مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر / ISSN: 2008-0026 سال نهم، شماره دوم، تابستان ۹٤ / صفحات: ۹۸-۹۳

تعیین کم‌ترین غلظت بازدارنده رشد (MIC) به روش انتشار دیسک در موکوس اپیدرم ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) تغذیه‌شده با سطوح متفاوت ویتامین C

*زهرا روستا[1]، عبدالمجید حاجی‌مرادلو[1] و رسول قربانی[1]
[1]گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۱۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۲/۲۱

چکیده

هدف از این مطالعه، تعیین کم‌ترین غلظت بازدارنده رشد (MIC) در موکوس اپیدرم بچه‌ماهیان کلمه تغذیه‌شده با سطوح مختلف ویتامین C بود. بدین منظور، ٦٦٠ قطعه بچه‌ماهی کلمه با وزن متوسط ۰/۰۲±۱/٤ گرم از مرکز تکثیر و پرورش سیجوال بندرترکمن تهیه و پس از طی حدود ۲ هفته سازگاری با شرایط جدید، ماهیان به تعداد ۵۵ قطعه و به‌صورت تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار در ۱۲ تانک توزیع شدند. ویتامین C با دوزهای ۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره به غذا اضافه شد. در پایان دوره ٦۰ روزه پرورش، برای تعیین غلظت، موکوس به‌صورت مستقیم با آب مقطر رقیق گردید که غلظت‌های حاصله شامل ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر بود و در برابر باکتری‌های گرم مثبت استرپتوکوکوس فاسیوم *Streptococcus faecium*، میکروکوکوس لوتئوس *Micrococcus luteus* و باکتری‌های گرم منفی *Serratia marcescens* و اشریشیا کلی *Escherichia coli* قرار گرفت. نتایج به روش انتشار دیسک و با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد نشان داد که غلظت ۲۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر در برابر هر دو نوع باکتری دارای حداقل خاصیت ضدباکتریایی بود و با رقیق شدن موکوس فعالیت ضدباکتریایی آن کاهش یافت. تیمارهای تغذیه‌شده با ویتامین C قطر هاله عدم رشد بیش‌تر و معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵). نتایج این آزمایش نشان داد افزایش ایمنی موکوسی از طریق کاهش ریسک ابتلا به بیماری، با استفاده از ویتامین C به‌عنوان محرک ایمنی توانسته است اثرات سودمندی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: ماهی کلمه، *Rutilus rutilus caspicus*، ویتامین C، کم‌ترین غلظت بازدارنده MIC، موکوس اپیدرم

مقدمه

عفونت‌های باکتریایی بیش‌تر آبزیان پرورشی را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها نیز در مدیریت بیماری‌های آبزیان پرورشی، به‌طور گسترده مورد انتقاد قرار گرفته است، که دلایل آن عبارتند از: افزایش مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها، از بین بردن فلور میکروبی محیط زیست، هزینه بالای این داروها و عوارض جانبی داروها بر موجودات آبزی (Gatlin و همکاران، ۲۰۰٦). یکی از بهترین روش‌ها برای کنترل بیماری در آبزی‌پروری، تقویت مکانیسم دفاعی ماهی برای مواجهه با محرک‌های سیستم ایمنی است. مواد محرک ایمنی از طریق افزایش قدرت ایمنی لارو ماهیان می‌توانند بقاء آن‌ها را تا زمانی که سیستم ایمنی اکتسابی آن‌ها کارایی لازم را پیدا نکرده است، افزایش می‌دهند (Bricknell و Dalmo، ۲۰۰۵). در دهه اخیر استفاده از ویتامین‌ها به‌عنوان محرک‌های سیستم ایمنی در آبزی‌پروری مورد توجه قرار گرفته است (Blazer، ۱۹۹۲). ویتامین C یا آسکوربیک اسید (AA) محلول در آب بوده و دارای نقش‌های متابولیکی متعددی از جمله اثر بر رشد، بازماندگی

* مسئول مکاتبه: roosta6787@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

بیش‌تر، بهبود زخم‌ها، کاهش اثرات استرس و مقاومت در برابر عوامل پاتوژن و بهبود عملکرد تولیدمثل می‌باشد (Dabrowski، ۲۰۰۱). نقش مهم ویتامین C در بیش‌تر گروه‌های ماهیان زمانی که دوزهای بیش‌تر از سطح مورد نیاز در جیره به‌کار برده شده، به اثبات رسیده است. در کپور هندی *Cirrhinus mrigala* برای افزایش پاسخ‌های ایمنی و مقاومت در برابر بیماری و استرس به ۱۰۰۰ میلی‌گرم آسکوربیک اسید به‌ازای هر کیلو وزن بدن نیاز است (Sobhana و همکاران، ۲۰۰۲).

پاسخ اولیه به هجوم عوامل بیماری‌زا، ایمنی اولیه (غیراختصاصی) است. اجزای کلیدی ایمنی ذاتی شامل لایه موکوس روی پوست، آبشش‌ها و مجرای معده- روده‌ای و اجزای تشکیل‌دهنده خون شامل سلول‌های کشنده طبیعی و فاگوسیت‌ها هستند (Anbarasu و Chandran، ۲۰۰۱). موکوس یک بیوفیلم تشکیل می‌دهد که از اپی‌تلیوم در برابر آسیب‌های مکانیکی، آنزیمی و شیمیایی محافظت می‌کند. ارتباط این لایه موکوس و باکتری‌ها در بسیاری از بیماری‌های عفونی مهم است و به‌عنوان اولین خط دفاعی بدن در برابر باکتری‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها می‌باشد که فعالیت غیراختصاصی سریعی را در هنگام هجوم عوامل بیماری‌زا از خود نشان می‌دهد (Schroers و همکاران، ۲۰۰۹). فعالیت ضدباکتریایی موکوس پوست ماهیان قبلاً به اثبات رسیده است. کم‌ترین غلظت مهارکننده رشد به معنای کم‌ترین غلظتی از موکوس است که سبب مهار شدن عامل بیماری‌زا می‌شود که با استفاده از رقت‌های سریالی موکوس و انتشار دیسک می‌توان به این غلظت دست یافت (Hellio و همکاران، ۲۰۰۲).

ماهی کلمه متعلق به خانواده کپورماهیان می‌باشد. در سال‌های اخیر، به دلایل مختل (صید غیرقانونی، آلودگی مناطق تخم‌ریزی در دریای خزر، کاهش مهاجرت تولیدمثلی و ...) میزان ذخایر ماهی کلمه کاهش یافته است. همچنین ماهی کلمه براساس طبقه‌بندی IUCN (۱۹۹٤) از گونه‌های در معرض تهدید محسوب شده است (Kiabi و همکاران، ۱۹۹۹). با توجه به اهمیت ماهی کلمه در تغذیه و ارزش شیلاتی آن برای مردم منطقه شمال کشور، امر تکثیر و پرورش آن به‌منظور بازسازی ذخایر مورد توجه قرار گرفته است؛ بنابراین سعی بر آن است تا با استفاده از برخی مواد افزودنی بتوان میزان بازماندگی این ماهی را افزایش داد. در این راستا شناسایی برخی فاکتورهای ایمنی موکوس به‌عنوان اولین خط دفاعی بدن مورد توجه قرار می‌گیرند. با توجه به مطالعات اندک در خصوص تأثیر ویتامین C بر فعالیت ضدباکتریایی موکوس ماهی، در این مطالعه به بررسی کم‌ترین غلظت مهارکننده رشد به روش انتشار دیسک در ماهیان تغذیه‌شده با سطوح متفاوت ویتامین C پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و سازگاری به شرایط آزمایشگاهی: بچه‌ماهیان کلمه با وزن متوسط ۰/۰۲±۱/٤ گرم از مرکز تکثیر و پرورش سیجوال بندرترکمن تهیه و به مرکز آبزی‌پروری منتقل شدند. پس از طی حدود ۲ هفته سازگاری با شرایط جدید، ماهیان به تعداد ۵۵ قطعه و به‌صورت تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار در ۱۲ تانک توزیع شدند. آب تانک‌ها از آب لوله‌کشی همراه با هوادهی تامین شدند. دمای آب ۱±۲۳ درجه سانتی‌گراد بود.

تهیه ویتامین C و غذادهی: ویتامین C به‌صورت ال- اسکوربیک اسید از شرکت کره‌ای (Dae Jung) خریداری تهیه و اضافه شد. ویتامین با دوزهای ۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا به غذای مورد استفاده با عنوان تجاری بیومار (ساخت شرکت فرانسه) از طریق اسپری صورت گرفت. پودر ویتامین C با ژلاتین ۵ درصد به‌عنوان همبند، مخلوط شده و به غذا اسپری شد. دوره غذادهی ٦۰ روز بود. روزانه غذادهی به‌میزان ۳ درصد وزن بدن در سه وعده انجام شد.

Archive of SID

www.SID.ir

نمونه‌برداری: جمع‌آوری موکوس براساس روش Ross و همکاران (۲۰۰۰) با کمی اصلاحات انجام شد. از هر تانک ۲۰ عدد ماهی به‌صورت تصادفی نمونه‌برداری و پس از بیهوشی با ۵ میلی‌گرم بر لیتر پودر گل میخک به‌صورت انفرادی درون کیسه‌های پلی‌اتیلنی (زیپ پلاست) شامل ۱۰ میلی‌لیتر سدیم کلرید ۵۰ میلی‌مولار قرار گرفتند. ماهیان از ۲٤ ساعت قبل از نمونه‌برداری غذادهی نشدند. پس از ۲ دقیقه ماهیان از کیسه‌ها خارج و به درون آب پر از اکسیژن قرار گرفتند. موکوس جمع‌آوری شده به لوله‌های سانتریفوژ استریل ۱۵ میلی‌لیتری منتقل و با دور ۱۵۰۰×g به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شدند. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش درون فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند.

تهیه سویه‌های باکتری: سویه‌های باکتریایی مورد استفاده در این آزمایش از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه گردید که شامل باکتری‌های گرم مثبت استرپتوکوکوس فاسیوم *Streptococcus faecium* (ATCC 4698)، میکروکوکوس لوتئوس *Micrococcus luteus* (ATCC 4698) و باکتری‌های گرم منفی سراتیا مارسسنس *Serratia marcescens* (CIP 1621, SM) و اشریشیاکلی *Escherichia coli* (ATCC 1554) بود.

آماده‌سازی محلول مک‌فارلند: در این مطالعه برای تعیین غلظت مشخص باکتری از محلول استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند استفاده شد که معادل $۱/۵\times۱۰^{۸}$ باکتری می‌باشد. برای این منظور، جذب نوری غلظت به‌دست آمده در طول موج ٦۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت گردید.

تعیین فعالیت ضدباکتریایی و کم‌ترین غلظت مهارکننده رشد (MIC) به روش انتشار دیسک: کم‌ترین غلظت مهارکننده رشد، به معنای غلظتی از موکوس است که می‌تواند رشد باکتری را در شرایط آزمایشگاهی مهار کند که قابل مشاهده با چشم غیرمسلح است. برای تعین غلظت، ابتدا موکوس اولیه در میکروپلیت ۹٦ خانه به‌صورت مستقیم با آب مقطر رقیق گردید که غلظت‌های حاصله شامل؛ ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر بود. زیر هود میکروبی از دو سویه باکتریایی گرم مثبت و گرم منفی سوسپانسیون میکروبی معادل ۰/۵ مک‌فارلند تهیه شد، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون روی سطح محیط کشت آگار به‌صورت یکنواخت پخش شد. سپس با استفاده از روش انتشار دیسک، برای هر غلظت از موکوس یک دیسک شاهد در نظر گرفته شد و دیسک‌های آغشته به غلظت‌های مختلف موکوس با پنس استریل و به روی پلیت‌های شامل محیط کشت نوترینت آگار منتقل شدند (هلیو و همکاران، ۲۰۰۲). پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه به‌مدت ۲٤ ساعت قرار گرفتند. پس از این مدت قطر هاله‌های عدم رشد بر حسب میلی‌متر توسط کولیس ثبت شدند. برای حصول اطمینان این آزمایش برای هر سویه باکتری ٦ بار تکرار شد.

آنالیزهای آماری: در این آزمایش، نمونه‌گیری ماهیان در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. پس از بررسی هموژنیتی واریانس و نرمال بودن داده‌ها، داده‌های به‌دست آمده از طریق آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA-One-way و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18.00 بررسی گردید.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به کم‌ترین غلظت بازدارندگی (MIC) موکوس با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد در برابر باکتری سراتیا مرسسنس، اشریشیاکلی، استرپتوکوکوس فاسیوم و استرپتوکوکوس لوتئوس در جدول‌های ۱ تا ٤ آمده است. غلظت ۲۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر در برابر هر دو نوع باکتری دارای حداقل خاصیت ضدباکتریایی بود و با رقیق شدن موکوس فعالیت ضدباکتریایی آن کاهش یافت. کم‌ترین غلظت بازدارنده رشد در باکتری سراتیا مرسسنس و اشریشیا کلی، ۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر بود. تیمارهای تغذیه‌شده با ویتامین C قطر هاله رشد بیش‌تر و

Archive of SID
www.SID.ir

معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵) (جدول‌های ۱ و ۲).

کم‌ترین غلظت بازدارنده رشد در باکتری استرپتوکوکوس فاسیوم در غلظت ۲۰۰ میکرولیتر از موکوس مشاهده شد و با رقیق‌سازی موکوس هیچ‌گونه فعالیت ضدباکتریایی نشان نداد. موکوس ماهیان تغذیه‌شده از ویتامین C اختلاف معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند، اگرچه بین تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P<۰/۰۵) (جدول ٤).

جدول ۱- تعیین کم‌ترین غلظت بازدارنده عدم رشد بر حسب میلی‌متر علیه باکتری سراتیا مارسسنس (میانگین ± انحراف معیار).

غلظت ویتامین C	غلظت‌های مختلف موکوس (میکرولیتر در میلی‌لیتر)				
(میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰
۰	–	–	۸/۷۷ ± ۰/۶۵^{Ab}	۹/۰۹ ± ۰/۵۳^{Ab}	۹/۱۷ ± ۰/۳۱^{Ac}
۱۰۰۰	–	–	۱۰/۰۶ ± ۰/۰۵^{Ba}	۱۰/۶۶ ± ۰/۷۱^{ABa}	۱۱/۰۲ ± ۰/۰۲^{Aa}
۱۵۰۰	–	–	۱۰/۳۰ ± ۰/۵٤^{Ba}	۱۱/۱۲ ± ۰/۱۷^{Aa}	۱۱/۱۹ ± ۰/۳۶^{Aa}
۲۰۰۰	–	–	۸/۵٤ ± ۰/۹۲^{Cb}	۱۱/۶۲ ± ۰/۵۶^{Aa}	۹/۸۶ ± ۰/۸۹^{Bb}

اعداد با حروف متفاوت کوچک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف ویتامین C (میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) (ستونی) می‌باشد. اعداد با حروف متفاوت بزرگ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف موکوس (ردیفی) می‌باشد.

جدول ۲- تعیین کم‌ترین غلظت بازدارنده عدم رشد بر حسب میلی‌متر علیه باکتری اشریشیا کلی (میانگین ± انحراف معیار).

غلظت ویتامین C	غلظت‌های مختلف موکوس (میکرولیتر در میلی‌لیتر)				
(میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰
۰	–	–	۷/٤۲ ± ۰/٤۸^{Bb}	۷/۹۹ ± ۰/۷۳^{ABb}	۸/۹۲ ± ۰/۶۹^{Ab}
۱۰۰۰	–	–	۸/۶۹ ± ۰/۳۹^{Cb}	۱۰/۲۳ ± ۰/۵۳^{Ba}	۱۱/۷۲ ± ۰/۷٤^{Aa}
۱۵۰۰	–	–	۸/۹٤ ± ۰/۱۹^{Ba}	۱۰/۰۱ ± ۰/۱۵^{ABa}	۱۱/۳۹ ± ۱/۳۵^{Aa}
۲۰۰۰	–	–	۹/۱۳ ± ۰/۰۵^{Ba}	۹/۹۷ ± ۰/۱۳^{ABa}	۱۰/۹۳ ± ۰/۹۱^{Aa}

اعداد با حروف متفاوت کوچک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف ویتامین C (میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) (ستونی) می‌باشد. اعداد با حروف متفاوت بزرگ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف موکوس (ردیفی) می‌باشد.

جدول ۳- تعیین کم‌ترین غلظت بازدارنده عدم رشد بر حسب میلی‌متر علیه باکتری میکروکوکوس لوتئوس (میانگین ± انحراف معیار).

غلظت ویتامین C	غلظت‌های مختلف موکوس (میکرولیتر در میلی‌لیتر)				
(میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰
۰	–	–	–	۸/۰۹ ± ۰/۵۱^{Ab}	۸/۵۷ ± ۰/۵۰^{Ac}
۱۰۰۰	–	–	–	۱۰/۱۹ ± ۱/٦٤^{Bab}	۱۱/۰۲ ± ۰/۱۳^{Aab}
۱۵۰۰	–	–	–	۱۰/۸۹ ± ۰/۷۵^{Bab}	۱۱/۵۳ ± ۰/٤٤^{Aa}
۲۰۰۰	–	–	–	۱۰/۲۹ ± ۱/۳۳^{Aa}	۱۰/۵۹ ± ۰/٤۱^{Ab}

جدول ٤- تعیین کم‌ترین غلظت بازدارنده عدم رشد بر حسب میلی‌متر علیه باکتری استرپتوکوکوس فاسیوم (میانگین ± انحراف معیار).

غلظت ویتامین C	غلظت‌های مختلف موکوس (میکرولیتر در میلی‌لیتر)				
(میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰
۰	–	–	–	–	۸/۰۵ ± ۰/۹۲^{a}
۱۰۰۰	–	–	–	–	۹/۵۱ ± ۰/۳۰^{b}
۱۵۰۰	–	–	–	–	۹/۸۳ ± ۰/۳۵^{b}
۲۰۰۰	–	–	–	–	۹/۹۶ ± ۰/۹۳^{b}

اعداد با حروف متفاوت کوچک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف ویتامین C (میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

موکوس به‌عنوان جزئی از مکانیسم ایمنی ذاتی علاوه‌بر این‌که با ریختن پوست و بافت مرده و تولید مداوم آن، همیشه وجود دارد و از اتصال پاتوژن‌ها نیز جلوگیری می‌کند (Subramanian و همکاران، ۲۰۰۷). کیفیت و کمیت ترکیبات موکوس گونه‌های 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 نمونه‌برداری موکوس است (سلطانی، ۱۳۷۷).

در خصوص حساسیت سویه‌ها به مواد دارای خواص ضدباکتریایی در موکوس ماهیان نیز Subramanian و همکاران (۲۰۰۸) پس از بررسی اثرات ضدباکتریایی موکوس گونه‌های مختلفی از ماهیان در برابر طیف وسیعی از پاتوژن‌ها به روش رقت‌های متوالی نشان دادند که باکتری اشرشیاکلی نسبت به سایر سویه‌ها حساسیت بیش‌تری دارد. Bragadeeswaran و همکاران (۲۰۱۱) فعالیت ضدباکتریایی موکوس اپیدرم کفشک ماهی *Cynglossus arel* و گربه‌ماهی *Arius caelatus* را در برابر باکتری‌های پاتوژن انسانی با روش انتشار دیسک مورد ارزیابی قرار دادند و بیان کردند که موکوس این دو گونه ماهی فعالیت ضدباکتریایی دارند که با این پژوهش هم‌سو است. Vennila و همکاران (۲۰۱۱) فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های آلی، اسیدی و آبی موکوس ماهیان *Dasyatis sephen* و *Himantura gerradi* را در برابر باکتری‌های مختلف با روش انتشار دیسک بررسی کردند. در عصاره آبی هیچ‌کدام از نمونه‌های موکوسی، فعالیت بازدارندگی از رشد مشاهده نشد.

Ibrahem و همکاران (۲۰۱۰) در مقایسه‌ای که بین تأثیر پربیوتیک اینولین و ویتامین C اضافه شده به جیره غذایی بر ایمنی ذاتی نیل تیلاپیا *Oreochromis nilotiucus* با وزن متوسط ۱۱ گرم انجام دادند؛ افزایش معنی‌داری در فعالیت لیزوزیم در تیمار شامل ویتامین C در ماه‌های اول و دوم؛ به‌ترتیب مشاهده نمودند. نتایج نشان داد که ویتامین C با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به اینولین، برای یک ماه می‌تواند جیره مکملی بهتر با هزینه‌ای کم‌تر باشد که اثر مثبت روی رشد، هماتولوژی، ایمنی غیراختصاصی و مقاومت در برابر باکتری *A. hydrophilla* را به همراه داشته است. Ai و همکاران (۲۰۰٤) افزایش فعالیت ایمنی ذاتی (افزایش لیزوزیم و عامل مکمل در سرم) را با افزایش اسید آسکوربیک جیره در ماهی باس دریایی ژاپنی *Lateoabrax japonicas* را گزارش کردند. سلیمانی و همکاران (۱۳۸۷) تأثیر ویتامین C تزریق شده را بر مقاومت بچه‌ماهی کپور در مقابله با انگل تک‌یاخته *Ichthyophtirius multifiliis* بررسی کردند. نتایج نشان داد افزایش دوز ویتامین C تزریقی تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن بدن ماهی، روی کاهش میزان مرگ و میر تأثیر مثبت و قابل‌ملاحظه‌ای داشته است که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد که در این آزمایش نیز ویتامین C از طریق افزایش فعالیت ضدباکتریایی موکوس اثر خود را بر سیستم ایمنی گذاشته است و با توجه به جایگاه ماهی کلمه و اهمیت افزایش ایمنی موکوسی از طریق کاهش ریسک ابتلا به بیماری، استفاده از ویتامین C به‌عنوان محرک ایمنی می‌تواند اثرات سودمندی داشته باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از زحمات بی‌دریغ مرکز تکثیر و پرورش سیجوال بندرترکمن و پرسنل محترم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که در اجرای این پژوهش ما را یاری نموده‌اند سپاسگزاری می‌نمائیم.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

۱- سلطانی، م.، ۱۳۷۷. ویژگی‌های ضدباکتریایی موکوس پوست ماهی. مجله دامپزشکی دانشگاه تهران. شماره ۱و ۲. صفحات ۳۱-۳٤.

۲- سلیمانی، ن.، حاجی‌مرادلو، ع.، قربانی، ر.، خوشباور رستمی، ح.، و حسن‌آبادی، ز.، ۱۳۸۷. تأثیر مقادیر مختلف ویتامین C تزریقی بر بقا ماهی کپور معمولی، *Cyprinus carpio* در مقابله با دوزهای مختلف ترونت انگل ایکتیوفتیریوس مولتی فیلیئیس، *Ichthyophytirius multifilis*. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. جلد پانزدهم، شماره ششم.

3.Ai, Q., Mai, K., Zhang, C., Xu, W., Duan, Q., Tan, B., and Liufu, Z., 2004. Effect of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, *Lateolabraxi japonicas*. Aquaculture. 242, 489-500.

4.Anbarasu, K., and Chandran, M.R., 2001. Effects of ascorbic acid on the immne response of the catfish (*Mystus gulio*) (Hamilton), to different bacterins of *Aeromonas hydrophila*. J. Fish. Shellfish Immunol. 11 (7:9), 347-355.

5.Blazer, V.S., 1992. Nutrition and disease resistance in fish. Annual Review of Fish Diseases. 2 (8), 309-323.

6.Bragadeeswaran, S., Priyadharshini, S., Prabhu, K., and Rani, S.R.S., 2011. Antimicrobial 216 and hemolytic activity of fish epidermal mucus (*Cynoglossus arel*) and (*Arius caelatus*). Asian Pacific J. Trop. Med. 4, 305-309.

7.Bricknell, I., and Dalmo, R.A., 2005. The use of immune-stimulants in fish larval aquaculture. Fish and Shellfish Immunology, 19 (3:6:10), 457-472.

8.Dabrowski, K., 2001. Ascorbic acid in aquatic organisms. CRC Press. Boca Raton, 288p.

9.Gatlin, D.M., Li, P., Wang, X., Burr, G.S., Castille, F., and Lawrence, A.L., 2006. Potential application of prebiotics in aquaculture. 8th International symposium on aquaculture nutrition, 1, 371-376.

10.Hellio, C., Pons, AM., Beaupoil, C., Bourgougnon, N., and Gal, YL., 2002. Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of extracts from fish epidermis and epidermal mucus. Inter. J. Antimicrobial. Agents. 20, 214-219.

11.Ibrahem, M.D., Fathi, M., Mesalhy., S., and Abd El-Aty, A.M., 2010. Effect of dietary supplemention of inulin and vitamin C on the growth, hematology, innate immunity and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish and Shellfish Immunology. 29, 241-246.

12.Kiabi, B., Abdoli, A., and Naderi, M., 1999. Status of the fish fauna in the south Caspian Basin of Iran. J. Zool. Mid. East, 1, 57-65.

13.Ross, N.W., Firth, J.K., Wang, A., Burka, F., and Johnson, S.C., 2000. Change in hydrolytic enzyme activities of naïve Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin mucus due to infection with the salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) and cortisol implantation. Dis Aquat. Organ. 41, 43-51.

14.Schroers, V., Marel, M., Neuhaus, H., and Steinhagen, D., 2009. Changes of intestinal mucus glycoproteins after per-oral application of *Aeromonas hydrophila* to common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture, 288 (14), 184-189.

15.Sobhana, K.S., Mohan, C.V., and Shankar, K.M., 2002. Effect of dietary vitamin C on the disease susceptibility and inflammatory response of marigal *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) to experimental infection of *Aeromonas hydrophila*. J. Aquacul. 207 (4), 225-238.

16.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.

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

18.Vennila, R., Kummar, K.R., Kanchana, Sh., Arumugam, M., and Vijayalakshmi, Sh., 2011. Preliminary investigation on antimicrobial and proteolytic property of the epidermal mucus secretion of marine stingray. Asian Pacific J. Trop. Biomed. pp. 239-243.

Archive of SID

www.SID.ir