

## اثرات سطوح مختلف لایوزیم جیره غذایی بر فاکتورهای رشد، شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی سرمی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

- شراره بخت آزاد\*: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- حامد پاک‌نژاد: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- سیدحسین حسینی‌فر: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- عبدالمجید حاجی‌مرادلو: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۸

### چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر لایوزیم در مقیاس‌های اضافه شده به جیره در برخی فاکتورهای رشد، شاخص‌های ایمنی خون‌شناسی، بیوشیمیایی سرم در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) می‌باشد. به این منظور ۱۸۰ قطعه ماهی با میانگین وزنی  $25/94 \pm 0/1$  گرم در ۱۲ عدد تانک و ۴ تیمار با ۳ تکرار قرار داده شدند. پس از دوره سازگاری، ماهی‌ها با جیره‌های حاوی ۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲/۵ گرم بر کیلوگرم لایوزیم به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. در انتهای دوره ماهیان زیست‌سنجی شدند و خونگیری به عمل آمد و شاخص‌های خونی بررسی شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد این محرک ایمنی در میزان رشد به میزان حدوداً  $26/37$  گرم تاثیر مثبت داشته و بین تیمارها اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). لایوزیم جیره بر تعداد گلبول‌های سفید تیمارها با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان دادند. بین تیمارهای آزمایشی در تعداد هموگلوبین نیز روند افزایشی مشاهده شد. شمارش افتراقی گلبول‌های سفید فقط در میزان لنفوسیت افزایش معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و شاهد مشاهده شد، در بررسی میزان نوتروفیل بین تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌داری دیده شد. هم‌چنین در مطالعه شاخص‌های بیوشیمیایی خون، مشخص شد که در هر سه فاکتور اختلاف معنی‌داری وجود داشت و روند افزایشی داشتند. با توجه به نتایج مطالعه حاضر به نظر می‌رسد استفاده از دوزهای ۱/۵ و ۲/۵ گرم بر کیلوگرم لایوزیم می‌تواند به بهبود فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی سرم و رشد این گونه پرورشی تاثیر مطلوبی داشته باشد.

**کلمات کلیدی:** کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، عملکرد رشد، خون‌شناسی، آنزیم لایوزیم



## مقدمه

کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به‌عنوان اولین گونه پرورشی در بین آبزیان شناخته می‌شود (Balon, 2004). کپور معمولی بومی قاره آسیا می‌باشد و به همه نقاط جهان به‌جز قطبین راه یافته است از مزایای پرورش کپورماهیان می‌توان به رشد مطلوب و مناسب، مقاومت در برابر بیماری‌ها و شرایط محیطی نامطلوب و دارا بودن نسبت مناسب حجم عضله یا گوشت به استخوان و احشاء اشاره کرد. در سال‌های اخیر آبی‌پروری با نرخ رشد متوسط سالانه ۶ درصد در مقایسه با صید و تولید گوشت حیوانات خشکی، بیش‌ترین رشد را در بخش تولید غذا در جهان داشته و در حال حاضر حدود ۵۰ درصد از گوشت آبزیان مصرفی دنیا را تامین می‌کند و برنامه‌ریزی شده که تا سال ۲۰۳۰ این مقدار به ۶۲ درصد برسد (FAO, 2014). در سطح جهانی آبی‌پروری در حال گسترش است و این گسترش به‌دو صورت کلی افزایش تراکم و یا افزایش تنوع گونه‌های پرورشی می‌باشد. در این شرایط، بروز و شیوع بیماری، اصلی‌ترین عامل محدودکننده برای پرورش بسیاری از گونه‌های آبی‌پروری در بسیاری از کشورها می‌باشد (Bondad و همکاران, 2013). با افزایش روز افزون جمعیت جهان نقش آبی‌پروری نسبت به صنایع دیگر در تولید غذا بیش‌تر شده است (FAO, 2009). آبی‌پروری یکی از زیرشاخه‌های مهم تولیدات غذایی برای جمعیت بشر می‌باشد و امروزه نیازمند توسعه مناسب برای پاسخ‌گویی به نیازهای پرورش‌دهندگان و جمعیت مصرف‌کننده است که در حال حاضر با توجه به فواید آبزیان تقاضا به سمت این منبع پروتئینی در حال افزایش است (عادل، ۱۳۸۷). امروزه در مدیریت آبی‌پروری با توجه به شرایط خاص از قبیل افزایش آلودگی‌های مختلف، عوامل استرس‌زا، ارتباط آب‌های آزاد و مزارع پرورشی و پیچیده شدن اکوسیستم‌های آبزیان توجه به بهبود سیستم ایمنی در مقابل عوامل بیماری‌زای ضروری می‌کند. در حال حاضر در این صنعت برای بهبود سلامت و افزایش مقاومت آبزیان در برابر این بیماری‌ها استفاده از مکمل‌های غذایی جهت ارتقای رشد و ایمنی متداول گردیده است (Li و Gatlin, 2004). آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله راه‌کارهای سنتی برای درمان بیماری‌ها و همچنین جزو مواد محرک رشد در آبی‌پروری می‌باشند که می‌توانند رشد و کارایی تغذیه را در آبزیان بهبود ببخشند و سبب بالارفتن قابلیت هضم و جذب مواد غذایی گردند. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در جهت درمان و کنترل بیماری‌های آبزیان پرورشی به‌طور گسترده مورد انتقاد قرار گرفته است. با این وجود نگرانی‌ها در مورد اثرات منفی استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها بر محیط‌زیست و سلامت بشر از جمله ظهور سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک، تجمع بقایای آن در بافت‌های خوراکی و تضعیف سیستم ایمنی بنابراین اهمیت

برای استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در بسیاری از کشورها را به‌دنبال داشت (Reverter و همکاران, 2014). بر این اساس ممنوعیت استفاده آنتی‌بیوتیک‌ها بعد از سال ۲۰۰۶ در اروپا اجباری شد (Castanon, 2007). این مقررات توانست بر صنعت آبی‌پروری تأثیر گذاشته و توجه به ایجاد روش‌های جدید برای کنترل بیماری‌ها را بیش‌تر کند. در این راستا یکی از راه‌حل‌های مورد تأیید برای کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها پروبیوتیک‌ها هستند اما با توجه به این موضوع که نحوه عملکرد باکتری‌های پروبیوتیک هنوز جای ابهام داشته و همچنین به‌دلیل آن که سویه‌های پروبیوتیکی فقط در طی تیمارهای تغذیه‌ای در دستگاه گوارش غالب هستند و از طرفی قابلیت پایداری سویه‌های پروبیوتیکی در طی عمل‌آوری ساخت جیره‌های غذایی و ذخیره‌سازی آن‌ها نیز یک محدودیت عمده در استفاده از پروبیوتیک‌ها در آبی‌پروری می‌باشد (Mahious و همکاران, 2007)، استفاده از پپتیدهای ضد میکروبی به‌عنوان یک ابزار درمانی منحصر به فرد با قابلیت دستیابی به مقاومت آنتی‌بیوتیکی بسیار امیدبخش بوده است. پپتیدهای ضد میکروبی معمولاً به چند دلیل مورد استفاده قرار می‌گیرند: (۱) برای جلوگیری از بیماری‌های عفونی ناشی از باکتری‌ها یا پروتوزوئیدها، (۲) کاهش میزان غذای مورد نیاز و (۳) افزایش وزن و بهبود شاخص‌های رشد (Herbert, 1987). نتایج مؤثر و کاربردی استفاده از این مولکول‌های با ارزش طی بررسی‌های مختلف در سالیان گذشته منتشر گردیده است. نتایج مؤثر و کاربردی استفاده از این مولکول‌های مذکور طی بررسی‌های مختلف در سالیان گذشته منتشر گردیده است. لایوزیم به‌عنوان آنتی‌بیوتیکی در داخل بدن بی‌خطر بوده و بسیار مورد توجه است (Ramanauskien و همکاران, 2009). مطالعات متفاوتی درباره نحوه به‌کارگیری و مکانیسم‌های اثر لایوزیم در پرورش دام و آبزیان انجام گرفته که عمده آن‌ها نشان‌دهنده بهبود شاخص‌های رشد در ماهیان (Chen و همکاران, 2014)، (Deng و همکاران, 2012) و جوجه‌های گوشتی (Zhang و همکاران, 2008)؛ (Cheng و همکاران, 2009)، (Ding و همکاران, 2010) بوده است. همچنین پارامترهای ایمنی مورد مطالعه قرار گرفته (Morand و همکاران, 1999)، (Long و همکاران, 2016) بیانگر کارایی مثبت این آنزیم بر روی دام و آبزیان می‌باشد. لایوزیم یک آنزیم تجزیه‌کننده قوی موجود در خون و بافت‌های لنفاوی ماهیان می‌باشد. این آنزیم نقش‌های زیادی در ایمنی ماهی دارد که یکی از مهم‌ترین فاکتورها در مقاومت ماهیان محسوب می‌شود (Magnadóttir, 2006). در اغلب جانوران، آنزیم لایوزیم بخشی از سیستم دفاع غیر اختصاصی را تشکیل می‌دهد. فعالیت ضد باکتریایی این آنزیم، مربوط به هیدرولیز پیوندهای N-استیل گلوکز آمین و N-استیل مورامیک اسید است. این مولکول‌ها اجزای تشکیل‌دهنده لایه پپتیدو گلیکان دیواره سلولی باکتری‌ها می‌باشند. با توجه به



ضریب تبدیل غذایی بیش تر نشان دهنده مقدار غذای مورد استفاده در هر آکواریوم می باشد زیرا اطمینان از این که تمام غذای داده شده مورد استفاده ماهیان قرار گرفته است وجود ندارد (Hevrøy و همکاران، ۲۰۰۵):

افزایش وزن (میلی گرم)/مقدار غذای خورده شده (میلی گرم)

شاخص بازماندگی (درصد بقا) (Ai و همکاران، ۲۰۰۶):

$100 \times \left\{ \frac{\text{تعداد ماهیان در ابتدای دوره}}{\text{تعداد ماهیان مرده در طول دوره}} - \text{تعداد ماهیان در ابتدای دوره} \right\}$

سپس از هر تیمار تعداد ۶ عدد بچه ماهی به طور تصادفی جهت خونگیری و سنجش فاکتورهای خون شناسی انتخاب شدند. ابتدا ماهیان توسط پودر گل میخک (۱۰۰ میلی گرم در هر لیتر) بی هوش شدند و خونگیری از قسمت انتهایی باله مخرجی ماهیان توسط سرنگ هیپارینه صورت گرفت. پس از خونگیری نمونه های خون جمع آوری شدند و به ۲ قسمت تقسیم شدند.

بخش اول: خون در نمونه های حاوی ماده ضد انعقاد خون قرار گرفتند تا شمارش گلبول قرمز و گلبول سفید و میزان هماتوکریت صورت گیرد. شمارش گلبول سفید و قرمز توسط لام هماسیتومتر انجام شد. شمارش تعداد گلبول های سفید با استفاده از پیت ملانژور سفید، لام نئوبار و محلول رقیق کننده تورک (Turk) شمارش شدند (Blaxhall و Daisley، ۱۹۷۳). برای شمارش تعداد گلبول های قرمز از رقیق کننده NaCl دودرصد و لام نئوبار استفاده شد. اندازه گیری میزان هماتوکریت توسط میکروهماتوکریت، نمونه های خون جمع آوری شده در لوله های مویین به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و هموگلوبین نیز توسط اسپکتروفتومتر با معرف درابکین (Drobkin) در طول موج ۵۴۰ نانومتر با کمک از منحنی استاندارد براساس روش sahli صورت گرفت. شمارش افتراقی انواع گلبول سفید (نوتروفیل، آنوزینوفیل، بازوفیل، لنفوسیت و منوسیت) پس از تهیه گسترش و رنگ آمیزی با رنگ گیمسا صورت پذیرفت (عامری مهابادی، ۱۳۷۸).

بخش دوم: نمونه های خون در لوله های فاقد ماده ضد انعقاد خون (هیپارین) قرار گرفت و پس از لخته تشکیل شدن، سرم خون با استفاده از سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه و دور ۶۰۰۰ توسط سمپلر از لخته جداسازی شد و در اپندورف های جداگانه قرار گرفت. نمونه های سرم جداسازی شده با استفاده از کیت های آزمایشی از شرکت پارس آزمون برای اندازه گیری شاخص های بیوشیمیایی سرم تا زمان انجام آزمایش در فریزرهای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. این آزمایش به صورت یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. پس از ثبت داده ها همگنی آن ها با استفاده از kolomogornove-Smirnove بررسی شد. برای مقایسه اختلاف معنی دار بین تیمارها در سطح احتمال (p < ۰/۰۵) از آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون چند دامنه دانکن (Duncans)

اثرات آن، استفاده از این آنزیم در غذاها و سیستم های تغذیه توصیه شده است (Ramauskien و همکاران، ۲۰۰۹). تا به امروز مطالعات بسیاری در خصوص بررسی اثرات لایوزیم جیره بر رشد و ایمنی حیوانات انجام شده است (Wang، ۲۰۰۹؛ Cheng، ۲۰۰۹؛ Lu و همکاران، ۲۰۰۹). اما در مورد آبیان این مطالعات محدود می باشند. بنابراین در این تحقیق سعی شده اثر این آنزیم به عنوان یک محرک ایمنی روی فاکتورهای رشد، شاخص های خونی و بیوشیمیایی سرم یک گونه پرورشی مهم مورد بررسی قرار بگیرد.

## مواد و روش ها

مطالعه حاضر در سالن آبی پروری دانشکده شیلات و محیط زیست دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام گرفت. کپور ماهیان از یک مرکز خصوصی در شهرستان ساری تهیه گردید پس از انتقال به مدت دو هفته با شرایط محیط سازگاری پیدا کردند. در این مطالعه از ۱۲ تانک با حجم ۱۵۰ لیتر استفاده شد. برای این منظور ۱۵ قطعه ماهی با میانگین وزنی  $25/94 \pm 0/1$  گرم به صورت کاملاً تصادفی در ۴ تیمار که هر تیمار ۳ تکرار بود توزیع گردید. در طول مدت زمان سازگاری ماهی ها با جیره شاهد (جیره غذایی تجاری + ژلاتین) و پس از آن با جیره آزمایشی تغذیه شدند. به منظور بررسی تاثیر این افزودنی بر عملکرد رشد، شاخص های خون شناسی و بیوشیمیایی سرمی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) ۴ تیمار غذایی تهیه شد. بچه ماهیان در تیمار ۱، ۲، ۳، ۴ به ترتیب (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵) گرم بر کیلوگرم به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. لایوزیم خوراکی (Zhejiang Aegis Biotech Co., Ltd) پس از تهیه کردن به جیره غذایی هر گروه آزمایشی اسپری شد و برای هر کدام از گروه های مورد بررسی، استفاده گردید. تغذیه بچه ماهیان در سه نوبت به میزان ۳ درصد وزن بدن صورت گرفت به منظور تعیین مقدار غذای بچه ماهیان در ابتدای دوره آزمایش، زیست سنجی هر تانک صورت گرفت. توزیع غذای بچه ماهیان روزانه انجام شد. در پایان دوره ۸ هفته پرورش، از ماهیان زیست سنجی صورت گرفت و میزان رشد و بقا در ابتدا و انتهای دوره به واسطه فرمول های فوق مورد سنجش قرار گرفت.

افزایش وزن بدن (Tacon، ۱۹۹۰):

وزن اولیه ماهی (میلی گرم) - وزن نهایی ماهی (میلی گرم)  
درصد افزایش وزن بدن (Bekcan و همکاران، ۲۰۰۶):

$100 \times \left\{ \frac{\text{وزن اولیه ماهی}}{\text{وزن اولیه ماهی (گرم)}} - \text{وزن نهایی ماهی (گرم)} \right\}$   
نرخ رشد ویژه (Hevrøy و همکاران، ۲۰۰۵):

$100 \times \left\{ \frac{\text{طول دوره پرورش به روز}}{\text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی - لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی}} \right\}$



(multiple-range test) استفاده گردید (Zar, 1994). کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2007 انجام شد.

## نتایج

در پایان دوره تحقیقاتی با انجام سری آزمایشاتی که بر روی ماهیان صورت گرفت اثر سطوح مختلف لایوزیم خوراکی بر شاخص‌های رشد در جدول ۱ ارائه شد که در ابتدا اختلاف معنی‌داری بین تیمارها از نظر وزن و طول وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). بررسی شاخص‌های رشد در پایان دوره نشان داد افزودن سطوح مختلف لایوزیم خوراکی به جیره غذایی کپور ماهیان به‌طور معنی‌داری سبب افزایش شاخص وزن شد ( $p > 0.05$ ). اما در مورد اندازه بدن، در پایان دوره با این‌که افزایش طول وجود داشت، در میان تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

( $p > 0.05$ ). به‌طوری‌که ماهیان تغذیه شده با دوزهای بیش‌تر لایوزیم بیش‌ترین میزان رشد وزنی را داشتند. هم‌چنین در تمام دوره پرورشی تلفاتی در بین تیمارهای تحت بررسی مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). در بررسی میزان نرخ رشد ویژه بالاترین میزان در تیمار ۱/۵ گرم بر کیلوگرم و کم‌ترین در گروه شاهد مشاهده شد که دارای اختلاف معنی‌داری بودند ( $p < 0.05$ ) و بین گروه ۰/۵ و ۱ گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). نتایج به‌دست آمده از محاسبه ضریب تبدیل غذایی نشان داد که به‌ترتیب کم‌ترین و بیش‌ترین میزان به گروه ۱/۵ گرم بر کیلوگرم و شاهد تعلق داشت و بین دو گروه ۰/۵ و ۱ گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). هم‌چنین در بررسی کارایی پروتئین مشخص شد که بیش‌ترین و کم‌ترین میزان به گروه‌های تیمار ۱/۵ گرم بر کیلوگرم و شاهد مربوط بوده و اختلاف معنی‌داری باهم داشتند ( $p < 0.05$ ).

جدول ۱: بررسی برخی فاکتورهای رشد در ماهی کپور معمولی تغذیه شده با لایوزیم خوراکی

عملکرد رشد	۰ گرم بر کیلوگرم	۰/۵ گرم بر کیلوگرم	۱ گرم بر کیلوگرم	۱/۵ گرم بر کیلوگرم
میانگین وزن اولیه (گرم)	۲۵/۷۱±۰/۱۵	۲۵/۸۶±۰/۱۱	۲۵/۹۳±۰/۲۲	۲۵/۹۹±۰/۱۱
میانگین وزن نهایی (گرم)	۴۷/۸۵±۱/۲ <sup>b</sup>	۵۳/۶۴±۵/۸ <sup>ab</sup>	۵۳/۳±۶/۰۹ <sup>ab</sup>	۵۵/۱۹±۲/۵۴ <sup>a</sup>
میانگین طول اولیه (سانتی متر)	۱۰/۴±۰/۲	۱۰/۵±۰/۳۷	۱۰/۳۴±۰/۳	۱۰/۶۷±۰/۲
میانگین طول ثانویه (سانتی متر)	۱۳/۴۴±۰/۷۹ <sup>b</sup>	۱۴/۰۴±۰/۸ <sup>ab</sup>	۱۴±۰/۹ <sup>ab</sup>	۱۴/۸۷±۰/۸۴ <sup>a</sup>
افزایش وزن (گرم)	۲۲/۱۴±۱/۲۶ <sup>b</sup>	۲۶/۷۷±۵/۷۴ <sup>ab</sup>	۲۷/۳۷±۵/۲۱ <sup>ab</sup>	۲۹/۲±۲/۵۵ <sup>a</sup>
نرخ رشد ویژه (درصد)	۰/۴۸±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۰/۵۵±۰/۰۸ <sup>ab</sup>	۰/۵۵±۰/۰۸ <sup>ab</sup>	۰/۵۸±۰/۰۳ <sup>a</sup>
ضریب تبدیل غذایی	۲±۱/۰۴ <sup>a</sup>	۱/۵۴±۰/۱۹ <sup>ab</sup>	۱/۴۷±۰/۲ <sup>ab</sup>	۱/۳۴±۰/۰۸ <sup>b</sup>
کارایی پروتئین	۰/۱۱±۰/۰۰۲	۰/۱۲±۰/۰۰۱	۰/۱۲±۰/۰۰۲ <sup>a</sup>	۰/۱۲±۰/۰۰۴ <sup>a</sup>
بقا (درصد)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشند ( $p < 0.05$ )

مشاهده نشد ( $p > 0.05$ )؛ اما در درصد هماتوکریت نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های تغذیه شده با تیمار شاهد مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ). شمارش تعداد گلبول‌های سفید نشان داد که بین گروه شاهد با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $p < 0.05$ ). بیش‌ترین تعداد آن در تیمار ۱/۵ گرم بر کیلوگرم و کم‌ترین در گروه شاهد مشاهده شد.

نتایج مربوط به آنالیز شاخص‌های خون‌شناسی در تیمارهای مختلف در جدول شماره ۲ آمده است. تعداد گلبول‌های قرمز در ماهیان پرورشی گروه شاهد با تیمار آزمایشی تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ( $p > 0.05$ ) در مورد شاخص‌های هماتوکریت و هموگلوبین نیز در میزان هموگلوبین خون تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها

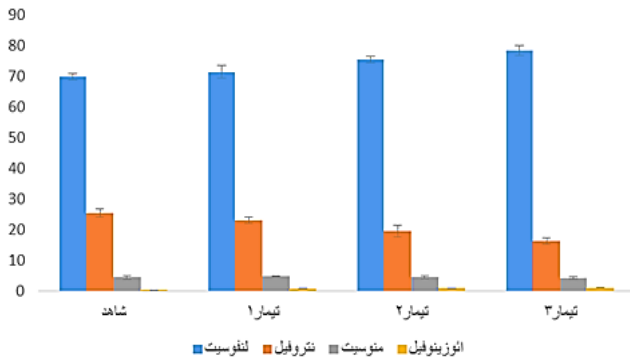
جدول ۲: بررسی شاخص‌های سرم خون در ماهی کپور معمولی پس از ۸ هفته تغذیه با جیره آزمایشی

فاکتورهای اندازه‌گیری	شاهد	۰/۵	۱	۱/۵
هماتوکریت (Hc)	۳۵±۱	۳۱±۲	۲۹/۵±۱	۳۴±۱/۱۲
هموگلوبین (Hg)	۵/۶۷±۱/۲۶ <sup>b</sup>	۷/۱۵±۱ <sup>ab</sup>	۷/۲۲±۱/۳ <sup>ab</sup>	۸/۱۵±۱ <sup>a</sup>
تعداد گلبول قرمز (RBC)	۱/۶۵±۰/۲ <sup>b</sup>	۱/۶۶±۰/۱ <sup>b</sup>	۱/۷۳±۰/۲۵ <sup>a</sup>	۱/۶۹±۰/۱ <sup>a</sup>
تعداد گلبول سفید (WBC)	۳۶/۳۳±۱/۵۱ <sup>b</sup>	۳۷/۱۲±۱/۰۶ <sup>ab</sup>	۴۲/۲۹۴±۱/۰۶ <sup>a</sup>	۴۳/۴۹۵±۱ <sup>a</sup>

حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشند ( $p < 0.05$ )



شمارش افتراقی گلبولهای سفید



شکل ۱: نمودار شمارش افتراقی گلبولهای سفید در پایان دوره آزمایشی

در نتایج به دست آمده از سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی سرم در دوره ۸ هفته، میزان گلوکز در تیمارهای تغذیه شده با جیره آزمایشی بیش‌تر از گروه شاهد بود و در تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). در سنجش پروتئین کل بیش‌تری و کم‌ترین میزان آن به ترتیب در گروه ۱/۵ گرم بر کیلوگرم و شاهد دیده شد و بین‌شان اختلاف معنی‌دار وجود داشت ( $p < 0.05$ ). هم‌چنین در بررسی میزان ایمونوگلوبولین سرم نیز در تیمار ۱/۵٪ افزایش قابل ملاحظه‌ای نسبت به گروه شاهد مشاهده شد و با هم اختلاف معنی‌داری داشتند ( $p < 0.05$ ).

در نتایج حاصل از شمارش افتراقی گلبولهای سفید، اختلاف معنی‌داری در بین گونه‌ها از نظر تعداد در بازوفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها و منوسیت‌ها مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). اما با افزایش دوز لایوزیم در جیره غذایی، شاهد بالا رفتن درصد لنفوسیت‌ها در خون ماهیان شد ( $p < 0.05$ ). کم‌ترین میزان لنفوسیت در گروه شاهد مشاهده شد. در بررسی درصد نوتروفیل، با افزایش دوز لایوزیم به جیره روند کاهش در میزان آن دیده شد به نحوی که کم‌ترین درصد در گروه ۱/۵ گرم بر کیلوگرم و بیش‌ترین در گروه شاهد مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری از نظر تعداد در بین تیمارهای ۱/۵ و ۱ گرم بر کیلوگرم وجود نداشت ( $p > 0.05$ ).

جدول ۳: شمارش افتراقی گلبولهای سفید ماهیان در پایان دوره آزمایشی

شاخص‌های خونی	شاهد	۰/۵	۱	۱/۵
لنفوسیت (%)	۶۹/۸۶	۷۱/۳۳	۷۵/۳۳	۷۸/۳۳
نوتروفیل (%)	۲۵/۴۸	۲۲	۱۹/۵۱	۱۶/۱۷
منوسیت (%)	۴/۳۳	۴/۶۸	۴/۳۳	۴/۱۷
بازوفیل (%)	۰	۰/۳۳	۰	۰/۳۳
ائوزینوفیل (%)	۰/۳۳	۰/۶۶	۰/۸۳	۱

جدول ۴: بررسی برخی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم در ماهیان پس از ۸ هفته آزمایش

شاخص‌های بیوشیمیایی سرم	شاهد	۰/۵ گرم بر کیلوگرم	۱ گرم بر کیلوگرم	۱/۵ گرم بر کیلوگرم
گلوکز (میلی مول بر لیتر)	۵۸/۱۶±۲ <sup>b</sup>	۶۰/۷±۱ <sup>ab</sup>	۶۵/۳۳±۱ <sup>ab</sup>	۷۶/۱۲±۱ <sup>a</sup>
پروتئین کل (گرم/دسی‌لیتر)	۴۸/۲±۱ <sup>b</sup>	۶۷±۱/۱۷ <sup>ab</sup>	۷۵±۲ <sup>a</sup>	۷۶/۲±۱/۵ <sup>a</sup>
ایمونوگلوبولین (گرم/دسی‌لیتر)	۱۳/۵۶±۱/۵۶ <sup>b</sup>	۱۵/۲۳±۱/۱۵ <sup>ab</sup>	۱۵/۹۳±۱ <sup>ab</sup>	۱۷/۲۷±۱ <sup>a</sup>

زیرا هیدرولیز اوربیتال‌های گلیکوزیدی و موکوپلی ساکاریدی در دیواره سلولی باکتریایی را کاتالیز می‌کند و به افزایش رشد کمک کند. Zhang و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که استفاده از ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم لایوزیم خوراکی در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی باعث بالا رفتن وزن و بهبود کارایی غذا می‌شود. در تحقیقات مشابه Cheng و همکاران (۲۰۰۹)، Lu و همکاران (۲۰۰۹) و Ding (۲۰۱۰) دریافتند به کارگیری ۱۰۰ تا ۳۰۰ گرم بر کیلوگرم لایوزیم خوراکی در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی موجب افزایش شاخص‌های رشد می‌شود. در همین راستا Zhang و Gu (۲۰۰۸) بیان داشتند افزودن ۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم لایوزیم خوراکی به رژیم غذایی خوک می‌تواند شاخص‌های رشد را به خوبی بهبود بخشد. به علاوه Chen و همکاران (۲۰۱۴) پس از ۷۵ روز تغذیه بچه‌ماهی کاراس سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم لایوزیم خوراکی را برای افزایش رشد و بهبود

## بحث

با ادامه رشد صنعت آبی‌پروری، درک نیازهای ضروری گونه‌های پرورشی با توجه به تاثیر مستقیم آن‌ها بر عوامل استرس‌زا، سلامتی و مقاومت در برابر بیماری‌ها توجه بیش‌تری را می‌طلبد (Ashley, ۲۰۰۷). براساس مطالعات انجام شده استفاده و تجویز برخی محرک‌های ایمنی خاص از جمله آنزیم لایوزیم جهت جلوگیری از بیماری و تقویت سیستم ایمنی بدن جانور به عنوان رژیم کنترلی وجود دارد. رژیم‌های غذایی، اثرات بسیار زیادی بر کنترل استرس و حفظ سلامتی دارند و بنابراین برای رشد مناسب، مقاومت در برابر استرس و جلوگیری از بیماری‌ها، ماهی باید مقادیر کافی از رژیم‌های غذایی که تمام نیازهای غذایی آن‌ها را تامین می‌کند، در دسترس داشته باشد (Trichet, ۲۰۱۰). لایوزیم یک عامل ضد میکروبی طبیعی است



رخ دهد. لذا افزایش مقدار پروتئین کل می‌تواند نشان‌دهنده فعالیت مناسب آنزیم‌های لیزوزیمی مانند آلی‌پی در کبد و سپس ترشح آن در خون باشد (Deng و همکاران، ۲۰۱۱).

عملکرد مناسب آنزیم‌های لیزوزیمی موید کارایی مناسب سیستم ایمنی در زمان استفاده از لیزوزیم خوراکی در جیره غذایی بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باشد که نتایج حاصل از این تحقیق این امر را به اثبات می‌رساند.

براساس مطالعات انجام شده استفاده و تجویز برخی محرک‌های ایمنی خاص از جمله آنزیم لیزوزیم جهت جلوگیری از بیماری و تقویت سیستم ایمنی بدن جانور به‌عنوان رژیم کنترلی وجود دارد. با این حال، در حال حاضر پارامترهای وجود دارد که پیش از تجویز روتین این ترکیبات در آبی‌پروری، لازم به مطالعه و تحقیق بیشتر می‌باشد. بسیاری از این فاکتورها از جمله: نوع محرک ایمنی، دوز به‌کار رفته، نوع آماده‌سازی و افزودن به جیره، گونه پرورشی و عوامل بیماری‌زا یا بیگانه که محافظت علیه آن‌ها لازم است برقرار شود. در مورد این که یک محرک موفق بوده یا نه، یک رژیم تحریکی ایمنی نقش دارد. به‌کارگیری دوز مناسب از محرک ایمنی مورد نظر ضروری می‌باشد چرا که در صورت استفاده از دوزهای نامربوط ممکن است هیچ‌گونه تغییری در سیستم ایمنی آبی‌لحاظ نکند، درحالی‌که مقادیر بیش از حد موجب سرکوب پاسخ ایمنی می‌گردد و دوزهای پایین‌تر هیچ تأثیری بر عوامل بیماری‌زا نمی‌گذارد. تغذیه حیوانات با رژیم‌های غذایی که احتیاجات مواد مغذی را برآورده نمی‌کنند نه تنها بر رشد و کارایی غذا تأثیر می‌گذارد، بلکه باعث افزایش حساسیت به بیماری شده و موجب ظهور علائم کمبود، از جمله تغییر رفتار و ایجاد بستری برای بروز بیماری‌ها می‌شود

نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از لیزوزیم خوراکی در جیره غذایی کپور ماهیان آزمایشی تأثیر مثبتی بر پارامترهای رشد و ایمنی غیراختصاصی (سرم) داشت. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد استفاده از لیزوزیم خوراکی به‌میزان ۱ و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم در جیره موجب بهبود شاخص‌های رشد و افزایش شاخص‌های ایمنی خونی می‌شود که این یافته موید کارایی بالای لیزوزیم خوراکی بر توان ایمنی‌زایی و بهبود پارامترهای رشد در ماهی کپور معمولی می‌باشد.

## منابع

۱. عادل‌ا، ۱۳۸۷. اصول بازاریابی و بسته‌بندی آبی‌زیان. انتشارات هنر تا بی‌نهایت. ۲۰۴ صفحه.
۲. عامری‌مهابادی، م.، ۱۳۸۷. روش‌های آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۱۲۶ صفحه.

ضریب تبدیل غذایی پیشنهاد کردند. در مطالعه‌ای دیگر اثرات افزودن لیزوزیم خوراکی به جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی ۷۰ روز بررسی شد که نتیجه آن افزایش رشد، بهبود وضعیت بدن، کاهش ضریب تبدیل غذایی و حفظ مواد مغذی هنگام استفاده از ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود (Deng و همکاران، ۲۰۱۲). به‌علاوه Chen و همکاران (۲۰۱۳) پس از ۷۵ روز تغذیه بچه ماهی کاراس سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم لیزوزیم خوراکی را برای افزایش رشد و بهبود ضریب تبدیل غذایی پیشنهاد کردند. این نتایج نشان می‌دهد که مکمل لیزوزیم در رژیم غذایی به‌عنوان یک محرک رشد به شمار می‌رود.

تغذیه نقش مهمی در حفظ شرایط بهداشتی آبزیان با تنظیم سیستم ایمنی غیرسلولی و هومورال دارد که در نتیجه موجب افزایش مقاومت در برابر انواع مختلف بیماری‌ها می‌شود (Komar، ۲۰۰۵). درک مکانیسم‌های تنظیم سیستم ایمنی دلیلی محکمی برای کشف عوامل موثر بر رژیم غذایی است که در نهایت منجر به بهبود اثرات ایمنی در ماهیان می‌شود (Trichet، ۲۰۱۰). از راه‌حل‌های کاهش خطر ابتلا ماهیان به بیماری‌های مختل‌کننده سیستم ایمنی و افزایش کارایی آن، افزودن آنزیم‌های ضد میکروبی در رژیم غذایی است (Yeman و Yount، ۲۰۰۳). لیزوزیم در بافت‌های ماهی مانند سرم، آبشش، دستگاه گوارش و بافت غنی از لکوسیت‌ها مانند کلیه و طحال یافت می‌شود. در ماهی‌ها به‌دلیل محدودیت‌های ایمنی اکتسابی، ناشی از خون سرد بودن، محدود بودن آنتی‌بادی‌ها و تا حدی کند بودن تکثیر لنفوسیت‌ها، ایمنی غیراختصاصی بسیار حائز اهمیت است (Whyte، ۲۰۰۷). ایمونوگلوبولین‌ها جزء آنتی‌بادی‌های طبیعی بوده و به صورت کاملاً تنظیم شده در غیاب محرک آنتی‌ژنیک خارجی تولید می‌شوند و محافظت سریع و گسترده‌ای را در برابر عوامل بیماری‌زا ایجاد می‌کنند. این ویژگی آن‌ها را به‌عنوان یکی از بخش‌های حیاتی سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهی تبدیل کرده است (Magnadóttir، ۲۰۰۶).

هم‌سو با نتایج این تحقیق (Morand و همکاران، ۱۹۹۹) تزریق لیزوزیم به گربه‌ماهی را عاملی برای افزایش مقدار ایمونوگلوبولین و پروتئین کل بیان کردند و با مشاهده بهبود برخی پارامترهای ایمنی و افزایش خاصیت باکتری‌کشی استفاده از لیزوزیم را فاکتوری اثرگذار در افزایش ایمنی گزارش کردند. در تضاد با نتایج این پژوهش مشاهده شده به‌کارگیری لیزوزیم خوراکی در رژیم غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تأثیری بر افزایش مقدار پروتئین کل سرم نداشته است (Deng و همکاران، ۲۰۱۱). بیش‌ترین بخش پروتئین سرم در کبد سنتز می‌شود که می‌تواند به‌عنوان شاخص عملکرد کبد محسوب شود. کاهش پروتئین کل سرم ویژگی بسیاری از بیماری‌هاست و ممکن است به‌دلیل بیماری کبدی، کاهش جذب یا از دست دادن پروتئین



۱۵. **FAO, 2014.** Aquaculture Department, The state of world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 243 p.
۱۶. **Gatlin, D.M. and Li, P., 2004.** Dietary supplementation of prebiotics for health management of hybrid striped bass *morone chrysops* × *M. saxatilis*. Aqua Feeds Formul Beyond. Vol. 1, No. 4, pp: 19-21.
۱۷. **Gu, W. and Zhang, G., 2008.** Effects of lysozyme on growth performance and immune organ index of meat duck. Feed Ind. Vol. 29, pp: 46-48. (in Chinese)
۱۸. **Herbert, P.N.; Bausserman, L.L.; Lynch, K.M.; Saritelli, A.L.; Kantor, M.A. and Nicolosi, R.J., 1987.** apolipoproteins in the *Macaca fascicularis* (cynomolgus) monkey. Homologues of the human C and A Biochemistry. Vol. 10, pp: 1457-1463.
۱۹. **Hevrøy, E.; Espe, M.; Waagbø, R.; Sandnes, K.; Ruud, M. and Hemre, G.L., 2005.** Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar L*) fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture Nutrition. Vol. 11, pp: 301-313.
۲۰. **Komar, C.M., 2005.** Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) and ovarian function—implications for regulating steroidogenesis, differentiation, and tissue remodeling. Reprod Biol Endocrinol. Vol. 3, 41 p.
۲۱. **Long, Y.; Lin, S.; Zhu, J.; Pang, X.; Fang, Z. and Lin, Y., 2016.** Effects of dietary lysozyme levels on growth performance, intestinal morphology, non-specific immunity and mRNA expression in weanling piglets, Anim. Sci. J. Vol. 87, pp: 411-418.
۲۲. **Lu, Y.; Chen, Z. and Pan, H., 2009.** Effects of lysozyme on the growth performance and immune response of broiler chickens. Feed Res. Vol. 8, pp: 50-52. (in Chinese)
۲۳. **Magnadóttir, B., 2006.** Innate immunity of fish (overview), Fish and shellfish immunology. Vol. 20, pp: 137-151.
۲۴. **Mahious, A.S.; Van Loo, J. and Liefbrig, F., 2007.** Inulin and oligofructose in aquaculture: A review. Aquaculture Europe 2007. October 14-27. pp: 326-327. (Istanbul, Turkey)
۲۵. **Morand, M.; Siwicki, A.; Pozet, F.; Klein, P.; Vinaize, J.C. and Keck, N., 1999.** Effects of dimerized lysozyme (KLP-602) on the cellular and humoral defence mechanism in sheatfish (*Silurus glanis*): in vitro.
۲۶. **Ramanauskienė, K.; Inkenienė, A.M.; Savickas, A.; Masteikova, R. and Brusokas, V., 2009.** Analysis of the
۳. **Ai, Q.; Mai, K.; Tan, B.; Xu, W.; Duan, Q.; Ma, H. and Zhang, L., 2006.** Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large Yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Aquaculture. Vol. 260, pp: 255-263.
۴. **Ashley, P.J., 2007.** Fish welfare: current issues in aquaculture. Appl Anim Behav Sci. Vol. 104, pp: 199-235.
۵. **Balon, E.K., 2006.** The oldest domesticated fishes, and the consequences of an epigenetic dichotomy in fish culture. Aqua, Journal of Ichthyology and Aquatic Biology. Vol. 11, No. 2, pp: 47-86.
۶. **Bekcan, S.; Dogankaya, L. and Cakirogullari, G.C., 2006.** Growth and body composition of European catfish (*Silurus glanis L.*) fed diets containing different percentages of protein. The Israeli Journal of Aquaculture, Bamidgheh. Vol. 58, No. 2, pp: 137-142.
۷. **Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W., 1973.** Routine haematological methods for use with fish blood. Fish Biology banner. Vol. 5, No. 6, pp: 771-781.
۸. **Bondad-Reantaso, M.; Subasinghe, R.P.; Arthur, J.R.; Ogawa, K.; Chinabut, S.; Adlard, R.; Chang, C.S.; Huang, S.L.; Chen, S. and Chen, S.N., 2013.** Innate immune responses and efficacy of using mushroom beta glucan mixture (MBG) on orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, aquaculture. Fish and shellfish immunology. Vol. 35, pp: 115-125.
۹. **Castanon, J.I., 2007.** History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. Poultry Science. Vol. 86, pp: 2466-2471.
۱۰. **Chen, X.; Jiang, S.; Gu, Y. and Shi, Z., 2014.** Molecular characterization and expression of cyp19a gene in *Carassius auratus*. Journal of Fish Biology. Vol. 85, pp: 516-522.
۱۱. **Cheng, S.; Ma, L. and Zhang, W., 2009** Effects of lysozyme on growth performance of broiler chickens and apparent digestibility coefficients of nutrients. China Feed. Vol. 19, pp: 32-34. (in Chinese)
۱۲. **Deng, J.; Bi, B.; An, Q.; kong, L.; Wang, Q. and Tao, L., 2012.** Effect of dietary inclusion of lysozyme on growth performance and plasma biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Aquacult. Nutr. Vol. 18, pp: 332-339.
۱۳. **Ding, Y., 2010.** Effects of recombinant lysozyme on growth performance and carcass traits in broilers. J. Anhui Agric. Sci. Vol. 38, pp: 15677-15678.
۱۴. **FAO, 2009.** Press release, 19 June 2009. <http://www.fao.org/news/story/en/item/20568/icode/>.



- antimicrobial activity of propolis and lysozyme in semisolid emulsion systems. *Acta Pol. Pharm.* Vol. 66, pp: 681-688.
۲۷. **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. *Aquacult.* Vol. 433, pp: 50-61.
۲۸. **Tacon, A., 1990.** Standards methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp.
۲۹. **Trichet, V.V., 2010.** Nutrition and immunity: an update. *Aquaculture Research.* Vol. 41, No. 3, pp: 356-372.
۳۰. **Wang, Y., 2009.** Probiotics: Present and future in food science and technology. *Food Research International.* Vol. 42, pp: 8-12.
۳۱. **Whyte, S.K., 2007.** The innate immune response of finfish—a review of current knowledge. *Fish and Shellfish Immunol.* Vol. 23, pp: 1127-1151.
۳۲. **Yeman, M.R. and Yount, N.Y., 2003.** Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacol. Rev.* Vol. 55, pp: 27-55.
۳۳. **Zar, J., 1994.** Biostatistical analysis. Prentice-Hall, New York. 622 p.
۳۴. **Zhang, X.; Hecker, M.; Park, J.; Tompsett, A.R.; Newsted, J.; Nakayama, K.; Jones, P.D.; Newsted, J.L.; Au, D.W.T.; Kong, R.Y.C.; Wu, R.S.S. and Giesy, J.P., 2008.** Real-time PCR array to study effects of chemicals on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis of the Japanese medaka. *Aquatic Toxicology.* Vol. 88, pp: 173-182.
۳۵. **Zhang, Y.A.; Salinas, I.; Li, J.; Parra, D.; Bjork, S.; Xu, Z.; LaPatra, S.E.; Bartholomew, J. and Sunyer, J.O., 2010.** IgT, a primitive immunoglobulin class specialized in mucosal immunity. *Nature Immunology.* Vol. 11, pp: 827-835.

