فعالیت لایزوزیم سرم خون و موکوس پوست ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii*) در اکوسیستم آب لب شور و آب شیرین

فاطمه ذاکر[۱]، جاوید ایمانپور نمین*[۱]، مسعود ستاری[۱]، مهوش هادوی[۲]

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران، صندووق پستی: ۱۱۴۴

۲- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران، صندووق پستی: ۴۱۳۳۵-۱۹۱۴

تاریخ دریافت: ۲۴ مهر ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: ۲۹ بهمن ۱۳۹۴

چکیده

ماهی سفید اگر چه یکی از ماهیان اقتصادی دریای خزر است، اما مطالعات اندکی روی سیستم ایمنی این ماهی در محیط‌های طبیعی و در هنگام مهاجرت بین آب لب‌شور دریا و آب شیرین متمرکز بوده است. در این مطالعه تعداد ۲۳ قطعه ماهی (۱۲ ماده، ۱۱ نر) از دریای خزر (متوسط شوری ppt ۰/۳ ±۰/۲،۷/۵۲ pH= ۸/۹) و ۲۳ ماهی (۱۲ ماده، ۱۱ نر) از رودخانه خشکرود (متوسط شوری ppt ۱۱/. ، ۸/۷ =pH) از مهر ۱۳۹۰ تا شهریور ۱۳۹۱ صید شدند. تغییرات پاسخ ایمنی غیراختصاصی بدن ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii*) در دو جنس نر و ماده تحت تاثیر مهاجرت بین محیط شور و شیرین و تاثیر آن بر فعالیت لایزوزیم سرم خون و موکوس پوست ماهی بررسی شد. سنجش لایزوزیم با اثرگذاری بر سوسپانسیون باکتری *Micrococcus lysodiekticus*، بر اساس کاهش جذب نوری و با دستگاه الایزاریدر اندازه‌گیری شد. اختلاف معنی‌داری در فعالیت لایزوزیم سرم خون به عنوان یکی از اجزای ایمنی غیراختصاصی در دو جنس نر و ماده مشاهده نشد، در حالی که فعالیت لایزوزیم با تغییرات شوری از محیط دریا به رودخانه به طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). بیشترین فعالیت لایزوزیم (U/mL/min) در دریا (۷/۰۳± ۳۹/۰۹) و کم‌ترین آن در رودخانه (۱/۳۶± ۷/۷۵) مشاهده شد. از طرف دیگر، فعالیت لایزوزیم در موکوس پوست جنس ماده، از محیط دریا به رودخانه افزایش یافت (P <۰/۰۵) و بیشترین مقدار در رودخانه (۷/۰۲± ۱۴۵/۴۵) و کم‌ترین مقدار در دریا (۱۶/۵۳± ۱۰۱/۵۵) مشاهده شد. نمونه‌برداری از موکوس پوست جنس نر میسر نشد، زیرا در زمان ورود ماهیان نر به رودخانه، توبرکول‌های تولیدمثلی کاملاً شکل گرفته بود و موکوس ترشح نشده و یا مقدار آن بسیار اندک بود. این مطالعه ارتباط مؤثر فعالیت لایزوزیم با تغییرات محیطی مثل شوری آب را کاملاً نشان داد. ارتباط معنی‌داری با اختصاصات داخلی ماهی مانند جنسیت مشاهده نشد. نتایج نشان داد که فعالیت لایزوزیم در موکوس پوست بسیار بیشتر از فعالیت آن در خون ماهی سفید است.

کلمات کلیدی: ماهی سفید، ایمنی غیر اختصاصی، لایزوزیم، سرم خون، موکوس پوست

* عهده‌دار مکاتبات (✉). javidiman@gmail.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.8.8]

مقدمه

پاسخ دستگاه ایمنی ماهی تا حدود زیادی تحت تأثیر عوامل مختلف خارجی در محیط آبی مانند دوره نوری، دما، pH، میزان اکسیژن محلول، ذرات معلق، شوری و القای استرس‌های مختلف قرار دارد (Bowden, 2008). دستگاه ایمنی در ماهیان همانند سایر مهره‌داران نقش عمده‌ای در حفاظت در مقابل عوامل بیماریزا دارد. این دستگاه شامل ایمنی غیر اختصاصی (ذاتی) و ایمنی اختصاصی می‌باشد (Zapata *et al.*, 2006) در شرایط طبیعی، ماهیان از طریق دستگاه ایمنی ذاتی در مقابل عوامل مهاجم از خود محافظت می‌کنند (Alexander and Ingram, 1992).

لایزوزیم یک آنزیم باکتری‌کش شناخته شده است که به عنوان یکی از عوامل ایمنی غیراختصاصی ضد میکروبی، به‌طور گسترده در سراسر بدن توزیع شده است. لایزوزیم در بافت‌های جانوری اغلب در مکان‌هایی شامل کلیه، پوست، دستگاه گوارش یا دستگاه‌های ترشحی دفاعی وجود دارد (Handeland *et al.*, 2000، Larsen *et al.*, 2009، Wear and Gavilance, 1984). عمل باکتری‌کشی این آنزیم در برگیرنده هیدرولیز پپتیدوگلیکان دیواره‌ی سلولی باکتری و در نتیجه تجزیه سلول می‌باشد. در ابتدا نقش دفاعی لایزوزیم تنها در برابر باکتری‌های گرم مثبت نسبت داده می‌شد، اما امروزه مشخص شده که این آنزیم تجزیه باکتری‌های گرم منفی را نیز به خوبی انجام می‌دهد. علاوه بر این، لایزوزیم به عنوان محرک تشدید دستگاه کمپلمان و سلول‌های بیگانه‌خوار شناخته شده است (Magnadottir, 2006). فعالیت لایزوزیم به صورت حمله به پپتیدوگلیکان‌های (موجود در دیواره‌ی باکتری‌ها، به ویژه باکتری‌های گرم مثبت) و هیدرولیز پیوند متصل به N- acetylmuramic به اتم چهارمین کربن از N- acetylglucosamine می‌باشد. لایزوزیم می‌تواند به عنوان یک ماده‌ی ایمنی ذاتی، برای ازبین بردن باکتری‌ها عمل کرده و یا به عنوان یک آنزیم تجزیه‌کننده عمل کند. اطلاعات زیادی از بررسی‌های آزمایشگاهی در رابطه با لایزوزیم به دست آمده است، که نشان می‌دهد عوامل متعددی بر میزان و قدرت ضد باکتریایی لایزوزیم بافت‌های مختلف ماهیان تأثیر می‌گذارند که از آن جمله می‌توان به فصل، جنس، گونه، سن، عوامل کیفی آب به ویژه دما، تغذیه و عوامل استرس‌زا اشاره کرد. در ماهی کپور بیشترین میزان لایزوزیم در مولدین وجود دارد. در بعضی از آزاد ماهیان میزان لایزوزیم در مرحله اسمولت به‌طور قابل توجهی کاهش پیدا می‌کند، در *Cyclopterus lumpus*. L. میزان لایزوزیم وابسته به فصل سال بوده و در نرها بیشتر از ماده‌ها است (Fletcher *et al.*, 1977). در آزادماهیان، لایزوزیم در سرم، ترشحات، غشاهای مخاطی و بافت‌های غنی از گلبول سفید به ویژه در کلیه و روده مشاهده شده است (Grinde *et al.*, 1988 و Lie *et al.*, 1989). به نظر می‌رسد منابع اصلی لایزوزیم، مونوسیت‌ها یا ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها هستند. با وجود این، در بعضی از مطالعات این آنزیم از سلول‌های گرانولی ائوزینوفیلیک روده نیز جداسازی شده است (Sveinbjornsson *et al.*, 1996). در راستای بررسی اثر عوامل محیطی و با مطالعه روی تغییرات غدد درون‌ریز و پارامترهای ایمنی غیر اختصاصی در قزل‌آلای قهوه‌ای که در معرض آب شور قرار داده شده بودند فعالیت فاگوسیتوز در لوکوسیت‌های راس کلیه و مقدار فعالیت لایزوزیم به مقدار قابل توجهی افزایش یافت (Marc *et al.*,

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.8.8]

1995). Dominguez و همکاران (۲۰۰۴)، اثر تغییرات فاکتورهای محیطی بر پاسخ‌های ایمنی غیراختصاصی ماهی نیل تیلاپیا را بررسی کردند و نشان دادند که افزایش شوری، باعث افزایش فعالیت لایزوزیم در پلاسمای خون این ماهی می‌شود (Dominguez *et al.*, 2004). در مطالعه دیگری Taylor و همکاران (۲۰۰۷) پاسخ ایمنی بدن ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان را پس از انتقال از آب شیرین به آب شور را بررسی کردند و نشان دادند که لایزوزیم پلاسما افزایش، ولی لایزوزیم موکوس پوست ماهی کاهش یافت (Taylor *et al.*, 2007). با توجه به اینکه ماهی سفید دریای خزر جزء خانواده کپور ماهیان بوده و گونه مهاجر بین دریا و رودخانه است و از طرفی مهاجرت تولیدمثلی فرآیندی پیچیده با تغییرات هورمونی، متابولیک و اسمزی است لذا گونه‌ی مناسبی برای مطالعه‌ی فرآیندهای ایمنی در ماهیان استخوانی و مهاجر می‌باشد. در این تحقیق دو هدف دنبال شد که شامل کسب دانش بنیادی و بررسی تاثیر تغییرات عوامل محیطی شامل شوری، بر فعالیت لایزوزیم در سرم خون و موکوس پوست ماهی سفید دریای خزر بود. همچنین بکارگیری این اطلاعات برای پرورش سایر کپورماهیان در آب شور (پرورش در قفس) و با افزایش ایمنی و کاهش بیماری‌ها نیز مورد توجه بود.

مواد و روش‌ها

برای انجام بررسی حاضر در زمستان سال ۱۳۹۰ تعداد ۲۳ عدد ماهی (۱۲ ماده و ۱۱ نر) با طول کل cm ۴۵/۲±۰/۴۳، وزن g ۳۳/۲۵ ± ۸۸۹/۹ و سن ۳/۲±۰/۰۷، با استفاده از تور پره ساحلی در بندر انزلی- استان گیلان (و با پارامترهای فیزیکی و شیمیایی pH: ۸/۹۳، شوری: ۷/۵۲ppt و دما: $^{\circ}$C ۱۰/۳۶) صید شدند. در فروردین سال ۱۳۹۱ نیز تعداد ۲۳ عدد ماهی (۱۲ ماده و ۱۱ نر) با متوسط طول کل cm ۳۹/۵±۰/۹، وزن g ۵۵۲/۶۵±۳۷/۵۸ و سن ۳±۰/۱ سال، از رودخانه خشکرود کلاچای استان گیلان (و با پارامتر های فیزیکی و شیمیایی pH: ۸/۷۰، شوری: ۰/۱۱ppt و دما: $^{\circ}$C ۱۰/۰۲۵) مورد صید قرار گرفتند.

نمونه‌های ماهی سفید صید شده با پودر گل میخک (۱۵۰mg/l) بیهوش شدند. پس از بیهوشی زیست سنجی شامل طول کل (TL) با دقت ۱ میلی‌متر به وسیله‌ی تخته‌ی بیومتری و وزن کل (TW) با دقت ۱۰ گرم و با ترازوی دیجیتال به ثبت رسید. پس از آن موکوس پوستی آن‌ها به دقت از سطح پشتی بدن با استفاده از کاردک پلاستیکی جمع‌آوری و به فالکون‌های cc ۱۵ انتقال یافت. نمونه‌برداری از قسمت شکمی بدن برای جلوگیری از اختلاط با مواد روده‌ای و آلودگی به اسپرم انجام نشد. موکوس به دست آمده برای جلوگیری از تخریب پروتئین‌ها به سرعت منجمد و در دمای (۶۳-) درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Hellio *et al.*, 2002). سپس خون‌گیری از ساقه‌ی دمی نمونه‌ها با استفاده از سرنگ ۵cc به عمل آمد. اپندرف‌ها جهت جلوگیری از لخته شدن خون و انجام آزمایش‌های هماتولوژی آغشته به هپارین بودند. پس از خون‌گیری از ماهیان تعدادی فلس نیز از قسمت زیر باله‌ی پشتی و بالای خط جانبی جهت تعیین سن برداشته شده و در پاکت‌های پلاستیکی و به دور از نور آفتاب نگهداری شدند. برای تهیه‌ی سرم خون، نمونه‌ها در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و به آزمایشگاه منتقل شدند و سپس به مدت ۵ دقیقه به کمک سانتریفوژ (Multi speed- PK131, ALC model) با دور ۵۰۰۰ در دقیقه

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.8.8]

نمونه‌های سرم از خون جدا و به وسیله‌ی میکرو سمپلر جداسازی و درون اپندورف های جداگانه ریخته شده و در دمای ۶۳- درجه سانتی گراد نگهداری شدند(Singer *et al*., 2002).

سنجش فعالیت لایزوزیم در سرم خون و موکوس پوستی

فعالیت لایزوزیم در سرم و موکوس بر مبنای لیز باکتری گرم مثبت حساس به آنزیم لایزوزیم به نام *Micrococcus lysodiekticus* اندازه‌گیری شد (Kumari and Sajoo, 2006). برای این منظور و جهت تعیین فعالیت آنزیم لایزوزیم ابتدا سلول‌های لیوفیلیزه *M. M. lysodiekticus* (Sigma, St. Louis, USA) در محلول بافر سدیم سیترات ۰/۰۲ مولار (pH: ۵/۵) به حالت سوسپانسیون در آمد (غلظت ۰/۲ گرم از سلول‌های لیوفیلیزه در ۱ میلی لیتر بافر حل شد). مقدار ۱۵µl از سرم یا موکوس رقیق شده جهت آنالیز درون حفره‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته شد. بلافاصله ۱۵۰µl از سوسپانسیون باکتری که با بافر تهیه شده بود، به آن افزوده و مخلوط گردید. جذب نوری نمونه‌ها هر ۵ دقیقه یک‌بار تا ۶۰ دقیقه به کمک الایزاریدر، در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت شد. از لایزوزیم استخراج شده از سفیده تخم مرغ (Sigma, St. Louis, USA) جهت تهیه منحنی استاندارد استفاده شد و هر واحد از فعالیت لایزوزیم بر اساس کاهش جذب (۰/۰۰۱ در دقیقه) تعیین شد.

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های کمی، داده‌ها ابتدا با استفاده از آزمون Kolmogorov- Smirnov جهت سنجش نرمال بودن داده‌ها و آزمون Leven برای همگنی واریانس‌ها بررسی شدند. برای نرمالکردن داده‌های غیر نرمال از Log_{10} برای لایزوزیم در سرم خون استفاده شد. پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها برای مقایسه‌ی میانگین لایزوزیم در سرم خون در دو محیط دریا و رودخانه و در دو جنس نر و ماده از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه (Two - Way ANOVA) استفاده شد. جهت مقایسه میانگین پارامترهای ایمنی در موکوس پوست در دو محیط دریا و رودخانه از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One - Way ANOVA) استفاده شد (Zar, 1999).

نتایج

پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب

پارامترهایی از جمله دمای آب، شوری و pH در این مطالعه سنجیده شد که با مقایسه در دو محیط دریا و رودخانه دما با (P=۰/۰۵۷) و pH با (P=۰/۷۷) اختلاف معنی‌داری نداشتند، در حالی‌که شوری با (P= ۰/۰۰) اختلاف معنی‌داری در دو محیط نشان داد. بنابراین، و با توجه به اینکه از میان عوامل محیطی مورد تحقیق تنها شوری آب در دو محیط اختلاف معنی‌دار داشت، فاکتور محیطی در این تحقیق فقط اثر شوری بر پارامتر مورد بررسی می‌باشد.

فعالیت لایزوزیم در سرم خون و موکوس پوست

آنالیزهای آماری اثر معنی‌دار عامل محیطی (شوری) بر فعالیت لایزوزیم را پس از مهاجرت ماهی از آب دریا به رودخانه را نشان دادند (P=۰/۰۰). مقایسه میزان لایزوزیم در سرم خون بیشترین مقدار فعالیت لایزوزیم را در دریا و کم‌ترین مقدار آن در رودخانه نشان داد (جدول ۱).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.8.8]

این درحالی است که فعالیت آنزیم لایزوزیم تحت تأثیر ارتباط متقابل محیط- جنسیت (P=۰/۹۶۵) و عامل جنسیت (P= ۰/۱۳۸) نبود. اما همواره مقدار فعالیت لایزوزیم در سرم خون جنس نر بیشتر از جنس ماده بود (جدول ۱).

آنالیز آماری داده‌های مربوط به فعالیت لایزوزیم در موکوس پوست ماهی جنس ماده، اختلاف معنی‌داری را در فعالیت این آنزیم در دو محیط دریا و رودخانه نشان داد (P=۰/۰۲۴) و بیشترین مقدار آن در رودخانه و کم‌ترین مقدار آن در دریا ثبت شد (جدول۲).

جدول ۱: مقایسه فعالیت لایزوزیم (U/mL/min) در سرم خون مولدین نر و ماده ماهی سفید در دو محیط دریا و رودخانه. مقادیر به صورت (Mean ± SE) (n= ۲۳)

جنس/محیط	دامنه		میانگین ± انحراف معیار
	حداکثر	حداقل	
دریا (ماده)	۸۳- ۴		۳۱/۱۷ ± ۷/۵۷
دریا (نر)	۹۰- ۶		۳۹/۰۳ ± ۷/۰۳۵
رودخانه (ماده)	۱۸- ۴		۷/۷۵ ± ۱/۳۶
رودخانه (نر)	۸۴- ۴		۱۷/۴۳ ± ۷/۲۶

جدول ۲: مقایسه میزان فعالیت لایزوزیم (U/mL/min) در موکوس پوست مولدین ماده ماهی سفید در دو محیط دریا و رودخانه. مقادیر به صورت (Mean ± SE) (n= ۱۱)

جنس/محیط	دامنه		میانگین ± انحراف معیار
	حداکثر	حداقل	
دریا (ماده)	۱۸۵- ۲۵		۱۰۱/۵۵ ± ۱۶/۵۳
رودخانه (ماده)	۱۹۷- ۱۰۹		۱۴۵/۴۵ ± ۷/۰۲

بحث

بررسی حاضر تأثیر عوامل محیطی و نیز جنسیت بر فعالیت آنزیم لایزوزیم سرم خون و موکوس پوست ماهی سفید دریای خزر را به روشنی نشان داد. تغییر شوری به عنوان فاکتور محیطی سبب تغییر در پارامتر مورد بررسی در سرم خون و موکوس پوست گردید. درحالیکه جنسیت تأثیرگذار نبود. فعالیت باکتری‌کشی در موکوس پوست ماهی و سایر بافت‌ها باعث القای مکانیسم دفاع میزبان از خود در برابر عفونت‌های باکتریایی می‌گردد. حضور لایزوزیم در موکوس پوست تأیید کننده نقش فعال آن در گونه‌های ماهی به عنوان کاهش دهنده عوامل بیماریزاست (Ellis, 1999، Nigam *et al.*, 2012 و Saurabh and Sohoo, 2008). بر اساس نتایج حاصله می‌توان گفت محیط زیست به روش‌های مختلف بر فیزیولوژی و رفتار جانداران اثر می‌گذارد. باید توجه داشت که مقایسه‌ی مستقیم بین مطالعات قبلی در این زمینه، با توجه به گونه و خصوصیات مختلف آن‌ها، شوری، درجه حرارت و اندازه‌های بدن متفاوت در هنگام آداپتاسیون دشوار است (Bonnet *et al.*, 1999، Handeland *et al.*, 2000، Handeland *et al.*, 2004، Hegab and Hanke, 1986). علاوه بر آن باید ذکر نمود که با توجه به اینکه اکثر مطالعات قبلی در محیط آزمایشگاه و انتقال نمونه‌ها از آب شیرین به شور می‌باشد، شاید برای اثبات بیشتر فرضیه، بهتر باشد این مطالعه در محیط آزمایشگاه نیز تکرار شود.

نتایج حاصل از سنجش فعالیت لایزوزیم در سرم خون ماهی سفید نشان داد که شوری بر مقدار فعالیت آن تأثیر گذار است و مقدار آن از محیط دریا به رودخانه کاهش می یابد. این در حالی است که

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.8.8]

Taylor و همکاران (۲۰۰۷) تغییرات را از آب شیرین به آب شور سنجیدند و با انتقال ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از آب شیرین به آب شور نشان دادند که فعالیت لایزوزیم در آب شور افزایش می‌یابد.

در مطالعه‌ای که روی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus* L.) توسط Dominguez و همکاران (۲۰۰۴)، انجام شد و نمونه‌ها در سه شوری مختلف (ppt ۲۴، ۱۲، ۰) قرار گرفتند، بین نمونه‌های شاهد و ماهیان مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری مشاهده شد و افزایش آن در شوری ppt ۲۴ پس از دو هفته و در هر دو تیمار پس از چهار هفته معنی‌دار بود.

Marc و همکاران (۱۹۹۵)، با مطالعه بر قزل‌آلای قهوه‌ای، پس از انتقال به آب دریا افزایش در سطح لایزوزیم را مشاهده نمودند. Yada و همکاران (۲۰۰۱)، با در معرض قرار دادن قزل‌آلای رنگین کمان در آبی با شوری ppt ۱۲ به مدت سه روز و سنجش فعالیت لایزوزیم و مقایسه آن با نمونه‌های آب شیرین نتیجه گرفتند که فعالیت لایزوزیم در نمونه‌های آب شور ۳/۵ برابر بیشتر از آب شیرین است.

در مطالعه‌ای که روی تیلاپیا توسط Iwama و همکاران (۱۹۹۷)، انجام شد، تفاوتی بین سطح لایزوزیم در محیطی که حیوان به آن سازگار است، با آب شیرین و آب دریا و یا آب دریای رقیق شده (۱/۶×) مشاهده نشد، که بر خلاف نتایج مطالعه‌ی حاضر است. بالاترین میزان لایزوزیم در کپور در مرحله‌ی تخم ریزی بود (Studnicka *et al.*, 1986) و در ماهی آزاد اطلس و قزل‌آلای قهوه‌ای، فعالیت لایزوزیم از مرحله پار به اسمولت افزایش یافت (Muona and Soivio, 1992).

مطالعات نشان داده است که تغییرات در شوری محیط در گونه‌های یوری هالین همراه با تغییر در هورمون‌های درونی است (Sakamoto and Hirano, 1993 و Sakamoto *et al.*, 1991). انتقال تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*) از آب شیرین به آب شور افزایش هورمون رشد (GH) را به دنبال داشت (Yada *et al.*, 1994 و Shepherd *et al.*, 1997). Marc و همکاران (۱۹۹۵)، دریافتند که با انتقال قزل‌آلای قهوه‌ای به آب شور، افزایش هم‌زمان در سطح GH و فعالیت لایزوزیم رخ می‌دهد، و اشاره نمودند که GH با تحریک عملکرد ماکروفاژها، ایمنی بالقوه‌ی غیر اختصاصی را افزایش می‌دهد.

بنابر تحقیقات به عمل آمده و نتایج حاصل از مطالعه حاضربه نظر می‌رسد که با تغییر در هورمون‌های درونی و کاهش هورمون GH از آب شور دریا به آب شیرین فعالیت آنزیم لایزوزیم نیز کاهش می‌یابد. علاوه بر آن Mock و Peters (۱۹۹۰) با مطالعه روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان گزارش کردند که استرس به واسطه‌ی جابه‌جایی یا به سبب آلودگی آب به طور معنی‌داری سطح لایزوزیم سرم را کاهش می‌دهد. از طرفی با توجه به اینکه ماهی مورد مطالعه جهت تخم-ریزی وارد رودخانه می‌شود، و همچنین با توجه به تحقیقات به عمل آمده مبنی بر افزایش مقدار لایزوزیم در زمان تخم‌ریزی، به نظر می‌رسد که عامل محیط (شامل تغییر شوری و استرس) بر عوامل درونی ماهی غلبه کرده و باعث کاهش مقدار لایزوزیم می‌شود.

عامل جنسیت بر پارامتر لایزوزیم مؤثر نبود و اختلاف معنی‌دار بین دو گروه مشاهده نشد، اما مقدار آن همواره در جنس نر بیشتر از جنس ماده بود. طی مطالعه‌ای که توسط Fletcher و همکاران (۱۹۷۷) انجام

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.8.8]

شد، مقدار لایزوزیم سرم در ماهی دریایی اقیانوس اطلس (*Cyclopterus lumpus*) در فصول مختلف متفاوت بود و در جنس نر همواره بیشتر از جنس ماده بود که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت؛ و می‌توان آن را به عوامل درونی ماهی نسبت داد (Etim *et al.*, 1999; Burton and Murray, 1979).

در مطالعه‌ی حاضر تفاوت معنی‌داری در سطح لایزوزیم موکوس پوست ماهی سفید دریای خزر (*R. frisii*) در دو محیط دریا و رودخانه مشاهده شد، و سطح لایزوزیم در محیط رودخانه نسبت به دریا بیشتر بود.

Subramanian و همکاران (۲۰۰۷)، سطوح بالاتر لایزوزیم در مخاط پوست گونه‌های ماهیان آب دریا نسبت به گونه‌های آب شیرین را نشان دادند، که البته باید توجه داشت در این مطالعه بر خلاف مطالعه حاضر از یک گونه برای تحقیق استفاده نشده است و صرفا مقایسه گونه‌های دریایی و آب شیرین است. در گزارشی از سه گونه‌ی ماهی آزاد شامل: قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhyncus mykiss*)، Coho (*Oncorhynchus kisutch*)و ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) و مقایسه‌ی داده‌های سطوح لایزوزیم در موکوس پوست در آب شیرین و شور (۳۰ ±۲ ppt) نشان داده شد که سطح لایزوزیم موکوس در نمونه‌های آب شور در مقایسه با آب شیرین و در هر سه گونه پایین‌تر است (Fast *et al.*, 2002). همچنین در مطالعه‌ای که توسط Taylor و همکاران (۲۰۰۷) روی قزل‌آلا صورت گرفت، نشان داده شد که با انتقال به آب دریا فعالیت لایزوزیم کاهش می یابد، که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت. Nigam و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که تفاوت در سطح لایزوزیم موکوس پوست می‌تواند با تنوع گونه‌ای و زیستگاه ماهی مرتبط باشد. همچنین بیان شد که تفاوت در فعالیت لایزوزیم در موکوس پوست به عوامل مختلفی از جمله استرس، دستکاری، جنسیت، مرحله رسیدگی جنسی، رژیم غذایی، تنوع گونه‌ای و ژنتیک مرتبط است (Balfry, Iwama, 2004)، اما دلایل فیزیولوژیک این تغییر همچنان ناشناخته بوده و نیاز به تحقیقات بیشتر دارد.

با توجه به مطالعات قبلی و مطالعه حاضر به نظر می‌رسد که فعالیت لایزوزیم موکوس با لایزوزیم اندازه‌گیری شده در سرم خون رابطه عکس داشته و در صورت پایین‌آمدن مقدار آن، با فعالیت بیشتر، بدن را از ورود عفونت‌ها حفظ می‌کند. همچنین نشان داده شد که مقادیر عددی فعالیت لایزوزیم در موکوس پوست چندین برابر سرم خون است.

افزایش آگاهی از عوامل ایمنی ذاتی بدن ماهی و محیط پیرامون آن می‌تواند درک صحیحی از ارتباط عوامل ایمنی با تغییرات محیطی ناشی از جابه‌جایی و یا ورود آلاینده‌ها به ما نشان دهد، که علاوه بر اطلاع از محیط طبیعی و توان ایمنی بدن جاندار، می‌توان جهت مدیریت صحیح منابع آبزی‌پروری در قفس و مزارع پرورشی استفاده نمود. همچنین با توجه به اینکه آنزیم لایزوزیم یک آنزیم باکتری‌کش است، می‌توان با استحصال آن از موکوس پوست که فعالیت بالاتری نسبت به سرم خون دارد، از آن به عنوان یک ماده ضد عفونی کننده استفاده نمود.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات کلیه کسانی که مارا در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.8.8]

منابع

1. Alexander, J.B., Ingram, G.A., 1992. Noncellular nonspecific defense mechanisms of fish. Annual Review of Fish Diseases, 2, 249-279.
2. Balfry, S.K., Iwama, G.K., 2004. Observation on the inherent variability of measuring lysozyme activity in Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Comparative Biochemistry and Physiology part B Biochemistry, 138, 207-211.
3. Bonnet, S., Haffray, P., Blanc, J.M., Vallee, F., Vauchez, C., Faure, A., Fauconneau, B., 1999. Genetic variation in growth parameters until commercial size in diploid and triploid freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and seawater brown trout (*Salmo trutta*). Aquaculture, 173, 359–375.
4. Bowden, T.J., 2008. Modulation of the immune system of fish by their environment. Fish & Shellfish Immunology, 25, 373-383.
5. Burton, C.B., Murray, S.A., 1979. Effect of density on gold fish blood- 1 Haemotology, Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, 62, 555- 558.
6. Dominguez, M., Takemura, A., Tsuchiya, M., Nakamura, S., 2004. Impact of different environmental factors on the circulating immunoglobulin levels in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 241, 491-500.
7. Ellis, A.E., 1999. Immunity to bacteria in fish. Fish Shellfish Immunology, 9, 291–308.
8. Etim, L., Ekanem, S.B., Utim, A., 1999. Haemotological profiles of two species of catfish, *Chrysicthys nigrodigitatus* and *Chrysicthys furcatus* from the Great Kwa River, Nig. Global Journal of Pure and Applied Sciences, 5, 1-8.
9. Fast, M.D., Sims, D.E., Burka, J.F., Mustafa, A., Ross, N.W., 2002. Skin morphology and humoral non-specific defense parameters of mucus and plasma in rainbow trout, Coho and Atlantic salmon. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular and Integrative Physiology, 132, 645-657.
10. Fletcher, T.C., White, A., Baldo, B.A., 1977. C-reactive protein-like precipitin and lysozyme in the lumpsucker *Cyclopterus lumpus*. L. during the breeding season. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Comparative Biochemistry, 57, 353-357.
11. Gavilance, J.G., 1984. Comparative study on the secondary structure of lysozyme from different sources. Comparative Biochemistry and Physiology, 77, 83-85.
12. Grinde, B., Lie, O., Poppe, T., Salte, R., 1988. Species and individual variation in lysozyme activity in fish of interest in aquaculture. Aquaculture, 68, 299–304.
13. Handeland, S.O., Berge, A., Bjornsson, B.Th., Lie, O., Stefansson, S.O., 2000. Seawater adaptation by out-of-season Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts at different temperatures. Aquaculture, 181, 377–396.
14. Handeland, S.O., Wilkinson, E., Sveinsbo, B., McCormick, S.D., Stefansson, S.O., 2004. Temperature influence on the development and loss of seawater tolerance in two fast-growing strains of Atlantic salmon. Aquaculture, 233: 513–529.
15. Hegab, S.A., Hanke, W., 1986. Electrolyte changes, cell volume regulation and hormonal influences during acclimation of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to salt water. Comparative Biochemistry and Physiology, 83, 47–52.
16. 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.
17. Iwama, G.K., Takemura, A., Takano, K., 1997. Oxygen consumption rates of tilapia in freshwater, seawater, and hypersaline seawater. Journal of Fish Biology, 51, 886- 894.
18. Kumari, J., Sajoo, P.K., 2006. Effect of cyclophosphamide on the immune system and disease resistance of Asian catfish. Fish Shellfish Immunology, 19, 307–316.
19. Larsen, A.N., Solstad, T., Svineng, G., Seppola, M., Jorgensen, T., 2009. Molecular characterization of a goose- type lysozyme gene in Atlantic cod. Fish & Shelfish Immunology, 26, 122- 32.
20. Lie, O., Evensen, O., Sorensen, A., Froysadal, E., 1989. Study on lysozyme activity in some fish species. Disease of Aquatic Organism, 6, 1–5.
21. Magnadottir, B., 2006. Innate immunity of fish (overview). Fish and Shellfish Immunology, 20, 137–151.
22. Marc, A.M., Quentel, C., Severe, A., Lebail, P.Y., Boeuf, G., 1995. Changes in some endocrinologic and nonspecific immunological parameters during seawater exposure in the brown trout. Journal of Fish Biology, 46, 1065-1081.
23. Möck, A., Peters, G., 1990. Lysozyme activity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), stressed by handling, transport, and water pollution. Journal of Fish Biology, 37, 873-885.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.8.8]

24. Muona, M., Soivio, A., 1992. Changes in plasma lysozyme and blood leucocyte levels of hatchery-reared Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) and sea trout (*Salmo trutta L.*) during parr-smolt transformation. Aquaculture, 106: 75-87.
25. Nigam, A.K., Kumari, U., Mittal, S., Mittal, A.K., 2012. Comparative analysis of innate immune parameters of the skin mucous secretions from certain freshwater teleosts, inhabiting different ecological niches. Fish Physiology and Biochemistry, 38, 1245-1256.
26. Sakamoto, T., Hirano, T., 1991. Growth hormone receptors in the liver and osmoregulatory organs of rainbow trout: characterization and dynamics during adaptation to seawater. Journal of Endocrinology, 130, 425- 433.
27. Sakamoto, T., McCormick, S.D., Hirano, T., 1993. Osmoregulatory actions of growth hormone and its mode of action in salmonids: a review. Fish Physiology and Biochemistry, 11: 155-164.
28. Saurabh, S., Sohoo, P.K., 2008. Lysozyme: an important defense molecule of fish innate immune system. Aquaculture Research, 39: 223-239.
29. Shepherd, B.S., Ron, B., Burch, A., Sparks, A., Richman, N.H., Shimoda, S.K., Stetson, M.H., Lim, C., Grau, E.G., 1997. Effects of salinity, dietary level of protein and 17α methyltestosterone on growth hormone (GH) and prolactin (tprl 177 and tprl188) levels in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Fish Physiology and Biochemistry, 17, 279-288.
30. Singer, T.D., Clements, K.M., Semple, J.W., Schulte, P.M., Bystrainnsky, J.S., Finstad, B., Fleming, I.A., Mckinley, R.S., 2002. Sea water tolerance and gene expression in two strains of Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts. Canadian Journal of fisheries and Aquatic Sciences, 59, 125- 135.
31. Studnicka, M., Siwicki, A., Ryka, B., 1986. Lysozyme level in carp (Cyprinus carpio L.). Bamidgeh, 38, 22-25.
32. 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, 148, 256-263.
33. Sveinbjornsson, B., Olsen, R., Paulsen, S., 1996. Immunocytochemical localization of lysozyme in intestinal eosinophilic granule cells (EGCs) of Atlantic salmon, *Salmo salar* Journal of Fish Disease, 19, 349–355.
34. Taylor, J.F., Needham, M.P., North, B.P., Morgan, A., Thompson, K., Migaud, H., 2007. The influence of ploidy on saltwater adaptation, acute stress response and immune function following seawater transfer in non-smolting rainbow trout. General and Comparative Endocrinology, 152, 314-325.
35. Wear, L.H., Gerutter, M.G., 1984. Comparison of goose -type, chicken -type and phage type lysozyme illustrates the changes that accure in both amino acid sequence and three dimensional structure during evolution. Journal of Molecular Evolution, 21, 97- 111.
36. Yada, T., Hirano, T., Grau, E.G., 1994. Changes in plasma levels of the two prolactins and growth hormone during adaptation to different salinities in the euryhaline tilapia, *Oreochromis mossambicus*. General and Comparative Endocrinology, 93, 214-223.
37. Yada, T., Azuma, T., Takagi, Y., 2001. Stimulation of non-specific immune functions in seawater-acclimated rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* with reference to the role of growth hormone. Comparative Biochemistry and Physiology, part B: Biochemistry & Molecular Biology, 129, 695-701.
38. Zapata, A., Diaz, B., Cejalvo, T., Gutierrez-De Frias, C.and Cortes, A., 2006. Ontogeny of the immune system of fish. Fish and Shellfish Immunology, 20, 126–136.
39. Zar, J.H., 1999. Blostatistical Analysis. Prentic Hall. (4 Edition) New Jersey. 663.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.8.8]