اثر تغذیه‌ای جلبک پادینا (*Padina astraulis* Hauck) بر شاخص‌های مقاومت موکوسی بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) درمواجهه با نانو ذرات نقره

آنیتا گل‌پور*، سید عباس حسینی، سید علی‌اکبر هدایتی، علی جافرنوده، مهتاب خلجی

گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

*نویسنده مسئول: anita.golpour@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۸/۱/۹ تاریخ پذیرش: ۹۸/۳/۲۲

چکیده

نحقیق حاضر به‌منظور بررسی اثر جلبک پادینا (*Padina astraulis*) بر شاخص‌های مقاومت موکوسی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انجام گرفت. بر این اساس تعداد ۲۵۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۴±۲۰/۰ گرم در چهار تیمار و هر یک در سه تکرار شامل غذای بدون جلبک (تیمار شاهد)، غذای دارای جلبک به میزان ۰/۵ درصد (تیمار ۱)، غذای دارای جلبک به میزان ۱ درصد (تیمار ۲) و غذای دارای جلبک به میزان ۲ درصد (تیمار ۳) توزیع و به مدت ۴۲ روز تغذیه شدند و بعد از پایان دوره تغذیه به مدت ۱۴ روز در مواجهه با نانو ذرات نقره با غلظت ppm ۰/۵ قرار گرفتند. در پایان دوره آزمایش، نمونه‌برداری از موکوس ماهی جهت بررسی شاخص‌های مقاومت موکوسی انجام گردید. نتایج نشان داد بیشترین میزان پروتین محلول موکوس در تیمارهای ۱ و ۲ درصد و کمترین میزان در تیمار ۰/۵ درصد و شاهد مشاهده شد و بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. بیشترین میزان افزایش لیزوزیم و ALP موکوس در تیمارهای ۱ و ۲ درصد و کمترین میزان در تیمار ۰/۵ درصد و شاهد مشاهده شد و بین تیمارها اختلاف معنی‌داری یافت شد ($P<0/05$). با توجه به نتایج استفاده از جلبک پادینا با غلظت‌های ۱ و ۲ درصد می‌تواند باعث بهبود شاخص‌های مقاومت موکوسی بچه ماهی کپور معمولی در مواجهه با نانو ذرات نقره گردد.

واژگان کلیدی: مقاومت موکوسی ،کپورمعمولی، جلبک پادینا، نانو نقره.

مقدمه

صنعت آبزی‌پروری جهانی طی چند دهه اخیر رشد قابل‌توجهی داشته است و به یک بخش تولیدی اقتصادی مهم تبدیل شده است. در کنار این رشد عواملی مانند تراکم بالا و به‌دنبال آن کاهش کیفیت آب و افزایش استرس، کاهش عملکرد سیستم ایمنی و افزایش خطر ابتلا به بیماری در آبزیان و به دنبال آن کاهش بازده تولید و ضرر و زیان اقتصادی را به‌همراه داشته است. استفاده پیشگیرانه و درمانی آنتی‌بیوتیک‌ها طی چند سال گذشته سبب بروز باکترهای مقاوم، تجمع زیستی درگوشت آبزیان و پایین آوردن کیفیت گوشت و مشکلات زیست‌محیطی شده است (Cabello, 2006). این مشکلات باعث شده است تا محققین به بررسی روش‌های جایگزین و استفاده از محرک‌های ایمنی سازگار با محیط‌زیست و ارزان‌قیمت بپردازند (Pohlenz and Gatlin, 2014). محرک‌های ایمنی شامل ترکیبات مصنوعی یا طبیعی هستند که با تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی و غیره سبب بهبود عملکرد سیستم ایمنی و به تبع آن افزایش رشد در ماهی می‌شوند (Pohlenz and Gatlin, 2014). از جمله این ترکیبات می‌توان به مواد گیاهی، اسیدهای آلی و نمک‌های آن، پری‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها اشاره کرد (Lückstädt, 2008).

جمعیت ماکروفیت‌ها به‌عنوان اولین تولیدکننده مهم نقش محوری از نظر گردش مواد در زنجیره غذایی اکوسیستم‌های دریا ایفا می‌نماید و منبع غذایی مهمی برای ارگانیسم‌های دریایی (ماهی و نرم‌تنان) محسوب می‌گردند. در طول چند دهه گذشته، استفاده از ماکروفیت‌ها به‌دلیل وجود مواد مختلف فیزیولوژیکی نظیر آنتی اکسیدان، ضد التهاب، ضد سرطان و ایمنی در مصارف انسانی و صنعتی نظیر دارو و سوخت های زیستی مورد استقبال قرار گرفته است (Choi *et al*., 2014). مطالعات متعددی در ارتباط با اضافه نمودن جلبک‌های دریایی به‌عنوان منبع پروتئین در جیره غذایی نتایج متناقضی را در زمینه عملکرد رشد در گونه‌های مختلف ماهی نشان داد به‌عنوان مثال، استفاده از جلبک‌های

دریایی منجر به افزایش رشد در ماهی سیم دریایی (*Pagrus major*) شده است (Mustafa *et al.*, 1995). همچنین تاثیر آن‌ها بر عملکرد رشد بسته به گونه‌های جلبک دریایی و غلظت‌های آن‌ها متفاوت می‌باشد (شیخ‌ویسی و همکاران ۱۳۹۷). جلبک‌های دریایی، ۸۵ درصد از کل تولید جهانی گیاهان آبزی را تشکیل می‌دهند و به‌عنوان یکی از بزرگترین تولید-کنندگان دریا محسوب می‌شوند (Fleurence *et al.*, 2012).

در سال‌های اخیر نانوتکنولوژی تبدیل به یکی از مهم‌ترین و مهیج‌ترین حوزه‌های رو به پیشرفت در فیزیک، شیمی، علوم مهندسی و زیست‌شناسی شده است. ذرات نانو به خاطر خصوصیت‌های غیر معمول نوری، شیمیایی، فوتوالکتروشیمیایی و الکتریکی، مورد توجه دانشمندان هستند (Gong *et al.*, 2007). با توجه به نوظهور بودن فناوری نانو هنوز از خطرات احتمالی این ذرات برای محیط زیست ارزیابی دقیقی صورت نگرفته است. از آن‌جا که نانوذرات مصنوعی تولید بشر هستند و در فرآیند تکامل وجود نداشته‌اند، در حال حاضر، نگرانی زیادی پیرامون آلودگی موجودات زنده به‌خصوص آبزیان با آن‌ها وجود دارد. نانو ذرات می‌توانند از جداره رگ‌های خونی و همچنین جفت عبور کنند در نتیجه، به-راحتی می‌توانند با ملکول‌های مستقر بر روی سطح یا داخل سلول‌ها تعامل داشته باشند. این مسئله باعث می‌شود سلامتی موجودات زنده زیادی تحت تاثیر قرار گیرد، ویژگی‌های نانو ذرات مانند انحلال‌پذیری، تحرک بسیار زیاد در بدن انسان و توانایی نفوذ به غشا سلولی سبب شده، مقیاس نانو بیش از مقیاس‌های دیگر مورد توجه قرار گیرد. با توجه به خصوصیات منحصر به‌فرد فیزیکوشیمیایی نانوذرات ممکن است نوع سمیت آن‌ها با موادی که از نظر ساختمان شیمیایی با آن‌ها یکسان اما اندازه متفاوت دارند، فرق داشته باشد. حتی امکان دارد که نانو ذره‌ها سمیت بیشتری در مقایسه با ذرات بزرگتر ایجاد کنند. نانوذرات اکسید فلزی می‌توانند وارد رگ‌ها و بافت-های مغز شوند و از این طریق می‌توانند قابلیت دسترسی زیستی را افزایش دهند. این مسئله ممکن است منجر به تأثیرات سمی و پاسخ‌های التهابی در مغز و تخریب سیستم عصبی مرکزی شود (Chang *et al.*, 2012).

وجود موکوس بر پوست و آبشش ماهی جهت حفاظت از ساختار آبشش و برخی وظایف مهم آن حیاتی است. موکوس از طریق اتصال گروه‌های اسیدسیالیک با بار منفی به کاتیون‌های مضر فلزات، قادر به کاهش سمیت فلزات و نانوفلزات می‌باشد. علاوه بر این موکوس در رویارویی با فلزات سریعاً ترشح می‌شود که از چند دقیقه تا چند ساعت متغیر است. باوجود آن‌که موکوس به‌طور کارآمدی قادر به باند شدن به فلزات و کاهش سمیت آن‌ها می‌باشد، از سوی دیگر می‌تواند منجر به تجمع فلزات در بخش-های اصلی بدن ماهی مانند آبشش شود (Speare and Fergosen, 2006). موکوس پوست شامل شاخص‌های ایمنی ذاتی مانند مکمل‌ها، لیزوزیم، ایمونوگلوبولین‌ها، پروتئاز و لکتین‌ها است. کیفیت و کمیت ترکیبات موکوس گونه‌های مختلف ماهی متفاوت بوده و متأثر از فاکتورهای تنش‌زا در قبل یا در زمان نمونه‌برداری موکوس است فعالیت ضد باکتریایی و ایمونولوژیکی موکوس پوست ماهی تحت تأثیر وضعیت فیزیولوژیکی و تغذیه‌ای ماهی می‌باشد (Esteban, 2012).

کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در بیشتر حوضه‌های آبریز ایران پراکنش دارد. این ماهی مهمترین گونه پرورشی کشور می‌باشد و بسیاری از مزارع پرورش شمال کشور به تکثیر و پرورش آن اختصاص دارند (Metz, 2003). ماهی کپور معمولی یکی از گونه‌های مهم استخرهای پرورشی ماهیان گرم آبی است که حدود ۲۵ تا ۳۰درصد کل ماهیان پرورشی در هر دوره را شامل می‌شود (مصباح و همکاران، ۱۳۹۵). پرورش موفقیت آمیز ماهیان به قابلیت دسترسی بـه غـذای مناسب برای تغذیه بستگی دارد (Lavens and Sorgelos, 1996). با توجه به مطالب بیان شده در فوق، این تحقیق با هدف بررسی تاثیر استفاده از جلبک بر افزایش ایمنی موکوسی ماهی کپور معمولی در مواجهه با نانو ذرات نقره به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و شرایط آزمایشگاهی: این تحقیق به-مدت ۶۳ روز (یک هفته برای سازگازی با شرایط

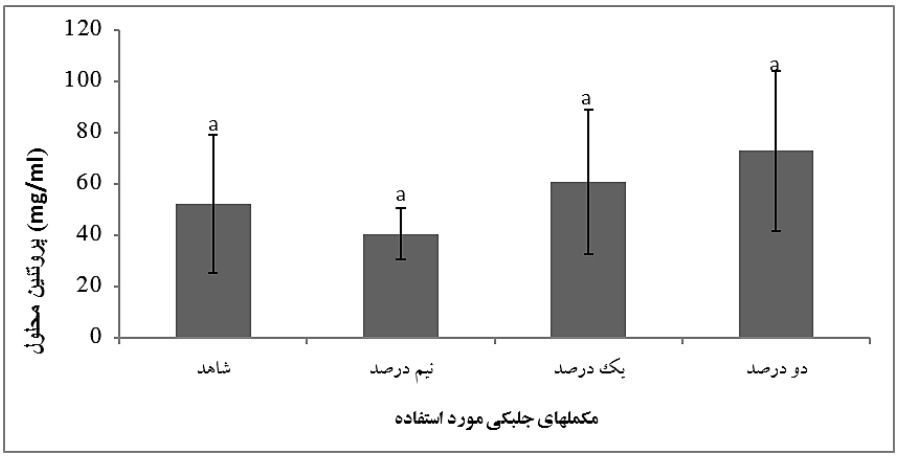
آزمایشگاه، ۴۲ روز تغذیه با جلبک و ۱۴روز برای در معرض دهی ماهیان نانو ذرات نقره) در محل مرکز تحقیقات آبزی پروری شهید ناصر فضلی برآبادی گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. تعداد ۲۵۰ بچه ماهی کپور معمولی با محدوده وزنی حدود ۴±۲۰ گرم از مرکز تکثیر و پرورش بخش خصوصی اسلامی تهیه گردید. بعد از ضدعفونی و آماده‌سازی آکواریوم‌ها، آبگیری آن‌ها با استفاده از آب شیر کلرزدایی شده صورت گرفت. سپس ماهی‌ها به آکواریوم‌ها منتقل شدند. برای سازگار شدن با محیط آزمایش، ماهی‌ها در ابتدا به مدت یک هفته در داخل آکواریوم‌های پرورشی نگهداری شدند. در طول دوره‌ی آزمایش فاکتورهای فیزیکوشیمیایی شامل دمای آب: ۱±۲۱ درجه سانتی‌گراد، پی اچ (pH): ۶/۷-۷/۹، غلظت اکسیژن محلول: ۶-۵ میلی‌گرم در لیتر و سختی آب: ۲۱۰ میلی‌گرم کربنات کلسیم در لیتر بودند.

جمع‌آوری جلبک پادینا از سواحل تیس واقع در ۵ کیلومتری بندر چابهار هنگام جذر صورت گرفت و با کلید شناسایی مرکز تحقیقات شیلات مورد تایید و سپس در فضای آزاد و به دور از نور مستقیم خورشید خشک و توسط دستگاه همزن برقی کاملاً به حالت پودر تبدیل شدند. به‌منظـور اضافه نمودن سطوح مختلف مکمل به غذای کنسانتره ابتدا مقدار غذا را برای کل دوره هر تیمار محاسبه، سپس با درصد مشخصی آب مقطر عصاره را به جیره اضافه نموده تا به حالت خمیری درآمد. با استفاده از چرخ گوشت با مش ۰/۵ میلی‌متر خمیر عبور داده شد و به شکل پلت در مجاورت هوا خشک گردید و سپس برای مصرف در کل دوره آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. مقدار غذای روزانه با توجه به درصد وزن بدن (توده زنده) محاسبه شد.

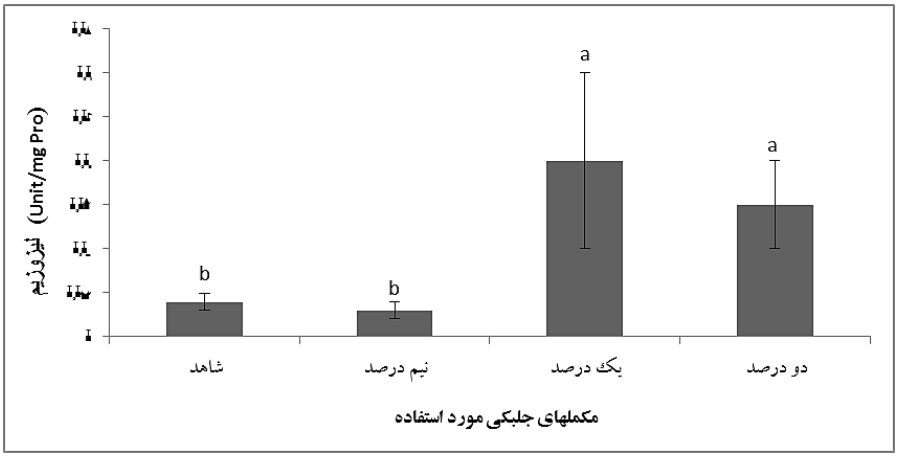
بعد از گذشت یک هفته از دوره سازگاری، آزمایش در قالب ۴ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار شامل: جیره فاقد جلبک (تیمار ۱)، جیره حاوی ۰/۵ درصد جلبک (تیمار ۲)، جیره حاوی ۱ درصد جلبک (تیمار ۳) و جیره حاوی ۲ درصد جلبک (تیمار ۴) انجام شد. ماهی‌ها روزانه به میزان ۳ درصد وزن بدن و دو بار در روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. بعد از گذشت ۴۲ روز و LC_{50} 96h بر طبق منابع موجود نانو نقره، بچه ماهیان در مجاورت ۵۰ درصد غلظت کشنده نانوذرات نقره به‌مدت ۱۴ روز قرار گرفتند که در مجموع ۸ تیمار با ۳ تکرار (۲۴ تیمار×تکرار) طراحی شد.

نمونه‌برداری و سنجش شاخص‌های مقاومت موکوسی: موکوس پوست ماهی‌ها براساس روش جمع‌آوری شد (Sabramanian *et al.*, 2007). ماهیان از ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌برداری غذادهی نشدند در پایان آزمایش و بعد از طی دوره ۶۳ روزه، از هر آکواریوم، موکوس ۵ نمونه ماهی به‌صورت تصادفی نمونه‌برداری شد. ماهیان پس از بی‌هوشی با ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر پودر گل میخک، به‌صورت انفرادی درون کیسه‌های پلی‌اتیلنی (زیپ پلاست) حاوی ۲ میلی‌لیتر سدیم کلرید ۵۰ میلی‌مولار قرار گرفتند. پس از ۳ دقیقه ماهیان از کیسه‌ها خارج و موکوس جمع‌آوری شده به لوله‌های سانتریفیوژ استریل ۱۵ میلی‌لیتری منتقل و با دور g ×۱۵۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ و مایع رویی به میکروتیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتر منتقل و در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس شاخص‌های پروتئین محلول، لیزوزیم، آنزیم فسفاتاز قلیایی در موکوس اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لیزوزیم موکوس پوست به‌روش کدورت-سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. برای تعیین سطح فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی از کیت سنجش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی (شرکت پارس آزمون) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۰۵ نانومتر و دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد استفاده شد. برای اندازه‌گیری پروتئین محلول از معرف رنگی فولین فنول سیوکالتیو (Sabramanian *et al.*, 2007) استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون چند دامنه دانکن انجام شد. تجزیه‌وتحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ در سطح معنی-داری ۰/۰۵ انجام شد. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان گردید.



شکل ۱ - میزان پروتین محلول موکوس کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی.



شکل ۲ - میزان لیزوزیم موکوس کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی.

نتایج

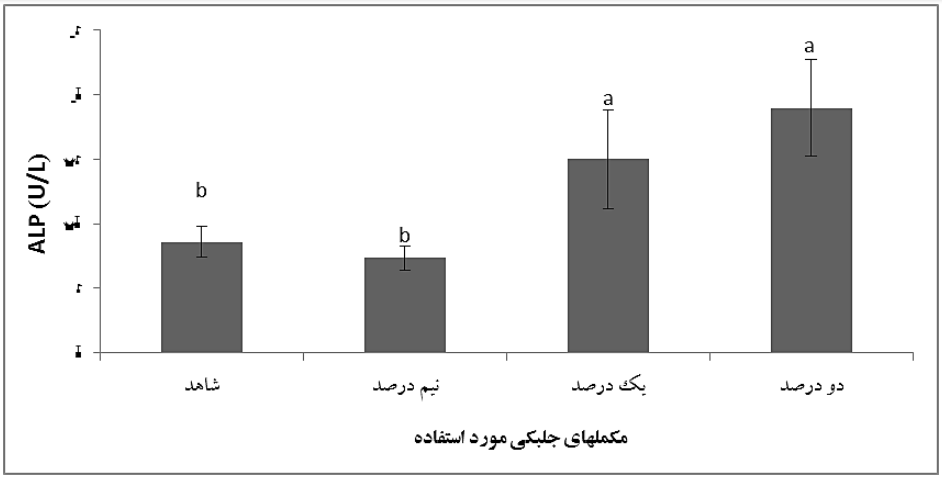
نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر میزان پروتین محلول موکوس تاثیر معنی‌داری نداشت. اگرچه پروتئین محلول موکوس در اثر تیمارهای تغذیه شده با جلبک پادینا با افزایش غلظت جلبک تقریباً افزایش یافته بود. بیشترین میزان پروتین محلول موکوس در تیمارهای ۱ و ۲ درصد و کمترین میزان در تیمار ۰/۵ درصد و شاهد مشاهده شد (شکل ۱).

نتایج همچنین نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر میزان لیزوزیم موکوس تاثیر معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) داشت به طوری‌که بیشترین میزان افزایش لیزوزیم در تیمارهای ۱ و ۲ درصد و کم‌ترین میزان در گروه‌های ۰/۵ درصد و شاهد مشاهده گردید (شکل ۲).

سنجش‌های ALP نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر میزان ALP موکوس تاثیر معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) داشت به‌طوری‌که بیشترین میزان افزایش ALP موکوس در تیمارهای ۱ و ۲ درصد و کم‌ترین میزان در گروه‌های ۰/۵ درصد و شاهد مشاهده شد (شکل ۳).

بحث

عوامل محیطی (فصل، شوری، درجه حرارت، تراکم)، عوامل فیزیولوژیکی (گونه ماهی، سن، جنس، وضعیت تغذیه ای)، زمان نمونه‌برداری، چگونگی تهیه نمونه، دقت و حساسیت روش‌های اندازه‌گیری می‌توانند بر فعالیت پارامترهای موکوس تاثیرگذار باشند (Verdegerm, 1997). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر میزان لیزوزیم موکوس تاثیر معنی‌داری داشت، به‌طوری‌که میزان لیزوزیم موکوس در تیمارهای تغذیه شده با جلبک پادینا با



شکل ۳ - میزان ALP موکوس ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی.

افزایش غلظت به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در نتایجی مشابه، میزان آنزیم لیزوزیم در ماهی قرمز تغذیه شده با گالاکتوالیگوساکارید افزایش یافته است (Miandare *et al*., 2016). همچنین در مطالعه دیگری قارچ خوراکی به‌عنوان محرک ایمنی موجب فعالیت آنزیم لیزوریم شده است (Harikrishnan *et al*., 2012). افزایش سطوح لیزوزیم موکوس مؤید افزایش سطح ایمنی در بچه ماهیان تغذیه شده با مکمل‌های غذایی می‌باشد. Khaleghi و همکاران (۲۰۱۸) ارزیابی مکمل‌های غذایی باکتری *Pediococcus acidilactici* و قارچ خوراکی *Agaricus bisporus* بر شاخص‌های ایمنی موکوس پوست ماهی کپور معمولی در مواجهه با نانو ذرات نقره پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که سنجش فعالیت آنزیم لیزوزیم موکوس پوست، افزایش معنی‌دار این آنزیم را در تیمارهای تغذیه شده با مکمل‌های غذایی در مقایسه با تیمار شاهد پس از رویارویی با نانو ذرات نقره در روزهای ۱، ۷ و ۱۴ نشان داد. افزایش سطوح لیزوزیم موکوس مؤید افزایش سطح ایمنی در بچه ماهیان تغذیه شده با مکمل‌های غذایی می‌باشد (Khaleghi *et al*., 2018).

آنزیم فسفاتاز قلیایی به‌دلیل دارا بودن فعالیت هیدرولیتیکی در موکوس به‌عنوان یک عامل ضد باکتریایی عمل می‌کند و مقدار آن در شرایطی مانند مراحل اولیه بهبود زخم‌ها، شرایط تنش‌زا به‌دلیل نقش حفاظتی در برابر عوامل بیماری‌زا (Palaksha *et al*., 2008) و استفاده از محرک‌های ایمنی در جیره (Roosta *et al*., 2014) افزایش می‌یابد.

Khaleghi و همکاران (۲۰۱۸) ارزیابی مکمل‌های غذایی باکتری *P. acidilactici* و قارچ خوراکی *A. bisporus* بر شاخص‌های ایمنی موکوس پوست ماهی کپور معمولی در مواجهه با نانو ذرات نقره پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که میزان ایمونوگلوبولین موکوس پوست در طی ۱۴ روز دوره رویارویی با غلظت تحت کشنده نانو ذرات نقره افزایش معنی‌داری را داشت که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

به‌طورکلی این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از جلبک در جیره غذایی کپور معمولی، باعث بهبود شاخص‌های ایمنی موکوس می‌گردد، به‌طوری‌که با افزایش میزان جلبک این شرایط بهتر می‌گردد و وقتی این تیمارها در مواجهه با نانو نقره قرار می‌گیرند بچه ماهیان با شرایط بهتر با این عامل استرس‌زا مقابله می‌کنند.

منابع

ستاری م.، شاهسونی د.، شفیعی ش. ۱۳۸۲. ماهی‌شناسی ۲. نشر حق‌شناس. ۵۹۷ صفحه.

شیخ‌ویسی، ر.، هدایتی، ع.، باقری، ط.، جافرنوده ع. ۱۳۹۶. بررسی شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور معمولی در مواجهه با نانوذرات آهن و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس. محیط زیست جانوری، دوره ۹، شماره ۴، صفحات ۲۲۲-۲۱۵.

هدایتی ع.، جهانبخشی ع.، قادری‌رمازی ف. ۱۳۹۲. سم‌شناسی آبزیان، جلد اول، چاپ اول، صفحات ۷۰-۷۶.

مصباح م.، محمدی ق.، خواجه غ.، ممبنی آ. ۱۳۹۵. بررسی خصوصیات فیزیکی و بیوشیمیایی مایع منی

ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرورشی استان خوزستان در فصل زمستان، مجله دامپزشکی ایران، دوره دوازدهم، شماره۴، صفحات ۱۱۷-۱۰۹.

Ángeles Esteban M. 2012. An overview of the immunological defenses in fish skin. *ISRN Immunology* 2012.

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.

Chang Ya., Xia L., Zhang M., Zhang J., Xing G. 2012. The Toxic Effects and Mechanisms of CuO and ZnO Nanoparticles. *Materials* 5(12), 2850-2871.

Choi Y.H., K.W., Han H.-S., Nam T.J., Lee B.-J. 2014. Dietary Hizikia fusiformis glycoprotein-induced IGF-I and IGFBP-3 associated to somatic growth, polyunsaturated fatty acid metabolism, and immunity in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* A 167, 1-6.

Fleurence J., Moranais M., Dumay J., Decottingnies P., Turpin V., Munier M., GarciaBueno N., Jaouen P. 2012. What are the prospects for using seaweed in human nutrition and for marine animals raised through aquaculture? *Trends Food Science and Technology* 27, 57-61.

Gong P., Li H., He X., Wan, K., Hu J., Tan W., Yang X. 2007. Preparation and antibacterial activity of Fe_3O_4@ Ag nanoparticles. *Nanotechnology* 18(28), 285604.

Hedayati A., Jahanbakhshi A., Qaderi Rmazy, F. 2013. Aquatic Toxicology. I. First edition. pp. 70-76.

Harikrishnan R., Balasundaram C., Heo M.S. 2012. Inonotus obliquus containing diet enhances the innate immune mechanism and disease resistance in olive flounder Paralichythys olivaceus against *Uronema marinum*. *Fish and Shellfish Immunology* 32(6), 1148-1154.

Khaleghi R., Hedayati A., Kashiri H., Paknejad H., Hosseinifar, H. 2018. Evaluation of food supplements of *Pediococcus acidilactici* and *Agaricus bisporus* fungus on *Cyprinus carpio* skin mucus immune indices in exposure to silver nanoparticles. *Iranian Journal of Fisheries Science* 27(3), 97-109.

Kolangi Miandare H., Yarahmadi P., Abbasian M. 2016. Immune related transcriptional responses and performance of *Litopenaeus vannamei* post-larvae fed on dietary probiotic PrimaLac. *Fish and Shellfish Immunology* 55, 671-678.

Kolangi Miandare H., Farvardin S., Shabani A., Hoseinifar S.H., Ramezanpour S.S., 2016. The effects of galactooligosaccharide on systemic and mucosal immune response, growth performance and appetite related gene transcript in goldfish (*Carassius auratus gibelio*). *Fish and Shellfish Immunology* 55, 479-483.

Lückstädt C. 2008. Acidifiers in aquaculture prove beneficial. *Feed Mix* 14(3), 11-12.

Lavens P., Sorgelos P. 1996.Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO, Fisheris Technical Paper* 361, 283-295.

Mustafa M.G., Wakamatsu S., Takeda T.A., Umino T., Nakagawa H. 1995. Effects of algae meal as feed additive on growth, feed efficiency, and body composition in red sea bream. *Fisheries Science* 61, 25-28.

Nayak S.K. 2010. Role of gastrointestinal microbiota in fish. *Aquaculture Research* 41, 1553-1573.

Pohlenz C., Gatlin D.M. 2014. Interre-lationships between fish nutrition and health. *Aquaculture* 431, 111-117.

Metz, J., Van den Burg E.H., Wendelaar Bonga S.E., Flik G. 2003. Regulation of branchial Na^+/K^+- TPase in common carp (*Cyprinus carpio*) acclimated to different temperatures. *The Journal of Experimental Biology* 206, 2273-280.

Roosta Z., Hajimoradloo A., Ghorbani R., Hoseinifar S.H. 2014. The effects of dietary vitamin C on mucosal immune responses and growth performance in Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*) fry. *Fish Physiology and Biochemistry* 40(5), 1601-1607.

Speare D.J., Ferguson H.W. 2006. Gills and pseudobranchs. *Systemic Pathology of Fish* 24-63.

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 Part B: Biochemistry and Molecular Biology 148(3), 256-263.*

Verdegem M.C.J., Hilbrands A.D., Boon J.H. 1997. Influence of salinity and dietary composition on blood parameter values of hybrid red tilapia (*Oreochromis niloticus* & *Oreochromis mossambicus*). *Aquaculture Research* 28, 453-459.

Effect of *Padina astraulis* Hauck algae feeding on the mucus resistance indeces of *Cyprinus carpio* in exposure to silver nanoparticles

Anita Golpour*, Seyyed Abbas Hosseini, Seyyed Aliakbar Hedayati, Ali Jafar Nodeh, Mahtab Khalaji

Fisheries Department, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

*Corresponding author: anita.golpour@gmail.com

Received: 2019/3/29 Accepted: 2019/6/12

Abstract

The present study was carried out to investigate the effect of *Padina astraulis* hauck on common carp (*Cyprinus carpio*) mucus resistance indeces. According to this, a total of 250 fry with an average weight of 20±4 g in were introduced into four treatments each with three replications, including diet without algae (control), diet with 0.5% algae (Treatment 1), diet with 1% algae (Treatment 2) and diet with 2% algae (Treatment 3) and fed for 42 days. At the end of the feeding period, treatments wer exposured to silver nanoparticles at concentrations of 0.5%. At the end of experiment, sampling of fish mucus was performed. The results showed that the highest protein content of mucus was observed in 1 and 2% treatments and the lowest one in 0.5% treatment and control and there was no significant difference between treatments. The highest increase in lysozyme and ALP of the mucus were observed in 1 and 2% treatments and the lowest one in 0.5% and control group ($P<0.5$). Based on the the results, application of 1% and 2% *Padina astraulis* algae can improve the mucus resistance indeces of common carp in exposure to silver nanoparticles.

Keywords: Mucous resistance, Common carp, Padina algae, Nano silver.