عصاره داروا‌ش و سیاه دانه بر برخی فاکتورهای ایمنی غیر اختصاصی و کارایی واکسن آئروموناس هیدروفیلا در ماهی کپور معمولی (Cyprinus carpio) پایان‌نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات اهواز. شماره ۸۷۰۸۷۳۵۵۶ ، صفحات ۲۳-۱۸.

۸- همتی سمیه (۱۳۹۰). مطالعه سیستماتیکی ماهی برزم معمولی رودخانه کارون با تاکید بر بررسی‌های کاریولوژیکی و خواص ضد باکتریایی موکوس آن، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم دانشگاه شهید چمران اهواز. شماره پایان‌نامه ۸۸۱۶۶۰۳. صفحات ۳۱-۲۷.

9- Ai Q., Mai K., Zhang C., Xu W. and Duan Q. (2004). Effect of dietary vitamin C on growth and immune response of Japonese seabass. Aquaculture, 242: 489-500.

10- Alishahi M., Ranjbar M.M., Ghorbanpour M., Peyghan R., Mesbah M. and Razi jalali M. (2010). Effects of dietary *Aloe vera* on specific and nonspecific immunity of Common carp *(Cyprinus carpio)*, Journal of Veterinary Research, 4; 3: 85-91.

11- Bagni M., Romano N., Finoia M.G., Abelli L., Scapigliati G. and et al., (2005). Short- and long effect of dietary yeast β-glucan and Aliginic acid(Ergosan) preparation on immune response in sea bass (Dicentrarchus labrax). Fish and Shellfish Immunology 18, 311-325.

12- Burger R.A., Torres A.R., Warren R.P., Caldwell W.D. and Hughes B.G. (1997). Echinacea-induced cytokine production by human macrophage. International immunopharmacology, 19: 371-9.

13- Chen X., Wu Z. and Yin J. (2003). Effects of four species of herbs on immune function of *Carassius auratus gibelio*. Journal of Fish Sciences of China 10, 36-40.

www.SID.ir

Archive of SID

14- Choi S.H., Park K.H., Yoon T.J., Kim J.B. and Jang Y.S. (2008). Dietary Korean mistletoe enhances cellular non-specific immune responses and survival of Japanese eel (*Anguilla japonica*), Fish & Shellfish Immunology, 24, 67-73.

15- Gioacchini G., Smith P. and Carnevali O. (2008). Effects of Ergosan on the expression of cytokine genes in the liver of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss)* exposed to enteric red mouth vaccine. Veterinary Immunology and Immunopathology 123, 215-222.

16- Gopalakannan A. and Arul V. (2006). Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of Cyprinus carpio and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds. Aquaculture 255, 179-187.

17- Heidarieh M., Afsharnasab M., Soltani M., Dashtyannasab A. and Rajabifar S. (2010). Effects of ergosan and vibromax to prevent vibriosis and WSSV in *Litopeaneus vannamei*, Journal of Fisheries and Aquatic Science Volume 5, Issue 2, 2010, Pages 120-125.

18- Immanuel G.V. and Vincybai V. (2004). Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus* juveniles. Aquaculture, 236: 53-65.

19- Iwama G. and Nakanishi T. (1996). The fish immune system. Academic Press, London. Chapter 3: innate Immunity in fish, pp: 73-114.

20- Jian J. and Wu Z. (2004). Influences of traditional Chinese medicine on nonspecific immunity of Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). Fish and Shellfish Immunology 16, 185–191.

21- Jian J. and Wu Z. (2003). Effects of traditional Chinese medicine on nonspecific immunity and disease resistance of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* (Richardson). Aquaculture 218, 1–9.

22- Kajita Y., Sakai M., Atsuta S. and kobayashi M. (1990). The immunodulatry effects of levamisole on rainbow trout, *oncorhynchus mykiss.* fish pathology: 25, 93-98.

23- Kim H.K., Hwang W.J. and Bai S.C. (1999). Resistance to Vibrio alginolyticus in juvenile rockfish *Sebastes schlegeli* fed diets containing different doses of aloe, Aquaculture 180 1999 13–21.

24- Li G., Guo Y., Zhao D., Qian P., Sun J. and et al. (2006). Effects of levamisole on the immune response and disease resistance of Clarias fuscus, Aquaculture, 253, 1-4, 61-69.

25- Marian M.P. (2004). Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against Vibrio harveyi infections , Aquaculture, 237, pp: 9-20.

26- Mohamed L.S. (2005). Review on Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa L. seed. International Immunopharmacology, 5 ,1749–1770

27- Mulero V., Esteban M.A., Muñoz J. and Meseguer J. (1998). Dietary intake of levamisole enhances the immune response and disease resistance of the marine teleost gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) Fish and Shellfish Immunology, 8 (1), pp: 49-62.

28- Peddie S., Zou J. and Secombes C.J. (2002). Immunostimulation in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following intraperitoneal administration of Ergosan, Veterinary Immunology and Immunopathology 86, 101-113.

29- Raa J. (1996). The use of immuno-stimulatory substances in fish and shellfish farming. Rev. Fish. Sci. 4, 229-288.

30- Roesler J., Steinmi.iller C., Kiderlin A., Emmendorffer A., Wagner H. and Lohmann-Matthes M.L. (1991). Application of purified polysaccharides from cell cultures of the plant Echinacea purpurea to mice mediates protection against systemic infections with Listeria monocytogenes and Candida albicans. International journal of immunopharmacology, 13: 27-37.

31- Sakai M. (1999). Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture 172, 63–92.

32- Yoon T.J., Yoo Y.C., Kang T.B., Her E. and Kim K. (2001). Cellular and humoral adjuvant activity of lectins isolated from Korean mistletoe (Viscum album coloratum). International Immunopharmacology, 1:881-889.

33- Yuan C., Li D., Chen W. and Sun F. (2007). Administration of a herbal immunoregulation mixture enhances some immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*). Fish Physiology and Biochemistry, 10, 1007-1120.

www.SID.ir