



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره سوم، شماره چهارم، زمستان ۹۴

<http://jair.gonbad.ac.ir>

## بررسی اثرات عصاره خرما بر شاخص‌های رشد و شاخص‌های ایمنی موکوس در بچه‌ماهی *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 انگشت‌قد کپور معمولی

سیدحسین حسینی‌فر<sup>۱\*</sup>، محسن خلیلی<sup>۲</sup>، رودابه روفچایی<sup>۳</sup>، مجتبی‌رئسی<sup>۴</sup>

استادیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،<sup>۱</sup> فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد، ایران،<sup>۲</sup> کارشناس ارشد شیلات، ایستگاه تغذیه و غذای زنده، موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، ایران  
<sup>۳</sup> استادیار گروه بهداشت محیط، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

تاریخ ارسال: ۹۴/۱۰/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۲۵

### چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثرات عصاره خرما بر شاخص‌های رشد، مصرف جیره و شاخص‌های ایمنی موکوسی بچه‌ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) بود. بچه‌ماهی‌های کپور با میانگین وزنی  $(4/06 \pm 0/13)$  گرم) تأمین و با تراکم ۲۰ قطعه در ۶ تانک فایبرگلاس، در سه تکرار ذخیره سازی شدند. بچه‌ماهی‌ها به مدت ۸ هفته با جیره‌های غذایی آزمایشی حاوی صفر (شاهد) و ۲۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم عصاره خرما (۲ تیمار و ۳ تکرار) تغذیه شدند. در انتهای دوره شاخص‌های رشد، کارایی مصرف جیره (وزن نهایی، ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی) و نیز شاخص‌های ایمنی موکوسی شامل (سطوح ایمونوگلوبین کل، فعالیت لیزوزیم، پروتئاز و آلکالین فسفاتاز) بررسی شد. نتایج بدست آمده نشان داد تیمار عصاره خرما به‌طور معنی‌داری سبب افزایش شاخص‌های رشد، وزن اکتسابی و کاهش ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با تیمار شاهد گردید ( $p < 0/05$ ). همچنین بررسی سطوح ایمونوگلوبین کل و فعالیت آنزیم‌های لیزوزیم، پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در موکوس بچه‌ماهی‌های کپور تغذیه شده با عصاره خرما نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار در مقایسه با تیمار شاهد بود. با توجه به این نتایج می‌توان گفت استفاده از عصاره خرما می‌تواند به‌عنوان یک مکمل غذایی مفید جهت افزایش رشد و بهبود ایمنی بچه‌ماهی کپور معمولی مطرح باشد.

واژه‌های کلیدی: *C. carpio*، عصاره خرما، شاخص‌های رشد، پاسخ ایمنی موکوس

\*نویسنده مسئول: [hoseinifar@gau.ac.ir](mailto:hoseinifar@gau.ac.ir)

## مقدمه

صنعت آبی‌پروری در طی سالیان اخیر رشد و توسعه قابل توجهی داشته است به طوری که میزان رشد آن قابل قیاس با سایر بخش‌های تولید کننده غذا برای انسان‌ها نیست (FAO, 2014). اگرچه در کنار این رشد قابل توجه در سال‌های اخیر، آبی‌پروری همواره با مشکلاتی از قبیل تغییر کیفیت آب، مشکلات تغذیه‌ای، بروز بیماری‌ها مواجه بوده است به طوری که شیوع بیماری‌ها، گسترش اقتصادی این صنعت را در بسیاری از کشورهای جهان تحت تأثیر قرار داده است (Hoseinifar *et al.*, 2015). در طی 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 زیست محیطی را به دنبال داشته است (Pohlenz and Gatlin, 2014). لذا استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در بسیاری از کشورها به واسطه وضع قوانین، محدود و یا ممنوع شده است (Cabello, 2006) 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 and Gatlin, 2014). در سالیان اخیر با توجه به مزیت‌های متعددی از جمله آثار جانبی کمتر بر موجود زنده و محیط زیست، عدم ایجاد مقاومت دارویی، ارزان بودن، پایدار و در دسترس بودن توجه ویژه‌ای به استفاده از محرک‌های ایمنی با منشأ گیاهی شده است و گیاهان و محصولات گیاهی در حال حاضر نقش مهمی در آبی‌پروری دارد (Harikrishnan *et al.*, 2011). در کشور ما نیز مطالعاتی در زمینه تعیین اثرات گیاهان دارویی مختلف به‌عنوان محرک ایمنی در صنعت آبی‌پروری انجام شده است که از آن جمله می‌توان به بررسی اثرات گیاه اوکالیپتوس، صبرزرد، سرخارگل، سیلیمارین در ماهی کپور اشاره نمود (Alishahi, 2004; Harikrishnan *et al.*, 2011). نتایج این مطالعات نشان داده است که گیاهان و ترکیبات آنها شامل اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی دارای توان بالقوه جهت جایگزینی با داروهای شیمیایی هستند. در طول ۷۰۰ سال گذشته خرما از جنبه‌های تغذیه‌ای و اقتصادی نقش بسیار مهمی را در زندگی بسیاری از مردم ایفا کرده است (Chandrasekaran and Bahkali, 2013). پس از مشخص شدن اثرات مفید خرما بر سلامتی، استفاده از آن در تحقیقات بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات انجام شده بر مدل‌های انسانی نشان داده است که خرما دارای عملکردها و نقش‌های بسیاری از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، محرک ایمنی، ضد میکروبی و ضد التهابی و ضد سرطان است. علی‌رغم اثرات مثبت خرما، مطالعات محدودی در زمینه به‌کارگیری آن در آبی‌پروری به‌عنوان محرک ایمنی انجام شده است.

ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) از جمله ماهیان گرمابی و سومین گونه معروف جهان محسوب می‌شود که به‌طور گسترده به سراسر دنیا معرفی شده است. همچنین این ماهی یکی از گونه‌های مهم

پرورشی دنیا می‌باشد که دارای ارزش تجاری بالایی است (Rahman, 2015). با توجه به اهمیت اقتصادی این گونه پرورشی و نیز معرفی محرک‌های ایمنی جدید به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک، در این مطالعه تأثیر استفاده از عصاره خرما در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، کارایی مصرف جیره و شاخص‌های ایمنی موکوسی بررسی خواهد شد.

## مواد و روش‌ها

ماهیان مورد استفاده در این مطالعه بچه‌ماهی کپور معمولی بوده که از مرکز پرورش بخش خصوصی در استان مازندران تهیه شدند. تعداد ۱۲۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی (میانگین وزنی در حدود ۱۰-۵ گرم) تأمین و پس از انتقال به سالن پرورش شهید ناصر فضلی برآبادی با تراکم ۲۰ قطعه بچه‌ماهی در تانک‌های آزمایشی رهاسازی و به مدت ۱ هفته برای سازگاری با شرایط جدید با غذای معمولی تغذیه شدند. عصاره خرما مورد استفاده در این مطالعه براساس روش پیشنهاد شده توسط استبان و همکاران (Esteban *et al.*, 2014) تهیه شد. ۲۰۰ گرم خرما هسته‌گیری شده با استفاده از آب استریل شستشو شده و به قطعات کوچک خرد شد. سپس ۵۰۰ میلی‌لیتر آب به آن اضافه شده و به مدت ۲ ساعت در دمای ۵۵ درجه انکوبه شد. محصول بدست آمده با استفاده از مولینکس به مدت ۲ ساعت آسیاب شده و هم زده شد. سپس نمونه بدست آمده به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و سوپرناتانت جدا شده و به‌عنوان عصاره خرما مورد استفاده قرار گرفت. برای تهیه جیره پایه شامل پودر ماهی کیلکا، آرد گندم، روغن ماهی، روغن سویا، مکمل معدنی- ویتامینی، مواد چسباننده، مواد ضد قارچ و مواد آنتی‌اکسیدانت بود. برای افزودن عصاره خرما به جیره، جیره پایه فرموله شده با سطح مدنظر عصاره خرما مکمل شده و به‌صورت خمیری درآورده شد. پس از انجام مراحل فوق جیره‌های آزمایشی در پلاستیک‌های دو جداره بسته‌بندی و در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگهداری شدند (Abdel-Tawwab *et al.*, 2008). میزان غذای داده شده به ماهیان بر اساس زیست‌سنجی‌های منظم ۱۲ روزه محاسبه شد. غذاهای بچه‌ماهی‌ها به‌صورت دستی به میزان ۳ وعده در روز و به مدت ۸ هفته صورت پذیرفت. در طول مدت غذادهی واکنش بچه‌ماهی‌ها به غذا، نحوه مصرف و اشتهای آنها به‌طور دقیق بررسی شد.

به‌منظور بررسی چگونگی عملکرد عصاره خرما در جیره غذایی و مقایسه آنها، داده‌های بدست آمده از زیست‌سنجی‌ها شامل افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، ضریب (سرعت) رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، شاخص وضعیت و شاخص بازماندگی براساس فرمول‌های ذیل تعیین گردید.

$$BWI (\%) = Wt - Wi$$

- افزایش وزن بدن

$$SGR (\% / day) = \left[ \frac{LnWt - LnWi}{T} \right] \times 100$$

- ضریب (سرعت) رشد ویژه

$$FCR = \frac{C \times T}{Wt - Wi}$$

- ضریب تبدیل غذایی

در معادلات مذکور؛  $Wi$  = وزن اولیه ماهی،  $Wt$  = وزن نهایی ماهی،  $T$  = طول مدت پرورش و  $C$  = مقدار غذای خورده شده روزانه است.

جمع‌آوری موکوس بر اساس روش روس و همکاران (Ross et al., 2000) انجام شد. از هر تانک ۳ قطعه ماهی به صورت تصادفی نمونه‌برداری و پس از بیهوشی با ۵ میلی‌گرم در لیتر پودر گل میخک به صورت جداگانه درون کیسه‌های پلی اتیلنی (زیپ پلاست) حاوی ۱۰ میلی‌لیتر سدیم کلرید ۵۰ میلی مولار قرار گرفته و پس از ۲ دقیقه ماهی‌ها از کیسه‌ها خارج شدند. موکوس جمع‌آوری شده به لوله‌های سانتریفیوژ استریل ۱۵ میلی‌لیتری منتقل، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و سوپرناتانت جهت بررسی‌های بیشتر به میکروتیوپ ۱/۵ سی سی منتقل گردید. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش درون فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. برای تعیین سطح فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی از دستگاه اسپکتروفتومتر و کیت تجاری (پارس آزمون) استفاده گردید (Roosta and Hoseinifar, 2016). برای سنجش آنزیم لیزوزیم به روش کدورت‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد (Subramanian et al., 2007). جهت اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین کل از روش سیویکی و اندرسون (Siwicki and Anderson, 1993) استفاده شد. همچنین فعالیت پروتئازی موکوس بر اساس روش هیدرولیز آزوکازئین پیشنهاد شده توسط پالاکشا و همکاران (Palaksha et al., 2008) اندازه‌گیری شد.

پس از اندازه‌گیری شاخص‌های فوق ابتدا نرمال بودن داده با استفاده از آزمون کولموگراف-اسمیرنف بررسی شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها برای مقایسه بین تیمارهای آزمایشی از آزمون t-Student در سطح احتمال ۵ درصد ( $p < 0.05$ ) استفاده گردید. آنالیز واریانس با استفاده از نرم‌افزار SPSS-13 انجام شد.

## نتایج

نتایج مربوط به بررسی اثرات عصاره خرما بر شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان کپور معمولی در جدول ۱ ارائه شده است. در ابتدای دوره اختلاف معنی‌داری بین تیمارها از نظر وزن وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). در انتهای دوره (هفته هشتم) بررسی شاخص‌های رشد موید افزایش شاخص‌های رشد در بچه‌ماهی‌های تغذیه شده با عصاره خرما بود که این افزایش از نظر آماری در مقایسه با تیمار شاهد معنی‌داری بود ( $p < 0.05$ ). در بررسی میزان ضریب تبدیل غذایی، وزن اکتسابی، و نرخ رشد ویژه اختلاف معنی‌داری

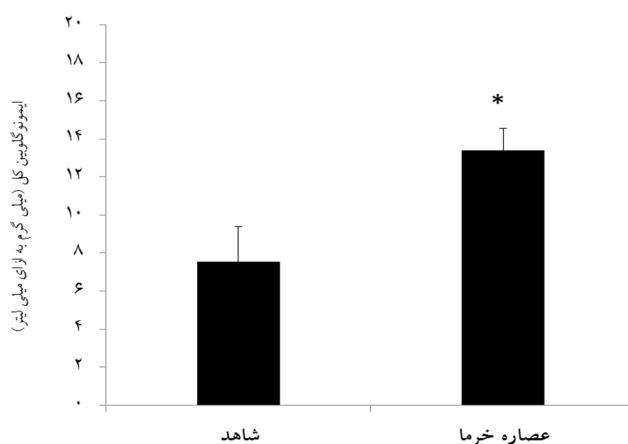
بررسی اثرات عصاره خرما بر شاخص‌های رشد و شاخص‌های ایمنی موکوس در بچه‌ماهی....

بین تیمار شاهد و تیمار عصاره خرما مشاهده گردید ( $p < 0/05$ ). میزان بازماندگی در انتهای دوره در هر دو گروه شاهد و تیمار ۱۰۰ درصد بود و تلفاتی در حین دوره آزمایش مشاهده نشد.

جدول ۱: شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان کپور معمولی (*C. carpio*) تغذیه شده (به مدت ۸ هفته) با جیره پایه و جیره حاوی ۲۰۰ میلی‌لیتر به ازای کیلوگرم عصاره خرما

شاخص	شاهد	تیمار
		۲۰۰ میلی‌لیتر
میانگین وزن اولیه (گرم)	۴/۱۲ ± ۰/۱۳ <sup>a</sup>	۴/۰۱ ± ۰/۱۶ <sup>a</sup>
میانگین وزن نهایی (گرم)	۹/۷۹ ± ۰/۲۸ <sup>a</sup>	۱۳/۱۸ ± ۰/۳۳ <sup>b</sup>
میانگین طول اولیه (cm)	۶/۷۰ ± ۰/۲۵ <sup>a</sup>	۶/۵۱ ± ۰/۱۴ <sup>a</sup>
میانگین طول نهایی (cm)	۹/۴۲ ± ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۱۰/۲۵ ± ۰/۰۷ <sup>b</sup>
ضریب تبدیل غذایی (FCR)	۲/۶۸ ± ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۲/۳۱ ± ۰/۱۳ <sup>b</sup>
نرخ رشد ویژه (SGR)	۱/۷۶ ± ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۲/۴۲ ± ۰/۱۳ <sup>b</sup>
وزن اکتسابی (WG)	۵/۶۷ ± ۰/۲۸ <sup>a</sup>	۹/۱۷ ± ۰/۴۹ <sup>b</sup>
بازماندگی	۱۰۰ <sup>a</sup>	۱۰۰ <sup>a</sup>

\* اعداد (میانگین ± انحراف معیار) در یک ردیف با حروف متفاوت موید اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد ( $p > 0/05$ ).

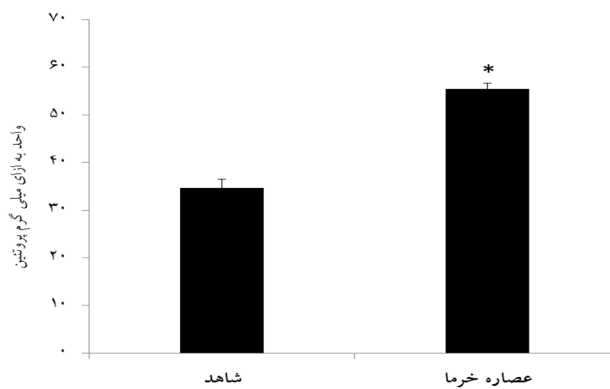


شکل ۱: میزان ایمونوگلوبولین کل موکوس پوست بچه‌ماهیان کپور معمولی (*C. carpio*) تغذیه شده (به مدت ۸ هفته) با جیره پایه و جیره حاوی ۲۰۰ میلی‌لیتر به ازای کیلوگرم عصاره خرما. علامت ستاره (\*) نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0/05$ ).

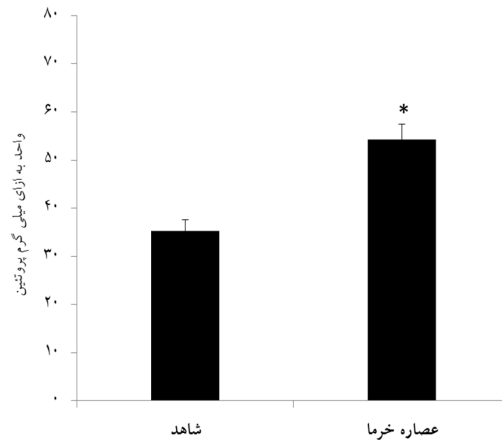
نتایج اثرات عصاره خرما بر میزان فعالیت ایمونوگلوبولین موکوس در شکل ۱ آورده شده است. بررسی میزان ایمونوگلوبولین کل موکوس پوست ماهی‌های کپور تحت تیمارهای آزمایشی حاکی از افزایش

سطوح ایمونوگلوبین کل در ماهی‌های تغذیه شده با جیره حاوی عصاره خرما بود که این افزایش از نظر آماری در مقایسه با تیمار شاهد معنی‌داری بود ( $p < 0/05$ ).

شکل ۲ نشان دهنده اثرات عصاره خرما بر میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم موکوس پوست بچه‌ماهی کپور معمولی است. همان‌طور که در نمودار مشخص است تغذیه بچه‌ماهی‌ها با جیره حاوی عصاره خرما سبب افزایش فعالیت آنزیم لیزوزیم در موکوس پوست شد که این افزایش از نظر آماری در مقایسه با تیمار شاهد معنی‌داری بود ( $p < 0/05$ ).



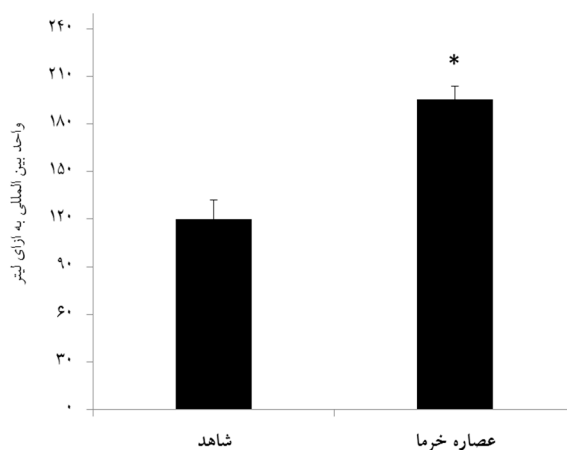
شکل ۲: میزان فعالیت لیزوزیم موکوس پوست بچه‌ماهیان کپور معمولی (*C. carpio*) تغذیه شده (به مدت ۸ هفته) با جیره پایه و جیره حاوی ۲۰۰ میلی‌لیتر به ازای کیلوگرم عصاره خرما. علامت ستاره (\*) نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0/05$ ).



شکل ۳: میزان فعالیت پروتئاز موکوس پوست بچه‌ماهیان کپور معمولی (*C. carpio*) تغذیه شده (به مدت ۸ هفته) با جیره پایه و جیره حاوی ۲۰۰ میلی‌لیتر به ازای کیلوگرم عصاره خرما. علامت ستاره (\*) نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0/05$ ).

نتایج اثرات عصاره خرما بر میزان فعالیت پروتئاز موکوس در شکل ۳ آورده شده است. که بررسی فعالیت پروتئاز موید افزایش فعالیت پروتئاز بچه‌ماهی‌های تغذیه شده با عصاره خرما بود که این افزایش از نظر آماری در مقایسه با تیمار شاهد معنی‌داری بود ( $p < 0/05$ ).

نتایج اثرات تغذیه با جیره حاوی عصاره خرما بر میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز موکوس در شکل ۴ نشان داده شده است. همانند سایر شاخص‌های ایمنی، بررسی آماری نتایج بدست آمده از فعالیت آلکالین فسفاتاز موکوس پوست بچه‌ماهی‌های کپور تغذیه شده با جیره پایه و جیره حاوی عصاره خرما نیز نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار این شاخص در گروه تغذیه شده با عصاره خرما بود ( $p < 0/05$ ).



شکل ۴: میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز موکوس پوست بچه‌ماهیان کپور معمولی (*C. carpio*) تغذیه شده (به مدت ۸ هفته) با جیره پایه و جیره حاوی ۲۰۰ میلی‌لیتر به ازای کیلوگرم عصاره خرما. علامت ستاره (\*) نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می باشد ( $p < 0/05$ ).

### بحث و نتیجه‌گیری

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 *et al.*, 2010). محرک‌های ایمنی با منشاء گیاهی به‌دلیل آثار جانبی کمتر بر موجود زنده و محیط زیست، عدم ایجاد مقاومت دارویی، ارزان بودن، پایدار و در دسترس بودن بسیار مورد توجه بوده‌اند. خرما به دلیل دارا بودن ترکیبات فیتوشیمیایی مانند فنولیک‌ها، استرول‌ها، کارتنوئیدها، آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها، آنتی‌اکسیدانی دارای اثرات تحریک‌کننده ایمنی، ضد میکروبی و ضد التهابی و ضد سرطان می‌باشد. با این حال استفاده از آن در صنعت آبزی‌پروری چندان مورد توجه نبوده است.

همان‌طور که در بخش نتایج نشان داده شده است بررسی شاخص‌های رشد در مطالعه حاضر نشان داد تغذیه بچه‌ماهی کپور به مدت ۸ هفته با جیره‌های غذایی حاوی عصاره خرما به‌طور معنی‌داری سبب افزایش شاخص‌های رشد (افزایش وزن، افزایش طول و ضریب رشد ویژه) شد. همچنین ضریب تبدیل غذایی در بچه‌ماهی‌های کپور تغذیه شده با جیره مکمل شده با عصاره خرما به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود. براساس مرور منابع به‌عمل آمده تاکنون هیچ مطالعه‌ای در آبرزی‌پروری در خصوص استفاده از عصاره خرما در جیره غذای آبریان و اثرات آن بر شاخص‌های رشد ماهی انجام نشده است. با این حال به نظر می‌رسد بهبود شاخص‌های رشد در بچه‌ماهی‌های تغذیه شده با عصاره خرما ناشی از وضعیت تغذیه بهتر ایجاد شده توسط مکمل غذایی عصاره خرما است. مطالعات انجام شده نشان داده است که خرما دارای ارزش غذایی بسیار بالایی است که این امر ناشی از دارا بودن محتوی فیبر، انواع ویتامین‌ها (A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>، C)، آنزیم‌ها (فیتاز، اینورتاز و پراکسیداز) و مواد معدنی ضروری (شامل کلسیم، آهن، منیزیم، فسفر، پتاسیم، روی، سلنیوم و منگنز) می‌باشد (Esteban *et al.*, 2014). کاهش ضریب تبدیل غذایی بچه ماهی‌های کپور تغذیه شده با جیره حاوی عصاره خرما موید وضعیت تغذیه‌ای بهتر می‌باشد. همچنین در طی دوره آزمایش میزان بازماندگی در تیمار شاهد و تیمار تغذیه شده با عصاره خرما ۱۰۰ درصد بود و هیچ تلفاتی در حین آزمایش مشاهده نشد. این امر نشان دهنده بهینه بودن شرایط پرورش شامل کیفیت آب، تغذیه و ... 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. اجزاء موجود در موکوس شامل لیزوزیم، ایمونوگلوبولین‌ها، پروتئین‌های کمپلمان (عامل مکمل)، لکتین‌ها، آنزیم‌های پروتئولیتیک، پروتئین واکنش‌دهنده C و دیگر پروتئین‌های آنتی باکتریال (Subramanian *et al.*, 2007) می‌باشد، که هر کدام به نحوی در جهت افزایش فعالیت سیستم ایمنی ماهی ایفای نقش می‌کنند. آنزیم لیزوزیم به‌صورت گسترده‌ای در ماکروفاژها، میکروب‌ها، گیاهان، بی‌مهرگان و مهره‌داران وجود دارد و نیز در ترشحات بسیاری از حیوانات از جمله موکوس مشاهده می‌شود. نتایج مطالعه حاضر حاکی از افزایش معنی‌داری فعالیت آنزیم لیزوزیم در موکوس پوست بچه ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با جیره حاوی عصاره خرما بود. مشابه با نتایج بدست آمده در این مطالعه، ظهیری و همکاران (Zoheiri, 2014) گزارش کردند به‌کارگیری پودر زنجبیل در جیره غذایی ماهی سفید سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم لیزوزیم موکوس شد. هم‌راستا با این گزارش‌ها، دهقانیان و همکاران (Dehghanian, 2014) در مطالعاتی روی بچه‌ماهی کپور معمولی گزارش کردند که افزودن پودر سیاه دانه به جیره غذایی سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم لیزوزیم پوست شد. همچنین نتایج مشابهی در استفاده از سایر مکمل‌های غذایی از جمله ویتامین‌ها، پروبیوتیک و

سین‌بیوتیک در جیره غذایی گونه‌های مختلف ماهی گزارش شده است. به‌علاوه در مطالعه انجام شده روی موش، کاراساوا و همکاران (Karasawa *et al.*, 2011) مشاهده کردند که استفاده از عصاره خرما در جیره سبب بهبود وضعیت ایمنی می‌شود که این یافته نیز مطابق با یافته‌های مطالعه حاضر 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 *et al.*, 2007). اگرچه تاکنون اثرات عصاره خرما جیره بر سطوح ایمونوگلوبین کل موکوس پوست ماهی بررسی نشده است، نتایج این مطالعه موید افزایش معنی‌دار سطوح ایمونوگلوبین کل موکوس پوست در بچه‌ماهی‌های کپور تغذیه شده با عصاره خرما بود. به نظر می‌رسد افزایش سطوح ایمونوگلوبین موکوس پوست نشان دهنده اثرات مثبت عصاره خرما بر ایمنی موکوس پوست ماهی کپور است. اگرچه تعیین مکانیسم دقیق اثرگذاری آن بر سیستم ایمنی موکوسی نیازمند مطالعات بیشتری است.

آنزیم فسفاتاز قلیایی به دلیل فعالیت هیدرولیتیکی، به‌عنوان یک عامل ضد باکتریایی شناخته می‌شود و نیز در بهبود زخم و عفونت‌های انگلی نقش محافظتی دارد (Ross *et al.*, 2000; Subramanian *et al.*, 2007). اطلاعات محدودی در رابطه با تأثیر محرک‌های ایمنی بر میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در موکوس ماهیان وجود دارد و تاکنون گزارشی درخصوص اثرات احتمالی عصاره خرما گزارش نشده است. بر اساس گزارش ارائه شده توسط شیخ زاده و همکاران (Sheikhzadeh *et al.*, 2012) 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 and Hoseinifar, 2016). در این مطالعه نیز، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در موکوس پوست بچه‌ماهی کپور تغذیه شده با عصاره خرما به مدت ۸ هفته، افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد.

پروتئازها یکی دیگر از عوامل موجود در موکوس ماهی‌ها هستند. پروتئازهایی مانند تریپسین، کاتپسین بی ال (سیستین پروتئاز)، کاتپسین دی (اسپارٹیک پروتئاز) و متالوپروتئازها در موکوس پوست ماهیان شناسایی شده است. پروتئاز موکوس پوست در مقاومت طبیعی در برابر عفونت‌های پوست ماهی نقش دارد. ترشح پروتئازها در موکوس پوست مستقیماً بر پاتوژن‌ها عمل کرده (باکتری‌ها را از طریق شکستن پروتئین‌ها از بین می‌برند) یا ممکن است به‌طور غیر مستقیم از طریق تغییر غلظت موکوس علیه پاتوژن‌ها عمل نماید (Esteban, 2012). درخصوص اثرات مکمل غذایی بر فعالیت پروتئاز

موکوس تنها یک مطالعه وجود دارد. شیخ زاده و همکاران (Sheikhzadeh *et al.*, 2012) گزارش کردند تغذیه ماهی با جیره حاوی مخمر ساکارومایسز سرویزیه به‌طور معنی‌داری سبب افزایش فعالیت پروتئازی موکوس شد. مشابه این مطالعه، افزودن عصاره خرما به جیره غذایی ماهی کپور نیز سبب افزایش معنی‌دار فعالیت پروتئازی موکوس شد. اگرچه مکانیسم دقیق اثر عصاره خرما بر فعالیت پروتئازی موکوس مشخص نیست، به نظر می‌رسد این افزایش مشاهده شده ناشی از بهبود وضعیت ایمنی موکوسی باشد؛ کما اینکه در بررسی سایر شاخص‌های ایمنی نیز روند مشابهی مشاهده شده است.

در مجموع، نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از عصاره خرما در جیره غذایی ماهی کپور اثرات سودمندی بر شاخص‌های ایمنی و شاخص‌های ایمنی موکوس پوست دارد. با توجه به اینکه کشور ایران یکی از بزرگترین تولیدکنندگان خرما در جهان می‌باشد، تولید این محرک ایمنی ارزان قیمت از خرماهای ضایعاتی می‌تواند به‌عنوان یک راهبرد جهت استفاده در صنعت آبزی‌پروری مطرح باشد. اگرچه این مطالعه مقدماتی بوده و تعیین دوز بهینه استفاده از عصاره خرما در جیره غذایی نیازمند مطالعات بیشتری است.

#### منابع

- Abdel-Tawwab M., Abdel-Rahman A.M., Ismael N.E.M. 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*, 185: 280-289.
- Alishahi M. 2004. The role of immuno stimulant in aquaculture. *Jornal of Iranian Veterinary Science*, 4: 33-38. (In Persian)
- 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*, 8: 1137-1144.
- Chandrasekaran M., Bahkali A.H. 2013. Valorization of date palm (*Phoenix dactylifera*) fruit processing by-products and wastes using bioprocess technology erview. *Journal of Biological Science*, 20: 105-120.
- Dehghanian S.H. 2014. The dietary effects of black Cumin seed (*Nigella sativa*) powder on some mucosal immunity parameters, growth, survival and resistance against salinity stress in Caspian roach (*Cyprinus carpio*). M.Sc. thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. (In Persian).
- Esteban M.A. 2012. An overview of the immunological defenses in fish skin. *ISRN Immunology*, 2012: 1-29.

- Esteban M.A., Cordero H., Martínez-Tomé M., Jiménez-Monreal A. M., Bakhrouf A., Mahdhi A. 2014. Effect of dietary supplementation of probiotics and palm fruits extracts on the antioxidant enzyme gene expression in the mucosae of gilthead Sea bream (*Sparus aurata* L.). *Fish and Shellfish Immunology*, 39: 532–40.
- FAO Aquaculture Department. 2014. The state of world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 243 P.
- Harikrishnan R., Balasundaram C., Heo M.S. 2011. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*, 317: 1-15.
- Hoseinifar S.H., Roosta Z., Hajimoradloo A., 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 Sword tail (*Xiphophorus helleri*). *Fish and Shellfish Immunology*, 42: 533–8.
- Karasawa K., Uzuhashi Y., Hirota M., Otani H. 2011. A matured fruit extract of date palm tree (*Phoenix dactylifera* L.) stimulates the cellular immune system in mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 11287-11293.
- Nayak S., Swain P., 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*, 23: 892-896.
- Palaksha K.J., Shin G.W., Kim Y.R., Jung T.S. 2008. Evaluation of non-specific immune components from the skin mucus of olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 24: 479-488.
- Pohlenz C., Gatlin III D.M. 2014. Interrelationships between fish nutrition and health. *Aquaculture*, 431: 111-117.
- Rahman M.M. 2015. Role of Common Carp (*Cyprinus carpio*) in aquaculture production systems. *Frontiers in Life Science*, 1-12.
- Ringø E., Olsen R.E., Gifstad T.Ø., Dalmo R.A., Amlund H., Hemre G.I., Bakke A.M. 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition*, 16: 117-136.
- Roosta Z., Hoseinifar S.H. 2016. The effects of crowding stress on some epidermal mucus immune parameters, growth performance and survival rate of Tiger barb (*Pentius tetrazona*). *Aquaculture Research*, 47: 1682–1686.
- Ross N.W., Firth K.J., Wang A., Burka J.F., 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 Organisms*, 41: 43-51.
- Sheikhzadeh N., Karimi Pashaki A., Nofouzi K., Heidarieh M., Tayefi-Nasrabadi H. 2012. Effects of dietary Ergosan on cutaneous mucosal immune response in

- Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 32: 407–10.
- Siwicki A.K., 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*, 1993:105-12.
- Subramanian S., MacKinnon Sh.L., Ross N.W. 2007. A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 148: 256-263.
- Zoheiri F. 2014. The effects of dietary ginger powder (*Zingiber officinale*) on the growth, mucosal parameters, haematological factors and resistance against salinity stress in Common Carp (*Cyprinus carpio*). M.Sc. thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. (In Persian).