اثرات سطوح مختلف سدیم آلژینات با وزن مولکولی پایین بر عملکرد رشد و شاخص‌های ایمنی موکوس در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

- **منیره سهلی***: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **حامد پاک‌نژاد**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **سیدحسین حسینی‌فر**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **محمد سوداگر**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **محمد مازندرانی**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **حبیب ا... سنچولی**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۸

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثرات به‌کارگیری سطوح مختلف سدیم آلژینات با وزن مولکولی پایین در جیره غذایی ماهی کپور بر عملکرد رشد و شاخص‌های ایمنی موکوس در بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بود. بدین منظور تعداد ۲۴۰ قطعه بچه‌ماهی کپور با میانگین وزنی حدود ۰/۴۰±۱۹/۱۲ گرم تهیه و در ۱۲ مخزن ۲۰۰ لیتری (۴ تیمار و هر تیمار در ۳ تکرار) ذخیره‌سازی شدند. در انتهای دوره آزمایش شاخص‌های رشد، پروتئین کل موکوس، ایمونوگلوبولین کل موکوس و لیزوزیم موکوس اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که در شاخص‌های رشد، ایمونوگلوبولین کل موکوس و لیزوزیم موکوس بین تیمارهای تغذیه شده با سدیم آلژینات با وزن مولکولی پایین و گروه شاهد تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (P>۰/۰۵). ولی افزایش معنی‌دار پروتئین کل موکوس در همه تیمارهای حاوی سدیم آلژینات نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۵) و بیش‌ترین میزان پروتئین کل موکوس در تیمار ۱٪ سدیم آلژینات مشاهده شد (P<۰/۰۵). به‌طورکلی نتایج این تحقیق حاکی از آن است که جیره حاوی سدیم آلژینات با وزن مولکولی پایین با افزایش معنی‌دار میزان پروتئین کل موکوس باعث تحریک و افزایش ایمنی در ماهی کپورمعمولی می‌شود.

کلمات کلیدی: آلژینات سدیم، وزن مولکولی پایین، عملکرد رشد، شاخص‌های ایمنی موکوس، ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: moniresahli@gmailcom

مقدمه

صنعت آبزی‌پروری در طی سالیان اخیر رشد و توسعه قابل توجهی داشته است، به‌طوری که میزان رشد آن قابل قیاس با سایر بخش‌های تولیدکننده غذا برای انسان‌ها نیست (FAO، ۲۰۱۴). عدم کنترل بیماری‌های موثر در پرورش ماهی، خود به مهم‌ترین عامل محدود کننده ثبات تولید ماهی بدل شده است (Bairwa و همکاران، ۲۰۱۲). استفاده از محرک‌های ایمنی یک راهکار مفید در آبزی‌پروری در پیشگیری از بیماری‌هااست (Syahidah، ۲۰۱۵). به‌طورکلی، محرک‌های سیستم ایمنی شامل یک گروه از ترکیبات بیولوژیک و سنتتیک هستند که موجب افزایش دفاع غیراختصاصی و یا اختصاصی در حیوانات شده (Jeney و Anderson، ۱۹۹۳) و باعث ارتقای مقاومت بدن آن‌ها نسبت به طیف گسترده‌تری از آلودگی‌های پاتوژنی و عوامل عفونی نسبت به استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و بسیاری واکسن‌ها می‌گردد، بدون این‌که بیماری بالینی، خطر مسمومیت و سرطان را به‌وجود آورند (Bairwa و همکاران، ۲۰۱۲). محرک‌های ایمنی برای کنترل بیماری‌ها حائز اهمیت هستند و باعث تسهیل در عمل سلول‌های بیگانه‌خوار شده و فعالیت‌های ضدباکتریایی آن‌ها را افزایش می‌دهند و باعث افزایش مدت زمان پاسخ سیستم ایمنی (ایمنی هومورال و ایمنی سلولی)، بعداز واکسیناسیون می‌شوند (Bairwa و همکاران، ۲۰۱۲). محرک‌های ایمنی هم‌چنین باعث افزایش مقاومت در برابر استرس‌هایی نظیر کمبود اکسیژن، دما و شوری (Reilly و Keferstein، ۱۹۹۷) و هم‌چنین تحریک رشد، تحریک اشتها و افزایش رشد می‌شوند (Mahdavi و همکاران، ۲۰۱۳). سدیم آلژینات نمک آلژینیک اسید می‌باشد با فرمول شیمیایی $Na_6O_7H_6(C)$ نوعی صمغ است که از جلبک قهوه‌ای Phaeophyceae به‌دست می‌آید و در مجاورت با آب ایجاد یک توده ژل مانند می‌نماید. مشخص شده است که این ماده دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطان و ضدباکتری می‌باشد. درصد بالای پلی ساکارید در این عصاره باعث می‌شود که به یک انتخاب بالقوه تحقیقات به‌عنوان یک پربیوتیک تبدیل شود. این پلی‌ساکارید با وزن مولکولی پایین به‌تازگی منافع خود را برای استفاده به‌عنوان پربیوتیک جدید نشان داده است. Doan و همکاران (۲۰۱۶) مطالعه‌ای را به‌منظور بررسی اثر آلژینات سدیم با وزن مولکولی پایین به‌عنوان منبع پربیوتیک بالقوه بر عملکرد رشد، ایمنی و مقاومت به بیماری تیلاپیا و تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) انجام دادند. نتایج نشان داد که SGR و FCR در ماهی تغذیه شده با رژیم غذایی ۱۰ گرم بر کیلوگرم سدیم آلژینات پس از ۶۰ روز تغذیه آزمایشی، به‌طور معنی‌داری بهبود داشت. لیزوزیم، فاگوسیتوز، انفجار تنفسی و فعالیت‌های مکمل در ماهی‌های تغذیه شده با سدیم آلژینات با وزن مولکولی پایین نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود. میزان بقای تیلاپیای نیل به‌طور قابل توجهی در ماهی تغذیه شده با رژیم غذایی سدیم آلژینات با وزن مولکولی پایین پس از چالش با استرپتوکوک آگالاکتیا در ۱۸ روز بهبود یافته بود. با این‌حال، تفاوت قابل توجهی در میزان زنده ماندن در رژیم‌های غذایی اضافه شده سدیم آلژینات وجود نداشت. مشخص شد که ماهی تغذیه شده با رژیم‌های غذایی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ گرم بر کیلوگرم آلژینات سدیم با وزن مولکولی پایین می‌تواند عملکرد رشد، ایمنی و مقاومت به بیماری تیلاپیا را در مقابل استرپتوکوک آگالاکتیا تحریک نماید. Doan و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه‌ای دیگر بررسی اثرات کفیر در رژیم غذایی و آلژینات سدیم با وزن مولکولی پایین (تکی یا ترکیبی) بر پاسخ غیراختصاصی ایمنی، مقاومت به بیماری و عملکرد رشد تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) را انجام دادند، این یافته‌ها نشان داد که استفاده ترکیبی از کفیر و سدیم آلژینات باوزن مولکولی پایین می‌تواند برای بهبود پاسخ ایمنی، مقاومت به بیماری و عملکرد رشد تیلاپیای نیل درنظر گرفته شود. Doan و همکاران (۲۰۱۶) پژوهشی را در مورد اثرات تجویز ترکیبی یا مکملی آلژینات سدیم با وزن مولکولی پایین و *Lactobacillus plantarum* بر پاسخ ایمنی، مقاومت به بیماری و عملکرد رشد تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) مورد بررسی قرار دادند، نتایج نشان داد که ترکیب سدیم آلژینات و *L. plantarum* را می‌توان به‌عنوان محرک سیستم ایمنی و افزایش‌دهنده رشد در رژیم غذایی تیلاپیای نیل درنظر گرفت. رابطه بین تغذیه و ایمنی سال‌ها قبل برای محققین به‌اثبات رسیده است و یکی از راه‌های افزایش کارایی و کیفیت غذا در آبزیان استفاده از مکمل‌های غذایی می‌باشد هم‌چنین بررسی تغذیه ماهیان درسنین پایین رشد به‌خصوص ماهیان پرورشی می‌تواند ضامن شناسایی نیازهای مبرم آن و رفع مشکلات اساسی این دوره باشد (شکوری، ۱۳۹۶). بنابراین در تحقیق حاضر به بررسی اثرات سدیم آلژینات با وزن مولکولی پایین بر عملکرد رشد و شاخص‌های ایمنی موکوس در ماهی کپور معمولی پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سالن آبزی‌پروری شهیدناصرفضلی برآبادی دانشکده شیلات و محیط زیست دانشگاه علوم‌کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان انجام شد. ماهیان مورد استفاده در این طرح بچه‌ماهیان کپور بودند که از مرکز تکثیر و پرورش بخش خصوصی تهیه شدند. تعداد ۲۴۰ قطعه بچه‌ماهی کپورمعمولی (میانگین وزنی حدود ۰/۴۰±۱۹/۱۲ گرم) تامین و با تراکم ۲۰ قطعه بچه‌ماهی در مخازن آزمایشی رهاسازی و به‌مدت ۲ هفته جهت سازگاری با شرایط آزمایشی نگه‌داری شدند و

سپس با سطوح مختلف سدیم آلژینات به‌مدت ۷ هفته تغذیه شدند. سدیم آلژینات به جیره غذایی پایه اضافه شد. این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام پذیرفت که شامل ۴ تیمار و هر کدام در ۳ تکرار بود. تیمارهای غذایی شامل تغذیه بچه‌ماهی کپور با جیره‌های غذایی حاوی سطوح ۰ (شاهد)، ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ سدیم آلژینات بود (Doan و همکاران، ۲۰۱۶). برای تهیه جیره آزمایشی سطح مدنظر سدیم آلژینات به جیره غذایی پایه افزوده شد و به‌صورت پلت آماده گردید. پس از زیست‌سنجی و تعیین بیوماس، بچه‌ماهیان هر تیمار با جیره‌های غذایی به‌صورت دستی و براساس حداکثر ۳٪ وزن توده بدنی در ۲ نوبت (ساعت ۸ صبح و ۱۲ ظهر) در روز تغذیه شدند.

شاخص‌های رشد و بازماندگی: به‌منظور بررسی چگونگی عملکرد سطوح مختلف سدیم آلژینات در جیره غذایی، داده‌های به‌دست آمده از زیست‌سنجی‌ها براساس فرمول‌های موجود آنالیز شده، برخی از فاکتورهای رشد شامل میانگین رشد روزانه، افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی تعیین شدند. هم‌چنین درصد زنده‌مانی در انتهای دوره و با مقایسه تعداد بچه‌ماهیان اولیه و تعداد آن‌ها در پایان دوره آزمایش محاسبه شد.

وزن اولیه - وزن نهایی = افزایش وزن بدن (Tacon، ۱۹۹۰)

= درصد افزایش وزن بدن (Bekcan و همکاران، ۲۰۰۶)

۱۰۰× (وزن اولیه/ وزن اولیه (گرم) - وزن نهایی (گرم))

= نرخ رشد ویژه (Hevroy و همکاران، ۲۰۰۵)

۱۰۰× (طول دوره پرورش / لگاریتم وزن اولیه – وزن نهایی) لگاریتم

= ضریب تبدیل غذایی (Hevroy و همکاران، ۲۰۰۵)

مقدار کل وزن اضافه شده (گرم) / مقدار کل غذای خورده شده (گرم)

= بقاء (Ai و همکاران، ۲۰۰۶)

۱۰۰× تعداد ماهیان در ابتدای آزمایش / تعداد ماهیان مرده در دوره آزمایش- تعداد ماهیان در ابتدای آزمایش

سنجش فعالیت آنزیم لیزوزیم: سنجش آنزیم لیزوزیم به‌روش کدورت‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد (Subramanian و همکاران، ۲۰۰۷). برای سنجش این آنزیم از باکتری میکروکوکوس لوتئوس به‌عنوان سوبسترا استفاده شد.

اندازه‌گیری پروتئین کل موکوس: برای اندازه‌گیری پروتئین محلول موکوس از روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) و منحنی استاندارد سرم گاوی استفاده شد. با اضافه کردن معرف رنگی فولین سیوکالتیو به ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های رقیق شده موکوس و قرائت نوری با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر انجام شد و با انتقال جذب نوری به‌دست آمده، به منحنی استاندارد، میزان پروتئین محلول موکوس محاسبه شد.

اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین کل: جهت اندازه‌گیری ایمونوگلبولین کل از روش Siwicki و Anderson (۱۹۹۳) استفاده گردید. میزان پروتئین موکوس تعیین شده و سپس به نمونه موکوس پلی‌اتیلن گلیکول ۱۲ درصد اضافه و پس از ۲ ساعت در دمای اتاق نمونه‌ها سانتریفیوژ شده و غلظت پروتئین در قسمت بالایی محلول مجدداً توسط روش بردفورد اندازه‌گیری شد (Kruger، ۱۹۹۴).

نتایج

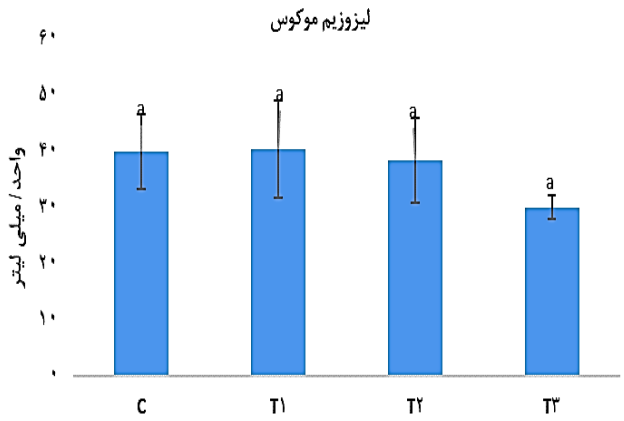
شاخص‌های رشد: شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان کپور تغذیه شده با سدیم آلژینات با وزن مولکولی پایین در جدول ۱ نشان داده شده است. در هیچ‌یک از شاخص‌های رشد تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمارهای تغذیه شده با سدیم آلژینات مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

جدول ۱: تاثیر سطوح مختلف سدیم آلژینات بر روی شاخص‌های رشد نمونه‌های مورد مطالعه

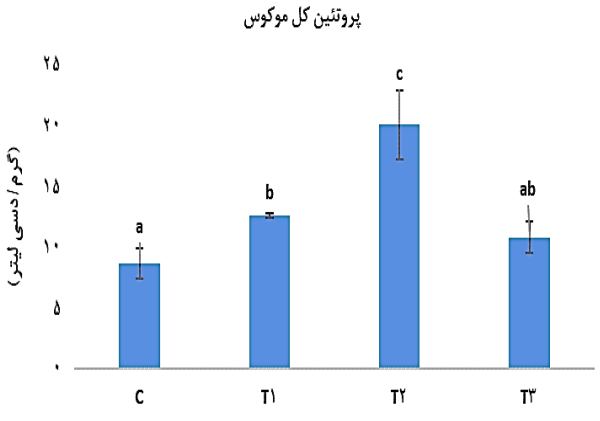
شاخص‌های رشد	شاهد	سدیم آلژینات ۰/۵٪	سدیم آلژینات ۱٪	سدیم آلژینات ۲٪
وزن اولیه (گرم)	۱۹/۰۸±۰/۱۴	۱۹/۰۸±۰/۳۱	۱۹/۳۷±۱/۰۷	۱۸/۹۷±۰/۰۸
وزن نهایی (گرم)	۲۸/۲۵±۰/۸۳	۲۷/۸۷±۱/۲۷	۲۶/۶۸±۰/۹۴	۲۸/۰۰±۰/۲۵
درصد افزایش وزن بدن	۴/۵۶±۰/۰۹	۴/۵۳±۰/۱۶	۴/۳۶±۰/۰۹	۴/۵۶±۰/۰۴
ضریب رشد ویژه (درصد/ روز)	۰/۶۵±۰/۰۴	۰/۶۸±۰/۱۱	۰/۶۰±۰/۰۹	۰/۶۵±۰/۰۲
ضریب تبدیل غذایی	۱/۳۹±۰/۱۵	۱/۵۰±۰/۲۱	۱/۷۱±۰/۳۶	۱/۲۸±۰/۲۲
بقاء (درصد)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

لیزوزیم موکوس: میزان لیزوزیم موکوس بچه‌ماهیان کپور تغذیه شده با سدیم آلژینات با وزن مولکولی پایین در شکل۱ نشان داده شده است. تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با سدیم آلژینات و گروه شاهد در میزان لیزوزیم مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

پروتئین کل موکوس: میزان پروتئین کل موکوس بچه‌ماهیان کپور تغذیه شده با سدیم آلژینات با وزن مولکولی پایین در شکل۲ نشان داده شده است. تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با سدیم آلژینات و گروه شاهد در میزان پروتئین کل مشاهده شد (P<۰/۰۵). بیش‌ترین میزان پروتئین کل موکوس در تیمار حاوی ۱٪ سدیم آلژینات مشاهده شد (P<۰/۰۵).

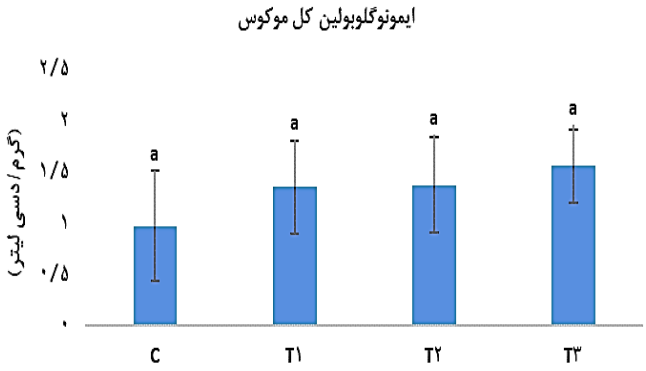


شکل ۱: تاثیر سطوح مختلف سدیم آلژینات بر روی لیزوزیم موکوس نمونه‌های مورد مطالعه



شکل ۲: تاثیر سطوح مختلف سدیم آلژینات بر روی پروتئین کل موکوس نمونه‌های مورد مطالعه

وجود حروف غیرهمنام کوچک روی ستون‌ها بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵)



شکل ۳: تاثیر سطوح مختلف سدیم آلژینات بر روی ایمونوگلوبولین کل موکوس نمونه‌های مورد مطالعه

وجود حروف غیرهمنام کوچک روی ستون‌ها بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵)

ایمونوگلوبولین کل موکوس: میزان ایمونوگلوبولین کل موکوس بچه‌ماهیان کپور تغذیه شده با سدیم آلژینات با وزن مولکولی پایین در شکل۳ نشان داده شده است. تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با سدیم آلژینات و گروه شاهد در میزان ایمونوگلوبولین مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

بحث

ایده به‌کارگیری پربیوتیک در آبزی‌پروری از آن‌جا ناشی شده که مواد پربیوتیکی به‌صورت گزینشی توسط بیفیدوباکترها، لاکتوباسیلوس‌ها، باسیلوس‌ها و باکتروئیدها که جزء باکتری‌های غالب فلور دستگاه گوارش هستند، تخمیر شده و سبب تحریک رشد این باکتری‌های مفید در روده انسان شده و اثرات سودمندی بر سلامتی میزبان می‌گذارند (Mahious و Ollevier، ۲۰۰۵). تولید اسیدهای چرب زنجیر کوتاه و باکتری‌های اسیدلاکتیک ناشی از تخمیر پربیوتیک‌ها در روده باعث افزایش رشد، راندمان تغذیه و حفظ جاندار در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شود (Schley و Field، ۲۰۰۲). در مطالعه حاضر هیچ‌یک از شاخص‌های رشد معنی‌دار نبود و جیره حاوی سدیم آلژینات تاثیری بر رشد ماهی کپور نداشت این موضوع احتمالاً به‌دلیل عدم تخمیر و تجزیه سدیم آلژینات توسط فلور باکتریایی روده کپورماهیان می‌باشد. به‌هر حال نتایج این تحقیق حاکی از عدم تاثیر سدیم آلژینات با وزن مولکولی پایین بر فاکتورهای رشد ماهی کپور معمولی می‌باشد. Doan و همکاران (۲۰۱۶) طی تحقیقی با بررسی اثرات آلژینات سدیم با وزن مولکولی کم بر عملکرد رشد، ایمنی و مقاومت به بیماری در ماهی‌ها به این نتیجه دست یافتند که تغذیه با رژیم غذایی ۱۰ گرم بر کیلوگرم (سدیم آلژینات) به‌طور معنی‌داری پس از ۶۰ روز تجویز خوراکی، SGR و FCR را بهبود بخشید، هم‌چنین میزان زنده ماندن به‌طور

قابل توجهی در ماهی تغذیه شده با رژیم غذایی (سدیم آلژینات) به‌مدت ۱۸ روز بهبود یافته بود. با این‌حال، تفاوت قابل‌توجهی در میزان زنده ماندن در رژیم‌های غذایی اضافه شده (سدیم آلژینات) وجود نداشت که از نظر درصد زنده‌مانی با تحقیق حاضر مطابقت دارد. هم‌چنین در تحقیقات Ayala و همکاران (۲۰۱۲) با عنوان اثر سدیم آلژینات در پارامترهای بدن و رشد عضله شیر ماهی نیز دریافتند که رشد بدن به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت ولی میزان بقاء معنی‌دار نبود که با تحقیق حاضر مطابقت دارد. در مطالعه‌ای دیگر که توسط (کریمی، ۱۳۹۶) با عنوان بررسی اثرات رافینوز بر بچه‌ماهی کپور معمولی انجام گرفت، نتایج نشان داد که رافینوز تاثیری بر عملکرد رشد و تغذیه بچه‌ماهی کپور معمولی نداشت که در جهت تایید نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر است. هم‌چنین اکرمی و همکاران (۱۳۸۸) نشان دادند که مانان الیگوساکارید اثری بر شاخص‌های رشد ماهی سفید (*Rutilus kutum*) ندارد. در اختلاف با نتایج به‌دست آمده نتایج Doan و همکاران(۲۰۱۶)در مورد اثرات تجویز ترکیبی یا مکملی آلژینات سدیم با وزن مولکولی پایین و *Lactobacillus plantarum* روی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) نشان داد که ترکیب سدیم آلژینات و *L. plantarum* را می‌توان به‌عنوان افزایش‌دهنده رشد در رژیم غذایی تیلاپیای نیل درنظر گرفت. هم‌چنین نتایج تحقیقات Hajibeglou و Sudagar (۲۰۱۱) در بررسی اثر پربیوتیک ایمونووال روی ماهی دم‌شمشیری (*Xiphophorus helleri*) نشان داد که پربیوتیک ایمونووال به‌خصوص در تیمار ۱٪ ایمونووال تاثیر مثبتی روی فاکتورهای رشد ماهی دم شمشیری دارد. عدم قطعیت در نتایج محققان مختلف را می‌توان به نوع گونه پرورشی، اندازه، سن،گونه پرورشی، مدت تجویز پربیوتیک، نوع پربیوتیک انتخابی، نوع استراتژی تغذیه، نحوه اضافه کردن جیره، شرایط محیطی بهداشتی نگهداری موجود، رفتارهای تغذیه‌ای، خصوصیات فیزیولوژیک موجود و فرمولاسیون جیرهٔ غذایی نسبت داد که ممکن است در تاثیرات متفاوت پربیوتیک روی رشد و بازماندگی نقش داشته باشد (اکرمی و همکاران، ۱۳۸۸).

موکوس پوست مکانیسمی بسیار قوی برای به‌دام انداختن پاتوژن‌ها می‌باشد و با از بین بردن پاتوژن‌ها پیش از تماس با سطوح اپیتلیال، از پیشرفت آن‌ها جلوگیری می‌کند(Cone، ۲۰۰۹).سلول‌های اپیتلیالی موکوس به‌طور مداوم مخاطی با خاصیت ویسکوزیته و غنی از پروتئین و گلیکوپروتئین را تولید می‌کنند تراوشات این سلول‌ها از لایه زیرین پوست صورت می‌گیرد(Ottesen و Olafsen، ۱۹۹۷)و غالب آن از یک ماتریس کلاژنی مرکب، رگ‌های خونی، گیرنده‌های عصبی، سلول‌های رنگدانه و سلول‌های ایمنی‌زا تشکیل شده است این لایه در برابر عوامل بیماری‌زا به‌عنوان یک مانع فیزیکی از طریق پپتیدهای مختلف، آنزیم‌هایی نظیر لیزوزیم، لکتین‌ها و آگلوتینین‌ها عمل می‌کند(Cho و همکاران، ۲۰۰۲؛ Nakamura و همکاران، ۲۰۰۴).

در مطالعه حاضر میزان لیزوزیم موکوس در سدیم آلژینات ۰/۵٪ افزایش یافته ولی در تیمارهای حاوی ۱٪ و ۲٪ سدیم آلژینات کاهش داشته است ولی تفاوت معنی‌داری بین تیمارها و گروه شاهد وجود نداشت (P>۰/۰۵). تنوع در میزان فعالیت لیزوزیم می‌تواند به‌دلیل عواملی ازجمله پاسخ به استرس، دستکاری، بلوغ، غذا، جنسیت، تنوع گونه‌ای و تنوع ژنتیکی باشد (Subramanian و همکاران، ۲۰۰۸). در تایید نتایج به‌دست آمده، سپهرفر و همکاران (۱۳۹۷) تاثیر استفاده تلفیقی پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* و پربیوتیک رافینوز در ماهیان طلایی را بررسی کردند و تفاوت معنی‌داری در میزان لیزوزیم موکوس مشاهده نشد.دراختلاف با نتایج به‌دست آمده، نتایج Bohlouli و Sadeghi (۲۰۱۶) که به بررسی عملکرد رشد و شاخص‌های هماتولوژیک و ایمونولوژیکی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداختند نشان داد که اختلاف معنی‌داری در رژیم غذایی و گروه شاهد در خصوص شاخص‌های ایمونولوژیک، از جمله لیزوزیم وجود داشت.

ایمونوگلوبولین‌ها جزو آنتی‌بادی‌های طبیعی بوده و به‌صورت کاملاً تنظیم شده در غیاب محرک آنتی ژنتیک خارجی تولید و محافظت فوری، بلافاصله و گسترده‌ای را در برابر عوامل بیماریزا ایجاد می‌کنند. به‌همین دلیل به‌عنوان یکی از بخش‌های مهم سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهی مدنظر قرار می‌گیرند. ایمونوگلوبولین کل موکوس با افزایش سطوح سدیم آلژینات در جیره غذایی افزایش یافته و در تیمار ۲٪ سدیم آلژینات دارای بیش‌ترین مقدار خود بود اما تفاوت معنی‌داری بین تیمارها و گروه شاهد وجود نداشت (P>۰/۰۵). در تایید نتایج به‌دست آمده، سپهرفر و همکاران (۱۳۹۷) تاثیر استفاده تلفیقی پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* و پربیوتیک رافینوز در ماهیان طلایی را بررسی کردند و تفاوت معنی‌داری در میزان ایمونوگلوبولین کل موکوس مشاهده نشد. در مطالعه‌ای که توسط Soleimani و همکاران (۲۰۱۳) در زمینه اثر پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید بر عملکرد رشد، ایمنی غیراختصاصی، مقاومت در برابر استرس و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در بچه‌ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) انجام گرفت، پاسخ ایمنی (ایمونوگلوبین کل و فعالیت لیزوزیم) در سطح ۱٪ نسبت به دو سطح دیگر بالاتر بود. در اختلاف با نتایج به‌دست آمده Doan و همکاران (۲۰۱۶) طی تحقیقی با بررسی اثرات آلژینات سدیم با وزن مولکولی کم بر ایمنی و مقاومت به بیماری در ماهی‌ها به این نتیجه دست یافتند که ماهی تغذیه شده با ۱۰، ۲۰ و ۳۰ گرم بر کیلوگرم رژیم (سدیم آلژینات) می‌تواند عملکرد رشد، ایمنی ذاتی و مقاومت به بیماری در تیلاپیا علیه *S. Agalactiae* را تحریک کند. هم‌چنین نتایج Bohlouli و Sadeghi (۲۰۱۶) که به بررسی عملکرد رشد و

شاخص‌های هماتولوژیک و ایمونولوژیکی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداختند نشان داد که اختلاف معنی‌داری در رژیم غذایی و گروه شاهد در خصوص شاخص‌های ایمونولوژیک، از جمله ایمونوگلوبولین وجود داشت. هرچند عوامل مختلف از جمله جنس و گونه ماهی، طول دوره پرورش، نوع پربیوتیک مورد استفاده و غلظت آن می‌تواند در عملکرد بهینه این تاثیرگذاری موثر باشد، کما این‌که احتمالاً این عوامل در معنی‌دار نبودن برخی از شاخص‌های ایمنی موکوسی در تیمارهای مختلف می تواند نقش داشته باشد (سپهرفر و همکاران، ۱۳۹۷).

در تمامی گروه‌های سدیم آلژینات افزایش معنی‌دار میزان پروتئین کل موکوس نسبت به گروه شاهد مشاهده شد ($P<0/05$). بیشترین میزان پروتئین کل موکوس در تیمار حاوی سدیم آلژینات ۱٪ مشاهده شد. در مطالعه‌ای، Kolangi Miandare و همکاران (۲۰۱۶) به این نتیجه رسیدند که استفاده از پربیوتیک گالاکتو الیگوساکارید می‌تواند پروتئین کل ماهی کاراس را بهبود بخشد که با تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. هم‌چنین طی تحقیقی که Sharifian و همکاران(۲۰۱۷)گزارش کردند که استفاده از رتینول استات (ویتامین آ) باعث افزایش پروتئین کل موکوس در ماهی کلمه می‌شود که در جهت تایید نتایج به‌دست آمده می‌باشد. با توجه به این نتایج می‌توان بیان کرد که احتمالاً سدیم آلژینات با وزن مولکولی پایین در روده باعث بهبود وضعیت بافت‌های لنفوییدی شده و در نتیجه ترشح موکوس در سطح پوست افزایش یافته و موجب افزایش مقدار پروتئین کل شده است.

به‌طورکلی نتایج این تحقیق حاکی از آن است که جیره حاوی سدیم آلژینات با وزن مولکولی پایین تاثیری بر شاخص‌های رشد ماهی کپورمعمولی ندارد. هم‌چنین تاثیری بر میزان لیزوزیم و ایمونوگلوبولین کل موکوس نداشته ولی باعث افزایش معنی‌دار میزان پروتئین کل موکوس نسبت به گروه شاهد می‌شود بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که سدیم آلژینات با وزن مولکولی پایین باعث تحریک و افزایش ایمنی در ماهی کپورمعمولی می‌شود.

منابع

۱. **اکرمی، ر.؛ کریم‌آبادی، ع.؛ محمدزاده، ح. و احمدی‌فر، ا.، ۱۳۸۸.** تاثیر پربیوتیک مانان الیگوساکارید بر رشد، بازماندگی، ترکیب بدن و مقاومت به تنش شوری در بچه ماهی سفید (*Rutilus kutum*). مجله علوم و فنون دریایی. دوره ۸، شماره ۳-۴، صفحات ۴۷ تا ۵۷.

۲. **سپهرفر، د.؛ سروی‌مغانلو، ک.؛ حسینی‌فر، س.؛ پاک‌نژاد، ح. و جافرنوده، ع.، ۱۳۹۷.** تاثیر استفاده مجزا و تلفیقی پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* و پودر *Agaricus bisporus* بر شاخص‌های ایمنی موکوس و هیستومورفولوژی روده در بچه‌ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). فصلنامه فیزیولوژی و تکوین جانوری. شماره ۴۱، جلد ۱۱، صفحات ۲۷ تا ۳۶.

۳. **شکوری، م.، ۱۳۹۶.** اثرات به‌کارگیری لیزوزیم خوراکی در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، برخی فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی و بیان ژن‌های ایمنی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۷۸ صفحه.

۴. **کریمی، م.، ۱۳۹۶.** بررسی اثرات سطوح مختلف پربیوتیک رافینوز بر عملکرد رشد، شاخص‌های ایمنی سرم و موکوس و الگوی پروتئینی موکوس در بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۶۸ صفحه.

۵. **Ai, Q.; Mai, K.; Tan, B.; Xu, W.; Duan, Q.; Ma, H. and Zhang, L., 2006.** Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. Aquaculture. Vol. 260, pp: 255-263.

۶. **Akrami, R.; Iri, Y.; Khoshbavar Rostami, H.A. and Razeghi Mansour, M., 2013.** Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, lactobacillus bacterial population and hemato-immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. Fish & Shellfish Immunology. Vol. 35, pp: 1235-1239.

۷. **Ayala, M.D.; Lopez-Albors, O.; Garcia-Alcazar, A.; Arizcun, M. and Abdel, I., 2012.** Effect of Sodium Alginate Dietary in Body Parameters and Muscle Growth of Gilthead Sea Bream, *Sparus aurata* L. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. Vol. 12, No. 3, pp: 627-633.

۸. **Bairwa, M.K.; Jakhar, J.K.; Satyanarayana, Y. and Reddy, A.D., 2012.** Animal and plant originated immunostimulants used in aquaculture. Journal of Natural Products and Plant Resources. Vol. 2, No. 3, pp: 397-400.

۹. **Bekcan, S.; Dogankaya, L. and Cakirogullari, G.C., 2006.** Growth and body composition of European catfish (*Silurus glanis L.*) fed diets containing different percentages of protein. The Israel Journal of Aquaculture- Bamidgeh. Vol. 58, No. 2, pp: 137-142.

۱۰. **Bohlouli, S. and Sadeghi, E., 2016.** Growth performance and haematological and immunological indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings supplemented with

dietary *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss. Acta Veterinaria Brno. Vol. 85, No. 3, pp: 231-238.

۱۱. **Cho, J.H.; Park, I.Y.; Kim, H.S.; Lee, W.T.; Kim, M.S. and Kim, S.C., 2002.** Cathepsin D produces antimicrobial peptide I from histone H2A in the skin mucosa of fish. J. FASEB. Vol. 16, pp: 429-431.

۱۲. **Cone, R.A., 2009.** Barrier properties of mucus. Advanced Drug Delivery reviews. Vol. 61, pp: 75-85.

۱۳. **Doan, H.V.; Hoseinifar, S.H.; Tapingkae, W.; Tongsiri, S. and Khamtavee, P., 2016.** Combined administration of low molecular weight sodium alginate boosted immunomodulatory, disease resistance and growth enhancing effects of Lactobacillus plantarum in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish and shellfish Immunology. Vol. 58, pp: 678-685.

۱۴. **Doan, H.V.; Hoseinifar, S.H.; Tapingkae, W. and Khamtavee, P., 2017.** The effects of dietary kefir and low molecular weight sodium alginate on serum immune parameters, resistance against Streptococcus agalactiae and growth performance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish and shellfish Immunology. 38 p.

۱۵. **Doan, H.V.; Tapingkae, W.; Moonmanee, T. and Seepai, A., 2016.** Effects of low molecular weight sodium alginate on growth performance, immunity, and disease resistance of tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish and shellfish Immunology. 39 p.

۱۶. **FAO. 2014.** Aquaculture Department 2014. The state of world fisheries and aquaculture 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 243 p.

۱۷. **Hajibeglou, A. and Sudagar, M., 2011.** Effect of Dietary Probiotic Level on the Reproductive Performance of Female Platy (*Xiphophorus maculatus*). Agricultural Journal. Vol. 6, pp: 119-123.

۱۸. **Hevroy, E.; Espe, M.; Waagbo, R.; Sandnes, K.; Ruud, M. and HEMRE, G.I., 2005.** Nutrient utilization in *Atlantic salmon* (*Salmo salar* L.) fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture Nutrition. Vol. 11, pp: 301-313.

۱۹. **Jeney, G. and Anderson, D.P., 1993.** Glucan injection or bath exposures given alone or in combination with bacterin enhance the non-specific defense mechanisms in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. Vol. 116, No. 4, pp: 315-329.

۲۰. **Kolangi Miandare, H.; Farvardin, Sh.; Shabani, A.; Hoseinifar, S.H. and Ramezanpour, S., 2016.** The effects of galactooligosacharide on systemic and mucosal immune response, growth performance and appetite related gene transcript in goldfish (*Carassius auratus gibelio*). Fish & Shellfish immunology. Vol. 55, pp: 479-483.

۲۱. **Kruger, N.J., 1994.** The Bradford method for protein quantitation. Basic Protein and Peptide Protocols. pp: 9-15.

۲۲. **Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.L. and Randall, R.J., 1951.** Protein measurement with the folin phenol reagent. The Journal of Biological Chemistry. Vol. 193, pp: 265-275.

۲۳. **Mahious, A.S. and Ollevier, F., 2005.** Probiotics and Prebiotics in Aquaculture: A Review. 1st Regional Workshop on Techniques for Enrichment of Live Food for Use in *Larviculture*. *Artemia* and aquatic Animals Research Institute. pp: 17-26.

۲۴. **Mahdavi, M.; Hajimoradloo, A. and Ghorbani, R., 2013.** Effect of Aloe vera extract on growth parameters of common carp (*Cyprinus carpio*). World Journal of Medical Sciences. Vol. 9, No. 1, pp: 55-60.

۲۵. **Nakamura, O.; Tazumi, Y.; Muro, T.; Yasuhara, Y. and Watanabe, T., 2004.** Active uptake and trans-port of protein by the intestinal epithelial cells in embryo of viviparous fish, *Neoditrema ransonneti* (Perciformes: Embiotocidae). J. Exp. Zool. Vol. 301A, pp: 38-48.

۲۶. **Ottesen, O.H. and Olafsen, J.A., 1997.** Ontogenetic development and composition of the mucous cells and the occurrence of saccular cells in the epidermis of *Atlantic halibut*. J. Fish Biol. Vol. 50, pp: 620-633.

۲۷. **Reilly, A. and Keferstein, F., 1997.** Food safety hazards and the application of the principles of the hazard analysis and critical control point (HACCP) for their control in Aquaculture production. Aquaculture Research. Vol. 28, No. 10, pp: 735-752.

۲۸. **Schley, P.D. and Field, C.J., 2002.** The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. Br. J. Nut. Vol. 87, pp: 221-230.

۲۹. **Sharifian, M.; Hajimoradloo, A.; Ghorbani, R. and Hoseinifar, S.H., 2017.** Effects of Dietary Retinol Acetate on Growth Performance, Skin Mucus Immune Responses and Haematological Parameters of Caspian Roach (*Rutilus caspicus*). Aquaculture Nutrition. Vol. 23, No. 5, pp: 893-898.

۳۰. **Siwicki, A.K. and Anderson, D.P., 1993.** Nonspecific defense mechanisms assay in fish: II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum

and organs and total immunoglobulin level in serum. Fish Disease Diagnosis and Prevention Methods Olsztyn, Poland. pp: 105-112.

۳۱. **Soleimani, N.; Hoseinifar, S.H.; Merrifield, D.L.; Barati, M. and Abadi, Z.H., 2013.** Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. Fish & Shellfish Immunology. Vol. 32, pp: 316-321.

۳۲. **Subramanian, S.; MacKinnon, Sh.L. and Ross, N.W., 2007.** A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. Comprative Biochemistry and Physiology, part B. Vol. 148, pp: 256-263.

۳۳. **Subramanian, S.; Ross, N.W. and MacKinnon, S.L., 2008.** Comparison of antimicrobial activity in the epidermal mucus extracts of fish. Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 150, pp: 85-92.

۳۴. **Syahidah, A.; Saad, C.R.; Daud, H.M. and Abdelhadi, Y.M., 2015.** Status and potential of herbal applications in aquaculture: A review. Iranian Journal of Fisheries Sciences. Vol. 14, No. 1, pp: 27-44.

۳۵. **Tacon, A., 1990.** Standards methods for the nutrition and feeding of farmel fish and shrimp. 208 p.