

## تأثیر تجویز خوراکی لاکتوفرین، بتا گلوکان و سیاه دانه بر شاخص‌های رشد و پارامترهای خونی و ایمنی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

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

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۷

### چکیده

به منظور مقایسه محرک‌های ایمنی گیاهی و شیمیایی، تأثیر تجویز خوراکی لاکتوفرین، بتاگلوکان و سیاه‌دانه بر شاخص‌های رشد، پارامترهای خونی و ایمنی در کپور معمولی مورد مطالعه قرار گرفت. ۳۰۰ قطعه بچه ماهی (۳۰/۰۲ ± گرم) به مدت 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. بر اساس نتایج، بیش‌ترین افزایش وزن، ضریب رشد ویژه و ضریب چاقی در تیمار گلوکان به دست آمد. میزان بازماندگی در تمام تیمارها بیش‌تر از ۸۰ درصد و بدون اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بود ( $P > 0/05$ ). همه تیمارهای حاوی محرک ایمنی اختلاف معنی‌داری را از نظر ضریب تبدیل غذایی نسبت به تیمار شاهد نشان دادند ( $P < 0/05$ ). کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی و بیش‌ترین نسبت کارایی پروتئین در تیمار گلوکان حاصل شد ( $P < 0/05$ ). 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 به ترتیب مربوط به تیمار گلوکان (۵/۰ ± ۳۸/۱۸) و شاهد (۳/۰ ± ۱۹/۰۵) بود. در حالی که درصد نوتروفیل و مونوسیت در تیمار گلوکان بیش‌ترین مقدار بود، بیش‌ترین درصد لنفوسیت (۷۳/۰ ± ۶۶/۵۷) در تیمار لاکتوفرین مشاهده شد. در نتیجه در مقایسه با دو محرک دیگر، بتاگلوکان می‌تواند به عنوان محرک رشد و ایمنی در ماهی کپور معمولی استفاده شود.

**کلمات کلیدی:** ایمنی، سیاه دانه، لاکتوفرین، کپور معمولی، بتاگلوکان



## مقدمه

یکی از عمده‌ترین مسائلی که پرورش دهندگان ماهی با آن مواجه هستند، کاهش بازماندگی ماهیان به خصوص در مراحل اولیه زندگی می‌باشد. بر این اساس تقویت سیستم ایمنی بدن ماهیان به‌ویژه در گونه‌های با ارزش و اقتصادی از اصلی‌ترین نیازهای پرورش دهندگان و مهم‌ترین رویکرد محققان می‌باشد. علاوه بر این، بروز و همه‌گیری بیماری‌ها در کنار پیشرفت و توسعه صنعت آبی‌پروری، این صنعت را تحت تاثیر قرار داده به نحوی 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 آلاینده‌های 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 (Rajapakse و Kim، ۲۰۰۵). این مکمل‌های غذایی علاوه بر افزایش مقاومت ماهی، سبب بهبود فاکتورهای رشد ماهی می‌شوند و گزارشات متعددی از تحریک ایمنی و رشد ماهی به دنبال 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 غیر اختصاصی ماهی نسبت داد، چرا که بهبود فاکتورهای ایمنی ماهی به صورت غیر مستقیم 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 شده است. 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، فلاونوئیدها و ساپونین‌ها هستند که دارای اثرات ضد میکروبی 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، خار مریم و غیره تقویت شده است (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 هر مولکول 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 به صورت 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 فعال شدن 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 از جمله 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 جنوب غربی آسیا می‌باشد و به صورت 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 از جمله ارتقای رشد، افزایش وزن و تحریک اشتها نیز برای این گیاه گزارش شده است (Reverter و همکاران، ۲۰۱۴). دانه این گیاه حاوی روغن، پروتئین، آلکالوئیدها، کینون‌ها (مثل تیموکینون)، ساپونین و اسانس فرار است (ضیایی و همکاران، ۱۳۹۱).

محققان در ارتباط با معرفی بهترین دوز در اثر گذاری بر پارامترهای رشد و یا خونی و ایمنی استفاده شد.

جدول ۱: پارامترهای کیفی آب مورد استفاده در تحقیق

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

**تهیه جیره های آزمایشی:** اجزای تشکیل دهنده جیره پایه و ارزش غذایی خوراک تولیدی در جدول ۲ آمده است. غذا به صورت دستی آماده گردید. خوراک مخصوص کپور معمولی خریداری شده از شرکت خوراک آبریان شمال (بابل-مازندران) که بانیاها های غذایی ماهی مطابقت دارد به عنوان جیره پایه در نظر گرفته شد. به منظور مخلوط نمودن یکنواخت محرک های ایمنی با خوراک ماهی، ابتدا خوراک ماهی با آب مقطر به صورت خمیر در آمد.

جدول ۲: ترکیب شیمیایی و آنالیز تقریبی جیره آزمایشی مورد استفاده برای بچه ماهیان کپور

اجزای تشکیل دهنده	میزان (درصد)
پودر ماهی 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
ضد قارچ Formasite	۰/۱
(مشکل از اسیدهای ارگانیک و پروپیونات آمونیم)	
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 ویتامین های A, B1, B2, B3, B5, B6, B12 و K می باشد (NRC, ۱۹۹۳).

گزارشات متعددی در استفاده از محرک های کیتوزان، لاکتوفرین و سیاه دانه در گونه های مختلف وجود دارد. به عنوان مثال اثر عصاره دارویش و سیاه دانه 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 با سطوح مختلف لاکتوفرین گاوی بر عملکرد رشد و فعالیت لایزوزیم سرم و موکوس تانس ماهی سیبری جوان (*Acipenser barei*) توسط اسلاملو و همکاران (۱۳۹۲) مورد بررسی قرار گرفته است. اثرات استفاده از مقادیر مختلف لاکتوفرین گاوی در جیره غذایی بر شاخص های رشد و برخی از پاسخ های ایمنی غیراختصاصی ماهی قزل آلا ی رنگین کمان (*Onocorhynchus mykiss*) توسط لطفی و همکاران (۱۳۹۰) و رحیم نژاد و همکاران (۱۳۹۰) مورد بررسی قرار گرفت. در ماهی کپور معمولی نیز محرک های ایمنی متفاوت مانند کیتوزان توسط Lin و همکاران (۲۰۱۱). اسانس اوکالیپتوس (*Eucalyptus globules*) توسط شیخ زاده و سلطانی (۱۳۸۸)، عصاره گیاه خار مریم (*Silybum marianum*) و عصاره خام آلوئه ورا توسط علیشاهی و همکاران (۱۳۹۰ و ۱۳۹۲). 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 گرفته اند. اما تحقیقی در ارتباط با مقایسه تاثیر محرک های متفاوت به ویژه مقایسه محرک های شیمیایی و گیاهی در این گونه انجام نشده است. در این راستا در این تحقیق به مقایسه اثرات دو محرک شیمیایی بتاگلوکان و لاکتوفرین با محرک گیاهی سیاه دانه در بچه ماهیان کپور معمولی پرداخته شد.

## مواد و روش ها

**زمان، مکان و روش انجام تحقیق:** این تحقیق در سال ۱۳۹۶ در مرکز تحقیقات ماهیان زینتی (چپک رود، جویبار، مازندران) انجام شد. تعداد ۳۰۰ قطعه بچه ماهی با میانگین وزن ۳ گرم و میانگین طول ۶۳ میلی متر، پس از انتقال به مرکز و سپری کردن ۲ هفته سازگاری با شرایط کارگاه، به صورت تصادفی در ۱۲ اکواریم با حجم آبگیری ۱۰۰ لیتر ذخیره سازی شدند. ویژگی های کیفی آب مورد استفاده در تحقیق در جدول ۱ آمده است. این آزمایش شامل یک گروه شاهد بدون محرک ایمنی و ۳ تیمار به صورت زیر بود: جیره حاوی ۲۰ میلی گرم لاکتوفرین به ازاء هر کیلوگرم غذا (اسلاملو و همکاران، ۱۳۹۲)، جیره حاوی ۱۰ میلی گرم بتاگلوکان به ازاء هر کیلوگرم غذا (روفچائی و همکاران، ۱۳۹۱) و جیره حاوی پودر سیاه دانه به میزان ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا (علیشاهی و همکاران، ۱۳۸۹). لازم به ذکر است که در انتخاب دوز مورد نظر از هر یک از محرک های فوق از نتایج گزارش شده از کار سایر



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

### تاثیر محرک‌های ایمنی بر شاخص‌های رشد و بازماندگی

**ماهی کپور معمولی:** در بین تیمارهای آزمایشی بیش‌ترین افزایش وزن بدن نسبت تیمار شاهد مربوط به تیمار گلوکان و کم‌ترین مقدار این شاخص به گروه شاهد (۳۱/۲۷ ± ۵/۰) تعلق داشت (جدول ۳). تیمار سیاه دانه نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ( $P > 0/05$ ). بیش‌ترین مقدار نرخ رشد ویژه معادل  $0/9 \pm 0/02$  درصد نسبت به سایر تیمارها مربوط به تیمار گلوکان و کم‌ترین با مقدار  $0/7 \pm 0/02$  درصد به گروه شاهد تعلق داشت. تیمار سیاه‌دانه نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری را در شاخص نرخ رشد ویژه از خود نشان نداد ( $P > 0/05$ ) (جدول ۳). در بین تیمارهای آزمایشی بیش‌ترین مقدار ضریب چاقی معادل  $1/81 \pm 0/01$  درصد مربوط به تیمار گلوکان بود و کم‌ترین مقدار آن به تیمار سیاه‌دانه تعلق داشت (جدول ۳). تیمار سیاه‌دانه نسبت به تیمار شاهد و تیمار گلوکان نسبت به تیمار لاکتوفرین تفاوت معنی‌داری را در میزان ضریب چاقی از خود نشان ندادند ( $P > 0/05$ ). نتایج تحقیق نشان داد که در بین تیمارهای آزمایشی بیش‌ترین مقدار بازماندگی معادل  $84/44 \pm 7/69$  درصد بدون اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها مربوط به تیمار لاکتوفرین بود ( $P > 0/05$ ) (جدول ۳).

### تاثیر محرک‌های ایمنی بر عملکرد تغذیه‌ای ماهی کپور معمولی:

نتایج حاصل از محاسبات ضریب تبدیل غذایی نشان داد که در بین تیمارهای آزمایشی کم‌ترین مقدار معادل  $2/5 \pm 0/07$  مربوط به تیمار گلوکان بود که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت ( $P < 0/05$ ) (جدول ۴). بیش‌ترین مقدار این شاخص با مقدار  $4/39 \pm 0/22$  درصد نیز به گروه شاهد تعلق داشت. همه گروه‌های حاوی محرک ایمنی اختلاف معنی‌داری را در میزان ضریب تبدیل غذایی نسبت به تیمار شاهد از خود نشان دادند. بیش‌ترین مقدار نسبت کارایی پروتئین معادل  $1/11 \pm 0/03$  مربوط به تیمار گلوکان بود (جدول ۴) و کم‌ترین مقدار این شاخص با مقدار  $0/63 \pm 0/03$  به گروه شاهد تعلق داشت. تیمار سیاه‌دانه نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری را در میزان نسبت کارایی پروتئین از خود نشان نداد ( $P > 0/05$ ).

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 بعد از ۲۴ ساعت خشک گردیدند و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند. غذادهی به‌صورت روزانه و ۲ بار در روز به‌میزان ۴ 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)  
 $100 \times \left[ \frac{\text{وزن اولیه}}{\text{وزن نهایی}} - 1 \right]$  = درصد افزایش وزن (درصد)  
 $100 \times \left[ \frac{\text{طول دوره آزمایش (Ln) - وزن اولیه (Ln)}}{\text{وزن نهایی (Ln)}} \right]$  = نرخ رشد ویژه (درصد در روز)  
 $100 \times \left[ \frac{\text{طول ماهی (سانتی‌متر)}}{\text{وزن ماهی (گرم)}} \right]$  = فاکتور وضعیت (درصد)

افزایش وزن ماهی (گرم) / (غذای خورده شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایی پروتئین خورده شده (گرم) / (وزن به دست آمده (گرم) = نسبت کارایی پروتئین  
 $100 \times \left( \frac{\text{تعداد ماهیان در ابتدای دوره}}{\text{تعداد ماهیان در انتهای دوره}} \right)$  = 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 در نظر گرفته شد. بخشی از خون برای سنجش آنزیم لیزوزیم به لوله‌های معمولی (غیرهمپارینه) و بخشی دیگر از خون جهت شمارش سلول‌های خونی به لوله‌های همپارینه 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 با استفاده از کیت و دستگاه اسپکتروفوتومتر (Hettich, Germany) در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Blaxhall و Daisley، ۱۹۷۳). جهت شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون نیز از نمونه خون حاوی ماده ضدانعقاد خون گسترش‌خونی تهیه شد و رنگ‌آمیزی گیمسا بر روی آن‌ها انجام شد و توسط میکروسکپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت (حقیقی، ۱۳۸۸). سطح لیزوزیم سرم خون نیز با استفاده از روش (Eliss، ۱۹۹۰) Turbidimetric تعیین شد.

### روش آماری: برای تجزیه و تحلیل داده‌ها در ابتدا آزمون نرمالیتی

به‌وسیله آزمون Shapiro-Wilk انجام شد. تجزیه و تحلیل بر روی داده‌ها از طریق آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و مقایسه میانگین بین تیمارها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. در ابتدا اطلاعات خام



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

اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند ( $P>0/05$ ).

جدول ۴: 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 <sup>d</sup>	۲/۵۰±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۲/۷۰±۰/۰۹ <sup>b</sup>	۴/۰۸±۰/۰۸ <sup>c</sup>
نسبت کارایی پروتئین (گرم/گرم)		۰/۶۳±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۱/۱۱±۰/۰۳ <sup>c</sup>	۱/۰۰±۰/۰۳ <sup>b</sup>	۰/۶۸±۰/۰۱ <sup>a</sup>

اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند ( $P>0/05$ ).

جدول ۵: مقادیر میانگین و انحراف معیار پارامترهای خونی اندازه‌گیری شده در کپور معمولی تغذیه شده با جیره حاوی گلوکان، لاکتوفرین و سیاه‌دانه به مدت ۶۰ روز

فاکتورهای سلولی	تیمار	گروه یک (شاهد)	گروه دو (گلوکان)	گروه سه (لاکتوفرین)	گروه چهار (سیاه‌دانه)
گلبول قرمز ( $\times 10^6$ تعداد در میلی‌متر مکعب)		۱۱۵۷±۳/۸۰ <sup>a</sup>	۱۲۸۰±۱۰ <sup>b</sup>	۱۱۷۵±۸/۶۶ <sup>a</sup>	۱۱۶۸±۵/۶۶ <sup>a</sup>
هموگلوبین (گرم بر دسی‌لیتر)		۶/۷۰±۰/۱۷ <sup>a</sup>	۷/۳۶±۰/۱۱ <sup>c</sup>	۷/۰۳±۰/۲۷ <sup>b</sup>	۷/۰۳±۰/۱۵ <sup>b</sup>
هماتوکریت (درصد)		۲۹/۶۶±۰/۵۷ <sup>a</sup>	۳۳/۳۳±۰/۵۷ <sup>b</sup>	۳۱/۰۰±۱/۰۰ <sup>a</sup>	۳۰/۳۳±۰/۵۷ <sup>a</sup>
گلبول سفید (تعداد در میلی‌متر مکعب)		۸۸۱۶±۳۵۴ <sup>a</sup>	۱۲۹۰۰±۵۲۹ <sup>c</sup>	۱۰۳۳۳±۲۸۴ <sup>b</sup>	۹۳۵۰±۱۳۳ <sup>a</sup>
لیزوزیم (میکروگرم بر میلی‌لیتر)		۳/۱۹±۰/۰۵ <sup>a</sup>	۵/۳۸±۰/۱۸ <sup>c</sup>	۳/۸۳±۰/۰۷ <sup>b</sup>	۳/۳۰±۰/۱۴ <sup>a</sup>

اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند ( $P>0/05$ ).

#### 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 ( $P<0/05$ ) (جدول ۵) و کم‌ترین مقدار این شاخص نیز به گروه شاهد تعلق داشت. در مورد گلبول سفید نیز بیش‌ترین تعداد ( $12900 \pm 529$ ) 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 نشان داد که در بین تیمارهای آزمایشی بیش‌ترین مقدار ( $7/0 \pm 36/11$  گرم بر دسی‌لیتر) نسبت به

سایر تیمارها مربوط به تیمار گلوکان و کم‌ترین مقدار ( $6/70 \pm 0/17$  گرم بر دسی‌لیتر) به گروه شاهد تعلق داشت و تیمارهای حاوی محرک‌های ایمنی اختلاف معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد از خود نشان دادند ( $P<0/05$ ) (جدول ۵). نتایج حاصل از اندازه‌گیری 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 ( $P<0/05$ ) و کم‌ترین مقدار آن نیز به گروه شاهد تعلق داشت. تیمارهای سیاه‌دانه و لاکتوفرین اختلاف معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد نشان ندادند ( $P>0/05$ ). در بررسی آنزیم لیزوزیم نتایج نشان



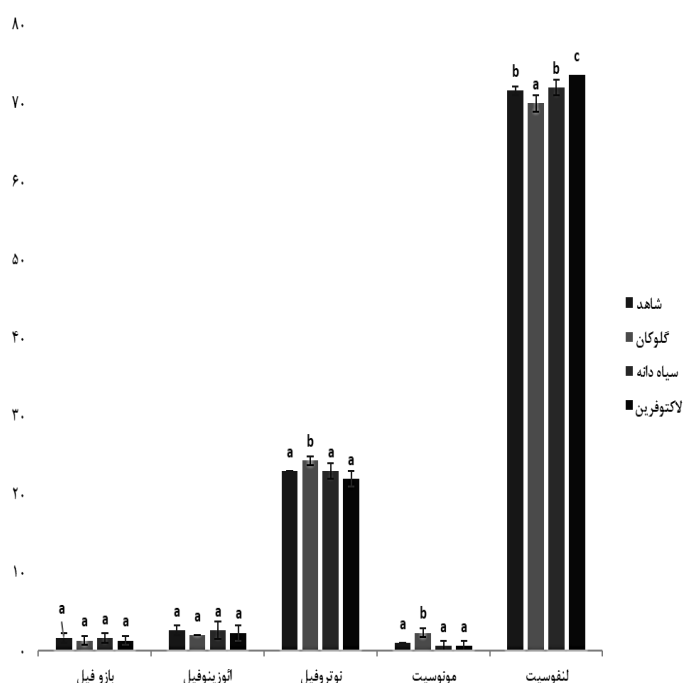
ماهی باس راه راه (*Morone chrysops* \* *M. saxatilis*) تاثیر گذار باشد (Gatlin و Jaramillo, ۲۰۰۴). در واقع علی‌رغم تاثیر مثبت گلوکان در رشد این آبزیان، هنوز دلیل آن مشخص نشده است (Ai و همکاران، ۲۰۰۷). در حالی که تحقیق خدابخش و قبادی (۱۳۹۲) نشان داد که سطوح مختلف مخلوط پریبیوتیک الیگوساکارید و بتا ۱ و ۳ 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. در حالی که در مطالعه Walker و همکاران (۲۰۰۷) پارامترهای رشد ماهی تیلپای 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. هم‌چنین طور اسلاملو و همکاران (۱۳۹۲) اختلاف معنی‌داری در پارامترهای رشد تاس‌ماهی سبیری (*Acipenser baeri*) در اثر استفاده از لاکتوفرین مشاهده نکردند که با نتایج تحقیق جاری هم‌خوانی نداشت.

تفاوت در پاسخ رشد در گونه‌های مختلف می‌تواند به دلیل تفاوت در گونه، سن ماهی، ترکیبات جیره و اثرات متقابل آن‌ها، اختصاصات سیستم گوارشی و شرایط پرورشی نظیر سیستم نگهداری و پارامترهای کمی و کیفی آب باشد. رشد ماهیان وابسته به عوامل زیادی می‌باشد و سایر عوامل تاثیر گذار مانند دما می‌توانند باعث عدم بروز اثرات مثبت لاکتوفرین شوند. هم‌چنین اثر متقابل لاکتوفرین با سایر اجزای جیره و اختصاصات سیستم گوارشی در گونه‌های مختلف روی اثرات لاکتوفرین در رشد تاثیر گذار 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 بزم (*Luciobarbus pectoralis*) به دست آمد.

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

داد که در بین تیمارهای آزمایشی بیش‌ترین مقدار ( $5/0 \pm 38/18$ ) نسبت به سایر تیمارها مربوط به تیمار گلوکان و کم‌ترین مقدار ( $3/19 \pm 0/05$ ) 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 ( $P > 0/05$ ). بیش‌ترین میزان نوتروفیل و مونوسیت به ترتیب با مقادیر  $24/33 \pm 0/57$  درصد و  $2/33 \pm 0/57$  درصد مربوط به تیمار گلوکان بود ( $P < 0/05$ ) (شکل ۱). در حالی که بیش‌ترین میزان لنفوسیت مربوط به تیمار لاکتوفرین بود ( $P < 0/05$ ).



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

همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند که مصرف خوراکی لوامیزول در ماهی کپور معمولی موجب افزایش گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین گشته است.

تعداد گلبول سفید و ترکیب آن یکی از شاخص‌های مهم سلامتی ماهیان بوده و نشان‌دهنده وجود یا عدم وجود عفونت و دیگر عوامل فیزیولوژیک و پاتولوژیک می‌باشد (Klontz, ۱۹۹۴). براساس نتایج به‌دست آمده بیش‌ترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمار گلوکان مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بود. گلوکان از طریق اتصال به گیرنده‌های خاصی روی سطح سلول‌های مونسیت، ماکروفاژ و نوتروفیل بر ایمنی ذاتی اثر می‌گذارد (Muller و همکاران، ۲۰۰۰). بررسی‌ها نشان داده است که تحریک گلبول‌های سفید 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 درصد نوتروفیل و مونسیت اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد داشته است. هم‌چنین در درصد لنفوسیت، گلوکان و لاکتوفیرین 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 (کازمی و همکاران، ۱۳۸۹).

نتایج این تحقیق نشان داد که فعالیت لیزوزیم سرم در تیمارهای گلوکان و لاکتوفیرین 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 لاکتوفیرین افزایش می‌یابد که با نتایج تحقیق جاری هم‌خوانی دارند. آنزیم لیزوزیم فعالیت ضدویروسی داشته و در نتیجه به‌عنوان یک بخش مهم از مکانیزم دفاع غیراختصاصی به‌شمار می‌رود.

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

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 موجود به‌دنبال اعمال استرس محیطی 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، لاکتوفیرین و سیاه‌دانه مقدار ضریب تبدیل غذایی نسبت به گروه شاهد کاهش یافت که البته این کاهش در مورد گلوکان و لاکتوفیرین مشهودتر بود. در واقع محرک‌های ایمنی انتقال فعال اکسیژن از غشای سلول‌ها را تحریک می‌کنند. در نتیجه متابولیسم 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. بررسی فاکتورهای خونی وسیله‌ای مناسب برای سنجش وضعیت سلامتی ماهی می‌باشد و برای بررسی اثرات احتمالی برخی مواد ضدتغذیه‌ای نیز اهمیت دارد (Lin و همکاران، ۲۰۱۱). تغییر در پارامترهای خونی از جمله 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 رهو (*Labeo rohita*) تغذیه شده با مانان الیگوساکارید (محرک ایمنی با منشأ دیواره سلولی مخمر) گزارش نمودند که با نتایج تحقیق جاری هم‌خوانی دارد. هم‌چنین یافته‌های Maqsood و



## منابع

- دوره ۶۶، شماره ۳، صفحات ۲۵۵ تا ۲۶۳.
۱. اسلاملو، خ؛ فلاحتکار، ب؛ یوکویاما، س. و علیزاده، ع. ۱۳۹۲. اثر تغذیه با سطوح مختلف لاکتوفرین گاوی بر عملکرد رشد و فعالیت لایوزیم سرم و موکوس تاس ماهی سبیری جوان (*Acipenser baeri*). مجله دامپزشکی ایران. دوره ۱۲، شماره ۱، صفحات ۵ تا ۱۶.
  ۲. بادزهره، غ؛ سلطانی، م؛ شاه حسینی، غ. ر. و نفیسی بهابادی، م. ۱۳۹۱. تاثیر بتاگلوکان بر رشد و بقا و کارایی واکسن ضد استرپتوکوکوزیس در ماهی قزل آلی رنگین کمان. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۷، شماره ۱، صفحات ۱۱ تا ۱۷.
  ۳. حقیقی، م. ۱۳۸۸. روش‌های آزمایشگاهی خون‌شناسی ماهی. انتشارات علمی آذربان. ۸۳ صفحه.
  ۴. خدابخش، ا. و قبادی، ش. ۱۳۹۲. تاثیر مخلوط پریبیوتیک الیگوساکارید (Mos) و بتا ۱ و ۳ گلوکان بر شاخص‌های رشد بازماندگی و ترکیب لاشه بچه‌ماهی کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon idella*). فصلنامه علوم تکثیر و آبی‌پروری. 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 کپور معمولی (*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 قزل آلی رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss*. مجله دامپزشکی ایران. دوره ۷، شماره ۳، صفحات ۵۷ تا ۶۴.
  ۷. روفجائی، ر؛ حسینی فرد، ح؛ صیادبورانی، م. و مقصودی بهکهن، ح. ۱۳۹۱. بررسی اثرات گلوکان بر ایمنی، پاره‌ای از شاخص‌های خونی و میکروبیوتای روده‌های 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 کپور معمولی. مجله تحقیقاتی دامپزشکی. دوره ۶۴، شماره ۱، صفحات ۴۷ تا ۵۴.
  ۹. ضیایی، ت؛ محری، 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 آبی‌پروری. 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 کپور معمولی. فصلنامه تحقیقات دامپزشکی.
  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 آنروموناتس هیدروفیلا. مجله دامپزشکی ایران. دوره ۶، شماره ۲، صفحات ۲۱ تا ۳۰.
  ۱۳. علیشاهی، م. و مصباح، م. ۱۳۹۱. اثر عصاره دارویش و سیاه‌دانه بر بقاء فاکتورهای رشد و مقاومت در برابر عفونت با آنروموناتس هیدروفیلا در ماهی طلائی. 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 بزم 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 کپور معمولی *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، نرخ‌رشد، بازماندگی و شاخص کبدی در فیل ماهیان جوان پرورشی. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۷۲، صفحات ۹۸ تا ۱۰۳.
  ۱۷. کاظمی، ر؛ پوردهقانی، م؛ یوسفی‌جوردی، ا.؛ یارمحمدی، م. و نصری‌تجن، م. ۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آذربان 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 آلی رنگین کمان *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  $\beta$ -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 *Labeo rohita* fingerlings: Effect of dietary mannan oligosaccharide, yeast extract, protein hydrolysate 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*





- 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)- $\beta$ -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 Lactoferrin 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 niloticus*) and resistance 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, NJ, 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  $\beta$  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 effect 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.** Enzymatic 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).



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 subcomponents. *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.

