Archive of SID

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۲، شماره ۱، بهار ۱۳۹۸
صفحات ۱-۱۱

تاثیر عصاره برگ درخت زیتون بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*)

احسان احمدی فر[1*]، حسین آدینه[2]، زینب حنایی کاشانی[3]، طیبه عنایت غلامپور[4]، ابراهیم مسعودی[5]

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل
۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی ، دانشگاه گنبد
۳- گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۴- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران.
۵- مرکز آموزش فنی و حرفه‌ای، گرگان، گلستان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۱۱

چکیده

مطالعه حاضر به منظور تعیین تاثیر عصاره برگ درخت زیتون بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی آمور انجام شد. به این منظور، ۳ جیره غذایی حاوی عصاره سطوح مختلف از عصاره برگ درخت زیتون با غلظت‌های (۱، ۲ و۳ درصد) که به ترتیب به صورت (T_2، T_3 و T_4) و جیره شاهد (بدون عصاره (T_1)) برای تعیین نیازمندی‌های ماهی آمور به عصاره برگ درخت زیتون مورد استفاده قرار گرفت و ماهیان به مدت ۸ هفته با جیره‌های مذکور تغذیه شدند. بر طبق نتایج، درصد رشد روزانه، نرخ رشد ویژه، ضریب چاقی، وزن نهایی، طول نهایی، افزایش وزن و کارایی تبدیل غذا در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی حاوی عصاره برگ درخت زیتون نسبت به تیمار شاهد، معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). همچنین بیشترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد مشاهده شد. بر طبق نتایج تحقیق حاضر، کمترین میزان سوپراکساید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در ماهیان تغذیه شده با جیره شاهد مشاهده شد($p<۰/۰۵$). ماهیان تغذیه شده با جیره T_3 دارای بیشترین میزان مالون دی‌آلدهید و کمترین میزان کاتالاز بودند ($p<۰/۰۵$). نتایج بدست آمده پیشنهاد می‌کند استفاده از سطوح مختلف عصاره برگ درخت زیتون در جیره ماهیان آمور مناسب است و بر تمامی این فاکتورها اثری معنی‌دار دارد و زمانی که از این مواد در جیره ماهیان استفاده شد، تیمارها وضعیت بهتری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند.

واژگان کلیدی: واژگان کلیدی: عصاره برگ درخت زیتون، اکسیداسیون، شاخص‌های رشد، ماهی آمور.

* نویسنده مسئول: احسان حسینی فر
Email: ehsan.ahmadifar@uoz.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

۱. مقدمه

امروزه امکان جایگزینی مواد افزودنی جدید طبیعی به جای مواد محرک رشد، آنتی بیوتیک‌ها و هورمون‌ها در رژیم غذایی حیوانات مورد بررسی قرار گرفته است. از جمله این مواد طبیعی، گیاهان هستند. عصاره‌های گیاهی حاوی مواد حیاتی (بیواکتیو) نظیر آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، پیگمانت‌ها، فنولیک‌ها، ترپنوئیدها، استروئیدها و چربی‌های ضروری‌اند و گزارش شده که فعالیت‌های مختلفی نظیر ضد استرس، بهبود و افزایش رشد، تحریک اشتها، تحریک سیستم ایمنی و ویژگی‌های ضد میکروبی و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در پرورش ماهیان را بر عهده دارند. از جمله مزایای استفاده از گیاهان دارویی می‌توان به ساده بودن کاربرد و نداشتن اثرات جانبی سوء بر عملکرد حیوانات و نیز باقی نماندن بقایای مضر در فراورده‌های تولیدی اشاره نمود. اخیرا گیاهان داروئی و روغن‌های ضروری یا عصاره‌های مربوط به آن‌ها به عنوان محرک‌های رشد مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Pourmozaffar *et al.*, 2017).

تکثیر و پرورش کپور ماهیان به‌ویژه ماهی آمور در استخرهای پرورشی، دریاچه‌ها، کانال‌های آبیاری و آبگیرهای طبیعی منبعی مهم در تامین غذای انسان و پروتئین ضروری در کشورهای در حال توسعه محسوب می‌شود. ماهی آمور علاوه بر اینکه منبع مناسبی برای تولید گوشت سفید محسوب می‌شود، عامل مهمی در کنترل بیولوژیکی برخی از گیاهان آبزی به شمار می‌رود.

به دلیل محدودیت‌های قانونی در استفاده از مواد دارویی شیمیایی مثل آنتی بیوتیک‌ها در غذای آبزیان مورد مصرف انسان، استفاده از عصاره‌های گیاهی طبیعی به منظور افزایش سرعت رشد و بهبود کارایی غذا در آبزیان گسترش زیادی پیدا کرده است (Francis *et al.*, 2001). امروزه در صنایع غذایی از آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی برای به تاخیر انداختن اکسیداسیون چربی‌ها استفاده می‌شود، اما با توجه به مضراتی همچون سرطان زایی نگهدارنده‌های شیمیایی (Hoseinipoor *et al.*, 2013) و همچنین افزایش آگاهی مردم، امروزه تصور منفی از این مواد غذایی در مصرف کنندگان ایجاد شده است و تمایل به استفاده از این مواد طبیعی برای افزایش ماندگاری مواد غذایی افزایش یافته است (Tchakam *et al.*, 2012). استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند پلی فنول‌ها، ویتامین‌های با خاصیت آنتی‌اکسیدانی شامل اسید اسکوربیک، توکوفرول، ویتامین A و بتاکاروتن که آثار محافظتی در برابر بیماری‌ها و جهش زایی دارند، توصیه می‌شود (Hoseinipoor *et al.*,2013). یکی از مهمترین گیاهانی که دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد قارچی قابل توجهی است، برگ درخت زیتون است. گیاه زیتون خواص بسیار زیادی دارد و در طب سنتی این گیاه به عنوان داروی ضد فشار خون، ضد گرفتگی عروق، ملین، تب بر، نیرو بخش، مؤثر در درمان عفونت‌های مجاری ادراری و برطرف کننده سر درد کاربرد دارد (Zargari, 2002). گیاه زیتون (*Olea eurcpaea L.*) از خانواده Oleaceae است. برگ درخت زیتون ضخیم، باریک، دائمی و همیشه سبز است. زیتون، گیاه بومی استان گیلان محسوب می‌شود و در رودبار قدمت 900 ساله دارد، استان گیلان در زمینه کشت زیتون جزو استان‌های برتر کشور است (Eslahe orbani, 2005) برگ زیتون حاوی ترکیبات فنلی، ترپنی، ترکیبات محلول در چربی، کربوهیدرات‌ها، پروتئین، مواد معدنی است. برگ‌های زیتون بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت جذب رادیکال‌های آزاد را در بین بخش‌های مختلف درخت زیتون دارا ست. نشان داده شده است که گیاه زیتون منجر به افزایش شاخص‌های رشد و بازماندگی و افزایش آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های لیزوزیم و ایمونوگلوبولین M (IgM) می‌شود (Elsaaed *et al.*, 2014; Parsaei *et al.*, 2014; Kisa *el al.*, 2018). برگ درخت زیتون شامل ترکیبات سکوریدوید و همچنین ترکیبات فلاونوئید شامل اسید کافئیک، تیروزول و هیدروکسی تیروزول است. همچنین از سوی دیگر مشخص گردیده است که عصاره برگ زیتون همانند سایر بخشهای زیتون حاوی ترکیبات پلی‌فنولی

www.SID.ir

Archive of SID

است که فعالیت آنتیاکسیدانی بسیار قوی از خود نشان می‌دهد (Hayes *et al.*, 2010). امروزه با توجه به توسعه روزافزون صنعت آبزی پروری در جهان، استفاده از مواد محرک ایمنی به خصوص مواد محرک گیاهی در آبزیان به منظور تقویت سیستم ایمنی و پیشگیری از ابتلا به انواع مختلف بیماری‌ها، گسترش پیدا کرده است، به طور مثال در ماهی قزل‌آلا (Yin *et al.*, 2008)، تیلاپیا (Logambal *et al.*, 2000)، ماهی طلایی (Chen *et al.*, 2003) و ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*) (Mahdavi *et al.*, 2013) این موضوع مورد تایید قرار گرفته است. Hoseinipoor و همکاران (۲۰۱۳) اثرات عصاره برگ زیتون و آنتی‌اکسیدان بوتیل هیدوکسی تولوئن (BHT) را بر شاخص‌های شیمیایی و خواص حسی فیله ماهی قزل آلا در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار دادند و نتایج نشان داد که در پایان روز ۱۵ آزمایش عصاره برگ زیتون در سطح ۱ درصد توانست شاخص‌های شیمیایی را نسبت به BHT در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کنترل کند و کارایی بیشتری را در افزایش زمان ماندگاری فیله‌های ماهی قزل آلا نشان داد. با توجه به اهمیت بسیار زیاد برگ درخت زیتون و خواص فراوان آن، در تحقیق حاضر اثرات غلظت‌های مختلف عصاره برگ درخت زیتون بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی آمور بررسی شد.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تهیه ماهی آمور و پرورش آنها در شرایط آزمایشی

به منظور انجام تحقیق حاضر، تعداد ۱۵۰۰ قطعه ماهی کپور علفخوار از کارگاه شهید چمران شهرستان گنبد کاووس تهیه و به بخش آبزی‌پروری فنی و حرفه‌ای شهرستان گرگان انتقال یافت. ماهیان پس از ۱۴ روز آداپتاسیون با شرایط آزمایشگاهی با میانگین وزنی ۰/۰۳± ۰/۷۵گرم و میانگین طولی ۰/۰۹±۴/۳۹ سانتی‌متر به مدت ۸ هفته پرورش داده شدند. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب محیط پرورش مانند دمای آب، پی-اچ، سختی کل و اکسیژن محلول اندازه‌گیری و بترتیب مقادیر ۱/۳۷±۲۶ درجه سانتی‌گراد، ۰/۱۸±۷/۲، ۶/۱۵±۱۹۹ میلی‌گرم در لیتر و ۰/۰۹±۵/۱ میلی‌گرم در لیتر اندازه گیری شد. ۱۲۰۰ قطعه ماهی در قالب طرح کاملاً تصادفی بین ۴ تیمار آزمایشی و هر یک با ۳ تکرار جایابی شدند. آکواریوم‌های مورد استفاده در تحقیق حاضر، با حجم ۴۰ لیتری (حجم آبگیری ۲۵ لیتر) و تراکم ذخیره‌سازی ۱۰۰ قطعه لارو ماهی بود. جهت تعویض آب از آب شهری کلرزدایی شده استفاده گردید و روزانه ۱۰ درصد حجم کل آب آکواریوم‌ها تعویض گردید.

۲.۲. تهیه جیره آزمایشی حاوی سطوح مختلف عصاره برگ درخت زیتون

جهت ساخت جیره‌های غذایی، ابتدا مواد اولیه مورد نیاز (جدول ۱) تهیه و سپس پودر هر یک از مواد تشکیل‌دهنده بصورت جدا از الک عبور داده و با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم، وزن‌گیری شدند و در نهایت در میکسر با یکدیگر مخلوط شدند. ترکیبات ویتامینه، مواد معدنی و دیگر افزودنی‌ها با یکدیگر مخلوط و سپس به اجزاء اصلی با روغن باند شدند. مخلوط شدن این مواد در دستگاه میکسر ۳۰ دقیقه بطول انجامید و سپس آب به آن اضافه شد. خمیر بدست آمده به مدت ۱۵ دقیقه توسط مخلوط‌کن میکس شد تا سطح آن یکنواخت و همگن شود. برگ درخت زیتون از معتبرترین عطاری در شهر گنبد کاووس تهیه شد و جهت شناسایی به هرباریوم دانشگاه گرگان انتقال یافت. سپس برگ‌ها در سایه خشک و با آسیاب مکانیکی به قطر ۰/۵ میلی‌متر آسیاب گردید. جهت حفظ ترکیبات موثر تا زمان استفاده در ظرف تیره دربدار با دمای ۴- درجه‌سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شد. سطوح استفاده از عصاره برگ زیتون در جیره اولیه بطور مجزا اضافه شد که شامل: تیمار T_1 (شاهد بدون عصاره برگ زیتون)، تیمار T_2 (۱ درصد عصاره برگ

www.SID.ir

Archive of SID

زیتون)، تیمار T_3 (۲درصد عصاره برگ زیتون) و تیمار T_4 (۳ درصد عصاره برگ زیتون) بود. غذا با قطر ۱ میلی‌متر هر ۲۰ روز یکبار ساخته و در طول دوره آزمایش در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد یخچال نگهداری شد. تغذیه لارو ماهی کپور علفخوار بر حسب دمای آب به میزان ۱۰ درصد وزن بدن و بر اساس مقدار اشتهای ماهی در سه نوبت (ساعت ۷ صبح، ۱۳ ظهر، ۱۹ شب) انجام شد.

۳.۲. زیست‌سنجی برای بررسی عملکرد رشد و تغذیه

در ابتدا و انتهای دوره آزمایش وزن ماهیان با استفاده از ترازوی دیجیتال دقت ۰/۰۰۱ گرم و طول با خط‌کش مدرج زبانه‌دار (کولیس) اندازه گیری شد. به منظور انجام تجزیه و تحلیل اماری، در پایان ۸ هفته دوره آزمایش اطلاعات به‌دست آمده از وزن و طول ماهیان در هر آکواریوم و همچنین مقدار غذای مصرفی هر تکرار در محیط اکسل وارد و سپس شاخص‌های رشد، تغذیه و درصد بازماندگی با استفاده از روابط ذیل محاسبه گردید (Handeland *et al.*, 2003):

درصد افزایش وزن بدن $$BWI = \left[\frac{wt - wi}{wi}\right] \times 100$$

شاخص رشد ویژه $$SGR = \left[\frac{LnWt - LnWi}{T}\right] \times 100$$

میانگین رشد روزانه $$ADG = \left[\frac{Wt - Wi}{Wi \times T}\right] \times 100$$

ضریب تبدیل غذایی $$FCR = \frac{Feedfed}{Wt - Wi}$$

ضریب چاقی $$CF = \frac{W}{L^3} \times 100$$

درصد بازماندگی $$SR = \frac{N_t}{N_0} \times 100$$

در روابط ذکر شده W وزن ماهی، Wi وزن نهایی ماهی، L طول بدن، T طول مدت پرورش، WT وزن بدن، Nt تعداد ماهیان در پایان دوره و N0 تعداد ماهیان در ابتدای دوره می‌باشد.

۴.۲. سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

به منظور اندازه گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهیان در پایان دوره آزمایش از ماهیان نمونه برداری شد. به این منظور ماهیان به مدت ۲۴ ساعت گرسنه نگه‌داشته شدند تا دستگاه گوارشی آنها خالی باشد. از هر تکرار تعداد ۲۰ قطعه ماهی به صورت کاملاً تصادفی صید گردید. بدلیل کوچک بودن لارو ماهیان از روش همگن کردن بدن استفاده گردید، بدین طریق که کل بدن لارو از هر تکرار وزن‌گیری سپس بامحلول نمکی فسفات با خاصیت بافری PBS[1] (۱۰۰میلی‌مول با پی‌اچ ۷/۴) هموژن و در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس به نسبت حدود ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت با ۱ میلی‌لیتر از بافر PBS هموژن و سپس توسط دستگاه Z32 HK ساخت کشور آلمان با دور ۶۰۰۰ به‌مدت حدود ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در پایان محلول رویی به‌عنوان عصاره بدن لارو ماهی توسط سرنگ از دیگر بخش جداسازی شد (Cai *et al.*, 2016).

با استفاده از روش Paglia و Valentine (۱۹۶۷) فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) اندازه گیری شد که در آن با اضافه شدن ۱۰۰ میکرولیتر از پراکسید هیدروژن شروع شد. تبدیل NADPH به حالت +NADP در طول موج ۳۴۰ نانومتر به‌مدت سه دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد. همچنین آنزیم بر اساس نانومولاز NADPH اکسید شده در یک دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

اندازه گیری مالون دی آلدهاید (MDA) بطور خلاصه به این طریق اندازه گیری شد: ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره بافتی تهیه شده با ۲۰ درصد تری کلرواستیک اسید (TCA[2]) و ۰/۶۷درصد تیوباربیتوریک (TBA) و اسید هیدروکلریک با بوجود آوردن محیط اسیدی مخلوط شدند و با آب مقطر رقیق گردیدند. سپس نمونه در دمای ۹۵ درجه‌سانتیگراد بن‌ماری به‌مدت ۸۰ دقیقه نگهداری شد و جهت سرد شدن در دمای آزمایشگاه قرار گرفتند.

1- Phosphate buffered saline
2- Trichloroacetic Acid Solution

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- اجزای تشکیل‌دهنده و آنالیز تقریبی جیره آزمایشی

ترکیبات غذایی	میزان (درصد)
پودر ماهی	۳۱/۵۰
آرد سویا	۱۸
روغن ماهی	۳/۲۵
روغن ذرت	۳/۲۵
آرد گندم	۱۶
سبوس گندم	۱۶
ملاس	۲/۵
لسیتین	۳
متیونین	۰/۵
لایزین	۰/۵
دی‌کلسیم فسفات	۰/۱
مکمل ویتامینی[۱]	۲
مکمل معدنی[۲]	۱/۵
ضد قارچ	۰/۲
پروتئین	۳۵/۲۰
چربی	۱۲/۹۶
خاکستر	۱۰/۱۷
رطوبت	۹/۳۰

[۱]مکمل ویتامینه شرکت لابراتورهای سیانس، هر۱۰۰۰ گرم مکمل ویتامینه حاوی: ۱۶۰۰۰۰۰ IU، ۴۰۰۰۰۰ IU (D_3)، ۴۰۰۰۰ mg (E)، ۲۰۰۰ mg (K3)، ۶۰۰۰ mg (B1)، ۸۰۰۰ mg (B2)، ۱۲۰۰۰ mg (B3)، ۴۰۰۰۰ mg (B5)، ۴۰۰۰ mg (B6)،۲۰۰۰ mg (B9)، ۸ mg (B12)، ۲۴۰ mg (H2)، ۶۰۰۰۰ mg (C)، ۲۰۰۰۰ mg (Inositol)، ۲۰۰ mg (BHT) است.

[۲]مکمل معدنی شرکت لابراتورهای سیانس، هر۱۰۰۰ گرم مکمل ویتامینه حاوی: ۶۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۲۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۶۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۵۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۶۰۰ میلی‌گرم ید و ۶۰۰۰ میلی‌گرم کولین‌کلراید.

نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و سپس محلول رویی صورتی رنگ به آرامی جدا و در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتری قرائت شد. در نهایت میزان غلظت MDA بر حسب نانومول در میلی گرم پروتئین بیان گردید (Cai *et al.*, 2016). این واکنش بر اساس میزان مهار تیوباربیتوریک اسید توسط MDA انجام می‌شود بطوریکه هر چقدر سطح این آنزیم افزایش یابد میزان مهار تیوباربیتوریک اسید بیشتر شده و در نتیجه رنگ کمتری در محلول تولید شده و جذب نوری را کاهش می‌دهد.

با استفاده از روش ارائه شده توسط Góth (۱۹۹۱) و همچنین Özmen و همکاران (۲۰۰۲) که بر اساس بافر فسفات است، آنزیم کاتالاز (CAT)، اندازه‌گیری شد. بر اساس این روش بافر فسفات با سرم مخلوط و به مدت یک دقیقه در دمای ۳۷ ℃ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. از محلول آمونیوم مولیبدات ($(NH_4)_6MO_7O_{24}$) جهت توقف فرایند اکسیداسیون جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد. سپس فعالیت آنزیم با کاهش جذب نوری محلول در طول موج ۲۴۰ نانومتر مشخص شد.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) بر اساس روش McCord and Fridovich (۱۹۶۹) انجام شد. در این روش از واکنش مخلوط ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات پتاسیم (پی‌اچ ۷/۸)، ۰/۱ میلی‌مول EDTA، ۰/۱ میلی‌مول گزانتین، ۰/۰۱۳ میلی‌مول سیتوکروم c و

www.SID.ir

Archive of SID

اکسیداز گزانتین (۰/۰۲۴ واحد در میلی‌لیتر) استفاده شد. این اکسیداسیون پس از ۴۰ دقیقه در دمای ℃ ۳۷ درجه در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتری قرائت شد. برای سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی فوق‌الذکر از دستگاه میکروپلیت ریدر مدل Elx800 ساخت شرکت Biotek استفاده شد.

۵.۲. تجزیه و تحلیل داده‌ها

در تحقیق حاضر، نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های رشد و فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از نظر نرمال بودن توسط نرم افزار SPSS با تست کولموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) مورد سنجش قرار گرفت. همچنین نتایج بدست آمده با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون مقایسه میانگین تیمارها به وسیله آزمون توکی (Tukey) صورت گرفت. کلیه آنالیزهای آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. کلیه آنالیزها با استفاده از نرم‌افزار SPSSنسخه ۱۶ و رسم نمودارها در نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۰ انجام گردید.

۳. نتایج

۱.۳. شاخص‌های رشد

پس از تغذیه ماهیان با جیره‌های آزمایشی مورد نظر، شاخص‌های رشد و شاخص‌های تغذیه‌ای آن‌ها ارزیابی شد. شاخص‌های رشد ماهیان آمور تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره برگ زیتون در جدول ۲ بیان شده است.

جدول ۲- میانگین (انحراف معیار±میانگین) شاخص‌های رشد ماهی در بین تیمارها در پایان آزمایش.

شاخص‌های رشد و غذا	T_1 (شاهد)	T_2 (یک درصد)	T_3 (دو درصد)	T_4 (۳ درصد)
وزن نهایی (گرم)	۱/۳۱ ±۰/۱۴^{b}	۲/۰۳ ±۰/۲۹^{a}	۱/۹۶ ±۰/۳۳^{a}	۱/۹۹ ±۰/۱۴^{a}
طول نهایی (سانتی‌متر)	۵/۰۸ ±۰/۱۹^{b}	۵/۶۵ ±۰/۳۷^{a}	۵/۶۴ ±۰/۴۲^{a}	۵/۸۸ ±۰/۱۹^{a}
افزایش وزن (گرم)	۰/۶۱ ±۰/۱۲^{b}	۱/۴۳ ±۰/۲۴^{a}	۱/۲۶ ±۰/۲۹^{a}	۱/۲۸ ±۰/۱۷^{a}
درصد رشد روزانه	۱/۴۷ ±۰/۳۶^{c}	۳/۹۸ ±۰/۸۰^{a}	۲/۹۹ ±۰/۷۹^{b}	۳/۰۲ ±۰/۳۳^{b}
نرخ رشد ویژه (درصد/روز)	۱/۰۴ ±۰/۱۹^{c}	۲/۰۱ ±۰/۲۴^{a}	۱/۶۹ ±۰/۲۶^{b}	۱/۷۲ ±۰/۱۲^{b}
ضریب چاقی	۰/۹۹ ±۰/۱۰^{b}	۱/۱۳ ±۰/۲۱^{a}	۱/۰۸ ±۰/۱۴^{ab}	۰/۹۸ ±۰/۰۹^{b}
ضریب تبدیل غذایی	۲/۸۴ ±۰/۵۵^{a}	۱/۳۷ ±۰/۲۹^{b}	۱/۵۹ ±۰/۳۷^{b}	۱/۴۹ ±۰/۱۸^{b}
کارایی تبدیل غذا	۳۶/۱۳ ±۵/۵۵^{b}	۷۵/۴۲ ±۲/۲۸^{a}	۶۶/۷۸ ±۲/۴۵^{a}	۶۷/۷۸ ±۷/۴۳^{a}

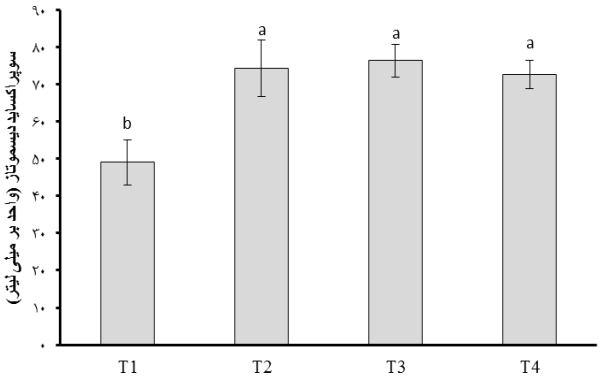
درصد رشد روزانه، نرخ رشد ویژه، ضریب چاقی، وزن نهایی، طول نهایی، افزایش وزن و کارایی تبدیل غذا در ماهیان آزمایشی معنی‌دار بود. بطوری که کمترین میزان این شاخص‌ها در تیمار شاهد مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). همچنین بیشترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد مشاهده شد. سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($p>۰/۰۵$).

۲.۳. شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی

بر اساس نتایج نمودار شکل ۱، شاخص اکسیداسیون در میان تیمارهای آزمایشی معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). بطوری که تیمار شاهد کمترین میزان سوپر اکساید دیسموتاز را داشت و تفاوت معنی‌داری در بین سایر تیمارها مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

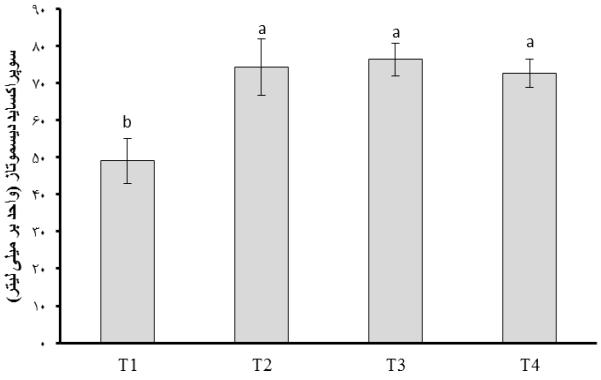
www.SID.ir

Archive of SID



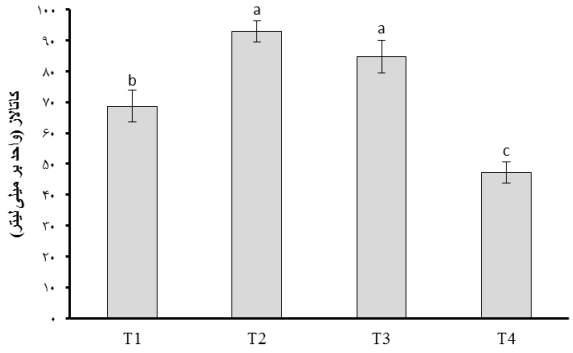
شکل ۱- نمودار میزان (انحراف معیار± میانگین) سوپر اکساید دیسموتاز (واحد بر میلی لیتر) در بین تیمارها در پایان آزمایش.

همانطور که در نمودارشکل ۲ دیده می‌شود، تیمارهای تغذیه شـــده با جیره T_4 دارای بیشـــترین میزان مالون دی‌آلدهید بود. ســـایر تیمارها بایکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p>۰/۰۵$).



شکل ۲- نمودار میزان (انحراف معیار±میانگین) مالون دی‌آلدهید (میکرومول بر لیتر) در بین تیمارها در پایان آزمایش .

باتوجـه به نمودارشـــکل ۳، میزان کاتالاز در میان تیمارهای آزمایشـــی معنی‌دار بود. بطوریکه ماهیانی که از جیره‌های آزمایشـــی T_2 و T_3 اســـتفاده کردند، دارای بیشـــترین میزان کاتالاز و ماهیان تغذیه شـــده با جیره T_4 کمترین میزان کاتالاز را دارا بودند ($p<۰/۰۵$).

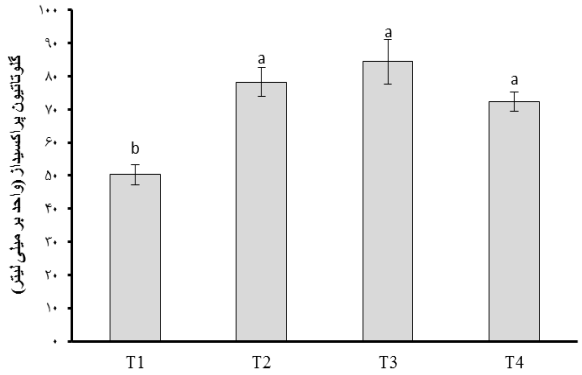


شکل۳ - نمودار میزان (انحراف معیار±میانگین) کاتالاز (واحد بر میلی لیتر) در بین تیمارها در پایان آزمایش.

www.SID.ir

Archive of SID

طبق نمودار شـــکـل ۴ کمترین میزان گلوتـاتیون پراکسـیداز در تیمار T_1 مشـاهده شد. سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($p>0/05$).



شکل ۴- نمودار میزان (انحراف معیار±میانگین) گلوتاتیون پراکسیداز (واحد بر میلی لیتر) در بین تیمارها در پایان آزمایش.

۴. بحث و نتیجه گیری

اســتفاده از ترکیبات طبیعی مانند عصــاره‌های گیاهی بـه‌عنوان جـایگزینی برای بســیـاری از داروها و ترکیبات شـیمیایی در آبزی‌پروری، موضوع جدید و رو به رشدی است که نیاز به مطالعات وســیعی دارد. تاثیر تجویز عصــاره‌های گیاهی بر گونه‌های مختلف آبزی به صــورت تزریق درون صـفاقی، حمام و یا خوراکی توسط محققین مورد بررسی قرار گرفته اسـت. از این‌رو تحقیق حاضـر، با هدف بررسـی تاثیر عصـاره برگ درخت زیتون بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی آمور، انجام گردید.

یکی از مسـایل مهم در صـنعت آبزی پروری رشـد و بازماندگی موجودات آبزی اسـت. روش‌های مختلفی برای بهبود کیفیـت و کمیـت تولیـد آبزیان در آبزی پروری پیشنهاد شده است (Syahidah *et al.*, 2014). یکی از این روش‌ها اسـتفاده از گیاهان دارویی است که اثرات مناسبی بر رشــد، بازماندگی و نیز فعالیت ضــد میکروبی دارند (Immanuel *et al.*, 2004). از هزاران ســال قبل، گیاهان دارویی به عنوان محرک ســیســتم ایمنی بدن جانداران شـناخته شده ا ند. تمایل به استفاده از گیاهان دارویی در ســرتاســر دنیا به دلیل ارزان بودن، در دســترس بودن و عوارض کمتر بر بدن جاندار و محیط زیست روز به روز در حال افزایش اســت (Hai, 2015). در تحقیق حاضــر به بررســی اثرات عصــاره درخت زیتون بر رشــد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکســیدانی ماهی آمور پرداخته شــد و مشـاهده گردید که درصـد رشـد روزانه، نرخ رشـد ویژه، ضــریب چاقی، وزن نهایی، طول نهایی، افزایش وزن و کارایی تبدیل غذا در ماهیان آزمایش معنی‌دار بود و تیمار شــاهد دارای پایین‌ترین میزان بود. تفاوت معنی‌داری از لحاظ ضــریب تبدیل غذایی میان گروه شــاهد با ســایر ســطوح غذایی عصــاره برگ درخت زیتون مشــاهده شــد. بطوری که گروه شاهد دارای بالاترین میزان از این شاخص بود. یکی از عوامل اقتصادی بودن پرورش آبزیان مقدار ضریب تبدیل تبدیل غذایی (FCR) اســت که علاوه بر کاهش هزینه‌های غذا و غذادهی به سبب مقدار کمتر غذادهی، از آلودگی ثانویه آب محیط پرورش و به تبع آن کاهش پارامترهای کیفی آب جلوگیری خواهد کرد. با افزایش وزن ماهیان، مقادیر تغذیه و متناسب با آن، ضریب تبدیل غذایی کاهش می‌یابد، در واقع ضریب تبدیل‌غذایی نشان می‌دهد که چه مقدار از غذای مصـرف شـده صـرف افـزایش وزن ماهی شده اســت (De-Schrijver and Ollevier, 2000). پائین بودن ضـریب تبدیل غذا، یکی از

www.SID.ir

Archive of SID

عوامل اقتصادی بودن پرورش آبزیان است، به این دلیل که علاوه بر کاهش هزینه‌های غذا، از آلودگی‌های ثانویه آب محیط پرورش و به تبع آن کاهش پارامترهای کیفی آب جلوگیری می‌کند (Falahatkar *et al.*, 2008).

Karimi Pashaki و همکاران (۲۰۱۸) تاثیر عصاره آبی – الکلی برگ درخت زیتون را بر شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی بررسی کردند و افزایش وزن نهایی، درصد افزایش وزن و شاخص رشد ویژه را در تیمارهای آزمایشی مشاهده نسبت به گروه شاهد نمودند. همچنین این محققین کمترین ضریب تبدیل غذایی را در تیمارهای تغذیه شده با عصاره زیتون مشاهده کردند که با نتایج بررسی ما هم‌خوانی دارد. غنی بودن ماهیان از اسیدهای چرب غیر اشباع این محصولات را نسبت به سایر محصولات خوراکی در مواجه شدن با فساد اکسیداتیو و پیامدهای منفی ناشی از آن مستعدتر می‌کند (Kashiri *et al.*, 2011). در صورت بروز اکسیداسیون مقدمات تغییرات شیمیایی فراهم می‌شود که با پیشرفت آن تغییرات نامطلوب ایجاد شده، نمود خارجی پیدا می‌کند. بطوری که از طریق بررسی رنگ، بو و بافت می‌توان روند فساد را در طول زمان مشاهده کرد. طبق نتایج بدست آمده در این مطالعه، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مورد مطالعه در گروه سوپر اکساید دیسموتاز و گلوتاتیون پر اکسیداز در تیمار شاهد کمترین میزان بود. عصاره برگ درخت زیتون به دلیل دارا بودن ترکیبات فنول می‌تواند رادیکال‌های آزاد را به صورت مستقیم به دام اندازد و یا رادیکال‌های آزاد را از طریق مجموعه هایی از واکنش‌های پیوندی همراه با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان حذف کند (Anilakumar *et al.*, 2010).

همچنین میزان مالون دی‌آلدهید در ماهیانی که از جیره T_4 تغذیه کردند، بیشترین میزان بود. مالون دی آلدهید محصول ثانویه پراکسیداسیون لیپیدها است و به صورت مستقیم می‌تواند درجه‌ی پراکسیداسیون لیپید و به صورت غیرمستقیم سطح آسیب به سلول را نشان دهد (Pang *et al.*, 2010). بسیاری از محققین بیان کرده اند که ترکیبات فنلی گیاهان دارویی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی هستند (Kamkar *et al.*, 2014). بر اساس مطالعات انجام شده توسط Ilaiyaraja و همکاران (۲۰۱۰)، ترکیبات فنولیک گیاهی موجود در میوه‌ها، سبزیجات و گونه‌های گیاهان دارویی مانند مرزه به دلیل این که به عنوان دهنده‌های هیدروژن، عوامل احیا کننده، کاهش یکتایی اکسیژن و رباینده‌ی فلزات عمل می‌کنند، آنتی‌اکسیدان‌های خوبی بحساب می‌آیند. کاهش مالون دی- آلدئید و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بدن، نشان می‌دهد که ترکیبات فعال اسانس‌ها موجب افزایش پایداری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شوند. در واقع ترکیبات فنولی به علت داشتن حلقه‌ی بنزن و رزنانس الکترون می‌توانند رادیکال‌های آزاد را به دام انداخته و مانع از ادامه‌ی واکنش‌های زنجیره‌ای و تولید رادیکال‌های آزاد دیگری شوند. علاوه بر این، عدم مصرف آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باعث بالا ماندن سطح فعالیت این آنزیم‌ها می‌شود (Khosravinia *et al.*, 2015).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تغذیه با جیره حاوی ۱ درصد عصاره برگ درخت زیتون سبب بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه این ماهی خواهد شد. میزان مالون دی‌آلدهید در گروه‌های تغذیه شده با عصاره برگ درخت زیتون در گروه T_4 بالاترین میزان بود. همچنین تاثیر مطلوب این عصاره بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان‌دهنده تأثیر این داروی گیاهی به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در جیره غذایی این ماهی است. از این رو استفاده از عصاره برگ درخت زیتون در جیره غذایی ماهی آمور به عنوان بهبود دهنده‌ی رشد و همچنین ماده موثر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه زابل با شماره گرنت Uoz-GR-9618-104 انجام شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

۵. منابع

Anilakumar, K.R., Sudarshana Krishna, K.R., Chandramohan, G., Ilaiyaraja, N., Khanum, F., Bawa, A.S., 2010. Effect of *Aloe vera* gel extract on antioxidant enzymes and azoxymethane induced oxidative stress in rats. *Experimental Biology* 48, 837-842.

De Schrijver, R., Ollevier, F., 2000. Protein digestion in juvenile turbot (*Scophtalmus maximus*) and effects of dietary administration of Vibrio proteolyticus. *Aquaculture* 186,107-116.

Elsaaed, E.M., Mahghoub, K.M., Hassan, E.R., Mekky, H.M. and Rabie, N.S., 2014. Immune Stimulant Effects of Olive Leaves in Chickens Infected with Escherichia coli. *Global Veterinaria Journal* 13 (4), 649-655. DOI: 10.5829/idosi.gv.2014.13.04.8691.

Eslahe Orbani, A., 2005. Guilan Book, Third Volume, Publication:Iranian Researchers Group, 200P. Karimi Pashaki A.1, Ghasemi M.1*, Zorrieh Zahra S.J.2, Shrif Rohani M.2, Hosseini S.M., 2018. Effect of diets containing aqueous-alcoholic extract of olive leaf (*Olea eurcpaea* L.*)* on growth performance and some blood and immune parameters in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Iranian Scientific Fisheries Journal* 2(27), 70-81.

Falahtakar, B., Soltani, M., Abtahi, B., Kalbasi, M., Poor Kazemi, M., Yasemi, M., 2008. Effect on some growth parameters, survival rate, vitamin C and liver index in elephant fish breeding. *Journal of Research and Development* 72, 98-103.

Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2001. Effects of *Quillaja saponins* ongrowth, metabolism egg production, andmuscle cholesterol in individually rearedNile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Journal* 129, 105-114. DOI: 10.1016/S1532-0456(01)00189-2.

Hai, N.V., 2015. The use of medical plants as immune stimulants in aquaculture: A review. *Aquaculture Jouranal* 15, 153-154.

Hayes, J.E., Allen, P., Brunton, N., Ogrady, M.N., Kerry, J.P., 2010. Phenolic omposition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract, Lutein, Sesamol and Ellagic acid. *Food Chemistry* 10(2),23-37.

Hosseinipour, S.H., Peyghambari, S.Y., Rostamzad, H., 2013. Comparison of olive leaf extract and BHT antioxidant on the shelf life of Rainbow trout fish (*Oncorhynchus mykiss*) in cold storage at 4±1 ºC. EJFPP, Vol. 4 (2): 67-83, http://ejfpp.gau.ac.ir.

Ilalyaraja, N., Khanum, F., Anilakumar K.R., 2010. Antiulcerative colitic and anti-bacterial properties of hydroalcoholic extract of *Aloe vera* (L) gel. *Herbal Medicine and Toxicology* 4, 197-206.

Immanuel, G., Vincybai, V.C., Sivaram, V., Palavesam, A., Marian, M.P., 2004. Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrioparahaemolyticus*) load on shrimp (*Penaeus indicus)* juveniles. *Aquaculture* 236, 53-65.

Kamkar, A., Tooryan, F., Akhondzadeh Basti, A., Misaghi, A., Shariatifar, N., 2014. Chemical composition of summer savory (*Satureja hortensis L.*) essential oil and comparison of antioxidant activity with aqueous and alcoholic extracts. *Journal of Veterinary Reserch* 68, (2)183-190.

Kashiri, H., Haghparast, S., Shabanpour, B., 2011. Effects of sodium salt solutions (sodium acetate, lactate and citrate) on physico-chemical and sensory characteristics of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) fillets under refrigerated storage. *Journal of Agricultural Technology* 13, 89– 98.

Khosravinia, H., Alirezaei, M., Ghasemi, S., Neamati, S., 2015. Effect of *Satureja khuzistanica* essential oils on antioxidative potential and postmortem pH of breast muscle in heat stressed broiler chicken. *Journal of Veterinary Research.* 70(2), 227-234.

Kisa, A., Akyuz, M., Yeter Cogun, H., Kordali, S., Usanmaz Bozhuyuk, A., Tezel, B., Siltelioglu, U., Anil, B., Cakir, A., 2018. Effects of *Olea europaea L*. leaf metabolites on the Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and three stored pests, *Sitophylus granarius*, *Tribolium confusum* and *Acanthoscelideas obtectus*. *Records of Natural Products Journal* 12(3), 201-215.

Pang, S.h., Xing, Y., Riu, L., Jian Ping, C., 2010. Effects of nitrobenzene on liver antioxidant defense system of *Carassius auratus*. *Chemical Research in Chinese Universities* 26(2), 204-209.

www.SID.ir

Archive of SID

Parsaei, S., Amini, Z., Houshnabd, M., 2014. Effect of Olive leaf on blood metabolites and humoral immunity response of broiler chickens. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research* 2(3): 741-751.

Pourmozaffar, S., Hajimoradloo, A., Kolangi Miandare, H., 2017. Dietary effect of apple cider vinegar and propionic acid on immune related transcriptional responses and growth performance in white shrimp, *Litopenaeus vannamei. Fish and Shellfish Immunology* 60, 65-71.

Syahidah, A., Saad, C.R., Daud, H.M., Abdelhadi, Y.M., 2014. Status and potential of herbal applications in aquaculture: A review. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 14(1), 27-44.

Tchakam, P.D., Lunga, P.K., Kowa, T.K., Lonfouo, A.H., Wabo, H.K., Tapondjou, L.A., 2012. Antimicrobial and antioxidant activities of the extracts and compounds from the leaves of *Psorospermum aurantiacum* Engl. and *Hypericum lanceolatum* Lam. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 12(1), 136–149.

Zargari, A., 2002. Medicinal plants, Volume 2, Tehran University Press, pp. 25-36.

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir