

ارزیابی تاثیر سطوح مختلف عصاره گاماریده (*Pontogammarus maeoticus*) بر شاخص‌های رشد، ترکیب شیمیائی لاشه و ایمنی موکوسی بچه ماهی سفید نوس (*Rutilus kutum*, Kamenskii, 1901)

رودابه روفچائی^۱، مهرداد نصری تجن^{۲*}، سید محمد صلواتیان^۱، شهلا جمیلی^۳، فرزین همت کار^۴، صاحبعلی قربانی^۱

*Nasri_mehrdad@yahoo.com

- ۱- پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران
- ۲- گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بندرانزلی، بندرانزلی، ایران
- ۳- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
- ۴- سازمان نظام مهندسی منابع طبیعی و شیلات استان گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۸

چکیده

در این مطالعه تاثیر جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف عصاره گاماریده (*Pontogammarus maeoticus*) به عنوان جاذب غذای طبیعی بر شاخص‌های رشد، ترکیب شیمیائی بدن و ایمنی موکوسی ماهی سفید نوس (*Rutilus kutum*) مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ماهیان با میانگین وزن 0.35 ± 0.067 گرم در مخازن فایبرگلاس ۱۰۰ لیتری حاوی ۳۰ لیتر آب با تراکم ۲۰ عدد ماهی در هر مخزن به مدت هشت هفته ذخیره سازی شدند. برای انجام این آزمایش، درصد عصاره گاماریده با آب مقطر، سه نسبت حجمی ۱:۲۵ (۲۵٪)، ۱:۵۰ (۵۰٪)، ۱:۷۵ (۷۵٪) تهیه شد و قبل از هر بار غذادهی، به میزان دو درصد به غذای دستی تیمارها اضافه شد. این بررسی در غالب ۴ تیمار و سه تکرار برای هر تیمار انجام شد. بچه ماهیان درحد سیری غذا دهی شدند. در پایان دوره پرورش، شاخص‌های رشد همچون میانگین افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، بازماندگی و آنالیز شیمیائی لاشه و برخی از شاخص‌های ایمنی موکوس شامل: لیزوزیم، ایمونوگلوبولین کل، آلکالین فسفاتاز و پروتئاز مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد گرچه در تیمارهای آزمایشی بهبود شرایط فاکتورهای رشد و آنالیز لاشه مشاهده می‌شود، اما این افزایش نسبت به تیمار شاهد معنی دار نبود ($p > 0.05$). تمام فاکتورهای ایمنی موکوس لیزوزیم، ایمونوگلوبولین کل، آلکالین فسفاتاز و پروتئاز مورد بررسی به طور معنی‌داری در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد افزایش داشتند ($p < 0.05$). نتیجه این بررسی نشان داد عصاره گاماریده بر بهبود عملکرد رشد تاثیر معنی داری ندارد ولی منجر به افزایش ایمنی موکوس بچه ماهی سفید نوس در شرایط پرورشی می‌شود.

کلمات کلیدی: ایمنی موکوس، عصاره گاماریده، فاکتور رشد، ماهی سفید خزری

*نویسنده مسئول

مقدمه

در بین ماهیان استخوانی سواحل جنوبی دریای خزر، ماهی سفید به دلیل ارجحیت غذایی، برای ساکنین این مناطق از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است (اکرمی و همکاران، ۱۳۹۴). نامناسب بودن شرایط اکولوژی، کاهش دبی آب، از بین رفتن بسیاری از زیستگاههای طبیعی، حیات این ماهی را محدود کرده است. از اینرو، تکثیر و پرورش مصنوعی و حفظ ذخایر طبیعی این گونه ضروری است. بدین دلیل دستیابی به راهکارهایی که بتواند افزایش راندمان رشد و ایمنی را فراهم کند، در آبی پروری مورد توجه است (روفچائی و همکاران، ۱۳۹۲). استفاده از مکمل سیستم چشائی ارزیابی نهائی را در فرآیند تغذیه بعهده دارد (Kasumyan and Nikolaeva, 2002). بررسی‌ها نشان داده است که تحریک سیستم چشایی، محرک شروع رفتار تغذیه‌ای ماهی سفید است (نوری و همکاران، ۱۳۹۳). مطبوعیت غذایی جهت تحریک سیستم چشایی و آغاز رفتار تغذیه ای از اهمیت زیادی برخوردار است (روفچائی و همکاران، ۱۳۹۷). امروزه استفاده از مکمل‌های اشتها آور جهت فرموله کردن غذاهای دستی ماهیان دارای طبیعت وحشی، مورد توجه قرار گرفته است. زیرا منجر به کاهش هزینه مربوط به پرورش، افزایش سازگاری با غذای دستی، کاهش ضایعات غذایی در محیط پرورش و مدیریت آسانتر کیفیت آب در اثر کاهش زمان ماندگاری غذا در آب می شود (روفچائی و همکاران، ۱۳۹۷). بیشتر این بررسی‌ها در آبی پروری محدود به جاذب‌های مصنوعی چون بتائین، متیونین، لیزین، آلانین و انواع اسید آمینه ها می‌باشند. بررسی‌ها نشان داده‌اند که مصرف جاذب های طبیعی چون عصاره دافنی، لارو شیرونومیده، کرم‌خاکی و آرتمیا به عنوان مکمل تغذیه‌ای آبریان سبب افزایش غذا گیری آنها می شود که متعاقباً در برخی موارد بهبود فاکتورهای رشد و ایمنی را بدنبال دارد (Kasumyan and Nikolaeva, 2002)، درویش بسطامی و همکاران، ۱۳۸۷؛ سوداگر و همکاران، ۱۳۹۱). استفاده از این نوع مکمل‌های جاذب منجر به ترشح بیشتر آنزیم های گوارشی می شود و با افزایش تغذیه و جذب غذا، کارایی سیستم ایمنی و رشد بهبود می‌یابد

(Dabrowski, 2001). موکوس مترشحه از غدد مخاطی، اولین خط دفاعی بدن در برابر عوامل بیماریزای آبریان است و به سبب برخورداری مولکولهای زیست فعال با خاصیت ضد میکروبی، نقش مهمی را در مکانیسم دفاعی ماهیان ایفاء می‌کند (Fast et al., 2002). تاثیر جاذب های غذایی طبیعی غالباً تنها بر عملکرد ایمنی سرم خون محدود است (Rufchaie et al., 2017; 2019). مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات عصاره گاماریده بومی سواحل جنوبی دریای خزر بر رشد و ایمنی بچه ماهی سفید نارس در شرایط پرورشی صورت پذیرفته است.

مواد و روش کار

برای تهیه عصاره گاماریدها، از بخش ساب لیتورال سواحل بندرانزلی توسط توری با چشمه ۱ میلی‌متر گاماریدها صید شده و به آزمایشگاه منتقل گردیدند. عصاره‌گیری طبق روش روفچائی و همکارانش انجام شد (Rufchaie et al., 2017) و در ظروف ۲ سی‌سی درب‌دار (اپندرف) ریخته شد و در فریزر تحت دمای ۲۱- درجه سانتی گراد نگهداری شد. جیره غذایی مورد استفاده در این تحقیق از غذای اکستروژن شرکت خوراک ماهی رشد دانه شهرکرد ایران (SFT00-SFT0) تهیه گردید (جدول ۱). غلظت‌های حجمی (%۲۵/۱:۲۵)، (%۵۰/۱:۵۰)، (%۷۵/۱:۷۵) از درصد عصاره گاماریده و آب مقطر تهیه شدند. روزانه به میزان ۲ درصد عصاره به جیره غذایی اسپری شدند و به مدت ۲ ساعت تحت دمای اتاق خشک و سپس مورد استفاده قرار گرفتند. به جیره شاهد نیز که فاقد عصاره بود به میزان مشابه آب مقطر اسپری گردید.

جدول ۱: آنالیز جیره غذایی مورد استفاده جهت تغذیه بچه

ماهی سفید نارس *R. frisii*

Table 1: Analysis of the diets used to feed *R. frisii* larvae

ترکیب تقریبی (درصد)	جیره غذایی
۵۴	پروتئین
۱۱-۱۰	چربی
۱/۵	فیبر
۱	فسفر
۱۰	رطوبت

ماهیان مورد نیاز، از مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر شهید انصاری تهیه شدند و به ایستگاه تحقیقات تخصصی تغذیه و غذای زنده آبزیان منتقل گردیدند و حدود یک ماه جهت سازگاری با جیره سازگار (پروتئین ۵۴ درصد و انرژی ۵۰۴۹ کیلوکالری بر کیلوگرم) تغذیه شدند. پس از به وزن رسیدن با تراکم ۲۰ عدد در هر تکرار در مخازن ۱۰۰ لیتری حاوی ۳۰ لیتر آب، ذخیره سازی گردیدند. میزان غذا دهی بر حسب سیری ظاهری، روزانه در ۴ نوبت در مدت ۸ هفته صورت گرفت. این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تیمار انجام گرفت. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. روزانه غذای باقیمانده بعد از هر بار غذادهی جمع آوری شد و در دمای ۶۰ درجه در آون خشک گردید. اندازه گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب شامل دما، میزان اکسیژن محلول، هدایت الکتریکی و

اسیدیته (pH) با استفاده از دستگاه مولتی متر دیجیتالی WTW مدل (Multi 340i/SET) به صورت هفتگی اندازه گیری و ثبت شد. میانگین فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی دما، اکسیژن، pH و هدایت الکتریکی در طول دوره پرورش بترتیب $23/75 \pm 0/56$ درجه سانتیگراد، $8/80 \pm 0/21$ میلی گرم در لیتر، $7/65 \pm 0/09$ و هدایت الکتریکی $550 \pm 0/24$ میکروموس بر سانتی متر بدست آمد. پس از پایان دوره پرورش فاکتورهای رشد، تمام ماهیان باقیمانده مخازن سنجش شدند و میزان ضریب رشد ویژه (SGR)، میزان افزایش وزن بدن (ΔW)، درصد افزایش وزن بدن (WG)، درصد رشد روزانه، ضریب تبدیل غذائی (FCR) و درصد بازماندگی از طریق فرمولهای ذیل محاسبه گردیدند (Wang et al., 2003):

میانگین وزن ابتدای دوره به گرم - میانگین وزن انتهایی دوره به گرم = ΔW (میزان افزایش وزن بدن)
 لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه به - لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی به گرم) $\times 100 =$ (ضریب رشد ویژه) SGR
 زمان / گرم
 میانگین وزن / (میانگین وزن ابتدای دوره به گرم - میانگین وزن انتهایی دوره به گرم) $\times 100 =$ (درصد افزایش وزن بدن) WG
 [انتهای دوره به گرم
 تعداد) $\times 100 =$ درصد بازماندگی، افزایش وزن بدن به گرم / مقدار غذای خورده شده به گرم = (ضریب تبدیل غذائی) FCR
 (تعداد بچه ماهیان باقی مانده در انتهایی دوره / بچه ماهیان ابتدای دوره)

موکوس روش Smith استفاده شد (Smith et al., 2000). فعالیت پروتئازی موکوس بر اساس روش هیدرولیز آزوکازئین پیشنهاد شده توسط پالاکشا (Palaksha et al., 2008) اندازه گیری گردید. برای تجزیه و تحلیل کلیه داده ها از نرم افزار SPSS 18 و برای رسم نمودارها از برنامه Excel 2013 استفاده گردید. در ابتدا نرمال بودن داده ها با آزمون (شاپیرو - ویلک) تست گردید در صورت نرمال بودن توزیع داده ها، برای مقایسه میانگین از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و برای جداسازی گروه های همگن از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد ($p < 0/05$) استفاده شد. برای داده های غیر نرمال از آزمون غیر پارامتریک کروسکال والیس استفاده گردید.

جهت بررسی آنالیز لاشه ۵ عدد لاشه از هر مخزن به صورت تصادفی از هر تیمار به آزمایشگاه منتقل شدند و بر اساس روش استاندارد (AOAC, 1990) مورد تجزیه شیمیایی قرار گرفتند. برای تعیین پروتئین خام از دستگاه کجلدال مدل تکاتور 10C Micro، چربی خام از دستگاه سوکسله مدل تکاتور، خاکستر توسط کوره مدل Heraeus و ماده خشک از آون مدل Binder استفاده شد. موکوس ماهیان با استفاده از روش Subramanian جمع آوری شد (Subramanian et al., 2007). سنجش آنزیم لیزوزیم به روش کدورت سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد (Subramanian et al., 2007). جهت اندازه گیری ایمونوگلوبولین کل از روش سیویکی (Siwicki et al., 1994) و آلکالین فسفاتاز

نتایج

پس از زیست سنجی بچه ماهیان مورد مطالعه در پایان دوره آزمایشی، فاکتورهای مورد نظر، اندازه گیری شدند و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. همانطوریکه نتایج در جدول ۲ نشان می‌دهد، بهبود فاکتورهای رشد به ویژه کاهش ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی مشاهده می‌شود، اما این تغییرات از نظر آماری نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار نیست ($p < 0.05$). درصد بازماندگی در پایان دوره بررسی به طور معنی‌دار در تیمارهای ۲۵٪ و ۵۰٪ عصاره گاماروس افزایش داشت ($p < 0.05$). بررسی آنالیز لاشه همانطوریکه در جدول ۳ نشان داده شده است، حاکی از افزایش پروتئین و رطوبت و کاهش چربی و خاکستر در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد است. اگرچه این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار گزارش نشد ($p > 0.05$). همانطوریکه در شکل ۱ مشاهده می‌شود، میزان فعالیت لیپوزیم موکوس در تیمارهای مختلف معنی‌دار بود ($p < 0.05$) بطوریکه بیشترین و کمترین میزان

فعالیت لیپوزیم موکوس بترتیب مربوط به تیمارهای حاوی ۲۵٪ و صفر درصد مشاهده می‌شود. بررسی میزان ایمونوگلوبولین کل موکوس بچه ماهیان سفید نوس تحت تیمارهای آزمایشی حاکی از افزایش سطوح ایمونوگلوبولین کل در تیمارهای ۲۵٪ و ۵۰٪ در مقایسه با سایر تیمارهای مورد بررسی بود ($p < 0.05$). بررسی آماری نتایج بدست آمده از فعالیت آلکالین فسفاتاز موکوس پوست بچه ماهی سفید نوس با جیره پایه و جیره حاوی عصاره گامارس نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار این شاخص در گروه‌های تغذیه شده با عصاره گاماروس بوده است ($p < 0.05$) بیشترین افزایش در تیمارهای ۲۵٪ و ۵۰٪ بچشم می‌خورد. بررسی فعالیت پروتئاز همانند سایر شاخص‌های ایمنی بیانگر افزایش فعالیت آنزیم در موکوس این بچه ماهیان سفید نوس تغذیه شده با عصاره گاماروس در تیمارهای ۲۵٪ و ۵۰٪ بوده است که این افزایش از نظر آماری در مقایسه با تیمار شاهد معنی‌دار است ($p < 0.05$).

جدول ۲: شاخص‌های رشد و بازماندگی بچه‌ماهی سفید نوس تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره گاماریده بعد از ۸ هفته پرورش

Table 2: Growth performance indices of *R. frisii* larvae, fed the diets containing different levels of gammaridae extract after 8 weeks.

۷۵٪	۵۰٪	۲۵٪	شاهد	سطوح عصاره جیره	فاکتورهای رشد
0.35 ± 0.08^a	0.36 ± 0.07^a	0.35 ± 0.07^a	0.37 ± 0.05^a	وزن اولیه (گرم)	
0.19 ± 0.15^a	0.19 ± 0.18^a	0.19 ± 0.17^a	0.18 ± 0.13^a	وزن نهائی (گرم)	
$155/79 \pm 12/91^a$	$153/60 \pm 12/112^a$	$166/22 \pm 19/74^a$	$141/99 \pm 16/90^a$	درصد افزایش وزن بدن	
$1/67 \pm 0.04^a$	$1/66 \pm 0.08^a$	$1/74 \pm 0.13^a$	$1/57 \pm 0.13^a$	ضریب رشد ویژه	
$2/78 \pm 0.24^a$	$2/84 \pm 0.19^a$	$2/61 \pm 0.25^a$	$3/01 \pm 0.49^a$	ضریب تبدیل غذایی	
$73/33 \pm 7/64^a$	$88/33 \pm 7/64^b$	$100/00 \pm 0.00^b$	$80/00 \pm 18/03^a$	درصد بازماندگی	

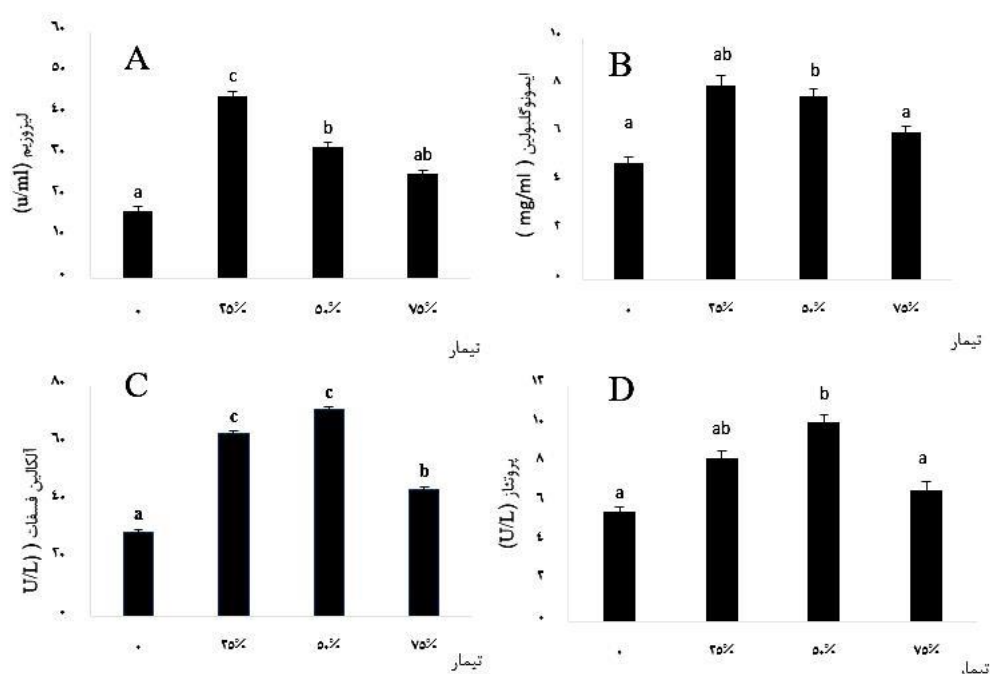
ارقام نشانه گذاری شده با حروف لاتین مختلف دارای اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشند (آزمون توکی $p < 0.05$).

جدول ۳: اثر سطوح مختلف عصاره گاماریده بر ترکیب لاشه بچه ماهیان سفید بعد از مدت ۸ هفته پرورش

Table 3: Body composition of *R. frisii* larvae fed the diets containing different levels of gammaridae extract after 8 weeks.

۷۵٪	۵۰٪	۲۵٪	شاهد	سطوح مختلف عصاره	شاخص (درصد)
$35/66 \pm 0.55$	$36/13 \pm 0.75$	$36/65 \pm 0.75$	$35/33 \pm 0.55$	پروتئین	
$44/12 \pm 0.26$	$43/43 \pm 1.07$	$39/79 \pm 0.52$	$45/87 \pm 0.60$	چربی	
$6/75 \pm 0.55$	$6/51 \pm 0.44$	$6/44 \pm 0.54$	$7/01 \pm 0.69$	خاکستر	
$13/47 \pm 0.90$	$13/93 \pm 1.00$	$17/12 \pm 0.60$	$11/79 \pm 0.30$	رطوبت	

عدم وجود حروف در هر ردیف بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($p > 0.05$).



شکل ۱: مقایسه میانگین فاکتورهای ایمنی موکوس بچه ماهی سفید نارس تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره گاماریده بعد از ۸ هفته پرورش (p<0.05): A: لیزوزیم، B: ایمونوگلوبولین، C: آلکالین فسفاتاز، D: پروتئاز

Figure 1: Comparison the average ($\pm$ SD) of mocuse immune factors of larval, *R. frisia*, fed the diets containing different levels of gammaridae extract after 8 weeks ($p<0.05$). A: Lysosyme, B: Imonogulbolin, C: Alkaline phosphatase, D: Protease

بحث

بررسی فوق نیز حسب گونه مورد بررسی، عدم تکوین کامل سیستم چشایی می‌تواند یکی از دلایل احتمالی عدم تاثیر معنی‌دار عصاره گاماروس بر رشد بچه ماهی سفید باشد. بر اساس نتایج مطالعه حاضر (جدول ۳) تیمارهای آزمایشی از پروتئین و رطوبت بیشتری برخوردار بودند. اما این تفاوت با تیمار شاهد معنی دار نبود. موافق با یافته تحقیق حاضر، افزودن جاذب‌های مصنوعی چون بتائین و متیونین نیز به جیره غذایی ماهیان، منتج به تاثیر معنی‌داری بر لاشه آبزیان پرورشی نشد (جباری و همکاران، ۱۳۹۶؛ Sudagar et al., 2013). برخی بررسی‌ها نیز در این راستا حاکی از افزایش معنی دار پروتئین لاشه در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی جاذب غذایی در مقایسه با تیمار شاهد بود (اکرمی و همکاران، ۱۳۹۴) که محققین دلیل این امر را جذب اسیدهای آمینه بیشتر و به تبع آن ارتقاء کارایی غذا به دنبال افزایش

در تحقیق حاضر، اسپری عصاره گاماروس بر جیره غذایی بچه ماهی سفید نارس منجر به افزایش فاکتورهای رشد در تیمارهای آزمایشی شد. هر چند این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. در مطالعاتی مشابه اسپری عصاره گاماریده بر جیره غذایی قره برون (*Acipenser persicus*) و کلمه خزری (*Rutilus caspicus*) (سوداگر و همکاران، ۱۳۹۱؛ روفچائی و همکاران، ۱۳۹۷) و عصاره کرم حاکی (*Eisenia foetida*) بر جیره غذایی ماهی کلمه (Rufchaei et al., 2019) فاکتورهای رشد به طور معنی داری در اثر افزایش شاخص مطلوبیت غذائی، افزایش نشان دادند. از آنجائیکه آمینو اسیدها قادر به تحریک نوروهای چشائی هستند، گیرنده های چشایی ماهیان نسبت به اسید های آمینه آزاد حساسیت بالا نشان می‌دهند و تاثیر این اسیدهای آمینه برای هر گونه اختصاصی است (Kasumyan and Doving, 2003). در

مطلوبیت غذایی در ماهیان بیان نمودند (Genc *et al.*, 2007).

در بررسی حاضر در راستای عدم تأثیر معنی‌دار جاذب استفاده شده بر فاکتورهای رشد، آنالیز لاشه نیز تغییرات معنی‌داری را نشان نداد. همانطوریکه پیش‌تر بیان شد، نورس بودن ماهی و کامل نبودن سیستم چشایی می‌تواند یکی از دلایل مطروحه باشد.

موکوس به عنوان جزئی از مکانیسم ایمنی ذاتی، علاوه بر اینکه با ریختن پوست و بافت مرده و تولید مداوم آن، از اتصال پاتوژن‌ها جلوگیری می‌کند، منبع مهمی از اجزاء دخیل در سیستم ایمنی غیر اختصاصی است (Subramine *et al.*, 2007). تا آنجایی که مطالعات ما نشان می‌دهد تاکنون تغییرات ایمنی موکوسی پس از مصرف جاذب غذایی حیوانی در تحقیقی گزارش نشده است. تحقیقات متعددی تأثیر عصاره‌های گیاهی را بر افزایش ایمنی آبزیان نشان داده اند (Awad and Awaad, 2017). این بررسی‌ها تحت تأثیر عصاره‌های جانوری محدود است (Rufchaei *et al.*, 2019; 2017). آنزیم لیزوزیم به طور مستقیم دیواره باکتری‌ها را تخریب می‌کند و از سویی به عنوان محرک دستگاه کمپلمان و سلول‌های بیگانه خوار شناخته شده است (Magnadóttir, 2006). در بررسی حاضر، در تیمارهای حاوی عصاره گاماروس فعالیت لیزوزیم پس از ۸ هفته به طور معنی‌داری افزایش نشان داد. استفاده از عصاره خرما در آبزیان مورد بررسی (حسینی‌فر و همکاران، ۱۳۹۴) و پودر زنجبیل *Zingiber officinal* بر روی ماهی سفید نیز موافق با بررسی حاضر افزایش فاکتور ایمنی را درموکوس نشان داد (ظهیری و همکاران، ۱۳۹۶). پرورش ماهی کلمه با غذای تجاری آغشته به عصاره گاماروس و کرم خاکی به عنوان جاذب، افزایش معنی‌دار این فاکتور را در سرم خون بدنبال داشته است (Rufchaei, *et al.*, 2017; 2019). بررسی‌ها بر فعالیت لیزوزیم ماهی سفید نشان داده است که فعالیت این فاکتور در موکوس بیشتر از سرم خونی است (ذاکر و همکاران، ۱۳۹۴) و با توجه به نتایج تیمارهای آزمایشی در بررسی فوق می‌تواند مبین توان ایمنی موکوسی بچه ماهی

سفید نورس باشد. ایمونوگلوبولین‌ها جزء آنتی بادی‌های طبیعی هستند و محافظت فوری و گسترده‌ای را در برابر عوامل بیماری‌زا ایجاد می‌کنند. نتایج این مطالعه بیانگر افزایش معنی‌دار سطوح ایمونوگلوبولین کل موکوس پوست در بچه ماهیان سفید نورس تغذیه شده با عصاره گاماروس بود. عصاره گیاه آنگوزه *Ferula assafoetida* بر روی گورخرماهی *Danio rerio* و خرما بر کپور ماهی *Cyprinos carpio* نیز مطابق با بررسی حاضر موجب افزایش ایمونوگلوبولین سرم خون شد (حسینی‌فر و همکاران، ۱۳۹۴؛ واحدی و همکاران، ۱۳۹۶). استفاده از عصاره گاماروس و کرم خاکی به عنوان جاذب، باعث افزایش ایمونوگلوبولین کل سرم ماهی کلمه در پایان پرورش گردید (Rufchaei *et al.*, 2017). آنزیم فسفاتاز قلیایی به دلیل فعالیت هیدرولیتیک یک عامل ضد باکتریایی ضروری شناخته شده است و عملکرد محافظتی در بهبود زخم، عفونت انگلی و استرس دارد (Iger and Abraham, 1990). استفاده از عصاره خرما و پودر زنجبیل بر روی ماهی کپور مطابق با بررسی حاضر منجر به افزایش معنی‌دار آنزیم فسفاتاز در موکوس گردید (ظهیری و همکاران، ۱۳۹۶، حسینی‌فر و همکاران، ۱۳۹۴). افزایش معنی‌دار این آنزیم در موکوس بچه ماهیان، در تمام تیمارهای دارای عصاره گاماروس حاکی از اثرگذاری جاذب مورد استفاده است. پروتئازهای موکوس که شامل سیستمین و آسپارتیک پروتئاز هستند، در مقاومت طبیعی در برابر عفونت‌های پوست ماهی نقش دارند. مطالعه بر پروتئاز موکوس حاکی از افزایش معنی‌دار در تیمارهای ۲۵ و ۵۰ درصد بود. تأثیر عصاره خرما و مخمر ارگوسان همسو با نتایج بدست آمده افزایش معنی‌دار این فاکتور در موکوس آبزی ب‌همراه داشتند (حسینی‌فر و همکاران، ۱۳۹۴؛ Sheikhzadeh *et al.*, 2012). اگرچه تعیین مکانیسم دقیق اثرگذاری این عصاره بر سیستم ایمنی موکوس نیازمند مطالعات بیشتری است، اما همانطوریکه بررسی‌ها نشان داده است حضور آمینو اسیدهای آرژنین، گلوتامین و متیونین در عصاره گاماروس با تأثیر بر سنتز نوکلئوتید، تکثیر ماکروفاژها و لوکوسیت‌ها یکی از دلایل احتمالی افزایش پاسخ ایمنی بچه ماهی

علمی شیلات ایران، ۱۷(۴): ۳۵-۴۴. DOI: 10.22092/ISFJ.2009.115357

ذاکر، ف.، ایمانیپورنمین، ج.، ستاری، م. و هادوی، م.، ۱۳۹۵. فعالیت لیزوزیم سرم خون و موکوس پوست ماهی سفید دریای خزر *Rutilus frisii* در اکوسیستم آب لب شور و آب شیرین. نشریه توسعه آبرزی پروری، ۱۰(۱): ۶۱-۵۳.

روفچائی، ر.، حسینی فر، س. ح.، زمینی، ع.، صیاد بورانی، م.، مقصودیه کهن، ح. و فئید، م.، ۱۳۹۲. اثر سطوح متفاوت گلوکان بر شاخص های رشد، ترکیب شیمیائی بدن و میکروبیوتای روده ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* انگشت قد. نشریه علوم و فنون شیلات، ۲(۱): ۵۴-۴۳.

روفچائی، ر.، حسینی فر، س. ح.، میرزاجانی، ع. و قربانی، ص.، ۱۳۹۷. بررسی پروفایل اسید های چرب و اسید های آمینه عصاره گاماریده دریای خزر و اثرات آن بر مطبوعیت غذایی، عملکرد رشد و تنش شوری بچه ماهی کلمه *Rutilus caspicus*. پژوهش های ماهی شناسی کاربردی، ۶(۱): ۱۰۴-۹۱.

سوداگر، م.، کیوانلو، س. و بقایی، ف.، ۱۳۹۱. تاثیر عصاره گاماروس در غذاگیری و فاکتورهای رشد بچه ماهیان قره برون پرورشی *Acipenser persicus*. فصلنامه علمی-پژوهشی محیط زیست جانوری، ۴(۱): ۲۰-۱۳.

ظهیری، ف.، ایمانیپور، م. ر.، حاجی مرادلو، ع.، حسینی فر، س. ح.، ۱۳۹۶. اثرات پودر زنجبیل *Zingiber officinal* بر رشد، پارامترهای ایمنی موکوسی و پارامترهای خونی در بچه ماهی سفید دریای خزر *Rutilus kutum*. نشریه پژوهش های ماهی شناسی کاربردی، ۵(۱): ۸۷-۶۹.

نوری، گ.، جعفری، و. ف.، قربانی، ر.، گلی، ش.، ۱۳۹۳. بررسی ترجیح چشایی و رفتار غذایی ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) با استفاده از غلظت های مختلف اسیدهای آمینه آزاد. نشریه شیلات دانشگاه تهران، ۶۷(۱): ۱۳۶-۲۳.

نورس است (Rufchaei et al., 2017). در بررسی فوق استفاده از عصاره گاماروس طی دوره ۸ هفته ای پرورش، به عنوان جاذب اثر معنی داری بر فاکتورهای رشد و آنالیز لاشه بچه ماهیان سفید نورس نداشت که با افزایش زمان پرورش، احتمال اثر گذاری آن پیش بینی می شود. همچنین در این تحقیق استفاده از عصاره گاماروس با دوز ۵۰ درصد، تمام فاکتورهای ایمنی موکوس مورد بررسی را به طور معنی داری در بچه ماهیان سفید افزایش داد. جهت ارتقاء کیفیت پرورش قبل از رهاسازی، افزایش بازگشت شیلاتی و حفظ ذخایر این گونه ارزشمند، استفاده از مکمل هایی که منجر به افزایش مقاومت و ایمنی شوند و ارتقاء کیفیت پرورش را به همراه داشته باشند، راهگشاست.

منابع

اکرمی، ر.، قابلی، ب.، وهابزاده رودسری، ح.، و رازقی، م.، ۱۳۹۴. بررسی بتائین بعنوان یک جاذب بر رشد، بقا، ترکیب شیمیائی و مقاومت ماهی کلمه در برابر استرس. مجله شیلات آزادشهر، ۳: ۵۴-۴۷.

جباری، ا.، اکرمی، ر. و چیت ساز، ح.، ۱۳۹۶. اثر بتائین به عنوان جاذب غذا بر عملکرد رشد، بازماندگی، ترکیب شیمیائی بدن و مقاومت به استرس در بچه ماهی سفید *Rutilus frisii kutum*. مجله علمی شیلات ایران، ۲۶(۱): ۸۳-۹۳. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110332

حسینی فر، س. ح.، خلیلی، م.، روفاچائی، ر. و رئیس، م.، ۱۳۹۴. بررسی اثرات عصاره خرما بر شاخص های رشد و شاخص های ایمنی موکوس در بچه ماهی انگشت قد کپور معمولی (*Cyprinus carpio* Linneaus, 1758). نشریه پژوهش های ماهی شناسی کاربردی، ۳(۴): ۱۰۰-۸۹.

درویش بسطامی، ک.، سوداگر، م.، ایمانیپور، م. و طاهری، س. ع.، ۱۳۸۷. تاثیر سطوح مختلف عصاره دافنی و آرتیمیا بعنوان مواد جاذب غذایی بر روی غذاگیری و شاخص های رشد در بچه فیل ماهیان پرورشی (*Huso huso* Linnaeus 1758). مجله

- carp. *Journal of Fish Biology*, 6(3):421-37. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1990.tb05622.x.
- Kasumyan, A. and Nikolaeva, E., 2002.** Comparative analysis of taste preferences in fishes with different ecology and feeding. *Journal of Ichthyology*, 42: 203-214.
- Kasumyan, A.O. and Døving K., 2003.** Taste preferences in fishes. *Fish and Fisheries*, 4(4): 289-347. DOI: 10.1046/j.1467-2979.2003.00121.x.
- Magnadóttir, B., 2006.** Innate immunity of fish (overview). *Fish and shellfish Immunology*, 20: 137-151. DOI: 10.1016/j.fsi.2004.09.006.
- Palaksha, K.J., Shin, G.W., Kim, YR and Jung, T.S., 2008.** Evaluation of non-specific immune components from the skin mucus of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 24: 479-88. DOI: 10.1016/j.fsi.2008.01.005.
- Rufchaei, R., Hoseinifar, S.H., Mirzajani, A. and Van Doan, H., 2017.** Dietary administration of *Pontogammarus maeoticus* extract affects immune responses, stress resistance, feed intake and growth performance of caspian roach (*Rutilus caspicus*) fingerlings. *Fish and Shellfish Immunology*, 63: 196-200. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.02.017.
- Rufchaei, R., Hoseinifar, S.H., Nedaei, SH., Bagheri, T., Ashori, GH. and Van Doan, H., 2019.** Non-specific immune responses, stress resistance and growth performance of Caspian roach (*Rutilus caspicus*) fed diet واحدی، ف.، صفری، ر.، شعبانی، ع.، حسینی فر، س.ح.، کلنگی، ح. و نژاد مقدم، ش.، ۱۳۹۶. اثرات عصاره هیدروالکلی آنغوزه *Ferula assafoetida* در جیره بر شاخص‌های ایمنی موکوسی در ماهی گورخر *Danio rerio*. فصلنامه علمی پژوهشی محیط زیست جانوری، ۹(۲): ۱۸۳-۱۹۰.
- AOAC, 1990.** Official Methods of Analyses, 15th edition. Association of Official Analytical Chemists Inc. Arlington VA. USA. *Aquaculture*, 181: 115-126.
- Awad, E. and Awaad, A., 2017.** Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. *Fish and Shellfish Immunology*, 67: 40-54. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.05.034
- Dabrowski, K., 2001.** Ascorbic acid in aquatic organisms Status and Perspectives. CRC Press, USA. pp: 33-48.
- Fast, M.D., Sims, D.E., Burka, J.F., Mustafa, A. and Ross, N.W., 2002.** Skin morphology and humoral non-specific defence parameters of mucus and plasma in rainbow trout, coho and Atlantic salmon. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 132: 645-657. DOI: 10.1016/S1095-6433(02)00109-5.
- Genc, M.A., Aktas, M., Genc, E. and Yilmaz, E., 2007.** Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth, body composition and hepatopancreas histology of *Penaeus semisulcatus*. *Aquaculture Nutrition*, 13: 156-161. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2007.00469.x.
- Iger, Y. and Abraham M., 1990.** The process of skin healing in experimentally wounded

- supplemented with Earthworm *Eisenia foetida* extract. *Aquaculture*, 511: 734275. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734275.
- Sheikhzadeh, N., Heidarieh, M., Pashaki, A.K., Nofouzi, K., Farshbafi, M.A. and Akbari, M., 2012.** Hilyses®, fermented *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the growth performance and skin non-specific immune parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 32(6):1083-7. DOI: 10.1016/j.fsi.2012.03.003.
- Siwicki, A.K., Anderson, D.P. and Rumsey, G.L., 1994.** Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary immunology and Immunopathology*, 41(1): 125-139. DOI: 10.1016/0165-427(94)90062-0.
- Smith, V.J., Fernandes, J.M.O., Jones, S.J., Kemp, G.D. and Tatner, M.F., 2000.** Antibacterial proteins in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish and Shellfish Immunology*, 10: 243-260. DOI: 10.1006/fsim.1999.0254
- 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. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 148(3): 256-263. DOI: 0.1016/j.cbpb.2007.06.003.
- Sudagar, M., Salehi, M. and Keivanloo V.S., 2013.** Effects of Goldfish (*Carassius auratus*) and Roach (*Rutilus rutilus*) extracts on the growth indexes and survival rate of Beluga (*Huso huso* Linnaeus 1758) fingerlings. *Scientific Journal of Animal Science*, 2: 234-241. DOI: 10.14196/sjas.v2i8.937.
- Wang, X., kim, K.W., Bai, S.C., Huh, M.D. and Cho, B.Y., 2003.** Effect of the different levels of dietary vitamin C on growth and tissue ascorbic acid changes in parrot fish *Oplegnathus fasciatus*. *Aquaculture*, 215: 203-211. DOI: 10.1016/S0044-8486(02)00042-X.

Evaluation of the effect of different levels of *Pontogammarus maeoticus* extract on growth indices, carcass composition and mucosal safety of *Rutilus kutum*, Kamenskii, 1901

Rufchaei R.¹; Nasri Tajen M.^{2*}; Salavatian S.M.¹; Jamili Sh.³; Hematkar F.⁴; Ghorbani S.A.¹

*Nasri_mehrdad@yahoo.com

- 1- Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran
- 2- Department of Fisheries, Islamic Azad University Bandar Anzali, Bandar Anzali, Iran
- 3- Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
- 4- Agricultural and Natural Resources Engineering Organization of Guilan Province, Raht, Iran

Abstract

In this study, the effect of diets containing different levels of *Pontogammarus maeoticus* extract as natural nutrient attractant was investigated on growth indices, chemical composition and mucosal Immunity of *Rutilus kutum*. For this purpose, fish with an average weight of 0.35 ± 0.067 were stored in 100L fiberglass tanks containing 30 liters water with a density of 20 fish per tank for eight weeks. To perform this study, Gammaridae extracts were mixed with distilled water in three concentrations: 1:25 (25%), 1:50 (50%), 1:75 (75%) and two percent of each dilution was added to manual meals before each feeding. This experiment was performed as four triplicated treatments. Larvae were fed four times a day. At the end of the culture, growth indices such as: mean body weight gain, specific growth factor, food conversion ratio, survival, chemical analysis of carcasses and some mucosal immune parameters including; lysozyme, immunoglobulin, alkaline phosphatase and protease were studied. The results showed that although growth factor and carcass analysis were improved in all treatments (25%), this increase was not significant compared to the control ($p > 0.05$). All Mucus immune factors significantly increased in all treatments compare to control ($p < 0.05$). The result of this study showed that the Gammaridae extract had no significant effect on the improvement of growth performance, but increased the immunity of *Rutilus frisii* in culture conditions.

Keywords: Mucose immunity, Gammaridae extract, Growth factor, *Rutilus frisii*

*Corresponding author