مجله بوم شناسی آبزیان

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

اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (*Lactobacillus acidophilus*) بر فعالیت ضدباکتریایی و برخی شاخص‌های ایمنی موکوسی ماهی تایگر بارب (*Puntius tetrazona*)

زهرا روستا[۱*]، عبدالمجید حاجی مرادلو[۱]، سید حسین حسینی فر[۱]، فرزانه وکیلی[۲]

[۱] گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی گرگان

[۲] گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۲/۱۰/۲۶

اصلاح: ۹۲/۱۲/۲۰

پذیرش: ۹۳/۰۱/۱۶

کلمات کلیدی:

ضدباکتریایی،

ایمنی موکوسی

پروبیوتیک

آلکالین فسفاتاز

چکیده

موکوس اپیدرمی ماهی و ترکیبات آن اولین خط دفاعی در برابر پاتوژن ها می باشند. هدف از این مطالعه بررسی اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر فعالیت ضد باکتریایی و برخی شاخص‌های ایمنی موکوسی ماهی تایگر بارب بود. تعداد ۶۳۰ قطعه بچه ماهی (۰/۰۳ ±۰/۵ گرم) به طور تصادفی در سه تیمار با سه تکرار در آکواریوم ها توزیع شده و با ۳ جیره آزمایشی حاوی صفر، $۱/۵\times۱۰^{۸}$ و ۳×۱۰^{۸} CFU/ml پروبیوتیک به مدت ۹۰ روز غذادهی شدند. در پایان دوره از ماهی‌ها موکوس‌گیری و فعالیت ضدباکتریایی آن به روش‌های انتشار دیسک و رقت‌های متوالی در مقابل باکتری‌های بیماری‌زای *Streptococcus faecium* و *Escherichia coli*، اندازه گیری شد. قطر هاله عدم رشد، توسط موکوس ماهی با افزایش غلظت پروبیوتیک جیره در مقابل هر دو باکتری افزایش معنی داری نشان داد ($P<۰/۰۵$). در روش رقت‌های متوالی موکوس، نیز نتایجی مشابهی مشاهده شد. همچنین تغذیه ماهی‌ها با پروبیوتیک سبب افزایش معنی دار میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز قلیایی و پروتئین محلول گردید ($P<۰/۰۵$). نتایج این آزمایش نشان داد که موکوس ماهی تایگر بارب در برابر هر دو پاتوژن فعالیت ضدباکتریایی داشته و استفاده از سطوح مختلف پروبیوتیک سبب افزایش معنی دار در فعالیت ضدباکتریایی موکوس، پروتئین محلول و آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی این ماهی نسبت به تیمار شاهد شده است.

مقدمه

بهبود شرایط غذایی و میکروبی می تواند باعث سازگاری اکولوژیکی، رشد بهتر و کاهش تلفات در طی دوره پرورش آبزیان گردد (Olsen and Ringo, 1999). اخیراً، به کارگیری مواد محرک سیستم ایمنی در صنعت آبزی پروری، برای بهبود و تحریک فعالیت سیستم ایمنی غیراختصاصی و مقاومت در برابر عوامل بیماریزا عمومیت یافته است. این مواد به صورت مکمل هایی به غذاهای مصنوعی افزوده می شوند و برای جلوگیری از گسترش بیماری ها و افزایش کارایی ضریب تبدیل غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Hoseinifar *et al*., 2013). در ماهی، مکمل‌های غذایی مختلف با خواص محرک سیستم ایمنی مانند

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: Roosta6787@gmail.com

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-06-06]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1392.3.2.2.1]

پروبیوتیک‌ها (Wang, 2007)، مواد تولید شده توسط باکتری ها و ترکیبات گیاهی، می توانند به طور مستقیم مکانیسم‌های دفاعی اولیه را از طریق اثر بر گیرنده‌ها و ژن‌های مسئول فعال سازند (Bricknell and Dalmo, 2005). تحریک سیستم ایمنی (Bricknell and Dalmo, 2005)، اثرات ضدباکتریایی، نظیر تولید آنتی بیوتیک ها، باکتریوسین ها، سیدروفورها، لیزوزی، پروتئاز، پراکسید هیدروژن، تغییر مقدار pH و توالی اسیدهای آلی (اسید فرمیک، اسید استیک، اسید لاکتیک) می باشد (Verschuere *et al*., 2000) و افزایش فعالیت آنزیم های گوارشی و بهبود رشد (احمدنیا و همکاران، ۱۳۹۲) از جمله مزایای شناخته شده پروبیوتیک ها می باشند.

باکتری کش‌ها ترکیباتی پروتئین دار هستند که باکتری‌ها را از بین برده یا موجب مهار آن‌ها می گردند. ارگانیسم‌های گوناگونی این ترکیبات را تولید می‌کنند مانند لاکتوکوکوس، لاکتوباسیلوس، کارنوباکتریوم، انتروکوکوس و باسیلوس که قادر به تولید ترکیبات مهارکننده هستند (Branby, 1992). پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس یک گونه از هشت جنس اصلی لاکتوباسیلوس است و شاید شناخته شده ترین گونه در بین لاکتوباسیلوس ها باشد (Buttris-Smith, 1997).

پاسخ اولیه به هجوم عوامل بیماری زا، دفاع اولیه است که اجزای کلیدی آن شامل لایه موکوس روی پوست، آبشش ها و مجرای معده-روده‌ای و اجزای تشکیل دهنده خون شامل سلول‌های کشنده‌ی طبیعی و فاگوسیت‌ها می باشد (Anbarasu and Chandran, 2001). هرگونه اختلال در ویژگی‌های تشریحی و فیزیولوژیکی پوست موجب گسترش بیماری‌های پوستی شده که بخش قابل ملاحظه‌ای از بیماری‌ها و مرگ و میرها را در آبزیان سبب می‌شود (Iger and Abraham, 1990). نقش آنزیم‌های موکوس اپیدرم در سیستم ایمنی غیراختصاصی برخی ماهیان آکواریومی از جمله ماهی اسکار (*Astronotus ocellatus*)، گربه ماهی (*Clarias batrachus*)، پنگوسی گوشتخوار (*Pangasius sanitwangse*)، ماهی قرمز (*Carassius auratus*) گزارش شده است (حاجی مرادلو و همکاران، ۱۳۹۱).

ماهی تایگر بارب از خانواده کپور ماهیان (*Cyprinidae*) و همه چیزخوار است. این گونه جزو ماهیان مهم منطقه‌ی جنوب شرقی آسیا بوده و به منظور احیاء مناطقی که این گونه در آنجا حذف شده، در این نواحی مورد پرورش قرار گرفته است (Ng and Tan, 1997).

پروبیوتیک‌ها و محرک‌های ایمنی می توانند بر ایمنی موکوسی تأثیر گذار باشند. Sheikhzadeh و همکاران (۲۰۱۲b) تأثیر پروبیوتیک *Saccharomyces cervisiae* را بر شاخص‌های ایمنی موکوسی در قزل آلای رنگین کمان بررسی نموده و افزایش معنی‌دار فعالیت ضدباکتریایی موکوس علیه باکتری بیماری‌زای *Yersinia ruckeri* در تیمار تغذیه شده با مخمر را گزارش کردند. علی‌رغم انجام مطالعات گسترده در زمینه پروبیوتیک‌ها و اثبات نقش باکتری اسید لاکتیک (Lactic acid bacteria) در بهبود تعادل جمعیت میکروبی روده میزبان و افزایش کارایی تغذیه (Ringo and Gatesoupe, 1998)، اطلاعات محدودی در ارتباط با اثرات پروبیوتیک‌ها در ایمنی موکوسی به خصوص در مورد ماهیان آکواریومی گزارش شده است. لذا در این مطالعه اثرات پروبیوتیکی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر فعالیت ضد باکتریایی و برخی فاکتورهای ایمنی موکوس اپیدرم ماهی تایگر بارب بررسی شد.

مواد و روش‌ها

آماده سازی تیمارها

در این آزمایش از ۶۳۰ قطعه بچه ماهی تایگر بارب با میانگین وزنی ۰/۰۳ ± ۰/۵ گرم استفاده شد. ماهیان به مدت ۲ هفته سازگار شده و سپس در ۹ آکواریوم (سه تیمار صفر، $۱/۵\times۱۰^{۸}$ و ۳×۱۰^{۸} در سه تکرار) با تراکم ۷۰ ماهی نگهداری شدند. شاخص‌های کیفی آب طی دوره پرورش دمای آب ۲ ± ۲۳ درجه سانتیگراد، pH ۷-۸ و اکسیژن محلول ۹ میلی گرم در لیتر بود.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-06-06]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1392.3.2.2.1]

تهیه غذا و غذادهی

باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به صورت لیوفیلیزه (انجماد خشک) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. پس از رقیق سازی با آب پپتونه، باکتری به صورت خطی در محیط کشت MRS (Merck, Germany) کشت داده شد. باکتری‌ها به لوله آزمایش حاوی محیط کشت مایع عمومی براث (Soy broth) تزریق و تا رسیدن به غلظت مناسب در انکوباتور قرار گرفتند. غلظت های صفر، $۱/۵\times۱۰^{۸}$ و ۳×۱۰^{۸} CFU/ml بر مبنای نیم مک فارلند و با قرائت نوری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین و به غذای دست ساز (جدول ۱) اضافه و در ظروف در بسته به مدت ۱ هفته در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند و ماهیان به مدت ۱۲ هفته مورد تغذیه قرار گرفتند.

جدول ۱. ترکیب جیره غذایی پایه مورد استفاده

	آرد سویا	آرد ذرت	آرد گندم	آرد جو	پودر ماهی	مکمل	ویتامین
میزان ترکیب جیره (درصد)	۲۵	۳۶	۱۵	۱۵	۷	۱	۱

جمع آوری موکوس

موکوس ماهیان با استفاده از روش Subramanian و همکاران (۲۰۰۷) با کمی اصلاحات، جمع آوری شد. غذادهی ۲۴ ساعت قبل از نمونه برداری قطع شد. در پایان دوره از هر آکواریوم ۳۰ قطعه ماهی صید و پس از بیهوشی با پودر گل میخک (۵ میلی گرم در لیتر) به منظور به حداقل رساندن باکتری های متصل به سطح بدن و از بین رفتن سایر آلودگی ها، درون آب سرد و تمیز وارد شده و بلافاصله به صورت انفرادی درون کیسه های زیپ پلاست حاوی ۱۰میلی لیتر سدیم کلرید ۵۰ میلی مولار قرار گرفتند. پس از مدت زمان دو دقیقه ماهیان به آکواریوم با اکسیژن مناسب منتقل شدند. موکوس از کیسه ها جمع آوری و مایع رویی آن در آزمایشگاه پس از سانتریفیوژ ۱۵۰۰ ×g دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتیگراد به دست آمد. نمونه ها تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۷۰- قرار گرفتند.

بررسی فعالیت ضد باکتریایی و حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) موکوس

باکتری‌های مورد استفاده در این آزمایش از سازمان پژوهش های علمی صنعتی ایران تهیه گردید که شامل باکتری گرم مثبت *Streptococcus faecium* (PTCC 1238) و باکتری گرم منفی *Escherichia coli* (ATCC 1554) بود. پس از رشد باکتری ها در محیط کشت مایع، به منظور مشاهده فعالیت ضدباکتریایی موکوس، از روش انتشار دیسک (Hellio *et al*., 2002) با کمی اصلاحات و اندازه گیری قطر هاله ی عدم رشد استفاده شد. در این روش ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری معادل ۰/۵ مک فارلند روی سطح محیط کشت نوترینت آگار به صورت یکنواخت گسترده شد. همزمان دیسک بلانک‌های استریل (۷ میلی متر) آغشته به ۲۰۰ میکرولیتر نمونه موکوس با فاصله روی محیط کشت قرار گرفته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. قطر هاله عدم رشد با کولیس اندازه گیری شد. این آزمایش برای هر سویه سه بار تکرار گردید. کمترین غلظت بازدارندگی موکوس (MIC) نیز با روش رقت های متوالی میکرودیلوشن در چاهک های ۹۶ خانه انجام گرفت. رقت‌های موکوس در نظر گرفته شده ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ میکرولیتر در میلی لیتر بود. پس از ۴ ساعت با مشاهده ی میزان جذب نوری و کدورت، رشد یا عدم رشد باکتری بررسی شد.

سنجش میزان پروتئین محلول و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی

برای اندازه گیری پروتئین محلول از روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) و منحنی استاندارد آلبومین سرم گاوی استفاده گردید. اندازه گیری با اضافه نمودن معرف رنگی فولین فنول سیوکالتیو به ۱۰۰میکرولیتر از نمونه های رقیق شده موکوس و استاندارد

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-06-06]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1392.3.2.2.1]

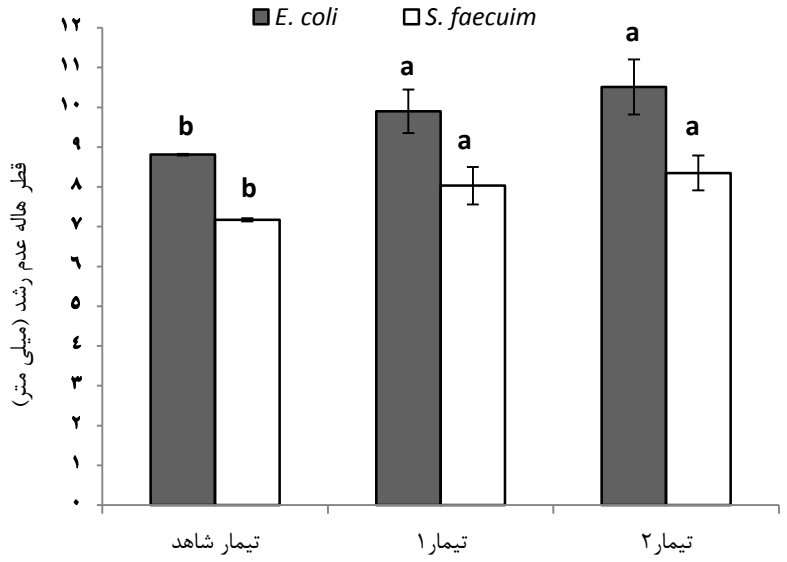
و قرائت نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom, Libera S12) انجام گرفت. با انتقال جذب نوری به دست آمده به منحنی استاندارد، میزان پروتئین محلول بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه شد. سطح آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی موکوس با استفاده از کیت های تولید شده توسط شرکت پارس و دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۰۵ نانومتر و اختلاف جذب نوری در مدت ۳ دقیقه تعیین گردید.

آنالیزهای آماری

در این آزمایش، نمونه گیری ماهیان در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. پس از بررسی هموژنیتی واریانس و نرمال بودن داده ها، تفاوت میانگین داده های به دست آمده از تیمارها از طریق آزمون آنالیز واریانس یکطرفه One-way- ANOVA و تست Duncan در سطح معنی داری (P<۰/۰۵) و با استفاده از نرم افزار SPSS 18.00 بررسی گردید.

نتایــج

فعالیت ضدباکتریایی موکوس با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد، در برابر باکتری استافیلوکوکوس فاسیوم و اشرشیا کلی تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۵) بین تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک و گروه شاهد نشان داد، اگر چه بین تیمارهای حاوی پروبیوتیک تفاوت معنی دار دیده نشد (P>۰/۰۵) (شکل ۱).



شکل ۱. مقایسه‌ی فعالیت ضدباکتریایی موکوس ماهی تایگر بارب تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک ۰ (شاهد)، $۱/۵ \times ۱۰^{۷}$ (تیمار ۱) و ۳×۱۰^{۷} (تیمار ۲) . ستون های مربوط به هر باکتری مشخص شده با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار است.

نتایج مربوط به کمترین غلظت بازدارندگی (MIC) موکوس در جدول ۲ آمده است. غلظت ۲۰۰ میکرولیتر در میلی لیتر در برابر هر دو نوع باکتری دارای حداقل خاصیت ضدباکتریایی بود و با رقیق شدن موکوس فعالیت ضدباکتریایی آن کاهش یافت. در تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک، MIC در برابر باکتری اشرشیا کلی به صورت واضح کاهش یافت.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-06-06]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1392.3.2.2.1]

جدول۲. حداقل غلظت بازدارنده (MIC) موکوس ماهی تایگر بارب در برابر باکتری های اشرشیا کلی و استرپتوکوکوس فاسیوم

غلظت پروبیوتیک (CFU/ml)	*Streptococcus faecium* MIC(µl/ml)	*Escherichia coli* MIC(µl/ml)
صفر	+ ۲۰۰	+ ۲۰۰
	- ۱۰۰	+ ۱۰۰
	- ۵۰	- ۵۰
	- ۲۵	- ۲۵
	- ۱۲/۵	- ۱۲/۵
$۱/۵×۱۰^{۸}$	+ ۲۰۰	+ ۲۰۰
	- ۱۰۰	+ ۱۰۰
	- ۵۰	+ ۵۰
	- ۲۵	+ ۲۵
	- ۱۲/۵	- ۱۲/۵
$۳×۱۰^{۸}$	+ ۲۰۰	+ ۲۰۰
	+ ۱۰۰	+ ۱۰۰
	- ۵۰	+ ۵۰
	- ۲۵	+ ۲۵
	- ۱۲/۵	- ۱۲/۵

+ نشان دهنده وجود و – نشان دهنده عدم وجود خاصیت ضدباکتریایی غلظت های موکوس در برابر باکتری های مورد بررسی است.

نتایج به دست آمده از سطوح پروتئین محلول و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی موکوس در ماهی تایگر بارب تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (جدول ۳) نشان دهنده افزایش معنی دار در میزان پروتئین محلول در تیمارهای آزمایشی ($P<۰/۰۵$) با افزایش سطح پروبیوتیک بود. همچنین در موکوس ماهی تایگر بارب تغذیه شده با جیره‌های حاوی پروبیوتیک، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی افزایش معنی دار در مقایسه با جیره شاهد نشان داد ($P<۰/۰۵$). اگرچه فعالیت این آنزیم بین موکوس تیمارهای حاوی پروبیوتیک دارای تفاوت معنی دار نبود ($P>۰/۰۵$). با افزایش سطح پروبیوتیک جیره روند افزایشی در میزان پروتئین و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی موکوس مشاهده گردید.

جدول ۳. میانگین (± انحراف معیار) میزان پروتئین محلول و فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

	سطوح متفاوت باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس(CFU/ml)		
	صفر	$۱/۵×۱۰^{۸}$	$۳×۱۰^{۸}$
پروتئین محلول (mg/ml)	$۰/۱۱ \pm ۰/۰۱^{C}$	$۰/۱۹ \pm ۰/۰۲^{b}$	$۰/۳۹ \pm ۰/۰۲^{a}$
آنزیم آلکالین فسفاتازقلیایی (IU/l)	$۱۰ \pm ۴/۲^{b}$	$۱۹ \pm ۴/۷^{a}$	$۲۲ \pm ۲/۷^{a}$

اعداد با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه ها می باشد.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-06-06]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1392.3.2.2.1]

بحث

موکوس به عنوان جزئی از مکانیسم ایمنی ذاتی علاوه بر اینکه با ریختن پوست و بافت مرده و تولید مداوم آن، همیشه وجود دارد، از اتصال پاتوژن‌ها نیز جلوگیری می کند. همچنین موکوس ماهی منبع مهمی از اجزاء دخیل در سیستم ایمنی غیراختصاصی شامل لیزوزیم، ایمونوگلوبولین ها، پروتئین‌های کمپلمان (عامل مکمل)، لکتین ها، آنزیم های پروتئولیتیک، پروتئین واکنش دهنده C و دیگر پروتئین ها و لیپیدهای آنتی باکتریال می باشد (Subramanian *et al*., 2007). کیفیت و کمیت ترکیبات موکوس گونه های مختلف ماهی متفاوت بوده و متأثر از فاکتورهای ژنتیکی مربوط به گونه ماهی، سن، تغذیه، فاکتورهای محیطی و وجود یا عدم وجود فاکتورهای استرس‌زا در قبل یا در زمان نمونه برداری موکوس است (سلطانی، ۱۳۷۷).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد به کارگیری سطوح مختلف پروبیوتیک در جیره ماهی تایگر بارب به طور معنی داری فعالیت آنتی باکتریایی موکوس را افزایش می دهد. همراستا با این نتایج Sheikhzadeh و همکاران (۲۰۱۲b) افزایش معنی داری در فعالیت ضدباکتریایی موکوس ماهی قزل آلای رنگین کمان با افزودن محرک ایمنی ساکارومایسس سروزیا مشاهده کردند. Panigrahi و همکاران (۲۰۰۴) نیز با به کارگیری پروبیوتیک *Lactobacillus rhamnosus* در جیره ماهی قزل آلا افزایش معنی داری را در فعالیت لیزوزیم سرم و فعالیت فاگوسیتیک بین تیمارهای حاوی پروبیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده کردند. همچنین در مطالعات پیشین اثرات مثبت گونه های مختلف لاکتوباسیلوس به عنوان پروبیوتیک بر عملکردهای رشد و سیستم ایمنی در باس دریایی (Carnaveli *et al*., 2006) و تیلاپیای هیبریدی (Lee *et al*., 2012) گزارش شده است.

در خصوص حساسیت سویه ها به مواد دارای خواص ضد باکتریایی در موکوس ماهیان نیز Subramanian و همکاران (۲۰۰۸) پس از بررسی اثرات ضد باکتریایی موکوس گونه های مختلفی از ماهیان در برابر طیف وسیعی از پاتوژن ها به روش رقت‌های متوالی نشان دادند که باکتری اشرشیا کلی نسبت به سایر سویه ها حساسیت بیشتری دارد که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد (شکل۳). Vennila و همکاران (۲۰۱۱) به روش انتشار دیسک و Naravaez و همکاران (۲۰۱۱) به روش میکرودیلوشن، به ترتیب فعالیت ضدباکتریایی موکوس ماهیان گرمسیری و ماهی آزاد را مورد بررسی قرار دادند. در همه گزارش ها بر فعالیت ضد باکتریایی موکوس تأکید شده است که با نتایج تحقیق حاضر همسو می باشد.

آنزیم فسفاتاز قلیایی به دلیل فعالیت هیدرولیتیکی به عنوان یک عامل ضدباکتریایی ضروری شناخته شده و عملکرد محافظتی در بهبود زخم، عفونت انگلی و استرس ها دارد (Iger and Abraham, 1990). اطلاعات محدودی در رابطه با تاثیر محرک های ایمنی بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی موجود در موکوس ماهیان وجود دارد. Sheikhzadeh و همکاران (۲۰۱۲a) افزایش معنی‌داری را در فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی موکوس در ماهی قزل آلای رنگین کمان تحت تیمار محرک ارگوسان گزارش کردند. در این آزمایش نیز، افزایش فعالیت آلکالین فسفاتاز در موکوس ماهی تایگر بارب پس از ۱۲ هفته تغذیه با پربیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مشاهده گردید.

سلول‌های کیسه ای شکل در اپیدرم ماهیان، با ترشح پروتئین‌هایی ماهیان را در برابر عفونت‌های ناشی از انگل‌های خارجی حفظ می کنند. لکتین ها، گلیکوپروتئین ها از جمله پروتئین هایی با باندهای کربوهیدراتی هستند که به همراه فاکتورهای دیگر موکوس به هنگام هجوم پاتوژن ها نقش آگلوتینه کردن آنها را برعهده دارند (Suzuki *et al*., 2003). نتایج این مطالعه حاکی از افزایش میزان پروتئین محلول موکوس در ماهی های تغذیه شده با پروبیوتیک بود. افزایش سطوح پروتئین محلول موکوس در اثر به کارگیری مکمل‌های غذایی در مطالعات پیشین گزارش شده است. افزودن ویتامین A به جیره‌ی غذایی ماهی کلمه سبب افزایش معنی دار در میزان پروتئین محلول موکوس نسبت به تیمار شاهد گردید (شریفیان، ۱۳۹۲). همچنین استفاده از محرک ایمنی ساکارومایسز سروزیا نیز سبب افزایش سطوح پروتیئن محلول موکوس شد (Sheikhzadeh *et al*., 2012b). افزایش پروتئین محلول نشان دهنده بیشتر بودن اجزاء دخیل در سیستم ایمنی با ساختار

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-06-06]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1392.3.2.2.1]

پروتئینی در ماهی‌هایی است که با پروبیوتیک تغذیه شدند که این مورد نیز از طریق بررسی فعالیت‌های ضدباکتریایی موکوس در این مطالعه نشان داده شده است.

به طورکلی نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به عنوان پروبیوتیک سبب افزایش ایمنی موکوسی در ماهی تایگر بارب می شود. با توجه به تراکم و بسته بودن محیط آکواریوم امکان بروز بیمارهای پوستی در این ماهیان بیشتر است. لذا افزایش ایمنی موکوسی از طریق کاهش ریسک ابتلا به بیماری می تواند اثرات سودمندی داشته باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات بی دریغ آقای مهندس محمدرضا وکیلی مدیر کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی «گرگان ماهی» و پرسنل محترم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که در اجرای این تحقیق مارا یاری نموده اند قدردانی می‌گردد.

منابــع

احمدنیا مطلق، ح. ر.، فرهنگی، م.، رفیعی، غ.، نوری، ف. ۱۳۹۲. تأثیر استفاده از سطوح مختلف باکتری *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis* در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و بقاء در آرتمیا ارومیانا. شیلات. شماره ۶۵، صفحات ۳۵۳-۳۶۴.

حاجی مرادلو، ع.، قربانی، ر.، ابولفتحی، م. ۱۳۹۱. مطالعه مقایسه‌ای فعالیت آنزیم‌های موکوس پوست (لیزوزیم، تریپسین و فسفاتاز قلیایی) چهار گونه ماهی آکواریومی. گزارش طرح پژوهشی. دانشکد شیلات و محیط زیست دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

سلطانی، م. ۱۳۷۷. ویژگی های ضدباکتریایی موکوس پوست ماهی. مجله دامپزشکی دانشگاه تهران. شماره ۱و ۲، صفحات ۳۱-۳۴.

شریفیان، م. ۱۳۹۲. تأثیر سطوح متفاوت ویتامین A بر خصوصیات ضدباکتریایی موکوس اپیدرم ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*). پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده شیلات و محیط زیست. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

Anbarasu, K., Chandran., M. 2001. Effect of ascorbic acid on the immune response of the catfish (*Mystus gulio*)(Hamilton), to different bacterins of (*Aeromonas hydrophila*). Fish and Shellfish Immunology. 11: 347-355.

Branby-Smith, F.M. 1992. Bacteriocins: application in food preservation. Food Science and Echnology. 3: 133-137.

Buttris, J. 1997. Nutritional properties of fermented milk products. International Journal of Dairy Technology. 50: 21-27.

Bricknell, I., Dalmo, R.A. 2005. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. Fish and Shellfish Immunology.19: 457-472.

Carnaveli, O., De Vivo, L., Sulpizio, R., Gioacchini, G., Olivotto, I., Silvi, S., Cresci, A. 2006. Growth improvement by probiotic in European Sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*) with particular attention to IGF-l, myostatin and cortisol gene expression. Aquaculture. 258: 430-438.

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

Hoseinifar, SH., Khalili, M., Khoshbavar Rostami, H., Esteban, M. 2013. Dietary galactooligosaccharide affects intestinal microbiota, stress resistance, and performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. Fish and Shellfish Immunology. 35: 1416-1420.

Iger, Y., Abraham, M. 1990. The process of skin healing in experimentally wounded carp. Journal of Fish Biology. 36: 421-437.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-06-06]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1392.3.2.2.1]

Lee, J.S., Cheng, H., Damte, D., Lee, S.J., Kim, J.C., Rhee, M.H., Suh, J.W., Park, S.C. 2012. Effects of dietary supplementation of (*Lactobacillus pentosus*) PL11 on the growth performance, immune and antioxidant systems of Japanese eel (*Anguilla japonica*) challenged with (*Edwardsiella tarda*). Fish and Shellfish Immunology. 34(3): 756-61.

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

Narvaez, E., Berendsen, J., Guzman, F., Gallardo, G.A., Mercado, L. 2011. An immunological method for quantifying antibacterial activity in Salmosalar (Linnaeus, 1758) skin mucus. Fish and Shellfish Immunology. 28: 235-239.

Ng, P.K., Tan H. 1997. Freshwater fishes of Southeast Asia: potential for the aquarium fish trade and conservation issues. Aquarium Sciences and Conservation. 1: 79-90.

Olsen, R., Ringo, E. 1999. Dominance hierarchy formation in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*): nutrient digestibility of subordinate and dominant fish. Aquaculture Research. 30: 667-671.

Panigrahi, A., Kiron, V., Kobayashi, T., Puangkaew, J., Satoh, H., Sugita, H. 2004. Immune responses in rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) induced by a potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). Veterinary Immunology and Immunopathology. 102: 379-388.

Ringo, E., Gatesoupe, F.J. 1998. Lactic acid bacteria in fish (review). Aquaculture. 160:177-203.

Sheikhzadeh, N., Heidarieh, M., Karimi Pashaki, A., Nofouzi, K., Ahrab Farshbafi, M., Akbari., M. 2012[a]. Effects of dietary Ergosan on cutaneous mucosal immuno responsein rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and Shellfish Immunology. 32: 1083-1087.

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

Subramanian, S., Ross, N.W., MacKinnon, Sh.L. 2008. Comparison of antimicrobial activity in the epidermal mucus extracts of fish. Comparative Biochemistry and Physiology. 15: 85-92.

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: 256-263.

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

Vennila, R., Kummar, K.R., Kanchana, Sh., Arumugam, M., Vijayalakshmi, Sh., 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.

Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W. 2000. Probiotic as biological control agents in aquaculture. Microbiolgy and Molecular Biology Reviews. 64(4): 655-671.

Wang, Y.B. 2007. Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp (*Penaeus vannamei*). Aquaculture. 269: 259-264.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-06-06]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1392.3.2.2.1]