

وزارت جهاد كشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج كشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی كشور- انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری

عنوان:

بررسی تاثیر پروتئین هیدرولیز شده بر
بازماندگی، روند رشد، سیستم ایمنی و
کارایی آنزیم‌های گوارشی بچه فیلماهی

مجری:

علی حسین پور زنتی

شماره ثبت

۶۵۳۰۶

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری

عنوان طرح/پروژه: بررسی تاثیر پروتئین هیدرولیز شده بر بازماندگی، روند رشد، سیستم ایمنی و کارایی
آنزیم‌های گوارشی بچه فیلماهی

کد مصوب: ۰۰۲-۳۲-۱۲-۲۴-۹۸۰۰۶۴

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان: علی حسین پور زلتی

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرح‌های ملی و مشترک دارد) : -

نام و نام خانوادگی مجری: علی حسین پور زلتی

نام و نام خانوادگی همکار(ان): میرحامد سیدحسینی کلاشمی، تورج سهرابی لنگرودی، رضوان اله کاظمی، جلیل

جلیل پور رود کلی، محمود محسنی، محمد پوردهقانی پیشکناری، ایوب یوسفی جوردھی، رضا صفری، هوشنگ

یگانه راسته کناری، علی حالجیان، ذبیح اله پزند، رضا قربانی واقعی، مهدی نیکو، مریم منصف شکری، مجتبی آبیاری

نام و نام خانوادگی مشاور(ان): -

محل اجرا: استان گیلان

تاریخ شروع: ۱۳۹۹/۹/۱

مدت اجرا: ۲ سال و ۶ ماه

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۳

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است. نقل مطالب، تصاویر، جداول، منحنی‌ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است.

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

طرح/پروژه: بررسی تاثیر پروتئین هیدرولیز شده بر بازماندگی، روند رشد، سیستم ایمنی و کارایی آنزیم‌های گوارشی بچه فیلماهی
کد مصوب: ۰۰۲-۳۲-۱۲-۲۴-۹۸۰۰۶۴
شماره ثبت (فروست): ۶۵۳۰۶ تاریخ: ۱۴۰۳/۲/۹
با مسئولیت اجرایی جناب آقای علی حسین پور زلتی دارای
مدرک تحصیلی دکتری در رشته شیلات است.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح نژاد و تکثیر و پرورش آبزیان
در تاریخ ۱۴۰۳/۱/۲۶ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.
در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد ☐ پژوهشکده ☐ مرکز ☒ ایستگاه ☐

با سمت عضو هیئت علمی در انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان
خاویاری مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه
چکیده.....		۱
۱- مقدمه.....		۳
۱-۱- خانواده تاس ماهیان (Acipenseridae).....		۴
۱-۱-۱- خصوصیات فیل ماهی (Huso huso).....		۴
۱-۲- مقدمه‌ای بر ضایعات آبزیان.....		۵
۱-۲-۱- ویژگی‌ها و کیفیت ضایعات آبزیان.....		۶
۱-۲-۱-۱- ضایعات ماهی.....		۷
۱-۲-۱-۲- ضایعات سخت‌پوستان.....		۷
۱-۲-۱-۳- ضایعات بی‌مهرگان دریایی.....		۸
۳-۱- پروتئین ماهی.....		۹
۱-۳-۱- پروتئین هیدرولیز شده: ویژگی‌ها، کاربرد، و متغیرهای واکنش.....		۱۰
۱-۳-۲- روش‌های تولید پروتئین هیدرولیز شده.....		۱۳
۱-۳-۲-۱- روش‌های شیمیایی.....		۱۳
۱-۳-۲-۲- روش‌های بیوشیمیایی.....		۱۴
۱-۳-۲-۳- آنزیم‌های پروتئولیتیک.....		۱۵
۱-۳-۲-۴- هیدرولیز اتولیتیک.....		۱۶
۱-۳-۲-۵- هیدرولیز آنزیمی با اضافه کردن آنزیم.....		۱۷
۱-۳-۲-۶- ترکیبات پروتئین هیدرولیز شده.....		۱۹
۱-۳-۲-۷- پپتیدهای زیست فعال.....		۱۹
۱-۳-۲-۸- سازوکار نقل و انتقال پپتیدها.....		۲۰
۱-۳-۲-۹- خواص کاربردی پروتئین هیدرولیز شده.....		۲۲
۱-۳-۲-۱۰- قابلیت‌های پروتئین هیدرولیز شده.....		۲۵
۱-۳-۲-۱۱- عملکرد پروتئین هیدرولیز شده در خوراک آبزیان.....		۲۷
۳-۳-۱- دستگاه گوارش ماهیان.....		۲۸
۱-۳-۳-۱- اندام‌زایی و تغییرات دستگاه گوارش لارو ماهیان.....		۲۸
۴-۳-۱- آنزیم‌های گوارشی در مراحل تکوین لاروی.....		۲۹

۲۹	۴-۱-آنزیم‌ها
۳۰	۴-۱-۱-نقش و اهمیت آنزیم‌ها
۳۱	۴-۱-۲-روده و ترشحات آن
۳۲	۴-۱-۳-فعالیت آنزیم‌های گوارشی
۳۶	۲-سوابق تحقیق
۳۶	۲-۱-در داخل کشور
۳۶	۲-۲-در خارج از کشور
۴۲	۳-مواد و روش‌ها
۴۲	۳-۱-محل انجام تحقیق و مشخصات حوضچه‌های پرورش
۴۲	۳-۲-منبع تأمین آب و دبی آن
۴۲	۳-۳-انتخاب ماهیان مورد نظر و ذخیره سازی، تیمار بندی و طراحی آزمایش (پروژه)
۴۲	۳-۴-تهیه و آماده سازی ضایعات و تولید پروتئین هیدرولیز
۴۳	۳-۵-هیدرولیز ضایعات
۴۳	۳-۶-ساخت غذا بر اساس فرمولاسیون جیره
۴۳	۳-۶-۱-تجهیزات و لوازم ساخت غذا
۴۴	۳-۶-۲-تیمارهای تغذیه‌ای
۴۵	۳-۷-غذادهی و تغذیه ماهیان
۴۹	۳-۸-زیست سنجی ماهیان
۴۹	۳-۹-اندازه گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی
۴۹	۳-۱۰-محاسبه شاخص‌های رشد
۴۹	۳-۱۱-مطالعات خون شناسی
۴۹	۳-۱۱-۱-خون گیری و تهیه سرم
۵۰	۳-۱۱-۲-شاخص‌های خونی
۵۰	۳-۱۱-۲-۱-شمارش گلبول‌های قرمز و سفید
۵۱	۳-۱۱-۲-۲-تشخیص افتراقی گلبول‌های سفید
۵۱	۳-۱۱-۲-۳-اندازه گیری هماتوکریت
۵۱	۳-۱۱-۲-۴-اندازه گیری هموگلوبین
۵۲	۳-۱۱-۲-۵-شاخص‌های گلبول قرمز

۵۲.....	۳-۱۲- سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی خون.....
۵۲.....	۳-۱۲-۱- پروتئین کل سرم.....
۵۳.....	۳-۱۲-۳- اندازه گیری آنزیم های کبدی (ALT, AST و ALP).....
۵۳.....	۳-۱۲-۳- سنجش گلوکز سرم.....
۵۴.....	۳-۱۲-۴- سنجش چربی کل.....
۵۴.....	۳-۱۲-۵- اندازه گیری کلسترول.....
۵۴.....	۳-۱۳- ارزیابی شاخص های ایمنی.....
۵۴.....	۳-۱۳-۱- اندازه گیری فعالیت آلترناتیو کمپلمان (ACH50).....
۵۵.....	۳-۱۳-۲- اندازه گیری ایمونو گلوبولین M (IgM).....
۵۵.....	۳-۱۳-۳- اندازه گیری لیزوزیم.....
۵۵.....	۳-۱۴- سنجش فعالیت آنزیم های گوارشی.....
۵۵.....	۳-۱۴-۱- تهیه عصاره آنزیمی.....
۵۶.....	۳-۱۴-۲- سنجش غلظت پروتئین محلول.....
۵۷.....	۳-۱۴-۳- سنجش فعالیت آنزیم پپسین.....
۵۷.....	۳-۱۴-۴- سنجش فعالیت آنزیم تریپسین.....
۵۸.....	۳-۱۴-۵- سنجش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز.....
۵۸.....	۳-۱۵-۶- سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی.....
۵۸.....	۳-۱۵-۶-۱- تهیه عصاره آنزیمی.....
۵۸.....	۳-۱۵-۶-۲- سنجش کاتالاز.....
۵۹.....	۳-۱۵-۶-۳- سنجش سوپراکسید دیسموتاز.....
۵۹.....	۳-۱۶- سنجش فعالیت لیزوزیم کبد.....
۵۹.....	۳-۱۶-۱- سنجش مالون دی آلدئید (MDA).....
۵۹.....	۳-۱۶-۲- نمونه برداری و آماده سازی آنها جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم های گوارشی.....
۶۰.....	۳-۱۶-۳- فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز.....
۶۰.....	۳-۱۶-۴- فعالیت آنزیم لیپاز.....
۶۱.....	۳-۱۷- روش تجزیه و تحلیل آماری داده ها.....
۶۱.....	۴- نتایج.....
۶۱.....	۴-۱- فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب در طول دوره پرورش.....

۶۲.....	۴-۱-۱- دمای آب
۶۲.....	۴-۱-۲- اکسیژن محلول آب
۶۲.....	۴-۱-۳- اشباعیت اکسیژن
۶۳.....	۴-۱-۴- اسیدیتیه آب
۶۳.....	۴-۲- شاخص درصد بازماندگی
۶۳.....	۴-۳- شاخص های رشد
۶۴.....	۴-۳-۱- وزن اولیه
۶۵.....	۴-۳-۲- وزن نهایی
۶۵.....	۴-۳-۳- طول کل اولیه
۶۶.....	۴-۳-۴- طول کل نهایی
۶۶.....	۴-۳-۵- بیوماس اولیه
۶۷.....	۴-۳-۶- بیوماس نهایی
۶۷.....	۴-۳-۷- تولید
۶۸.....	۴-۳-۸- درصد افزایش وزن
۶۸.....	۴-۳-۹- ضریب تبدیل غذایی
۶۹.....	۴-۳-۱۰- نرخ رشد ویژه
۶۹.....	۴-۳-۱۱- نرخ رشد روزانه
۷۰.....	۴-۳-۱۲- ضریب چاقی
۷۰.....	۴-۳-۱۳- کارایی غذا
۷۱.....	۴-۳-۱۴- نسبت بازده پروتئینی
۷۱.....	۴-۴- سنجش فاکتورهای خونی
۷۲.....	۴-۴-۱- گلبول سفید
۷۳.....	۴-۴-۲- گلبول قرمز
۷۳.....	۴-۴-۳- هموگلوبین
۷۴.....	۴-۴-۴- درصد هماتوکریت
۷۴.....	۴-۴-۵- حجم متوسط سلولی
۷۵.....	۴-۴-۶- هموگلوبین متوسط سلولی
۷۵.....	۴-۴-۷- غلظت متوسط هموگلوبین سلولی

۷۶	۴-۴-۸- درصد نوتروفیل
۷۶	۴-۴-۹- لیمفوسیت
۷۷	۴-۴-۱۰- مونوسیت
۷۷	۴-۵- فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون
۷۸	۴-۵-۱- گلوکز
۷۹	۴-۵-۲- پروتئین کل
۷۹	۴-۵-۳- آنزیم آلانین آمینوترانسفراز
۸۰	۴-۵-۴- آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز
۸۰	۴-۵-۵- آنزیم آلکالین فسفاتاز
۸۱	۴-۵-۶- کلسترول
۸۱	۴-۵-۷- چربی کل
۸۲	۴-۶- شاخص های ایمنی
۸۲	۴-۶-۱- توتال ایمنوگلوبولین
۸۳	۴-۶-۲- لیزوزیم
۸۳	۴-۶-۳- ایمنوگلوبین
۸۴	۴-۶-۴- فعالیت آلترناتیو کمپلمان
۸۴	۴-۷- شاخص های آنتی اکسیدانی
۸۵	۴-۷-۱- آنتی اکسیدان کاتالاز
۸۵	۴-۷-۲- آنتی اکسیدان مالون دی آلدئید
۸۶	۴-۷-۳- آنتی اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز
۸۶	۴-۸- فعالیت و تولید آنزیم های گوارشی
۸۷	۴-۸-۱- آنزیم پپسین
۸۹	۴-۸-۲- آنزیم تریپسین
۹۰	۴-۸-۳- آنزیم آلفا آمیلاز
۹۱	۴-۸-۴- آنزیم لیپاز
۹۲	۵- بحث
۹۲	۵-۱- عوامل فیزیکی و شیمیایی آب
۹۲	۵-۱-۲- دمای آب

۹۲.....	۵-۱-۳- اکسیژن محلول آب.....
۹۲.....	۵-۱-۴- اشباعیت اکسیژن.....
۹۳.....	۵-۱-۵- اسیدیتیه آب.....
۹۳.....	۵-۲- شاخص درصد بازماندگی.....
۹۴.....	۵-۳- شاخص های رشد.....
۹۵.....	۵-۴- شاخص های خونی.....
۹۷.....	۵-۵- فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون.....
۹۸.....	۵-۶- شاخص های ایمنی.....
۱۰۱.....	۵-۷- شاخص های آتی اکسیدانی.....
۱۰۲.....	۵-۸- فعالیت آنزیم های گوارشی.....
۱۰۶.....	۶- نتیجه گیری.....
۱۰۷.....	پیشنهادها.....
۱۰۸.....	منابع.....
۱۳۰.....	چکیده انگلیسی.....

چکیده

پروژه حاضر به منظور بررسی تاثیر سطوح مختلف پروتئین هیدرولیز شده بر بازماندگی، شاخص‌های رشد، سیستم ایمنی و آنزیم‌های گوارشی بچه فیل ماهی به مدت ۴۸ روز در سال ۱۴۰۰ در انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دریای خزر انجام شد. ۷۵۰ بچه فیل ماهی با میانگین وزنی 5 ± 3 گرم به طور تصادفی در ۵ گروه آزمایشی شامل گروه شاهد (بدون پروتئین هیدرولیز شده)، ۳ تیمار با سطوح مختلف جایگزینی پروتئین هیدرولیز شده با پودر ماهی (۷۵/۲، ۵/۵ و ۲۵/۸ درصد) و یک گروه کنترل مثبت (غذای تجاری) توزیع شدند. آزمایش در ۱۵ وان نیم تنی (هر وان ۵۰ قطعه بچه ماهی) با دبی آب ورودی هر یک از وان‌های پرورشی ۵۰۰ لیتری با حجم آگیری ۴۰۰ لیتر ۲ لیتر در دقیقه (معادل ۰.۳/۰ لیتر بر ثانیه) و میزان تعویض آب در هر مخزن بین ۶ تا ۷ بار در طول شبانه‌روز به همراه هوادهی از طریق سیستم هواده کمپرسور مرکزی و با دیفیوزرهای صفحه‌ای انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین میزان بازماندگی ($96/1 \pm$) ۴/۷۶ در تیمار ۴ و کمترین آن ($56/1 \pm 3/48$) در گروه شاهد مشاهده شد. اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای ۱، ۲ و ۳ با گروه شاهد و تیمار ۴ مشاهده شد ($P < 0.05$). شاخص‌های رشد شامل وزن نهایی، بیوماس نهایی، تولید نهایی، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و نرخ رشد روزانه در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$)، به طوری که بیشترین مقادیر این شاخص‌ها در تیمار ۴ و کمترین آنها در گروه شاهد مشاهده شد. اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای ۱، ۲ و ۳ با گروه شاهد و تیمار ۴ در شاخص‌های رشد مشاهده شد ($P < 0.05$). بر اساس نتایج حاصل از اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی، اختلاف آماری معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید و گلبول‌های قرمز، درصد نوتروفیل و درصد لنفوسیت بین تیمارها با گروه شاهد مشاهده شد ($P < 0.05$). بیشترین میزان گلبول‌های سفید در تیمار ۴ و کمترین آن در تیمار ۱ با اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) و بیشترین میزان گلبول قرمز در تیمار ۱ و کمترین آن در گروه شاهد، با اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0.05$). بیشترین درصد نوتروفیل در تیمار ۴، و کمترین آن در گروه شاهد ثبت شد که دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0.05$). بیشترین درصد لنفوسیت در تیمار ۱ و کمترین آن در تیمار ۴، با اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P < 0.05$). در سایر شاخص‌های خونی نظیر میزان هموگلوبین، درصد هماتوکریت، حجم متوسط سلولی (MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (MCHC) و درصد ائوزینوفیل اختلاف معنی‌داری بین هیچ یک از گروه‌های آزمایشی مشاهده نگردید ($P > 0.05$). این مطالعه نشان داد که میزان گلوکز در بین گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0.05$)، به طوری که بیشترین میزان گلوکز در گروه شاهد و کمترین آن در تیمار ۴ مشاهده شد. براساس نتایج این مطالعه، تفاوت معنی‌داری در میزان پروتئین و چربی کل بین تیمارها وجود داشت ($P < 0.05$). بیشترین میزان پروتئین و چربی کل مربوط به تیمار ۲ و کمترین آن مربوط به تیمار ۱ بود. از نظر آنزیم‌های کبدی ALT، AST و ALP اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$). بیشترین میزان آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز و آسپاراتات آمینو ترانسفراز به ترتیب در تیمار ۲ و کمترین آنها در گروه شاهد و تیمار ۱ ثبت شد. بیشترین میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز در تیمار ۴ و کمترین آن در تیمار ۳ بود. نتایج این پژوهش نشان داد که میزان کلسترول در بین تمام گروه‌های آزمایشی فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($P > 0.05$). بیشترین مقدار کلسترول در

تیمار ۲ و کمترین مقدار آن در ۴ مشاهده گردید. در شاخص‌های ایمنی، میزان ایمونوگلوبین کل در گروه‌های آزمایشی دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P < 0.05$). بیشترین میزان ایمونوگلوبین کل در تیمار ۲ و کمترین آن در تیمار ۱ بود ($P < 0.05$). همچنین، نتایج نشان داد که بین گروه شاهد با تیمارهای ۱، ۳ و ۴ در میزان لیزوزیم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). در این شاخص، تیمار ۲ با بیشترین میزان با سایر گروه‌های آزمایشی دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0.05$). کمترین مقدار لیزوزیم در تیمار ۱ مشاهده شد. میزان فعالیت IgM و آلترناتیو کمپلمان در تمامی گروه‌های آزمایشی فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($P > 0.05$). فعالیت آلترناتیو کمپلمان در تیمار ۳، بیشترین مقدار و در گروه شاهد، کمترین مقدار را نشان داد. نتایج این مطالعه در زمینه آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نشان داد که میزان آنزیم کاتالاز در بین گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). این آنزیم در گروه شاهد و بین تیمارها (تا تیمار ۳) روند افزایشی داشت. بیشترین میزان آن در تیمار ۳ و کمترین آن در تیمار ۱ مشاهده شد. میزان آنزیم مالون دی آلدئید در گروه شاهد نسبت به سایر تیمارها (به استثنای تیمار ۲) روند کاهشی داشت. بیشترین میزان آنزیم مالون دی آلدئید در گروه شاهد و کمترین آن در تیمار ۴ بود. میزان تولید آنزیم سوپراکسید دیسموتاز یک روند ثابتی نداشت. به‌طوری‌که بیشترین میزان آن در تیمار ۳ و کمترین میزان آن در تیمار ۲ بود. بر اساس نتایج حاصل از میانگین تولید آنزیم‌های گوارشی شامل پپسین، تریپسین، آمیلاز و لیپاز در هیچ یک از مراحل چهارگانه بررسی فعالیت‌های آنزیمی و در هیچ‌کدام از انواع آنزیم‌های مورد بررسی اختلاف آماری معنی‌دار وجود نداشت ($P > 0.05$). میزان تولید آنزیم پپسین در بین تیمارهای ۱، ۲ و ۳ دریافت‌کننده پروتئین هیدرولیز شده در تمامی مراحل چهارگانه نمونه‌برداری یک روند افزایشی داشته است. بیشترین میزان تولید آنزیم پپسین در تیمار ۱، در مرحله چهارم، و کمترین آن در مرحله دوم بود. بیشترین میزان تولید آنزیم تریپسین و لیپاز در بین تیمارهای ۲ و ۳ در مراحل اول و دوم نمونه‌برداری یک روند افزایشی بدون اختلاف معنی‌دار بود. بیشترین میزان تولید آنزیم آلفا آمیلاز در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ در مرحله چهارم نمونه‌برداری بدون اختلاف معنی‌دار بود ($P > 0.05$). در مجموع، این مطالعه نشان داد جایگزینی پروتئین هیدرولیز شده منجر به افزایش میزان بقا، بهبود عملکرد رشد (وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و نرخ رشد روزانه) و پاسخ ایمنی قوی‌تر (افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون، درصد نوتروفیل و سطح ایمونوگلوبولین کل) بچه فیل‌ها نسبت به گروه شاهد شد. علاوه بر این، استفاده از پروتئین هیدرولیز شده، سطوح گلوکز و مالون دی آلدئید را کاهش و میزان سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را افزایش داد که نشان‌دهنده بهبود سلامت متابولیک، کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت‌های آنتی اکسیدانی است. با این حال، تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های گوارشی بین تیمارها مشاهده نشد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که گنجاندن پروتئین هیدرولیز شده در رژیم غذایی با سطوح مناسب، می‌تواند راهبردی مفید برای بهبود سلامت و عملکرد بچه فیل ماهی باشد.

کلمات کلیدی: پروتئین هیدرولیز شده، فیل ماهی، بازماندگی، رشد، سیستم ایمنی، آنزیم‌های گوارشی، فاکتورهای

خونی