مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

اثر مکمل‌های گیاهی زیره سیاه (*Carum carvi*) و شنبلیله (*Trigonella foenum graecum*) بر فعالیّت ضدباکتریایی و پروتئین محلول موکوس در بچه‌ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

زهرا روحی*، محمدرضا ایمان‌پور، عبدالمجید حاجی‌مرادلو، محبوبه سلمانیان‌قهدریجانی

گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۴/۰۹/۱۸
اصلاح: ۹۴/۱۰/۱۱
پذیرش: ۹۴/۱۱/۱۳

کلمات کلیدی:
پوست
زیره سیاه
شنبلیله
کپور
موکوس

چکیده

در این مطالعه اثرات مکمل‌های گیاهی زیره سیاه و شنبلیله بر پروتئین محلول و فعالیّت ضدباکتریایی موکوس در بچه‌ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بررسی شد. ماهیان با میانگین وزنی ۰/۰۵۷±۲/۴۵۷ گرم به طور تصادفی در ۷ تیمار (یک گروه شاهد و جیره‌های حاوی زیره سیاه و شنبلیله هریک با سه سطح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) با ۳ تکرار و ۱۵ عدد ماهی در هر تکرار توزیع شدند. بعد از ۸ هفته تغذیه، پروتئین و فعالیّت ضدباکتریایی موکوس اپیدرم در برابر دو باکتری گرم منفی (*Escherichia coli* و *Serratia marcescens*) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که سطوح پروتئین موکوس در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۱ ٪ مکمل‌های گیاهی در مقایسه با گروه شاهد و سایر تیمارها افزایش معنی‌داری داشت ($p<0/05$). علاوه براین، در میزان فعالیّت ضدباکتریایی موکوس در ماهیان تغذیه شده با زیره سیاه و شنبلیله در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p<0/05$). بیشترین فعالیّت ضدباکتریایی موکوس در ماهیان تغذیه شده با زیره سیاه ۱٪ و شنبلیله ۱٪ مشاهده شد. این نتایج نشان داد که زیره سیاه و شنبلیله می‌تواند به طور مؤثری بر میزان پروتئین و فعالیّت ضدباکتریایی موکوس پوست بچه‌ماهی کپور معمولی اثر گذار باشد.

مقدمه

آبزی‌پروری یکی از سریع‌ترین بخش‌های تولید غذا بوده است که به طور گسترده در سلامت جهان نقش دارد. یکی از عمده‌ترین مشکلات رشد این بخش، ابتلاء ماهیان به بیماری‌های عفونی است (Najiah *et al.*, 2011; Zahran *et al.*, 2014). تقویت سیستم ایمنی یکی از روش‌های قابل اطمینان جهت جلوگیری از بیماری‌ها می‌باشد (Ardó *et al.*, 2008). استفاده از محرک‌های ایمنی به عنوان مکمل‌های غذایی موجب بهبود دفاع ایمنی ماهیان می‌شود و نیز آن‌ها را در مقابل عوامل بیماری‌زا مقاوم می‌کند (Sakai, 1999). به همین دلیل در سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی بر هورمون‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها و چندین مواد شیمیایی دیگر به منظور

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: roohi26_iut@yahoo.com

افزایش قدرت ایمنی، ایجاد مقاومت در مقابل بیماری‌ها و بهبود فاکتورهای رشد صورت گرفته است (Yuan *et al.*, 2007; Imanpoor *et al.*, 2011). از سوی دیگر، به علّت هزینه بالا، مقاوم شدن عوامل بیماری‌زا، مشکلات زیست محیطی، تجمع و باقی ماندن این مواد در بدن ماهی پرورشی، پایین آوردن کیفیت گوشت و نیز عدم رغبت مصرف‌کنندگان استفاده از هورمون‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها در تولید آبزیان توصیه نمی‌شود (Heidarieh *et al.*, 2010; Raa, 1996).

در چند دهه اخیر استفاده از گیاهان دارویی با توجه به مزیّت‌های متعدد، از جمله خطرات زیست‌محیطی حداقل، عدم مقاومت دارویی، ارزان، پایدار و در دسترس بودن، توجهات زیادی را در سطح جهان به خود جلب نموده است (Chen *et al.*, 2003; Raja *et al.*, 2012). از این‌رو در بین محرک‌های ایمنی متعدد، محرک‌های ایمنی با منشاء گیاهی دارای ارجحیت می‌باشند (Alishahi *et al.*, 2012a; Alishahi *et al.*, 2012b). تحقیقات متعددی در خصوص استفاده از مکمل‌های گیاهی به عنوان محرک ایمنی در ماهیان مختلف گزارش شده است. به عنوان مثال می‌توان به اثر سیر و چای سبز در قزل‌آلای رنگین کمان (Nya and Austin, 2011; Sheikhzadeh *et al.*, 2011)، رزماری و داروواش در تیلاپیا (Abutbul *et al.*, 2004; Park and Choi, 2012)، آویشن در کپور معمولی (Soltani *et al.*, 2010) و چای سبز در هامور (Harikrishnan *et al.*, 2011a) اشاره کرد. بدیهی است در کشور ما ضمن وجود تنوع و فراوانی گیاهان دارویی، زمینه‌های فراوانی برای تحقیقات و بهره‌گیری از این گیاهان وجود دارد.

شنبلیله (*Trigonella foenum graecu*) گیاهی یکساله است که دارای دانه‌های غنی از پروتئین و برگ‌های آن سرشار از ویتامین‌ها و مواد معدنی است (Abdel-Zaher *et al.*, 2009). منشاء این گیاه غرب آسیا (ایران)، نواحی آفریقای شمالی و مدیترانه است. شنبلیله غنی از فلاوونوئیدها و ساپونین‌ها است که نشان‌دهنده عملکردهای حفاظتی برای آسیب اکسیداتیو (Kosuga *et al.*, 2000) و خواص ایمنی می‌باشد (Bin-Hafeez *et al.*, 2003). همچنین دارای لکتین و کولین است که به حل‌شدن کلسترول و ترکیبات چربی، مواد معدنی، آهن، فسفات و ویتامین A و D کمک می‌کند (Ullah Khan *et al.*, 2009). اثرات مثبت این گیاه بر رشد و پاسخ ایمنی تیلاپیا (Abdel-Zaher *et al.*, 2009) و نیز رشد کپور معمولی (Roohi *et al.*, 2015a) تأیید شده است.

زیره سیاه (*Carum carvi*) گونه‌ای با پراکنش جهانی و سابقه دارویی از دوران باستان (Jayaprakas and Sambhu, 1996)، در نواحی شمالی خراسان، کرمان و شرق زاگرس می‌روید (Roohi *et al.*, 2015b). زیره سیاه فعالیّت ضدقارچی و ضدمیکروبی دارد و می‌تواند احساس نفخ یا سیری مربوط به سوء هاضمه را کاهش دهد که باعث ارتقاء رشد ماهی می‌شود. اثرات مثبت این گیاه بر رشد تیلاپیا (Ahmad and Abdel Tawwab, 2011) و کپور معمولی (Roohi *et al.*, 2015b) تأیید شده است.

پوست ماهیان عضوی با چندین عملکرد بوده که در شرایط محیط طبیعی، به عنوان یک سد محدود کننده با نیازهای فیزیولوژیکی بدن ماهی تطابق یافته است (Peyghan and Salamat, 2012). مهم‌ترین عملکرد پوست، ترشح موکوس است که توسط سلول‌های موکوسی انجام می‌گیرد (Hellio *et al.*, 2002). ماده موکوسی اطراف پوست به عنوان اوّلین سد دفاعی بدن ماهی در مقابل محیط خارجی، نقش مهمی در سلامت و بهداشت ماهیان ایفا می‌کند (Erfani Majd *et al.*, 2014). محققین طی گزارشات متعددی خواص ضدباکتریایی موکوس را در ماهیان مختلف نشان داده‌اند (Anbuchezhian *et al.*, 2011; Bragadeeswaran *et al.*, 2011; Hirazawa *et al.*, 2011).

با توجه به اهمیّت امر پیشگیری از بیماری‌ها در صنعت پرورش ماهی، افزایش ایمنی موکوس از طریق کاهش ریسک ابتلا به بیماری می‌تواند اثرات سودمندی داشته باشد. لذا در این مطالعه اثرات مکمل‌های گیاهی زیره سیاه و شنبلیله، به عنوان محرک ایمنی، بر فعالیّت ضدباکتریایی و پروتئین محلول موکوس بچه‌ماهیان کپور معمولی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیّه ماهی

این پژوهش در تابستان ۱۳۹۲ در مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهید فضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگـان انجام شد. در این مطالعه، تعداد ۳۱۵ قطعه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۰/۰۵۷±۲/۴۵۷ گـرم از کارگـاه تکثیـر و پـرورش ماهی کلمه سیجوال در استان گلستان تهیّه و به مدت دو هفته تحت سـازگاری قـرار گرفـت. در طـول دوره‌ی پـرورش دمـای آب ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول در آب ۰/۶۵±۵/۹ میلی‌گرم در لیتر و pH آب ۰/۰۷±۷/۸ بود. توزیـع بـه صـورت کـاملاً تصادفی با هفت تیمار و سه تکرار در هر سطح، به مدت ۸ هفته انجام شد. هر تیمار بـه میـزان ۳٪ وزن بـدن، ۴ بـار در روز تغذیـه می‌شدند (Yanbo and Zirong, 2006). هر دو هفته، ماهیان هر تیمار وزن می‌شدند و مقدار غذادهی براساس آن تنظـیم مـی‌شـد. مدفوع و دیگر مواد باقیمانده هر روز صبح از مخازن سیفون می‌شد. در هر آکواریوم ۱۵ قطعه ماهی قرار گرفت.

تهیّه جیره‌های آزمایش

زیره سیاه و شنبلیله از بازار محلی تهیّه و به صورت پودر شده از الک عبور داده شـد. در ایـن آزمـایش از یـک جیـره غـذایی پایـه (جدول ۱) به عنوان شاهد، سه جیره آزمایشی بر اساس مکمل گیاهی زیره سیاه (۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) و سه جیره آزمایشـی دیگـر براساس مکمـل گیـاهی شـنبلیله (۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصـد) در نظـر گرفتـه شـد (Abdel-Zaher *et al.*, 2009; Ahmad and Abdel Tawwab, 2011). مواد تشکیل‌دهنده‌ی هر تیمار با اضافه کردن مقداری آب ترکیب شده، خمیرهـای تهیّـه شـده از چـرخ گوشـت عبور داده شدند و پلت‌های مورد آزمایش ساخته شد. پلت‌های مرطوب در دمای اتاق به مدت ۲ روز خشک شـدند. پـس از خشـک کردن، پلت‌ها شکسته شده تا اندازه مناسب پیدا نمایند. در پایان پلت‌هـا در بسـته‌هـای مناسـب بسـته‌بنـدی و در دمـای ۴ درجـه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Abdel-Zaher *et al.*, 2009).

جمع‌آوری موکوس

موکوس ماهیان با استفاده از روش Subramanian و همکاران (۲۰۰۷)، با کمی اصلاحات، جمع‌آوری شد. غذادهی ۲۴ سـاعت قبـل از نمونه‌برداری قطع شد. در پایان دوره از هر تشت ۱۰ قطعه ماهی صید و پس از بیهوشی با پودر گل میخک (میلی‌گرم در لیتر) به منظور به حداقل رساندن باکتری‌های متصل به سطح بدن و از بـین رفـتن سـایر آلـودگی‌هـا، درون آب سـرد و تمیـز وارد شـده و بلافاصله درون کیسه‌های زیپ‌پلاست حاوی ۵ میلی‌لیتر سدیم کلرید ۵۰ میلی‌مولار قـرار گرفتنـد. پـس از مـدت زمـان دو دقیقـه ماهیان به تشت با اکسیژن مناسب منتقل شدند. موکوس از کیسه‌ها جمع‌آوری و مایع رویی آن در آزمایشـگاه پـس از سـانتریفیوژ (با دور ۱۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) به دست آمد. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش در دمای ۷۰- درجـه سانتی‌گراد قرار گرفتند (Salmaniyan Ghehdarijani *et al.*, 2016).

بررسی فعالیّت ضدباکتریایی موکوس

باکتری‌های مورد استفاده در این آزمایش از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیّه گردید که شامل باکتری‌های گرم منفـی *Escherichia coli* (ATCC 1554) و *Serratia marcescens* (CIP 1621, SM) بود. پس از رشد باکتری‌ها در محیط کشت مـایع، به منظور مشاهده فعالیّت ضدباکتریایی موکوس، از روش انتشار در دیسک اسـتفاده شـد (Chen *et al.*, 2003). در ایـن روش ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری معادل ۰/۵ مک‌فارلند روی سطح محیط کشت نوترینت آگار به صورت یکنواخت گسـترده شـد. همزمان دیسک بلانک‌های استریل (۷ میلی‌متر) آغشته به ۲۰۰ میکرولیتر نمونه موکوس با فاصله روی محیط کشت قـرار گرفتـه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پـس از گذشـت ایـن زمـان، قطـر هالـه عـدم رشـد بـا کـولیس اندازه‌گیری شد. این آزمایش برای هر سویه چهار بار تکرار گردید.

سنجش پروتئین محلول

برای اندازه‌گیری پروتئین محلول از روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) و منحنی استاندارد آلبومین سرم گاوی استفاده گردید. اندازه‌گیری با اضافه نمودن معرف رنگی فولین فنول سیوکالتیو به ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های رقیق شده موکوس و استاندارد و قرائت نوری با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (Biochrom, Libera S12) انجام گرفت. با انتقال جذب نوری به دست آمده به منحنی استاندارد، میزان پروتئین محلول بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد.

آنالیزهای آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن جهت مقایسه میانگین‌ها انجام شد. تفاوت بین میانگین داده‌های به دست آمده از تیمارهای مختلف در سطح معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) و با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۶ بررسی گردید. تمام داده‌های متن براساس میانگین ± انحراف معیار، محاسبه شدند.

نتایج

فعالیّت ضدباکتریایی موکوس با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد، در برابر باکتری *Escherichia coli* و *Serratia marcescens* تفاوت معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بین تیمارهای تغذیه شده با مکمل‌های گیاهی و گروه شاهد نشان داد (شکل ۱ و ۲). بیشترین قطر هاله عدم رشد در ماهیان تغذیه شده با زیره سیاه و شنبلیله در سطح ۱٪ ثبت شد که در مقایسه با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشتند ($p<۰/۰۵$).

نتایج مربوط به سطوح پروتئین محلول موکوس در جدول ۲ آمده است. سطوح پروتئین محلول موکوس در بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطح ۱٪ زیره سیاه در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$). با این‌حال، سایر تیمارهای اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت ($p>۰/۰۵$). علاوه براین، میزان پروتئین محلول در ماهیان تیمار شده با شنبلیله ۱٪ افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد و سایر تیمارها نشان داد ($p<۰/۰۵$). به طوری‌که، بیشترین مقدار (۳۵/۰۱±۰/۶۵) در تیمار ۱٪ شنبلیله و کمترین مقدار (۲۰/۸۸±۰/۳۳) در تیمار شاهد ثبت شد.

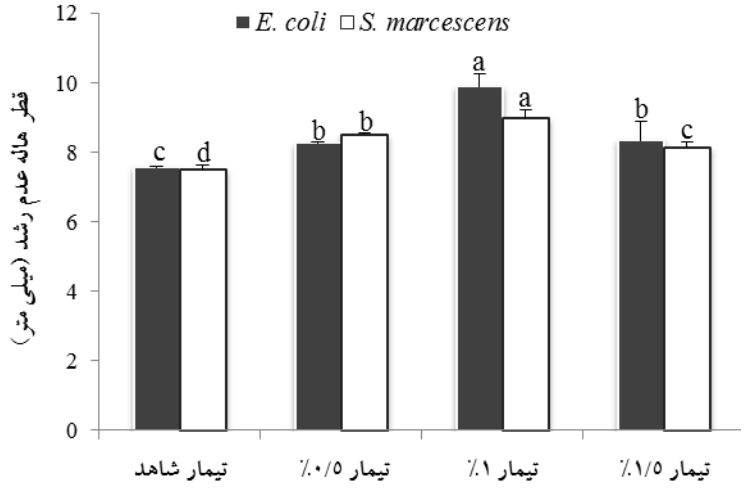
جدول ۱. اجزای تشکیل‌دهنده‌ی جیره پایه

اجزای جیره	(درصد)
پودر ماهی	۱۵
کنجاله سویا	۵۳/۹۱
آرد گندم	۲۷/۰۵
روغن آفتابگردان	۱/۸۹
مکمل املاح	۰/۳
مکمل ویتامین‌ها	۰/۳
دی‌ال‌متیونین	۰/۴۱
نمک معمولی	۰/۱
ملاس	۱
ویتامین E	۰/۰۲
ویتامین C	۰/۰۲

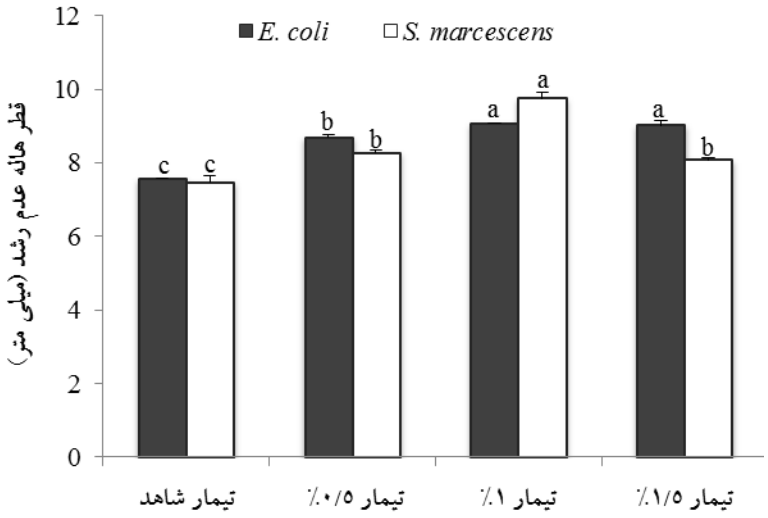
جدول ۲. مقایسه پروتئین محلول موکوس اپی‌درم ($mg.mL^{-1}$) بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با زیره سیاه و شنبلیله

سطوح مختلف مکمل‌های گیاهی (درصد)	۰	۰/۵	۱	۱/۵
ماهیان تغذیه با زیره‌سیاه	۲۰/۸۸±۰/۳۳^{b}	۲۱/۰۲±۰/۰۵^{b}	۳۳/۲۲±۰/۳۲^{a}	۲۱/۱۲±۰/۳^{b}
ماهیان تغذیه شده با شنبلیله	۲۰/۸۸±۰/۳۳^{b}	۲۱/۷۹±۰/۶۵^{b}	۳۵/۰۱±۰/۶۵^{a}	۲۲/۳۴±۰/۲۶^{b}

تذکر: حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p<۰/۰۵$



شکل ١. مقایسه فعالیّـت ضـدباکتریایی موکـوس بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شـده بـا سـطوح مختلف زیره‌سیاه. ستون‌های مربوط به هر باکتری مشخص شده بـا حـروف متفـاوت نشـان‌دهنـده اختلاف معنی‌دار است (p<٠/٠٥).



شکل ٢. مقایسه فعالیّت ضـدباکتریایی موکـوس بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده بـا سـطوح مختلف شنبلیله. ستون‌های مربوط به هر باکتری مشخص شده با حـروف متفـاوت نشـان‌دهنـده اختلاف معنی‌دار است (p<٠/٠٥).

بحث

به حداقل رساندن تلفات ناشی از بیماری‌ها و کاهش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از پیش نیازهای موفقیت در صنعت آبزی‌پروری است (Eslamloo *et al.*, 2013a). مواد تشکیل دهنده گیاهان دارویی می‌تواند در بازگشت حساسیت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌هـایی که در شرایط فعلی به دلیل مقاومت دارویی قابلیت‌های درمانی خود را از دست داده‌اند، مؤثر باشـند (Salmaniyan Ghehdarijani, 2014). اخیراً کاربرد مکمل‌های گیاهی جهت کنترل بیماری‌هـای عفـونی در ماهیـان افـزایش یافتـه اسـت (Harikrishnan *et al.*, 2011b).

مطالعات انجام شده بر تأثیر مکمل‌های گیاهی روی فعالیّت ضدباکتریایی موکوس در ماهیـان محـدود اسـت. نتـایج مطالعـه حاضـر نشان داد که به کارگیری مکمل‌های گیاهی زیره‌سیاه و شنبلیله در جیره بچه‌ماهیان کپـور معمـولی بـه طـور معنـی‌داری فعالیّـت ضدباکتریایی موکوس را افزایش می‌دهد. مطابق با این نتایج، Salmaniyan Ghehdarijani و همکاران (٢٠١٦) افـزایش معنـی‌داری در فعالیّت ضدباکتریایی موکوس ماهی کلمه تغذیه شده با مکمل گیاهی سیر مشاهده نمود. افزایش مقاومت در برابـر بیمـاری‌هـای عفونی در ماهیان تیمارشده با مکمل‌هـای گیـاهی داروا‌ش (Park and Choi, 2012)، زیـره سـبز (Raja Rajeswari *et al.*, 2012) و

زنجیل (Nya and Austin, 2009) نیز گزارش شده است. علاوه‌براین، Vennila و همکاران (۲۰۱۱) و Narvaez و همکاران (۲۰۱۱) به ترتیب فعالیّت ضدباکتریایی موکوس ماهیان گرمسیری و ماهی آزاد را مورد مطالعه قرار دادند. در همه گزارش‌ها بر فعالیّت ضدباکتریایی موکوس تأکید شده است که با نتایج تحقیق حاضر همسو می‌باشد. در مطالعه حاضر بیش‌ترین قدرت ضد باکتریایی موکوس بچه‌ماهیان کپور معمولی بر باکتری اشریشیا کلی و سراشیا مارسسنس به ترتیب متعاقب مصرف زیره سیاه و شنبلیله هر یک در غلظت یک درصد مشاهده شد. حضور میزان بالای کومین آلدهید (حدود ۲۵ درصد) در زیره‌سیاه می‌تواند فعالیّت ضدباکتریایی آن را توضیح دهد (Derakhshan *et al.*, 2011). از سوی دیگر، فعالیّت ضدمیکروبی شنبلیله به فنول‌ها و فلاونوئیدها نسبت داده شده است (Premanath *et al.*, 2011).

تاکنون وجود برخی از ترکیبات مهم ایمنی مانند ایمونوگلوبولین‌ها، لیزوزیم، آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین، لکتین‌ها، آنزیم‌های پروتئولیتیک و سایر پپتیدها و پروتئین‌های ضدمیکروبی در موکوس ماهیان گونه‌های مختلف به اثبات رسیده است (Kosuga *et al.*, 2000; Fast *et al.*, 2002; Subramanian *et al.*, 2007; Park and Choi, 2012). از این‌رو افزایش میزان موکوس ترشحی در ماهیان می‌تواند نقش بسیار مهمی در تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی آن‌ها داشته باشد (Eslamloo *et al.*, 2013b). میزان پروتئین کل در موکوس نشان دهنده‌ی میزان ترشح و یا میزان موکوس موجود است (Yokoyama *et al.*, 2006).

سلول‌های کیسه‌ای شکل در اپیدرم ماهیان، با ترشح پروتئین‌هایی ماهیان را در برابر عفونت‌های ناشی از انگل‌های خارجی حفظ می‌کنند. لکتین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها از جمله پروتئین‌هایی با باندهای کربوهیداتی هستند که به همراه فاکتورهای دیگر موکوس به هنگام هجوم پاتوژن‌ها نقض آگلوتینه کردن آن‌ها را بر عهده دارند (Suzuki *et al.*, 2003). افزایش سطح پروتئین‌های موکوس به عنوان شاخص مناسبی برای وضعیت ایمنی غیر اختصاصی ماهیان مطرح است (Adel *et al.*, 2014). نتایج این مطالعه حاکی از افزایش میزان پروتئین محلول موکوس در ماهیان تغذیه شده با سطح ۱٪ مکمل‌های گیاهی زیره‌سیاه و شنبلیله بود. افزایش سطح پروتئین محلول موکوس در اثر به‌کارگیری مکمل‌های غذایی در مطالعات پیشین گزارش شده است. افزودن لاکتوفرین گاوی به جیره غذایی تاس‌ماهی سیبری جوان سبب افزایش معنی‌دار در میزان پروتئین محلول نسبت به تیمار شاهد گردید (Eslamloo *et al.*, 2013b). افزایش پروتئین محلول نشان دهنده بیشتر بودن اجزاء دخیل در سیستم ایمنی با ساختار پروتئینی در ماهی‌هایی است که با مکمل‌های گیاهی تغذیه شدند که این مورد نیز از طریق بررسی فعالیّت‌های ضدباکتریایی موکوس در این مطالعه نشان داده شده است.

با توجه به توسعه کمّی پرورش ماهیان گرمابی در کشور و محدودیت‌های مختلف در افزایش بهره‌وری در پرورش این ماهی، استفاده از محرک‌های رشد و ایمنی به عنوان راهکاری در توسعه کیفی این صنعت ضروری به نظر می‌رسد. نتایج این تحقیق استفاده از زیره سیاه و شنبلیله به عنوان مکمل گیاهی را جهت افزایش ایمنی موکوس در کپور معمولی امکان‌پذیر می‌داند. براساس شرایط تعریف شده در آزمایش حاضر استفاده از زیره‌سیاه و شنبلیله به میزان یک درصد در جیره غذا پیشنهاد می‌شود.

منابع

Abdel-Zaher, A., Mostafa, M., Ahmad, M.H., Mousallamy, A., Samir, A. 2009. Effect of using dried fenugreek seeds as natural feed additives on growth performance, feed utilization, whole-body composition and entropathogenic *Aeromonas hydrophila*-challinge of monsex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 3: 1234-1245.

Abutbul, S., Golan-Goldhirsh, A., Barazani, O., Zilberg, D. 2004. Use of *Rosmaarinus officinalis* as a treatment against *Streptococcus iniae* in tilapia (*Oreochromis* sp.). Aquaculture. 238: 97-105.

Adel, M., Safari, R., Nematolahi, A., Yeganeh, S., Ahmadvand, S. 2014. Effect of different levels of GroBiotic®-A probiotic on antibacterial activity and some immune parameters of *Huso huso*. Exploitation and Aquaculture Journal. 3(3): 99-110. (in Persian).

Ahmad, M.H., Abdel Tawwab, M. 2011. The use of caraway seed meal as a feed additive in fish diets: growth performance, feed utilization, and whole-body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Aquaculture. 314: 110-114.

Alishahi, M., Mesbah, M., Namjoyan, F., Sabzevari-Zadeh, M., Razijalali, M. 2012a. Effect compare of some immune stimulants of chemicals and plants in *Astronotus ocellatus.* Iranian Veterinary Journal. 8(2): 58-68. (in Persian).

Alishahi, M., Soltani, M., Meshah, M., Zargar, A. 2012b. Immunostimulatory and growth stimulation effects of ergosan, levamisol and herbal extracts in *Cyprinus Carpio*. Journal of Veterinary Research. 67(2): 135-142. (in Persian).

Anbuchezhian, R., Gobinath, C., Ravichandran, S. 2011. Antimicribial peptid from the epiderm mucus of some esturine cat fishes. World Applied Sciences Journal. 12: 256-260.

Ardó, L., Yin, G., Xu, P., Váradi, L., Sziget, G., Jeney, Z., Jeney, G. 2008. Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron ehance the non-spesific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resitance against *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture. 275: 26-33.

Bin-Hafeez, B., Haque, R., Parvez, S., Pandey, S., Sayeed, I., Raisuddin, S. 2003. Immunomodulatory effect of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) extract in mice. International Immunopharmacology. 3(2): 257-265.

Bragadeeswaran, S., Priyadharashini, S., Prabhu, K., Rani, R.S.S. 2011. Antimicrobial and hemolytic activity of fish epidermal mucus *Cynoglossus arel* and *Arius caelatus*. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 4: 305-309.

Chen, X., Wu, Z., Yin, J. 2003. Effects of four species of herbs on immune function of *Carassius auratus* gibelio. Journal of Fish Sciences of China. 10: 36-40.

Derakhshan, S., Sattari, M., Bigdeli, M., Zarei-Eskikand, N. 2011. Antibacterial activity of essential oils from Artemisia and Cumin plants against Staphylococcus aureus, Escheriachia coli and Vibrio cholera. The Journal of Qazvin University of Medical Sciences. 15(1): 7-14. (in Persian).

Erfani Majd, N., Mesbah, M., Esfandiary, K. 2014. Distribution and histochemical studies of Goblet mucous cells in different regions of epidermis in mature male and female silver carp fish. Iranian Veterinary Journal. 10(3): 65-75. (in Persian).

Eslamloo, K., Akhavan, S.R., Henry, M.A. 2013a. Effects of dietary administration of bacillus probiotics on the non-specific immune responses of tinfoil barb, barbonymus schwanenfeldii (Actinopterygii: cypriniformes: cyprinidae). Acta Ichthyologica et Piscatoria. 43: 211-218.

Eslamloo, K., Falahatkar, B., Uokoumaya, S., Abbasalizadeh, U. 2013b. Feed effect with different levels of bovinelactoferrin on growth performance and serum lysozyme activity and mucus of Siberian sturgeon young. Iranian Veterinary Journal. 9(2): 5-16. (in Persian).

Fast, M.D., Sims, D.E., Burka, G.F., Mustafa, A., Ross, N.W. 2002. Skin morphology and humoral non-specific defence parameters of mucous and plasma in rainbow trout, coho and Atlantic salmon. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 132(3): 645-657.

Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.S. 2011a. Influence of diet enriched with green tea on innate humoral and cellular immune response of kelp grouper (*Epinephelus bruneus*) to *Vibrio carchariae* infection. Fish and Shellfish Immunology. 30: 972-979.

Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.S. 2011b. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. Aquaculture. 317: 1-15.

Heidarieh, M., Afsharnasab, M., Soltani, M., Dashtyannasab, A., Rajabifar, S., Sheikhzadeh, N. 2010. Effects of ergosan and vibromax to prevent vibriosis and WSSV in *Litopeaneus vannamei*. Journal of Fisheries and Aquatic Science. 5: 120-125.

Hellio, C., Pons, A.M., Beaupoil, C., Bourgougnon, N., Le, Gal, Y. 2002. Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of extracts from fish epidermis and epidermal mucus. International Journal of Antimicrobial Agents. 20: 214-219.

Hirazawa, N., Hagiwara, H., Takano, R., Noguchi, M., Narita, M. 2011. Assessment of acquired protection levels against the parasite *Neobenedenia girellae* (Monogenea) between body surface site including fins

of amberjack seriola dumerili (Carangidae) and the skin in response to the parasite infection. Aquaculture. 310: 252-258.

Imanpoor, M.R., Ahmadi, A.R., Kabir, M. 2011. Effects of sub lethal concentration of Chloramin T on growth, survival, hematocrit and some blood biochemical parameters in common carp fry (*Cyprinus carpio*). AACL Bioflux. 4(3): 280-291.

Jayaprakas, V., Sambhu, C. 1996. Growth response of white prawn (*Penaeus indicus*) to dietary L-carnitine. Asian Fisheries Science. 9: 209-219.

Kosuga, Y., Mano, N., Hirose, H. 2000. Bacterial agglutinis in the skin mucus of Japanese ell. Fish Pathology. 35: 73-77.

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

Najiah, M., Nadirah, M., Arief, Z., Zahrol, S., Tee, L.W., Raniz, A.D., Amar, A.S., Laith, A.A., Mariam, M., Suzana, S., Aida, R.J. 2011. Antimicrobial activity of Malaysian edible herbs extracts on fish pathogenic bacteria. Research Journal of Medicinal Plant. 5(6): 772-778.

Narvaez, E., Berendsen, J., Guzman, F., Gallardo, G.A., Mercado, L. 2011. An immunological method for quantifying antibacterial activity in *Salmo salar* skin mucus. Fish and Shellfish Immunology. 28: 235-239.

Nya, E.J., Austin, B. 2009. Use of dietary ginger (*Zingeber officinale*) as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Fish Diseases. 32: 971-977.

Nya, E.J., Austin, B. 2011. Development of immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to *Aeromonas hydrophila* after the dietary application of garlic. Fish and Shellfish Immunology. 30: 845-850.

Park, K.H., Choi, S.H. 2012. The effect of mistletoe (*Viscum album coloratum*) extract on innate immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish and Shellfish Immunology. 32: 1016-1021.

Peyghan, S., Salamat, N. 2012. Study of changes in the structure skin texture of *Carassius auratus* in Ahvaz city. Histolobiology Veterinary Journal. 1(1): 1-4. (in Persian).

Premanath, R., Sudisha, J., Lakshmi, Devi, N., Aradhya, S.M. 2011. Antibacterial and Anti-oxidant activities of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) leaves. Research Journal of Medicinal Plants. 5(6): 695-705.

Raa, J. 1996. The use of immune-stimulatory substances in fish and shellfish farming. Reviews in Fisheries Science. 4: 229-288.

Raja Rajeswari, P., Velmurugan, S., Michael Babu, M., Albin Dhas, S., Kesavan, K., Citarasu, T. 2012. A study on the influence of selected Indian herbal active principles on enhancing the immune system in *Fenneropenaeus indicus* aginst *Vibrio harveyi* infection. Aquaculture International. 20: 1009-1020.

Roohi, Z., Imanpoor, M.R., Jafari, V., Taghizadeh, V. 2015a. The use of fenugreek seed meal in fish diets: growth performance, haematological and biochemical parameters, survival and stress resistance of common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture Research. doi: 10.1111/are.12962.

Roohi, Z., Imanpoor, M.R., Jafari, V., Taghizadeh, V. 2015b. Effect of different levels of caraway on growth performance and some blood parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Animal Environment. 7(1): 105-112. (in Persian).

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

Salmaniyan Ghehdarijani, M. 2014. Dietary effects of garlic on mucus parameters, growth and survival in Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*). Thesis for the degree of M.Sc. in fisheries sciences. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. 56p. (in Persian).

Salmaniyan Ghehdarijani, M., Hajimoradloo, A., Ghorbani, R., Roohi, Z. 2016. The effects of garlic-supplemented diets on skin mucosal immune responses, stress resistance and growth performance of the Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. Fish and Shellfish Immunology. 49: 79-83.

Sheikhzadeh, N., Nofouzi, K., Delazar, A., Khani Oushani, A. 2011. Immunomodulatory effects of decaffeinated green tea (*Camellia sinensis*) on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and Shellfish Immunology. 31: 1268-1269.

Soltani, M., Sheikhzadeh, N., Ebrahimzadeh-Mousavi, H.A., Zargar, A. 2010. Effects of *Zataria multiflora* essential oil on innate immune responses of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Fisheries and Aquatic Science. 5(3): 191-199.

Subramanian, S., MacKinnon, S.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.

Suzuki, Y., Tasumi, S., Tsutsui, S., Okamoto, M., Suetake, H. 2003. Molecular diversity of skin mucus lectins in fish. Comparative Biochemistry and Physiology. 136: 723-730.

Ullah Khan, F., Durrani, F.R., Sultan, A., Ullah Khan, R., Naz, S. 2009. Effect of fenugreek seed extract on visceral organs of broiler chikes. ARPN Journal of Agriculture and Biological Science. 4(1): 58-60.

Vennila, R., Kummar, K.R., Kanchana, S., Arumugam, M., Vijayalakshmi, S., Balasubramaniam, T. 2011. Preliminary investigation on antimicrobial and proteolytic property of the epidermal mucus secretion of marine stingray. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 1(2): 239-243.

Yanbo, W., Zirong, X. 2006. Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. Animal Feed Science and Technology. 127: 283-292.

Yokoyama, S., Koshio, S., Takakura, N., Oshida, K., Ishikawa, M., Gallardo-Cigarroa, F.J., Catacutan, M.R., Teshima, S. 2006. Effect of dietary bovine lactroferrin on growth response, tolerance to air exposure and low salinity stress conditions in orange spotted grouper (*Epinephelus coioides*). Aquaculture. 255: 507-513.

Yuan, C., Li, D., Chen, W., Sun, F. 2007. Administration of herbal immunoregulation mixture enhances some immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*). Fish Physiology and Biochemistry. 10: 1007-1120.

Zahran, E., Risha, E., Abdellhamid, F., Mahgoub, H.A., Ibrahim, T. 2014. Effects of dietary *Astragalus* polysaccharides (APS) on growth performance, immunological parameters, digestive enzymes and intestinal morphology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish and Shellfish Immunology. 38: 149-157.