Archive of SID

تاثیر تجویز خوراکی لاکتوفرین، بتا گلوکان و سیاه دانه بر شاخص‌های رشد و پارامترهای خونی و ایمنی در ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*)

- **سپیده حسین‌زاده:** گروه شیلات، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران، صندوق‌پستی: ۱۶۳
- **معصومه بحرکاظمی*:** گروه شیلات، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران، صندوق‌پستی: ۱۶۳

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۷

چکیده

به‌منظور مقایسه محرک‌های ایمنی گیاهی و شیمیایی، تاثیر تجویز خوراکی لاکتوفرین، بتاگلوکان و سیاه‌دانه بر شاخص‌های رشد، پارامترهای خونی و ایمنی در کپورمعمولی مورد مطالعه قرار گرفت. ۳۰۰ قطعه بچه ماهی (۰/۰۲±۳ گرم) به‌مدت ۶۰ روز با غذای شاهد (بدون محرک ایمنی) و تیمارهای غذایی حاوی ۲۰ میلی‌گرم لاکتوفرین، ۱۰ میلی‌گرم بتاگلوکان و ۵۰ میلی‌گرم پودر سیاه‌دانه در کیلوگرم غذا تغذیه شدند. براساس نتایج، بیش‌ترین افزایش وزن، ضریب رشد ویژه و ضریب چاقی در تیمار گلوکان به‌دست آمد. میزان بازماندگی در تمام تیمارها بیش‌تر از ۸۰ درصد و بدون اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بود (P>۰/۰۵). همه تیمارهای حاوی محرک ایمنی اختلاف معنی‌داری را از نظر ضریب تبدیل غذایی نسبت به تیمار شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵). کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی و بیش‌ترین نسبت کارایی پروتئین در تیمار گلوکان حاصل شد (P<۰/۰۵). بیش‌ترین تعداد گلبول‌های قرمز و سفید و بالاترین میزان هموگلوبین و هماتوکریت در تیمار گلوکان و کم‌ترین میزان در تیمار شاهد مشاهده گردید. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم نیز به‌ترتیب مربوط به تیمار گلوکان (۳۸/۱۸±۵/۰) و شاهد (۱۹/۰۵±۳/۰) بود. درحالی‌که درصد نوتروفیل و مونوسیت در تیمار گلوکان بیش‌ترین مقدار بود، بیش‌ترین درصد لنفوسیت (۶۶/۵۷±۷۳/۰) در تیمار لاکتوفرین مشاهده شد. درنتیجه در مقایسه با دو محرک دیگر، بتاگلوکان می‌تواند به‌عنوان محرک رشد و ایمنی در ماهی کپورمعمولی استفاده شود.

کلمات کلیدی: ایمنی، سیاه دانه، لاکتوفرین، کپورمعمولی، بتاگلوکان

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: bahr.kazemi@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

یکی ازعمده‌ترین مسائلی که پرورش‌دهندگان ماهی با آن مواجه هستند، کاهش بازماندگی ماهیان به‌خصوص در مراحل اولیه زندگی می‌باشد. بر این اساس تقویت سیستم ایمنی بدن ماهیان به‌ویژه در گونه‌های با ارزش و اقتصادی از اصلی‌ترین نیازهای پرورش‌دهندگان و مهم‌ترین رویکرد محققان می‌باشد. علاوه بر این، بروز و همه‌گیری بیماری‌ها در کنار پیشرفت و توسعه صنعت آبزی‌پروری، این صنعت را تحت تاثیر قرار داده به‌نحوی که امروزه کنترل برخی از بیماری‌ها با مشکل مواجه شده است (Shalaby و همکاران، ۲۰۰۶). از سال‌ها پیش تجویزهای دارویی زیادی برای درمان آلودگی‌های مختلف ماهیان به‌ویژه آلودگی‌های باکتریایی صورت گرفته است، اما مسائلی چون مقاومت باکتری‌ها در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها و تجمع آن‌ها در بدن ماهیان پرورشی و هم‌چنین اثرات آلایندگی این داروها بر محیط‌زیست از مهم‌ترین مشکلات استفاده از این مواد دارویی در پرورش ماهی و سایر آبزیان است. ساخت واکسن بر علیه بسیاری از پاتوژن‌های درون سلولی و بسیاری از ویروس‌ها نیز هنوز موفقیت‌آمیز نبوده است، بنابراین کنترل تمام بیماری‌های ماهیان تنها با استفاده از واکسیناسیون امکان‌پذیر نمی‌باشد (طافی و مشکینی، ۱۳۹۳). این امر سبب شده تا محققین به استفاده از انواع ترکیبات شیمیایی و طبیعی محرک و تقویت‌کننده سیستم ایمنی در غذای آبزیان تمایل نشان دهند (علیشاهی و همکاران، ۱۳۸۹). محرک‌های ایمنی باعث تسهیل در عمل سلول‌های بیگانه‌خوار شده و فعالیت‌های ضدباکتریایی آن‌ها را افزایش می‌دهند، هم‌چنین با تحریک سلول‌های بیگانه‌خوار، پروتئین‌های کمپلمان، لیزوزیم و پاسخ‌های آنتی‌بادی بدن باعث افزایش مقاومت ماهی در مقابل بیماری‌های مختلف شده و آبزیان را در برابر عوامل باکتریایی محافظت می‌کنند (طافی و مشکینی، ۱۳۹۳). محرک‌های ایمنی هم‌چنین باعث افزایش مقاومت در برابر استرس‌هایی نظیر کمبود اکسیژن، دما، شوری و بهبود شاخص ضریب تبدیل غذایی و دیگر فاکتورهای رشد ماهیان می‌شوند. در واقع آن‌ها قادرند که نقصان و ضعف ایمنی ناشی از استرس وارده به ماهی را جبران کنند (Kim و Rajapakse، ۲۰۰۵). این مکمل‌های غذایی علاوه بر افزایش مقاومت ماهی، سبب بهبود فاکتورهای رشد ماهی می‌شوند و گزارشات متعددی از تحریک ایمنی و رشد ماهی به‌دنبال افزودن این مواد به خوراک ماهی وجود دارد (لطفی و همکاران، ۱۳۹۰؛ علیشاهی و مصباح، ۱۳۹۱؛ بادزهره و همکاران، ۱۳۹۱). 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 غیراختصاصی ماهی نسبت داد، چراکه بهبود فاکتورهای ایمنی ماهی به‌صورت غیرمستقیم بهبود رشد ماهی را نیز باعث می‌گردد (Raa، ۱۹۹۶). استفاده از روش خوراکی برای تجویز محرک‌های ایمنی مانند گلوکان، لاکتوفرین، لوامیزول، کیتوزان و عصاره‌های گیاهی گزارش شده‌است. از مزایای این روش می‌توان به بدون استرس بودن و استفاده از محرک بدون توجه به اندازه ماهی اشاره کرد (Raa، ۱۹۹۶). از آن‌جا که برخی گیاهان منبع غنی از تانن‌ها، پلی‌ساکاریدها، آلکالوئیدها، فلاوونوئیدها و ساپونین‌ها هستند که دارای اثرات ضدمیکروبی و تقویت سیستم ایمنی ماهیان هستند، در سال‌های اخیر گرایش به جایگزینی محرک‌های شیمیایی با مواد کم ضررتر و ارزان‌تر مانند آویشن، آلوئه ورا، سیاه‌دانه، خارمریم و غیره تقویت شده‌است (Ardo و همکاران، ۲۰۰۸؛ علیشاهی و همکاران، ۱۳۸۹). لاکتوفرین یک نوع گلیکوپروتئین با وزن مولکولی ۸۰ کیلودالتون با باندهای آهنی است و شامل زنجیره‌های پپتیدی منفرد با ۲ لوب کروی در هرمولکول است (Kumari و همکاران، ۲۰۰۶). تحقیقات نشان داده است که لاکتوفرین خوراکی عموماً جذب جریان خون نشده بلکه بر روی سیستم ایمنی روده‌ای عمل کرده و سیستم حفاظتی میزبان را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Tomita و همکاران، ۲۰۰۸). لاکتوفرین خوراکی در جانداران روی سلول‌های اپی‌تلیال روده و بافت‌های لنفوئیدی مرتبط با روده عمل کرده و موجب افزایش تولید اینترلوکین ۱۸ و دیگر سایتوکین‌ها توسط سلول‌های مذکور می‌شود. این مولکول‌های تولیدی وارد جریان خون شده و گلبول‌های سفید در حال گردش را تحت تاثیر قرار می‌دهند و یا ممکن است به‌صورت مستقیم موجب تحریک گلبول‌های سفید در بافت‌های لنفوئیدی مذکور شوند (رحیم‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۰). گلوکان‌ها، الیگوساکاریدهایی به دو شکل شیمیایی بتا و آلفا هستند که سبب افزایش رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک و بهبود وضعیت سلامت و ایمنی میزبان می‌شوند. بتاگلوکان نقش مهمی در فعال‌شدن ایمنی ذاتی و اکتسابی آبزیان دارد. گلوکان ایمنی ذاتی را به گونه‌ای تحریک می‌کند که نه تنها مانع عملکرد میکروارگانیسم‌های مضر شده بلکه روند عملکرد سیستم ایمنی را بهبود می‌بخشد، هم‌چنین بتاگلوکان با اتصال مستقیم به گیرنده‌های پروتئینی موجود بر سطح ماکروفاژها و سایر سلول‌های خونی ازجمله نوتروفیل‌ها و فعال کردن آن‌ها سبب حفظ و تقویت سیستم ایمنی می‌گردد (روفچائی و همکاران، ۱۳۹۱). گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) یک گیاه دو لپه‌ای از خانواده آلاله است که بومی جنوب اروپا، شمال آفریقا و جنوب‌غربی آسیا می‌باشد و به‌صورت خودرو در نقاط مختلف کشور نیز وجود دارد. اثرات ضدباکتریایی، ضدویروسی، آنتی‌اکسیدانی و تحریک ایمنی در حیوانات خونگرم به آن نسبت داده شده است. اثرات مثبت دیگری ازجمله ارتقای رشد، افزایش وزن و تحریک اشتها نیز برای این گیاه گزارش شده‌است (Reverter و همکاران، ۲۰۱۴). دانه این گیاه حاوی روغن، پروتئین، آلکالوئیدها، کینون‌ها (مثل تیموکینون)، ساپونین و اسانس فرار است (ضیایی و همکاران، ۱۳۹۱).

www.SID.ir

Archive of SID

گزارشات متعددی در استفاده از محرک‌های کیتوزان، لاکتوفرین و سیاه‌دانه در گونه‌های مختلف وجود دارد. به‌عنوان مثال اثر عصاره داروا‌ش و سیاه‌دانه بر بقاء، فاکتورهای رشد و مقاومت در برابر عفونت با آئروموناس هیدروفیلا در ماهی طلایی(*Carassius auratus*) توسط علیشاهی و مصباح (۱۳۹۱) و اثر تغذیه باسطوح مختلف لاکتوفرین گاوی بر عملکرد رشد و فعالیت لایزوزیم سرم وموکوس تاس‌ماهی سیبری جوان (*Acipenser barei*) توسط اسلاملو و همکاران (۱۳۹۲) موردبررسی قرارگرفته است.اثرات استفاده ازمقادیر مختلف لاکتوفرین گاوی در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد و برخی از پاسخ‌های ایمنی غیراختصاصی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان(*Onocorhynchus mykiss*) توسط لطفی و همکاران (۱۳۹۰) و رحیم‌نژاد و همکاران (۱۳۹۰) مورد بررسی قرارگرفت. درماهی کپورمعمولی نیزمحرک‌های ایمنی متفاوت مانند کیتوزان توسط Lin و همکاران (۲۰۱۱). اسانس اوکالیپتوس (*Eucalyptus globules*) توسط شیخ‌زاده و سلطانی (۱۳۸۸)، عصاره گیاه خار مریم (*Silybum marianum*) و عصاره خام آلوئه‌ورا توسط علیشاهی‌وهمکاران(۱۳۹۰و۱۳۹۲).پودر سیر خام (*Allium sativum*) توسط خدادادی و همکاران (۱۳۹۱) و گیاهان چینی (*Ganoderma lucidum, Astragalus radix*) توسط Yin و همکاران (۲۰۰۹) مورد بررسی قرار گرفته‌اند. اما تحقیقی درارتباط با مقایسه تاثیر محرک‌های متفاوت به‌ویژه مقایسه‌محرک‌های شیمیایی و گیاهی دراین‌گونه انجام نشده است. در این راستا در این تحقیق به مقایسه اثرات دو محرک شیمیایی بتاگلوکان و لاکتوفرین با محرک گیاهی سیاه‌دانه در بچه ماهیان کپورمعمولی پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

زمان، مکان و روش انجام تحقیق: این تحقیق در سال ۱۳۹۶ در مرکز تحقیقات ماهیان زینتی (چپکرود، جویبار، مازندران) انجام شد. تعداد ۳۰۰ قطعه بچه‌ماهی با میانگین وزن۳ گرم و میانگین طول ۶۳ میلی‌متر، پس از انتقال به مرکز و سپری کردن ۲ هفته سازگاری با شرایط کارگاه، به‌صورت تصادفی در ۱۲ اکواریم با حجم آبگیری ۱۰۰ لیتر ذخیره‌سازی شدند. ویژگی‌های کیفی آب مورد استفاده در تحقیق در جدول۱ آمده است.این آزمایش شامل یک گروه شاهد بدون محرک ایمنی و ۳ تیمار به‌صورت زیر بود:جیره حاوی ۲۰ میلی‌گرم لاکتوفرین به‌ازاء هرکیلوگرم غذا (اسلاملو و همکاران،۱۳۹۲)، جیره حاوی ۱۰ میلی‌گرم بتاگلوکان به‌ازاء هرکیلوگرم‌غذا(روفچائی و همکاران، ۱۳۹۱) و جیره حاوی پودر سیاه‌دانه به‌میزان ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا (علیشاهی و همکاران،۱۳۸۹). لازم به‌ذکر است‌که درانتخاب دوز مورد نظر از هر یک از محرک‌های فوق از نتایج گزارش شده از کار سایر محققان در ارتباط با معرفی بهترین دوز در اثر گذاری بر پارامترهای رشد و یا خونی و ایمنی استفاده شد.

جدول۱: پارامترهای کیفی آب مورد استفاده در تحقیق

پارامتر	دامنه
دما (درجه سانتی‌گراد)	۲۳-۲۵
اکسیژن محلول (میلی‌گرم در لیتر)	۷/۶-۸/۴
سختی (میلی‌گرم در لیتر کربنات کلسیم)	۳۵۰
pH	۷/۵

تهیه جیره‌های آزمایشی: اجزای تشکیل‌دهنده جیره پایه و ارزش غذایی خوراک تولیدی در جدول ۲ آمده است. غذا به‌صورت دستی آماده گردید. خوراک مخصوص کپورمعمولی خریداری شده از شرکت خوراک‌آبزیان‌شمال(بابل-مازندران)که‌بانیازهای‌غذایی ماهی مطابقت دارد به‌عنوان جیره پایه درنظر گرفته شد. به‌منظور مخلوط‌نمودن یکنواخت‌محرک‌های ایمنی‌باخوراک‌ماهی،ابتدا خوراک ماهی با آب مقطر به‌صورت خمیر در آمد.

جدول۲: ترکیب شیمیایی و آنالیز تقریبی جیره آزمایشی مورد استفاده برای بچه ماهیان کپور

اجزای تشکیل‌دهنده	میزان (درصد)
پودرماهی کیلکا (پروتئین ۵۷/۳۵ درصد)	۱۵
گلوتن ذرت	۱۰
آرد گندم	۱۰
روغن کانولا	۸
پودر سویا	۲۴
پودر گوشت	۱۰
مکمل معدنی*	۱/۵
مکمل ویتامینی*	۱/۵
ضدقارچ Formasite (متشکل ازاسیدهای ارگانیک و پروپیونات آمونیوم)	۰/۱
ویتامین C پایدار (آسکوربیل فسفات)	۰/۱۳
همبند (ملاس)	۴/۵۸
نوع ترکیب	میزان (درصد)
پروتئین خام	۳۶/۲۳
چربی خام	۱۱
کربوهیدرات	۳۱
رطوبت	۱۱/۹۵
خاکستر	۶
فیبر	۴

*مکمل معدنی مورد استفاده شامل منیزیم، آهن، روی، مس، ید، سلنیوم و کولین کلراید، و مکمل ویتامینی شامل ویتامین‌های A، D3، E، B1، B2، B3، B5، B6، B12 و K می‌باشد (NRC، ۱۹۹۳).

www.SID.ir

Archive of SID

میزان مورد نیاز از مکمل‌های غذایی برای ایجاد دوز مورد نظر هر ماده با استفاده از دستگاه هم‌زن برقی به‌صورت همگن با خوراک مخلوط گردید. سپس خوراک خمیری شکل مخلوط شده با محرک‌ها با استفاده از چرخ‌گوشت با پنجره خروجی به قطر ۱ میلی‌متر به‌صورت رشته‌ای شکل گرفت و بعد از رطوبت‌گیری، خوراک به‌صورت پلت‌های ریز درآمد. پلت‌ها در سایه بعداز ۲۴ ساعت خشک گردیدند و در دمای ۴درجه‌سانتی‌گراد در یخچال نگه‌داری شدند. غذادهی به‌صورت روزانه و ۲ بار در روز به‌میزان۴ درصد بیوماس بدن صورت گرفت.

اندازه‌گیری پارامترهای رشد و تغذیه: در پایان دوره ۶۰ روزه آزمایش، پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان قطع تغذیه، تمامی ماهیان صید و توزین شدند. برای ارزیابی شاخص‌های مربوط به رشد و تغذیه ماهی‌ها از فرمول‌های زیر استفاده شد (علیشاهی و مصباح، ۱۳۹۱):

وزن اولیه (گرم) - وزن نهایی (گرم) =افزایش وزن بدن (گرم)

۱۰۰*[وزن اولیه/(وزن اولیه- وزن نهایی)] =درصد افزایش وزن (درصد)

۱۰۰*[طول‌دوره‌آزمایش/(Ln وزن اولیه- Ln وزن نهایی)] =نرخ رشد ویژه (درصد درروز)

۱۰۰*[۳(طول ماهی (سانتی‌متر))/ وزن ماهی (گرم)] = فاکتور وضعیت (درصد)

افزایش وزن ماهی (گرم)/غذای خورده شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایی

پروتئین خورده شده (گرم)/وزن به دست آمده (گرم) = نسبت کارآیی پروتئین

۱۰۰*(تعداد ماهیان در ابتدای دوره/ تعداد ماهیان در انتهای دوره)= درصد بازماندگی

مطالعه خون‌شناسی: جهت مطالعه پارامترهای خونی و ایمنی، خونگیری از قسمت ساقه دمی با استفاده از سرنگ‌های پلاستیکی ۲ میلی‌متری و سرسوزن شماره ۲۱ انجام شد. از هر تیمار پنج نمونه خون به‌عنوان تکرار درنظرگرفته شد. بخشی از خون برای سنجش آنزیم لیزوزیم به لوله‌های معمولی (غیرهپارینه) و بخشی دیگر از خون جهت شمارش سلول‌های خونی به لوله‌های هپارینه منتقل شد. شمارش گلبول قرمز و گلبول سفید با استفاده از روش هماتوسیتومتر نئوبار به صورت دستی (Houston و همکاران، ۱۹۹۶)، میزان هماتوکریت خون با استفاده از روش میکروهماتوکریت (Rehulka، ۲۰۰۰) و هموگلوبین خون بااستفاده‌ازکیت و دستگاه اسپکتروفوتومتر (Hettich, Germany) درطول‌موج ۵۴۰نانومتراندازه‌گیری‌شد(Blaxhall و Daisley، ۱۹۷۳). جهت شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون نیز از نمونه خون حاوی ماده ضدانعقاد خون گسترش خونی تهیه شد و رنگ‌آمیزی گیمسا بر روی آن‌ها انجام شد و توسط میکروسکپ‌نوری موردمطالعه قرار گرفت (حقیقی، ۱۳۸۸). سطح لیزوزیم سرم خون نیز با استفاده از روش Turbidimetric (Eliss، ۱۹۹۰) تعیین شد.

روش آماری: برای تجزیه و تحلیل داده‌ها در ابتدا آزمون نرمالیتی به‌وسیله آزمون Shapiro-Wilk انجام‌شد. تجزیه و تحلیل بر روی داده‌ها ازطریق آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و مقایسه میانگین بین تیمارها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. در ابتدا اطلاعات خام در محیط Excel مورد پردازش و سپس وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد اطمینان با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام گرفت.

نتایج

تاثیرمحرک‌های ایمنی بر شاخص‌های رشد و بازماندگی ماهی کپورمعمولی: دربین تیمارهای آزمایشی بیش‌ترین افزایش وزن بدن نسبت تیمار شاهد مربوط به تیمار گلوکان و کم‌ترین مقدار این شاخص‌به گروه شاهد(۳۱/۲۷±۵/۰) تعلق داشت(جدول۳). تیمار سیاه دانه نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵). بیش‌ترین مقدارنرخ رشد ویژه معادل ۰/۰۲±۰/۹ درصد نسبت به سایر تیمارها مربوط به تیمار گلوکان و کم‌ترین با مقدار ۰/۰۲±۰/۷۰ درصد به گروه شاهد تعلق داشت. تیمار سیاه‌دانه نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری را در شاخص نرخ رشد ویژه از خود نشان نداد (P>۰/۰۵) (جدول ۳). در بین تیمارهای آزمایشی بیش‌ترین مقدار ضریب چاقی معادل ۰/۰۱±۱/۸۱ درصد مربوط به تیمار گلوکان بود و کم‌ترین مقدار آن به تیمار سیاه‌دانه تعلق داشت (جدول ۳). تیمار سیاه‌دانه نسبت به‌تیمار شاهدوتیمارگلوکان‌نسبت به‌تیمارلاکتوفرین‌تفاوت‌معنی‌داری را در میزان ضریب چاقی از خود نشان ندادند (P>۰/۰۵). نتایج تحقیق نشان داد که در بین تیمارهای آزمایشی بیش‌ترین مقدار بازماندگی معادل ۷/۶۹±۸۴/۴۴درصدبدون‌اختلاف‌معنی‌دارنسبت‌به‌سایر تیمارها مربوط به تیمار لاکتوفرین بود (P>۰/۰۵) (جدول ۳).

تاثیر محرک‌های‌ایمنی بر عملکرد تغذیه‌ای ماهی کپورمعمولی: نتایج حاصل از محاسبات ضریب تبدیل غذایی نشان داد که در بین تیمارهای آزمایشی کم‌ترین مقدار معادل ۰/۰۷±۲/۵۰ مربوط به تیمار گلوکان‌بودکه‌باسایر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵) (جدول ۴). بیش‌ترین مقدار این شاخص با مقدار ۰/۲۲±۴/۳۹ درصد نیز به گروه شاهد تعلق داشت. همه گروه‌های حاوی محرک ایمنی اختلاف معنی‌داری را درمیزان ضریب‌تبدیل‌غذایی نسبت به تیمارشاهداز خود نشان‌دادند.بیش‌ترین‌مقدارنسبت کارایی پروتئین معادل ۰/۰۳±۱/۱۱ مربوط به تیمار گلوکان بود (جدول ۴) و کم‌ترین مقدار این شاخص با مقدار ۰/۰۳±۰/۶۳ به گروه شاهد تعلق داشت. تیمار سیاه‌دانه نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری را درمیزان نسبت کارایی پروتئین از خود نشان نداد (P>۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳: شاخص‌های مربوط به رشد در بچه‌ماهیان کپور تغذیه شده با جیره حاوی گلوکان، لاکتوفرین و سیاه‌دانه طی مدت ۶۰ روز

شاخص / تیمار	گروه یک (شاهد)	گروه دو (جیره حاوی گلوکان)	گروه سه (جیره حاوی لاکتوفرین)	گروه چهار (جیره حاوی سیاه‌دانه)
وزن اولیه (گرم)	۳/۲۳±۰/۰۲^{a}	۳/۲۲±۰/۰۲^{a}	۳/۲۴±۰/۰۱ ^{a}	۳/۲۵±۰/۰۳^{a}
وزن نهایی (گرم)	۸/۵۵±۰/۲۷^{a}	۱۱/۲۱±۰/۲۰ ^{c}	۱۰/۵۰±۰/۲۶^{b}	۸/۹۶±۰/۱۵^{a}
طول اولیه (میلی‌متر)	۶۳/۷۵±۰/۲۲^{a}	۶۳/۲۱±۰/۰۷^{a}	۶۳/۳۱±۰/۱۷^{a}	۶۳/۱۶±۰/۲۰^{a}
طول نهایی (میلی‌متر)	۸۰/۱۱±۰/۱۲^{a}	۸۵/۱۹±۰/۲۲^{d}	۸۴/۱۸±۰/۰۲^{c}	۸۲/۱۰±۰/۱۰^{b}
افزایش وزن (گرم)	۵/۳۱±۰/۲۷^{a}	۷/۹۹±۰/۲۲^{c}	۷/۲۶±۰/۲۶^{b}	۵/۷۱±۰/۱۲^{a}
افزایش وزن (درصد)	۱۶۳/۷۶±۹/۰۹^{a}	۲۴۷/۶۷±۸/۹۱^{c}	۲۲۴/۰۷±۸/۰۳^{b}	۱۷۵/۸۹±۲/۸۱^{a}
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۰/۷۰±۰/۰۲^{a}	۰/۹۰±۰/۰۲^{c}	۰/۸۵±۰/۰۱^{b}	۰/۷۳±۰ ^{a}
فاکتور وضعیت (درصد)	۱/۶۶±۰/۰۴^{a}	۱/۸۱±۰/۰۱ ^{b}	۱/۷۵±۰/۰۴ ^{b}	۱/۶۱±۰/۰۲^{a}
بازماندگی (درصد)	۸۰/۰۰±۰^{a}	۸۲/۲۱±۷/۶۹^{a}	۸۴/۴۴±۷/۶۹^{a}	۸۰/۰۰±۰/۰۰^{a}

اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند (P>۰/۰۵).

جدول۴: شاخص‌های تغذیه‌ای اندازه‌گیری شده در بچه‌ماهیان کپور تغذیه شده با جیره حاوی گلوکان، لاکتوفرین و سیاه‌دانه طی مدت ۶۰ روز

شاخص / تیمار	گروه یک شاهد	گروه دو (گلوکان)	گروه سه (لاکتوفرین)	گروه چهار (سیاه‌دانه)
ضریب تبدیل غذایی	۴/۳۹±۰/۲۲^{d}	۲/۵۰±۰/۰۷^{a}	۲/۷۰±۰/۰۹^{b}	۴/۰۸±۰/۰۸^{c}
نسبت کارایی پروتئین (گرم/گرم)	۰/۶۳±۰/۰۳^{a}	۱/۱۱±۰/۰۳^{c}	۱/۰۰±۰/۰۳^{b}	۰/۶۸±۰/۰۱^{a}

اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند (P>۰/۰۵).

جدول ۵: مقادیر میانگین و انحراف معیار پارامترهای خونی اندازه‌گیری شده در کپورمعمولی تغذیه شده با جیره حاوی گلوکان، لاکتوفرین و سیاه‌دانه به‌مدت ۶۰ روز

فاکتورهای سلولی / تیمار	گروه یک (شاهد)	گروه دو (گلوکان)	گروه سه (لاکتوفرین)	گروه چهار (سیاه‌دانه)
گلبول قرمز (۱۰^{۳}× تعداد در میلی‌متر مکعب)	۱۱۵۷± ۳/۸۰^{a}	۱۲۸۰±۱۰^{b}	۱۱۷۵± ۸/۶۶^{a}	۱۱۶۸± ۵/۶۶^{a}
هموگلوبین (گرم بر دسی‌لیتر)	۶/۷۰±۰/۱۷^{a}	۷/۳۶±۰/۱۱^{c}	۷/۰۳±۰/۲۷^{b}	۷/۰۳±۰/۱۵^{b}
هماتوکریت (درصد)	۲۹/۶۶±۰/۵۷^{a}	۳۳/۳۳±۰/۵۷^{b}	۳۱/۰۰±۱/۰۰ ^{a}	۳۰/۳۳±۰/۵۷^{a}
گلبول سفید (تعداد در میلی‌متر مکعب)	۸۸۱۶±۳۵۴^{a}	۱۲۹۰۰±۵۲۹^{c}	۱۰۳۳۳±۲۸۴^{b}	۹۳۵۰±۱۳۲^{a}
لیزوزیم (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	۳/۱۹±۰/۰۵^{a}	۵/۳۸±۰/۱۸^{c}	۳/۸۳±۰/۰۷^{b}	۳/۳۰±۰/۱۴^{a}

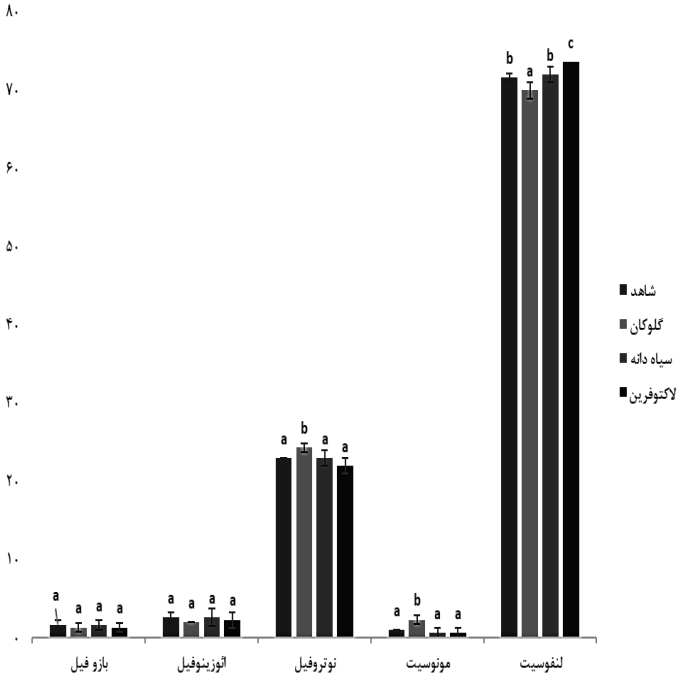
اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند (P>۰/۰۵).

تاثیر تغذیه با جیره حاوی محرک‌های ایمنی بر پارامترهای خونی و ایمنی: در بین تیمارهای آزمایشی بیش‌ترین تعداد گلبول قرمز با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها مربوط به تیمار گلوکان بود (P<۰/۰۵)(جدول ۵)وکم‌ترین مقدار این‌شاخص‌نیز به گروه شاهد تعلق داشت. در مورد گلبول سفید نیز بیش‌ترین تعداد (۱۲۹۰۰±۵۲۹ عدد در میلی‌متر مکعب) با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها مربوط به تیمار گلوکان بود و کم‌ترین تعداد آن به گروه شاهد تعلق داشت.نتایج حاصل از بررسی هموگلوبین نشان‌دادکه‌در بین تیمارهای آزمایشی بیش‌ترین مقدار (۷/۰±۳۶/۱۱ گرم بر دسی‌لیتر) نسبت به سایر تیمارها مربوط به تیمار گلوکان و کم‌ترین مقدار (۶/۷۰±۰/۱۷ گرم بر دسی‌لیتر) به گروه شاهد تعلق داشت و تیمارهای حاوی محرک‌های ایمنی اختلاف معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد از خود نشان‌دادند(P<۰/۰۵)(جدول ۵).نتایج‌حاصل‌ازاندازه‌گیری هماتوکریت خون نیز نشان داد که در بین تیمارهای آزمایشی بیش‌ترین مقدار این شاخص با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها مربوط به تیمار گلوکان (P<۰/۰۵) و کم‌ترین مقدار آن نیز به گروه شاهد تعلق داشت. تیمارهای سیاه‌دانه و لاکتوفرین اختلاف معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد نشان ندادند (P>۰/۰۵). در بررسی آنزیم لیزوزیم نتایج نشان

www.SID.ir

Archive of SID

داد که در بین تیمار های آزمایشی بیش‌ترین مقدار (۵/۰±۳۸/۱۸) نسبت به سایر تیمارها مربوط به تیمار گلوکان و کم‌ترین مقدار (۳/۱۹±۰/۰۵) به گروه شاهد تعلق داشت. نتایج حاصل از شمارش افتراقی گلبول سفید در ماهیان کپور تغذیه شده با جیره حاوی محرک‌های ایمنی نشان داد که تفاوت معنی‌داری در مقادیر بازوفیل و ائوزینوفیل در تیمارها مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بیش‌ترین میزان نوتروفیل و مونوسیت به‌ترتیب با مقادیر ۲۴/۳۳±۰/۵۷ درصد و ۲/۳۳±۰/۵۷ درصد مربوط به تیمار گلوکان بود (P<۰/۰۵) (شکل ۱). درحالی‌که بیش‌ترین میزان لنفوسیت مربوط به تیمار لاکتوفرین بود (P<۰/۰۵).



شکل ۱: شمارش افتراقی گلبول‌های سفید در بچه‌ماهیان کپور تغذیه شده با جیره حاوی گلوکان، لاکتوفرین و سیاه‌دانه طی مدت ۶۰ روز

بحث

در این تحقیق در تیمار بتاگلوکان افزایش وزن بدن ماهیان، نرخ رشد ویژه و فاکتور وضعیت (ضریب چاقی) اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشت که با نتایج حاصل از تحقیق روفچائی و همکاران (۱۳۹۱) در ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) هم‌خوانی داشت. افزایش رشد با تجویز خوراکی بتاگلوکان در ماهی اسنپر (*Pagrus auratus*) گزارش شده است (Cook و همکاران، ۲۰۰۳)، هم‌چنین تجویز گلوکان توانست بر رشد و راندمان تبدیل غذایی در هیبرید ماهی باس راه راه (*Morone chrysops * M. saxatilis*) تاثیرگذار باشد (Jaramillo و Gatlin، ۲۰۰۴). در واقع علی‌رغم تاثیر مثبت گلوکان در رشد این آبزیان، هنوز دلیل آن مشخص نشده است (Ai و همکاران، ۲۰۰۷). درحالی‌که تحقیق خدابخش و قبادی (۱۳۹۲) نشان داد که سطوح مختلف مخلوط پربیوتیک الیگوساکارید و بتا ۱ و۳ گلوکان در جیره تاثیر معنی‌داری بر هیچ‌یک از فاکتورهای رشد در گونه کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon idella*) نداشت که نشان از عدم کارایی سطوح مختلف این محرک‌ها در جیره غذایی بچه‌ماهیان کپور علف‌خوار داشته است. در این مطالعه در تیمار حاوی لاکتوفرین نیز شاخص‌های رشد اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشتند. در مطالعه Kakuta (۱۹۹۶) مشخص شد که مصرف جیره حاوی لاکتوفرین روی رشد ماهی طلایی (*Carassius auratus*) تاثیر قابل ملاحظه‌ای داشته و میزان رشد در این ماهی نسبت به تیمار شاهد بیش‌تر بوده است که با نتایج تحقیق جاری هم‌خوانی داشته است. درحالی‌که در مطالعه Walker و همکاران (۲۰۰۷) پارامترهای رشد ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) بعد از ۵۶ روز تغذیه با سطوح مختلف لاکتوفرین تغییری نکرد. هم‌چنین Yokoyama و همکاران (۲۰۰۵، ۲۰۰۶) در تحقیقات‌شان اختلاف معنی‌داری در رشد هامور خال نارنجی (*Epinephelus coioides*) و کفشک ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) پس از ۳۰ روز تغذیه با جیره‌های حاوی لاکتوفرین مشاهده نکردند. همین‌طور اسلاملو و همکاران (۱۳۹۲) اختلاف معنی‌داری در پارامترهای رشد تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baeri*) در اثر استفاده از لاکتوفرین مشاهده نکردند که با نتایج تحقیق جاری هم‌خوانی نداشت.

تفاوت در پاسخ رشد در گونه‌های مختلف می‌تواند به‌دلیل تفاوت در گونه، سن ماهی، ترکیبات جیره و اثرات متقابل آن‌ها، اختصاصات سیستم گوارشی و شرایط پرورشی نظیر سیستم نگه‌داری و پارامترهای کمی وکیفی آب باشد. رشد ماهیان وابسته به عوامل زیادی می‌باشد و سایر عوامل تاثیرگذار مانند دما می‌توانند باعث عدم بروز اثرات مثبت لاکتوفرین شوند. هم‌چنین اثر متقابل لاکتوفرین با سایر اجزای جیره واختصاصات سیستم گوارشی در گونه‌های مختلف روی اثرات لاکتوفرین در رشد تاثیرگذار می‌باشند (Yokoyama و همکاران، ۲۰۰۶).

در تیمار حاوی سیاه‌دانه افزایش وزن بدن ماهیان، نرخ رشد ویژه و فاکتور وضعیت تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند که نشان از عدم کارایی این ماده در تحریک رشد این گونه دارد. نتایج مشابه در تحقیق علیشاهی و مصباح (۱۳۹۱) در ماهی طلایی (*Carassius auratus*) و علیشاهی و همکاران (۱۳۹۱) در ماهی برزم (*Luciobarbus pectoralis*) به‌دست آمد.

در این تحقیق در هیچ‌یک از تیمارهای حاوی گلوکان، لاکتوفرین و سیاه‌دانه شاخص بازماندگی اختلاف معنی‌داری را نسبت

www.SID.ir

Archive of SID

به تیمار شاهد نشان ندادند که می‌تواند به‌دلیل عدم اعمال استرس در این تحقیق باشد. درصد بازماندگی نشان‌دهنده ایمنی در مقابل عوامل بیماری‌زا و استرس‌های محیطی می‌باشد و در اکثر گزارشات موجودبه‌دنبال اعمال‌استرس‌محیطی مانند افزایش تراکم ذخیره‌سازی و یا تماس ماهی با عوامل بیماری‌زا، استفاده از محرک‌های ایمنی توانسته که موجب کاهش تلفات در مقایسه با شاهد شود (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱؛ علیشاهی و مصباح، ۱۳۹۱).

یکی از عوامل اقتصادی بودن پرورش آبزیان پایین بودن ضریب تبدیل غذایی است، چرا که علاوه بر کاهش هزینه‌های غذا و غذادهی به سبب مقدار کم‌تر غذادهی، از آلودگی ثانویه آب محیط پرورش و به‌تبع آن کاهش پارامترهای کیفی آب جلوگیری خواهد کرد (فلاحتکار و همکاران، ۱۳۸۵). در این تحقیق در هر سه تیمار حاوی گلوکان، لاکتوفرین و سیاه‌دانه مقدار ضریب تبدیل غذایی نسبت به گروه شاهد کاهش‌یافت که‌البته این کاهش در مورد گلوکان و لاکتوفرین مشهودتر بود. در واقع محرک‌های ایمنی انتقال فعال اکسیژن از غشای سلول‌ها را تحریک‌می‌کنند. درنتیجه‌متابولیسم سلول‌ها در سطح بالاتری انجام گرفته و باعث بهبود مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی می‌گردند (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۰). در این تحقیق نسبت کارایی پروتئین نیز در تیمارهای تغذیه شده با محرک‌های شیمیایی افزایش یافت که نشان از بهبود هضم و جذب پروتئین در استفاده از این محرک‌ها دارد. بررسی‌فاکتورهای‌خونی‌وسیله‌ای‌مناسب‌برای‌سنجش‌وضعیت سلامتی ماهی می‌باشد و برای بررسی اثرات احتمالی برخی مواد ضدتغذیه‌ای نیز اهمیت دارد (Lin و همکاران، ۲۰۱۱). تغییر در پارامترهای خونی ازجمله واکنش‌هایی است که جانور در پاسخ به تنش از خود نشان می‌دهد. بخشی از این تغییرات وابسته به ویژگی‌های خود گلبول قرمز است مانند تغییر در اندازه سلول و میزان ذخیره هموگلوبین و بخش دیگر به غلظت پلاسما بستگی دارد که می‌تواند اثر خود را به‌صورت تغییر در تعداد گلبول‌ها در واحد حجم و هم‌چنین تغییر میزان هماتوکریت نشان دهد(Houston و همکاران، ۱۹۹۶).در تحقیق حاضر هر سه محرک توانستند تعداد گلبول‌های قرمز و درصد هموگلوبین و هماتوکریت را نسبت به شاهد ارتقا دهند که البته بیش‌ترین مقادیر مربوط به تیمار گلوکان بود. این فرضیه مطرح است که مواد محرک ایمنی موجب افزایش متابولیسم در ماهی شده در نتیجه تعداد و ظرفیت حمل اکسیژن در گلبول‌های قرمز افزایش می‌یابد (Irianto و Austin، ۲۰۰۲). Andrews و همکاران(۲۰۰۹) اختلاف معنی‌داری را در تعداد گلبول‌های قرمز و میزان هموگلوبین در کپور هندی روهو (*Labeo rohita*) تغذیه شده با مانان الیگوساکارید (محرک ایمنی با منشا دیواره سلولی مخمر) گزارش نمودند که با نتایج تحقیق جاری هم‌خوانی دارد. هم‌چنین یافته‌های Maqsood و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند که مصرف خوراکی لوامیزول در ماهی کپورمعمولی موجب افزایش گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین گشته است.

تعداد گلبول سفید و ترکیب آن یکی از شاخص‌های‌مهم سلامتی ماهیان بوده و نشان‌دهنده وجود یا عدم وجود عفونت و دیگر عوامل فیزیولوژیک و پاتولوژیک می‌باشد (Klontz، ۱۹۹۴). براساس نتایج به‌دست‌آمده بیش‌ترین تعداد گلبول‌های‌سفید در تیمار گلوکان مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بود. گلوکان از طریق اتصال به گیرنده‌های خاصی روی سطح سلول‌های مونوسیت، ماکروفاژ و نوتروفیل بر ایمنی ذاتی اثر می‌گذارد (Muller و همکاران، ۲۰۰۰). بررسی‌ها نشان‌داده است که تحریک گلبول‌های‌سفید در ماهیان سبب بالا رفتن میزان آنتی‌بادی می‌شود (Galina و همکاران، ۲۰۰۹). لازم به ذکر است که هیچ اختلاف معنی‌داری در میزان بازوفیل و ائوزوفیل در هیچ‌یک از تیمارها با تیمار شاهد مشاهده نشد. تیمار گلوکان در درصدنوتروفیل و مونوسیت اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد داشته است. هم‌چنین در درصد لنفوسیت، گلوکان و لاکتوفرین اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد داشتند. تعداد لنفوسیت‌ها تنها در اثر استرس و طولانی شدن کمبود اکسیژن محلول آب در خون ماهیان کاهش نشان می‌دهند (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹).

نتایج این تحقیق نشان داد که فعالیت لیزوزیم سرم در تیمارهای گلوکان و لاکتوفرین در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌داری داشته‌اند که از این بین گلوکان دارای بیش‌ترین افزایش بوده است که این افزایش را می‌توان به قدرت تحریک‌پذیری مواد موثره موجود در گلوکان نسبت داد که باعث افزایش سطح لیزوزیم شده است. Yoshida و همکاران (۱۹۹۵) در مطالعه‌ای اثرات گلوکان و مانان الیگوساکارید را بر ایمنی و فاکتورهای رشد گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) بررسی کردند که براساس نتایج آن ماهی‌های تغذیه شده با این مواد لیزوزیم سرم بیش‌تری نسبت به شاهد داشتند. هم‌چنین Ren و همکاران (۲۰۰۷) اظهار داشتند که فعالیت لیزوزیم در سرم مارماهی ژاپنی (*Anguilla japonica*) با تغذیه از سطوح مختلف لاکتوفرین افزایش می‌یابد که با نتایج تحقیق جاری هم‌خوانی دارند. آنزیم لیزوزیم فعالیت ضدویروسی داشته و درنتیجه به‌عنوان یک بخش مهم از مکانیزم دفاع غیراختصاصی به‌شمار می‌رود.

به‌طورکلی نتایج حاصل از تحقیق جاری حاکی از بیش‌ترین تاثیر گلوکان بر شاخص‌های رشد، فاکتورهای خونی و ایمنی در ماهی کپور معمولی است و سیاه‌دانه کم‌ترین اثر را نشان داد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

۱. **اسلاملو، خ.؛ فلاحتکار، ب.؛ یوکویاما، س. وعلیزاده، ع.، ۱۳۹۲.** اثر تغذیه با سطوح مختلف لاکتوفرین گاوی بر عملکرد رشد وفعالیت لایزوزیم سرم و موکوس تاس‌ماهی سیبری جوان (*Acipenser baeri*). مجله دامپزشکی ایران. دوره ۱۲، شماره ۱، صفحات ۵ تا ۱۶.

۲. **بادزهره، غ.؛ سلطانی، م.؛ شاه‌حسینی، غ.ر. و نفیسی‌بهابادی، م.، ۱۳۹۱.** تاثیر بتاگلوکان بر رشد و بقا و کارایی واکسن ضد استرپتوکوکوزیس در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۷، شماره ۱، صفحات ۱۱ تا ۱۷.

۳. **حقیقی، م.، ۱۳۸۸.** روش‌های آزمایشگاهی خون‌شناسی ماهی. انتشارات علمی آبزیان. ۸۳ صفحه.

۴. **خدابخش، ا. و قبادی، ش.، ۱۳۹۲.** تاثیر مخلوط پربیوتیک الیگوساکارید (Mos) و بتا ۱ و ۳ گلوکان بر شاخص‌های رشد بازماندگی و ترکیب لاشه بچه‌ماهی کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon idella*). فصلنامه علوم تکثیر و آبزی‌پروری. دوره ۱، شماره ۱، صفحات ۴۱ تا ۵۴.

۵. **خدادادی، م.؛ پیغان، ر. و حمیدواری، ا.، ۱۳۹۱.** بررسی تاثیر افزودنی خوراکی پودر سیر خام *Allium sativum* بر روی شاخص‌های رشد ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه علوم درمانگاهی و دامپزشکی ایران. دوره ۶، شماره ۲، صفحات ۱۷ تا ۲۶.

۶. **رحیم‌نژاد، ص.؛ آق، ن.؛ کلباسی، م.ر. و خسروی، س.، ۱۳۹۰.** تاثیر تجویز خوراکی لاکتوفرین بر برخی پاسخ‌های ایمنی غیراختصاصی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss*.مجله دامپزشکی ایران. دوره ۷، شماره ۳، صفحات ۵۷ تا ۶۴.

۷. **روفچائی،ر.؛ حسینی‌فرد، ح.؛ صیادبورانی، م. ومقصودیه‌کهن، ح.، ۱۳۹۱.** بررسی اثرات گلوکان بر ایمنی، پاره‌ای از شاخص‌های خونی و میکروبیوتای روده‌ای بچه‌ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*). مجله علمی شیلات ایران. دوره ۲۱، شماره ۳، صفحات ۷۳ تا ۸۴.

۸. **شیخ‌زاده، ن. و سلطانی، م.، ۱۳۸۸.** مطالعه اثر اسانس اوکالیپتوس *Eucalyptus globules* بر برخی فاکتورهای ایمنی ماهی کپورمعمولی. مجله تحقیقاتی دامپزشکی. دوره ۶۴، شماره ۱، صفحات ۴۷ تا ۵۴.

۹. **ضیایی، ت.؛ محرری، ن. و حسین‌زاده، ح.، ۱۳۹۱.** بررسی اثرات داروشناسی و سم‌شناسی سیاه‌دانه . فصلنامه گیاهان دارویی. دوره ۲، شماره ۴۲، صفحات ۱۷ تا ۴۲.

۱۰. **طافی، ع.ا. و مشکینی، س.، ۱۳۹۳.** محرک‌های ایمنی و اهمیت آن‌ها در آبزی‌پروری. فصلنامه نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی. شماره ۴۶، صفحات ۴۸ تا ۵۳.

۱۱. **علیشاهی، م.؛ سلطانی، م.؛ مصباح، م. و اسمعیلی‌راد، ا.، ۱۳۹۰.** تاثیر تجویز خوراکی عصاره خار مریم *Silybum marianum* بر پاسخ‌های ایمنی ماهی کپورمعمولی.فصلنامه تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۶، شماره ۳، صفحات ۲۵۵ تا ۲۶۳.

۱۲. **علیشاهی، م.؛ قربانپورنجف‌آبادی، م.؛ نجف‌زاده، ح. و پشم فروش، م.، ۱۳۸۹.** مطالعه اثرات ضدباکتریایی برخی عصاره‌های گیاهی علیه *استرپتوکوکوس اینیایی* و *یرسینیا راکری* و *آئروموناس هیدروفیلا*. مجله دامپزشکی ایران. دوره ۶، شماره ۲، صفحات ۲۱ تا ۳۰.

۱۳. **علیشاهی، م. و مصباح، م.، ۱۳۹۱.** اثر عصاره داروا‌ش و سیاه‌دانه بر بقاء فاکتورهای رشد و مقاومت در برابر عفونت با *آئروموناس هیدروفیلا* در ماهی طلایی. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۷، شماره ۳، صفحات ۲۸۵ تا ۲۹۰.

۱۴. **علیشاهی، م.؛ پورمهدی، م. و عبدی، ا.، ۱۳۹۱.** مقایسه اثر برخی محرک‌های ایمنی و عصاره‌های گیاهی بر فاکتورهای رشد و مقاومت ماهی برزم در برابر استرس‌های محیطی. مجله دامپزشکی ایران. دوره ۸، شماره ۴، صفحات ۵۹ تا ۶۷.

۱۵. **علیشاهی، م.؛ حیدری، ب. و محمدیان، ب.، ۱۳۹۲.** اثرات غلظت‌های سمی عصاره خام آلوئه‌ورا بر برخی شاخص‌های خونی و ایمنی و بافت‌های ماهی کپورمعمولی *Cyprinus carpio*. مجله شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر. سال ۷، شماره ۴، صفحات ۷۳ تا ۸۴.

۱۶. **فلاحتکار، ب.؛ سلطانی، م.؛ ابطحی، ب.؛ کلباسی، م.ر.؛ پورکاظمی، م. و یاسمی، م.، ۱۳۸۵.** تاثیر ویتامین C بر برخی پارامترهای رشد، نرخ رشد، بازماندگی و شاخص کبدی در فیل‌ماهیان جوان پرورشی. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۷۲، صفحات ۹۸ تا ۱۰۳.

۱۷. **کاظمی، ر.؛ پوردهقانی، م.؛ یوسفی‌جوردهی، ا.؛ یارمحمدی، م. و نصری‌تجن، م.، ۱۳۸۹.** فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون‌شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان. ۱۹۴ صفحه.

۱۸. **لطفی، م.؛ آق، ن.؛ شمسایی‌مهرجان، م.؛ ملک‌زاده، ر.؛ محمدی‌زاده، م. و صدیق‌جور، م.، ۱۳۹۰.** بررسی اثر سطوح مختلف لاکتوفرین در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد ماهی قزل آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss*. مجله تحقیقات منابع طبیعی تجدیدشونده. سال ۲، شماره ۱، صفحات ۶۸ تا ۷۷.

۱۹. **Ai, Q.; Mai, K.; Zhang, L.; Tan, B.; Zhang, W. and Xu, W., 2007**. Effects of dietary β-1, 3 glucan on innate immune response of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Fish and Shellfish Immunology. Vol. 22, pp: 394-402.

۲۰. **Andrews, S.R.; Sahu, N.P. and Pal, A., 2009.** Growth of *L*abeo *rohita* fingerlings: Effect of dietary mannan oligosaccharide, yeast extract, protein hydolysate and chlorella. Aquaculture Research. Vol. 41, pp: 61-69.

۲۱. **Ardo, L.; Yin, G.; Xu, P.; Varadi, L.; Szigeti, G. and Jeney, G., 2008**.Chinese herbs (*Astragalus membranaceus*

www.SID.ir

Archive of SID

Vol.3.SOS Publications. Fair Haven.New Jersey, USA. pp: 121-132.

۳۲. **Kumari, J.; Sahoo, P.K.; Swain, T.; Sahoo, S.K.; Sahu, B. and Mohanty, B.R., 2006.** Seasonal variation in the innate immune parameters of the Asia cat fish *Clarias batrachus*. Aquaculture. Vol. 252, pp: 121-127.

۳۳. **Lin, S.; Pan, Y.; Luo, L. and Luo, L., 2011.** Effects of dietary b-1, 3-glucan, chitosan or raffinose on the growth, innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio koi*). Fish and Shellfish Immunology. Vol. 31, pp: 788-794.

۳۴. **Maqsood, S.; Samoon, M.H. and Singh, P., 2009.** Immunomodulatory and Growth Promoting Effect of Dietary Levamisole in *Cyprinus carpio* fingerlings against the challenge of *Aeromonas hydrophila*. Turkish Journal of Fish and Aquatic Sciences. Vol. 9, pp: 111-112.

۳۵. **Muller, A.; Raptis, J.; Rice, P.J.; Kalbfleisch, J.H.; Stout, R.D.; Ensley, H.E.; Browder, W. and Williams, D.L., 2000.** The influence of glucanpolymer structure and solution conformation on binding to (1_3)-β-D-glucan receptors in a human monocyte- like cell line, Glycobiology. Vol. 10, No. 4, pp: 339-346.

۳۶. **NRC (National Research Council, USA). 1993.** Nutrient Requirements of fish. National Academy of sciences, Washington. 124 p.

۳۷. **Raa J., 1996.** The use of immunostimulatory substance in fish and shellfish farming. Fisheries Science. Vol. 4, No. 3, pp: 229-288.

۳۸. **Rehulka, J., 2000.** Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture. Vol. 190, pp: 27-47.

۳۹. **Ren, T.; Koshio, S.; Ishikawa, M.; Yokoyama, S.; Micheal, F.R. and Uyan, Q., 2007.** Influence of dietary vitamin C and bovine Lactoferin on blood chemistry and non specific immune responses of Japanese eel, *Anguilla japonica*. Aquaculture. Vol. 267, pp: 31-37.

۴۰. **Reverter, M.; Bontemps, N.; Lecchini, D.; Banaigs, B. and Sasal, P., 2014.** Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future Perspectives. Aquaculture. Vol. 433, pp: 50-61.

۴۱. **Shalaby, A.M; Khattab, Y.A. and Abdel Rahman, A.M., 2006.** Effect of garlic (*Allium sativum*) and chloram phenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Venomous Animal Toxins Including Tropical Disease. Vol. 12, pp: 172-201.

and Lonicera japonica) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis nitloticus*) and reistance against *Aeromonas hydrophyla*. Aquaculture. Vol. 275, pp: 26-33.

۲۲. **Blaxhall, P.C. and Daisley, K., 1973**. Routine haematological methods for use with fish bloods. Journal of Fish Biology. Vol. 5, pp: 771-781.

۲۳. **Cook, M.T.; Hayball, P.J.; Hutchinson, W.; Nowak, B.F. and Hayball, J.D., 2003.** Administration of a commercial immunostimulant preparation, Ecoactiva as a feed supplement enhances macrophase respiratory burst and the growth rate of snapper (*Pagrus auratus*), Sparidae (Bloch and Schneider) in winter. Fish Shellfish Immunology. Vol. 14, pp: 333-345.

۲۴. **Eliss, A.E., 1990.** Lysozyme assay. In: Stolen J.S., Fletcher, D.P., Anderson, B.S. and Robertson, B. S.(eds). Techniques in Fish immunology. Fair Haven, N J, USA SOS Publication. pp:101-103.

۲۵. **Galina, J.; Yin, G.; Ardo, L. and Jeney, Z., 2009**. The use of immunostimulating herbs in fish. An overview of research. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 35, No. 4, pp: 669-676.

۲۶. **Houston, A.H.; Dobric, N. and Kahurananga, R., 1996.** The nature of hematological response in fish. Studies on rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* exposed to stimulated winter, spring and summer conditions. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 15, pp: 339-347.

۲۷. **Irianto, A. and Austin, B., 2002.** Probiotic in aquaculture. Fish Disease. Vol. 25, pp: 1-10.

۲۸. **Jaramillo, J.F. and Gatlin, D.M., 2004.** Comparison of purified and practical diets supplemented with or without β glucan and selenium on resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. World Aquaculture Society. Vol. 35, pp: 245-252.

۲۹. **Kakuta, I., 1996.** Protective **e**ffect of orally administrated bovine lactoferrin against experimental infection of goldfish (*Carassius auratus*) with ***Ichthyophthirius multifiliis***. Aquaculture Science. Vol. 44, pp: 427-432.

۳۰. **Kim, S.K. and Rajapakse, N., 2005.** Enzymeatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): a review. Carbohydrate Research. Vol. 62, pp: 357-368.

۳۱. **Klontz, G.W., 1994.** Fish hematology. In: Techiques in fish immunology. Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Kelikoff, T.C., Kaaraii. S.L. and Smith, S.A. (eds).

www.SID.ir

Archive of SID

۴۲. **Tomita, M.; Wakabayashi, H.; Shin, K.; Yamauchi, K.; Yaeshima, T. and Iwatsuki, K., 2008.** Twenty-five years of research on bovine lactoferin applications. Biochimie. Vol. 10, pp: 1-6.

۴۳. **Walker, T.; Lin, C.; Yildirim- Aksoy M.; Shelby, R. and Klesius, P.H., 2007.** Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri* challenge in channel catfish, *Ictalurus pimctatus,* fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcompanents. Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 38, No. 1, pp: 24-35.

۴۴. **Yin, G.; Ardo, L.; Thompson, K.D.; Adams, A.; Jeney, Z. and Jeney, G., 2009.** Chinese herbs (*Astragalus radix)* and (*Ganoderma lucidum*) enhance immune response of crap, *Cyprinus carpio*, and protection against *Aeromonas hydrophila.* Fish and Shellfish Immunology. Vol. 26, pp: 140-145.

۴۵. **Yokoyama, S.; Koshio, S.; Takakura, N.; Oshida, K.; Ishikawa, M. and Gallardo-Cigarroa, F.J., 2006**. Effect of dietary bovine Lactoferin on growth response, tolerance to air exposure and low salinity stress conditions in orange spotted grouper (*Epineohelus coioides*). Aquaculture. Vol. 255, pp: 507-513.

۴۶. **Yokoyama, S.; Koshi, S.; Takakura, N.; Oshida, K.; Ishikawa, M. and Gallardo- Cigarroa, F.J., 2005.** Dietary bovine Lactoferin enhances tolerance to high temperature stress in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus.* Aquaculture. Vol. 249, pp: 367-373.

۴۷. **Yoshida, T.; Kruger, R. and Inglis, V., 1995.** Augmentation of non-specific protection in African catfish, *Clarias graiepinus* (Bruchell), by the long-term oral administration of immune stimulants. Journal of Fish Diseases. Vol. 18, pp: 195-198.

www.SID.ir