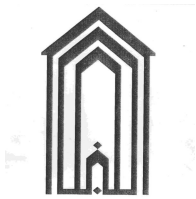


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه گنبد کاووس

دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی

گروه منابع طبیعی

پایان نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد (M.Sc)، رشته تکثیر و پرورش آبزیان

تاثیر عصاره گیاه دارویی آلونهورا بر پارامترهای هماتولوژیک و برخی پاسخ های ایمنی فیل

**ماهی (Huso huso)**

ملیحه خطیرنامنی

استاد راهنما:

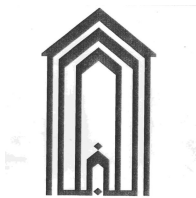
دکتر حسنی قلی پور کنعانی

اساتید مشاور:

دکتر حجّت الله جعفریان

دکتر پونه ابراهیمی

بهار ۱۳۹۳



دانشگاه گنبد کاووس

تعهد نامه چاپ پایان نامه

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه های تحصیلی دانشجویان دانشگاه گنبد کاووس مبین بخشی از فعالیت های علمی- پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات و امکانات دانشگاه انجام می شود، بنابر این به منظور رعایت حقوق دانشگاه، کلیه دانش آموختگان نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

- ۱) قبل از چاپ پایان نامه (رساله) خود، مراتب را قبلاً بطور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب مجوز نمایند.
- ۲) در انتشار نتایج پایان نامه در قالب مقالات مجلات علمی پژوهشی، همایش ها و سایر موارد، ذکر نام دانشگاه گنبد کاووس، اساتید راهنما و مشاوران الزامی است.
- ۳) انتشار نتایج پایان نامه به هر شکلی (مقاله، کتاب، ثبت اختراع و ابداع) باید با کسب اجازه استاد راهنما و صورت گیرد.

اینجانب ملیحه خطیرنامنی دانشجوی رشته تکثیر و پرورش آبزیان مقطع کارشناسی ارشد دانشگاه گنبد کاووس تعهدات فوق را قبول کرده و ملزم به رعایت کلیه مفاد آن می باشم.  
نام و نام خانوادگی دانشجو: ملیحه خطیرنامنی

امضا

تاریخ

تقدیرم بہ:

برادر شہیدم

تقدیرم بہ:

پدر و مادر عزیزم

کہ، ہر وارہ در طول دوران تحصیل مشوق راہ من بودند.

تقدیرم بہ:

ہمہ عمرم بازم.

تقدیر و قدردانی:

رہاس بنی نہ تمار سزاوار تو سکتا بہ مصدقہ از نعمات بہ ما من بخش و بہ حکمت از ما من رتا خویا یا آنچه داشتہ ام تو دادہ ای و آنچه کردہ ام تو میدہ مر نہ ودہ ای، ہر اہمہ دادہ ای من، ہر ما وجود من زادہ و سرمشق از خود چہ نمی ندارم و از خود کاری نگاہ کردہ ام، من کو یہ کہ بدقولی نہ پلانت نہادی تا بہ توازم با تو کال بریاری بن درین و لطف بن پمانت این تحقیق را بہ اتمام برسانم۔ آنچه در این مجہ وعہ کرد آدہ است حاصل نہ شد کم بر بیری عزیزانی کہ در مرحا حل این تحقیق مرا یاری رساند کہ در ایہ جا بہ رسم ادب لازم من دانم ہر اہمہ رہاس و قدردانی خود را تقدیرہ شان نہا یم:

آید راہنمای مجتہد سمرکند خانم حنا قلی پور کہ عانی از راہنمایانی ہای ارزشمندشان بہرہ مند شدم، رہاسکند زارم۔ از اساتید مشاوری بزرگوارم جناب آقای ہجرتیہ تہرانی ہست کہ خانم روزنہ ابراہیمی کہ راہنمایانی ہای بن درین علق، رہاسکند زارم، از زندہ در کتب خاصہ ہای حل پڑوہش باعث شد کہ این رسالہ را با موافقت بہ اتمام برسانم، رہاسکند زارم و قدردانی من نہا یم۔ از جناب آقای دکتر محمد سیرج و جناب آقای دکتر رضا راہی کہ زحمت داوری این پایان نامہ را بر عہدہ داشتند نہا یم رہاسکند زارم۔

چکیده:

در این تحقیق تعداد ۳۰۰ عدد فیل ماهی با متوسط وزنی ۳۰۰ گرم در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی گرگان به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند. این تعداد ماهی در ۳ تیمار و ۳ تکرار تقسیم بندی شدند. تیمار اول تزریق داخل صفاقی عصاره متانولی آلوئه ورا به میزان ۱۰۰mg/kg در حجم حداکثر ۰/۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی، تیمار دوم تزریق داخل صفاقی عصاره متانولی آلوئه ورا به میزان ۲۰۰mg/kg در حجم حداکثر ۰/۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی و گروه کنترل تزریق میزان ۰/۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی به صورت داخل صفاقی صورت گرفت. خون گیری از ماهیان در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از تزریق انجام شد. نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد غلظت هموگلوبین در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ در تیمارهای A۱۰۰ و A۲۰۰ نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری داشت ( $P < 0/05$ ). درصد هماتوکریت در روزهای ۰ و ۷ در تیمارهای A۱۰۰ و A۲۰۰ نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری نشان داد ( $P < 0/05$ ). در روز ۱۴ درصد هماتوکریت در تیمار A۲۰۰ افزایش معنی داری نسبت به تیمار شاهد داشت ( $P < 0/05$ ) ولی اختلاف معنی داری نسبت به تیمار شاهد نشان نداد ( $P > 0/05$ ). تعداد گلبول های سفید در تیمار A۱۰۰ افزایش معنی داری در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ نسبت به تیمار A۲۰۰ و تیمار شاهد نشان داد ( $P < 0/05$ ). کمترین درصد لنفوسیت در تیمار شاهد مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). وزن هموگلوبین داخل گلبولی و درصد غلظت هموگلوبین داخل گلبولی در تیمارهای A۱۰۰ و A۲۰۰ در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ افزایش معنی داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد ( $P < 0/05$ ). همچنین فعالیت لیزوزیم سرم در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ در تیمارهای A۱۰۰ و A۲۰۰ افزایش معنی داری را نسبت به تیمار شاهد نشان داد ( $P < 0/05$ ). فعالیت کمپلمان سرم در روز ۰ و ۷ در تیمار A۱۰۰، افزایش معنی داری نسبت به تیمار A۲۰۰ و تیمار شاهد نشان داد ( $p < 0/05$ ) همچنین فعالیت کمپلمان سرم فیل ماهی در روز ۰ و ۱۴ در تیمار A۲۰۰ افزایش معنی داری نسبت به تیمار A۱۰۰ و تیمار شاهد نشان داد ( $P < 0/05$ ). می توان نتیجه گیری کرد که گیاه دارویی آلوئه ورا موجب بهبود معیارهای خونی و فعالیت لیزوزیم سرم و کمپلمان در فیل ماهیان دارد.

کلمات کلیدی: پارامترهای خونی، پاسخ های ایمنی، آلوئه ورا، فیل ماهی.

## فهرست منابع

عنوان	صفحه
فصل اول	
مقدمه	
۱-۱- ماهیان خاویاری.....	۲
۲-۱- آلوتهورا.....	۴
۳-۱- خون و سنجش پارامترهای خونی.....	۵
۴-۱- لایزوزیم.....	۶
۵-۱- کمپلمان.....	۸
۶-۱- اهداف.....	۸
۷-۱- فرضیه.....	۹
فصل دوم	
بررسی منابع	
مروری بر منابع.....	۱۱
فصل سوم	
مواد و روش‌ها	
۱-۳- طرح آزمایشی.....	۱۴
۲-۳- تیمارهای آزمایشی.....	۱۴
۳-۳- نحوه تهیه عصاره متانولی آلوتهورا.....	۱۵
۴-۳- پارامترهای فیزیکی شیمیایی آب.....	۱۵
۵-۳- پارامترهای خونی.....	۱۶
۱-۵-۳- خونگیری.....	۱۶
۲-۵-۳- تعیین هماتوکریت.....	۱۶
۳-۵-۳- تعیین غلظت هموگلوبین.....	۱۷
۴-۵-۳- شمارش کلی گلبول‌های قرمز.....	۱۷

۱۸.....	۳-۵-۵- شمارش کلی گلبول‌های سفید.....
۱۸.....	۳-۵-۶- تعیین اندیس‌های خون.....
۱۹.....	۳-۶- پارامترهای ایمنی.....
۱۹.....	۳-۶-۱- بررسی فعالیت لیزوزیم سرم.....
۲۰.....	۳-۶-۲- بررسی جمعیت لکوسیتی.....
۲۰.....	۳-۶-۳- تست کمپلمان.....
۲۱.....	۳-۷- تجزیه و تحقیق آماری.....

#### فصل چهارم

##### نتایج

۲۳.....	۴-۱- پارامترهای خونی.....
۳۲.....	۴-۲- سنجش شاخص‌های ایمنی.....
۳۲.....	۴-۲-۱- فعالیت لیزوزیم سرم.....
۳۳.....	۴-۲-۲- کمپلمان (عامل مکمل).....

#### فصل پنجم

##### بحث و نتیجه گیری

۳۵.....	بحث.....
۴۰.....	پیشنهادات.....
۴۰.....	پیشنهادات پژوهشی.....
۴۰.....	پیشنهادات اجرایی.....
۴۱.....	منابع.....



# فصل اول

## مقدمه

## ۲- مقدمه

### ۱-۱- ماهیان خاویاری

تاسماهیان یا ماهیان خاویاری که ماهیان غضروفی - استخوانی یا استروژن (Sturgeon) نیز نامیده می‌شوند از دسته ماهیان غضروفی - استخوانی دوران اولیه هستند که حدود ۲۵۰ میلیون سال قدمت دارند (تاتینا و همکاران، ۲۰۱۰). ماهیان خاویاری در مجموع حدود ۲۸ گونه دارند (هدایتی فرد و رمضانی، ۱۳۸۶) و از ماهیان آنادرموس دریای خزر هستند که بخش عمده زندگی خود را در دریا سپری می‌کنند و نسبتاً دیر به سن بلوغ می‌رسند بطوریکه در نرها ۵ تا ۱۴ سال و در ماده‌ها از ۱۰ تا ۱۸ سال بطول می‌انجامد (حلاجیان و همکاران، ۱۳۸۶). ماهیان خاویاری یکی از قدیمی‌ترین گروه ماهیان غضروفی با فسیل‌های بجا مانده از دوره‌های قبل‌تر از ژوراسیک اند (جلالی و همکاران، ۲۰۰۸) گونه‌های تجاری ماهیان خاویاری شامل فیل‌ماهی (*Huso huso*)، تاس ماهی روسی (*Acipenser*)، ماهی ازون‌برون (*A. stellatus*) که در منطقه شمالی دریای خزر و رودخانه ولگا زندگی می‌کنند و تاس ماهی ایرانی (*A. persicus*) بومی منطقه جنوبی دریای خزر است (قرایی و همکاران، ۱۳۸۸)، دریایی که به تنهایی ۹۰ درصد ذخایر ماهیان خاویاری جهان را در خود جای داده است (سوداگر و همکاران، ۱۳۸۶). فیل‌ماهی (*Huso huso*) یکی از گونه‌های خانواده ماهیان خاویاری است که زیستگاه اصلی آن دریای خزر، دریای سیاه، دریای آزوف و حوضه‌های اطراف آنها می‌باشد. بزرگترین ماهی خاویاری دریای خزر فیل‌ماهی است که بیشتر در منطقه گرگان یعنی جنوب شرقی دریای خزر صید می‌شود (کوچکیان، ۲۰۰۷). در ایران فیل‌ماهی با نام‌های بلوگا، سگ‌ماهی و ماهی خاویاری شناخته می‌شود، نام لاتین *Huso* از کلمه یونانی *Hus* به معنای حریص و پرخور

گرفته شده است (سرافراز و همکاران، ۱۳۸۴). فیل ماهی دارای رشد سریع بوده و به کیفیت پایین آب مقاومند و برای ننگه داری در سیستم های پرورشی مناسبند (یوسفی و همکاران، ۱۳۸۹). از نظر رژیم غذایی صرفاً گوشتخوار است و در گرفتن طعمه بسیار حریص است (آذری تاکامی، ۱۳۸۸). در سال- های اخیر صید بی رویه این ماهیان از منابع آبی از یک طرف، آلودگی های محیطی و صید غیر مجاز از سوی دیگر سبب گردیده تا نام فیل ماهی در فهرست گونه های در حال انقراض قرار گیرد (اکرمی و همکاران، ۱۳۸۷). همچنین از سال ۱۹۹۷ نام این ماهیان در فهرست کنوانسیون بین المللی نظارت بر تجارت گونه های در معرض خطر قرار گرفته است (یوسفی و همکاران، ۱۳۸۹). با توجه به افزایش درخواست پرورش اینگونه و با در نظر گرفتن این نکته که ممکن است ناملايمات زيادي تحت شرايط پرورشی کنترل شده وجود داشته باشد، ضرورت دارد که برای ارتقاء میزان مقاومت آنها و همچنین افزایش رشد و بازماندگی تحت شرایط استرسزا از ترکیبات مناسبی در تغذیه اینگونه استفاده شود تا در نهایت تولیدات آنها افزایش یابد (احمدی فر و همکاران، ۱۳۸۸). محرک های ایمنی، عصاره های بیولوژیکی و ترکیبات شیمیایی هستند که واکنش های ایمنی را از طریق افزایش عملکرد فاگوسیت سلول، افزایش فعالیت باکتری زدایی و یا سموم داخل سلولی غیراختصاصی و تولید آنتی بادی تحریک می نماید (احمدی فر و همکاران، ۱۳۸۸). استفاده از محرک های ایمنی در صنعت آبی پروری برای بالا بردن مکانیسم دفاع غیراختصاصی و نیز افزایش مقاومت در مقابل بیماری در ماهیان باله دار در حال افزایش است. استفاده از آنتی بیوتیک ها و سایر درمان های شیمیایی دارای عوارض متعددی نظیر به خطر افتادن زادوولد پاتوژن های مقاوم، مشکل ایجاد شده توسط مواد دارویی باقیمانده برای ماهیان پرورشی و اثرات زیان بخش مواد دارویی بر روی محیط زیست است (فضل الله زاده و همکاران، ۲۰۱۱). افزودن محرک های تغذیه ای به جیره غذایی ماهیان امکان استفاده از منابع پروتئینی غیرمطلوب و ارزان را برای آبی پروری معنی دار می سازد که این خود به دو دلیل مهم می باشد.

سیستم ایمنی طبیعی در ماهیان فاقد حافظه است و نیز مدت زمان پاسخ موثر در تحریک سیستم ایمنی ماهی بایستی الزاماً کوتاه تر از پاسخ های سیستم ایمنی اختصاصی و یا انطباقی باشد. هم چنین مشاهده شده است که قرارگیری طولانی مدت در معرض محرک های ایمنی منجر به سرکوب ایمنی و آستانه تحمل می گردد تا جایی که سیستم ایمنی حساسیت خود را از دست می دهد (نیا و همکاران، ۲۰۱۱).

واکسن‌های تولید شده برای ماهیان بسیار گران‌قیمت می‌باشند و قابلیت استفاده از آن‌ها برای گونه‌های خاصی از ماهیان است. این واکسن‌ها برای تمام ماهیان قابلیت مصرف ندارند و می‌توانند منجر به ایجاد بیماری شوند بنابراین به نظر می‌رسد استفاده از محرک‌های ایمنی جایگزین مناسبتری برای کاهش خطر بیماری در پرورش ماهیان است (فضل‌الله زاده و همکاران، ۲۰۱۱). امروزه تعداد زیادی از محرک‌های ایمنی کشف شده‌اند که برای گونه‌های مختلف مفید و موثر بوده‌اند. برخی از محققین نتایج مثبتی را در جهت بهبود سیستم ایمنی در تغذیه ماهیان با استفاده از محرک‌های ایمنی مشاهده نموده‌اند (بیلن و همکاران، ۲۰۱۱).

## ۱-۲- آلئوئورا:

گیاه آلئوئه ورا گیاهی همیشه سبز و از خانواده *Liliaceae* می‌باشد و بیش از ۳۰۰ گونه دارد (نی و تیزارد، ۲۰۰۴). این گیاه در ایران به صبر زرد شهرت دارد (زرگری، ۱۳۷۱). گیاه آلئوئه ورا بومی مناطق گرمسیری مثل ماداگاسکار، عربستان و در ایران در بندر سیریک (هرمزگان) از توابع میناب، بندر لنگه و بندر خمیر در محلی به نام قلعه گازی می‌باشد (محمدی، ۱۳۷۳). اندام مورد استفاده گیاه برگ آن است که در داخل آن ژل وجود دارد. ژل آلئوئه ورا شامل ۷۵ مواد مغذی از لحاظ غذایی، ۲۰۰ ترکیب فعال و ۲۰ نوع ماده معدنی ۱۲ نوع ویتامین است (جوسپاس و همان، ۲۰۰۸). از برگ‌های تازه آلئوئه ورا دو ماده بدست می‌آید، یک جزء آبی که جزء آبی که زرد رنگ، تیز و تلخ می‌باشد و یک قسمت گوشتی که مغز موسیلاژی از بافت‌های پارانشیمی است. عصاره مایع خاصیت فنولیک دارد (رینولدز، ۱۹۸۵)، علاوه بر آن دارای ترکیبات دیگری مثل مونو پلی ساکارید، تینین‌ها، استرول‌ها، اسیدهای آلی، آنزیم‌ها، ساپونین‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی می‌باشد. مهم‌ترین قسمت فعال عصاره گیاه آلئوئه ورا، آلونین است که یک هتروکسی آنتراکینون است (نوال و همکاران، ۱۹۹۶؛ گوش و همکاران، ۱۹۹۶). ژل درونی آلئوئه‌ورا شامل آب و پلی ساکارید، از جمله پکتین، سلولز، همی پلی ساکارید، گلوکومانان، آسمانان و مشتقات مانوز است (لی و همکاران؛ ۲۰۰۱). گلوکومانان و آسمانان از آلئوئه ورا برای سرعت بخشیدن به بهبود زخم، فعالیت ماکروفاژها، تحریک سیستم ایمنی بدن و دارای اثرات ضدباکتریایی و ضد ویروسی در پستانداران می‌باشد (پوگ، ۲۰۰۱؛ تان و وانیتا، ۲۰۰۴؛ کیم و همکاران، ۱۹۹۹). از خواص گیاه آلئوئه ورا می‌توان به اثرات ضد التهابی، ضد قارچی، ضد ویروسی،

مقابله با سوختگی، ضد شوره سر، التیام بخش زخم، سوختگی و نیش حشرات و پایین آوردن قند خون، مقابله با بیماری های نظیر ایدز و سرطان خون اشاره کرد (تالمدج وهمکاران، ۲۰۰۴). اثرات دارویی بسیار متنوعی مانند اثرات ترمیم ضایعات پوستی و زخم، اثرات ضد ویروسی، ضدباکتریایی و... به آن نسبت داده شده است. بعلاوه اثرات تحریک ایمنی و رشد این گیاه در حیوانات خونگرم ثابت شده است (پوگ و همکاران، ۲۰۰۱؛ تان و وانیتا، ۲۰۰۴). بیشتر این اثرات به ماده *Acemannan* مرتبط بوده که از زنجیره بلند مانوز استیله ساخته شده است (لی وهمکاران، ۲۰۰۱). علیرغم مطالعات فراوان اثرات درمانی این گیاه در حیوانات خونگرم، مطالعات محدودی در ارتباط با اثرات تحریک ایمنی و رشد این گیاه در آبزیان وجود دارد (کیم و همکاران، ۱۹۹۶؛ علیشاهی و همکاران، ۲۰۱۰).

### ۳-۱- خون و سنجش پارامترهای خون شناسی

خون بافت همبند، شامل پلاسما، رشته های فیبرین و عناصر سلولی از قبیل گلبول های سفید، قرمز و ترمبوسیت هاست (شاهسونی و همکاران، ۱۳۷۹) و حاصل موادی از قبیل یون های غیر آلی، هورمون ها، ویتامین ها، پروتئین های پلاسما می باشد که میزان آنها از ۲ تا ۶ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر متغیر است (ستاری، ۱۳۸۱). از آنجا که بافت خون شاخص مهمی در بررسی وضعیت فیزیولوژیک اندام های بدن در تشخیص سلامت، بیماری و کنترل روزانه زیستی موجودات زنده از جمله ماهیان است، بررسی هماتولوژیک نیز یکی از مهم ترین فاکتورهای زیستی در آبی پروری محسوب می شود و تاریخ این مطالعات به قرن ۱۹ میلادی برمی گردد (استوسکوپف، ۱۹۹۳).

خون به عنوان یک بافت حیاتی سیال و یک شاخص مهمی است. یکی از روش های بررسی خصوصیات فیزیولوژیک ماهیان تعیین فاکتورهای خونی است که نسبت به روش های دیگر ساده تر و کم هزینه تر است. با توجه به اینکه هر گونه ماهی الگو خونی ویژه ای دارد بررسی جداگانه ماهیان می تواند اطلاعات دقیقی از خصوصیات فیزیولوژیک آنها و منعکس کننده ارتباط خصوصیات اکوسیستم آبی و سلامتی آنها می باشد، به همین دلیل داشتن دامنه طبیعی پارامترهای خونی یک ماهی می تواند بعنوان یک شاخص زیستی مورد استفاده قرار گیرد. پارامترهای هماتولوژیک در ماهیان ممکن است تحت تأثیر عوامل فیزیولوژیکی مانند جنسیت، مراحل تولید مثل، سن، اندازه، سلامتی و عوامل خارجی نظیر فصل، دمای آب، غذا، استرس، انواع آلودگی ها و بیماری ها دچار تغییر شوند (رحیمی

بشر و همکاران، ۲۰۰۷). امروزه اهمیت علم خون شناسی برای دستیابی به وضعیت فیزیولوژیک مناسب و در ماهیان به منظور به‌گزینی گله‌های مولد به اثبات رسیده است (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۶).

### ۱-۴- لایوزیم

لایوزیم که قبلاً به عنوان مورامیداز یا ان-استیل مورامید گلیکانوئیدرولاز معروف بوده است، یک آنزیم موکولیتیک با منشاء لکوسیتی است که خاصیت دفاعی در برابر تهاجم میکروبها دارد. این آنزیم به طور وسیعی در طبیعت گسترش داشته و در ترشحات مختلف حیوانات مثل موکوس، بزاق و بسیاری از بافتها مثل خون و نیز در واکنش‌های سلولهای گیاهی یافت می‌گردد. لایوزیم باعث شکسته شدن پیوند ۴-۱، بتا، بین ان-استیل مورامیک اسید و ان-استیل گلوکوزامین در دیواره سلولی (لایه پپتیدوگلیکان) باکتریهای گرم مثبت گردیده، بدین وسیله از تهاجم این باکتریها ممانعت بعمل می‌آورد. باکتریهای گرم منفی مستقیماً توسط لایوزیم آسیب نمی‌بینند؛ هرگاه دیواره سلولی باکتریهای گرم منفی در اثر عملکرد کمپلمان، تخریب گردد و آنزیمهای دیگر به لایه پپتیدوگلیکان باکتری دسترسی یابند. لایوزیم نیز بعلاوه دسترسی به پپتیدوگلیکان غشاء، به طور موثری، فعالیت می‌نماید. علاوه بر عملکرد ضد باکتریایی، این آنزیم باعث افزایش بیگانه خواری توسط سلولهای بیگانه خوار، به صورت مستقیم و یا غیر مستقیم (بوسیله اثر افسونین‌ها)، می‌گردد.

این آنزیم هم‌چنین به ساختارهای حاوی مورامیک اسید حمله کرده و گلیکوکیتین را هیدرولیز می‌نماید. لایوزیم اثر تخریبی محدودی نیز روی کیتین (یک پلیمر خطی از ان-استیل گلوکوزامین) که جزء مهمی از دیواره سلولی قارچها و اسکلت خارجی بعضی بی‌مهرگان است دارد. حداکثر فعالیت لایوزیم در pH حدود ۶-۷ می‌باشد. نقطه ایزوالکتریک آن بین pH ۱۱-۱۰/۵ و وزن مولکولی آن حدود ۱۴/۴۰۰ دالتون می‌باشد. فعالیت بالای این آنزیم در برابر میکروکوکوس لیزودایکتیکوس<sup>۱</sup> در بافت‌های لمفوئیدی الاسموبرانشها و پلاسمای ماهیان استخوانی یافت شده است. البته فعالیت این آنزیم در طحال کمتر است. تولید لایوزیم در ماهی، همانند پستانداران به طور عمده در نوتروفیل‌ها، مونوسیت‌ها و مقدار کمتری در ماکروفاژها انجام می‌گیرد. لایوزیم دارای خصوصیات زیر می‌باشد:

---

<sup>۱</sup> Micrococcus lysodeikticus

- سلول میکروکوکوس لیزودا بکتیکوس را لیز نماید.
  - توسط سلولز پوشیده شده با کیتین جذب گردد.
  - پروتئینی با وزن مولکولی پایین باشد.
  - در pH اسیدی و دماهای بالا پایدار بوده و در شرایط قلیایی غیر فعال گردد.
- چون اطلاعات اولیه در مورد لایوزیم پرندگان حاصل گردیده است، خانواده این آنزیم کلاسیک به تیپ C<sup>۲</sup> (تیپ مرغی) معروف گردیده است. بافتهای غنی از لایوزیم ماهی شامل کلیه قدامی، پوست، آبششها، لوله گوارش و تخم می‌باشند. افزایش همزمان لایوزیم سرم با افزایش تعداد نوتروفیل‌ها و منوسیت‌های موجود در گردش خون گویای ترشح لایوزیم توسط این سلولها می‌باشد. دو نوع لایوزیم (تیپ ۱ و تیپ ۲) که از کلیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان جداسازی گردیده است، فعالیت ضدباکتریایی دارند. تیپ ۱ لایوزیم قزل‌آلا در برابر ۷ باکتری گرم منفی مؤثر می‌باشد، در صورتیکه لایوزیم سفید تخم مرغ استاندارد فقط در برابر برخی باکتریهای غیر بیماری‌زا مؤثر می‌باشد. لایوزیم ماهی خاصیت ضدباکتریایی طبیعی بیشتری در مقایسه با لایوزیم پستانداران دارد، و نه تنها در برابر باکتریهای گرم مثبت بلکه در برابر باکتریهای گرم منفی (در فقدان کمپلمان) نیز مؤثر است.
- فصل، جنسیت، بلوغ جنسی، دمای آب، استرس و عفونت، سطح لایوزیم سرم ماهیها را تحت تأثیر قرار می‌دهند. سطح لایوزیم سرم ماهی در فصل تابستان بالاتر از زمستان بوده که می‌تواند به علت پیشگیری از عفونت‌های آئروموناسی باشد. به همین صورت نرها و مولدین در حال تخم‌ریزی بالاترین فعالیت لایوزیم را دارند.
- ایمن‌سازی ماهی با آنتی‌ژنها، باعث افزایش تیتر آنتی‌بادی و لایوزیم می‌گردد، تیتر آنتی‌بادی و فعالیت لایوزیم نسبت مستقیمی با هم دارند. چنین افزایشی در سطح آنزیم می‌تواند تحت تأثیر افزایش جمعیت گلبولهای سفید در طی تکوین پاسخ ایمنی باشد؛ بنابراین عفونت باعث افزایش تعداد لوکوسیت‌ها شده و می‌تواند لایوزیم سرم را افزایش دهد، از اینرو میزان لایوزیم سرم می‌تواند ارزش تشخیصی برای تعیین وضعیت بیماری در ماهی داشته باشد (ایواما و ناکانیشی، ۱۹۹۶).

## ۱-۵- کمپلمان

---

<sup>2</sup> Chicken type

کمپلمان یک فاکتور هومورال ایمنی ذاتی بوده و نقش مهمی در حفظ کارایی سیستم ایمنی و حذف عوامل بیماریزای مهاجم ماهی دارد. کمپلمان بیش از ۲۰ جزء دارد که برخی از اجزای کمپلمان در ماهی هنوز گزارش نشده است. ولی شباهتهای زیادی بین سیستم کمپلمان در ماهی و حیوانات خونگرم وجود دارد. فعالسازی کمپلمان از طریق یکی از مسیرهای سه گانه زیر انجام می گیرد.

- مسیر کلاسیک وابسته به آنتی بادی<sup>۳</sup> (CCP)

- مسیر آلترناتیو مستقل از آنتی بادی<sup>۴</sup> (ACP)

- مسیر لکتین<sup>۵</sup>

در ماهیان استخوانی حضور هر سه مسیر تایید شده است ولی نکته جالب اینجاست که در ماهیها فعال سازی کمپلمان از طریق مسیر آلترناتیو بسیار بیشتر از مسیر کلاسیک انجام می گردد. به عبارت دیگر فعالیت کمپلمان در ماهی کمتر تحت تاثیر واکنش مستقیم بین آنتی ژن و آنتی بادی است و به همین خاطر هر چند تولید پادتن در ماهی کمتر از حیوانات خونگرم انجام می گیرد ولی فعالیت کمپلمان بیشتر از حیوانات خونگرم است. کلا سیستم ایمنی اختصاصی در ماهی ضعیف بوده و بیشتر بار دفاعی بدن در ماهی به عهده سیستم دفاع غیر اختصاصی است (ایواما و ناکانیشی، ۱۹۹۶).

#### ۱-۶- اهداف:

از آنجاییکه ماهی خاویاری (فیل ماهی) دارای ارزش اقتصادی و سیاسی در جهان می باشد بنابراین اهداف این مطالعه می تواند نشان موارد زیر باشد؛

۱. بهبود عملکرد سیستم ایمنی در ماهیان خاویاری با استفاده از محرکهای ایمنی گیاهی ارزان و در دسترس مثل آلوتوره‌ورا.

۲. جایگزین نمودن محرکهای ایمنی طبیعی با محرکهای صنعتی گران قیمت.

#### ۱-۷- فرضیه ها :

---

<sup>3</sup> Classic complement passway

<sup>4</sup> Alternative component passway

<sup>5</sup> Lecthin passway



$H_0$ : عصاره آلوئه‌ورا نمی‌تواند منجر به افزایش برخی از فاکتورهای ایمنی ذاتی در فیل ماهی شود.

$H_1$ : عصاره آلوئه‌ورا می‌تواند منجر به افزایش برخی از فاکتورهای ایمنی ذاتی در فیل ماهی شود.

## فصل دوم

### بررسی منابع

## ۲-۱- مروری بر منابع

بافت خون شاخص مهمی در بررسی وضعیت فیزیولوژیک اندام‌های بدن در تشخیص بیماری‌ها و کنترل زیستی موجودات زنده از جمله آبزیان است (سعیدی و همکاران، ۱۳۸۲)، مشروط بر اینکه میزان پارامترهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی و دامنه تغییرات آن در انواع ماهیان پرورشی از جمله ماهیان خاویاری در سنین بچه ماهی و یا بالاتر در شرایط اقلیمی و فیزیولوژیک هر منطقه مورد بررسی قرار گیرد (سعیدی و همکاران، ۱۳۸۲) عوامل استرس زا، آلاینده‌ها، تغذیه و شرایط اکولوژیکی منجر به بروز تغییرات عمده‌ای در ساختار خون ماهیان از لحاظ میزان سطح هورمون، مقدار پروتئین، گلوکز و تعداد گلبول‌های سفید و قرمز می‌گردد (بولیس، ۱۹۹۳) از آنجا که بافت خون شاخص مهمی در بررسی وضعیت فیزیولوژیک اندام‌های بدن در تشخیص سلامت، بیماری و کنترل روزانه زیستی موجودات زنده از جمله ماهیان است، بررسی هماتولوژیک نیز یکی از مهم‌ترین فاکتورهای زیستی در آبری پروری محسوب می‌شود (استوسکویف، ۱۹۹۳).

مطالعه اثرات ارگوسان بر میزان رشد، بازماندگی و شاخص‌های خونی در فیل ماهیان جوان، نشان داد که استفاده از ارگوسان در جیره غذایی فیل ماهیان جوان، میزان رشد و برخی شاخص‌های مربوط به خون را تحت تأثیر قرار می‌دهد به این صورت که سبب ایجاد تفاوت‌های معنی‌داری در میزان لنفوسیت‌ها شده ولی تفاوت آماری معنی‌داری در درصد هماتوکریت، مونوسیت، غلظت هموگلوبین، تعداد گلبول قرمز، تعداد کل لکوسیت‌ها، حجم متوسط گلبولی، وزن هموگلوبین داخل گلبولی و درصد غلظت هموگلوبین داخل گلبولی مشاهده نشد و درصد نوتروفیل‌ها و ائوزونوفیل‌ها در تیمار شاهد بیشتر از ماهیان تغذیه با جیره دارای ارگوسان بوده است (احمدی فر و همکاران، ۲۰۰۹). قلی پور و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه بررسی اثر پودر سیر و اکیناسه آ بر برخی پاسخ‌های ایمنی ذاتی و فاکتورهای رشد فیل ماهی جوان، نشان دادند که افزودن سیر و اکیناسه آ به جیره غذایی فیل ماهی جوان قابلیت تأثیرگذاری بالایی بر افزایش عملکرد رشد، فعالیت لیزوزیم سرم و کمپلمان در فیل ماهی

دارد و می‌تواند مکمل مناسبی برای جیره غذایی فیل ماهی باشد. سلواراج و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه اثر تجویز گلوکان و LPS باکتری، افزایش تعداد گلبول‌های سفید خونی را نسبت به تیمار شاهد گزارش نمودند.

تاکنون تحقیقاتی بر روی آلوئه‌ورا در ماهیان خاویاری که جزو ماهیان مهم غضروفی- استخوانی پرورشی در ایران می‌باشند، به عنوان یک ماده موثر و محرک ایمنی ارزان و در دسترس صورت نگرفته است ولی بر روی سایر ماهیان تحقیقات مختصری انجام شده است که به شرح زیر می‌باشد:

در مطالعه بررسی اثر سطوح مختلف عصاره خام آلوئه‌ورا بر شاخص‌های رشد و میزان مقاومت در برابر عفونت با باکتری آئروموناس هیدروفیلا در ماهی سیکلید (*Amphiphu slabiatus*)، نشان داد که تجویز میزان ۰/۵ و ۱ درصد عصاره خام آلوئه‌ورا باعث افزایش معنی دار در درصد افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد ویژه می‌گردد. ولی خوراک حاوی ۰/۱ درصد عصاره آلوئه‌ورا تفاوت معنی داری در فاکتورهای رشد مورد بررسی ایجاد نمود. بطور کلی می‌توان گفت مناسب ترین غلظت آلوئه‌ورا در خوراک برای تحریک رشد و افزایش مقاومت در برابر عفونت‌های باکتریایی، ۰/۵ درصد می‌باشد (علیشاهی، ۱۳۸۹). در مطالعه بررسی اثر تجویز خوراکی گیاه آلوئه‌ورا بر ایمنی اختصاصی و غیر اختصاصی ماهی کپور (*Cyprinus carpio*)، نشان داد که درصد بقای نسبی در تیمارهای تغذیه شده با آلوئه‌ورا افزایش داشته است. همچنین تعداد گلبول‌های سفید، تیترا آنتی بادی ضد آئروموناس، فعالیت لایزوزیم و قدرت ضد باکتریایی تیمارهای تغذیه شده با آلوئه‌ورا نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داد. و لیکن تفاوتی در تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هماتوکریت و فعالیت کمپلمان بین تیمارهای مختلف مشاهده نگردید. این مطالعه نشان داد که تجویز خوراکی آلوئه‌ورا باعث تحریک برخی پاسخ‌های ایمنی اختصاصی و غیر اختصاصی ماهی کپور معمولی می‌گردد (علیشاهی و همکاران، ۲۰۱۰).