

تأثیر محرک ایمنی ماکروگارد و جلبک اسپیرولینا (*Arthrospira platensis*) بر برخی فراسنجه‌های خونی ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus*)

- **عمار صالحی‌فارسانی:** گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- **مهدی سلطانی:** گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
- **ابوالقاسم کمالی*:** گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- **مهدی شمسایی مهرجان:** گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۷

چکیده

اثرات محرک ایمنی ماکروگارد و اسپیرولینا بر برخی پارامترهای خونی ماهی ازون‌برون جوان در این مطالعه مورد سنجش قرار گرفت. این تحقیق با استفاده از یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۳ تکرار، شامل تیمار شاهد (M0S0) که واجد جیره غذایی پایه بدون افزودنی، جیره پایه مکمل شده با ۰/۱ درصد ماکروگارد (M1S0)، جیره پایه مکمل شده با ۰/۱ درصد پودر اسپیرولینا (M0S1)، جیره پایه مکمل شده با ۰/۱ درصد ماکروگارد به همراه ۰/۱ درصد پودر اسپیرولینا (M1S1) و جیره پایه مکمل شده با ۰/۵ درصد ماکروگارد به همراه ۰/۵ درصد پودر اسپیرولینا (M5S5) طراحی شد. تعداد ۷۰۰ عدد ماهیان ازون‌برون (وزن متوسط $87/56 \pm 1/06$ گرم) به مدت ۱۲ هفته با جیره‌های آزمایشی تغذیه شد. در انتهای آزمایش، تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، هماتوکریت (HCT)، میزان رسوب گلبول‌های قرمز (ESR) و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید مورد سنجش قرار گرفت. حداکثر مقادیر WBC و HCT در تیمار M5S5 بود، درحالی‌که حداقل مقدار ESR در این تیمار مشاهده شد ($p < 0/05$). میزان شاخص RBC در تیمار M5S5 نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. حداکثر مقدار جمعیت لنفوسیتی ($75/2 \pm 08/10$ درصد) در تیمار M5S5 مشاهده شد و حداکثر مقدار نوتروفیل‌ها در تیمارهای M1S1 و M5S5 مشاهده شد ($p < 0/05$). بنابراین، استفاده توأم از ماکروگارد و اسپیرولینا هر کدام در سطح ۰/۵ درصد در جیره غذایی ماهی ازون‌برون به طور معنی‌داری سبب بهبود شاخص‌های خونی، جمعیت لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها می‌گردد.

کلمات کلیدی: ازون‌برون، ماکروگارد، اسپیرولینا، شاخص‌های خونی



مقدمه

و Pal، ۲۰۱۵). در مطالعه Adel و همکاران (۲۰۱۶) نشان داده شد که مکمل‌سازی جیره غذایی فیل ماهی (*Huso huso*) پرورشی با ۱۰ درصد اسپیرولینا سبب بهبود عملکرد رشد، تقویت سیستم ایمنی و مقاومت به برخی بیماری‌های باکتریایی می‌گردد. هم‌چنین مکمل‌سازی جیره غذایی ماهی زبرا (*Danio rerio*) با اسپیرولینا جهت دستیابی به بالاترین عملکرد رشد در سطح ۱ درصد پیشنهاد گردید (بیرانوند و همکاران، ۱۳۹۴). هم‌چنین اثرات مفید مکمل‌سازی جیره‌های غذایی کپور معمولی (Watanuki و همکاران، ۲۰۰۶)، تیلاپیای نیل (Ragap و همکاران، ۲۰۱۲)، تاس‌ماهی سبیری (Palmegiano و همکاران، ۲۰۰۵) و گرجه‌ماهی آفریقایی (Promya و همکاران، ۲۰۱۱) با اسپیرولینا بر فاکتورهای رشد و سیستم ایمنی ماهیان گزارش شده است. هدف از این تحقیق، مطالعه اثرات دوزهای مختلف و توأم ماکروگارد و اسپیرولینا بر برخی پارامترهای هماتولوژیک ماهی ازون‌برون جوان پرورشی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

شرایط پرورش و تهیه تیمارهای آزمایشی: این مطالعه در یکی از مزارع استان چهارمحال و بختیاری (مزرعه گرداب فلارد) با منبع آب رودخانه (رودخانه سندیجان) انجام شد. در این مزرعه، ۷۰۰ عدد ماهیان ازون‌برون با وزن متوسط $11/06 \pm 87/56$ گرم جهت انجام آزمایش تهیه شد. برای پرورش، ۱۵ استخر بتنی (حجم ۴۰۰۰ لیتر) و عمق آبگیری ۱۰۰ سانتی با سیستم جریان‌دار آب استفاده شد. دبی آب در هر استخر ۵ لیتر در ثانیه تنظیم شد. در طول آزمایش، شرایط کیفی آب شامل دما، اکسیژن محلول و pH به ترتیب $19/34 \pm 4/14$ درجه سانتی‌گراد، $6/5 \pm 0/75$ میلی‌گرم در لیتر و $7/62 \pm 0/08$ بود. جیره‌های آزمایشی این تحقیق را قالب یک طرح تصادفی تکرار دار شامل ۵ تیمار: شاهد (M0S0) که واجد جیره غذایی پایه (جدول ۱) بدون افزودنی بود، جیره پایه مکمل شده با ۰/۱ درصد ماکروگارد (M1S0) تشکیل داد. جیره پایه مکمل شده با ۰/۱ درصد پودر اسپیرولینا (M0S1)، جیره پایه مکمل شده با ۰/۱ درصد ماکروگارد به همراه ۰/۱ درصد پودر اسپیرولینا (M1S1) و جیره پایه مکمل شده با ۰/۵ درصد ماکروگارد به همراه ۰/۵ درصد پودر اسپیرولینا (M5S5) بود. در هر حوضچه ۴۰ ماهی و هر تیمار واجد ۳ تکرار بود. ماهیان جهت سازگاری با شرایط محیطی جدید دو هفته با جیره پایه تغذیه شدند. ماهیان در ۱۲ هفته، ۴ بار در روز (در ساعت ۲، ۸، ۱۴ و ۲۰)، ۳ درصد از وزن بدن تغذیه شدند. برای آماده‌سازی جیره‌های غذایی، تمام ترکیبات غذایی توسط دستگاه آسیاب پودر شده و به مدت ۲۰ دقیقه با هم مخلوط می‌شوند. سپس مواد افزودنی شامل مکمل و مواد معدنی و ویتامین به مخلوط اضافه شد و در ادامه مکمل‌های ماکروگارد (Biotec Pharmacon،

ماهیان خاویاری به‌عنوان فسیل‌زنده جزء آبیان مهم تجاری در جهان محسوب شده که از لحاظ ارزش گوشت و خاویار جایگاه ویژه و ممتازی در جهان دارند (Bronzi و همکاران، ۱۹۹۹). دریای خزر و رودخانه‌های منتهی به آن بزرگ‌ترین ذخیره طبیعی تاس‌ماهیان جهان بوده و ازون‌برون (*Acipenser stellatus*) یکی از انواع این گونه ماهیانی است که متأسفانه به دلایل شرایط نامناسب زیست‌محیطی و صید بی‌رویه ذخایر طبیعی آن‌ها در معرض خطر است (Pourkazemi، ۲۰۰۶). در حال حاضر تولید تاس‌ماهیان از طریق فعالیت‌های آبی‌پروری از اهمیت بالایی جهت حفظ ذخایر طبیعی و تأمین پروتئین انسانی برخوردار است (Shahsavani و همکاران، ۲۰۱۰؛ Adel و همکاران، ۲۰۱۶). در سال‌های اخیر، استفاده از مواد شیمیایی پرخطر و آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت آبی‌پروری به علت نگرانی‌های بهداشتی و زیست‌محیطی، در بسیاری از کشورها محدود شده است و این محدودیت موجب تقاضا برای مواد جایگزین طبیعی جهت تولید پایدار آبیان و افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها مطرح شده است (Soltani و همکاران، ۲۰۱۸). ماهیان در شرایط پرورش و تراکم در برابر بسیاری از عوامل بیماری‌زای فرصت طلب آسیب‌پذیر بوده و در نتیجه تقویت سیستم ایمنی اختصاصی و غیرا اختصاصی آن‌ها توسط مواد محرک ایمنی به‌عنوان یک عامل پیشگیرانه نقش مهمی در صنعت آبی‌پروری پایدار ایفا می‌نماید (Stet و همکاران، ۲۰۰۳؛ Soltani و همکاران، ۲۰۱۸). پلی‌ساکاریدها استخراج شده از منابع مختلف، قابلیت ارتقاء سیستم ایمنی حیوانات را داشته و از لحاظ علم داروشناسی به‌عنوان اصلاح‌کننده‌های واکنش بیولوژیک شناخته می‌شوند (Aramli و همکاران، ۲۰۱۵). در این میان ماده تجاری ماکروگارد به‌لحاظ وجود ترکیبات گلوکانی که از دیواره سلولی مخمر ساکارومایسس سرویزیه استخراج می‌شود به‌عنوان محرک ایمنی در آبی‌پروری کاربرد وسیعی دارد (Meena و همکاران، ۲۰۱۳). مطالعات متعددی بیانگر اثرات مثبت ماکروگارد (بتاگلوکان) در دوزهای مختلف بر سیستم ایمنی، فراسنجه‌های خونی و عملکرد رشد گونه‌های مختلف ماهی بوده که می‌توان به ماهی اسکار (یزدی و همکاران، ۱۳۹۳)، ماهی باس دریایی (Bagni و همکاران، ۲۰۰۵)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (Badzohreh و همکاران، ۲۰۱۲؛ Douxfils و همکاران، ۲۰۱۷)، قره‌برون (Aramli و همکاران، ۲۰۱۵) و کپور ماهیان (Falco و همکاران، ۲۰۱۲؛ Pionnier و همکاران، ۲۰۱۳؛ Pionnier و همکاران، ۲۰۱۴) اشاره نمود. ریزجلبک اسپیرولینا (*Arthrospira platensis*) از سیانوباکترها به دلیل سرشار بودن از مواد مغذی ضروری مثل پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی، کاروتنوئیدها و اسیدلینولئیک به‌عنوان یک مکمل غذایی با ارزش در صنعت آبی‌پروری شناخته شده است (Roy

میخک (۱۵۰ میلی گرم در لیتر) از سیاهرگ دمی با قطع ساقه دمی خونگیری شدند. سپس پارامترهای تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) و هماتوکریت (HCT) در نمونه‌های خون غیرهمپارینه ماهیان تعیین شدند (Cardiff و همکاران، ۲۰۱۴). میزان سرعت رسوب گلبول‌های قرمز (ESR) در لوله آزمایش به مدت یک ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد (McCarthy و همکاران، ۱۹۷۳). هم‌چنین تشخیص افتراقی گلبول‌های سفید شامل مونوسیت، لنفوسیت، ائوزینوفیل و نوتروفیل پس از رنگ‌آمیزی (گیمسا ۱۰ درصد) نمونه‌های گسترش خون زیر میکروسکوپ نوری با کمک لام نئوبار در نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت (Klontz, ۱۹۹۴).

تجزیه و تحلیل آماری: برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ و از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ جهت دسته‌بندی و کشیدن نمودارها استفاده شد. پس از نرمال‌سازی داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف، آنالیز آماری داده‌ها با تجزیه واریانس یک‌طرفه انجام شد. میانگین داده‌ها با آزمون چندگانه (دانکن) در سطح ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج

با توجه به جدول ۲، حداکثر مقادیر WBC و HCT در تیمار M5S5 بود، در حالی که حداقل مقدار ESR در این تیمار مشاهده شد ($p < 0.05$). هم‌چنین به جز تیمار M5S5 در خصوص شاخص‌های RBC و HCT تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت ($p > 0.05$). میزان شاخص RBC در تیمار M5S5 نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت.

(Norway) و پودر اسپیرولینا (شرکت زیست پالایشگاه ریزجلبک قشم) با توجه به مقدار مورد نیاز در هر تیمار به جیره پایه اضافه شدند و برای مدت ۱۵ دقیقه مخلوط شدند. سپس، با استفاده از یک چرخ گوشت با قطر ۶ میلی‌متر چرخ شده و زیر سایه به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. جیره‌های غذایی ساخته شده در پلاستیک‌های پلی‌اتیلنی سیاه قرار داده شده و تا زمان مصرف در فریز ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جیره‌های آزمایشی براساس نیاز ماهیان به صورت هفتگی تولید می‌شدند. یک ساعت قبل از توزیع غذا، جیره‌های غذایی در دمای اتاق نگهداری شدند.

جدول ۱: اجزاء و ترکیبات تقریبی جیره پایه استفاده شده

اجزاء	سهم (درصد)
پودر ماهی کیلکا	۴۶
آرد گندم	۱۹
پودر شیر خشک	۶
کنجاله سویا	۱۱
کنجاله ذرت	۷
روغن ماهی	۵
همبند	۲
مخلوط ویتامین و مواد معدنی	۴

ترکیبات تقریبی	مقدار (درصد)
رطوبت	۰/۲۰±۱۰/۲۰
پروتئین	۰/۸۰±۴۵/۰۰
چربی	۰/۱۱±۱۳/۳۰
خاکستر	۵/۰۶±۲۱/۳۰
فیبر	۰/۲۰±۱۰/۲۰

اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی: پس از گذشت ۱۲ هفته از دوره پرورش از هر استخر ۴ عدد ماهی پس از بی‌هوشی در پودر گل

جدول ۲: میانگین (± انحراف معیار) پارامترهای خونی ماهیان ازون‌برون تغذیه شده با سطوح مختلف ماکروگارد و اسپیرولینا

جیره‌های آزمایشی					پارامترهای خونی
M5S5	M1S1	M1S0	M0S1	M0S0	
۵۵۲۰۰/۸۴±۴۹۳۵/۷۸ ^a	۵۰۲۰۰/۹۱±۵۶۴۱/۲۳ ^b	۴۹۲۸۰/۲۱±۴۲۳۵/۶۵ ^b	۴۸۹۰۶/۵۶±۴۸۲۶/۴۲ ^b	۴۶۷۶۳/۱۳±۵۲۱۳/۸۹ ^b	WBC (No./mm ³)
۱۳۱۵۸۴۲/۷۶±۵۱۲۸۰/۳۲ ^a	۱۱۱۵۷۶۱/۳۵±۶۶۱۳۷/۹۸ ^b	۱۱۱۴۶۲۱/۸۹±۵۶۱۰۳/۷۴ ^b	۱۰۸۵۶۴۱/۵۹±۷۲۲۰۰/۶۵ ^b	۱۰۶۵۳۳۱/۱۲±۵۴۶۷۵/۱۲ ^b	RBC (No./mm ³)
۶/۳۲±۰/۷۹ ^c	۸/۲۱±۰/۶۸ ^b	۸/۳۶±۰/۴۹ ^b	۱۰/۶۷±۱/۰۱ ^a	۱۱/۳۶±۰/۹۱ ^a	ESR (mm/h)
۲۵/۱۲±۱/۱۸ ^a	۲۳/۳۱±۰/۷۸ ^b	۲۲/۲۹±۱/۵۳ ^b	۲۳/۴۷±۱/۰۹ ^b	۲۱/۲۵±۱/۰۶ ^b	HCT (%)

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($n=3$, $p < 0.05$)

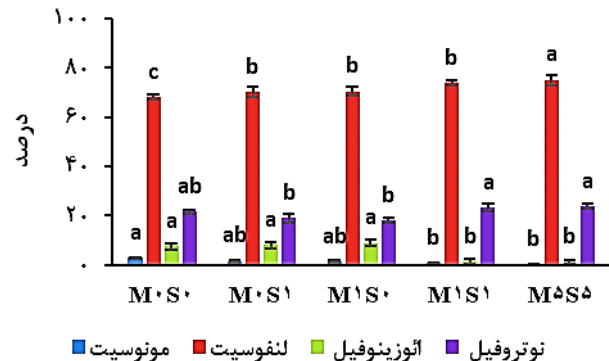
در تیمار M5S5 مشاهده شد. هم‌چنین، حداکثر مقدار نوتروفیل در تیمارهای M5S5 و M1S1 مشاهده شد. در حالی که حداقل مقادیر ائوزینوفیل و مونوسیت در این تیمارها دیده شد ($p < 0.05$).

مقادیر تشخیص افتراقی گلبول‌های سفید ماهیان ازون‌برون تغذیه شده با سطوح مختلف ماکروگارد و اسپیرولینا در شکل ۱ نشان داده شده است. حداکثر مقدار جمعیت لنفوسیتی (۷۵/۲±۰/۸/۱۰ درصد)



بنابراین حداقل بودن این شاخص در تیمار M5S5 نشان از کاهش میزان سدیمان‌تاسیون گلبول‌های قرمز از طریق مقاومت به استرس، بهبود عملکرد کبد و سیستم ایمنی می‌شود. در همین راستا Talpur و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که بچه‌ماهیان سرماری (*Channa striata*) تغذیه شده با ۰/۱ درصد بتا گلوکان به مدت ۱۲ هفته از مقادیر پایین‌تر ESR نسبت به تیمار شاهد برخوردار بوده که کاهش مقدار ESR کاهش خطر ابتلا به عفونت و التهاب در ماهیان ذکر شده است.

میزان جمعیت گلبول‌های سفید و لنفوسیت‌ها در تیمار M5S5 نسبت به سایر تیمارها حداکثر بود. هم‌سو با این نتایج، Entezar- yazdi و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند مصرف ماکروگارد موجب بهبود برخی شاخص‌های ایمنی و جمعیت لکوسیتی در ماهی اسکار می‌گردد. هم‌چنین Badzohreh و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که استفاده از ۱ گرم در کیلوگرم غذا ماکروگارد در جیره غذایی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به مدت ۴۲ روز سبب افزایش معنی‌دار جمعیت گلبول‌های سفید و میان لیزوزیم سرم خون می‌شود. افزایش جمعیت لنفوسیت‌ها احتمالاً به دلیل بیان بیش‌تر لنفوکین‌ها می‌باشد (Peddie و همکاران، ۲۰۰۲). سلطانی و همکاران (۱۳۹۶) نشان دادند ۱/۵ گرم در کیلوگرم غذا ماکروگارد در جیره غذایی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب ارتقاء کارایی واکسن دوگانه استریتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس از طریق تحریک و تقویت سیستم ایمنی گردید. هم‌سو با نتایج این تحقیق، Ai و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که تغذیه ماهیان انگشت‌قد شوریده زرد بزرگ جثه (*Pseudosciaena crocea*) در سطوح ۲۵۰ و ۵۰۰ گرم بر کیلوگرم ماکروگارد سبب افزایش تعداد گلبول‌های سفید و غلظت لیزوزیم می‌گردد. نوتروفیل‌ها در تیمارهای واجد اسپیرولینا و ماکروگارد به صورت توأم نسبت به سایر تیمارها حداکثر بود. تحقیق مشابه‌ای به بیان جمعیت حداکثری نوتروفیل‌ها در ماهیان باس دریایی تغذیه شده با سطوح مختلف ماکروگارد پرداخته و گزارش شده احتمالاً افزایش جمعیت نوتروفیلی به دلیل افزایش فعالیت بیگانه‌خواری و انفجار تنفسی بوده است (Bagni و همکاران، ۲۰۰۵). به‌طور مشابه، افزودن ۱۰ درصد پودر اسپیرولینا در جیره غذایی فیل‌ماهی توانست برخی شاخص‌های خونی، ایمنی و مقاومت به بیماری را به‌طور معنی‌داری افزایش دهد (Adel و همکاران، ۲۰۱۶). هم‌چنین Kim و همکاران (۲۰۱۳) گزارش دادند که مکمل غذایی اسپیرولینا در سطح ۳ درصد می‌تواند ایمنی ذاتی کفشک ماهی روغنی را از طریق افزایش جمعیت لوکوسیتی و فعالیت لیزوزیم افزایش دهد. در حقیقت مکمل ماکروگارد به‌واسطه ترکیبات گلوکانی با اثرگذاری بر سلول‌های دفاعی به‌ویژه ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها موجب ازدیاد و تکثیر آن‌ها شده که به‌دنبال آن ترکیبات ترشحی توسط این سلول‌ها مانند اینترلوکین‌ها، سیتوتوکسین‌ها و واکنش‌های ایمنی مثل فاگوسیتوزیس



شکل ۱: تشخیص افتراقی گلبول‌های سفید ماهیان از برون تغذیه شده با سطوح مختلف ماکروگارد و اسپیرولینا

آنتنک‌ها نشان‌دهنده انحراف معیار بوده و حروف غیرمشابه در هر گروه آزمایشی نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد (n=3, p<0/05)

بحث

یکی از اهداف اصلی ارزی‌پروری تولید مواد غذایی سالم و حفظ ذخایر طبیعی آبیان است و هدف اصلی مطالعات تغذیه‌ای تبدیل خوراک به گوشت در یک بازه زمانی کوتاه با سود و مزایای اقتصادی بالا است (Song و همکاران، ۲۰۱۴). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده توأم از ماکروگارد و اسپیرولینا شاخص‌های هماتولوژی را در ماهی از برون بهبود می‌بخشد.

شاخص‌های خونی در ماهیان به‌عنوان یک شاخص مهم، وضعیت فیزیولوژیک اندام‌های داخلی را روشن ساخته و به‌عبارت دیگر، آنالیز فراسنجه‌های خونی به‌عنوان شاخص زیستی مناسب برای ارزیابی وضعیت سلامت ماهیان در پاسخ به شرایط محیطی مختلف شناخته شده است (Varadarajan و همکاران، ۲۰۱۴). در این مطالعه شاخص‌های مقادیر HCT و RBC در تیمار واجد M5S5 نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری یافت. از آن‌جا که میزان هماتوکریت وابسته به تعداد و اندازه سلول‌های قرمز خونی است، تغییر در اندازه و تعداد سلول‌های قرمز خونی موجب تغییر در میزان هماتوکریت می‌شود و به‌عبارت دیگر هرچه تعداد و اندازه سلول‌های قرمز بیشتر شود، میزان هماتوکریت بیشتر می‌شود (Siwicki و همکاران، ۲۰۱۰). در نتیجه مکمل ماکروگارد و اسپیرولینا توانست از طریق تحریک تولید گلبول‌های قرمز در بدن کارایی بدن را در مواجهه با شرایط نامطلوب محیطی مثل کاهش اکسیژن محلول بالا ببرد.

دلایل متعددی باعث بالارفتن ESR در بدن شده اما در ماهیان گزارش شده بالارفتن این شاخص به‌دلیل ترشح پروتئین‌های خاصی از کبد و سیستم ایمنی و در نهایت چسبیدن گلبول‌های قرمز به هم و رسوب آن‌ها در زمان مواجهه با استرس و التهاب است (John، ۲۰۰۷).

- Veterinary Research. Vol. 67, No. 1, pp: 11-17.
۹. **Bagni, M.; Romano, N.; Finoia, M.G.; Abelli, L.; Scapigliati, G.; Tiscar, P.G. and Marino, G., 2005.** Short and long-term effects of a dietary yeast β -glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Fish & Shellfish Immunology. Vol. 18, No. 4, pp: 311-325.
 ۱۰. **Bronzi, P.; Rosenthal, H.; Arlati, G. and Williot, P., 1999.** A brief overview on the status and prospects of sturgeon farming in Western and Central Europe. Journal of Applied Ichthyology. Vol. 15, No. 4-5, pp: 224-227.
 ۱۱. **Cardiff, R.D.; Miller, C.H. and Munn, R.J., 2014.** Manual hematoxylin and eosin staining of mouse tissue sections. Cold Spring Harbor protocols. Vol. 6, pp: 655-658.
 ۱۲. **Douxflis, J.; Fierro-Castro, C.; Mandiki, S.N.M.; Emile, W.; Tort, L. and Kestemont, P., 2017.** Dietary β -glucans differentially modulate immune and stress-related gene expression in lymphoid organs from healthy and *Aeromonas hydrophila*-infected rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish & Shellfish Immunology. Vol. 63, pp: 285-296.
 ۱۳. **Entezar-yazdi, M.; Soltani, M.; Mirzaie, R. and Rajabi Islami, H., 2014.** Effect of β -glucan (Macrogard) on immune parameters of Oscar (*Astronotus ocellatus*). Journal of Fisheries Science and Technology. Vol. 3, No. 2, pp: 90-96.
 ۱۴. **Falco, A.; Frost, P.; Miest, J.; Pionnier, N.; Irnazarow, I. and Hoole, D., 2012.** Reduced inflammatory response to *Aeromonas salmonicida* infection in common carp (*Cyprinus carpio* L.) fed with β -glucan supplements. Fish & Shellfish Immunology. Vol. 32, No. 6, pp: 1051-1057.
 ۱۵. **John, P.J., 2007.** Alteration of certain blood parameters of freshwater teleost *Mystus vittatus* after chronic exposure to Metasystox and Sevin. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 33, pp: 15-20.
 ۱۶. **Kim, S.S.; Rahimnejad, S.; Kim, K.W. and Lee, K.J., 2013.** Partial replacement of fish meal with *Spirulina pacifica* in diets for parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. Vol. 13, No. 2, pp: 197-204.
 ۱۷. **Klontz, G.W., 1994.** Fish hematology. In: Techniques in fish immunology. Stolen, J.S.; Flecher, T.C.; Rowley, A.F.; Zelikoff, T.C.; Kaattari, S.L. and Smith, S.A., (eds), SOS Publications, USA, ISBN: 0962550582, Vol. 2, pp: 121-132.
 ۱۸. **McCarthy, D.H.; Stevenson, J.P. and Roberts, M.S., 1973.** Some blood parameters of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) I. The Kamloops variety. Journal of fish Biology. Vol. 5, No. 1, pp: 1-8.
 ۱۹. **Meena, D.K.; Das, P.; Kumar, S.; Mandal, S.C.; Prusty, A.K.; Singh, S.K. and Mukherjee, S.C., 2013.** Beta-glucan: an ideal immunostimulant in aquaculture (a review). Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 39, No. 3, pp: 431-457.
 ۲۰. **Palmegiano, G.B.; Agradi, E.; Forneris, G.; Gai, F.; Gasco, L.; Rigamonti, E. and Zoccarato, I., 2005.** Spirulina as a nutrient source in diets for growing sturgeon (*Acipenser baeri*). Aquaculture Research. Vol. 36, No. 2, pp: 188-195.
 ۲۱. **Peddie, S.; Zou, J. and Secombes, C.J., 2002.** Immunostimulation in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following intraperitoneal administration of Ergosan. Veterinary Immunology and Immunopathology. Vol. 86, pp: 101-13.
 ۲۲. **Pionnier, N.; Falco, A.; Miest, J.J.; Shrive, A.K. and Hoole, D., 2014.** Feeding common carp *Cyprinus carpio* with β -glucan supplemented diet stimulates C-reactive protein and complement immune acute phase responses following PAMPs injection. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 39, No. 2, pp: 285-295.
- افزایش یافته و در نهایت سیستم ایمنی ماهیان تقویت خواهد شد (Badzohreh و همکاران، ۲۰۱۲؛ Russo و همکاران، ۲۰۰۶). از طرفی اسپیرولینا نیز به عنوان یک محرک ایمنی در ماهیان مختلف مانند تیلاپپای نیل (Abdel-Tawwab و Ahmad، ۲۰۰۹)، طوطی ماهی (*Oplegnathus fasciatus*) (Kim و همکاران، ۲۰۱۳) و فیلم ماهی (Adel و همکاران، ۲۰۱۶) شناخته شده است.
- نتایج این مطالعه نشان داد که مکمل سازی توأم جیره غذایی ماهی ازون برون با ۰/۵ درصد ماکروگارد و ۰/۵ درصد پودر اسپیرولینا موجب اثرگذاری معنی دار مثبتی در شاخص های خونی و ارتقاء واکنش های ایمنی غیراختصاصی می گردد.

منابع

۱. **بیرانوند، م.؛ قائمی، م. و ولایت زاده، م.، ۱۳۹۴.** تأثیر مکمل جلبک اسپیرولینا (*Spirulina sp.*) بر رشد و تغذیه ماهی زبرا دانیو (*Danio rerio*). یافته های نوین در علوم زیستی. دوره ۲، شماره ۳، صفحات ۲۰۷ تا ۲۱۵.
۲. **سلطانی، م.؛ امامی، ع.؛ طاهری میرقائد، ع.؛ مغانی قهرمانلو، م. و شهبازی، م.، ۱۳۹۶.** تأثیر محرک ایمنی ماکروگارد بر کارایی واکسن دوگانه لاکتوکوکوزیس/استرپتوکوکوزیس در بچه ماهیان قزل آلابی رنگین کمان. نشریه توسعه آبی پروری. دوره ۱۱، شماره ۲، صفحات ۶۱ تا ۶۷.
۳. **یزدی، م.؛ سلطانی، م.؛ میرزایی، ر. و رجبی اسلامی، ه.، ۱۳۹۳.** اثر بتاگلوکان (ماکروگارد) بر برخی از شاخص های ایمنی ماهی اسکار (*Astronotus ocellatus*). دوره ۹، شماره ۳، صفحات ۸۷ تا ۹۲.
۴. **Abdel-Tawwab, M.; Abdel-Rahman, A.M. and Ismael, N.E., 2008.** Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture. Vol. 280, No. 1-4, pp: 185-189.
۵. **Adel, M.; Yeganeh, S.; Dadar, M.; Sakai, M. and Dawood, M.A., 2016.** Effects of dietary *Spirulina platensis* on growth performance, humoral and mucosal immune responses and disease resistance in juvenile great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1754). Fish & Shellfish Immunology. Vol. 56, pp: 436-444.
۶. **Ai, Q.; Mai, K.; Zhang, L.; Tan, B.; Zhang, W.; Xu, W. and Li, H., 2007.** Effects of dietary β -1, 3 glucan on innate immune response of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. Fish & Shellfish Immunology. Vol. 22, No.4, pp: 394-402.
۷. **Aramli, M.S.; Kamangar, B. and Nazari, R.M., 2015.** Effects of dietary β -glucan on the growth and innate immune response of juvenile Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. Fish & Shellfish Immunology. Vol. 47, No. 1, pp: 606-610.
۸. **Badzohreh, G.R.; Soltani, M.; Hoseini, G.R.S. and Bahabadi, M.N., 2012.** Effects of β -glucan on the growth, survival, and the efficacy of anti-Streptococcus iniae vaccine in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). Journal of



۲۳. **Pionnier, N.; Falco, A.; Miest, J.; Frost, P.; Irnazarow, I.; Shrive, A. and Hoole, D., 2013.** Dietary β -glucan stimulate complement and C-reactive protein acute phase responses in common carp (*Cyprinus carpio*) during an *Aeromonas salmonicida* infection. *Fish and Shellfish Immunology*. Vol. 34, No. 3, pp: 819-831.
۲۴. **Pourkazemi, M., 2006.** Caspian Sea sturgeon conservation and fisheries: past present and future. *Journal of Applied Ichthyology*. Vol. 22, No. 1, pp: 12-16.
۲۵. **Promya, J. and Chitmanat, C., 2011.** The effects of *Spirulina platensis* and *Cladophora* algae on the growth performance, meat quality and immunity stimulating capacity of the African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*). *International Journal of agriculture and Biology*. Vol. 13, No. 1, pp: 77-82.
۲۶. **Ragap, H.M.; Khalil, R.H. and Mutawie, H.H., 2012.** Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on tilapia *Oreochromis niloticus*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Vol. 2, No. 2, pp: 26-31.
۲۷. **Roy, S.S. and Pal, R., 2015.** Microalgae in aquaculture: a review with special references to nutritional value and fish dietetics. In *Proceedings of the Zoological Society*. Vol. 68, No. 1, pp: 1-8.
۲۸. **Russo, R.; Mitchell, H. and Yanong, R.P., 2006.** Characterization of *Streptococcus iniae* isolated from ornamental cyprinid fishes and development of challenge models. *Aquaculture*. Vol. 256, No. 1-4, pp: 105-110.
۲۹. **Shahsavani, D.; Mohri, M. and Kanani, H.G., 2010.** Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus* Pallas. *Fish Physiology and Biochemistry*. Vol. 36, No. 1, pp: 39-43.
۳۰. **Siwicki, A.K.; Anderson, D.P. and Rumsey, G.L., 1994.** Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. Vol. 41, No. 1-2, pp: 125-139.
۳۱. **Soltani, M.; Lymbery, A.; Song, S.K. and Hosseini Shekarabi, P., 2018.** Adjuvant effects of medicinal herbs and probiotics for fish vaccines. *Reviews in Aquaculture*. <https://doi.org/10.1111/raq.12295>
۳۲. **Song, S.K.; Beck, B.R.; Kim, D.; Park, J.; Kim, J.; Kim, H.D. and Ringø, E., 2014.** Probiotics as immunostimulants in aquaculture: a review. *Fish and Shellfish Immunology*. Vol. 40, No. 1, pp: 40-48.
۳۳. **Stet, R.J.; Kruiswijk, C.P. and Dixon, B., 2003.** Major histocompatibility lineages and immune gene function in teleost fishes: the road not taken. *Critical Reviews in Immunology*. Vol. 23, No. 5-6, pp: 441-471.
۳۴. **Talpur, A.D.; Munir, M.B.; Mary, A. and Hashim, R., 2014.** Dietary probiotics and prebiotics improved food acceptability, growth performance, haematology and immunological parameters and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in snakehead (*Channa striata*) fingerlings. *Aquaculture*. Vol. 426, pp: 14-20.
۳۵. **Varadarajan, R.; Sankar, H.S.; Jose, J. and Philip, B., 2014.** Sublethal effects of phenolic compounds on biochemical, histological and ionoregulatory parameters in a tropical teleost fish *Oreochromis mossambicus* (Peters). *International Journal of Scientific and Research Publication*. Vol. 4, No. 3, pp: 2250-3153.
۳۶. **Watanuki, H.; Ota, K.; Tassakka, A.C.; Kato, T. and Sakai, M., 2006.** Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*. Vol. 258, No. 1-4, pp: 157-163.

