تأثیر سطوح متفاوت ملاس چغندر جیره غذایی بر برخی پارامترهای ایمنی موکوس و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*)

- **مصطفی بیگی***: 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
- **علی جافر**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۷

چکیده

در مطالعه حاضر اثرات سطوح مختلف ملاس چغندر بر برخی از فاکتورهای ایمنی موکوسی، شاخص‌های بیوشیمیایی خون در ماهی کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش از ۳۶۰ قطعه ماهی کپورمعمولی با میانگین وزنی ۲/۵±۲۲ استفاده شد. بچه‌ماهی‌ها در ۱۲ مخزن به تعداد ۳۰ قطعه در هر مخزن به‌طور تصادفی توزیع شد. پس از یک هفته آداپتاسیون، در یک دوره به‌مدت ۸ هفته غذادهی انجام گرفت . آزمایش در قالب ٤ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار شامل: جیره فاقد ملاس (تیمار ۱)، جیره حاوی ۰/۵ درصد ملاس (تیمار ۲)، جیره حاوی ۱ درصد ملاس (تیمار۳) و جیره حاوی ۲ درصد ملاس (تیمار ٤) انجام شد و ماهی‌ها روزانه به‌میزان ۳ درصد وزن بدن و دو بار در روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. غذای گروه شاهد، غذای تجاری کپورمعمولی شرکت فرادانه بدون ملاس بود. نتایج نشان داد بعد از تغذیه با جیره حاوی ملاس مقدار پروتئین محلول موکوس افزایش معنی‌داری پیدا کرده است (P<۰/۰۵). بیش‌ترین مقدار پروتئین محلول موکوس هم در تیمار ۲٪ ملاس بوده است. مقدار ایمنوگلوبین در تیمارها و گروه شاهد تغییر معنی‌داری پیدا نکرده است. هم‌چنین میزان آلکالین فسفاتاز موکوس در تیمارها نسبت به گروه شاهد دارای افزایش معنی‌داری در تیمار ۱٪ ملاس بوده است (P<۰/۰۵). مقدار پروتئین محلول و هم‌چنین میزان فعالیت فسفاتاز قلیایی در سرم خون ماهی کپور افزایش معنی‌داری پیدا کرده است (P<۰/۰۵). هم‌چنین مقدار گلوکز سرم خون ماهی کپور مورد آزمایش با افزایش مقدار ملاس جیره افزایش پیدا کرده است (P<۰/۰۵).

کلمات کلیدی: ملاس چغندر، ایمنی موکوس، سرم خون و کپورمعمولی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: beygimostafa392@gmail.com

مقدمه

پرورش ماهی یک صنعت مهم و سودآور بوده و تاکنون انواع زیادی از ماهیان آب‌شیرین و دریایی مورد پرورش قرار گرفته‌اند. تولیدات آبزی‌پروری هرساله در دنیا در حال افزایش است. ماهیان معمولاً در فضاهای بسته مانند استخرها، حوضچه‌ها و قفس‌ها مورد پرورش قرار گرفته و همواره تلاش می‌شود تا مقدار تولید در واحد حجم یا واحد سطح افزایش داده‌شود و این افزایش تراکم باعث به‌خطرافتادن سلامت ماهیان پرورشی خواهد شد. بنابراین، چنین شرایطی در محیط‌های پرورشی باعث به‌وجود آمدن محیطی شده که از نظر فیزیولوژیکی ماهیان را ضعیف نموده و احتمال ابتلای آن‌ها را به عوامل بیماری‌زا افزایش خواهد داد. بنابراین از عمده‌ترین مسائلی که پرورش‌دهندگان ماهی در امر پرورش با آن مواجه هستند، کاهش میزان ماندگاری و بقای ماهیان خصوصاً در مراحل اولیه زندگی می‌باشد. لذا ارتقای سیستم ایمنی و دفاعی بدن ماهیان به‌ویژه در گونه‌های با ارزش و تجاری از اصلی‌ترین نیازهای پرورش‌دهندگان و مهم‌ترین رویکردهای محققان در این راستا می‌باشد (FAO، ۲۰۰۲). سالیان گذشته استفاده پیشگیرانه و درمانی از آنتی‌بیوتیک‌ها مرسوم بود که این استفاده بیش از حد پیامدهایی از قبیل بروز باکتری‌های مقاوم، باقی‌ماندن بقایای آنتی‌بیوتیکی در گوشت ماهیان و ریسک آن در تغذیه انسانی و نیز آلودگی‌های زیست‌محیطی را به‌دنبال داشته است (Pohlenz و Gatlin، ۲۰۱۴) لذا استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در بسیاری از کشورها به‌واسطه وضع قوانین، محدود و یا ممنوع شده است (cabello، ۲۰۰۶) که این مورد سبب توسعه استفاده از محرک‌های ایمنی به‌عنوان یک راهکار جایگزین در جهت تحریک ایمنی و کاهش ریسک بروز بیماری شده است (Pohlenz و Gatlin، ۲۰۱۴). در سال‌های اخیر محرک‌های ایمنی در صنعت آبزی پروری به‌منظور تقویت و افزایش فعالیت مکانیسم‌های دفاعی اختصاصی و غیراختصاصی به‌عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها معرفی شده‌اند (Sakai، ۱۹۹۹). در بین محرک‌های ایمنی، محرک‌های ایمنی گیاهی دارای مزیت‌هایی ازجمله دسترسی آسان، قیمت پایین و خطر کمتر برای محیط زیست می‌باشند (Raa، ۱۹۹۶). نتایج این مطالعات نشان داده است که گیاهان و ترکیبات آنها شامل اسانس‌ها و عصاره‌ها گیاهی دارای توان بالقوه جهت جایگزینی با داروهای شیمیایی هستند (Chandrasekaran و Bahkali، ۲۰۱۳). یکی از این افزودنی‌های گیاهی ملاس است. ملاس (Beet molasses) چغندرقند یک شیرین‌کننده است که به‌عنوان یک محصول جانبی از فرایند ساخت قند تشکیل می‌شود. افزودن یک ماده مانند ملاس چغندر که سرشار از اسیدامینه و پتاسیم و آهن و بتایین است به جیره غذایی ماهی اثرات سودمندی برای میزبان داشته و می‌تواند سلامت میزبان را بهبود بخشد (Diane و همکاران، ۲۰۰۳). ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) یکی از گونه‌های مهم در صنعت پرورش آبزیان است (Shirali و همکاران، ۲۰۱۲). ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) ازجمله ماهیان گرمابی و سومین گونه معروف جهان محسوب می‌شود که به‌طور گسترده به سراسر دنیا معرفی شده‌است. هم‌چنین این ماهی یکی از گونه‌های مهم پرورشی دنیا می‌باشد که دارای ارزش تجاری بالایی است (Rahman، ۲۰۱۵). باتوجه به اهمیت اقتصادی این گونه پرورشی و نیز معرفی محرک‌های ایمنی جدید به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک، در این مطالعه تأثیر استفاده ملاس چغندر در جیره غذایی برشاخص‌های ایمنی موکوسی و پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون بررسی خواهد شد.

مواد و روش‌ها

پرورش: تعداد ۳۶۰ قطعه ماهی کپور تا با میانگین وزنی ۲/۵±۲۲ از مراکز تکثیر و پرورش تهیه شد و به آزمایشگاه شهید ناصرفضل بر آبادی دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی گرگان انتقال داده شدند . این ماهی‌ها با نمک ۲ درصد ضدعفونی شده و سپس به‌مدت یک هفته جهت سازگاری در مخازن فایبرگلاس با ظرفیت ۴۰۰ لیتر نگه‌داری شدند و روزانه تعویض آب صورت گرفت و کیفت آب به‌طور معمول کنترل شد. برای تهیه غذا، ملاس چغندر از داروخانه‌های دامپزشکی تهیه شد و چون قابلیت حلالیت در آب را دارد، در آب حل شده و سپس به‌صورت اسپری به غذای ماهی اضافه شد. ۳ جیره حاوی سطوح مختلف ملاس به‌ترتیب با دوزهای ۰/۵، ۱ و ۲ درصد (در جیره) تهیه شد و در عین‌حال یک گروه شاهد هم درنظر گرفته شد که تنها با جیره غذایی پایه مورد تغذیه قرار گرفت. برای انجام آزمایش ماهیان کپور به‌طور مساوی به تعداد ۳۰ عدد در ۴ تیمار آزمایشی به‌طور تصادفی توزیع شدند، برای هرکدام از گروه‌های تیمار و شاهد ۳ تکرار درنظرگرفته شد و به‌میزان ۳درصد وزن بدن روزانه ۲ بار با جیره حاوی ملاس چغندر در یک دوره ۸ هفته‌ای تغذیه شدند.

نمونه‌گیری از موکوس: جمع‌آوری موکوس براساس روش Ross و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد. از هر مخزن ۵ قطعه ماهی به‌صورت تصادفی نمونه‌برداری و پس از بی‌هوشی با ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر پودر گل میخک به‌صورت جداگانه درون کیسه‌های پلی‌اتیلنی (زیپ پلاست) حاوی ۱۰ میلی‌لیتر سدیم کلرید ۵۰ میلی‌مولار قرار گرفته و کیسه‌های پلاستیکی به‌مدت ۲ دقیقه به‌آرامی تکان داده شد و پس از ۲ دقیقه از کیسه‌ها خارج شدند. موکوس جمع‌آوری شده به لوله‌های سانتریفیوژ استریل ۱۵ میلی‌لیتری منتقل و به‌مدت ۴ دقیقه درجه در دمای ۱۰ سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شده و سوپرناتانت جهت بررسی‌های بیش‌تر به میکروتیوپ ۱/۵ سی‌سی منتقل گردید. نمونه‌ها تا زمان

انجام آزمایش درون فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد ذخیره شدند. اندازه‌گیری پروتئین کل براساس روش پیشنهاد شده توسط Lowry و همکاران (۱۹۵۱) و منحنی استاندارد آلبومین سرم گاوی استفاده گردید. اندازه‌گیری بعد از اضافه کردن معرف رنگی فولین فنول سیوکالتیو به ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های رقیق‌شده موکوس و استاندارد و قرائت نوری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر انجام گرفت. با انتقال جذب نوری به منحنی استاندارد، میزان پروتئین محلول برحسب میلی گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد. برای تعیین سطح فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی از دستگاه اسپکتروفتومتر و کیت تجاری پارس آزمون استفاده گردید (Roosta و Hoseinifar، ۲۰۱۶).

خونگیری: بعداز پایان دوره، جهت اندازه‌گیری فاکتورهای خونی، با استفاده از سرنگ ۲ سی‌سی، از ورید ساقه دمی ماهی خونگیری صورت گرفت و پس از خونگیری سر سرنگ جدا شده و محتویات آن به‌آرامی به‌صورتی که منجر به شکسته شدن گلبول‌های قرمز و لایز شدن خون و اختلال در تهیه سرم مطلوب نگردد به‌مقدار ۱ سی‌سی برای جمع‌آوری سرم به میکروتیوپ ۱/۵ سی‌سی فاقد ماده ضدانعقاد خون منتقل گردید، سپس با استفاده از سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت ۵ دقیقه سرم جداشده و با استفاده از سمپلر در میکروتیوپ‌های دیگری تخلیه می‌شود و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال و در شرایط فریز (دمای ۲۰- درجه سانتی گراد) تا انجام آزمایش نگه‌داری شدند. اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی سرم، روی خون فاقد ماده ضدانعقاد هپارین انجام گرفت. برای اندازه‌گیری این پارامترها سرم خون جداسازی و مقادیر پروتئین کل و آلکانین فسفاتاز و ایمنوگلوبین و گلوکز با استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتر و کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری: اطلاعات حاصل از آنالیزهای خون‌شناسی با استفاده از نرم‌افزار spss۱۶ و با انجام آزمون Anova یک‌طرفه و تست توکی در سطح معنی‌داری ۵ درصد (P<۰/۰۵) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. همه نتایج به‌دست آمده به‌وسیله میانگین ± انحراف معیار محاسبه شدند.

نتایج

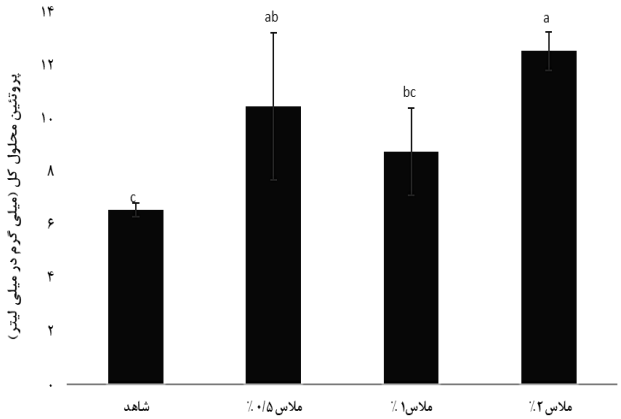
در جدول ۱ نتایج به‌دست آمده از بررسی پروتئین کل موکوس، فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای تغذیه‌شده با ملاس چغندر و گروه شاهد نشان داد (P<۰/۰۵). اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمار ۲ ٪ ملاس دیده شد (P<۰/۰۵). هم‌چنین تیمار ۲٪ ملاس دارای بیش‌ترین میزان پروتئین محلول بود. بیش‌ترین فعالیت آنزیم الکالین فسفاتاز در تیمار ۱٪ ملاس دیده می‌شود. اختلاف معنی‌داری بین مقدار ایمنوگلوبین در تیمارها و گروه شاهد دیده نمی‌شود (P<۰/۰۵).

جدول ۱: میزان پروتئین کل، ایمنوگلوبین کل و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی‌موکوس در کپورماهیان (*C. carpio*) تغذیه شده با سطوح مختلف ملاس چغندر

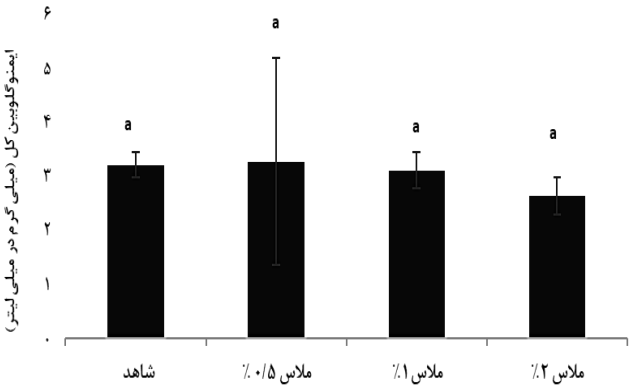
فاکتورهای اندازه‌گیری شده	گروه شاهد	۰/۵ ٪ ملاس	۱ ٪ ملاس	۲ ٪ ملاس
مقدار پروتئین محلول موکوس(میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	۶/۷۵ ± ۰/۲۶c	۱۰/۴۷ ± ۲/۷۸ ab	۸/۷۵ ± ۱/۴۶bc	۱۲/۵۵ ± ۰/۷۳a
مقدار ایمنوگلوبین کل (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	۳/۲۲ ± ۰/۲۳ a	۳/۲۸ ± ۱/۹۲a	۳/۱۲ ± ۰/۳۴a	۲/۶۵ ± ۰/۳۶a
مقدار آنزیم فسفاتاز قلیایی موکوس(واحد بین‌المللی در لیتر)	۴۱/۲۴ ± ۱/۰۷c	۸۶/۹۳ ± ۷/۵۲b	۱۲۵/۶۱ ± ۲۴/۱۳a	۶۴/۱۵ ± ۳/۴۷bc

*داده‌ها به‌وسیله میانگین± انحراف معیار محاسبه شدند. مقادیر به‌دست آمده برای هر ویژگی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

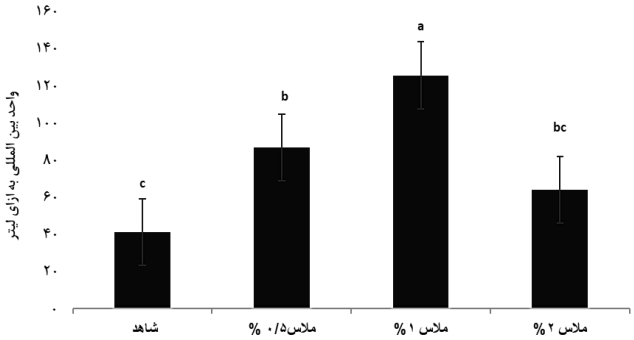
با توجه به جدول ۲ بررسی میزان پروتئین کل سرم خون ماهی‌های کپور تحت تیمارهای آزمایشی حاکی از افزایش سطوح پروتئین کل در ماهی‌های تغذیه شده با جیره حاوی ملاس بود که این افزایش از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمار ۲٪ ملاس بود (P<۰/۰۵). اختلاف معنی‌داری بین مقدار ایمنوگلوبین در گروه شاهد و تیمار ۱٪ ملاس دیده شد که به‌طور معنی‌داری کاهش و سپس در تیمار ۲٪ ملاس افزایش پیدا کرده است ولی اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد دیده نمی‌شود (P<۰/۰۵). هم‌چنین بررسی میزان فعالیت آلکانین فسفاتاز سرم خون ماهی‌های کپور تحت تغذیه با جیره حاوی ملاس نشان داد که مقدار این فعالیت در تیمارها نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشته است (P<۰/۰۵). بیش‌ترین مقدار فعالیت آلکانین فسفاتاز در تیمار ۱٪ درصد ملاس مشاهده شد. در بررسی مقدار گلوکز، اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمار ۲ ملاس دیده شد (P<۰/۰۵). بیش‌ترین مقدار گلوکز هم در تیمار ۲ ٪ درصد ملاس دیده شد.



شکل۱: میزان پروتئین کل موکوس پوست ماهی کپورمعمولی (*C. carpio*) تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف ملاس چغندر



شکل۲: میزان ایمونوگلوبین کل موکوس پوست ماهی کپورمعمولی (*C. carpio*) تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف ملاس چغندر



شکل۳: میزان آلکالین فسفاتاز موکوس پوست ماهی کپورمعمولی (*C. carpio*) تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف ملاس چغندر

جدول۲: متغیرهای بیوشیمیایی در سرم خون کپورماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف ملاس چغندر

فاکتورهای اندازه‌گیری شده	گروه شاهد	۰/۵ ٪ ملاس	۱ ٪ ملاس	۲ ٪ ملاس
پروتئین محلول سرم (دسی‌لیتر/ گرم)	۳/۴۹۹ ± ۰/۱۴۶b	۳/۴۱۷ ± ۰/۱۳۵b	۳/۷۴۲ ± ۰/۰۹۷b	۴/۶۳۶ ± ۰/۴۰۹a
مقدار ایمنوگلوبین کل (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	۱/۸۸ ± ۰/۱۰۲a	۱/۷۵ ± ۰/۲۹a	۱/۲۴ ± ۰/۰۳۶b	۲/۰۵ ± ۰/۴۰۲a
مقدار آنزیم فسفاتاز قلیایی موکوس (واحد بین‌المللی درلیتر)	۴۶/۴۰۳ ± ۲/۷۳d	۵۷/۳۶۳ ± ۱/۳۸c	۱۱۲/۴۱ ± ۶/۸۱a	۹۲/۸۵۳ ± ۱/۶۲b
مقدار گلوکز (میلی‌گرم /دسی‌لیتر)	۱۰۸/۴۱ ± ۳/۳۸b	۱۲۲/۰۷ ± ۹/۰۴b	۱۰۶/۶ ± ۲۴/۰۸b	۲۰۳/۴۵ ± ۳/۴۳a

*داده‌ها به وسیله میانگین± انحراف معیار محاسبه شدند. مقادیر به دست آمده برای هر ویژگی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

بحث

استفاده از مکمل‌های غذایی علاوه بر افزایش رشد و کارایی مصرف جیره، عملکردهایی از جمله تحریک سیستم ایمنی نیز دارند که به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها مطرح شده‌اند (Ringø و همکاران، ۲۰۱۰). محرک‌های ایمنی با منشاء گیاهی به‌دلیل آثار جانبی کم‌تر بر موجود زنده و محیط‌زیست، عدم ایجاد مقاومت دارویی، ارزان بودن، پایدار و در دسترس بودن بسیار مورد توجه بوده‌اند. ملاس (Beet molasses) چغندرقند یک شیرین‌کننده است که به‌عنوان یک محصول جانبی از فرایند ساخت قند تشکیل می‌شود. افزودن یک ماده مانند ملاس چغندر که سرشار از اسیدامینه و پتاسیم و آهن و بتایین است به جیره غذایی ماهی اثرات سودمندی برای میزبان داشته و می‌تواند سلامت میزبان آبزی‌پروری را بهبود بخشد (Diane و همکاران، ۲۰۰۳). با این خصوصیات ملاس چغندر، از این ماده طبیعی با منشا گیاهی چندان در آبزی‌پروری استفاده نشده است. ایمنی یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های فیزیولوژیک برای مقابله با عوامل بیماری‌زا و حفظ هموستازی بدن است. یکی از بخش‌های مهم سیستم ایمنی غیراختصاصی در ماهی‌ها ایمنی موکوسی می‌باشد. پروتئین‌های موکوس که در غشای پلاسمایی

ماکروفاژها و سایر گلبول‌های سفید قرار دارند و به گیرنده‌های قندی موجود در سطح میکروب‌ها متصل می‌شوند باعث به دام افتادن سریع میکروب می‌گردند و می‌توانند قابلیت آگلوتینه کردن میکروارگانیسم‌ها وخنثی کردن اثر آن‌ها را برای موکوس ایجاد کنند (شریفیان، ۱۳۹۲). ترشح پروتئازها در موکوس پوست مستقیماً بر پاتوژن‌ها عمل کرده باکتری‌ها را از طریق شکستن پروتئین‌ها از بین می‌برند، یا ممکن است به‌طور غیرمستقیم از طریق تغییر غلظت موکوس علیه پاتوژن‌ها عمل نماید (Esteban، ۲۰۱۲). افزایش پروتئین محلول موکوس تحت تاثیر محرک‌های ایمنی ازجمله مخمر ساکارومایسس سروزیه (Sheikhzadeh، 2012b)، محرک ایمنی ارگوسان پروبیوتیک لاکتو باسیلوس کازئی (Hernandez و همکاران، ۲۰۱۰) به‌ترتیب در موکوس ماهی *O. mykiss*، *P. tetrazuna* و *P. gracilis* گزارش شده است که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. شریفیان (۱۳۹۲) نشان داد با افزایش سطح ویتامین A جیره، پروتئین محلول موکوس به‌صورت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش می‌یابد که با نتایج حاصل از مطالعه کنونی هم‌سو است. Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۵) طی بررسی‌های خود بیان کردند که افزودن پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و ترکیب پربیوتیک پدیوکوکوس اسیدیلاکتیسی و پروبیوتیک گالاکتو الیگوساکارید به‌عنوان سین‌بیوتیک به‌ترتیب در جیره غذایی ماهی تایگر بارب و قزل‌آلای رنگین‌کمان سبب افزایش معنی‌دار در میزان پروتئین محلول موکوس پوست می‌شود مشابه مطالعات گفته شده، افزودن ملاس چغندر به جیره غذایی ماهی کپور نیز سبب افزایش معنی‌دار مقدار پروتئین محلول ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) شده است. ایمونوگلوبین‌ها جزء آنتی‌بادی‌های طبیعی بوده و به‌صورت کاملاً تنظیم شده در غیاب محرک آنتی‌ژنیک خارجی تولید می‌شوند و محافظت فوری، بلافاصله و گسترده‌ای را در برابر عوامل بیماری‌زا ایجاد می‌کنند. این مورد آن‌ها را به‌عنوان یکی از بخش‌های حیاتی سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهی تبدیل کرده است. تغییر در سطوح ایمونوگلوبین سرم خون در مطالعات بسیاری به تبع استفاده از محرک‌های ایمنی گزارش شده است (Nayak و همکاران، ۲۰۰۷). هرچند تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با اثرات ملاس چغندر بر روی سطح ایمنوگلوبین موکوس صورت نگرفته است ولی در مطالعه حاضر هم اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمارها دیده نشد. آنزیم آلکانین فسفاتاز قلیایی به‌دلیل فعالیت هیدرولیتیکی، به‌عنوان یک عامل ضدباکتریایی شناخته می‌شود و نیز در بهبود زخم و عفونت‌های انگلی نقش محافظتی دارد (Subramanian و همکاران، ۲۰۰۷؛ Ross و همکاران، ۲۰۰۰). فسفاتاز قلیایی اندیکاتور بالقوه استرس است که در موکوس پوست اتلانتیک سالمون به‌اثبات رسیده است (Ross و همکاران، ۲۰۰۰). میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی اختلاف معنی‌داری را بین تیمار ۱٪ ملاس چغندر و گروه شاهد نشان داد ($P<0/05$). بیش‌ترین مقدار فعالیت آلکالین فسفاتاز در تیمار ۱٪ ملاس مشاهده شد. براساس گزارش ارائه شده توسط Sheikhzadeh و همکاران (۲۰۱۲) به‌کارگیری محرک ایمنی ارگوسان در جیره غذایی ماهی قزل‌آلا سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی شده است. هم‌چنین استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در جیره ماهی تایگر بارب فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی را افزایش داد (Roosta و Hoseinifar، ۲۰۱۶). در مطالعه حاضر هم استفاده از ملاس چغندر در جیره غذایی ماهی کپور باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم آلکانین فسفاتاز قلیایی نسبت به گروه شاهد شد.

شاخص‌های بیوشیمیایی : گزارش‌های مستند و کافی در مورد تأثیر ترکیبات مختلف جیره غذایی بر شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور معمولی وجود دارد که همه مقادیر این پارامترها در محیط آزمایشگاهی مورد سنجش و آنالیز قرار گرفته است. به‌طور کلی اتفاق نظر محققین بر این است که فاکتورهای خونی و سرمی ماهیان در گونه‌های مختلف باهم تفاوت داشته، ارتباط و وابستگی زیادی با شرایط محیطی، تغذیه‌ای و سن و ... دارد (Ross و Ross، ۱۹۹۹). بنابراین باید برای هر گونه ماهی در شرایط اقلیمی هر منطقه مقادیر طبیعی این فاکتورها وجود داشته باشد. عوامل خونی به‌عنوان بهترین فاکتور جهت بررسی وضعیت تعادل موجود زنده با محیط پیرامون خود است که برای دستیابی به وضعیت خونی ماهیان در شرایط خاص زندگی، به تصویر کشیدن تنوع سلول‌های خونی در شرایط کارگاه‌های پرورشی به تناسب گونه، سن، فصول سال و تغییر شاخص‌های خونی به هنگام بیماری امری ضروری می‌باشد (گالونیا وترومبیتسکی، ۱۹۸۹). محیط‌زیست ماهیان و شرایط حاکم بر آن نظیر درجه حرارت، مواد غذایی و آلودگی‌ها بر مقادیر متابولیت‌ها و سلول‌های خونی تاثیر می‌گذارد (Bullis، ۱۹۹۳). در مطالعه حاضر مقدار پروتئین محلول سرم در تیمار ۲٪ ملاس اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشته است. بیش‌ترین مقدار پروتئین محلول در تیمار ۲٪ ملاس مشاهده شد. افزایش مقدار پروتیئین محلول نشان‌دهنده افزایش فعالیت کبد در ماهی کپور معمولی است. تغییری در مقدار ایمنوگلوبین کل در بین تیمارها مشاهده نشد ($P<0/05$). بیش‌ترین مقدار فعالیت فسفاتاز قلیایی هم در تیمار ۱٪ ملاس چغندر دیده شد که به‌خاطر افزایش فعالیت کبد و افزایش ترشح این آنزیم کبدی و جریان یافتن در خون ماهی است. الکانین فسفاتاز جزء آنزیم‌های با اهمیت در بررسی وضعیت سلامتی ماهیان است (Racicot و همکاران، ۱۹۷۵). میزان گلوکز خون ماهیان، در شرایط طبیعی بسته به گونه در دامنه ۳۵۰-۲۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر می‌باشد (Shakoori و همکاران، ۱۹۹۶). در مطالعه حاضر مقادیر گلوکز بین ۱۰۶ تا ۲۰۴ میلی‌گرم در دسی‌لیتر می‌باشد. بیش‌ترین مقدار گلوکز

در تیمار ۲٪ درصد ملاس چغندر دیده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵) و مکانیسم آن به این صورت است که ماهی با انجام واکنش‌های بیوشیمیایی گلیکونئوژنز، گلیکوژن بافت را به گلوکز تبدیل کرده و وارد جریان خون می‌کند. به‌طورکلی افزایش مقدار ملاس در جیره باعث افزایش معنی‌دار پروتئین محلول و مقدار فعالیت فسفاتاز قلیایی و میزان گلوکز سرم خون کپور ماهی می‌شود (P<۰/۰۵).

منابع

۱. **شریفیان، م.، ۱۳۹۲.** تاثیر سطوح متفاوت ویتامین A بر خصوصیات ضدباکتریایی موکوس اپیدرم ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*). مجله علوم و فنون شیلات. دوره ۲، شماره ۳، صفحات ۵۹ تا ۷۹.

۲. **گالووینا، آ. و ترومبیتسکی، پ.، ۱۹۸۹.** هماتولوژی ماهیان استخری ایستگاه تحقیقاتی علمی واقتصادی ماهیان جوان. کیشینیوو، مولداوی. ۱۵۶ صفحه.

۳. **Bullis, R.A., 1993.** Clinical pathology of temperate freshwater and estuarine fishes in: Fish Medicine. Stoskopf. pp: 232-239.

۴. **Cabello, F.C., 2006.** Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. Environmental Microbiology. Vol. 8, pp: 1137-1144.

۵. **Chandrasekaran, M. and Bahkali, A.H., 2013.** Valorization of date palm (*Phoenix dactylifera*) fruit processing by-products and wastes using bioprocess technology ereview. Journal of Biological Science. Vol. 20, pp: 105-120.

۶. **Diane, W.C.; Ignacio, F.F.; Erkki, V.; Norman, C.S. and Thomas, J.C., 2003.** Betaine improves growth, but does not induce whole body or hepatic palmitate oxidation in swine (*Susscrofa domestica*). Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 137, pp: 131-140.

۷. **Esteban, M.A., 2012.** An overview of the immunological defenses in fish skin. ISRN Immunology. pp: 1-29.

۸. **FAO. 2002.** The state of world fisheries and aquacultures. SOFIA, Rome, Italy. 150 p.

۹. **FIGIS. 2013.** Fisheries Global Information System (FAO FIGIS) Web site. Fisheries Global Information System (FIGIS). FI Institutional Websites. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome.

۱۰. **Hernandez, L.H.H.; Barrera, T.C.; Mejia, J.C.; Mejia, G.C.; Del Carmen, M.; Dosta, M.; Del Lara Andrade, R. and Sotres, J.A.M., 2010.** Effects of the commercial probiotic *Lactobacillus casei* on the growth, protein content of skin mucus and stress resistance of juveniles of the Porthole livebearer *Poecilopsis gracilis* (poecilidae). Aquaculture Nutrition. Vol. 16, pp: 407-411.

۱۱. **Hoseinifar, S.H.; Roosta, Z.; Hajimoradloo, A. and Vakili, F., 2015.** The effects of Lactobacillus acidophilus as feed supplement on skin mucosal immune parameters, intestinal microbiota, stress resistance and growth performance of black swordtail (*Xiphophorus helleri*). Fish and Shellfish Immunology. Vol. 42, pp: 533-538.

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

۱۳. **Nayak, S.; Swain, P. and Mukherjee, S., 2007.** Effect of dietary supplementation of probiotic and vitamin C on the immune response of Indian Major Carp, Labeo rohita (Ham.). Fish and Shellfish Immunology. Vol. 23, pp: 892-896.

۱۴. **Pohlenz, C. and Gatlin, D.M., 2014.** Interrelationships between fish nutrition and health. Aquaculture. Vol. 431, pp: 111-117.

۱۵. **Raa, J., 1996.** The use of immuno-stimulatory substances in fish and shellfish farming. Reviews in Fisheries Science. Vol. 4, No. 3, pp: 229-288.

۱۶. **Racicot, J.G.; Gaudet, M. and leray, C., 1975.** Blood and liver enzymes in rainbow trout with emphasis on their diagnostic use: study of CCl4 toxicity and a case of *Aeromonas* infection. J. Fish Biol. Vol. 7, pp: 825-835.

۱۷. **Ringø, E.; Olsen, R.E.; Gifstad, T.Ø.; Dalmo, R.A.; Amlund, H.; Hemre, G.I. and Bakke, A.M., 2010.** Prebiotics in aquaculture: a review. Aquaculture Nutrition. Vol. 16, pp: 117-136.

۱۸. **Ross, L.G. and Ross, B., 1999.** Anasthetic and sedative techniques for aquatic animals. 2nd edn. Blackwell Science, Oxford, UK. pp: 22-57.

۱۹. **Ross, N.W.; Firth, K.J.; Wang, A.; Burka, J.F. and Jojnson, S.C., 2000.** Changes in hydrolytic enzyme activities of Atlantic salmon skin mucus due to infection with the Salmon louse and cortisol implantation. Disease of Aquatic Organisems. Vol. 41, pp: 43-51.

۲۰. **Ross, N.W.; Firth, K.J.; Wang, A.; Burka, J.F. and Jojnson, S.C., 2000.** Changes in hydrolytic enzyme activities of Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin mucus due to infection with the Salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) and cortisol implantation. Disease of Aquatic Organisems. Vol. 41, pp: 43-51.

۲۱. **Roosta, Z. and Hoseinifar, S.H., 2016.** The effects of crowding stress on some epidermal mucus immune parameters, growth performance and survival rate of Tiger barb. Aquaculture Research. Vol. 47, pp: 1682-1686.

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

۲۳. **Shakoori, A.R.; Iqbal, M.J. and Mughal, A.L., 1996.** Effect of sublethal doses of fenvalerate (a synthetic pyrethroid) administred continuousely for four weeks on the blood, liver and muscles of a freshwater fish (*Ctenophayngodon idella*). Bull. Environ. Contam. Toxical. Vol. 57, pp: 487-494.

۲۴. **Sheikhzadeh, N.; Karimi Pashaki, A.; Nofouzi, K.; Heidarieh, M. and Tayefi-Nasrabadi, H., 2012.** Effects of dietary Ergosan on cutaneous mucosal immune response in Rainbow trout. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 32, pp: 407-410.

۲۵. **Sheikhzadeh, N.; Heidarieh, M.; Karimi Pashaki, A.; Nofouzi, K.; Ahrab Farshbafi, M. and Akbari, M., 2012b.** Hilyses, Fermented Saccharomyces cerevisiae, enhances the growth performance and skin non-specific immune parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and Shellfish Immunology. Vol. 32, pp: 407-410.

۲۶. **Shirali, S.; Erfani Majd, N.; Mesbah, M. and Reza Seifi, M., 2012.** Histological studies of common Carp ovarian development during breeding season in Khouzestan Province, Iran. World Journal of Fish and Marine Sciences. Vol. 4, pp: 159-164.

۲۷. **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. Vol. 148, pp: 256-263.