# بررسی تاثیر افزودن لوامیزول در غذای ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo caspius*) بر شاخص‌های رشدی، خونی و ایمنی

**مصطفی صادقی، معصومه بحرکاظمی***

گروه شیلات، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران.

*نویسنده مسئول: bahr.kazemi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۸/۴/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۴

**چکیده**

تقویت سیستم ایمنی ماهیان به‌ویژه در گونه‌های با ارزش مانند ماهی آزاد دریای خزر، از اصلی‌ترین نیازهای پرورش دهندگان است. بنابراین انتخاب محرک ایمنی مناسب که همزمان با ارتقاء ایمنی، بر رشد ماهیان تاثیر منفی نداشته باشد از مهمترین رویکردهای محققان است. در این راستا به‌منظور بررسی تاثیر لوامیزول بر ماهی آزاد دریای خزر، ۲۴۰ قطعه بچه‌ماهی پرورشی با میانگین وزن ۰/۱۵±۱۲/۴۶ گرم به‌مدت ۶۰ روز با غذای حاوی لوامیزول با غلظت‌های ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره تغذیه شدند. گروه شاهد با جیره بدون لوامیزول تغذیه شد. در پایان آزمایش علاوه بر زیست‌سنجی بچه‌ماهیان، به‌منظور مقایسه شاخص‌های سلولی، بیوشیمیایی و ایمنی خون، خونگیری از ماهیان انجام شد. نتایج نشان داد که لوامیزول بر رشد ماهی آزاد دریای خزر تاثیر مثبت دارد. در واقع هر سه غلظت سبب بهبود میزان رشد در ماهیان شدند و بیشترین درصد افزایش وزن و ضریب رشد ویژه در تیمار ۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول به‌دست آمد. با افزایش مقدار لوامیزول، ضریب تبدیل غذایی کاهش معنی‌دار و نسبت کارایی پروتئین افزایش معنی‌دار یافت ($P<۰/۰۵$). بیشترین تعداد گلبول‌های سفید و قرمز و بیشترین مقدار هموگلوبین در تیمار۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول در کیلوگرم جیره مشاهده شد. اما تفاوت مقدار هماتوکریت بین تیمارها معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$). از نظر پروتئین کل، آلبومین، فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز بین گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. بیشترین فعالیت آنزیم لیزوزیم و بیشترین میزان ایمونوگلوبولین ام در تیمار ۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول و بیشترین میزان کمپلمان‌های C3 و C4 در تیمارهای ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میلی-گرم لوامیزول و بدون تفاوت معنی‌دار با یکدیگر اندازه‌گیری شد ($P>۰/۰۵$). بنابراین افزودن لوامیزول به‌عنوان مکمل غذایی به غذای ماهی آزاد دریای خزر تا غلظت ۱۲۰۰ میلی‌گرم می‌تواند برای بهبود رشد و ایمنی ماهی آزاد دریای خزر پیشنهاد شود.

**واژگان کلیدی:** لوامیزول، محرک ایمنی، ماهی آزاد دریای خزر.

## مقدمه

تقویت سیستم ایمنی ماهیان به‌ویژه در گونه‌های پرورشی با ارزش و اقتصادی، از اصلی‌ترین نیازهای پرورش‌دهندگان و یکی از مهمترین رویکردهای پژوهشی محققان بوده است (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱ الف). محرک‌های ایمنی باعث تسهیل در عمل سلول‌های بیگانه‌خوار می‌شوند و فعالیت‌های ضد باکتریایی آن‌ها را افزایش می‌دهند. همچنین با تحریک سلول‌های بیگانه‌خوار، پروتئین‌های کمپلمان، لیزوزیم و پاسخ‌های آنتی بادی بدن، باعث افزایش مقاومت ماهی در مقابل بیماری های مختلف می‌شوند (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 شاخص‌های رشد ماهیان می‌شوند. در واقع آن‌ها قادر هستند نقصان و ضعف ایمنی ناشی از استرس وارد شده به ماهی را جبران کنند (Kim and Rajapakse, 2005). تاکنون روش خوراکی برای تجویز محرک‌های ایمنی مانند گلوکان، لاکتوفرین، لوامیزول، کیتوزان و عصاره برخی گیاهان گزارش شده است. از مزایای روش خوراکی تجویز محرک ایمنی به ماهیان می‌توان به بدون استرس بودن این روش و مناسب بودن آن برای تمام مراحل پرورش ماهیان به‌ویژه در مراحل لاروی و بچه ماهی که استفاده از روش‌هایی مانند تزریق می‌تواند موجب تلفات شود، اشاره کرد (Raa, 1996).

لوامیزول یک داروی ضد انگل است و برای مبارزه با آلودگی با نماتودها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Shahidi *et al.*, 2011). لوامیزول از گروه ایمیدازوتیازول (Imidazothiazoles) و ایزومر چپ-گرد تترامیزول است. امروزه گزارش‌های متعددی در

ارتباط با اثر لوامیزول بر رشد و ایمنی ماهیان وجود دارد (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱ الف و ب؛ علمداری و همکاران، ۱۳۹۲؛ مشکینی و همکاران، ۱۳۹۴). این محرک موجب تسهیل عمل سلول‌های بیگانه‌خوار می‌شود و فعالیت‌های ایمنی آن‌ها را افزایش می‌دهد. هم‌چنین باعث تحریک لنفوسیت‌های T و پاسخ‌های آنتی بادی در ماهیان می‌شود (Mulero *et al.*, 2000). مسمومیت و آسیب بافتی به دنبال استفاده از لوامیزول در برخی حیوانات گزارش شده است (Gokce *et al.*, 2004).

به‌دلیل نزدیک بودن غلظت درمانی به غلظت سمی لوامیزول، در صورت عدم توجه دقیق به غلظت دارو و وزن حیوان می‌تواند مسمومیت دارویی را به‌دنبال داشته باشد. گزارشاتی نیز در ارتباط با ایجاد مسمومیت خفیف در ماهیان در استفاده از لوامیزول وجود دارد. به‌عنوان مثال استفاده از غلظت ۱ میلی‌گرم لوامیزول در کیلوگرم غذا در ماهی دورگه باس مخطط (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) سبب مسمومیت خفیف شد (Li *et al.*, 2006b)، در حالی‌که همین میزان از لوامیزول در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) غلظت بهینه معرفی شده است (مشکینی و همکاران، ۱۳۹۴).

لوامیزول بدون وارد کردن آسیب به بافت‌های بدن در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (علمداری و همکاران، ۱۳۹۲؛ مشکینی و همکاران، ۱۳۹۴)، ماهی برزم *Luciobarbus pectoralis* (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱ ب)، گربه ماهی *Pangasianodon hypophthalmus* (Mulero *et al.*, 2000)، گربه ماهی *Pseudoplatystoma reticulatum* (Zanon *et al.*, 2014)، کپور معمولی *Cyprinus carpio* (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱ الف)، گونه *Cirrhinus mrigala* (Bhatnagar and Lamba, 2016) و تیلاپیای نیل *Oreochromis niliticus* (Abdelkhalek *et al.*, 2008) مورد استفاده قرار گرفته است. در بیشتر تحقیقات بالا، این ماده دارای تاثیر مثبت بر میزان رشد و شاخص‌های ایمنی و در برخی مانند کپور معمولی (Maqsood *et al.*, 2009) بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون بوده است، اگرچه غلظت بهینه لوامیزول گزارش شده برای گونه‌های مختلف، متفاوت است. همچنین تاثیر مثبت این محرک بر افزایش بازماندگی، بعد از اعمال یک عامل استرس‌زا مانند استرس تراکم و یا جابه‌جایی (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱ ب؛ مشکینی و همکاران، ۱۳۹۴) گزارش شده است.

ماهی آزاد دریای خزر یکی از گونه‌های مهم دریای خزر است که به‌دلیل صید بی‌رویه و آلودگی‌ها، با شیبی بسیار تند رو به انقراض رفته است. بنابراین تکثیر و پرورش این گونه با ارزش و بومی دریای خزر در جهت حفظ و پیشگیری از نابودی کامل آن امری ضروری است و بهبود ایمنی این گونه در شرایط پرورش مصنوعی اهمیت زیادی دارد (بحرکاظمی و همکاران، ۱۳۸۵). بنابراین در این تحقیق امکان افزایش میزان ایمنی و رشد در ماهی آزاد دریای خزر با استفاده از تجویز خوراکی سطوح متفاوت لوامیزول به منظور معرفی غلظت بهینه بررسی شد. انتخاب غلظت‌های لوامیزول در این تحقیق، بر مبنای نتایج بهینه در آزاد ماهیان و سایر گونه‌های پرورشی انجام شد. به‌عنوان مثال غلظت بهینه لوامیزول در قزل‌آلای رنگین‌کمان ۱۰۰۰ میلی‌گرم درکیلوگرم غذا (مشکینی و همکاران، ۱۳۹۴)، کپور معمولی، ۲۵۰ میلی‌گرم درکیلوگرم (Maqsood *et al.*, 2009)، ماهی *Clarias fuscus* ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (Li *et al.*, 2006a) و ماهی *Pseudoplatystoma reticulatum* تا ۵۰۰ میلی‌گرم درکیلوگرم (Zanon *et al.*, 2014) گزارش شده است. از این‌رو در این تحقیق از میزان ۳۰۰ میلی‌گرم به‌عنوان اولین غلظت و ۲ برابر آن (۶۰۰ میلی‌گرم) و ۲ برابر ۶۰۰ میلی‌گرم (۱۲۰۰ میلی‌گرم) در هر کیلوگرم از غذا استفاده شد تا اثر مقادیر بیشتر لوامیزول در غذای این ماهی سنجیده شود.

## مواد و روش‌ها

**شرایط پرورش و تغذیه:** این تحقیق در پاییز ۱۳۹۷ در مرکز پرورش ماهی جمشید واقع درشهرستان فیروزکوه (نمرود) انجام شد. تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی آزاد دریای خزر از مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی تنکابن تهیه و به کارگاه منتقل شدند. پس از دو هفته سازگاری با شرایط کارگاه ، تعداد ۲۴۰ قطعه ماهی

جدول ۱ - آنالیز تقریبی جیره آزمایشی مورد استفاده در تحقیق حاضر.

| نوع ترکیب | میزان (درصد) |
|---|---|
| پروتئین | ۴۴ |
| چربی | ۱۴ |
| خاکستر | ۳/۷۶ |
| رطوبت | ۱۰ |

(میانگین وزن ۰/۱۵±۱۲/۴۶ گرم) به‌طور تصادفی به ۴ حوضچه بتونی با ابعاد ۳×۰/۸×۰/۸ متر و حجم آبگیری ۱/۲ متر مکعب منتقل شدند. لازم به ذکر است که هر حوضچه از طول به سه قسمت مساوی (۱×۰/۸×۰/۸ متر) تقسیم شد و هر قسمت با حجم آبگیری ۴۰۰ لیتر توسط ۲۰ ماهی ذخیره‌سازی گردیدند. در این آزمایش گروه شاهد با غذای بدون لوامیزول تغذیه شد و تیمارهای آزمایشی، هر یک با سه تکرار و هر تکرار شامل ۲۰ قطعه ماهی، مقادیر ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول (زاگرس فارمد پارس، ایران) را به شکل لوامیزول هیدرو کلراید و با درصد خلوص ۳۰ درصد به‌صورت خوراکی به ازای هر کیلوگرم غذا دریافت کردند. غذای پایه مورد استفاده در این تحقیق پلت اکسترود قزل‌آلای رنگین‌کمان (ساخت کارخانه بیضائ شیراز) بود که ارزش غذایی آن در جدول ۱ آمده است. جیره‌های آزمایشی به‌صورت دستی ساخته شد. به ازای هر کیلوگرم غذا، مقدار مورد نیاز لوامیزول که ماده‌ای پودری شکل و محلول در آب است در۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و به مخلوط اجزای غذایی اضافه شد. جیره به‌صورت خمیر درآمد و با چرخ گوشت به پلت تبدیل شد. پلت‌های تهیه شده، در گرمخانه به‌مدت ۴۸ ساعت خشک و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (رحیم‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۰). غذادهی بچه ماهیان با جیره‌های آزمایشی به مدت ۶۰ روز، با توجه به میزان اشتهای آن‌ها (Abdel- Tawwab *et al.*, 2017a, b) و حداکثر تا ۴ درصد وزن ماهیان در ۲ نوبت صورت گرفت. آب مورد استفاده در این تحقیق، آب چشمه متعلق به مرکز بود که پس از هوادهی وارد مجموعه شد. فاکتورهای کیفی آب همچون دما، اکسیژن و pH به‌صورت روزانه با استفاده از مولتی‌متر (HI 9828, Multiparameter Meter, HANNA Instruments, USA) اندازه‌گیری شد. میانگین مقادیر دما، اکسیژن و pH به‌ترتیب ۰/۵±۱۲ درجه سانتی‌گراد، ۰/۳±۷/۵ میلی‌گرم در لیتر و ۷/۵ بود.

**محاسبه شاخص‌های رشد:** در پایان دوره ۶۰ روزه آزمایش شاخص‌های مربوط به میزان رشد و تغذیه بر اساس فرمول های زیر، محاسبه شدند (Li *et al.*, 2006a).

افزایش وزن بدن (گرم) = [(وزن نهایی (گرم)- وزن اولیه (گرم)]

افزایش وزن بدن (درصد) = [(وزن نهایی (گرم)- وزن اولیه (گرم) / وزن اولیه (گرم)] × ۱۰۰

نرخ رشد ویژه (درصد در روز) = (لگاریتم نپرن وزن نهایی- لگاریتم نپرن وزن ابتدایی) / طول دوره آزمایش به روز] × ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی = غذای خورده شده (گرم) / افزایش وزن ماهی (گرم)

نسبت کارایی پروتئین = وزن به دست آمده (گرم) / پروتئین خورده شده (گرم)

بازماندگی(درصد) = (تعداد ماهیان در انتهای دوره / تعداد ماهیان در ابتدای دوره) × ۱۰۰

**سنجش پارامترهای خونی:** در پایان دوره ۶۰ روزه آزمایش، پس از گذشتن ۲۴ ساعت از قطع غذادهی، از هر تیمار آزمایشی تعداد ۲۷ بچه‌ماهی (۹ قطعه ماهی از هر تکرار) به‌طور تصادفی انتخاب شدند. برای سنجش فاکتورهای خونی، ماهی‌ها با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره گل میخک بیهوش و خونگیری از ناحیه ساقه دمی انجام شد (رضایی و همکاران، ۱۳۹۲). به‌دلیل حجم کم خون در بچه-ماهیان، خون گرفته شده از هر ۳ ماهی با هم ترکیب و به‌عنوان یک نمونه در نظر گرفته شد. دو میلی‌لیتر از خون دریافت شده، برای سنجش سلول‌های خونی، در لوله‌های استریل حاوی ماده ضد انعقاد هپارین و دو میلی‌لیتر برای سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی و ایمنی در لوله‌های استریل فاقد ماده ضد انعقاد ریخته شد. جهت جداسازی سرم، نمونه خون در لوله‌های

فاقد ضد انعقاد به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس با استفاده از نمونه‌بردار سرم جدا شده، برداشته شد و تا زمان بررسی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد فریزر نگهداری شد (Blaxhall and Daisley, 1973).

شمارش گلبول قرمز و گلبول سفید با استفاده از روش هموسیتومتر (Houston *et al*., 1996)، میزان هماتوکریت خون با استفاده از روش میکروهماتوکریت (Rehulka, 2000) و هموگلوبین خون به روش سیانومت هموگلوبین با استفاده از کیت و دستگاه اسپکتروفوتومتر (Hettich، آلمان) انجام شد (Blaxhall and Daisley, 1973).

**سنجش پارامترهای بیوشیمیایی خون:** آنزیم‌های کبدی شامل آسپارتات ترانس آمیناز (AST) و آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) بودند. این دو آنزیم از مهمترین آنزیم‌های گروه آمینوترانسفرازها هستند که با انتقال واحدهای آمین، آلفا-کتو اسید را به آمینو اسیدها کاتالیز می‌کنند. برای اندازه‌گیری فعالیت دو آنزیم فوق از روش پیشنهاد شده فدراسیون بین‌المللی شیمی بالینی (IFCC) با استفاده از دستگاه اتوانالایزر (Eurolyser، اتریش) و کیت آزمایشگاهی پارس آزمون (پارس آزمون، ایران) در طول موج ۳۴۰ نانومتر استفاده شد (Thomas, 1998). پروتئین کل به روش بیوره اندازه‌گیری شد. در این روش، در شـــرایط قلیائی یون‌های کوپریک با اتم‌های کربونیل اکســـیژن و آمیـــد نیتروژن یک کمپلکس آبی مایل به بنفش ایجاد می‌کنند و شدت رنگ حاصل متناسب با میزان پروتئین است. شدت جذب نور در طول موج ۵۵۰ نانومتر خوانده و میزان پروتئین بر اساس فرمول های مربوط محاسبه شد (Johnson *et al*., 1999).

میزان آلبومین به روش برموکروزول-گرین با استفاده از کیت آلبومین شرکت پارس آزمون اندازه-گیری شد. در ایـــن روش، آلبومین پلاســـما به‌طور انتخابی با برموکرزول گرین تشکیل یک کمپلکس سبز مایل به آبی می‌دهد که شـــدت رنگ آن به غلظت آلبومین بستگی دارد. شـــدت جذب نور در طول مـــوج ۶۳۰ نانومتر خوانده و میزان آلبومین بر اساس فرمول‌های مربوط محاسبه شد (Doumas *et al*., 1971).

**سنجش پارامترهای ایمنی:** فاکتورهای ایمنی مورد بررسی شامل ایمونوگلوبین‌ام (IgM)، میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم و میزان کمپلمان C3 و C4 بودند. سطح لیزوزیم سرم خون بر اساس روش کدورت-سنجی که بر توانایی لیزوزیم در لیز کردن باکتری *Micrococus lysodeikticus* است، اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۲۵ میکرولیتر از سرم خون به هر یک از خانه‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ته صاف انتقال داده شد و با ۱۷۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری فوق (Sigma) در ۷۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (مولاریته ۰/۰۵ و pH برابر ۶/۲) مخلوط شد. میکروپلیت‌ها در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و میزان جذب نوری در طول موج ۶۷۰ نانومتر در زمان‌های ۱۵ و ۱۸۰ ثانیه خوانده شد. هر واحد فعالیت آنزیم به‌صورت مقادیری از آنزیم که باعث کاهش جذب به میزان ۰/۰۰۱ به ازای هر دقیقه در میلی لیتر سرم شود محاسبه گردید. میزان لیزوزیم موجـود در هـر نمونـه سرم با استفاده از منحنی استاندارد لیـزوزیم سـفیده تخـم مرغ (Sigma) محاسبه شد (Eliss, 1990). میزان ایمونوگلوبولین بر اساس روش کدورت سنجی و بر مبنای کدورت حاصل از اتصال آنتی‌ژن و آنتی‌بادی ضد آن ارزیابی شد و برای کالیبره کردن دستگاه از کالیبراتورهای تجاری Clinical Laboratory استفاده شد. داده‌ها به‌صورت میلی‌گرم در لیتر بیان شد (Thomas, 1998).

میزان کمپلمان‌ها نیز به روش نفلومتری در طول موج محدوده ۴۰۰ نانومتر انجام شد. در این روش سرم با آنتی سرم رسوب می‌دهد و کدورتی ایجاد می‌کند که در ۴۰۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. نفلومترهای سنجش ایمنی از پرتوهای نور در محدوده ۴۰۰ تا ۸۴۰ نانومتر استفاده می‌کنند و قطر کمپلکس‌های آنتی بادی تقریباً ۲۵۰ تا ۱۵۰۰ نانومتر است (Davis *et al*., 1996). براساس دستورالعمل کیت (Binding Site, UK)، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های سرمی با بافر کیت به نسبت ۱ به ۱۱ رقیق شد. سپس به میزان ۴۰ میکرولیتر از آنتی سرم اختصاصی به نمونه اضافه و به خوبی مخلوط و بلافاصله با استفاده از دستگاه نفلومتری (Minineph, Binding Site, UK) میزان جذب نوری ثبت شد. با کمک منحنی استاندارد غلظت

جدول ۲ – شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای در بچه ماهیان آزاد تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح متفاوت لوامیزول (n= ۲۴۰).

| شاخص | تیمار شاهد | ۳۰۰ میلی‌گرم لوامیزول | ۶۰۰ میلی‌گرم لوامیزول | ۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول |
|---|---|---|---|---|
| وزن اولیه (گرم) | ۱۲/۴۶± ۰/۱۵ | ۱۲/۵۰±۰/۱۰ | ۱۲/۵۶±۰/۰۵ | ۱۲/۴۶±۰/۰۵ |
| وزن نهایی (گرم) | ۴۲/۵±۰/۵$^{a}$ | ۴۸/۴۸±۰/۴۷ $^{b}$ | ۴۹/۴۸±۰/۲۷$^{c}$ | ۵۰/۶۵±۰/۴۰$^{d}$ |
| افزایش وزن بدن (گرم) | ۳۰/۰۳±۰/۵۶$^{a}$ | ۳۵/۹۸±۰/۴۳$^{b}$ | ۳۶/۹۱±۰/۳۲$^{c}$ | ۳۸/۱۸±۰/۴۵$^{d}$ |
| افزایش وزن بدن (درصد) | ۲۴۰/۹۵±۶/۶۴$^{a}$ | ۲۸۷/۸۷±۳/۴ $^{b}$ | ۲۹۳/۷۸±۳/۸۴$^{b}$ | ۳۰۶/۲۹± ۴/۸۵$^{c}$ |
| نرخ رشد ویژه (درصد در روز) | ۰/۸۸.±۰/۰۱ $^{a}$ | ۰/۹۸±۰/۰۵$^{b}$ | ۰/۹۹±۰/۰۵ $^{b}$ | ۱/۰۱±۰/۰۵ $^{c}$ |
| ضریب تبدیل غذایی | ۱/۶۶±۰/۰۳ $^{c}$ | ۱/۳۴±۰/۰۱ $^{b}$ | ۱/۳۵±۰/۰۱$^{b}$ | ۱/۳۱±۰/۰۱ $^{a}$ |
| نسبت کارایی پروتئین | ۰/۹۷±۰/۰۱$^{a}$ | ۱/۱۷±۰/۰۱ $^{b}$ | ۱/۲۰±۰/۰۱$^{c}$ | ۱/۲۴±۰/۰۱ $^{d}$ |
| بازماندگی (درصد) | ۱۰۰±۰/۰۰ | ۱۰۰±۰/۰۰ | ۱۰۰±۰/۰۰ | ۱۰۰±۰/۰۰ |

اعدادی که در هر ردیف با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند ($P$>۰/۰۵).

فاکتورهای مذکور اندازه‌گیری و بر اساس میلی‌گرم در دسی لیتر بیان شد.

**تجزیه و تحلیل آماری:** این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی و در یک گروه شاهد و ۳ تیمار آزمایشی انجام شد. در بررسی با آزمون Leven، توزیع داده‌ها همگن بود و آزمون شاپیرو-ویلک نیز نرمال بودن توزیع داده‌ها را تایید کرد. جهت آنالیز داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از تست تعقیبی دانکن استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم-افزار SPSS 19 و در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام و داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شدند.

## نتایج

**شاخص‌های رشد و تغذیه:** در بین تیمارهای آزمایشی بیشترین مقدار افزایش وزن بدن معادل ۳۸/۱۸±۰/۴۵ گرم مربوط به تیمار ۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول در هر کیلوگرم جیره بود (جدول ۲) و کمترین مقدار آن به گروه شاهد معادل ۳۰/۰۳±۰/۵۶ گرم تعلق داشت و بین تیمارهای حاوی سطوح متفاوت لوامیزول نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($P$<۰/۰۵). بیشترین مقدار ضریب رشد ویژه مربوط به تیمار ۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول (۱/۰۱±۰/۰۵ درصد در روز) و کمترین مقدار آن ( ۰/۸۸±۰/۰۱ درصد در روز) به تیمار شاهد تعلق داشت و بین تیمارهای حاوی لوامیزول نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($P$<۰/۰۵). در دوره پرورش در تیمارهای تحت بررسی تلفاتی مشاهده نشد (جدول ۲).

از نظر ضریب تبدیل غذایی، بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($P$<۰/۰۵). بیشترین مقدار این شاخص معادل ۱/۶۶±۰/۰۳ مربوط به گروه شاهد و کمترین مقدار آن معادل ۱/۳۱±۰/۰۱ متعلق به تیمار ۱۲۰۰ میلی-گرم لوامیزول در هر کیلوگرم جیره بود. همچنین بیشترین و کمترین مقدار نسبت کارایی پروتئین به-ترتیب در تیمار۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول و گروه شاهد اندازه‌گیری شد (جدول ۲).

**شاخص‌های خون شناسی:** از نظر تعداد گلبول‌های قرمز تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای حاوی سطوح متفاوت لوامیزول نسبت به گروه شاهد مشاهده شد ($P$<۰/۰۵). تیمارهای دریافت کننده ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول در هر کیلوگرم جیره دارای بیشترین تعداد گلبول قرمز بود. مقدار هموگلوبین در تیمار ۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان ($P$<۰/۰۵). تیمار۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول در هر کیلوگرم جیره دارای بیشترین مقدار و گروه شاهد دارای کمترین مقدار هموگلوبین بودند. مقدار هماتوکریت در تیمارهای حاوی سطوح متفاوت لوامیزول تفاوت معنی‌داری نسبت به یکدیگر و گروه شاهد نداشت ($P$>۰/۰۵). تعداد گلبول‌های سفید نیز در گروه شاهد کمترین مقدار بود و تنها با تیمار ۳۰۰ میلی-گرم لوامیزول تفاوت معنی‌دار نداشت. بیشترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمار ۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول

جدول ۳ - شاخص‌های خون‌شناسی در بچه ماهیان آزاد تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی سطوح متفاوت لوامیزول (n=۱۰۸).

| فاکتور های سلولی | لوامیزول در جیره (میلی‌گرم در کیلوگرم) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ۰ | ۳۰۰ | ۶۰۰ | ۱۲۰۰ |
| گلبول قرمز (×۱۰$^{۶}$ سلول در میکرولیتر) | ۱/۱۹±۰/۰۰۱۵$^{a}$ | ۱/۲۲±۰/۰۰۲۵$^{ab}$ | ۱/۲۳±۰/۰۰۱۱$^{b}$ | ۱/۲۳±۰/۰۰۱۲$^{b}$ |
| هموگلوبین ( گرم در دسی‌لیتر ) | ۸/۴۶±۰/۳۰$^{a}$ | ۸/۵۶±۰/۲۰$^{ab}$ | ۹/۰۳±۰/۴۵$^{ab}$ | ۹/۱۶±۰/۲۰$^{b}$ |
| هماتوکریت ( درصد) | ۳۴/۶۶±۰/۵۷ | ۳۴/۳۳±۱/۱۵ | ۳۵/۳۳±۰/۵۷ | ۳۶/۰۰±۱/۰۰ |
| گلبول سفید (×۱۰$^{۳}$ سلول در میکرولیتر) | ۱۰/۰۰±۰/۲$^{a}$ | ۱۰/۳۳±۰/۱۵$^{a}$ | ۱۱/۳۷±۰/۱۵$^{b}$ | ۱۳/۳۳±۰/۳۸$^{c}$ |

اعدادی که در هر ردیف با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند ($P$>۰/۰۵).

جدول ۴ – شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی خون در بچه ماهیان آزاد تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح متفاوت لوامیزول (n=۱۰۸).

| تیمار<br>شاخص | شاهد | ۳۰۰ میلی‌گرم<br>لوامیزول | ۶۰۰ میلی‌گرم<br>لوامیزول | ۱۲۰۰ میلی‌گرم<br>لوامیزول |
|---|---|---|---|---|
| پروتئین کل (گرم در دسی‌لیتر) | ۴/۴۳±۰/۲۳ | ۴/۴۰±۰/۲۰ | ۴/۳۶±۰/۰۹ | ۴/۴۹±۰/۲۴ |
| آلبومین (گرم در دسی‌لیتر) | ۲/۸۴±۰/۱۰ | ۲/۶۸±۰/۰۶ | ۲/۷۸±۰/۱۵ | ۲/۹۰±۰/۱۵ |
| ALT (واحد بین المللی در لیتر) | ۷/۱۵±۱/۵۰ | ۷/۴۷±۱/۶۵ | ۸/۱۳±۱/۹۰ | ۹/۸۱±۲/۹۵ |
| AST (واحد بین المللی در لیتر) | ۲۲/۰۰±۳/۴۵ | ۲۳/۶۹±۱/۵۷ | ۲۲/۴۶±۱/۱۱ | ۲۳/۸۷±۰/۹۳ $^{a}$ |
| ایمونوگلوبولین (میلی‌گرم در لیتر) | ۲۸۵/۲۰±۹/۱۶$^{a}$ | ۲۹۶/۳۶±۸/۰۲$^{a}$ | ۳۵۵/۰۰±۵/۵۴$^{b}$ | ۳۸۴/۸۳±۹/۳۹ $^{c}$ |
| لیزوزیم (میکروگرم در میلی‌لیتر در دقیقه) | ۲۰۰/۱۹±۰/۵۷$^{a}$ | ۲۰۰/۴۷±۰/۶۰ $^{a}$ | ۳۰۰/۳۴±۱/۴۰$^{b}$ | ۵۰۰/۹۷±۱/۴۴$^{c}$ |
| C3 (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) | ۴۳/۳۶±۶/۰۶$^{a}$ | ۵۱/۲۳±۷/۲۵ $^{b}$ | ۶۲/۵۳±۱۴/۳۵$^{c}$ | ۵۴/۱۶±۱۰/۳۵ $^{bc}$ |
| C4 (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) | ۱۳/۷۰±۱/۸۰$^{a}$ | ۱۵/۷۳±۲/۰۰$^{ab}$ | ۱۷/۰۶±۰/۲۰$^{bc}$ | ۲۰/۲۳±۲/۰۲$^{c}$ |

اعدادی که در هر ردیف با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند ($P$>۰/۰۵).

شمارش شد که با تیمارهای دیگر دارای تفاوت معنی‌دار بود (جدول ۳).

**شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی خون:** از نظر پارامترهای بیوشیمیایی (پروتئین کل و آلبومین) و آنزیمی (فعالیت آنزیم‌های AST و ALT)، بین تیمارها و گروه شاهد تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد ($P$>۰/۰۵). مقدار فعالیت آنزیم لیزوزیم در تیمار۱۲۰۰میلی‌گرم لوامیزول در هر کیلوگرم جیره نسبت به گروه شاهد و تیمارهای دیگر دارای تفاوت معنی‌دار بود ($P$<۰/۰۵). تیمار ۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول و شاهد به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقادیر فعالیت لیزوزیم بودند. مقدار ایمونوگلوبولین در تیمارهای ۶۰۰ و۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول در هر کیلوگرم جیره نسبت به گروه شاهد دارای تفاوت معنی دار بود ($P$<۰/۰۵). تیمار۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول دارای بیشترین مقدار ایمونوگلوبولین بود که با تیمار ۶۰۰ میلی‌گرم نیز تفاوت معنی‌دار نشان داد. بیشترین مقدار کمپلمان‌های C3 و C4، در تیمارهای حاوی ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول اندازه‌گیری شد که با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند ($P$>۰/۰۵). کمترین مقدار کمپلمان‌های C3 و C4 در گروه شاهد مشاهده شد (جدول ۴).

## بحث

در مطالعه حاضر نتایج مربوط به پارامترهای رشد نشان‌دهنده اثر معنی‌دار مثبت تیمارهای حاوی لوامیزول در مقایسه با گروه شاهد بود و بیشترین درصد افزایش وزن و ضریب رشد ویژه در تیمار ۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول حاصل شد. در دو مطالعه انجام شده در گونه قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم لوامیزول نتایج مشابهی به‌دست آمد و پارامترهای رشد ارتقا یافت (علمداری و همکاران، ۱۳۹۲؛ مشکینی و همکاران، ۱۳۹۴). اما در گونه *Pseudoplatystoma reticulatum* استفاده از لوامیزول به‌صورت خوراکی با مقادیر ۵۰ تا ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا به‌مدت ۸ هفته نتوانست بر روی میزان رشد اثر معنی‌دار داشته باشد (Zanon *et al.*, 2014). گزارش‌ها در مورد گونه‌های گرم‌آبی حاکی از این است که لوامیزول در غلظت‌های کمتر موثر بوده است. به‌طوری‌که در تیلاپیای نیل، ماهی *Cirrhinus mrigala* و هیبرید باس مخطط (*Morone chrysops*× *Morone saxatilis*) به-

ترتیب غلظت‌های ۲۲۵، ۲۵۰ و کمتر از ۵۰۰ میلی-گرم به‌عنوان غلظت‌های بهینه بیان شده است، به‌گونه ای که در هیبرید باس مخطط، غلظت ۱۰۰۰ میلی-گرم لوامیزول سبب بروز علائم مسمومیت مزمن در ماهیان شد (Li *et al*., 2006b; Abdelkhalek *et al*., 2008; Bhatnagar and Lamba, 2016). این در حالی است که در ماهی آزاد دریای خزر تا غلظت ۱۲۰۰ میلی‌گرم استفاده شده در این تحقیق که اولین گزارش در استفاده از این محرک ایمنی است، افزایش معنی‌دار در میزان رشد و جذب غذا و ارتقا شاخص‌های خونی و ایمنی مشاهده شد. بهبود فاکتورهای رشد متعاقب تجویز این مکمل غذایی را می‌توان علاوه بر اثر مستقیم ماده موثره آن بر رشد، به اثر آن در تحریک ایمنی غیر اختصاصی ماهی نسبت داد، زیرا بهبود فاکتورهای ایمنی ماهی به‌طور غیر مستقیم موجب بهبود رشد در ماهی می-شود (Raa, 1996).

تفاوت در نتایج شاخص‌های رشد در گونه‌های مختلف را می‌توان با اندازه گونه، ترکیبات جیره و اثرات متقابل آن‌ها، غلظت محرک، اختصاصات سیستم گوارشی و شرایط پرورشی نظیر سیستم نگهداری و پارامترهای کمی وکیفی آب مرتبط دانست. به‌عنوان مثال، عاملی مانند دما می‌تواند باعث عدم بروز اثرات مثبت یک محرک شود و اثر متقابل محرک‌ها به‌ویژه محرک‌های شیمیایی با سایر اجزای جیره می‌تواند در رشد تاثیرگذار باشد (Yokoyama *et al*., 2006).

در این تحقیق، در هیچ‌یک از تیمارهای حاوی محرک همانند گروه شاهد تلفاتی مشاهده نشد. براساس گزارش‌های موجود استفاده از محرک‌های ایمنی غالبا به‌دنبال اعمال یک عامل استرس‌زا، باعث ایجاد اثرات معنی‌دار در میزان بازماندگی می‌شود. به-عنوان مثال، در گونه برزم استفاده از لوامیزول در میزان بازماندگی تفاوت معنی‌دار ایجاد نکرد، اما بعد از پایان دوره و به‌دنبال اعمال استرس تراکم، میزان تلفات در تیمار دریافت کننده لوامیزول در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌دار یافت (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱ ب). در گزارش دیگری آمده است که استفاده از ۲۵۰ میلی‌گرم لوامیزول در کیلوگرم در جیره غذایی کپور معمولی باعث افزایش درصد بازماندگی در برابر باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* شده است (Maqsood *et al*., 2009).

در این تحقیق در هر سه تیمار حاوی محرک، ضریب تبدیل غذایی تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد داشت که نشان می‌دهد این محرک توانسته است باعث بهبود مصرف خوراک شود. نسبت کارایی پروتئین نیز در تیمارهای تغذیه شده با سطوح متفاوت این محرک افزایش یافت که نشان‌دهنده تاثیر معنی‌دار لوامیزول در بهبود هضم و جذب پروتئین‌ها است. در استفاده از لوامیزول در گونه برزم و کپور معمولی نیز کاهش ضریب تبدیل غذایی گزارش شده است (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱ الف و ب).

تغییر در شاخص‌های خونی تحت تاثیر عوامل محیطی، می‌تواند وابسته به ویژگی‌های گلبول‌های قرمز مانند تغییر در اندازه سلول و میزان ذخیره هموگلوبین و یا وابسته به غلظت پلاسما باشد که به صورت تغییر در تعداد گلبول‌ها در واحد حجم اثر می‌گذارد (Houston *et al*., 1996). در تحقیق جاری بیشترین تعداد گلبول‌های سفید و قرمز و همچنین بیشترین مقدار هموگلوبین در تیمارهای حاوی لوامیزول مشاهده شد. بر خلاف تحقیق حاضر، در قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده از لوامیزول بر فاکتورهای خونی اثر معنی‌دار نداشت (علمداری و همکاران، ۱۳۹۲). علت این مورد را می‌توان به غلظت مورد استفاده مربوط دانست، زیرا بیشترین غلظت مورد استفاده این محققان ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا بود. یافته‌های Maqsood و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که مصرف خوراکی لوامیزول در ماهی کپور معمولی موجب افزایش گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین شده است که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. این نتایج نشان‌دهنده تاثیر مثبت لوامیزول بر عملکرد بافت خونساز و بهبود شاخص‌های خونی است (Maqsood *et al*., 2009).

بیشترین تعداد گلبول‌های سفید در این تحقیق در تیمار ۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول مشاهده شد. افزایش گلبول‌های سفید در تیمارهای حاوی لوامیزول در سایر تحقیقات نیز گزارش شده است (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱ الف و ب). افزایش تعداد گلبول‌های سفید بخشی از دفاع ایمنی ماهی است و ایمنی سلولی و خونی به آن وابسته است. اگرچه

افزایش تعداد گلبول‌های سفید می‌تواند به‌دنبال بروز یک بیماری عفونی و استرس‌زا نیز روی دهد، از آن-جاکه در این تحقیق چالش بیماری‌زا و استرس‌زا بر روی ماهیان اعمال نشد، احتمالا! این افزایش، به دلیل تاثیر لوامیزول بر افزایش تکثیر گلبول‌های سفید خون در بافت‌های خون‌ساز ماهی بوده است (Iwama and Nakanishi, 1996).

در بررسی پارامترهای بیوشیمیایی و آنزیمی خون نتایج قدری متفاوت بود و در هیچ کدام از پارامترهای مورد سنجش تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. آلبومین مهمترین پروتئین سرم است که توسط کبد تولید می‌شود، بنابراین در زمان آسیب‌های کبدی مقدار آن کاهش می‌یابد. نقش آلبومین در حفظ فشار اسمزی و خنثی کردن اثر فلزات سمی، دارو و دیگر مواد شیمیایی در سرم تایید شده است (Doumas *et al*., 1971). فعالیت آنزیم ALT نیز در نتیجه آسیب به غشا کبد افزایش می‌یابد. بالا رفتن میزان فعالیت آنزیم AST در پلاسما مربوط به شکستن میتوکندری‌ها در نتیجه تورم بافت کبدی است و در زمان آسیب‌های ماهیچه‌ای نیز افزایش می‌یابد (Thomas, 1998). در این تحقیق تفاوت معنی‌دار در مقدار این پارامترها بین گروه شاهد و سه تیمار دیگر مشاهده نشد که احتمال بر عدم آسیب‌رسانی هر یک از سه غلظت محرک به‌کاررفته در تحقیق حاضر دارد. لازم به ذکر است که مقادیر پروتئین کل، آلبومین و ایمنوگلوبولین در این تحقیق، در سطوح متداول گزارش شده در سرم خون آزاد ماهیان (پروتئن کل: ۳۰ تا ۷۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، آلبومین: ۱۰ تا ۳۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و ایمنوگلوبولین: ۲-۷ میلی‌گرم در لیتر) بود (غرقی و رضوانی، ۱۳۹۷).

در ماهیان تمام انواع سلول‌هایی که مسئول پاسخ ایمنی هستند در دیواره روده وجود دارند که شامل لنفوسیت نوع B و T و ماکروفاژها هستند. در واقع در ماهیان نیز مانند جانوران خونگرم، روده با سیستم ایمنی در ارتباط است و در جذب ماکرومولکول‌ها و تولید آنتی بادی در پاسخ به آنتی ژن‌ها عمل می‌کند. بنابراین افزودن محرک‌ها به غذای ماهیان، ایمنی و بازده رشد را در آن‌ها ارتقا می دهد (Li *et al*., 2006a). در ارتباط با لوامیزول این امر از طریق تعدیل پاسخ‌های ایمنی سلولی و بهبود عملکرد سلول‌های T صورت می‌گیرد (Iwama and Nakanishi, 1996). در این تحقیق بیشترین میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم، ایمونوگلوبولین در تیمار ۱۲۰۰ میلی‌گرم و بیشترین میزان کمپلمان‌های C3 و C4 در تیمارهای ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول به-دست آمد. در قزل‌آلای رنگین‌کمان نیز ارتقا سطح کمپلمان‌ها، ایمونوگلوبولین و فعالیت لیزوزیم سرم در تیمار تغذیه شده با ۱۰۰۰ میلی‌گرم لوامیزول گزارش شده است (مشکینی و همکاران، ۱۳۹۴). بر اساس گزارش Mulero و همکاران (۲۰۰۰) لوامیزول توانست باعث تحریک ایمنی غیر اختصاصی در گربه ماهی *Pangasianodon hypophthalmus* نیز بشود (Mulero *et al*., 2000). لازم به ذکر است در برخی تحقیقات نتایج متفاوتی هم گزارش شده است. به‌عنوان مثال می‌توان به تحقیقی که Zanon و همکاران (۲۰۱۴) در گربه ماهی *Pseudoplatystoma reticulatum* انجام دادند اشاره کرد که استفاده از ۵۰۰ میلی‌گرم لوامیزول باعث افزایش فعالیت لیزوزیم شد اما بر ایمونوگلوبولین تاثیر معنی‌دار نداشت. به‌نظر می‌رسد غلظت مورد استفاده از محرک فوق عامل اصلی این تفاوت باشد، زیرا تا ۵۰۰ میلی‌گرم غلظت لوامیزول که در این تحقیق استفاده شد، برخلاف تحقیق حاضر در رشد نیز تاثیر معنی‌دار نداشت. در گونه هیبرید باس مخطط با وجود بهبود رشد و جذب غذا در غلظت‌های کمتر از ۵۰۰ میلی‌گرم میزان هماتوکریت و لیزوزیم تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت (Li *et al*., 2006b). همچنین در گونه تیلاپیای نیل با اضافه کردن لوامیزول، مقدار پروتئین کل سرم تغییر نکرد که نشان می‌دهد پروتئین کل نقش مهمی در پاسخ ایمنی ندارد (Abdelkhalek *et al*., 2008).

## نتیجه‌گیری

با توجه به این‌که تیمار حاوی ۱۲۰۰ میلی‌گرم لوامیزول از نظر افزایش وزن و کاهش ضریب تبدیل غذایی و ارتقاء شاخص‌های خون‌شناسی و ایمنی نسبت به سایر تیمارها و گروه شاهد نتایج معنی‌دار مثبت ایجاد کرد، می‌تواند به‌عنوان محرک رشد و ایمنی به غذای ماهی آزاد دریای خزر اضافه شود و باعث ارتقا بازده پرورش این گونه ارزشمند شود.

## منابع


بحرکاظمی م.، مجازی امیری م.ب.، پوستی ا.، ویلکی ا.م. ۱۳۸۵. مطالعه شیمی بافتی لوله گوارش ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) از زمان تفریخ تا بچه‌ماهی یک تابستانه. مجله منابع طبیعی ایران، ۵۹(۳): ۶۳۹-۶۴۸.

رحیم‌نژاد ص.، آق ن.، کلباسی م.ر.، خسروی س. ۱۳۹۰. تاثیر تجویز خوراکی لاکتوفرین بر برخی پاسخ‌های ایمنی غیراختصاصی ماهی قزل آلای رنگین کمان. فصلنامه دامپزشکی ایران، ۷(۳۲): ۵۷-۶۴.

رضایی م.ه.ف سوری‌نژاد ا.، سلطانیان س.، یوسف‌زادی م. ۱۳۹۲. تاثیر عصاره گیاه مورخوش (*Zhumeria majdae*) در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، خون‌شناسی و ایمنی‌شناسی گربه ماهی (*Pangasianodon hypophthalmus*). مجله بوم-شناسی آبزیان، ۳(۱): ۸-۱۹.

علمداری ه.، علیشاهی م.، جواهری م.، گرجی‌پور ع. ۱۳۹۲. مقایسه اثر لوامیزول هیدروکلراید و ارگوسان بر برخی فاکتورهای رشد و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله شیلات ایران، ۷(۱): ۱-۱۲.

علیشاهی م، سلطانی م.، مصباح م.، زرگر ا. ۱۳۹۱ الف. اثرات تحریک ایمنی و رشد لوامیزول، ارگوسان و سه عصاره گیاهی در ماهی کپور معمولی. مجله تحقیقات دامپزشکی، ۶۷(۲): ۱۳۵-۱۴۲.

علیشاهی م.، پورمحمودی م.، عبدی ا. ۱۳۹۱ ب. مقایسه اثر برخی محرک‌های ایمنی و عصاره‌های گیاهی بر فاکتورهای رشد و مقاومت ماهی برزم در برابر استرس‌های محیطی. مجله دامپزشکی ایران، ۸(۴): ۵۹-۶۷.

غرقی ا.، رضوانی ع.ر. ۱۳۹۷. معرفی پروتئین‌های سرم خون، خالص‌سازی و تعیین وزن مولکولی ایمونوگلوبین ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان و آمور. نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۲(۳): ۹۱-۱۰۳.

طافی ع.ا.، مشکینی س. ۱۳۹۳. محرک‌های ایمنی و اهمیت آن‌ها در آبزی‌پروری. فصلنامه نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۲(۴۶): ۴۸-۵۳.

مشکینی س.، تهرانی ع.ا.، آق ن. ۱۳۹۴. اثر لوامیزول بر پاسخ ایمنی و تغییرات هیستوپاتولوژیکی در تراکم بالای ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان. علوم درمانگاهی دامپزشکی ایران، ۹(۱): ۳-۱۳.

Abdelkhalek N.K.M., Zaki V.H., Yousef M.A.A. 2008. Effect of some immunostimulants on health status and disease resistance of Nile tilapia. The Eighth International Symposium on Tilapia in Aquaculture (ISTA 8), Elghobashy H, Fitzsimmons K, Diab AS, eds., Cairo, Egypt. pp: 1073-1088.

Abdel- Tawwab M., El-Sayed G.O., Shady S.H. 2017a. Effect of dietary active charcoal supplementation on growth performance, biochemical and antioxidant responses and resistance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) to environmental heavy metals exposure. *Aquaculture* 479, 17-24.

Abdel-Tawwab M., El-Sayed G.O., Monier M.N., Shady S.H. 2017b. Dietary EDTA supplementation improved growth performance, biochemical variables, antioxidant response, and resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) to environmental heavy metals exposure. *Aquaculture* 473, 478-486.

Bhatnagar A., Lamba R. 2016. Immunostimulating and growth promoting activity of dietary levamisole on *Cirrhinus mrigala* fingerlings. *Journal of Aquaculture and Marine Biology* 4, 102-111.

Blaxhall P.C., Daisley K.W. 1973. Routine hematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology* 5, 771-781.

Davis M.L., Austin C., Messmer B.L. 1996. IFCC-standardization pediatric reference intervals for 10 serum proteins using the Beckman Array 360 system. *Clinical Biochemistry* 29, 489-492.

Doumas B.T., Watson W.A., Biggs H.G. 1971. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green. *Clinical and Chimica Acta* 31, 87-96.

Eliss A.E. 1990. Lysozyme assay. In: J.S. Stolen, D.P. Fletcher, B.S. Anderson, B.S. Robertson (Eds.).Techniques in Fish immunology. Fair Haven, NJ, USA SOS Publication. pp: 101-103.

Gokce H.I., Gunes V., Erdogan H.M., Citil M., Akca A., Yuksek N. 2004. The effects of levamisole poisoning on the haematological and biochemical parameters in dogs. DTW. *Deutsche Tierarztliche Wochenschrift* 111, 81-85.

Houston A.H., Dobric N., 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* 15, 339-347.

Iwama G., Nakanishi T. 1996. Innate immunity in fish. In: The fish immune

system. Academic press, London, UK. pp: 73-114.

Johnson A.M., Rohlfs E.M., Silverman L.M. 1999. Proteins. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. C.A. Burtis, E.R. Ashwood (Eds.). (3rd ed.) W.B Saunders Company. Philadelphia, USA. pp: 477-540.

Kim S.K., Rajapakse N. 2005. Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): a review, *Carbohydrate Research* 62, 357-368.

Li G., Guo Y., Zhao D., Qian P., Sun J., Xiao C., Liannng L., Wang H. 2006a. Effects of levamisole on the immune response and disease resistance of *Clarias fuscus*. *Aquaculture* 253, 212-217.

Li P., Wang X., Gatlin D.M. 2006b. Evaluation of levamisole as a feed additive for growth and health management of hybrid sea bass (*Morone chrysops* × *M. sexatilis*). *Aquaculture* 251, 201-209.

Maqsood S., Samoon M.H., Singh P. 2009. Immunomodulatory and growth promoting effect of dietary levamisole in *Cyprinus carpio* fingerlings against the challenge of *Aeromonas hydrophila*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 9, 111-121.

Mulero V., Esteban M.A., Munoz J., Meseguer J. 2000. Dietary intake of levamisole enhances the immune response and disease resistance of the marine teleost gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish and Shellfish Immunology* 8, 49-62.

Raa J. 1996. The use of immuno-stimulatory substances in fish and shellfish farming. *Reviews in Fisheries Science* 4, 229-288.

Rehulka J. 2000. Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 190, 27-47.

Shahidi A., Vahabzade H., Zamini A., Sadeghpour A. 2011. The Effect of Levamisole on the Immune Response of Fingerling Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*). International conference on Medical, Biological and Pharmaceutical Sciences, Pattaya, December 2011. pp: 511-514.

Thomas L. 1998. Alanine aminotransferase (ALT), Asparatate aminotransferase (AST) In: L. Thomas (Ed). Clinical Laboratory Diagnostics I ed. Frankfurt. TH-Books. pp: 55-65.

Yokoyama S., Koshio S., Takakura N., Oshida K., Ishikawa M., 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 coioide*. *Aquaculture* 255, 507-513.

Zanon R.B., Cerozi B., Eurico J., Silva T. 2014. Dietary levamisole as immunostimulant for striped surubim, *Pseudoplatystoma reticulatum*. *Journal of the world Aquaculture Society* 45, 672-680.

# The effect of levamisole supplementation to Caspian brown trout diet (*Salmo caspius*) on growth, blood and immunity parameters

**Mostafa Sadeqi, Masoumeh Bahre Kazemi***

Department of Fisheries, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran.
*Corresponding author: bahr.kazemi@gmail.com
Received: 2019/7/15 Accepted: 2020/1/24

**Abstract**

The immune system improvement of fishes, especially in valuable species such as the Caspian brown trout (*Salmo caspius*), is one of the main needs of fish culturists. Therefore, the selection of appropriate immune stimuli that do not adversely affect fish growth while promoting immunity is one of the most important approaches of researchers. In order to investigate the effect of levamisole on the Caspian brown trout, 240 cultivated juvenile with mean weight of 12.46±0.15 g, were fed a diet containing levamisole at concentrations of 300, 600 and 1200 mg/kg diet for 60 days. The control group was fed with a diet without levamisole. At the end of the experiment, in addition to biometry of fish, blood samples were taken for comparison of cellular, biochemical and immunological parameters. The results showed that levamisole had a positive effect on the growth of the Caspian brown trout. In fact, all three concentrations improved the growth performance of fish and the highest percentages of weight gain and specific growth rate were obtained in 1200 mg/kg levamisole. As the amount of levamisole increased, the feed conversion ratio decreased significantly and the protein efficiency ratio increased significantly ($P$<0.05). The highest number of white and red blood cells and the highest amount of hemoglobin were observed in 1200 mg/kg levamisole. However, the differences amongst treatments were not significant in term of hematocrit ($P$>0.05). There was no significant difference in total protein, albumin, aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activities between different groups. Maximum lysozyme enzyme activity and the highest IgM amount were measured in 1200 mg/kg levamisole. The highest C3 and C4 complement amounts were observed in 600 and 1200 mg/kg levamisole without any significant difference ($P$>0.05). Therefore, the addition of levamisole as a dietary supplement to the Caspian brown trout diet to 1200 mg/kg can be suggested to improve the growth and immunity of the Caspian brown trout.

**Keywords:** Levamisole**,** Immune stimulant, Caspian brown trout.