Arc

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۲، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸
صفحات ۳۵۱-۳۳۹

تاثیر عصاره هیدروالکلی مرزنجوش (*Origanum vulgare* L.) و علف‌چای (*Hypericum perforatum*) بر رشد، ایمنی، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی‌اکسیدانی ماهی قزل آلای رنگین کمان در شرایط پرورش تجاری

میثم عزیزی بصیر[۱]، احمد ایمانی[۲*]، کوروش سروی مغانلو[۲]، سعید مشکینی[۳]

۱-دانش آموخته گروه شیلات و آبزیان، دانشگاه ارومیه، ارومیه
۲- دانشیار گروه شیلات و آبزیان، دانشگاه ارومیه، ارومیه
۳- دانشیار گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

تاریخ ارسال: ۱۳۹۸/۱۱/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۰۱

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان دارویی مرزنجوش (***Origanum vulgare* L.**) و علف‌چای (***Hypericum perforatum***) بر رشد، شاخص‌های ایمنی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی اکسیدانی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان طرح ریزی و اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار شاهد (صفر درصد)، تیمار ۳ درصد مرزنجوش، تیمار ۳ درصد علف‌چای و ترکیب هر دو گیاه (۱/۵ درصد) بود. شاخص وضعیت اختلاف معنی‌دار بین تیمار ۳ د رصد مرزنجوش با سایر تیمارها وجود داشت. بالاترین میزان وزن نهایی در تیمار ۳درصد مرزنجوش مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). ضریب رشد ویژه تیمار ۳ درصد مرزنجوش نسبت به تیمار شاهد ۸/۳۰ درصد افزایش و ضریب تبدیل غذایی آن ۲/۳۴ درصد کاهش داشت. فراسنجه های ایمنی (ایمونوگلوبولین، فعالیت مسیر فرعی کمپلمان و لیزوزیم سرم) و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز) ماهیان تیمارهای مختلف تحت تاثیر جیره‌های غذایی قرار گرفتند ($P<۰/۰۵$)، بطوریکه کمترین و بیشترین میزان این فراسنجه ها به ترتیب متعلق به گروه شاهد و ۳ درصد مرزنجوش بود ($P<۰/۰۵$). اختلاف معنی‌داری از نظر فعالیت آنزیم‌های گوارشی (آمیلاز، لیپاز و پروتئاز) میان تیمار ۳ درصد مرزنجوش و تیمار شاهد مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد استفاده از عصاره هیدروالکلی گیاه مرزنجوش بطور مشخصی موجب بهبود شاخص‌های ایمنی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی زوائد پیلوریک و آنتی اکسیدانی کبد ماهی قزل آلای رنگین کمان در شرایط پرورشی خواهد شد.

واژگان کلیدی: افزودنی‌های غذایی، مرزنجوش، علف‌چای، قزل آلای رنگین کمان، آبزی پروری

نویسنده مسئول: احمد ایمانی
Email: a.imani@urmia.ac.ir

www.SID.ir

Arc

Journal of Fisheries
Vol. 72, No. 4, Winter 2020
pp. 339-351

The effect of Marjoram (*Origanum vulgare* L.) and St John's Wort (*Hypericum perforatum*) hydro-alcoholic extracts on growth, immunity, digestive and antioxidative enzymes activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under the commercial farming condition

Meysam AziziBasir[1], Ahmad Imani[2*] Korosh Sarvi Moghanloo[2], Saeed Meshkini[3]

1. M.Sc. Graduated student, Department of Fisheries, Urmia University, Urmia, Iran
2. Associate Professor, Department of Fisheries, Urmia University, Urmia, Iran.
3. Associate Professor, Health and Food Control Dept., Urmia University, Urmia, Iran

Received: 27-Jan-2020 **Accepted: 20-Feb-2020**

Abstract

The present study was conducted to investigate the effects of hydroalcoholic extracts of Marjoram and St John's Wort on growth, immune indices and activity of digestive and antioxidative enzymes in rainbow trout. Treatments included the control group, 3% Marjoram, 3% St John's Wort and the combination of both extracts (1.5%). The condition factor of fish received 3% Marjoram extract was significantly different from other experimental groups. The highest final weight belonged to diet supplemented with 3% Marjoram extract ($P<0.05$). SGR showed an 8.3% increase in 3% Marjoram extract in comparison to the control group and FCR showed a 2.34% decrease in the same treatment as well. The immune indices (immunoglobulin, complement sub-path activity, and serum lysozyme) and antioxidant enzymes activity (glutathione peroxidase, catalase, and superoxide dismutase) of different treatments were affected by the experimental diets ($P <0.05$). The lowest and the highest values belonged to the control group and 3% Marjoram extract, respectively ($P <0.05$). There were significant differences in digestive enzymes activity (amylase, lipase, and protease) ($P<0.05$) between the 3% Marjoram extract treatment in comparison to the control group regarding. In conclusion, the results showed that dietary supplementation of the hydroalcoholic extract of Marjoram significantly improved the innate immune indices and digestive and antioxidant enzymes activity of rainbow trout under the commercial farming conditions.

Keywords: Feed additives, Marjoram, St John's Wort, Rainbow trout, Aquaculture

Corresponding author: Ahmad Imani

www.SID.ir

Archive of SID

۱. مقدمه

رشد سریع جمعیت، سود آوری صنعت آبزی-پروری، ارجحیت ماهی بر سایر پروتئین‌های حیوانی و همچنین دلایل فرهنگی و بهداشتی (سلامتی) رشد این صنعت را تسریع کرده است (Ebrahimi, 2006). با این حال، آبزی‌پروری با مشکلاتی چون ضعف سیستم ایمنی ماهی و بروز بیماری‌های عفونی گوناگون بویژه در سامانه‌های متراکم پرورش آبزیان مواجه است (Alishahi *et al.*, 2010). برای مقابله با چنین مشکلاتی، هر ساله مقادیر زیادی آنتی بیوتیک مورد استفاده قرار می‌گیرد، که ایجاد جمعیت باکتری‌های مقاوم به درمان، آلودگی‌های زیست محیطی و باقیمانده آنتی‌بیوتیک‌ها در لاشه آبزی پرورشی را به دنبال دارد (Alishahi *et al.*, 2012).

به کارگیری مواد محرک سیستم ایمنی می‌تواند راه حل تغذیه‌ای مناسبی برای کنترل بیماری‌های آبزیان باشد (Harikrishnan *et al.*, 2011). از این میان، عصاره‌های گیاهی به علت ایجاد آسیب کمتر در ماهی و محیط زیست بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند (Alishahi and Mesbahi, 2011). گیاهان دارویی به دلیل دارا بودن مقادیر بالایی از ترکیبات فنولی خواص آنتی‌اکسیدانی نیز دارند (Jung *et al.*, 2010; van Den Ende *et al.*, 2011). همچنین مکمل‌های گیاهی از طریق افزایش ترشح فعالیت آنزیم‌های گوارشی (Jiang *et al.*, 2007)، بهبود فرایند هضم، تنظیم میکروفلور روده و در نتیجه تاثیر بر میزان اشتها موجب افزایش رشد می‌شوند (Steiner, 2006). برای مثال، نشان داده شده است که افزودن عصاره الکلی زیره سبز به جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) باعث بهبود شاخص‌های رشد، تغذیه و ترکیب بیوشیمیایی لاشه خواهد شد (قائدی، ۱۳۹۴). در مطالعه Al-Dubakel و همکاران (۲۰۱۲) مشخص شد که رشد بچه ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با جیره حاوی ۱درصد سیاه‌دانه بهبود می یابد، He و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش کردند که بیشترین میزان فعالیت آنزیم های گوارشی در ماهیان *Cyprinus carpio-haematopterus* تغذیه شده با جیره *حاوی* ده درصد پودر یونجه صورت می گیرد. Wang و همکاران (۲۰۰۶) نیز اثرات استفاده از گیاهان چینی را بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی و پارامترهای رشد کفشک ماهی (*Paralichthys olivaceus*) مورد بررسی قرار دادند. و دریافتند که فعالیت پپسین، پروتئاز و همچنین نرخ رشد ویژه در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد بالاتر است. همچنین استفاده از این گیاهان موجب بهبود ضریب تبدیل غذایی نسبت به گروه شاهد شد. Metwally در سال ۲۰۰۹، اثر گیاه سیر (*Allium sativum*) را بر بعضی شاخص‌های آنتی اکسیدانی ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) بررسی نمود. وی مشاهده کرد که افزودن سیر به جیره غذایی ماهی می‌تواند موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در پلاسمای این ماهی شود. نتایج پژوهشی با هدف بررسی اثر پودر پیاز، اینولین و مرزه بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و فاکتورهای خونی ماهیان جوان کپور معمولی، نشان داد که فعالیت آنزیم-های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز در تمامی تیمارها نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی داری دارند (Vaez *et al.*, 2016).

با توجه به نتایج مطالعه Bahmani و همکاران (۲۰۱۴) در ارتباط با اثر ایمنی‌زایی گیاه مرزنجوش در ماهی کپور معمولی در شرایط آزمایشگاهی و همچنین تاثیر مثبت عصاره آبی گیاه علف‌چای بر تحمل استرس گرمایی در ماهی قزل آلای رنگین کمان (Ghiasi *et al.*, 2015)، پژوهش حاضر به منظور کسب اطلاعات بیشتر در مورد اثر مجزا و تلفیقی دو گیاه دارویی مرزنجوش و علف چای بر عملکرد سیستم ایمنی و رشد ماهی قزل آلای رنگین کمان پرواری در شرایط پرورش تجاری طراحی و اجرا گردید.

۲. مواد و روش‌ها

در این پژوهش تعداد ۷۲۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تمام ماده (ماده دیپلوئید) ایرانی از مزرعه ای واقع در شهرستان ارومیه با میانگین وزنی ۵±۱۰۰ گرم تهیه شدند. ماهیان پس از توزین، به صورت

www.SID.ir

Archive of SID

تصادفی در ۱۲ حوضچه بتنی با تعداد ۶۰ قطعه ماهی در هر حوضچه به ابعاد ۱۲۰ × ۲۱۵ سانتی متر وارد شدند و با آب یک حلقه چاه با دبی ۷ لیتر بر ثانیه دارای دمای ۱ ± ۱۳ درجه سانتی گراد، پی اچ ۷/۳-۸/۶ و تنظیم میزان اکسیژن ۰/۵ ± ۸/۵ میلی گرم در لیتر، پرورش یافتند. پیش از شروع آزمایش ماهیان به مدت دو هفته نسبت به شرایط جدید نگهداری در حوضچه‌های تیماربندی سازگارشدند. همچنین، حوضچه‌ها دارای جریان باز یکطرفه بودند.

۱،۲.تهیه عصاره‌های هیدروالکلی علف‌چای و مرزنجوش

برای تهیه عصاره گیاهان مرزنجوش و علف‌چای، گیاهان پس از آسیاب شدن با نسبت ۲/۵: ۱ (الکل:گیاه) در الکل اتانول ۸۰ درصد خیسانده شدند. سپس به مدت ۷۲ ساعت به وسیله دستگاه شیکر (FR 602, Fater Electronic) در دمای اتاق هم‌زده شدند و در نهایت با استفاده از صافی، تفاله گیاه از عصاره جدا گردید و عصاره ها در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به کمک روتاری (Laborota 4000 efficient, Heidolph) تغلیظ شدند (Saeidi asl *et al*., 2017).

۲،۲. مراحل ساخت غذا

برای این منظور از جیره غذایی تجاری GFT_2 ساخت شرکت فرادانه (جدول ۱) استفاده شد. بعد از توزین غذا، عصاره هیدروالکلی گیاهان علف‌چای و مرزنجوش با توجه به تیمارهای آزمایشی (جدول ۲) به جیره غذایی اسپری شدند (Diaz-Sanchez *et al*., 2015). سپس غذا به مدت ۲۴ ساعت در مقابل هوای آزاد قرار داده شد، بعد از خشک شدن، سطح پلت ها با محلول ۱درصد ژلاتین پوشانده شد و مجددا به مدت ۲۴ ساعت در مقابل هوای آزاد قرار گرفت. در نهایت پلت های تهیه شده در کیسه های فریزر یک کیلوگرمی به همراه مقداری ژل نم گیر با ثبت تاریخ در یخچال قرار داده شدند. در زمان غذادهی یک کیسه معین از جیره غذایی هر گروه از یخچال بیرون آورده شد و بعد از توزین غذای هر مخزن به صورت جداگانه در هر ظرف، مجددا مابقی غذا به یخچال منتقل شد (Saremi *et al*., 2019). ماهیان تیمارهای مختلف، ۲ نوبت در روز در ساعات ۹ و ۱۵ به میزان ۲/۵ درصد وزن بدن غذادهی شدند (Emadi, 2013). جهت تنظیم میزان غذای روزانه طی دوره ۸۰ روزه آزمایش، ماهیان هر دو هفته یکبار پس از ۲۴ ساعت قطع غذا و بیهوشی با پودر گل میخک زیست سنجی شدند (Emadi, 2013).

۳،۲. شاخص های رشد

در پایان دوره پرورش، پس از ۲۴ ساعت قطع غذا، ماهیان زیست‌سنجی شد و وزن نهایی (FW)، افزایش وزن (WG)، بقا (SR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، نرخ رشد ویژه (SGR) و شاخص وضعیت (CF) محاسبه گردید. در پایان، به طور تصادفی ۹ عدد ماهی از هر تیمار (۳ عدد از هر تکرار تیمار) مختلف صید و کبد ماهیان توزین و شاخص کبدی (HSI) تعیین شد (Metwally, 2009).

جدول ۱: ترکیب بیو شیمیایی غذای تجاری GFT2 شرکت فرادانه (درصد)

پروتئین خام	۳۸-۴۲
چربی خام	۱۳-۱۷
فیبر خام	۲-۴
خاکستر	۷-۱۱
رطوبت	۵-۱۱
فسفر	۱-۱/۵

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- تیمارهای آزمایشی مورد استفاده در این پژوهش

تیمار	تیمار آزمایشی	
	عصاره مرزنجوش (٪)	عصاره علف‌چای (٪)
۱ (شاهد)	۰	۰
۲	۳	۰
۳	۰	۳
۴	۱/۵	۱/۵

۴،۲. نمونه برداری

در انتهای دوره پرورش پس از ۲۴ ساعت قطع غذا، تعداد ۴ قطعه ماهی به صورت تصادفی از هر تیمار انتخاب و با استفاده از پودر گل میخک بیهوش شدند. خونگیری از ماهیان از ورید دمی و با استفاده از سرنگ شماره ۲۵ آغشته به هپارین انجام شد. نمونه‌ها در مجاورت یخ نگهداری و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. در نهایت نمونه‌های سرم به میکروتیوب‌ها منتقل شد. همچنین، نمونه‌های کبد و زوائد پیلوریک در دمای ۸۰- به ترتیب به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و گوارشی نگهداری شدند (Lemieux *et al.*, 1999).

۵،۲. اندازه‌گیری شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی سرم

۱،۵،۲. اندازه گیری فعالیت لیزوزیم سرم

میزان فعالیت لیزوزیم سرم با استفاده از فعالیت باکتریایی (Subramanian *et al.*, 2007) اندازه‌گیری شد. این روش که به کدورت سنجی معروف است به‌وسیله فعالیت باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (ATCC4698) انجام گردید.

۲،۵،۲. اندازه گیری مسیر فرعی کمپلمان

فعالیت همولیتیک مسیر فرعی کمپلمان (ACH50) با استفاده از همولیز گلبول‌های قرمز گوسفند (یا خرگوش)، براساس روش Ortuno و همکاران (1998) اندازه‌گیری شد.

۳،۵،۲. اندازه گیری ایمونوگلوبولین پلاسما

اندازه گیری ایمونوگلوبولین کل پلاسما یکی دیگر از فاکتورهای مورد بررسی شاخص ایمنی در این آزمایش بود که بر اساس روش Siwicki and Anderson (1993) تعیین شد.

۴،۵،۲. سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کبد

۱،۴،۵،۲. تهیه عصاره خام آنزیمی

قطعات کوچک شده بافت کبد در بافر تریس-کلریدریک (pH=۷/۵، M ۰/۰۲۵) و با استفاده از هموژنایزر، همگن گردید. هموژن های حاصل که دارای درصد حجمی/ وزنی ۱۰ درصد بودند، در دور ۱۲۰۰۰rpm و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شدند. از بخش رویی برای سنجش پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده شد.

۲،۴،۵،۲. سنجش میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

در این مطالعه از روش غیر مستقیم براساس میزان ممانعت تشکیل کمپلکس نیترو تترازولیم استفاده شد. (Yazdanparast *et al.*, 2008).

www.SID.ir

Archive of SID

۳،۴،۵،۲. سنجش میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)

سنجش آنزیم GPX در این پژوهش با استفاده از روش Yazdanparast و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام گرفت.

۴،۴،۵،۲. سنجش میزان فعالیت کاتالاز (CAT):

اصول کلی واکنش بر اساس تجزیه یک سوبسترا (هیدروژن پراکسید) توسط آنزیم کاتالاز و بررسی کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در بازه های زمانی ۱۵ ثانیه می باشد (Yazdanparast *et al.*, 2008).

۵،۵،۲. سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی زوائد پیلوریک

۱،۵،۵،۲. سنجش فعالیت‌های آنزیمی

جهت تهیه عصاره آنزیمی در ابتدا بافت زوائد پیلوریک به نسبت وزنی ۵:۱ در بافر Tris-HCL ۵۰ میلی مولار توسط هموژنایزر به مدت ۱/۵ دقیقه همگن و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال دار در دمای 4^0C در جه سانتیگراد با دور ۱۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. محلول رویی، جهت سنجش پروتئین محلول و فعالیت آنزیمی در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد (Chong *et al.*, 2002). میزان پروتئین محلول نمونه ها به روش Bradford (1976) اندازه گیری شد.

۲،۵،۵،۲. سنجش فعالیت آمیلاز

سنجش ظرفیت آنزیم آمیلاز با به کارگیری روش Bernfeld (1955) و بوسیله نشاسته محلول به عنوان سوبسترا و ترکیب کروموژن ۳ و۵ دی نیتروسالیسیلیک اسید انجام شد.

۳،۵،۵،۲. سنجش فعالیت آلکالین پروتئاز

برای این منظور از کازئین به عنوان سوبسترا و معرف فولین سیکالتو استفاده شد (Chong *et al.*, 2002).

۴،۵،۵،۲. سنجش فعالیت لیپاز

سنجش فعالیت آنزیم لیپاز، بر پایه تجزیه پارانیتروفنیل مریستات در حضور Sodium cholate و خوانش جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر استوار بود (Iijima *et al.*, 1998).

۶،۲. تحلیل آماری

بررسی آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ و به کمک آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) انجام شد. البته از برقرار بودن تمامی مفروضات آنالیز واریانس پیش از انجام تحلیل های آماری اطمینان حاصل شد. در صورت معنی دار بودن آنالیز واریانس ($P<۰/۰۵$)، از آزمون مقایسه میانگین توکی استفاده شد. نتایج به صورت "اشتباه استاندارد ± میانگین" گزارش شدند. نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ ترسیم شدند.

۳. نتایج

۱،۳. شاخص های رشد

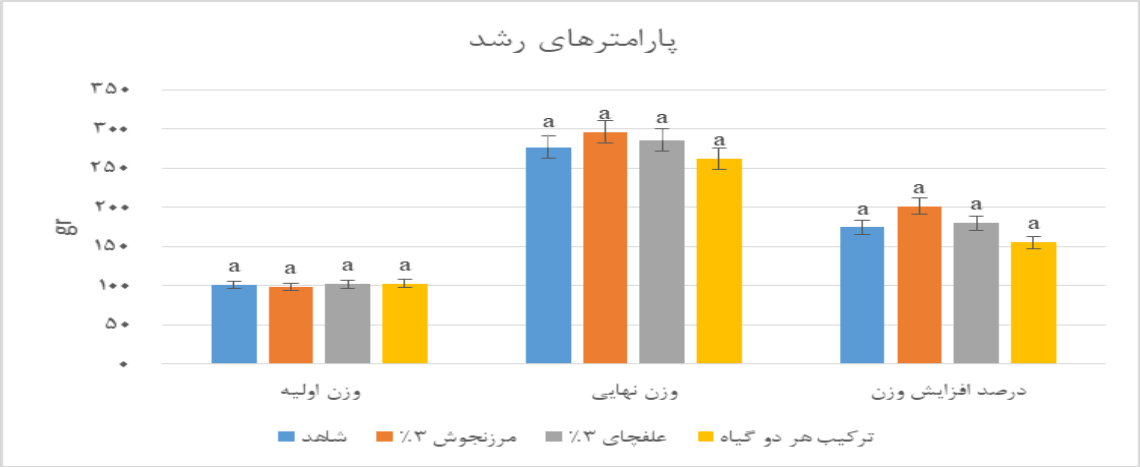
همانطور که در شکل ۱ و ۲ آمده است، از نظر شاخص‌های وزن نهایی، ضریب رشد ویژه، درصد افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و شاخص کبدی تفاوت معنی‌دار میان گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$)، با این وجود شاخص وضعیت ماهیان تیمار ۳ درصد مرزنجوش بطور معنی‌داری بیشتر از تیمار ۳ درصد علف‌چای بود ($P<۰/۰۵$)، به نحوی که بالاترین و پایین ترین مقدار آن به ترتیب در تیمار ۳ درصد مرزنجوش و ۳ درصد علف‌چای مشاهده گردید.

نتایج مبین بهبود شاخص‌های رشد شامل ضریب رشد ویژه (۸/۳۰ درصد)، درصد افزایش وزن (۱۵/۴۳درصد)، وزن نهایی (۷/۰۱درصد) و کاهش ضریب تبدیل غذایی به میزان ۲/۳۴ درصد در تیمار ۳ درصد مرزنجوش نسبت به تیمار شاهد و بهبود ۲/۲۵ درصد ضریب رشد ویژه، ۳/۰۸ درصد افزایش وزن، ۳/۲۰ درصد وزن نهایی و کاهش ۱/۳۴درصد ضریب

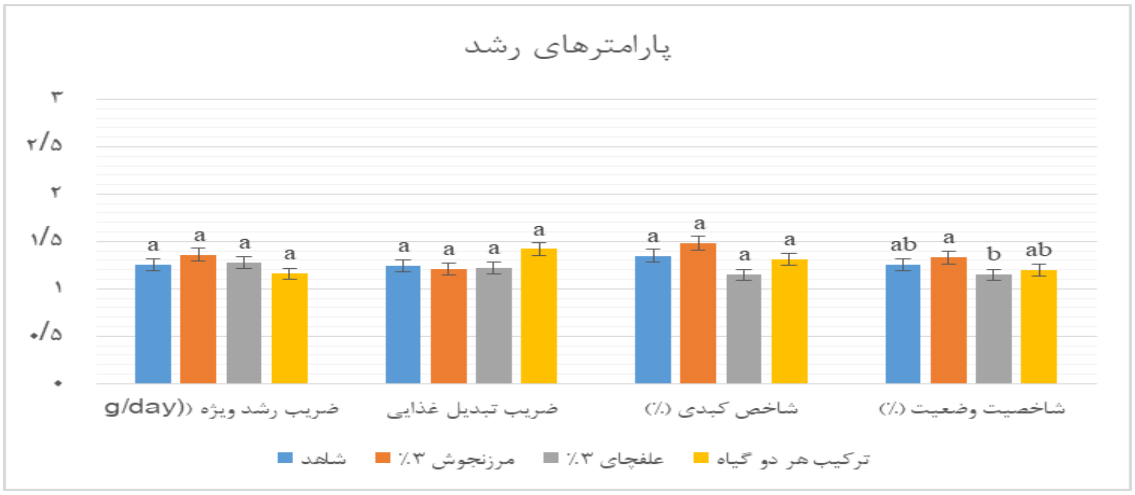
www.SID.ir

Archive of SID

تبدیل غذایی در تیمار ۳ درصد علفچای نسبت به تیمار شاهد بود.



شکل ۱- شاخص های رشد ماهیان در میان تیمارهای مختلف در پایان آزمایش.



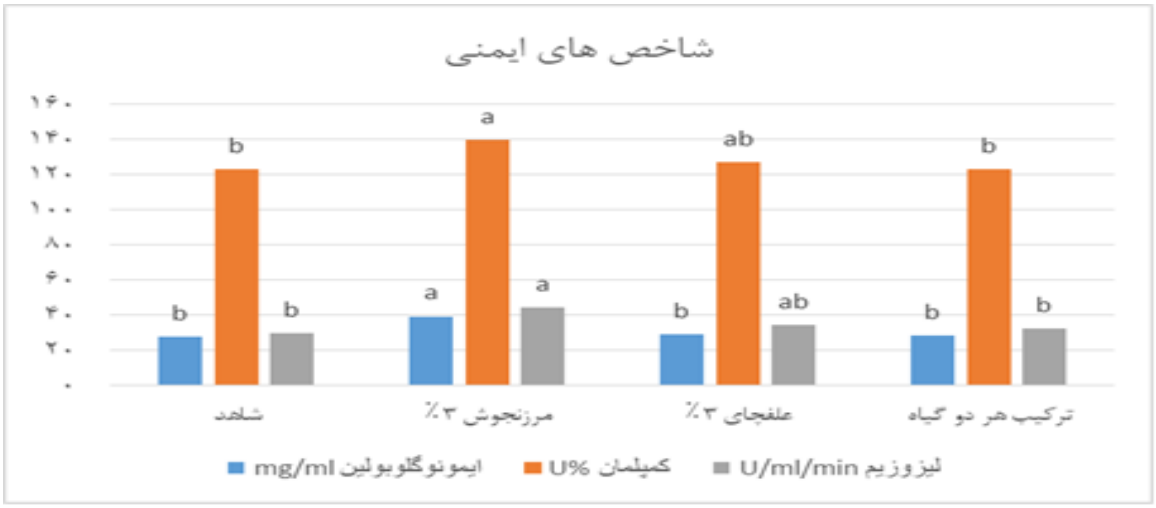
شکل ۲- شاخص های رشد ماهیان در میان تیمارهای مختلف در پایان آزمایش.

۲,۳. ایمنی ذاتی

نتایج شاخص‌های ایمنی شامل ایمونوگلوبولین، کمپلمان و لیزوزیم در شکل ۳ آمده است. از نظر میزان ایمونوگلوبولین، فعالیت کمپلمان و لیزوزیم سرم، تیمار ۳ درصد مرزنجوش اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها از خود نشان داد ($P<۰/۰۵$). بالاترین مقادیر شاخص‌های ذکر شده در تیمار ۳ درصد مرزنجوش مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). از سوی دیگر کمترین میزان شاخص‌های ایمنی ذکر شده بعد از تیمار شاهد، در تیمار ترکیب هر دو گیاه بود ($P<۰/۰۵$).

www.SID.ir

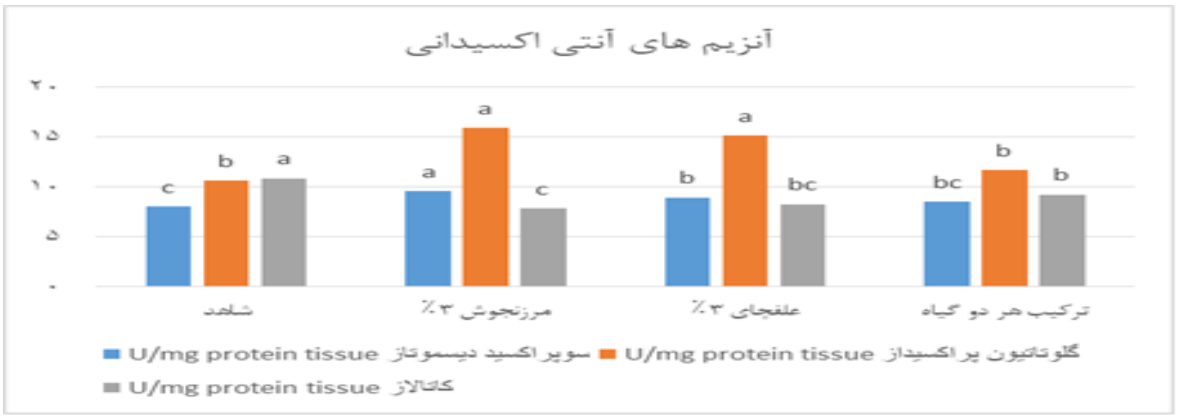
Archive of SID



شکل ۳- شاخص های ایمنی ماهیان در میان تیمارهای مختلف در پایان دوره پرورش.
حروف بالانویس متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت آماری معنی‌دار میان گروه‌ها است.

۳،۳. فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کبد

نتایج مربوط به فعالیت آنزیم¬های آنتی اکسیدانی کبد ماهیان تیماری مختلف (شکل ۴) حاکی از وجود اختلاف معنی دار آماری از نظر فعالیت آنزیم¬های SOD و CAT بین تیمار ۳ درصد مرزنجوش با سایر تیمارها بود (P<۰/۰۵). اختلاف معنی¬داری بین میزان فعالیت آنزیم GPX تیمارهای ۳ درصد مرزنجوش و ۳ درصد علف چای با سایر تیمارها وجود داشت (P<۰/۰۵). بالاترین میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی SOD و GPX در تیمار ۳ درصد مرزنجوش و پایین ترین میزان فعالیت این آنزیم ها بعد از تیمار شاهد در تیمار ترکیب هر دوگیاه مشاهده شد. علاوه بر این، پایین ترین میزان فعالیت آنزیم CAT در تیمار ۳ درصد مرزنجوش و بالاترین آن در تیمار شاهد مشاهده گردید.



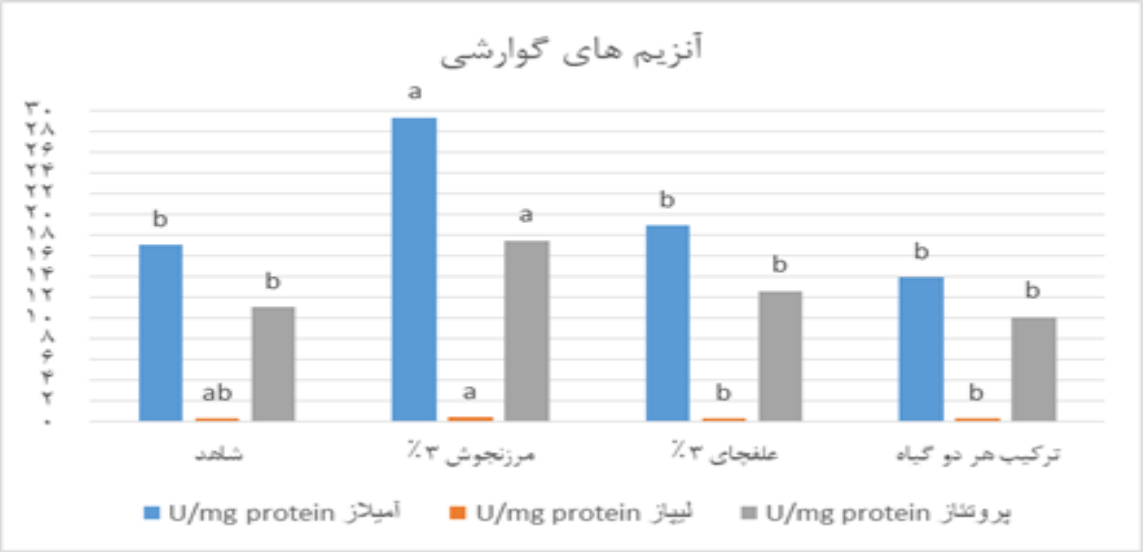
شکل ۴- آنزیم‌های آنتی اکسیدانی ماهیان درتیمارهای مختلف در پایان دوره پرورش.
حروف بالانویس متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت آماری معنی‌دار میان گروه‌ها است.

www.SID.ir

Archive of SID

۴،۳. فعالیت آنزیم‌های گوارشی زوائد پیلوریک

نتایج فعالیت آنزیم‌های گوارشی در شکل ۵ ارائه شده است. نتایج حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار آماری از نظر فعالیت آنزیم‌های گوارشی (لیپاز، پروتئاز و آمیلاز) تیمار ۳ درصد مرزنجوش در مقایسه با تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵).



شکل ۵- آنزیم‌های گوارشی ماهیان در میان تیمارهای مختلف در پایان دوره پرورش. حروف بالانویس نشان دهنده وجود تفاوت آماری معنی‌دار میان گروه‌ها است.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

مشابه مطالعه حاضر در پژوهشی که توسط علیشاهی و همکاران (۱۳۹۱) انجام شد، اختلاف آماری معنی‌داری در ضریب رشد ویژه و افزایش وزن بین ماهیان تغذیه شده با برخی گیاهان همچون کندر و سرخارگل و گروه شاهد مشاهده نشد. با این وجود عادل و همکاران (۱۳۹۴) گزارش کردند که ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۳ درصد عصاره نعناع فلفلی از ضریب رشد ویژه، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی بهتری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بودند. افزودن اسانس‌های گیاهان مرزنجوش، رازیانه و پوست مرکبات به جیره غذایی گربه ماهی پنگوسی (*Pangasius hypothalammus*) و تیلاپیای قرمز (*Orechromis mussambicus×niloticus*) سبب بهبود سرعت رشد (۶ درصد) و بهبود ضریب تبدیل خوراک (۱/۳۲ در مقابل ۱/۳۸) شد (Dugenci., 2003 *et al*). در این پژوهش نیز بهبود ۲/۳۴ درصدی ضریب تبدیل غذایی، ۱۵/۴۳ درصدی میزان افزایش وزن، ۷/۰۱ درصدی وزن نهایی و ۸/۳۰ درصدی ضریب رشد ویژه در تیمار ۳ درصد مرزنجوش مشاهده گردید.

در این پژوهش فعالیت لیزوزیم سرم ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی عصاره هیدروالکلی گیاه مرزنجوش بطور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود. از این نظر تحقیق حاضر مشابه نتایج Awad و همکاران (۲۰۱۳) در خصوص تاثیر سیاه‌دانه بر ایمنی قزل‌آلای رنگین کمان بود. همچنین، نتایج این پژوهش همسو با یافته‌های Bilen و همکاران (۲۰۱۶) بود که افزایش فعالیت لیزوزیم را در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی گزنه (*Pleurotus ostreatus*) به مدت ۳۰ روز گزارش کردند. ممکن است گیاه مرزنجوش توانسته باشد با بهبود فاکتورهای خونی و افزایش گلبول های سفید،

www.SID.ir

Archive of SID

باعث افزایش تولید و فعالیت لیزوزیم ماهیان گردد. بعلاوه افزایش فعالیت لیزوزیم در کپور معمولی (Hajibeglou and Sudagar, 2010) و قزل‌آلای قهوه ای (Adel *et al*., 2015) پس از دریافت گیاهان مختلف به عنوان محرک ایمنی ملاحظه شد. افزایش میزان فعالیت لیزوزیم عموما در نتیجه افزایش تعداد سلولهای بیگانه خوار است (Adel *et al*., 2016; Sheikhzadeh *et al*., 2011; Haghighi and Sharif Rohani, 2013; Dugenci *et al*., 2003). تغذیه ماهیان با عصاره هیدروالکلی مرزنجوش در این تحقیق موجب افزایش معنی دار فعالیت کمپلمان سرم نسبت به گروه شاهد گردید. افزایش فعالیت مسیر جانبی کمپلمان در قزل‌آلای رنگین کمان پس از تغذیه با جیره غذایی حاوی عصاره گیاه *Ferulago agulata* (چویل) گزارش شده است(Bohlouli and Sadeghi, 2016). استفاده از ۱ درصد عصاره گیاه *Nasturtium nasturtium* (علف چشمه) در جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان سبب بهبود فراسنجه های خون-شناختی و ایمنی شامل فعالیت کمپلمان و لیزوزیم گردید (Asadi *et al*., 2012). احتمالا علت افزایش فاکتورهای ایمنی در ماهیان تغذیه شده با عصاره گیاه مرزنجوش به دلیل وجود ترکیبات فلاوونوئیدی و تانن در گیاه مرزنجوش باشد (Jiang *et al*., 2012). تحریک فعالیت سیستم کمپلمان در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان متعاقب مصرف گیاه گزنه (*Lupinus perennis*) و انبه (*Mangifera indica*) (Awad *et al*., 2010) و گیاه *Nasturtium nasturtium* (Asadi *et al*., 2012) نیز به اثبات رسیده است. Takahashi و همکاران در سال ۲۰۰۰ بیان کردند که گیاهان دارویی باعث بهبود عملکرد برخی اندام‌های تولید کننده گلبول‌های خونی و فاکتورهای ایمنی می-شوند.

افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مبین بهبود ظرفیت آنتی اکسیدانی موجود است. Metwally در سال ۲۰۰۹، مشاهده کرد که افزودن سیر به جیره غذایی ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) می‌تواند موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی شود. ترکیبات فعال اسانس ها و عصاره‌ها موجب افزایش پایداری آنزیم های آنتی اکسیدانی می شوند. مشابه نتایج پژوهش حاضر، تیمار با عصاره آلوئه ورا، موجب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی ماهی قزل-آلای رنگین کمان گردید (Mohamed, 2011). ترکیبات موثر موجود در عصاره‌های گیاهی مانند باربالوئین‌ها، گلوکومانان‌ها، آسمانان‌ها، مواد معدنی، فلاونوئیدها، تانیک اسید و ترکیب C گلوکوزیل ممکن است عامل اصلی بهبود عملکرد سیستم آنتی‌اکسیدانی ماهیان باشد (Anilakumar *et al*., 2010). همچنین Farahi و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعات خود نشان دادند که ترکیبات فنولی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قوی جهت حذف رادیکال‌های آزاد و پایان بخش واکنش‌های اکسیداتیو می‌باشند. می‌توان افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در این پژوهش را به ترکیبات فنولی (فلاونوئیدها و پروآنتوسیانیدها) مرزنجوش ربط داد.

تحقیقات نشان داده است که گیاهان موجب تحریک ترشح آنزیم‌های پانکراسی، جذب و هضم ترکیبات مهم موجود در مواد مغذی می‌شوند (Frankic *et al*., 2009). بهبود نسبی شاخص‌های رشد در این پژوهش را می‌توان به این خاصیت گیاهان نسبت داد. ترکیبات موثر گیاهان مرزنجوش و علف‌چای نظیر تیمول، هایپرسین و فلاونوئیدها موجود نظیر کوئرستینتوانایی تحریک سیستم سروتونرژیکی را دارند (Sadee *et al*., 2005). با نظر به این موارد، امکان دارد افزایش سطح سروتونین در خون و سیستم عصبی ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی مرزنجوش و علف‌چای سبب بهبود شاخص های رشد شده باشد، که البته نیازمند بررسی‌های بیشتری است.

عصاره آبی گیاهانی مانند زیره سبز (*Cuminum cyminum*)، گشنیز (*Coriandrum sativum*) از خانواده (چتریان)، زردچوبه (*Curcuma longa*)، فلفل قرمز (*Capsicum annum*) (پاپریکا) ، فلفل سیاه (*Piper nigrum*)، زنجبیل (*Zingiber officinale*) و پیاز (*Allium cepa*) فعالیت آنزیم آمیلاز مترشحه از پانکراس را افزایش می‌دهند (Platel *et al*., 2002).

www.SID.ir

Archive of SID

Awad و همکاران (۲۰۱۲) نیز گزارش کردند که افزودن ۲درصد گزنه به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان فعالیت آنزیم آمیلاز را به میزان قابل ملاحظه‌ای افزایش داد. ترکیبات فعال مختلف موجود در افزودنی‌ها یا گیاهان دارویی با افزایش اسیدهای صفراوی و تحریک پانکراس، فعالیت آنزیم‌های گوارشی (لیپازها، آمیلازها و پروتئازها) و در نتیجه هضم و جذب مواد غذایی را افزایش می‌دهند (Srinivasan, 2005). پژوهشگران بهبود فرایندهای گوارشی توسط عصاره‌های گیاهی را به وجود محرک‌های رشد یا ترکیبات فعال موجود در آن‌ها (مانند فلاوونوییدها، آلکالوییدها و تانن-ها) نسبت می‌دهند (Bhosale *et al*., 2010).

۵.منابع

References

Adel, M., Pourgholam, R., Zorriehzahra, J., Ghiasi, M., 2016. Hemato–Immunological and biochemical parameters, skin antibacterial activity, and survival in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following the diet supplemented with *Mentha piperita* against *Yersinia ruckeri*. *Fish & shellfish immunology* 55, 267-273.

Adel, M., Safari, R., Pourgholam, R., Zorriehzahra, J., Esteban, M.Á., 2015. Dietary peppermint (*Mentha piperita*) extracts promote growth performance and increase the main humoral immune parameters (both at mucosal and systemic level) of Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877). *Fish & shellfish immunology* 47(1), 623-629.

Alishahi, M., Ghorbanpoor, M., Mesbah, M., Peyghan, R., 2011. Effect of *Viscum album* on anti *Aeromonas hydrophila* antibody titer in *Cyprinus carpio*. Scientific Conference on Medicinal Plants Indusrry Development in Iran. Tehran, Iran. 52-60.

Alishahi, M., Mesbah, M., 2012. Effects of Viscum album and *Nigella sativa* extracts on survival rate, growth factors and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in gold fish (*Carassius auratus*). *Journal of Veterinary Research* 67(3), 285-290.

Alishahi, M., Ranjbar, M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M., Razi Jalali, M., 2010. Effects of dietary *Aloe vera* on specific and nonspecific immunity of Common carp (*Cyprinus carpio*). *Iranian Journal of Veterinary Medicine* 4(3), 85-91.

Anilakumar, K.R., Saritha, V., Khanum, F., 2010. Antioxidant and antibacterial activity of *Aloe vera* gel extracts. *Pharmaceutical and Biological Archives* 1(4), 376-384.

Asadi, M.S., Mirvaghefei, A.R., Nematollahi, M.A., Banaee, M., Ahmadi, K., 2012. Effects of Watercress (*Nasturtium nasturtium*) extract on selected immunological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Open Veterinary Journal* 2(1), 32-39.

Awad, E., Austin, D., Lyndon, A.R., 2013. Effect of black cumin seed oil (*Nigella sativa*) and nettle extract (Quercetin) on enhancement of immunity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture* 388-39, 193-197.

Bilen, S., Ünal, S., Güvensoy, H., 2016. Effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and nettle (*Urtica dioica*) methanolic extracts on immune responses and resistance to *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 454, 90-94.

Bohlouli, S., Sadeghi, E., 2016. Growth performance and haematological and immunological indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings supplemented with dietary *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss. *Acta Veterinaria Brno* 85(3), 231-238.

Diaz-Sanchez, S., D'Souza, D., Biswas, D., Hanning, I., 2015. Botanical alternatives to antibiotics for use in organic poultry production. *Poultry science* 94(6), 1419-1430.

Ebrahimi, A., 2006. Nutrient requirements and feeding of finish for aquaculture. University Press, Isfahan. 310 p.

www.SID.ir

Archive of SID

Emadi, H., 2013. Aquaculture of *Oncorhynchus mykiss.* Aquatic Science Press, Iran. 263p.
Farahi, A., Kasiri, M., Sudagar, M., Soleimani Iraei, M., Zorriehzahra, S.M.J., 2012. Effect of dietary supplementation of *Melissa officinalis* and *Aloe vera* on hematological traits, lipid oxidation of carcass and performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Online Journal of Animal and Feed Research* 2(1), 1-5.
Haghighi, M., Sharif Rohani, M., 2013. The effects of powdered ginger (*Zingiber officinale*) on the haematological and immunological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Medicinal Plant and Herbal therapy research* 1(1), 8-12.
Hajibeglou, A., Sudagar, M., 2010. Immune Response of Common Carp (*Cyprinus carpio*) Fed with Herbal Iminunostimulants Diets. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 9(13), 1839-1847.
Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.S., 2011. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture* 317(1-4), 1-15.
Jiang, W., Liu, Y., Zheng, H., Zheng, Y., Xu, H., Lu, H., 2012. Immune regulation of avian influenza vaccine in hens using *Hypericum perforatum L.* methanol extraction. *Plant Omics*, 5(1), 40-45.
Jung, S.J.H., Kim, B., Yun, H., Kruk, Z.A., Jo, C., 2010. Effect of dietary mixture of gallic acid and linoleic acid on antioxidative potential and quality of breast meat from broilers. *Meat Science* 86(2), 520-526.
Metwally, M.A., 2009. Effects of Garlic (*Allium sativum*) on some antioxidant activities in Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*). *Fish and Marine Sciences* 1(1), 56-64.
Mohamed, E.A.K., 2011. Antidiabetic, antihypercholestermic and antioxidative effect of *Aloe vera* gel extract in alloxan induced diabetic rats. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 5(11), 1321-1327.
Mohammadi, M.J., Alishahi, M., Armoon, A., 2016. Effects of *Plantago ovata* extract on none specific immune parameters of the juvenile *Oncorhynchus mykiss*. *Veterinary Researches and Biological Products* 29(2), 97-105.
Ortuno, J., Esteban, M.A., Mulero, V., Meseguer, J., 1998. Methodology in fish diseases research. In: Methods for studying the haemolytic, chemoattractant and opsonic activities of seabream serum. Vol 1, *Albion Press Aberdeen*, pp 97–100.
Saeidi asl., M.R, Adel, M., Caipang, C.M.A., Dawood, A.O., 2017. Immunological responses and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles following dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*). *Fish & shellfish immunology* 71, 230-238.
Saremi, N., Mousavi, S.M., Zakeri, M., Zanguee, N., 2019. Effects of ethanolic extract of cumin seeds (*Cuminum cyminum*) on gastric enzymes and some serological parameters of *Cyprinus carpio* fingerlings. *Journal of Aquacalture Development* 12(4), 51-69.
Sheikhzadeh, N., Nofouzi, K., Delazar, A., Oushani, A.K., 2011. Immunomodulatory effects of decaffeinated green tea (*Camellia sinensis*) on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & shellfish immunology* 31(6), 1268-1269.
Siwicki, A.K., Anderson, D.P., 1993. Fish Disease Diagnosis and Prevention Methods. In: Nonspecific Defense Mechanisms Assay in Fish. II. Potential Killing Activity of Neutrophils and Macrophages Lysozyme Activity in Serum and Organs and Total Immunoglobulin Level in Serum. Poland, Olsztyn, pp105–112.
Subramanian, S., MacKinnon, S.h.L., Ross, N.W., 2007. A comparative study on innate immune parameters the epidermal mucus of various fish species. *Comparative Biochemistry and Physiology* 148, 256- 263.

www.SID.ir

Archive of SID

Takahashi, K., Mashiko, T., Akiba, Y., 2000. Effect of dietary concentration of xylitol on growth in male broiler chicks during immunological stress. *Poultry science* 79(5), 743-747.
Vaez, R., Mohammadiazarm, H., Mousavi, S.M., Rajabzadeh, E., 2016. Effect of herbal supplements and inulin on activity of antioxidant enzymes in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). *Iranian Veterinary Journal* 13(3), 115-122.
Van den Ende, W., Peshev, D., De Gara, L., 2011. Disease prevention by natural antioxidants and prebiotics acting as ROS scavengers in the gastrointestinal tract. *Trends in Food Science & Technology* 22(12), 689-697.
Yazdanparast, R., Bahramikia, S., Ardestani, A., 2008. *Nasturtioum officinale* reduces oxidative stress and enhances hyper cholesterolaemic rats. *Chemico- Biological Interactions* 172, 176-184.

www.SID.ir