

تأثیر سطوح مختلف مولتی آنزیم کمبو بر شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان سفید (*Rutilus kutum*)

چکیده

ماهی سفید (*Rutilus kutum*) مهم‌ترین و اقتصادی‌ترین ماهی استخوانی آب‌های ایرانی دریای خزر می‌باشد. بازماندگی و ارتقاء ایمنی آن همواره از مسائل مهم تکثیر و حفظ ذخایر این گونه بوده است. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی تأثیر مولتی آنزیم کمبو بر فاکتورهای خونی و ایمنی بچه ماهی سفید صورت گرفته است. این تحقیق بر پایه‌ی طرح کاملاً تصادفی با ۳۴۰ قطعه بچه ماهی سفید با متوسط وزن $83/2 \pm 0/11$ گرم پایه‌ریزی و اجرا شد. بدین منظور یک گروه شاهد بدون افزودن مولتی آنزیم و ۳ گروه جیره غذا متفاوت از لحاظ سطوح مختلف مولتی آنزیم (۰، ۱، ۵، ۲ گرم بر کیلوگرم مولتی آنزیم کمبو در هر کیلو غذا) با ۳ تکرار مورد استفاده قرار گرفت. بچه ماهیان با تراکم ۳۰ عدد در مترمکعب در شش مخزن فایبرگلاس رهاسازی و به مدت ۸ هفته و روزانه به میزان ۱۰ درصد وزن بدن تغذیه شدند. شاخص‌های خونی شامل تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و نوتروفیل و فاکتورهای ایمنی شامل: لیزوزیم، ایمنوگلوبولین M (IgM) و کمپلمان ۵۰ (ACH50) در پایان دوره مورد سنجش قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که با افزودن مولتی آنزیم کمبو این عوامل روند افزایشی داشته ($P < 0/05$) اما برخی از اندیس‌های خونی نظیر MCHC، MCH، MCV فاقد اختلاف معنی‌دار آماری در بین گروه‌های آزمایشی بوده‌اند. همچنین نتایج نشان دادند که افزودن مولتی آنزیم کمبو در سطح ۱/۵ گرم در کیلوگرم جیره، باعث بهبود شاخص‌های خونی و ایمنی اختصاصی و غیر اختصاصی در بچه ماهیان سفید شده است کمی تواند در تغذیه بچه ماهیان سفید مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: ماهی سفید (*Rutilus kutum*)، مولتی آنزیم کمبو، شاخص‌های خونی، ایمنی.

کیمیا بازرگان پور^۱

محمدرضا رحیمی بشر^{۲*}

عباسعلی زمینی^۳

۱، ۲. گروه زیست‌شناسی دریایی، دانشکده علوم،

واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

۳. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، واحد

لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

* مسئول مکاتبات:

Rahimibashar@liau.ac.ir

کد مقاله: ۱۳۹۶۰۴۰۵۵۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۰۳

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی

ارشد است.

مقدمه

۱۲۶ گونه ماهی استخوانی در دریای خزر زندگی می‌کند (CEP, 1998)؛ که از این تعداد به‌جز کیلکا ماهیان، فقط ۱۶ گونه مورد توجه صیادان بوده که عمدتاً از خانواده کپور ماهیان هستند و برای تولیدمثل وابسته به آب شیرین بوده و به رودخانه‌های حوزه جنوبی دریای خزر مهاجرت می‌کنند (Najafabad et al., 2016). ماهی سفید نیز گونه‌ای رود کوچ بوده (Berg, 1962) و از اوایل اسفند تا اواخر اردیبهشت وقتی دمای

آب ۱۲ تا ۱۸ درجه سانتی‌گراد است، به رودخانه‌ها مهاجرت کرده و پس از تخم‌ریزی دوباره به دریا برمی‌گردد (Heidari, 2010). این گونه بیشتر در آب‌های ایرانی دریای خزر صید می‌شود و در نواحی شمالی و رودخانه ولگا بندرت دیده شده است (ولی‌پور و خانی‌پور، ۱۳۹۴). نابودی و آلودگی مناطق تخم‌ریزی، صید بی‌رویه، صید زیر سن بلوغ و صید مولدین در مصب رودخانه‌ها عواملی بوده که به شدت ذخایر این گونه را در دریای خزر تهدید کرده است، به این دلیل هر ساله مراکز تکثیر و پرورش شیلاتی جهت بازسازی ذخایر این ماهی با استفاده از تکثیر مصنوعی بیش از ۱۰۰ میلیون بچه ماهی با وزن حدود ۱ تا ۳ گرم در رودخانه‌های منتهی به حوضه جنوبی دریای خزر رهاسازی می‌کنند (کمالی نجف‌آباد و همکاران، ۱۳۹۵). تغذیه یکی از اساسی‌ترین محدودیت‌ها و عاملی پرهزینه در پرورش گونه‌ها و یا رهاسازی در محیط‌های طبیعی می‌باشد. لذا با آگاهی از نیازمندی‌های تغذیه‌ای بچه ماهی سفید و استفاده از انواع مواد مغذی و مکمل‌های غذایی مرغوب که در بالا بردن سطح سیستم ایمنی از جمله IgM (ایمونوگلوبولین) و لیزوزیم به‌عنوان شاخص‌های ایمنی اختصاصی نقش دارند، شاید بتوان تا حد زیادی باعث افزایش درصد بازگشت شیلاتی این ماهی شد. یکی از راهکارهای مناسب برای استفاده بهینه ماهیان از غذای مصرفی و افزایش کارایی تغذیه‌ای استفاده از مکمل‌های آنزیم در جیره آن‌ها می‌باشد (Ravindran and son, 2011). اولین آزمایش‌ها افزودن آنزیم در غذا در سال ۱۹۲۵ انجام گرفته است (Rosen, 2002). بر طبق تحقیقات گذشته افزودن مکمل فیتاز به جیره غذایی سبب بهبود قابلیت هضم و افزایش مقدار مواد معدنی در ماهیان می‌شود (Li and Robinson, 1997; Rodehutsord and Pfeffer, 1995). همچنین Jackson و همکاران (۱۹۹۶) استفاده از فیتاز میکروبی به‌عنوان جیره در گربه‌ماهی کانال باعث افزایش شاخص‌های ایمنی و رشد در این ماهیان شده است. Hu و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی اثرات گلوتامین بر فاکتورهای ایمنی در ماهی کپور معمولی پرداختند و طبق نتایجی که به دست آوردند استفاده از گلوتامین در جیره ماهی کپور معمولی باعث افزایش سیستم ایمنی از جمله لیزوزیم و IgM در ماهیان شده است.

کمبو یکی از مولتی آنزیم‌های تجاری است که دارای عملکرد چهارگانه بوده و به خاطر داشتن آنزیم امیلاز، زایلاناز، بتاگلوکاناز و سلولاز هضم پذیری انواع کربوهیدرات‌های موجود در جیره را بالا برده و در نتیجه تولید انرژی برای انجام فعالیت‌ها را بیشتر خواهد نمود و همچنین بازدارنده‌های تریپسین، کموتریپسین، ساپونین و لیکتین که جزء مواد ضد تغذیه‌ای هستند و با اتصال به آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین و با کمک به سیستم گوارشی ماهی، قابلیت هضم پروتئین جیره را افزایش می‌دهند (Bedford, 2002).

تحقیقات در خصوص مولتی آنزیم کمبو و اثرات آن در سیستم ایمنی کپور ماهیان بسیار محدود است. تحقیق حاضر باهدف بررسی اثرات سطوح متفاوت مولتی آنزیم کمبو در جیره غذایی بچه ماهیان سفید به‌منظور بهبود فاکتورهای خونی، سیستم ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی و میزان بقاء این ماهیان برای اولین بار در ایران صورت پذیرفت. همچنین این تحقیق برای رهاسازی بچه ماهیان با اوزان بالا به‌منظور افزایش بازگشت شیلاتی آن‌ها و افزایش مقاومت ماهیان در برابر استرس و شرایط محیطی در طول دوره پرورش و باهدف کم کردن میزان غذای مصرفی انجام پذیرفت با توجه به اینکه قبلاً افزودن کمبو در پرورش طیور بسیار مؤثر واقع شد (نوبخت و همکاران، ۱۳۹۴). فرضیات ما این بوده که افزودن این مولتی آنزیم در جیره غذای ماهی سفید نیز می‌تواند اثرات مشابهی را به همراه داشته باشد. تا در نهایت نتایج آن باعث رهاسازی بچه ماهیان باکیفیت ایمنی و بازماندگی بهتر شده و برای مرکز تکثیر و پرورش ماهیان مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۴ در کارگاه تکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت به مدت ۶۰ روز انجام شد. بدین منظور بچه ماهیان سفید مورد نیاز با میانگین وزنی $0.11 \pm 2/83$ گرم حاصل از تکثیر مصنوعی انتخاب و در شرایط مناسب به‌وسیله مخزن‌های مخصوص انتقال یافتند. ۶ مخزن فایبرگلاس به حجم ۲ مترمکعب به‌وسیله توری به ۲ قسمت تقسیم شده و ۴ تیمار (شاهد) ۱-۵-۱-۲ گرم مولتی آنزیم به ازای هر کیلوگرم غذا با ۳ تکرار مجزا در نظر گرفته شد. بچه ماهیان سفید قبل از انتقال به مخازن با محلول نمک ضدعفونی شده

و به تعداد ۳۰ عدد در هر مترمکعب رها شدند. در این آزمایش دمای آب، میزان اکسیژن محلول در آب (D.O) و pH توسط اکسی متر و پی اچ متر دیجیتال روزانه اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها به ترتیب $22/86 \pm 0/48$ درجه سانتی‌گراد، $6/89 \pm 0/08$ میلی‌گرم بر لیتر و $7/68 \pm 0/03$ در طی دوره ثابت نگه‌داشته شد. هوادهی و تأمین اکسیژن به هر یک از مخازن انجام آب فیلتر آب رودخانه و به‌صورت غیر چرخشی تأمین می‌شود. جهت تغذیه از غذای کنسانتره SFK (غذای آغازین بچه ماهی سفید، شرکت چینه) که آنالیز آن به ترتیب در جدول ۱ آمده و مولتی آنزیم کمبو به‌عنوان مکمل آزمایشی از شرکت Zubin Zarrin, Inc (جدول ۲) تهیه گردید. بچه ماهیان بعد از ۲۴ ساعت گرسنگی به دلیل حمل‌ونقل به ۱ هفته با غذای کنسانتره به‌منظور سازگاری تغذیه شدند غذادهی برحسب وزن توده زنده ماهیان و تعداد دفعات ۳ بار در روز محاسبه گردید. به‌منظور مخلوط کردن جیره یا مکمل مولتی آنزیم کمبو ابتدا مکمل در آب محلول و سپس به روی خوراک اسپری شد. به‌منظور تخلیه پسماندهای غذایی ۲ بار در هفته مخازن شست‌وشو گردید.

جدول ۱: ترکیب جیره پایه ساخته‌شده برای بچه ماهیان (SFK) (قطر غذای مورد استفاده ۳/۰-۲/۰ mm) (آزمایشگاه

دامپزشکی استان گیلان، ۱۳۹۴).

میزان (درصد)	اجزاء جیره غذایی
۳۵	پودر ماهی
۱/۵	مخمر
۵	ذرت
۱۰	آرد گندم
۲۰	کنجاله سویا
۱	روغن ماهی یا روغن سویا
۱/۱	مکمل معدنی و ویتامینه
۱/۵	آرد خون
۶	آرد گوشت
۴	سبوس برنج
۱/۵	آرد یونجه
۱۰-۱۰/۵	آرد جو
۱	CPD
۰/۰۱	BHT
۰/۰۲۵	متیونین
۰/۰۲۵	لیزین
۰/۰۵	نمک
۲	ملاس

جدول ۲: اجزای ترکیب مولتی آنزیم کمبو (Bedford et al., 1992).

نام آنزیم	کمترین فعالیت آنزیمی
لیپاز	FIP Units/kg۷۵,۰۰۰
سلولاز	CU Units/kg۷۵,۰۰۰
بتا گلوکاناز	BG Units/kg۲۰,۰۰۰
همی سلولاز	HCU Units/kg۲۰,۰۰۰
آمیلاز قارچی	SKB Units/kg۳۰,۰۰۰
الکالین پروتئاز	Anson Units/kg۱,۲
پروتئاز قارچی	HUT Units/kg۱۰,۰۰۰,۰۰۰
پروتئاز طبیعی	PC Units/kg۱۰,۰۰۰,۰۰۰

در پایان دوره خون‌گیری از روش قطع ساقه دمی انجام و ۱ سی‌سی خون از هر تیمار و تکرار داخل تیوپ‌های اپندرف آغشته به هپارین ریخته، شماره‌گذاری کرده و نمونه‌ها در یخ و به‌دوراز تکان‌های شدید به آزمایشگاه ویروم‌د رشت منتقل گردید (Gomez et al., 2013). با توجه به‌اندازه و وزن کم بچه ماهیان انگشت قد سفید، فاکتورهای خونی در پایان دوره شامل تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، هماتوکریت، هموگلوبین، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید شامل لنفوسیت، ائوزینوفیل، نوتروفیل و مونوسیت، متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC)، طبق روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شدند (Anderson, 1992). برای اندازه‌گیری لیزوزیم از روش Choi و Yoon (۲۰۰۸) و جهت سنجش میزان ایمونوگلوبولین M (IgM) از روش رستمی و سلطانی (۱۳۸۸) و برای اندازه‌گیری فاکتور کمپلمان ۵۰ از روش فتومتريک استفاده گردید. به‌منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها در گروه‌ها و تکرارها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. در صورت نرمال بودن داده‌ها به‌منظور مقایسه آماری بین گروه‌ها در تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way Anova) و پس از انجام آزمون Test of Homogeneity of Variances جهت مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۰ و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2007 استفاده شد.

نتایج

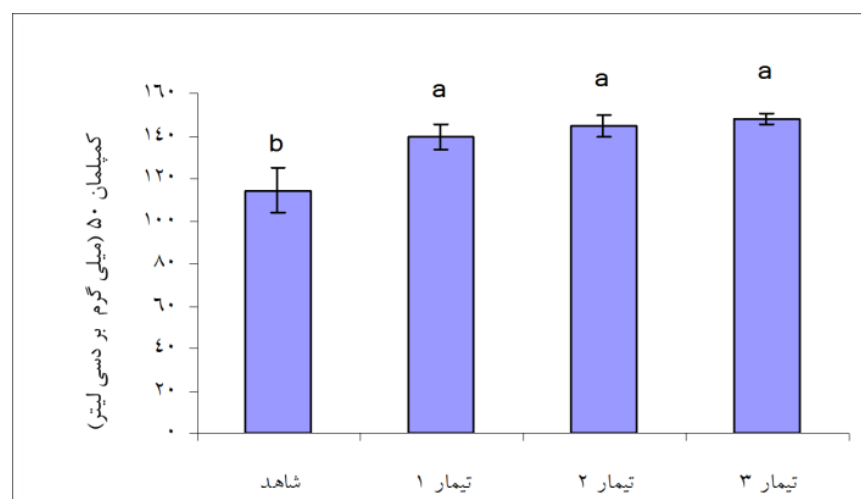
بر اساس نتایج میانگین گلبول سفید، گلبول قرمز، هماتوکریت، درصد نوتروفیل به ترتیب در تیمار ۱/۵ گرم بر کیلوگرم $152/75 \pm 20$ ، $464/5800 \pm 1233333$ ، $42/33 \pm 1/45$ ، $26/67 \pm 0/33$ و در تیمار ۲ گرم بر کیلوگرم به ترتیب $536/44 \pm 6766/66$ ، $2333/331 \pm 114333$ ، $41 \pm 0/58$ ، $27/33 \pm 1/86$ که نسبت به تیمار ۱ گرم بر کیلوگرم افزایش قابل‌توجهی پیدا کردند. همچنین بر طبق نمودارهای ۱ و ۲ و ۳ افزودن مکمل آنزیمی در جیره‌ی ماهی باعث افزایش قابل‌توجه شاخص‌های ایمنی ACH50 و ایمنی اختصاصی از جمله IgM و لیزوزیم در تیمار ۱/۵ و ۲ گرم بر کیلوگرم شده است (جدول ۳).

جدول ۳: تغییرات شاخص‌های خون‌شناسی و ایمنی بچه ماهیان سفید (*Rutilus kutum*) تغذیه‌شده با سطوح متفاوت مولتی آنزیم کمبو در تیمارهای مختلف.

فاکتورهای خونی / تیمارها	شاهد ۰ gr/kg گرم مولتی آنزیم	۱ gr/kg گرم مولتی آنزیم تیمار ۱	۱,۵ gr/kg گرم مولتی آنزیم تیمار ۲	۲ gr/kg گرم مولتی آنزیم تیمار ۳
گلبول‌های سفید (عدد/میلی‌متر)	$3166/67 \pm 88/19^c$	$4766/67 \pm 721/88^b$	$5800 \pm 152/75^{ab}$	$6766/66 \pm 536/44^a$
گلبول‌های قرمز (عدد/میلی‌متر)	$1073333 \pm 48074/02^b$	$1076667 \pm 17638/34^b$	$1233333 \pm 66416/20^a$	$114333 \pm 2333/33^{ab}$
هموگلوبین (گرم/دسی لیتر)	$5/63 \pm 0/20^b$	$5/70 \pm 0/15^b$	$6/30 \pm 0/11$	$6/13 \pm 0/03^a$
هماتوکریت (%)	$38/33 \pm 1/45^b$	$38 \pm 0/58^b$	$42/33 \pm 1/45^a$	$41 \pm 0/58^a$
حجم گلبولی MCV (فمتو)	$357 \pm 6/43^a$	$352/67 \pm 6/36^a$	$343/67 \pm 7/05^a$	$358/33 \pm 2/33^a$
هموگلوبین خونی (پیکوگرم) MCH	$52/67 \pm 0/88^a$	$52/67 \pm 1/76^a$	$51 \pm 1/73^a$	$53/33 \pm 0/88^a$
MCHC (گرم/دسی لیتر)	$15 \pm 0/18^c$	$15 \pm 0/17^c$	$14/67 \pm 0/15^b$	$18/44 \pm 0/17^a$
نوتروفیل (%)	$23/33 \pm 1/20^b$	27 ± 1^a	$26/67 \pm 0/33^a$	$27/33 \pm 1/86^a$
لنفوسیت (%)	$73/67 \pm 1/20^a$	$67/67 \pm 1/45^b$	$69/67 \pm 0/33^b$	67 ± 1^b
مونوسیت (%)	$2/67 \pm 0/33^b$	$4/33 \pm 0/33^a$	$3/33 \pm 0/33^{ab}$	$4/67 \pm 0/33^a$
اوتوزینوفیل (%)	$0/33 \pm 0/33^a$	$1 \pm 0/58^b$	$0/33 \pm 0/33^a$	$1 \pm 0/58^b$

اعداد (میانگین $\pm$ انحراف معیار) با حروف متفاوت در هر ردیف اختلاف معنی‌دار آماری را نشان می‌دهد.

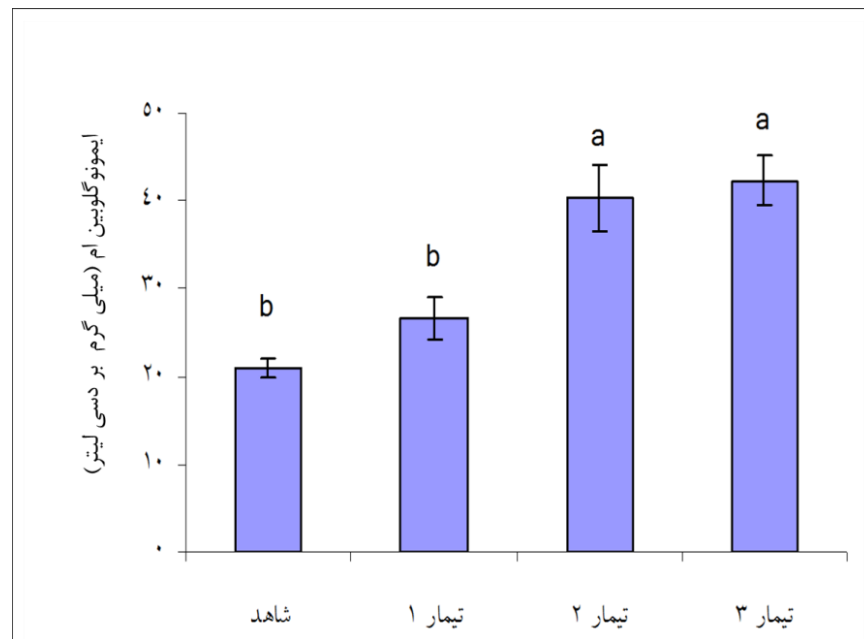
همان‌طور که در جدول فوق مشاهده می‌گردد کاربرد مولتی آنزیم در جیره غذایی بچه ماهیان سفید در گروه‌های آزمایش مختلف باعث بروز اختلافات معنی‌دار آماری در شاخص‌هایی نظیر گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، لنفوسیت و مونوسیت‌ها شده است و در سایر شاخص‌های خونی نظیر MCV, MCH, MCHC، نوتروفیل و اوتوزینوفیل هیچ‌گونه اختلاف معنی‌دار در بین گروه‌های آزمایشی دیده نمی‌شود.



شکل ۱: میانگین کمپلمان ۵۰ در ۴ تیمار با سطوح ۰، ۱، ۱/۵، ۲ گرم بر کیلوگرم مولتی آنزیم کمبو در بچه ماهی سفید دریای خزر ($P < 0/05$).

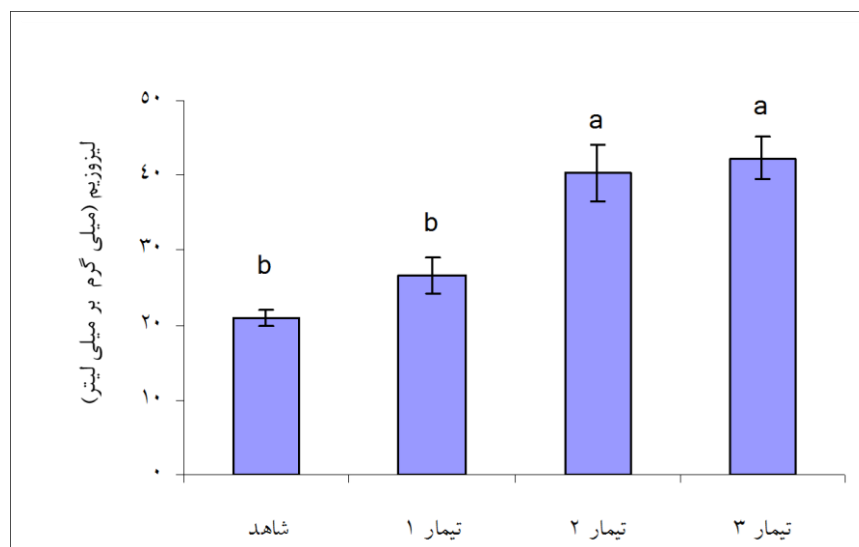
تأثیر سطوح مختلف مولتی آنزیم کمبو بر شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان سفید (*Rutilus kutum*) / بازرگان‌پور و همکاران

با توجه به شکل ۱ بر اساس نتایج میانگین ach50 در تیمارهای ۱، ۱/۵ و ۲ گرم بر کیلوگرم افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داده است و بین تیمارهای مذکور اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نگردید و کمترین میزان ach50 در شاهد مشاهده شد ($P < 0.05$).
با توجه به شکل ۲ میزان IgM در تیمارهای ۲ و ۳ افزایش معنی‌داری را نسبت به تیمار ۱ و شاهد نشان داده است و بین تیمارهای مذکور اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید کمترین میزان IgM در تیمار ۱ و شاهد مشاهده شد ($P < 0.05$).



شکل ۲: میانگین IgM در ۴ تیمار با سطوح ۰، ۱، ۱/۵، ۲ گرم بر کیلوگرم مولتی آنزیم کمبو در بچه ماهی سفید دریای خزر ($P < 0.05$).

با توجه به شکل ۲ میزان IgM در تیمارهای ۲ و ۳ افزایش معنی‌داری را نسبت به تیمار ۱ و شاهد نشان داده است و بین تیمارهای مذکور اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نگردید کمترین میزان IgM در تیمار ۱ و شاهد مشاهده شد ($P < 0.05$).



شکل ۳: میانگین لیزوزیم در ۴ تیمار با سطوح ۰، ۱، ۱/۵، ۲ گرم بر کیلوگرم مولتی آنزیم کمبو در بچه ماهی سفید دریای خزر ($P < 0.05$).

بر طبق شکل ۳ میانگین لیزوزیم در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داده است و بیشترین افزایش لیزوزیم در تیمار ۳ و کمترین میزان لیزوزیم در شاهد مشاهده شد ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

جیره غذایی حاوی مولتی آنزیم نه تنها مواد مغذی ضروری را تأمین می‌کند بلکه می‌تواند یکی از بهترین راهکارها برای حفظ سلامت آبزیان و افزایش مقاومت آن‌ها در برابر عوامل بیماری‌زا باشد (Halver and Hardy, 2002). استفاده از مکمل غذایی که در بالا بردن سیستم ایمنی نقش داشته از راهکارهای افزایش سلامت، مقاومت نسبت به استرس و عوامل بیماری‌زا می‌توانند مفید واقع شوند (Tukmechi et al., 2007). افزودن مولتی آنزیم کمبو بر روی شاخص‌های خونی ماهی سفید به‌طور معنی‌داری موجب بهبود آن‌ها شده و تعداد گلبول سفید در ماهیان تیمار ۲ گرم بر کیلوگرم در مقایسه با تیمار ۱ و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده است. حسینی فرد و همکاران (۱۳۹۲) شاخص‌های هماتولوژی را با افزایش مولتی آنزیم اویزایم با دوزهای صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به همراه پروتئین آرد سویا در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در ۱۳ تیمار آزمایشی مورد بررسی قرار دادند. بر طبق نتایج آن‌ها بیشترین میزان گلبول سفید در ماهیان تغذیه‌شده با جیره حاوی ۵۰ درصد پروتئین آرد سویا به همراه ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مکمل مولتی آنزیم اویزایم مشاهده گردید. Hu و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی اثرات گلوتامین بر عملکرد رشد و فاکتورهای ایمنی در ماهی کپور معمولی پرداختند و طبق نتایجی که به دست آوردند استفاده از گلوتامین در جیره کپور معمولی باعث بهبود عملکرد رشد و افزایش سیستم در ماهیان شده است همچنین آن‌ها بر این نکته اظهار داشتند که لیزوزیم یکی از اجزای اصلی سیستم دفاعی ایمنی بی‌مهرگان و مهره‌داران محسوب می‌شود. اگرچه نقش فیزیولوژیکی آن دقیقاً مشخص نیست اما در دفاع علیه میکروارگانیسم‌های مهاجم شرکت می‌کند و میزان این آنزیم در سرم خون و موکوس پوست ماهیان به‌طور چشمگیری بالا می‌باشد، در تحقیق حاضر نیز افزایش میزان لیزوزیم در تیمارهای ۱/۵ و ۲ گرم مولتی آنزیم نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری بوده و از این جهت با نتایج Hu و همکاران

(۲۰۱۵) مطابقت دارد. عادلان و همکاران (۱۳۹۲) به کارگیری مولتی آنزیم‌های ناتوزیم و کمین در جیره غذایی و اثرات آن‌ها بر شاخص‌های رشد و برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) را مورد بررسی قرار داد و طبق نتایجی که به دست آوردند هیچ‌یک از مولتی آنزیم‌های کمین و ناتوزیم بر شاخص وضعیت تأثیرگذار نبود. مولتی آنزیم کمین در سطح آنزیمی ۵۰۰ میلی گرم جیره غذایی، سبب ایجاد بیشترین میزان کلسیم در خون ماهی کپور معمولی شد اما بر بقیه فاکتورهای بیوشیمیایی خون شامل آلبومین، گلوکز و پروتئین کل تأثیرگذار نبود. همچنین مولتی آنزیم ناتوزیم روی پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی کپور معمولی تأثیرگذار نبود.

گلوبول‌های سفید در عمل فاگوسیتوز و پاسخ ایمنی بدن نسبت به عوامل انگلی، باکتریایی و ویروسی و کمک به ترمیم بافت‌های آسیب دیده نقش مهمی را ایفا می‌کنند اندازه‌گیری گلوبول سفید (درصد و نوع آن‌ها) در تعیین وضعیت عمومی ماهی کاربرد فراوانی می‌تواند داشته باشد (Goda, 2008). طبق نتایج به دست در این تحقیق تعداد گلوبول‌های سفید در کلیه تیمارهای نسبت به شاهد افزایش داشته و تفاوت معنی‌دار آماری را نشان می‌دهد. به عبارت بهتر افزودن مولتی آنزیم باعث افزایش تعداد گلوبول‌های سفید خون ماهیان شده است. در همین خصوص دیگر محققین نتایج مشابهی را به دست آوردند. Zamini و همکاران (۲۰۱۴) تأثیر سطوح ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم در کیلوگرم مکمل آنزیمی ناتوزیم (پروتئاز، آمیلاز، فیتاز، سلولاز، زایلاناز، پکتیناز، لیپاز، سطوح ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم در کیلوگرم مکمل آنزیمی همی سل (بتاماناز، آمیلاز، زایلاناز، سلولاز، آلفا گالاکتوسیداز) و ترکیب ۰/۵ گرم ناتوزیم و ۰/۵ گرم همی سل را بر پارامترهای رشد و خون ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspinus*) مطالعه نمودند. میزان رشد در تیمار ترکیبی دو آنزیم بالاتر از سایر تیمارها بود بهترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به همین تیمار بوده و بالاترین ضریب تبدیل غذایی در شاهد ثبت گردید، تیمار ترکیبی و آنزیم بالاترین تعداد گلوبول‌های سفید را به خود اختصاص داد که اختلاف معنی‌داری با بقیه تیمارها داشت، در تحقیق حاضر نیز افزایش تعداد گلوبول‌های سفید خون به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد در گروه‌های آزمایشی ۱، ۱/۲، ۱/۵ گرم مولتی آنزیم دیده شده است و با تحقیق زمینی و همکاران مشابعت دارد (Zamini et al., 2014).

جیره غذایی حاوی مولتی آنزیم کومبو باعث افزایش قابل توجه سیستم ایمنی در بچه ماهیان سفید شد، همان گونه که نتایج در جدول ۵ نشان می‌دهد، در تمام دوره‌های آزمایش تیمارهای ۱/۵ و ۲ گرم بر کیلوگرم مولتی آنزیم کمبو دارای بیشترین میانگین لیزوزیم به‌عنوان یکی از شاخص‌های ایمنی اختصاصی بودند و با افزایش لیزوزیم سطح ایمنی اختصاصی در ماهیان افزایش می‌یابد. Zheng و همکاران (۲۰۰۹) با تحقیق بر تأثیر اسانس‌های کارواکرول و تیمول پونه کوهی در گربه‌ماهی کانال (*Ictalurus punctatus*) دریافتند که گربه‌ماهیان تغذیه شده با این عصاره‌ها در مدت ۸ هفته به‌طور معناداری مقاومت بیشتری نسبت به آئروموناس هیدروفیلا در قیاس با گروه شاهد از خود نشان دادند ($P < 0.05$). Austin و McIntosh (۲۰۰۹) با افزودن پروبیوتیک به جیره ماهی قزل آلا به مدت ۲ هفته باعث افزایش سیستم ایمنی از جمله لیزوزیم در این ماهیان شدند.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از مکمل مولتی آنزیم تجاری کمبو به میزان ۱ و ۱/۵ و ۲ گرم در کیلوگرم جیره غذایی بچه ماهیان سفید دریای خزر به‌طور معنی‌داری بر روی شاخص‌های خونی و ایمنی این ماهی اثر مثبتی گذاشته است با توجه به اثرات یکسان و بدون اختلاف معنی‌دار آماری در مقادیر ۱/۵ و ۲ گرم مولتی آنزیم به جهت مصرف کمتر مولتی آنزیم و کاهش هزینه‌ها در نهایت افزودن ۱/۵ گرم مولتی آنزیم در یک کیلوگرم غذا می‌تواند بر روی شاخص‌های خونی و ایمنی اثر مثبت و معنی‌داری را بگذارد و بازماندگی بچه ماهی سفید در محیط‌های طبیعی در زمان رهاسازی را بالا ببرد.

سپاسگزاری

از حمایت‌های بی‌دریغ مسئولین محترم آزمایشگاه شیلات دانشگاه آزاد واحد لاهیجان و آزمایشگاه ویرومد رشت و ریاست و کارکنان مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی شهید انصاری همچنین از جناب آقای شهریار تقی پور کوه بنه نهایت سپاسگزاری را داریم.

منابع

- حسینی فرد، م.، قبادی، ش.، خدابخش، ا. و رازقی، م.، ۱۳۹۲. تأثیر جیره‌های حاوی سطوح مختلف آرد سویا همراه با مکمل آنزیمی آویزایم بر شاخص‌های هماتولوژی و بیوشیمیایی سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله دامپزشکی ایران، دوره ۹، شماره ۳، صفحات ۴۳-۵۳.
- رستمی، م. و سلطانی، م.، ۱۳۸۸. مطالعه‌ی اثرات بافتی دوز مزمن سولفات مس بر برخی اندام‌های ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله تحقیقات دامپزشکی، سال شصت و چهارم، شماره ۳، صفحات ۲۹۳-۲۹۱.
- عادلین، م.، ایمان پور، م.، تقی زاده، و. و مازندرانی، م.، ۱۳۹۲. استفاده از مولتی آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و تأثیر آن شاخص گنادوسوماتیک (GSI) و شاخص‌های رشد و برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی خون. دومین همایش ملی شیلات و آبزیان ایران، بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس.
- کمالی نجف‌آباد، م.، ایمان پور، م.، تقی زاده، ر. و عالیشاهی، ع.، ۱۳۹۵. تأثیر کیتوزان جیره بر شاخص‌های رشد و پارامترهای خون‌شناسی در بچه ماهیان سفید (*Rutilus frisii kutum*, Kamenskii 1901). مجله محیط‌زیست جانوری. شماره ۱، صفحات ۴۱-۵۰.
- نوبخت، ع.، ضیا بری، س. و صفامهر، ع.، ۱۳۹۴. بررسی اثر چند مولتی آنزیم و سطح مواد مغذی جیره بر عملکرد و صفات لاشه جوجه‌های گوشتی. نشریه علوم دامی (پژوهش و سازندگی). شماره ۱۰۶، صفحات ۱۹۷-۲۰۸.
- ولی پور، ع. و خانی پور، ع.، ۱۳۹۴. فرم پائیزه دریای خزر (*Rutilus frisii*) زی فن تکثیر مصنوعی ماهی سفید. نشریه توسعه آبزی‌پروری، شماره ۴، صفحات ۸۸-۷۵.

Anderson, D. P., 1992. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. Annual Review of Fish Diseases, 2:281-307.

Austin, B. and McIntosh, D., 1988. Natural antibacterial compounds on the surface of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. Journal of Fish Diseases, 11(3):275-277.

Bedford, M., 2002. The foundation of conducting feed enzyme research and the challenge of explaining the results. Journal of applied poultry research, 11(4): 464-470.

Bedford, M. R. and Classen, H. L., 1992. Reduction of intestinal viscosity through manipulation of dietary rye and pentosanase concentration is effected through changes in the carbohydrate composition of the intestinal aqueous phase and results in improved growth rate and food conversion efficiency of broiler chicks. The Journal of nutrition, 122(3): 560-569.

Berg, L. S., 1962. Freshwater fishes of the USSR and adjacent countries: Ryby presnykh vod SSSR i sopredel'nykh stran (Vol. 1): Program for Scientific Translations; [available from the Office of Technical Services, US Dept. of Commerce, Washington].

CEP., 1998. National reports of the Caspian Sea countries (Azerbaijan, Iran, Kazakhstan, Russian Federation, Turkmenistan), Caspian Environment Programme.

Choi, S. H. and Yoon, T. J., 2008. Non-specific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by dietary heat-inactivated potential probiotics. Immune Network, 8(3), 67-74.

Goda, A., 2008. Effect of dietary Ginseng herb (Ginsana® G115) supplementation on growth, feed utilization, and hematological indices of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), fingerlings. Journal of the World Aquaculture Society, 39(2), 205-214.

- Gomez, D., Sunyer, J. O. and Salinas, I., 2013.** The mucosal immune system of fish: the evolution of tolerating commensals while fighting pathogens. *Fish and shellfish immunology*, 35(6), 1729-1739.
- Halver, J. E. and Hardy, R. W., 2002.** Fish nutrition: Academic press.
- Heidari, M., 2010.** Nucleic acid metabolism, proline concentration and antioxidants enzyme activity in canola (*Brassica napus*) under salinity stress. *Agricultural Sciences in China*, 9(4), 504-511.
- Hu, K., Zhang, J. X., Feng, L., Jiang, W. D., Wu, P., Liu, Y. and Zhou, X. Q., 2015.** Effect of dietary glutamine on growth performance, non-specific immunity, expression of cytokine genes, phosphorylation of target of rapamycin (TOR), and anti-oxidative system in spleen and head kidney of Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Fish physiology and biochemistry*, 41(3):635-649.
- Jackson, L. S., Li, M. H. and Robinson, E. H., 1996.** Use of microbial phytase in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets to improve utilization of phytate phosphorus. *Journal of the World Aquaculture Society*, 27(3):309-313.
- Li, M. H. and Robinson, E. H., 1997.** Microbial phytase can replace inorganic phosphorus supplements in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets. *Journal of the World Aquaculture Society*, 28(4): 402-406.
- Najafabad, M. K., Imanpoor, M. R., Taghizadeh, V. and Alishahi, A., 2016.** Effect of dietary chitosan on growth performance, hematological parameters, intestinal histology and stress resistance of Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum*). *Fish physiology and biochemistry*, 42(4): 1063-1071.
- Ravindran, V. and Son, J. H., 2011.** Feed enzyme technology: present status and future developments. *Recent patents on food, nutrition and agriculture*, 3(2): 102-109.
- Rodehutsord, M. and Pfeffer, E., 1995.** Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Water Science and Technology*, 31(10): 143-147.
- Rosen, G., 2002.** Exogenous enzymes as pro-nutrients in broiler diets. *Recent Advances in Animal Nutrition*, pp. 89-104.
- Tukmechi, A., Morshedi, A. and Delirezh, N., 2007.** Changes in intestinal microflora and humoral immune response following probiotic administration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Animal Veterinary Advance*, 6(10):1183-1189.
- Zamini, A., Kanani, H. G., Azam Esmaeili, A., Ramezani, S. and Zoriezahra, S. J., 2014.** Effects of two dietary exogenous multi-enzyme supplementation, Natuzyme® and beta-mannanase (Hemicell®), on growth and blood parameters of Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*). *Comparative Clinical Pathology*, 23(1):187-192.
- Zheng, Z., Tan, J. Y., Liu, H., Zhou, X., Xiang, X. and Wang, K., 2009.** Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum*.) on growth, antioxidant effect and resistance against: *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 292(3):214-218.