# اثر سطوح مختلف سرکه سیب بر برخی پارامترهای سیستم ایمنی غیراختصاصی سرم خون در بچه‌ماهیان کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*)


- **حامد نکوبین***: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **عبدالمجید حاجی‌مرادلو**: 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


تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۸

## چکیده

**اسیدهای آلی محصول طبیعی ناشی از تخمیر در گیاهان، از پتانسیل بالایی برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت آبزی‌پروری برخوردار می‌باشند. از این‌رو در این مطالعه از سرکه سیب به‌عنوان نوعی اسیدآلی در جیره غذایی بچه‌ماهیان کپور استفاده شد. هدف از این تحقیق بررسی اثر سرکه سیب در غلظت‌های مختلف (۰، ۱، ۲ و ٤ درصد سرکه سیب به جیره پایه) بر برخی پارامترهای ایمنی غیراختصاصی سرم بچه‌ماهیان کپورمعمولی ازجمله آلبومین (A)، گلوبولین (G)، نسبت A/G، پروتئین کل، آنزیم لیزوزیم و آلکالین فسفاتاز (ALP) می‌باشد. بچه‌ماهیان کپور معمولی با میانگین وزن۰/۵±۱۵ گرم، به‌مدت ٦۰ روز با جیره آزمایشی مورد تغذیه قرار گرفتند. در پایان آزمایش از هر تکرار تعداد ۱۰ قطعه ماهی به‌صورت تصادفی صید و در محلول گل میخک بی‌هوش شده و نمونه خون از آن‌ها گرفته شد. میزان آلبومین و گلوبولین اندازه‌گیری شده در تیمارهای تغذیه‌ای در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵). با این وجود پروتئین کل در سطح ۲ درصد افزایش معنی‌داری را در مقایسه با سایر تیمارها و گروه شاهد نشان داد (p<۰/۰۵)، هم‌چنین در سطح ۲ درصد سرکه سیب افزایش معنی‌دار در میزان فعالیت لیزوزیم مشاهده گردید (p<۰/۰۵). در بررسی میزان الکالین فسفاتاز نیز اختلاف معنی‌داری میان تیمارهای تغذیه‌ای و گروه شاهد مشاهده نشد (p>۰/۰۵).**

**کلمات کلیدی:** کپورمعمولی، سرکه سیب، ایمنی غیراختصاصی



* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Nekoubin.hs@gmail.com

(DOI): 10.22034/aej.2020.119995



## مقدمه

صنعت تکثیر و پرورش آبزیان، علی‌رغم ویژگی‌های مطلوب مانند بازدهی کوتاه‌مدت وصرفه‌بالای اقتصادی،همواره باچالش‌هایی‌هم‌چون کنترل کیفیت آب و شیوع بیماری‌ها مواجه بوده است، به‌طوری‌که استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها جهت کنترل و پیشگیری‌بیماری‌های شایع، خصوصاً در کشورهای در حال توسعه، عوارضی هم‌چون مسائل زیست محیطی و مهم‌تر از آن، مقاوم شدن عوامل بیماری‌زا را ایجاد نموده‌است.ازاین‌رو پرورش‌دهندگان این‌صنعت در پی‌یافتن جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها و کاهش استفاده از آن‌ها می‌باشند (Castillo و همکاران، ۲۰۱۴). امروزه یکی از روش‌های موثر در پیشگیری و کنترل بیماری‌ها و آلودگی‌ها استفاده از انواع محرک‌های ایمنی می‌باشد. اغلب محرک‌های ایمنی مورد استفاده در آبزیان فاقد هرگونه اثرات منفی موجود در داروهای ضدباکتریایی و واکسن‌ها هستند (Dugenci و همکارن، ۲۰۰۳). محرک‌های سیستم ایمنی اغلب ترکیباتی هستند که با افزایش میزان مقاومت میزبان در برابر بیماری‌هایی که اغلب در اثر پاتوژن‌ها اتفاق می‌افتد، سیستم ایمنی را تنظیم می‌کنند (Iwama و Nakanishi، ۱۹۹۶). هم‌چنین با تحریک مکانیسم‌های ایمنی غیراختصاصی می‌توانند باعث تحریک مکانیسم ایمنی اختصاصی نیز شوند (Bairwa و همکاران، ۲۰۱۲). این ترکیبات قادر به افزایش قدرت دفاعی و مقاومت در برابر آلودگی‌های میکروبی و استرس‌ها (مانند دستکاری، جابه‌جایی، رقم‌بندی و کیفیت پایین آب) و نیز خنثی کردن فعالیت پاتوژن‌های فرصت‌طلب بوده و از این رو باعث بهبود رشد و کاهش مرگ و میر در سرتاسر دوره تولید آبزیان می‌شوند و بنابراین به‌صورت گسترده در مزارع به‌منظور مدیریت سلامت مورد استفاده قرار می‌گیرند (Sakai ، ۲۰۰۶؛ Rao و همکاران، ۱۹۹۹). در این راستا به‌نظر می‌رسد اسیدهای آلی از پتانسیل بالایی در جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت آبزی‌پروری برخوردار باشد و می‌توان به‌عنوان جایگزین مناسب افزودنی‌های غذایی برای موجودات آبزی معرفی شوند (Ng و Koh، ۲۰۱۱؛ Saori و Boopathy، ۲۰۱۱). انواع مختلفی از اسیدهای آلی هم‌چون اسید استیک، اسید بوتیریک، اسیدسیتریک، اسیدلاکتیک، اسیدمالیک، سوربیک، اسید پروپیونیک و هم‌چنین نمک‌های آن‌ها در بهبود سلامتی در چهارپایان و طیور مورد استفاده قرار می‌گیرند (Lückstädt، ۲۰۰۸). اسیدهای آلی در طی فرآیند تخمیر میکروبی تولید می‌شوند و اغلب به‌عنوان ترکیبات ضدباکتریایی در صنعت تولید غذای موجودات زنده استفاده می‌شوند (Romano و همکاران، ۲۰۱۵). سرکه سیب یک محلول اسیدی است، که از تخمیر سیب حاصل می‌شود. این ماده حاوی انواع فلاونوئیدها (Bashiri و همکاران، ۲۰۱۴) و اسیدهای آلی هم‌چون اسید استیک و اسید مالیک، ویتامین‌های گروه B و C و عناصر معدنی می‌باشد (Iman و همکاران، ۲۰۱۵). هم‌چنین دارای خواص آنتی‌بیوتیکی، ضد باکتری و ضد قارچ است (Shahidi و همکاران، ۲۰۰۸). از طرفی سرکه سیب در خنثی‌سازی و از بین بردن مواد سمی و باکتری‌های مضر موجود در بدن نقش دارد (Iman و همکاران، ۲۰۱۵). به منظور بررسی چگونگی تاثیر مکمل‌های گیاهی گوناگون بر روی فاکتورهای مورد نظر اندازه‌گیری شاخص‌های خونی به‌عنوان یک روش قابل توجه مورد استفاده قرار می‌گیرد. فاکتورهای بیوشیمیایی خون همواره تحت تاثیر ترکیبات جیره، درصد و مقادیر غذادهی، عوامل متعدد محیطی و عوامل ژنتیکی قرار دارند. اندازه‌گیری آلبومین و گلوبولین در سرم یا پلاسما در تشخیص بیماری‌های ماهی به‌عنوان شاخصی برای وضعیت تغذیه‌ای و هم‌چنین سیستم عروق، عملکرد کبد و کلیه کاربرد دارد (Abdel Tawwab و همکارن، ۲۰۰۸). لیزوزیم شاخص عملکرد ایمنی غیراختصاصی در ماهی بوده که از گلبول‌های سفید آزاد می‌شود و در تشکیل آنتی‌بادی‌ها نقش دارد (Iwama و Nakanishi، ۱۹۹۶). آنزیم آلکالین فسفاتاز ازجمله آنزیم‌های اختصاصی‌غیرپلاسمایی می‌باشد که نه تنها در پلاسمای خون بلکه در بافت کبد، قلب، آبشش، کلیه، ماهیچه‌ها و سایر اندام‌ها یافت می‌شود، هم‌چنین مقدار این آنزیم به‌عنوان یکی از شاخص‌های سلامت کبد بوده‌و در اختلالات کبدی سطح این آنزیم درون پلاسما افزایش می‌یابد (Agrahari و Gopal، ۲۰۰۹). از این‌رو در این مطالعه سعی بر آن است تا اثر سرکه سیب به‌عنوان محرک سیستم ایمنی بر روی برخی از پارامترهای سیستم ایمنی غیر اختصاصی در بچه‌ماهیان کپورمعمولی مورد مطالعه قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

تعداد ۲۴۰ قطعه بچه‌ماهیان کپورمعمولی با میانگین وزنی ۱۰ تا ۱۵ گرم از یکی از مراکز تکثیر پرورش ماهیان گرمابی تهیه و با رعایت اصول انتقال به آزمایشگاه تحقیقات آبزیان شهیدفضلی برآبادی، گروه تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتقال داده شد. به‌منظور حذف اثرات استرس ناشی از انتقال و سازگاری با شرایط جدید، بچه‌ماهیان به‌مدت ۱ هفته‌درشرایط آزمایشگاه نگه‌داری شده و در این مدت با جیره پایه تغذیه شدند در طول دوره سازگاری و دوره آزمایش،فاکتورهای‌فیزیکی و شیمیایی‌آب شامل‌درجه حرارت، pH و شوری به‌صورت روزانه اندازه‌گیری می‌شد، هم‌چنین هوادهی مخازن با استفاده از سنگ هوای متصل به پمپ هواده صورت می‌گرفت و در طی این مدت روزانه ۳۰ درصد آب مخازن تعویض می‌شد. پس از این مرحله، بچه‌ماهیان کپورمعمولی به‌صورت تصادفی در ۱۲ مخزن فایبرگلاس (۴ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار) با ظرفیت ۴۰۰ لیتر و تعداد

(DOI): 10.22034/aej.2020.119995



۲۰ قطعه در هر مخزن توزیع شد. سرکه سیب (حاوی ۵ درصد اسید استیک) از شرکت یک و یک در ایران خریداری شد. در این آزمایش از پلت‌های تجاری مخصوص کپورماهیان و در اندازه مناسب برای بچه ماهیان کپورمعمولی استفاده شد. به‌منظور تهیه جیره‌های مکمل مورد نظر، به نسبت وزن غذا غلظت‌های مختلف سرکه سیب (صفر (گروه شاهد)، ۱، ۲ و ۴ درصد سرکه سیب) در حالت مایع بر روی غذا اسپری شده و از ژلاتین به‌عنوان پوشش غذا استفاده شد. پس از آن جیره‌های آماده‌شده در دمای محیط و با رعایت نکات بهداشتی خشک شدند و تا زمان مصرف در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. تغذیه روزانه، به‌میزان ۵ درصد از وزن بدن در ساعات ۸ ، ۱۲ و ۱۶ (سه نوبت) و به‌مدت ۶۰ روز صورت پذیرفت.

**جدول ۱: ترکیب شیمیایی جیره غذایی**

| ترکیبات | درصد |
|---|---|
| پروتئین | ۲۸ |
| چربی | ۱۱/۴ |
| رطوبت | ۸ |
| خاکستر | ۶ |

پس از اتمام دوره آزمایش نمونه‌برداری از ماهیان جهت بررسی برخی از پارامترهای سیستم ایمنی غیراختصاصی انجام شد. غذادهی ماهیان یک روز قبل از خونگیری قطع گردید. تعداد ۱۰ قطعه بچه ماهی از هر تکرار به‌صورت تصادفی صید و درمحلول عصاره گل میخک (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) بی‌هوش شدند و پس از خشک نمودن بدن، خونگیری از وریدساقه دمی با سرنگ‌صورت گرفت.به‌منظور تهیه سرم، نمونه‌های خون درون میکروتیوپ‌های فاقد هپارین منتقل شد. سپس تمامی نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل گردیدند. در آزمایشگاه سرم خون با استفاده از سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه، به‌مدت ۱۰ دقیقه) جدا گردید و تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. میزان پروتئین کل و آلبومین سرم خون بااستفاده‌از کیت‌های تجاری(پارس آزمون)به‌روش فتومتریک‌اندازه‌گیری شدند (Thomas، ۱۹۹۸). میزان گلوبولین با کم کردن میزان آلبومین از پروتئین کل (Kumar و همکاران، ۲۰۰۵) و هم‌چنین نسبت A/G نیز با تقسیم آلبومین به گلوبولین محاسبه گردید. سطح لیزوزیم سرم خون با استفاده از روش کدورت‌سنجی براساس روش الیس‌تعیین شد (Ellis، ۱۹۹۰). جهت سنجش غلظت آنزیم آلکالین فسفاتاز سرم خون از کیت تجاری زیست شیمی-ایران استفاده گردید و نتایج نهایی به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر تعیین گردید.

**آنالیز داده‌ها:** پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کلموگراف- اسمیرنوف، برای مقایسه میانگین بین تیمارها از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد. مقایسه میانگین بین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد و وجود یا عدم وجود اختلاف‌معنی‌دار در سطوح‌اعتماد ۹۵٪ و ۹۹٪ تعیین گردید.برای انجام محاسبات فوق از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰۱۸ استفاده گردید.

## نتایج

**میزان آلبومین اندازه‌گیری شده در سرم خون:** نتایج حاصل از بررسی نشان داد که رژیم غذایی حاوی سرکه سیب اثرمعنی‌داری بر میزان آلبومین سرم خون بچه‌ماهیان کپورمعمولی نداشته است ($p>0/05$)، با این وجود تیمار ۲٪ سرکه سیب در مقایسه با تیمار شاهد و سایر تیمارهای تغذیه‌ای میزان آلبومین بیش‌تری را نشان داد. کم‌ترین مقدار از لحاظ آماری تیمار ۱٪ سرکه سیب مشاهده شد. (شکل ۱).

**میزان گلوبولین اندازه‌گیری شده در سرم خون:** طبق شکل ۲، اختلاف معنی‌داری در میزان گلوبولین سرم خون در میان تیمارها و گروه شاهد مشاهده نشد ($p>0/05$). با این وجود تیمار ۲٪ سرکه سیب در مقایسه با تیمار شاهد و سایر تیمارهای تغذیه‌ای میزان گلوبولین بیش‌تری را نشان داد.

**نسبت آلبومین به گلوبولین:** هم‌چنین با توجه به شکل ۳، نسبت آلبومین به گلوبولین نیز تفاومت معنی‌داری را میان تیمارهای تغذیه‌ای و گروه شاهد نشان نمی‌داد ($p>0/05$).

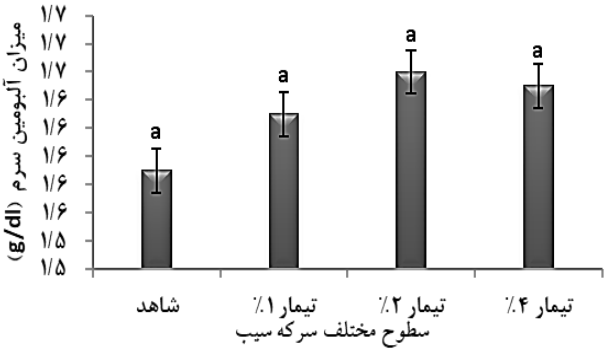
**پروتئین کل:** نتایج مربوط به میزان پروتئین کل سرم خون در سطوح مختلف سرکه سیب در جیره بچه‌ماهیان کپورمعمولی در شکل ۴ نشان داده شده است. طبق شکل ۴ سرکه سیب در سطوح ۲ و ۴ درصد در مقایسه با تیمار ۱ درصد و گروه شاهد منجر به افزایش معنی‌داری در میزان پروتئین شد ($p<0/05$)، هم‌چنین کم‌ترین میزان سطح پروتئین کل سرم مربوط به گروه شاهد می‌باشد.

**فعالیت لیزوزیمی سرم خون:** میزان فعالیت لیزوزیمی سرم خون در سطوح مختلف سرکه سیب در جیره بچه‌ماهیان کپورمعمولی در شکل ۵ نشان داده شده است. براساس نتایج به‌دست آمده افزایش معنی‌داری در سطح ۲ و ۴ درصد سرکه سیب در مقایسه با تیمار ۱ درصد و گروه شاهد مشاهده شد ($p<0/05$)، بر همین اساس می‌توان بیان داشت که، سرکه سیب تاثیر مثبتی بر فعالیت آنزیم لیزوزیم خون بچه‌ماهیان کپور داشته است، هم‌چنین از لحاظ آماری کم‌ترین میزان فعالیت لیزوزیمی سرم مربوط به گروه شاهد می‌باشد ($p<0/05$).

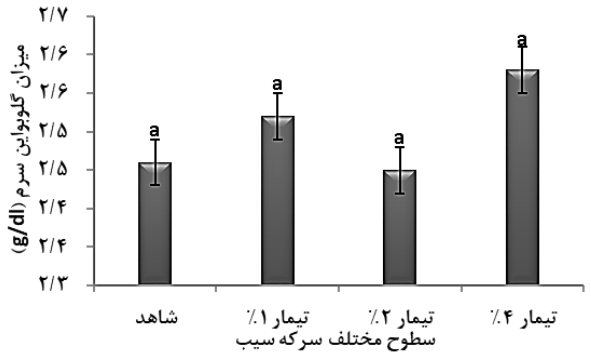
**الکالین فسفاتاز:** باتوجه به شکل ۶ اختلاف‌معنی‌داری در میزان الکالین فسفاتاز در تیمارهای تغذیه‌ای و گروه شاهد مشاهده نشد.

(DOI): 10.22034/aej.2020.119995

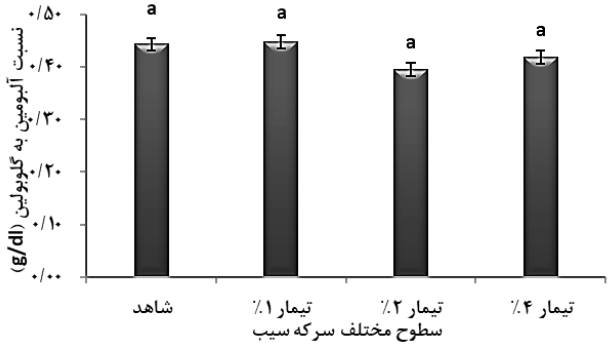




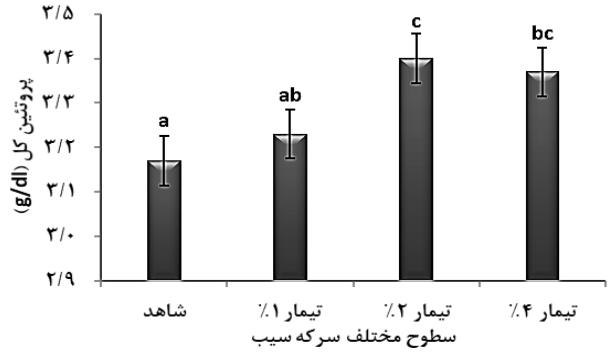

**شکل ۱: نمودار میزان آلبومین کل (میانگین ± انحراف معیار) بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف سرکه سیب پس از ۶۰ روز**



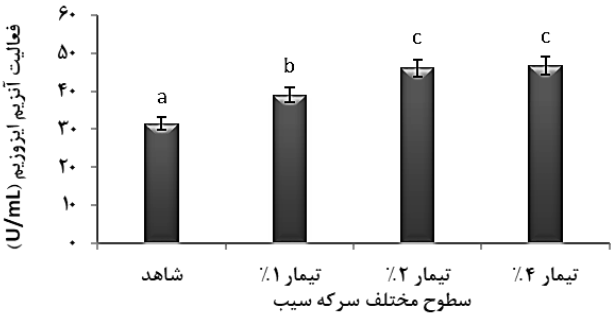

**شکل ۲: نمودار میزان گلوبولین (میانگین ± انحراف معیار) بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف سرکه سیب پس از ۶۰ روز**



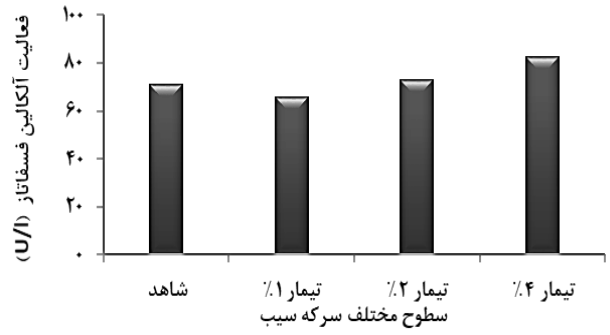

**شکل ۳: نمودار نسبت آلبومین به گلوبولین (میانگین±انحراف معیار) بچه ماهیان کپورمعمولی تغذیه‌شده باسطوح‌مختلف سرکه‌سیب پس‌از ۶۰روز**




**شکل ۴: نمودار میزان پروتئین کل (میانگین± انحراف معیار) بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف سرکه سیب پس از ۶۰ روز**




**شکل ۵:نمودار میزان فعالیت لیزوزیمی (میانگین±انحراف معیار) بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف سرکه سیب پس از ۶۰ روز**




**شکل ۶:نمودار میزان فعالیت لیزوزیمی (میانگین±انحراف معیار) بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف سرکه سیب پس از ۶۰ روز**

حروف لاتین غیرهمنام، تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهند (p<۰/۰۵).

## بحث

با این‌که مطالعه‌های کمی در زمینه کاربرد اسیدهای آلی در جیره آبزیان صورت پذیرفته است ولی محققان عملکرد مثبت جیره‌های حاوی اسیدهای آلی را به عواملی نظیر افزایش کارایی آنزیم‌های گوارشی (Kotzamanis و همکاران، ۲۰۰۷)، افزایش میزان هضم‌پذیری پروتئین و چربی (Christiansen و Lückstädt، ۲۰۰۸)، افزایش میزان اتولیز مواد معدنی (Sugiura و همکاران، ۱۹۹۸) و افزایش تجمع باکتری‌های مفید در روده (Zhou و همکاران، ۲۰۰۹) نسبت داده‌اند. طبق نتایج به‌دست آمده از این تحقیق سرکه سیب در سطوح ۱، ۲ و ۴ درصد اثر معنی‌داری بر میزان آلبومین، گلوبولین، نسبت آلبومین به گلوبولین و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز نداشت. با این وجود میزان پروتئین

(DOI): 10.22034/aej.2020.119995



کل سرم خون در بچه‌ماهی‌هایی که با ۱ و ۲ درصد سرکه سیب تغذیه شدند افزایش معنی‌داری یافته و کم‌ترین میزان اندازه‌گیری شده در گروه شاهد مشاهده شد. پروتئین‌های پلاسما به‌وسیلهٔ کبد سنتز و در بسیاری از بیماری‌ها و اختلالات فیزیولوژیک از بدن دفع می‌شوند. در شرایط استرس و یا شرایط نامناسب تغذیه‌ای کاهش میزان پروتئین کل پلاسما درنتیجه اکسیداسیون اسیدهای آمینه و یا پروتئولیز محیطی روی می‌دهد (Di Marco و همکاران، ۲۰۱۱). در مطالعه‌ای Wu و همکاران (۲۰۰۷)، گزارش کردند که عصاره ترکیبی چند گیاه دارویی سنتی چینی (*Qompay*) فعالیت فاگوسیتوز ماکروفاژ، محتوای پروتئین پلاسمای خون، گلوبولین و لیزوزیم سرم را افزایش می‌دهد که منجر به افزایش سطح ایمنی ماهی کپور خواهد شد. هم‌چنین ثابت شده است که افزایش میزان پروتئین کل سرم با تقویت پاسخ ایمنی غیراختصاصی ماهی مرتبط است زیرا پروتئین‌های سرمی اجزای مختلف سیستم ایمنی غیراختصاصی را شامل می‌شوند (اکرمی و همکاران، ۱۳۹۳). طبق نتایج این مطالعه تغذیه با جیره حاوی ۲ درصد سرکه سیب منجر به افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم لیزوزم در مقایسه با سایر تیمارها و گروه شاهد گردید. لیزوزیم شاخص عملکرد ایمنی غیراختصاصی در ماهی بوده که از گلبول‌های سفید آزاد شده و در تشکیل آنتی‌بادی‌ها نقش دارد (Iwama و Nakanishi، ۱۹۹۶)، هم‌چنین به‌صورت مستقیم به عوامل بیماری‌زا هم‌چون باکتری‌ها حمله کرده و دیواره سلولی آن‌ها را تخریب می‌کند. بنابراین با توجه به نتایج به‌دست آمده در این مطالعه، می‌توان چنین نتیجه گرفت که افزایش آنزیم لیزوزیم می‌تواند منجر به بهبود و تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی در بچه‌ماهیان تغذیه شده با ۲٪ سرکه سیب شود. مطابق با نتایج این مطالعه، Safari و همکاران (۲۰۱۷) نیز طی پژوهشی بیان داشتند که تغذیه با جیره حاوی سرکه سیب موجب اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنزیم لیزوزیم در ماهی کپور شد که این مطلب با نتایج حاصل از این بررسی مطابقت دارد، هم‌چنین Pourmozaffar و همکاران (۲۰۱۷) گزارش دادند که رژیم غذایی حاوی سرکه سیب موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن لیزوزیم در میگوی وانامی شد. بنابراین، سرکه سیب موجب افزایش سطح لیزوزیم در بچه ماهیان کپور می‌شود که به نوبه خود منجر به افزایش ایمنی غیراختصاصی و افزایش سطح ایمنوگلوبولین و در نتیجه جلوگیری از شیوع بسیاری از بیماری‌ها در بچه‌ماهیان کپورمعمولی می‌شود. هم‌چنین در میگوی سفید (*Litopenaeus setiferus*) تغذیه شده با سطوح مختلف اسید سیتریک نشان داده شد که فعالیت آنزیم لیزوزیم در سطح ۲ گرم در کیلوگرم اسید سیتریک افزایش معنی‌داری داشته است (Su و همکاران، ۲۰۱۴). با این وجود، عوامل متعددی نظیر نوع و سطح به‌کارگیری اسیدآلی، گونه جانور میزبان، سن، مواد تشکیل‌دهنده جیره غذایی و شرایط پرورش در این امر دخیل باشد (Ng و همکاران، ۲۰۰۹). میزان آنزیم الکالین فسفاتاز در این مطالعه تغییر معنی‌داری در میان تیمارها نداشت. با این وجود ابراهیم‌نژاد و همکاران (۱۳۸۵)، با بررسی اثر تغذیه با سطوح مختلف اسیدسیتریک بیان داشتند که الکالین فسفاتاز سرم جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با اسیدسیتریک کاهش معنی‌داری داشته است. افزودن سرکه سیب به جیره غذایی ماهیان ممکن است باعث ثبات غشای سلولی شده و از سلول‌های کبد در مقابل عوامل آسیب‌رسان و آسیب‌های سمی رادیکال‌ها آزاد محافظت کنند در واقع سرکه سیب به کبد کمک می‌کند تا عملکرد طبیعی و نرمال خودش را انجام دهد که این در کاهش میزان این آنزیم کبدی منعکس شده است (ابراهیم‌نژاد و همکاران، ۱۳۸۵).

در کل، نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن سرکه سیب در جیره بچه‌ماهی کپورمعمولی دارای اثرات سودمندی روی فعالیت لیزوزیم و پروتئین سرم می‌باشد. هم‌چنین، سطح ۲ درصد سرکه سیب در جیره غذایی نتایج بهتری را نسبت به سایر سطوح نشان داد. بنابراین می‌توان از سرکه سیب به‌عنوان یک مکمل خوراکی و محرک سیستم ایمنی در جیره غذایی بچه‌ماهیان کپورمعمولی استفاده کرد. از این طریق می‌توان ایمنی ذاتی را در بچه‌ماهیان که هنوز سیستم ایمنی تکامل یافته‌ای ندارند افزایش داد. هر چند که انجام مطالعات بیش‌تر به‌منظور تعیین سطح بهینه استفاده از سرکه سیب در جیره غذایی، اثرگذاری آن بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی، تراکم باکتریایی روده، ترکیبات بدن و میزان مقاومت ماهی در برابر باکتری‌های بیماری‌زای شایع ضروری به‌نظر می‌رسد.

## منابع


۱. **اکرمی، ر.؛ ابرهیمی، ر.؛ شاملوفر، م. و رزاقی‌منصور، م.، ۱۳۹۳.** تاثیر پروبیوتیک مانان الیگوساکارید بر عملکرد رشد، بازماندگی و مقاومت لارو ماهی قرل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی. دوره ۲، شماره ۳، صفحات ۲۹ تا ۴۲.

۲. **ابراهیم‌نژاد، ی.؛ شیوآزاد، م.؛ ناظرعدل، ک. و مرادی‌شهر بابک، م. ۱۳۸۵.** تاثیر اسیدسیتریک و آنزیم فیتاز میکروبی بر عملکرد و میزان استفاده از فسفر فیتاته در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره ذرت- کنجاله سویا. مجله تحقیقات دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۶۴، شماره ۴، صفحات ۴۰۷ تا ۴۱۳.

۳. **Abdel-Tawwab, M.; Abdel-Rahman, A.M. and Ismael, N.E., 2008.** Evaluation of commercial live bakers' yeast, Saccharomyces cerevisiae as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with Aeromonas hydrophila. Aquaculture.

(DOI): 10.22034/aej.2020.119995



Vol. 280, No. 1-4, pp: 185-189.

۴. **Agrahari, S. and Gopal, K., 2009.** Fluctuations of certain biochemical constituents and markers enzymes as a consequence of monocrotophos toxicity in the edible freshwater fish, Channa punctatus. Pesticide Biochemistry and Physiology. Vol. 94, pp: 5-9.

۵. **Bairwa, K.M.; Jakhar, J. and Reddy, A.D., 2012.** Animal and plant originated immunostimulants used in aquaculture. Nat. Prod. Plant Resour. Vol. 2, No. 3, pp: 397-400.

۶. **Bashiri, R.; Ghadiri-Anari, A.; Hekmatimoghadam, H.; Dehghani, A. and Najarzadeh, A., 2014.** The Effect of Apple Vinegar on Lipid Profiles and Anthropometric Indices in Type 2 Diabetes Patients with Dyslipidemia: A Randomized Clinical Trial. SSU_Journals. Vol. 22, No. 5, pp: 1543-1553.

۷. **Castillo, S.; Rosales, M.; Pohlenz, C. and Gatlin, D.M., 2014.** Effects of organic acids on growth performance and digestive enzyme activities of juvenile red drum *Sciaenops ocellatus*. Aquaculture. Vol. 433, pp: 6-12.

۸. **Christiansen, R. and Lückstädt, C., 2008.** Effects of different dosages of potassium diformate in fishmeal on the performance of Atlantic salmon Salmo salar. Abstract CD Rom. World Aquaculture Society. pp: 19-23.

۹. **Di Marco, P.; Priori, A.; Finoia, M.G.; Petochi, T.; Longobardi, A.; Donadelli, V. and Marino, G., 2011.** Assessment of blood chemistry reference values for cultured sturgeon hybrids (*Acipenser naccarii* female× *Acipenser baerii* male). Journal of Applied Ichthyology. Vol. 27, No. 2, pp: 584-590.

۱۰. **Dugenci, S.K.; Arda, N. and Candan, A., 2003.** Some medicinal plants as immunostimulant for fish. Ethnopharmacol. Vol. 88, pp: 99-106.

۱۱. **Ellis, A.E., 1990.** Lysozyme assays. Techniques in fish immunology. Vol. 1, pp: 101-103.

۱۲. **Iman, M.; Moallem, S.A. and Barahoyee, A., 2015.** Effect of applecider vinegar on blood glucose level in diabetic mice. Pharmaceutical Sciences. Vol. 20, pp: 163-168.

۱۳. **Iwama, G. and Nakanishi, T., 1996.** The fish immune system. Academic Press, London. Chapter 3:innate Immunity in fish. pp: 73-114.

۱۴. **Kotzamanis, Y.P.; Gisbert, E.; Gatesoupe, F.J.; Infante, J.Z. and Cahu, C., 2007.** Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. Vol. 147, No. 1, pp: 205-214.

۱۵. **Kumar, S.; Sahu, N.P.; Pal, A.K.; Choudhury, D.; Yengkokpam, S. and Mukherjee, S.C., 2005.** Efffect of dietary carbohydrate on heamatology, respiratory burst activity and histological changes in *L. rohita* juveniles. Fish Shellfish Immunol. Vol. 19, pp: 331-334.

۱۶. **Luckstadt, C., 2008.** Effect of organic acid containing additives in worldwide aquaculture–sustainable production the non-antibiotic way. Acidifiers Anim Nutr. 71 p.

۱۷. **Ng, W.K. and Koh, C.B., 2011.** Application of organic acids in aquafeeds: impacts on fish growth, nutrient utilisation and disease resistance. In: Lückstädt, C., (Ed.), Stan- dards for Acidifiers, Principles for the Use of Organic Acids in Animal Nutrition. Nottingham University Press, Nottingham, United Kingdom. pp: 49-58.

۱۸. **Ng, W.K.; Koh, C.B.; Sudesh, K. and Sitizahrah, A., 2009.** Effects of dietary organic acids on growth, nutrient digestibility and gut microflora of red hybrid tilapia, Oreochromis sp., and subsequent survival during a challenge test with *Streptococcus agalactiae*. Aquaculture Research. Vol. 40, No. 13, pp: 1490-1500.

۱۹. **Pourmozaffar, S.; Hajimoradloo, A. and Kolangi Miandare, H., 2017.** Dietary effect of apple cider vinegar and propionic acid on immune related transcriptional responses and growth performance in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 60, pp: 65-71.

۲۰. **Rao, Y.Y.; Das, B.K.; Iyotymayee, P. and Chakrabarti, R., 2006.** Effect of Achyranthes aspera on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with Aeromonas hydrophila. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 20, pp: 265-273.

۲۱. **Romano, N.; Koh, C.B. and Ng, W.K., 2015.** Dietary microencapsulated organic acids blend enhances growth, phosphorus utilization, immune response, hepatopancreatic integrity and resistance against *Vibrio harveyi* in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture. Vol. 435, pp: 228-236.

۲۲. **Safari, R.; Hoseinifar, S.H.; Nejadmoghadam, S. and Khalili, M., 2017.** Apple cider vinegar boosted immunomodulatory and health promoting effects of Lactobacillus casei in common carp (*Cyprinus carpio*). Fish & shellfish immunology. Vol. 67, pp: 441-448.

۲۳. **Sakai, M., 1999.** Current research status of fish immunostimulants, Aquacukture. Vol. 172, pp: 63-92.

۲۴. **Saori, M. and Boopathy, R., 2011.** Effect of organic acids on shirimp pathogen, Vibrio harveyi. Current Microbiology. Vol. 63, pp: 1-7.

۲۵. **Shahidi, F.; McDonals, J.; Chandrasekara, A. and Zhong, Y., 2008.** Phytochemicals of foods, beverage and fruit vinegars chemistry and health effects. Asia pacific Journal of Clinical Nutrition. Vol. 17, No. 1, pp: 380-382.

۲۶. **Su, X.; Li, X.; Leng, X.; Tan, C.; Liu, B.; Chai, X. and Guo, T., 2014.** The improvement of growth, digestive enzyme activity and disease resistance of white shrimp by the dietary citric acid. Aquaculture international. Vol. 22, No. 6, pp: 1823-1835.

۲۷. **Sugiura, S.H.; Dong, F.M. and Hardy, R.W., 1998.** Effects of dietary supplements on the availability of minerals in fish meal; preliminary observations. Aquaculture. Vol. 160, pp: 283-303.

۲۸. **Thomas, L.E.D., 1998.** Clinical laboratory diagnostics. Frankfurt. Th-Books Verlagsgesellschaft. pp: 667- 678.

۲۹. **Wu, G.; Yuan, C.; Shen, M.; Tang, J.; Gong, Y.; Li, D.; Sun, F.; Huang, C. and Han, X., 2007.** Immunological and biochemical parameters in carp (*Cyprinus carpio*) after Qompsell feed ingredients for longterm administration. Aquaculture Research. Vol. 38, No. 3, pp: 246-255.

۳۰. **Zhou, Z.; Liu, Y.; He, S.; Shi, P.; Gao, X.; Yao, B. and Ringo, E., 2009.** Effects of dietary potassium diformate (KDF) on growth performance, feed conversion and intestinal bacterial community of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ♀× *O. aureus* ♂). Aquaculture. Vol. 291, No. 1-2, pp: 89-94.

(DOI): 10.22034/aej.2020.119995



# Effect of different levels of apple cider vinegar on some parameters of non-specific immune system of blood serum on common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings


- **Hamed Nekoubin*:** Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
- **Abdolmajid Hajimoradloo:** Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
- **Hossein Hoseinifar:** Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran


Received: May 2019 Accepted: August 2019

**Keyword:** Common carp, apple vinegar, nonspecific immunity

# Abstract

Organic acids are natural crops and produced byo fermentation in plants and have a high potential for the replacement of antibiotics in the aquaculture industry. Hence, in this study, apple vinegar was used as a kind of organic acid in the diet of common carp fingerling. The aim of this study was to evaluate the effect of apple vinegar in different concentrations (0, 1, 2 and 4% of apple vinegar on basal diet) on some non-specific immune parameters of serum of common carp such as albumin (A), globulin (G), A/G ratio, total protein, lysozyme enzyme and alkaline phosphatase (ALP). Common carp fingerling with average weight of 15±0.5 g were fed with experimental diet for 60 days. At the end of the experiment, 10 fish pieces were randomly slaughtered in each replicate and anesthetized in clove solution and blood samples were taken. The amount of albumin and globulin measured in nutritional treatments did not show a significant increase compared to the control group ($p>0.05$). However, total protein increased significantly at 2% level compared with other treatments and control group ($p<0.05$); also, in 2% apple vinegar, a significant increase in lysozyme activity was observed ($p<0.05$). There was no significant difference in the level of alkaline phosphatase between nutritional treatments and control group ($p>0.05$).

* Corresponding Author's email: Nekoubin.hs@gmail.com