Archive of SID

مجله علمی شیلات ایران DOI: 10.220092/ISFJ.2018.116698 سال بیست و هفتم/ شماره ۲/ تیر ۱۳۹۷

[DOI: 10.220092/ISFJ.2018.116698]

Downloaded from isfj.ir at 10:21 +0430 on Tuesday September 11th 2018

تأثیر مصرف خوراکی عصاره آبی– الکلی برگ زیتون در عملکرد رشد و برخی از فراسنجه‌های خونی و ایمنی در بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

عاطفه کریمی‌پاشاکی[۱]، محدث قاسمی[۱*]، سیدجلیل ذریه‌زهرا[۲]، مصطفی شریف‌روحانی[۲]، سیدمسعود حسینی[۳]

*mohades@yahoo.com

۱- پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندر انزلی، ایران
۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۳- گروه میکروبیولوژی و زیست فناوری میکروبی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، اوین، تهران، ایران

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۶ **تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۷**

چکیده

در این تحقیق اثرات غلظت های متفاوت عصاره آبی-الکلی برگ زیتون بر عملکرد رشد و برخی از فراسنجه های خونی و ایمنی در بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) ارزیابی شد. ۱۳۵ عدد بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۳/۴ ± ۱۵ گرم با دو جیره حاوی ۱ و ۵ گرم در کیلوگرم عصاره آبی– الکلی برگ زیتون با ۳ تکرار (طرح تصادفی) در ۹ آکواریم ۲۰ لیتری مجهز به هواده با تراکم ۱۵ عدد در هر آکواریوم، به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. بعد از ۸ هفته، ابتدا شاخص های رشد محاسبه و سپس خون گیری انجام شد و برخی شاخصهای خونی و ایمنی ماهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اختلاف معنادار در وزن نهائی، طول نهائی، درصد افزایش وزن بدن، شاخص رشد ویژه در ماهیان گروه تیمار نسبت شاهد مشاهده وجود نداشت ($p>0/05$). در هر دو تیمار تغذیه شده با عصاره برگ زیتون افزایش معنادار در تعداد گلبول های سفید و لنفوسیت و کاهش معنادار در ضریب تبدیل غذایی مشاهده شد ($p<0/05$). بیش ترین میزان لیزوزیم و IgM در تیمار تغذیه شده در جیره حاوی ۵ گرم در کیلوگرم عصاره برگ زیتون مشاهد شد ($p<0/05$). براساس نتایج مذکور، عصاره برگ زیتون تولید شده در استان گیلان در هر دو میزان ۱ و ۵ گرم در کیلوگرم منجر به کاهش ضریب تبدیل غذایی و بهبود برخی از شاخص های خونی و ایمنی در بچه ماهیان کپور پرورشی شد.

لغات کلیدی: عملکرد رشد، شاخص های خونی و ایمنی، عصاره برگ زیتون، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

* **نویسنده مسئول**

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.220092/ISFJ.2018.116698]
Downloaded from isfj.ir at 10:21 +0430 on Tuesday September 11th 2018

مقدمه

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 کپور معمولی (حسینی مشهدی و همکاران، ۱۳۹۶)، ماهی قزل آلا (Yin *et al.*, 2008)، تیلاپیا (Logambal *et al.*, 2000)، ماهی طلایی (Chen *et al.*, 2003) و ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*) (مهدوی و همکاران، ۱۳۹۵). مواد محرک ایمنی با تقویت سیستم دفاع غیراختصاصی و حتی اختصاصی قادر به مقابله با بیماری‌های عفونی می‌باشند و از آن جا که ماهی برخلاف پستانداران بیشتر به سیستم ایمنی غیراختصاصی متکی است (سلطانی، ۱۳۸۷)، بنابراین استفاده از مواد محرک ایمنی منجر به بهبود دفاع غیراختصاصی و ایجاد مقاومت در برابر عوامل بیماریزا و استرس زا در حین دوره پرورش می گردد (Sheikhzadeh *et al.*, 2012). به دلیل محدودیت های قانونی در استفاده از مواد دارویی شیمیایی مثل آنتی بیوتیک ها در غذای آبزیان مورد مصرف انسان، استفاده از عصاره های گیاهی طبیعی به منظور افزایش سرعت رشد و بهبود کارایی غذا در آبزیان گسترش زیادی پیدا کرده است (Francis *et al.*, 2001). 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 عفونت های مجاری ادراری و برطرف کننده سر درد کاربرد دارد (زرگری، ۱۳۷۵). گیاه زیتون (*Olea eurcpaea L.*) از خانواده Oleaceae می باشد. برگ درخت زیتون ضخیم، باریک، دائمی و همیشه سبز است (زرگری، ۱۳۷۵). زیتون، گیاه بومی استان گیلان محسوب می شود و در رودبار قدمت ۹۰۰ ساله دارد، استان گیلان در زمینه کشت زیتون جزو استان های برتر کشور است (اصلاح عربانی، ۱۳۸۴). برگ زیتون حاوی ترکیبات فنلی، ترپنی، ترکیبات محلول در چربی، کربوهیدرات ها، پروتئین، مواد معدنی و غیره می باشد. برگ های زیتون بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی و قدرت جذب رادیکال های آزاد را در بین بخش های مختلف درخت زیتون دارا می باشند. گیاه زیتون منجر به افزایش شاخص های رشد و بازماندگی و افزایش آنزیم های کبدی و شاخص های لیزوزیم و ایمونوگلوبولین M (IgM) می شود (Kisa *et al.*, 2018; Elsaaed *et al.*, 2014; Parsaei *et al.*, 2014; Al-Attar and Abu-Zeid., 2013)، در مطالعه Waterman و همکاران (۲۰۰۷) اثرات مثبت ضد باکتریایی و در مطالعه Afif saif (۲۰۱۴) اثرات مثبت ضد ویروسی این عصاره گزارش شد. کپور معمولی از خانواده کپورماهیان جزو مهم ترین ماهیان پرورشی جهان جهت تغذیه انسان می باشد (صابریان جویباری و همکاران، ۱۳۹۶). با توجه به اینکه پژوهشی در خصوص تأثیر عصاره برگ زیتون بر فراسنجه های ایمنی و خونی ماهی کپور صورت نگرفته بود، در تحقیق حاضر اثرات دو غلظت عصاره برگ درخت زیتون بر عملکرد رشد و برخی از شاخصهای خونی و ایمنی بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بررسی شد.

مواد و روش کار

مکان و مدت آزمایش

تمامی مراحل انجام این آزمایش در پژوهشکده آبزی پروی آبهای داخلی واقع در بندر انزلی و در بخش بهداشت آبزیان در زمستان سال ۱۳۹۵ به مدت ۸ هفته انجام شد.

نحوه عصاره گیری از برگ زیتون

برگ درخت زیتون از یکی از باغات زیتون استان گیلان واقع در شهرستان رودبار جمع آوری گردید و در دمای ۲۵°C و در سایه نگه داری شد و با کمک دست و آسیاب به شکل پودر درآمد، ۱۰۰ گرم از پودر حاصله با ۱۰۰۰ میلی لیتر اتانول (۷۰ درصد) به مدت ۷۲ ساعت مجاور شد و بعد از تبخیر عصاره هیدروالکلی در حمام آب (بن ماری) به کمک دستگاه Spray Dryer (مدل Buchi Mini Spraydryer) B-290)، خشک شد و به شکل پودر بسیار ریزی درآمد و تا زمان استفاده در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد (Moatari *et al.*, 2006).

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.220092/ISFJ.2018.116698]
Downloaded from isfj.ir at 10:21 +0430 on Tuesday September 11th 2018

شرایط نگهداری و تیمار بندی ماهیان

۱۳۵ عدد بچه ماهی کپور پرورشی از مزرعه پرورش ماهی خصوصی در رشت به ترتیب با میانگین وزنی و طولی ۳/۴±۱۵ گرم و ۰/۷۸±۹/۸ سانتی متر تهیه شد و به ۹ آکواریوم ۲۰ لیتری با تراکم ۱۵ عدد ماهی انتقال داده شدند. سازگاری ماهیان با جیره پایه به مدت دو هفته انجام گرفت. جیره پایه با ترکیب ۳۴/۹ درصد پروتئین، ۱۲/۸ درصد چربی، ۱۱/۲ درصد خاکستر، ۱۰ درصد رطوبت و ۳۱/۱ درصد کربوهیدرات کل، از شرکت سهامی دام، طیور و آبزیان روحین رشت تهیه شد. ماهیان به صورت تصادفی به دو گروه تیمار (دریافت کننده ۱ و ۵ گرم در کیلوگرم عصاره) و ۱ گروه شاهد تقسیم بندی شدند. برای آماده سازی جیره حاوی عصاره، عصاره برگ زیتون در مقادیر ۱ و ۵ گرم در کیلوگرم به ۵۰ گرم از جیره پایه افزوده شد و به مدت ۲۰ دقیقه با همزن برقی به طور کامل مخلوط گردید تا همگن شود. پس از افزودن مقداری آب به ترکیب و تشکیل خمیر، مخلوط از چرخ گوشت عبور داده شده تا غذا به پلت های استوانه ای شکل تبدیل گردد. در نهایت پلت ها در خشک کن در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شده و به اندازه دهان ماهیان قطعه قطعه گردیدند. میانگین دما، اکسیژن محلول و pH آب طی دوره پرورش به ترتیب ۱/۷±۱۷ درجه سانتی گراد، ۰/۴۱±۷/۲۳ میلی گرم در لیتر و ۰/۸۱±۷/۵۱ بود. بچه کپور ماهیان سه نوبت روزانه در طی ۸ هفته تغذیه شدند. پس از پایان دوره ۸ هفته ، آزمایشات مورد نظر بر آنها صورت گرفت.

بررسی شاخص های رشد

برای بررسی رشد ماهیان، از اندازه گیری شاخص های رشد شامل درصد افزایش وزن بدن (Weight Rate)، نرخ رشد ویژه (SGR= Specific Growth Rate)، ضریب تبدیل غذایی (FCR= Food Conversion Rate) و درصد بازماندگی (Survival Rate) استفاده شد (Lee, 2012):

وزن ابتدایی(گرم)/ وزن ابتدایی(گرم) – وزن انتهایی (گرم) × ۱۰۰ = درصد افزایش وزن

تعداد روزهای پرورش/ (Ln وزن انتهایی- Ln وزن ابتدایی) = نرخ رشد ویژه (SGR)

مقدار غذای خورده شده/ [وزن انتهایی(گرم) – وزن ابتدایی(گرم)] = ضریب تبدیل غذایی

تعداد ماهیان در ابتدای آزمایش/ تعداد ماهیان در پایان آزمایش ×۱۰۰ = درصد بازماندگی

اندازه گیری فراسنجه های خونی و ایمنی

در پایان آزمایش، خونگیری از ماهیان با استفاده از سرنگ انسولینی و از ورید ساقه دمی بصورت تصادفی انجام شد (از هر تیمار ۳ ماهی). تغذیه ماهیان ۲۴ ساعت قبل از خونگیری قطع شد. در هنگام خونگیری از مواد بیهوش کننده به علت احتمال تأثیر بر شاخص های خونی استفاده نشد (Torrecillas *et al*., 2011) و ۱ میلی لیتر خون برای جدا سازی سرم در لوله های اپندورف فاقد ماده ضد انعقاد هپارین و ۰/۵ میلی لیتر خون در لوله های اپندروف حاوی ماده ضد انعقاد هپارین جمع آوری شد، سپس توسط سانتریفوژ (مدل 5810R-eppendrof) به مدت ۱۰ دقیقه با دور (RPM) 3000 سانتریفوژ شد و سرم جدا شده در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. فراسنجه های خونی شامل تعداد گلبول های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول های سفید، شمارش افتراقی گلبول های سفید شامل لنفوسیت، ائوزنوفیل، نوتروفیل، مونوسیت، متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC) و فراسنجه های ایمنی شامل سنجش میزان لیزوزیم و ایمونوگلوبین M (IgM) با استفاده از روش های استاندارد اندازه گیری شدند. برای شمارش گلبول های سفید و قرمز خون از محلول Ress و لام نئوبار استفاده شد (Klontz, 1994). اندازه گیری هموگلوبین بر حسب واحد گرم در دسی لیتر با روش سیانومت هموگلوبین با استفاده از محلول درابکین در طول موج ۵۴۰ نانومتر انجام شد (Klontz, 1994). برای اندازه گیری هماتوکریت روش میکروهماتوکریت به مدت ۷ دقیقه با دور (RPM) ۱۰۰۰۰ بکار گرفته شد (Houston, 1990). حجم متوسط گلبول قرمز (MCV) با تقسیم

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.220092/ISFJ.2018.116698]
Downloaded from isfj.ir at 10:21 +0430 on Tuesday September 11th 2018

درصد هماتوکریت خون بر تعداد گلبول های قرمز بر نسبت میلیون در میلی متر مکعب ضربدر عدد ۱۰ و بر حسب واحد فمتولیتر (fl) محاسبه شد، متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) از تقسیم مقدار هموگلوبین برحسب گرم در دسی لیتر تقسیم بر تعداد یاخته های قرمز خون و بر حسب میلیون در میلی متر مکعب صربدر عدد ۱۰ بر حسب پیکوگرم (pg) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول های قرمز (MCHC) نیز از تقسیم مقدار هموگلوبین بر حسب گرم بر دسی لیتر تقسیم بر درصد هماتوکریت ضربدر عدد ۱۰۰ بر حسب درصد محاسبه گردید (Klontz, 1994). تشخیص افتراقی گلبول های سفید با تهیه گسترش خونی و رنگ آمیزی گیمسا و شمارش سلول ها با استفاده از روش زیگزاگ انجام پذیرفت (Gao *et al*., 2007; Klontz, 1994). برای سنجش IgM از روش نفلومتری Yeh و همکاران (۲۰۰۸) و برای سنجش میزان لیزوزیم سرمی از روش Sahoo و همکاران (۲۰۰۸) استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در پژوهش حاضر ابتدا نرمال بودن داده ها با آزمون کولموگروف– اسمیرنوف و آزمون همگنی گروه ها با آزمون Levene انجام پذیرفت. برای مقایسه میانگین بین تیمارهای تغذیه ای از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و برای جداسازی گروه های همگن از آزمون دانکن استفاده شد، معنی دار بودن گروه های مورد بررسی با استفاده از آزمون من– ویتنی مشخص گردید و $p<۰/۰۵$ به عنوان سطح آماری معنی دار در نظر گرفته شد. نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۱۹ برای تجزیه و تحلیل داده ها به کار برده شد.

نتایج

جدول‌های ۱، ۲ و ۳ نتایج شاخص های خونی، ایمنی و رشد را در بچه ماهیان کپور در پایان هفته هشتم نشان می دهند. ضریب تبدیل غذایی در هر دو تیمار نسبت به گروه شاهد کاهش معناداری نشان داد ($p<۰/۰۵$). شاخص هایی نظیر وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن، شاخص رشد ویژه در تیمار ۱ و ۵ گرم در کیلو گرم عصاره برگ زیتون نسبت به گروه شاهد افزایش معناداری نداشت ($p>۰/۰۵$). میزان هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلبول های قرمز، MCV، MCH و MCHC بین تیمارهای آزمایش و گروه شاهد اختلاف معناداری نشان ندادند ($p>۰/۰۵$). تعداد کل گلبول های سفید و لنفوسیت ها در ماهیان تغذیه شده با جیره های حاوی هر دو غلظت عصاره برگ زیتون نسبت به گروه شاهد افزایش معنادار را نشان دادند ($p<۰/۰۵$). ماهیان تغذیه شده با ۱ و ۵ گرم در کیلوگرم عصاره برگ درخت زیتون در شاخص های لیزوزیم و IgM افزایش معنادار را نسبت به گروه شاهد داشتند ($p <۰/۰۵$).

جدول ۱ : مقایسه شاخص های رشد بچه کپور ماهیان (*Cyprinus carpio*) در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم

Table 1: Comparison of carp fingerlings growth parameters (*Cyprinus carpio*) in different treatments at the end of the eighth week

شاخص های رشد	سطوح مختلف عصاره برگ زیتون (گرم)		
	۰ (شاهد)	۱	۵
وزن اولیه (گرم)	۱۵ ± ۴/۲^{b}	۱۵/۱±۳/ ۱^{b}	۱۵/۱±۲/۱^{b}
وزن نهائی (گرم)	۵/۲۸ ±۳/۱^{b}	۲۹/ ±۸/۱^{b}	۲۹/۶±۱/۸^{b}
طول کل اولیه (سانتی متر)	۹/۸ ±۰/ ۷۸^{b}	۹/۹±۱/۱^{b}	۹/۸±۴/۱^{b}
طول کل نهائی (سانتی متر)	۱۱/۹ ±۱/۱^{b}	۱۲/۱±۷/۲^{b}	۱۲/۴± ۷/۸^{b}
درصد افزایش وزن بدن	۴۷/۵ ±۱۰/۷۲ ^{b}	۴۸±۱/۰۱^{b}	۴۸/۸±۱/۲^{b}
ضریب تبدیل غذائی	۱۸/۵۱±۰/۲۶^{b}	۱۷/۸ ±۰/۱^{a}	۱۷/۲±۱/۱^{a}
شاخص رشد ویژه	۲/۰۳±۱/۱^{b}	۲/۰۶±۰/۵^{b}	۲/۱۲±۰/۱^{b}
درصد زنده مانی	۱۰۰^{b}	۱۰۰^{b}	۱۰۰^{b}

اعداد (میانگین ± انحراف معیار) با حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف به معنی وجود اختلاف معنادار می باشد ($p<۰/۰۵$)

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.220092/ISFJ.2018.116698]
Downloaded from isfj.ir at 10:21 +0430 on Tuesday September 11th 2018

جدول ۲ : مقایسه شاخص های خونی بچه کپور ماهیان (*Cyprinus carpio*) در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم

Table 2: Comparison carp fingerlings blood parameters (*Cyprinus carpio*) in different treatments at the end of the eighth week

شاخص های خونی	سطوح مختلف عصاره برگ زیتون (گرم)		
	۰ (شاهد)	۱	۵
هماتوکریت (درصد)	۳۵ ± ۳^{b}	۳۶/۰۲^{b}	۳۷/۱^{b}
هموگلبین (گرم در دسی لیتر)	۷/۴ ± ۰/۰۵^{b}	۷/۵ ± ۰/۱^{b}	۷/۶ ± ۰/۲۱^{b}
گلبول قرمز (تعداد × $۱۰^{۶}$)	۰/۷۹ ± ۰/۰۵^{b}	۰/۸۱ ± ۰/۰۱^{b}	۰/۸۳ ± ۰/۰۴^{b}
گلبول سفید (تعداد × $۱۰^{۳}$)	۳/۶ ± ۰/۷۱^{b}	۴/۸ ± ۱/۲۱^{a}	۵/۰۰ ± ۳/۰۱^{a}
حجم متوسط گلبول قرمز (MCV) (فمتولیتر)	۴۳۲/۵۷ ± ۷/۱۱^{b}	۴۳۴/۵۶ ± ۱/۲۳^{b}	۴۳۶/۱ ± ۰/۱^{b}
میانگین هموگلوبین یاخته ای (MCH) (پیکوگرم)	۸۷ ± ۱/۱^{b}	۸۹ ± ۲/۱^{b}	۹۰ ± ۳/۱^{b}
میانگین غلظت هموگلوبین یاخته ای (MCHC) (درصد)	۱۹^{b}	۲۰/۲ ± ۱/۲^{b}	۲۲ ± ۳/۱^{b}
لنفوسیت (درصد)	۶۵ ± ۳/۶۰^{b}	۷۸ ± ۴/۱ ^{a}	۸۱/۲ ± ۴/۱^{a}
مونوسیت (درصد)	۲/۶۶ ± ۱/۱۵^{b}	۲/۵ ± ۰/۲^{b}	۲/۰۰ ± ۰/۴^{b}
نوتروفیل (درصد)	۲۷/۶۶ ± ۲/۵۱^{b}	۲۸/۲۱ ± ۲/۴^{b}	۲۹/۶۵ ± ۰/۱^{b}
ائوزینوفیل (درصد)	۱/۶۶ ± ۰/۵۷^{b}	۱/۴۲ ± ۱/۲^{b}	۱/۳۵ ± ۰/۲^{b}

اعداد (میانگین ± انعراف معیار) با حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف به معنی وجود اختلاف معنادار می باشد ($p<۰/۰۵$)

جدول ۳ : مقایسه شاخص های ایمنی بچه کپور ماهیان(*Cyprinus carpio*) در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم

Tabke 3: Comparison of carp fingerlings Immune parameters (*Cyprinus carpio*) in different treatments at the end of the eighth week.

شاخص های ایمنی	سطوح مختلف عصاره برگ زیتون		
	۰ گرم (شاهد)	۱ گرم	۵ گرم
لیزوزیم (میکروگرم در میلی لیتر)	۳۹/۳۳ ± ۱۲/۵۱^{b}	۴۹/۹۱ ± ۱/۲^{a}	۵۱/۲ ± ۰/۷^{a}
ایمونوگلبولین M (میلی گرم در دسی لیتر)	۲۹ ± ۲/۸^{b}	۴۰/۱ ± ۰/۸^{a}	۴۱/۲ ± ۰/۹^{a}

اعداد (میانگین± انحراف معیار) با حروف متفاوت در هر ردیف به معنی وجود اختلاف معناداری می باشد ($p<۰/۰۵$).

بحث

بیماری های مختلف در ماهیان پرورشی زیان های اقتصادی فراوانی به صنعت آبزی پروری، وارد کرده است، هزینه استفاده از آنتی بیوتیک های گوناگون برای درمان بیماری ها از یک سو و نیز هزینه های مرتبط با عوارض نامطلوب استفاده از این آنتی بیوتیک ها از سویی دیگر منجر به این خسارتها شده اند. روش های مختلفی برای بهبود کیفیت و کمیت تولید آبزیان در آبزی پروری پیشنهاد شده است (Li *et al*., 2006; Syahidah *et al*., 2014)، یکی از این روش ها استفاده از گیاهان دارویی که اثرات مناسبی بر روی رشد، زنده مانی و نیز فعالیت ضد میکروبی دارند، می باشد (Immanuel *et al*., 2004). از هزاران سال قبل، گیاهان دارویی به عنوان محرک سیستم ایمنی بدن جانداران شناخته شدند. تمایل به استفاده از گیاهان دارویی در سرتاسر دنیا به خاطر ارزان بودن، در دسترس بودن و عوارض کمتر بر بدن جاندار و محیط زیست روز به روز در حال افزایش می باشد (Hai, 2015). تاکنون مطالعات فراوانی در خصوص ارتقاء ایمنی در ماهیان به واسطه استفاده از ترکیبات مختلف محرک ایمنی انجام شده که در این میان گیاهان به واسطه اثر مناسب و نداشتن آثار جانبی به کرات توصیه شده اند (Guojun *et al*., 2006). در تحقیق حاضر، برای اولین بار به بررسی اثرات عصاره برگ زیتون بر شاخص های رشد و فراسنجه های خونی و ایمنی در کپور معمولی

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.220092/ISFJ.2018.116698]
Downloaded from isfj.ir at 10:21 +0430 on Tuesday September 11th 2018

پرداخته شد و مشاهده گردید که در وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن، شاخص رشد ویژه، تیمارها نسبت به گروه شاهد اختلاف معنادار آماری نداشتند ($p > ۰/۰۵$) ولی کاهش معنادار ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای عصاره نسبت به شاهد مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). پائین بودن ضریب تبدیل غذا، یکی از عوامل اقتصادی بودن پرورش آبزیان است، به این دلیل که علاوه بر کاهش هزینه های غذا، از آلودگی های ثانویه آب محیط پرورش و به تبع آن کاهش پارامترهای کیفی آب جلوگیری می کند (فلاحتکار و همکاران، ۱۳۸۵). خون حساس ترین بافت بدن به تغییرات ایجاد شده در موجود زنده است و شناخت شاخص های خونی برای شناسایی بیماری ها و تعیین وضعیت بهداشتی آبزیان الزامی می باشد، گلبول های سفید یکی از مهم ترین سلول هایی هستند که می توانند واکنش های ایمنی غیر اختصاصی و ایمنی سلولی را در ماهیان تحریک کنند (سلطانی، ۱۳۸۷). تعداد گلبول های سفید و نسبت انواع آنها یکی از شاخص های مهم سلامتی و وضعیت سیستم ایمنی جانوران محسوب می شود (Shalaby *et al*., 2006). در تحقیق حاضر، تعداد گلبول های سفید و نیز درصد لنفوسیت ها در گروه های تیمار افزایشی معنادار نسبت به گروه شاهد داشتند ($p<۰/۰۵$). در ماهیان قسمت اعظم گلبول های سفید را لنفوسیت ها تشکیل می دهند (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹). در مطالعه حاضر نیز لنفوسیت ها بیشترین میزان گلبول های سفید خون با میزان ۸۱/۲– ۶۵٪ را داشتند در حقیقت افزایش تعداد لنفوسیت ها نشان دهنده افزایش توان ایمنی بدن جاندار در برابر عوامل بیماریزای مهاجم است و لنفوسیت ها تنها در برابر استرس، بیماری و طولانی شدن کمبود اکسیژن کاهش می یابند (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹). همچنین در مطالعه حاضر در گروه های تیمار نسبت به گروه شاهد اختلاف معناداری در میزان RBC و Hbو MCV و MCH و MCHC و هماتوکریت مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). همسو با نتایج مطالعه ما، برخی از تحقیقات نشان دادند که برخی از محرکهای ایمنی تأثیر آماری معنادار بر روی شمارش گلبول های قرمز خون نداشتند (Sahu *et al*., 2007; Kumar *et al*., 2007).

Turan Aladag (۲۰۱۷) اثر خوراکی روی (Zn) به تنهایی و نیز ترکیب روی و اولئوروپین را بر روی ماهی تیلاپیای نیل (*Orechromis niloticus*) بررسی کرد، در این تحقیق، میزان RBC و Hb و آنزیم های ALT و AST در تیمار روی به طور معناداری افزایش داشت در حالی که در تیمار ترکیب روی و اولئوروپین کاهش معنادار در شاخص های مدکور مشاهده گردید. بطور کلی تغییرات گلبول های قرمز خون ماهی به عوامل مختلفی از جمله گونه ماهی، نژاد ماهی، سن ماهی، جنس، تغییرات فصلی، شرایط اقلیمی، عوامل محیطی تنش زا، آلودگی ها و شرایط سیکل جنسی و موارد فیزیولوزیک بستگی دارد (Roberts and Houston, 1990; Mercaldo-Allen *et al*., 2003). Kisa و همکاران (۲۰۱۸) اثر اولئوروپین را در ماهی تیلاپیا (*Orechromis niloticus*) بررسی کردند، نتایج بیانگر ازدیاد معنادار آنزیم های ALP، AST و ALT و گلوکز سرم بود. همچنین Al-Attar و Abu-Zeid (۲۰۱۳) اثر زیتون و چای را در موشهایی که دچار مسمومیت تجربی با دیازینون بودند، بررسی کردند، گروه تیمار افزایش معنادار میزان آنزیم های ALT، AST، GGT، ALP و CK، کراتینین، گلوکز و کلسترول سرم را نشان داد. Parsaei و همکاران در سال ۲۰۱۴ به بررسی اثر برگ زیتون در شاخص های خونی و ایمنی جوجه های پرورشی پرداختند در گروه تیمار افزایش معنادار میزان تری گلیسیرید، کلسترول، گلوکز خون و آنزیم های کبدی مشاهده شد. در تحقیق حاضر افزایش معنادار میزان لیزوزیم در گروه های تیمار مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). لیزوزیم نخستین خط دفاعی در ممانعت از چسبندگی و موضعی شدن پاتوژن ها می باشد، افزایش میزان لیزوزیم سرم گویای بهبود وضعیت ایمنی ماهی است (سلطانی، ۱۳۸۷). گزارشاتی از افزایش لیزوزیم در ماهیان بعد از استفاده از محرک های ایمنی ارائه شده است (پورغلام و همکاران، ۱۳۹۲؛ Sheikhzadeh *et al*., 2012; Haghighi and Sharif Rohani, 2013). در تحقیق حاضر، میزان IgM نیز در گروه های تیمار افزایش معناداری نسبت به گروه شاهد داشت ($p<۰/۰۵$). ایمونوگلوبولین های سرم، ترکیبات اصلی سیستم ایمنی

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.116698]
Downloaded from isfj.ir at 10:21 +0430 on Tuesday September 11th 2018

هموارل بوده و IgM ایمونوگلوبولین اصلی در ماهیان می باشد، نقش اصلی ایمونوگلوبولین ها خنثی سازی ویروس ها و چسبیدن به باکتری ها و از بین بردن آنها می باشد (Magnadottir, 2010). در گزارشات دیگری نیز افزایش میزان IgM در ماهیان بعد از تغذیه از محرک های ایمنی مشاهده شد (Elsaaed *et al*., 2014؛ عطایی مهر و همکاران، ۱۳۹۳). با توجه به تمامی نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر، هر دو غلظت ۱ و ۵ گرم در کیلوگرم عصاره برگ زیتون برای بچه ماهی کپور اثرات مناسبی داشت، زیرا کاهش ضریب تبدیل غذایی، افزایش شاخصهای گلبول سفید، لنفوسیتها، لیزوزیم و IgM در بچه ماهیان کپور مشاهده شد.

تشکر و قدردانی

از ریاست محترم پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی و کلیه کارکنان بخش بهداشت و بیماری های آبزیان پژوهشکده که امکان انجام این تحقیق را فراهم آوردند، تشکر می شود.

منابع

اصلاح عربانی، ا.، ۱۳۸۴. کتاب گیلان، جلد سوم، انتشارات: گروه پژوهشگران ایران ، ۲۰۰ صفحه.

پورغلام، ح.، محسنی، م.، آق تومان، و. و توکلی، م.، ۱۳۹۲. پرورش بچه ماهیان با درصدهای مختلف غذای کنسانتره فرموله شده. مجله علمی شیلات ایران. ویژه نامه اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری، ۴۸-۳۷.

حسینی مشهدی، س.ح.، هدایتی فرد، م. و قبادی، ش.، ۱۳۹۶. تاثیر غلظتهای مختلف آسکوربیک اسید بر شاخصهای رشد و بازمتندگی بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۶ (۱): ۱۴-۱. DOI: 10.22092/isfj.2017.110326

زرگری، ع.، ۱۳۷۵. گیاهان دارویی، چاپ ششم، جلد سوم، موسسه انتشارات: دانشگاه تهران. ۲۸-۳۱۹.

سلطانی، م.، ۱۳۸۷. ایمنی شناسی ماهیان و سخت پوستان. انتشارات: دانشگاه تهران، ۲۶۴ صفحه.

صابریان جویباری، م.، قبادی، ش. و وطن دوست، ص.، ۱۳۹۶. تأثیر سطوح پری بیوتیک MAX-A بر شاخص های رشد، بازماندگی و ترکیبات لاشه در بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه توسعه آبزی پروری، ۱: ۷۵-۶۳.

عطایی مهر، ب.، باقری پ.، امتیازجو، م. و یوسفی ساهکلرودی، س.ف.، ۱۳۹۳. بررسی اثر گیاه آلوئه ورا بر تغییرات IgM، IgA، IgG، پروتئین کل و گلبولهای سفید ماهی قزل آلای رنگین کمان. مجله پژوهشهای جانوری، ۲۷ (۱): ۹۹-۸۹.

فلاحتکار، ب.، سلطانی، م.، ابطحی، ب.، کلباسی، م . ر.، پور کاظمی، م. و یاسمی، م.، ۱۳۸۵. تأثیر ویتامین C بر برخی پارامترهای رشد، نرخ بازماندگی و شاخص کبدی در فیل ماهی پرورشی. مجله پژوهش و سازندگی. ۷۲: ۱۰۳-۹۸.

کاظمی، ر.، پور دهقانی، م.، یوسفی جوردهی، ا.، یارمحمدی، م. و نصری تجن، م.، ۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون شناسی ماهیان. نشر بازرگان. ۱۹۴ صفحه.

مهدوی، س.، یگانه، س.، فیروزبخش، ف. و جانی خلیلی، خ.، ۱۳۹۵. اثرات اسانس رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر برخی از فراسنجه های بیوشیمیایی سرم و مقاومت به استرس شوری در بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۵ (۴): ۱۶-۱. DOI:10.22092/isfj.2017.110294

Afifi saif, M., 2014. Studies on the effect of olive leaf extract on a model of DNA or RNA Virus. Ph.D thesis. Veterinary Medicine. Kafrelsheikh University.

Al-Attar, A.M. and Abu Zaid, I.M., 2013. Effect of Tea (*Camellia sinesis*) and Olive (*Olea europaea L.*) leaves extracts on male mice exposed to diazinon. *Biomed Research International Journal*, 1-6. DOI: 10.1155/2013/461415.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.220092/ISFJ.2018.116698]
Downloaded from isfj.ir at 10:21 +0430 on Tuesday September 11th 2018

Chen, X., Wu, Z., Yin, J. and Li, L., 2003. Effects of four species of herbs on immune function of *Carassius auratus gibelio*. *Journal of Fisheries Science of China*, 10:36-40.

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.

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

Gao, Z., Wang, W., Abbas, K., Zhou, X., Yang, Y., Dianna, JS., Wang, H., Li, Y. and Sun, Y., 2007. Heamatological characterization of Loach *Misgurnus anguillicaudatus*: Coparison among diploid, triploid and tetraploid specimens. *Comparative Biochemistry and Physiology Journal*, 147:1001-1008. DOI: 10.1016/j.cbpa.2007.03.006.

Guojun, Y., Galina, J., Timea, R., Pao Xu Xie, J. and Zsigmond, J., 2006. Effect of two Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non-specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Journal*. 253: 39-47. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.06.038.

Haghighi, M., and Sharif Rohani, M., 2013. The effect of powdered ginger (*Zingiber officinale*) on the haematological and immunological parameters of rainbow trout (*onchorhynchus mykiss)*. *Journal of Medicinal plant and Herbal Therapy Research*, 1:8-12. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.03.014.

Hai, N.V., 2015. The use of medical plants as immune stimulants in aquaculture: A review. *Aquaculture Jouranal*, 15: 153-154. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.03.014.

Houston, A.H., 1990. Blood and Circulation in Moyle(ed) Methods for fish biology. American Fisheries Scoiety. 273-334.

Immanuel, G., Vincybai, V.C., Sivaram, V., Palavesam, A. and Marian, M.P., 2004. Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp (*Penaeus indicus)* juveniles. *Aquaculture*, 236: 53-65. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2003.11.033.

Kisa, A., Akyuz, M., Yeter Cogun, H., Kordali, S., Usanmaz Bozhuyuk, A., Tezel, B., Siltelioglu, U., Anil, B. and 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. DOI: 10.25135/rnp.23.17.07.126.

Klontz, G.W., 1994. Fish Hematology., In: Techniques in Fish Immunology., Stolen,

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.220092/ISFJ.2018.116698]
Downloaded from isfj.ir at 10:21 +0430 on Tuesday September 11th 2018

J.S., Flecher, A.F., Rowely, T,C., Zelikoff, S.L., Kaattari and S.A. Smith (Eds)., 2:121-132.

Kumar, Jha., A., Pal, A.K., Sahu, N.P, Kumar, S. and Mukherejee, S.C., 2007. Haemato-Medicinal plants as immunostimulants for health management in Indian cat fish. *Journal of Coastal Life Medicine*, 2(6):426-430. DOI: 10.12980/JCLM.2.201414B2.

Lee, D-H., Ra, C-S., Song, Y-H., Sung, K-H. and Kim, J-D., 2012. Effects of dietary Garlic extract on growth, feed utilization and whole body composition of juvenile starlet sturgeon (*Asipenser ruthenus*). *Asian-Austalas Jouranal Animal Science*, 25(4):577-583.
DOI: 10.5713/ajas.2012.12012.

Li, J., Tan, B., Mai, K., Ai, Q., Zhang, W., Xu, W., Liufu, Z. and Ma, H., 2006. Comparative study between probiotic bacterium *Arthrobacter* XE-7 and chloramphenicol on protection of *Penaeus chinensis* post-larvae from pathogenic vibrios. *Aquaculture*, 253: 140-147. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.07.040.

Logambal, S.M., Venkatalashmi, S. and Mechael, R.D., 2000. Immunostimulatory effect of leaf extract of Ocimum sanctum Linn. In *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Hydrobiologia Journal*, 430:113-120. DOI: 10.1023/A:1004029332114.

Magnadottir, B., 2010. Immunological control of fish diseases. Mar. Biotechnology Journal, 12: 361- 379. DOI: 10.1007/s10126-010-9279-x.

Mercaldo-Allen, R., Dawson, M.A., Kuroput, C.A., Kapareiko, D., 2003. Variability in blood chemistry of yellowtail flounder, Limanda ferruginea, with regard to sex, season, and geographic location. Woods Hole, Mass: U.S. Dept. of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Marine Fisheries Service, Northeast Fisheries Science Center. 8-10 Pp.

Moatari, A., Nekooeian, A. and Motamedifard, M., 2006. The Anti-influenza Virus Activity of Hydroalcoholic Extract of Olive Leaves. *Iranian Journsl of Pharmaceutical Science*, 2(3):163-68.

Parsaei, S., Amini, Z. and 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. DOI: 10.5713/ajas.14.0369.

Roberts, T.R. and Houston, D.H., 1990. Metabolic pathways of agrochemicals part2: Insectisides and fungicides. The royal society chemistry. Cambridge. UK. 1998.

Sahoo, P.K., Mahapatra, K.D., Saha, J.N., Barat, A., Sahoo, M., Mahanty, B.R., Gjerde, B., Qdegard, J., Rye, M. and Salte, R., 2008. Family asoociation between immune parameters and resistance of Aeromonas hydrophila infection in the Indian major carp, *Labeo rohita*. *Fish and Shellfish Immunology*, 25:163-169. DOI: 10.1016/j.fsi.2008.04.003.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.220092/ISFJ.2018.116698]
Downloaded from isfj.ir at 10:21 +0430 on Tuesday September 11th 2018

Sahu, S., Das, B.K., Pradham, J., Mohapatra, B.C., Mishra, B.K. and Sarangi, N., 2007. Effect of *Magnifera indica* Kernel as a food additive on immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita* fingerlings. *Fish and Shellfish Immunology*, 23:109-118. DOI: 10.1016/j.fsi.2006.09.009.

Shalaby, A.M., Khattab, Y.A. and Abdel Rahman, A.M., 2006. Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Venomous Animals toxins Including Tropical Diseases*, 12:172-201. DOI: 10.1590/S1678-91992006000200003.

Sheikhzadeh, N., Karimi Pashaki, A., Nofouzi, K., Heidarieh, M. and Tayefi-Nasrabadi, H., 2012. Effects of dietary Ergosan on cutaneous mucosal immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shelfish Immunology*, 12:24-28. DOI: 10.1016/j.fsi.2011.11.028.

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

Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, M.J., Montero, D., Gines, R., Sweetman, J. and Zquierdo, M.S., 2011. Improved feed utilization, intestinal mucus production and immune parameters in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). *Aquaculture Nutrition Journal*, 17(2): 223-233. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2009.00730.x.

Turan Aladog, A., 2017. Some enzymatic and hematologic parameters of Nile fish (*Oreochromis niloticus*) in zinc(zn) and zinc+oleoropein (zn+OE) exposure. The Turkish Journal of Occupational/Environmental medicine and safety, 2(1): 211-216.

Waterman, E. and Lockwood, B., 2007. Active compomemts and clinical application of Olive oil. *Alternative Medicine Review Journal*, 12(4):331-342.

Yeh, S.P., Chang, C.A., Chang, C.Y., Li, C.H. and Chang, W., 2008. Diatery sodium alginate administration affects fingerling growth and resistance to streptococcus sp. And iridiovirus and juvenile non-specific immune response of the orange spotted grouper, *Epinephelus coioides. Fish and Shellfish Immunology*, 25: 19-27. DOI: 10.1016/j.fsi.2007.11.011.

Yin, G., Ardo, L., Jeney, Z., Xu, P. and Jeey, G., 2008. Chinese herbs (*Lonicera japonica* and *Ganoderma luciadum*) enhance non-specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus*, and protection against *Aeromonas hydrophila*. *Aquacultture Journal*, 269-282.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.220092/ISFJ.2018.116698]

Downloaded from isfj.ir at 10:21 +0430 on Tuesday September 11th 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

Karimi Pashaki A.[1], Ghasemi M.[1*], Zorrieh Zahra S.J.[2], Shrif Rohani M.[2], Hosseini S.M.[3]

[*]mohades@yahoo.com

1- Inland Water Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran
2- Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
3- Department of Microbiology and Micorbiotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, University of Shahid Beheshti, Evin, Tehran, Iran

Abstract

This study evaluated the effects of different concentrations of olive leaf aqueous-alcoholic extract on growth performance and some blood and immune parameters in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. A total of 135 Common carp fingerlings with an average weight of 15 ± 3.4 g were fed with two diets containing 1 and 5 g/kg of aqueous-alcoholic extract of olive leaf randomly allotted to triplicate groups with 15 fish in each group for 8 weeks. After 8 weeks, growth parameters and some hematological and immunological parameters were assessed. The results showed that there was no significant difference in final weight, final length, weight rate, specific growth rate in two treatment groups ($p>0.05$). In both treated with olive leaf extract, there was a significant increase in the number of white blood cells and lymphocytes and a significant decrease in food conversion rate ($p<0.05$). The highest amount of lysozyme and IgM was observed in the diet fed with 5 g/kg olive leaf extract ($p<0.05$). According to the results, olive leaf extract in Gilan province, Iran, at both levels of 1 and 5 g/kg resulted in reduction of food conversion ratio and improvement of some blood and immune parameters in common carp fingerlings.

Keywords: Growth performance, Blood and Immune parameters, Olive leaf extract, Common carp (*Cyprinus carpio*)

[*]Corresponding author

www.SID.ir