فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۴۶، جلد ۱۲، شماره۳، تابستان ۹۸، صفحه ۲۷ تا ۳۶
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: ۱۷۳۵-۹۸۸۰

تاثیر عصاره گیاه به‌لیمو *Aloysia citrodora* بر عملکرد رشد، ترکیبات لاشه و برخی آنزیم‌های کبدی در ماهی قزل آلای رنگین‌کمان(*Oncorhynchus mykiss*)

علی عادلی[۱]، **مهشید شاملوفر**[۱]، رضا اکرمی[۱]
۱-گروه شیلات، واحد آزاد شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران. **shamloofar@gmail.com**

تاریخ دریافت: ۹۸/۲/۵ تاریخ پذیرش:۹۸/۳/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از محرک‌های رشد با منشأ طبیعی به‌دلیل نداشتن اثرات زیست محیطی مخرب در سال‌های گذشته مورد توجه بوده است. از این رو این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره گیاه به‌لیمو بر روی عملکرد رشد، ترکیبات لاشه و برخی آنزیم‌های کبدی ماهی قزل آلای رنگین‌کمان(*Oncorhynchus mykiss*) انجام گردید.

روش کار: ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن متوسط ۱/۳۱±۲۵/۵۲ گرم به مدت ٦ هفته در ٤ تیمار(تیمار یک یا شاهد بدون افزودن عصاره، تیمار دو ۲/۵، تیمار سه ۵ و تیمار چهار ۷ گرم عصاره به لیمو در هر کیلوگرم جیره غذایی) و ۳ تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند. در پایان دوره علاوه بر وزن ماهیان، ترکیبات لاشه شامل رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر اندازه‌گیری شد. هم چنین به منظور اندازه‌گیری آنزیم‌های آسپارتات آمینو ترانسفراز(AST)، آلانین آمینو ترانسفراز(ALT) و آلکالین فسفاتاز خون‌گیری از ماهیان از ورید پشتی انجام گرفت.

یافته‌ها: بیشترین میزان وزن به دست آمده، نرخ رشد ویژه و بهترین کارایی پروتئین در تیمار ٤ مشاهده گردید که اختلاف معنی-داری با تیمار شاهد داشت(P<۰/۰۵). هم‌چنین کم‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار ٤ مشاهده شد که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت(P<۰/۰۵). میزان بازماندگی در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نداشت(P>۰/۰۵). نتایج به دست آمده از آنالیز ترکیبات تقریبی لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف نشان نداد(P>۰/۰۵). نتایج حاصل از آنالیز آنزیم‌های کبدی بررسی شد و اختلاف معنی‌داری بین میزان AST، ALT و آلکالین فسفاتاز بین تیمارهای مختلف دیده نشد(P>۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده عصاره گیاه به‌لیمو می‌تواند عملکرد رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را بهبود بخشد و تاثیر منفی در عملکرد آنزیم‌های کبدی AST، ALT و ALP نداشته باشد.

واژه‌های کلیدی: عصاره به‌لیمو، قزل‌آلای رنگین کمان، رشد، ترکیب لاشه، آنزیم‌های کبدی.

مقدمه

در حال حاضر با توجه به افزایش جمعیت جهان و نابودی منابع طبیعی در اثر آلودگی‌های به وجود آمده توسط بشر و بهره‌برداری ناپایدار از منابع طبیعی، کمبود غذا بزرگ‌ترین خطری است که جوامع بشری را تهدید می‌کند. افزایش تولید پرتئین از طریق افزایش صید و افزایش آبزی‌پروری امکان‌پذیر است، ولی با توجه به محدود شدن صید از طریق منابع آبی، آبزی‌پروری به عنوان یک راه‌کار اساسی، می‌تواند از طریق تامین پروتئین مورد نیاز انسان، نقش مهمی را ایفا کند(۱۰). از آن‌جایی که توجیه اقتصادی پرورش آبزیان بسیار حائز اهمیت می‌باشد، جنبه‌های مختلف تولید و پرورش آبزیان مانند رشد و بقا و نیز راه‌های افزایش مقاومت و ایمنی ماهیان نسبت به بیماری‌ها مورد بررسی و تحقیق قرار می-گیرد. حداکثر سوددهی در آبزی پروری از طریق بهبود شرایط کیفی آب، افزایش تراکم، استفاده از مکمل-های(آنتی‌بیوتیکی، گیاهی و غیره) کنترل بیماری‌ها،

www.SID.ir

بهبود جیره‌های غذایی فرموله شده، استفاده از تکنولوژی‌های نوین پرورش و انتخاب گونه مناسب انجام می‌گیرد(۱۱). از دیگر روش‌های افزایش تولید، می‌توان به کنترل بیماری اشاره کرد که در این زمینه استفاده از داروهاو ترکیبات گیاهی ضد میکروبی(آنتی‌بیوتیک و ترکیبات گیاهی) مطرح گردیدند البته برخی از این مواد در کنار استفاده از مقادیر بالای آن‌ها منجر به بهبود رشد و مقابله با بیماری ها می‌شود اما خود این مواد باعث ایجاد مشکلات جدیدی در بخش تولید شده است که مقاوم شدن عوامل بیماری زا(۸)، تغییر فلور میکروبی روده(که باعث تغییرات در سلامت میزبان می شود) به سوی فلور نامتعادل، انتقال این مواد به انسان‌ها(بزرگنمایی زیستی)، آلودگی های زیست‌محیطی و افزایش هزینه-های جاری تولید ماهی برخی از این مشکلات هستند(۱۱). این تغییرات در آبزیان باعث شده است که در اغلب کشورهای آمریکایی و اروپایی، استفاده از آنتی بیوتیک‌ها ممنوع و یا با محدودیت‌های شدیدی مواجه گردد(۲۳، ۵). امکان جایگزینی مواد افزودنی جدید طبیعی به جای آنتی‌بیوتیک‌ها و هورمون‌ها در رژیم غذایی حیوانات در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. برخی از آن‌ها نشان داده‌اند که می توان برخی از مواد گیاهی مانند عصاره یا برخی از ترکیبات گیاهی مختلف را برای افزایش کارایی جیره به آن افزود(۱۶). مکمل‌ها و داروهای گیاهی به عنوان تحریک کننده‌ی رشد و ایمنی هزاران سال است که توسط انسان-ها مصرف می‌شود، این دسته از گیاهان حاوی مواد و ترکیبات فعالی مانند پلی ساکاریدها، آلکالوئیدها، یا فلاونوئیدها هستند. به‌کارگیری این گیاهان در آزمایشات حیوانات دیگر از جمله موش، مرغ، و حتی لاین‌های سلول‌های انسانی موید تحریک‌کنندگی رشد و ایمنی این گیاهان بودند، از همین روی در سال‌های اخیر علاقه و تمایل زیادی برای به‌کارگیری این گیاهان در جیره ی آبزیان ایجاد شده است(۲۰، ۱۵). گیاه به‌لیمو Lemon verbena با نام علمی *Aloysia triphylla* یا *Aloysia citriodora* و *Lippia citriodora* درختچه‌ای خزان-پذیر از خانواده‌ی شاهپسند(Verbenaceae) است که ارتفاع گیاه بسته به شرایط آب و هوایی متغیر و از ۵۰۰-۵۰ سانتی‌متر می‌باشد و دارای ارزش دارویی بالایی می-باشد، برگ‌ها و اندام رویشی این گیاه دارای اسانس و موادی می‌باشد که خاصیت آرام بخشی و تسکین‌دهنده اعصاب، تب بر، مسکن، ضدنفخ و کمک‌کننده به هضم غذا را دارد(۱). ترکیبات اسانس برگ‌های به‌لیموی تهیه شده از مناطق ایرانی شامل ژرانیول، نرول، نرال، ژرانیال، لیمونن و ۱و۸-سینتول، اسپاتولنول و آلفا-کورکومن می-باشند(۱۹). اما عمده‌ترین ترکیبات اسانس در برگ به لیمو لیمونن، ۱و۸-سینئول، ژرانیال، نرال، بتا-گوانین، اسپاتولنول و سایوفیلن اکسید گزارش شده است، برگ-های به‌لیمو دارای اسیدهای فنولیک و فنیل پروپانوئیدها می‌باشند(۲۲). در مطالعات اخیر اثبات شده است که عصاره گیاه به‌لیمو از طریق جلوگیری از افزایش پلاسمای سرم منجر به کاهش استرس در برخی آبزیان شده که‌اثر آرام‌بخشی و بیهوشی برای این ماهیان داشته است(۳۰، ۲۲). هم‌چنین استفاده از اسانس گیاه به‌لیمو فاکتورهای رشد را در ماهی کپور معمولی بهبود بخشیده است(۱۳). ترکیبات فنولی و ترپنوئیدها(Terpenoids) مکمل‌های گیاهی اثر آنتی اکسیدانی(جاذب رادیکال-های آزاد) دارند. این به نوبه خود منجر به تغییر فلور روده خواهد شد، بنابراین منجر به افزایش هضم‌پذیری و جذب مواد غذایی، منجر به تغییرات مورفولوژیکی و بافت شناختی در مسیر گوارشی و بهبود پارامترهای ایمنی خواهد شد(۱۴). ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از خانواده آزاد ماهیان با نام علمی *Oncorhynchu smykiss* و نام انگلیسی Rainbow trout در دسته ماهیان سردابی تقسیم‌بندی می‌شود. در میان آزادماهیان این گونه، تنها

Archive of SID

www.SID.ir

گونه‌ای است که برای پرورش بسیار مناسب تشخیص داده شده است، چرا که در برابر تغییرات محیطی نظیر تغییر مقدار اکسیژن ودی‌اکسید کربن محلول در آب، آلودگی‌ها و درجه حرارت، مقاوم بوده و از سرعت رشد مناسبی برخوردار است. به علاوه این‌که به‌راحتی از غذاهای دستی استفاده می‌کند(۱۲).با توجه به نیاز جمعیت کشور به دسترسی به منابع پروتئینی سالم و استفاده بهینه از منابع آبی، پرورش ماهی قزل‌الای رنگین-کمان در کشور در سال‌های اخیر توسعه زیادی یافته است. میزان تولید ماهی قزل‌الای رنگین کمان در سال ۱۳۹۶ در ایران در حدود ۱۶۰ هزار تن بوده‌است که بزرگترین تولید کننده این ماهی در آب شیرین در جهان می‌باشد.

بنابراین با توجه به اهمیت فاکتورهایی از قبیل محتوی آنتی اکسیدانی این گیاه و احتمال تحریک کنندگی رشد و ایمنی گیاه به‌لیمو و با توجه به این‌که تنها راه توجیه پذیر ارائه و در اختیار دادن این مواد تحریک کننده رشد و ایمنی از طریق تغذیه می‌باشد در بررسی حاضر سعی گردید تا اثر بخش بودن این ماده گیاهی در جیره آبزیان اثبات و بهترین میزان مورد استفاده از این گیاه جهت کارایی مناسب و اثربخشی آن به عنوان محرک رشد در بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان معرفی گردد.

مواد و روش ها

تهیه ماهی

۳۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن متوسط ۲۵ گرم از کارگاه تکثیر و پرورش معتبر در استان گلستان تهیه شد و به سالن آبزی‌پروری دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر انتقال یافت. این ماهیان در شرایط محیطی مشابه در داخل تانک‌های فایبرگلاس مستطیلی ۵۰۰ لیتری به مدت ۲ هفته جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاهی نگه‌داری شدند. حجم آب‌گیری در هر تانک ۲۵۰ لیتر و تعداد ماهیان هر تانک ۲۰ قطعه بود. در طول این مدت از جیره تجاری قزل آلای رنگین کمان ببرای تغذیه ماهیان استفاده شد. ترکیبات تقریبی جیره استفاده شده(بر حسب درصدی از وزن مرطوب) شامل ٪۱۰/۲ رطوبت، ٪۴۱ پروتئین، ٪ ۱۴/۱ چربی و ٪۷/۲ خاکستر بود.

عصاره گیاهی

عصاره اتانولی گیاه به‌لیمو از شرکت گیاه اسانس شهرستان گرگان، استان گلستان تهیه شد.

غذا دهی

در این مطالعه برای تغذیه ماهیان از جیره مخصوص قزل‌آلای رنگین‌کمان ساخت شرکت فرادانه استفاده گردید. برای آماده سازی جیره های آزمایشی عصاره گیاه به‌لیمو تهیه شده به نسبت‌های تعیین شده به جیره ها به روش اسپری کردن اضافه شد(۲۱). پس از انجام این مراحل غذا تا موقع استفاده در پلاستیک‌های دو جداره در یخچال نگهداری و پس از سازگاری کامل بچه ماهیان با جیره‌های آزمایشی و شرایط پرورش، تعداد ۲۴۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان انگشت قد با میانگین وزنی ۱/۳۱±۲۵/۵۲ گرم در ۱۲ عدد حوضچه فایبرگلاس توزیع گردیدند. در هر حوضچه ۲۰ قطعه ماهی قرار گرفت.در طی دوره غذادهی، میزان غذای روزانه بر اساس ۲/۵ درصد وزن بدن با دفعات ۲ بار در روز و به مدت ۶ هفته انجام شد(۲۱). دوره غذادهی به مدت شش هفته ادامه یافت. دمای آب نیز در طول دوره بین ۱۴-۱۷ درجه سانتی گراد بود.

زیست‌سنجی

برای آگاهی از عملکرد جیره‌های غذایی و چگونگی رشد ماهیان، در ابتدای دوره پرورش و در طول دوره پرورش هر ۱۵ روز ماهیان زیست‌سنجی شدند. برای انجام این کار تمام ماهیان موجود در حوضچه با ترازوی با دقت ۰/۰۱ گرم توزین و طول کل آن‌ها نیز با خط‌کش با دقت ۱ میلی‌متر اندازه‌گیری می‌گردید. ۲۴ ساعت قبل

Archive of SID

www.SID.ir

از زیست‌سنجی و در روزی که زیست‌سنجی انجام می‌شد ماهیان تغذیه نمی‌شدند.

نمونه‌برداری

در پایان دوره پرورش به ماهیان جوان ۲۴ ساعت قبل از کشتار غذا داده نشد. تمام ماهیان به‌طور انفرادی وزن و طول کل آن‌ها نیز اندازه‌گیری شد. از هر تکرار ۳ ماهی(هر تیمار ۹ ماهی) برای خون‌گیری و انجام آنالیز‌های شیمیایی از بافت به‌صورت تصادفی انتخاب گردیدند. بافت‌های نمونه‌برداری شده پس از خشک شدن در آون و اندازه‌گیری رطوبت، تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگه‌داری شدند.

فاکتورهای رشد، تغذیه و بازماندگی:

تمامی پارامترهای مربوط از طریق فرمول‌های معتبر مورد محاسبه قرار گرفت(۲).

- افزایش وزن بدن(BWI): میانگین وزن نهایی- میانگین وزن اولیه
- ضریب تبدیل غذایی(FCR): کل غذای خورده شده/ میزان افزایش ون بدست آمده
- ضرب رشد ویژه(SGR): (لگاریتم میانگین وزن نهایی- لگاریتم میانگین وزن اولیه)/ تعداد روزهای پرورش
- رشد روزانه(GR): (میانگین وزن نهایی – میانگین وزن اولیه)/تعداد روزهای پرورش
- ضریب چاقی(CF): [میانگین وزن نهایی (طول کل بدن به توان ۳)] × ۱۰۰
- غذا خورده شد(FI): مقدار کل غذای خورده شده توسط هر ماهی به گرم / [(میزان افزایش وزن بدن/۲)×(تعداد روزهای پرورش)]
- میزان بازماندگی(SR): (تعداد ماهیان در ابتدای دوره پرورش / تعداد ماهیان موجود در انتهای دوره پرورش) × ۱۰۰

آنالیز شیمیایی ترکیبات لاشه:

در انتهای دوره آزمایش، ترکیبات لاشه تیمارهای مختلف(۳ عدد بچه ماهی از هر تکرار) به طور تصادفی انتخاب و سپس به آزمایشگاه منتقل و فاکتورهایی هم‌چون رطوبت، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر با استفاده از روش استاندارد AOAC(۳)آنالیز شد.

آنزیم‌های کبدی

آزمایشات مربوط به آنزیم‌های کبدی شامل آسپارتات آمینو ترانسفراز(AST)، آلانین آمینو ترانسفراز(ALT) و آلکالین فسفاتاز پس از سانتریفوژ کردن خون و جدا نمودن پلاسما توسط کیت‌های آزمایشی مربوطه در آزمایشگاه کاوش واقع در شهر گرگان انجام شد.

تحلیل آماری

این مطالعه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار آزمایشی و یک تیمار شاهد که هر کدام دارای ۳ تکرار بودند انجام پذیرفت. ابتدا جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها، تمام داده‌های به‌دست آمده توسط آزمون نرمالیتی کولموگروف و اسمیرنوف مورد سنجش قرار گرفت. سپس تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به شاخص‌های مختلف عملکرد رشد، تغذیه و بازماندگی، شاخص های خونی، بیوشمیایی، ایمنی غیر اختصاصی و آنالیز ترکیب فیله و کبد از طریق آزمون آنالیز واریانس یک طرفه(One way ANOVA) و آزمون تعقیبی دانکن(Duncan) و توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ در سطح احتمال ۵ ٪ خطا انجام شد

نتایج

در طول دوره آزمایش تمام جیره‌های غذایی به‌خوبی توسط ماهیان مورد استفاده قرار گرفتند و غذای خورده نشده مشاهده نشد. در جدول ۲ شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای‌رنگین کمان آمده است. بقا در همه تیمارها ۱۰۰ درصد بود. بیشترین میزان وزن پایانی، وزن گرفته شده، نرخ رشد ویژه و کارایی پروتیین در تیمار ۴ با ۷ گرم عصاره گیاهی در کیلوگرم جیره غذایی دیده شد

Archive of SID

www.SID.ir

که با تیمار شاهد اختلاف معنی داری داشت($P<0/05$). بیشترین میزان ضریب تبدیل غذایی و غذای خورده شده در تیمار شاهد مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت($P<0/05$). جدول ۱ میزان عصاره در هر تیمار مشخص شده است.

جدول ۱- تیماربندی و میزان عصاره گیاه به لیمو در هر تیمار

تیمار ۱ (تیمار شاهد)	**بدون افزودن عصاره گیاه به لیمو**
تیمار ۲	۲/۵ گرم عصاره به‌لیمو در کیلوگرم جیره غذایی
تیمار ۳	۵ گرم عصاره به‌لیمو در کیلوگرم جیره غذایی
تیمار ٤	۷ گرم عصاره به‌لیمو در کیلوگرم جیره غذایی

جدول ۲-شاخص‌های رشد ماهی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره گیاه به‌لیمو

شاخص/تیمار	۱	۲	۳	٤
وزن اولیه (گرم)	۲۸/۷±۱/۷۸^{a}	۲۵/۲۸±۲/۳۶^{a}	۲۵/۲۳±۲/۱۸^{a}	۲۸/۳۸±۰/۸۸^{a}
وزن پایانی (گرم)	۴۶/۴۳±۰/۱۷^{ab}	۴۴/۷۶±۱/۶۹^{a}	۴۶/۲۵±۲/۲۶^{ab}	۴۹/۸۲±۱/۵۴^{b}
وزن بدست آمده (گرم)	۱۷/۷۳±۱/۳^{a}	۱۹/۴۸±۲/۰۴^{ab}	۲۱/۰۲±۰/۴۸^{b}	۲۱/۴۳±۱/۱۵^{b}
نرخ رشد ویژه (درصد)	۶/۸۴±۰/۱۷^{a}	۷/۰۶±۰/۲۵^{ab}	۷/۲۵±۰/۰۵^{b}	۷/۲۹±۰/۱۲^{b}
ضریب تبدیل غذایی	۲/۴۱±۰/۱۳^{b}	۲/۰۶±۰/۲۸^{a}	۱/۹۳±۰/۱۲^{a}	۲/۰۸±۰/۰۶^{a}
کارایی غذا	۰/۴۱±۰/۰۲^{a}	۰/۴۸±۰/۰۶^{ab}	۰/۵۱±۰/۰۳^{b}	۰/۴۸±۰/۰۲^{ab}
ضریب چاقی	۱/۰۹±۰/۱^{a}	۱/۱۷±۰/۰۱^{a}	۱/۱۶±۰/۲۱^{a}	۱/۰۹±۰/۰۸^{a}
کارایی پروتیین	۱/۱۵±۰/۰۶^{a}	۱/۳۵±۰/۱۸^{ab}	۱/۴۳±۰/۰۸^{b}	۱/۳۳±۰/۰۵^{ab}
غذای خورده شده رزوانه (گرم)	۲/۴۱±۰/۱۳^{b}	۲/۰۶±۰/۲۸^{a}	۱/۹۳±۰/۱۲^{a}	۲/۰۸±۰/۰۸^{a}
بازماندگی (درصد)	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}

مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

ترکیبات لاشه

مقادیر ترکیبات لاشه ماهی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با تیمارهای مختلف در جدول ۳ آمده است. نتایج به دست آمده از آنالیز ترکیبات تقریبی لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف نشان نداد($P>0/05$).

جدول۳- ترکیبات لاشه ماهی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره گیاه به لیمو

شاخص/تیمار	۱	۲	۳	٤
رطوبت (درصد)	۷۷/۲۸±۰/۶۳^{a}	۷۷/۳۴±۰/۵۵^{a}	۷۶/۹۵±۱/۲^{a}	۷۷/۶۲±۰/۵۸^{a}
پروتیین (درصد)	۱۷/۶۱±۰/۳۲^{a}	۱۸/۱۷±۰/۲۵^{a}	۱۷/۹۶±۰/۷۸^{a}	۱۸/۵۱±۰/۵۲^{a}
چربی (درصد)	۲/۹۱±۰/۷۴^{a}	۲/۲۰±۰/۲۸^{a}	۳/۱±۰/۹۵^{a}	۱/۹۳±۰/۴۵^{a}
خاکستر (درصد)	۱/۷±۰/۱۷^{a}	۱/۸±۰/۱^{a}	۱/۷۱±۰/۰۳^{a}	۱/۶±۰/۱^{a}

مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

آنزیم های کبدی

در جدول ۴ داده‌های مربوط به اندازه گیری برخی آنزیم‌های کبدی آمده است. اختلاف معنی‌داری بین میزان ALT،AST و آلکالین فسفاتاز بین تیمارهای مختلف دیده نشد($P\geq0/05$).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ٤- برخی آنزیم‌های کبدی ماهی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره گیاه به لیمو

شاخص/تیمار	۱	۲	۳	٤
AST (U/L)	۳۱۸/۷۳±۲۱/۷۱[a]	۳۲۲/۱۳±۱۴/۴۳[a]	۳۳۸/۶۷±۷/۰۹[a]	۳۳۰/۳۳±۱۶/۸۳[a]
ALT (U/L)	۱۷/۴۶±۱/۲۳[a]	۱۶/۵±۰/۳۴[a]	۱۶/۸۳±۰/۷۵[a]	۱۷/۷۶±۱/۴۴[a]
آلکالین فسفاتاز (U/L)	۶۲۸/۶۷±۳۰/۰۳[a]	۶۳۱/۳۳±۶۳/۶۱[a]	۶۱۸/۶۷±۵۶/۱۹[a]	۶۳۶/۶۷±۳۴/۲۹[a]

مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد

بحث و نتیجه گیری

امروزه استفاده‌از مواد محرک ایمنی به عنوان یک مکمل غذایی که قادر به بهبود دفاع غیراختصاصی و ایجاد مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا در زمان بروز استرس‌های فراوان حین دوره پرورش ماهی باشند، مورد توجه هستند، در سال‌های اخیر به دلیل توجه به حفظ محیط زیست و بهره گیری از مواد فاقد باقی ماندگی در محیط زیست، استفاده از مواد محرک رشد و ایمنی گیاهی در حال افزایش می‌باشد. به طور کلی برای افزایش میزان مقاومت در برابر ابتلا به بیماری ها و کاهش میزان مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، امروزه افزودن محرک‌های ایمنی به غذاها رایج شده است که این افزودنی‌ها موجب فعال شدن گلبول سفید و افزایش سلامت روده می‌شود و به وفور در پرورش ماکیان و سایر دام‌های پرورشی مورد استفاده قرار می‌گیرد(۲۵). که این پیشرفت‌ها بر روی فاکتورهای رشد و شاخص-های خون، خود می‌تواند از دلایل استفاده از محرک‌های رشد و ایمنی در جیره های غذایی باشد. در آبزی‌پروری پایدار دستیابی به الگوها و عوامل آنابولیکی که بتواند افزایش راندمان رشد را به همراه داشته باشد، از اهداف مهم مدیریت پرورشی قلمداد می‌گردد. در مطالعه حاضر بهترین میزان افزایش وزن و بالاترین میزان نرخ رشد ویژه در تیمار ۴ با ۷ گرم عصاره گیاهی در جیره غذایی مشاهده شد. کم‌ترین میزان افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در تیمار شاهد دیده شد که در این تیمار از عصاره گیاهی در جیره غذایی ماهیان استفاده نشده بود. این نتایج با نتایج Gholipourkhani و همکاران(۲۰۱۷) که از اسانس به‌لیمو در جیره غذایی کپور معمولی استفاده کرده بود مطابقت دارد(۱۳). هم‌چنین برخی محققان گزارش کردند که استفاده از ترکیبات گیاهی باعث افزایش جذب مواد غذایی از طریق تحریک آنزیم‌های هضم کننده می‌شود از این رو رشد ماهیان افزایش می‌یابد(۱۸). در مطالعه Vazirzadeh و همکاران(۲۰۱۷) در فاکتورهای رشد ماهیان قزل‌آلای تغذیه شده با عصاره گیاه *Ducrosia anethifolia* تغییر معنی داری مشاهده نشد(۲۹). افزایش توان تولید ماهی و سایر آبزیان پرورشی ارتباط بسیار نزدیکی با ارتقای کارآیی تغذیه دارد. غذا یکی از پرهزینه‌ترین بخش‌های آبزی‌پروری است و بهینه‌سازی آن می‌تواند نقش بسیار مهمی را در کاهش هزینه‌های تولید داشته باشد. یکی از عوامل اقتصادی بودن پرورش آبزیان مقدار ضریب تبدیل غذایی است چرا 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. ضریب تبدیل غذایی به عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های ارزیابی کیفیت تغذیه به شمار می‌آید. در این مطالعه کم‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۴ با بالاترین میزان عصاره گیاه به‌لیمو در جیره غذایی دیده شد. بهبود ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی می‌تواند به این معنی باشد که رژیم غذایی حاوی عصاره گیاه به‌لیمو به عنوان محرک اشتها عمل کرده است و سبب افزایش قابلیت هضم شده و به نوبه خود باعث افزایش رشد شده است(۲۷). Akrami و همکاران(۲۰۱۵)، نشان دادند که

Archive of SID

www.SID.ir

رژیم غذایی خوراکی ۱٪ پودر پیاز(*Allium cepa*) در مقایسه با گروه شاهد اثر معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی(FCR) فیل ماهی جوان پرورشی نداشت، اما افزایش معنی‌داری بر افزایش وزن بدن(WG) و نرخ رشد ویژه(SGR) در مقایسه با گروه شاهد داشت(۲). بیشترین میزان نرخ رشد ویژه در تیمار ۴ با ۷ گرم عصاره گیاه به لیمو مشاهده شد که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. در مطالعه Gholipourkhani و همکاران(۲۰۱۷) که از اسانس گیاه به‌لیمو در جیره غذایی ماهی کپور استفاده کرده بودند تغییرات معنی‌داری در نرخ رشد ویژه کپور ماهیان تغذیه شده با عصاره گیاهی دیده نشد(۱۳). کارایی غذا و کارایی پروتئین در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان داد. کم‌ترین میزان کارایی غذا و کارایی پروتئین در تیمار شاهد مشاهده شد که فاقد عصاره گیاهی اضافه شده در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای مورد مطالعه بود. ضریب چاقی ماهیان قزل‌آلای تغذیه شده با نسبت‌های مختلف عصاره گیاه به لیمو در این آزمایش بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نداشت. این نتایج با نتایج مطالعه Gholipourkhani و همکاران(۲۰۱۷) مطابقت داشت(۱۳). میزان بقا بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان نداد و در همه تیمارها برابر با ۱۰۰ درصد بود. نداشتن اختلاف معنی‌دار در میزان بقا نشان می‌دهد که اضافه کردن عصاره گیاه به‌لیمو در میزان تلفات ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تاثیر سویی نداشته است که این عامل خود یکی از عوامل مهم در انتخاب یک افزودنی مناسب در جیره غذایی آبزی می‌باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که ترکیبات شیمیایی لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان یعنی میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر تحت تاثیر درصدهای مختلف عصاره گیاه به‌لیمو قرار نگرفت و بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. این نتایج با نتایج Zhang و همکاران(۲۰۱۶) با مطالعه تاثیر چای سبز روی ترکیبات بدن ماهی گربه ماهی کانالی، تحقیق pakravan و همکاران(۲۰۱۱) با مطالعه عصاره علف بیدی در جیره غذایی کپور معمولی و Ji و همکاران(۲۰۰۷) با مطالعه چند گیاه دارویی روی رشد ماهی فلاندر ژاپنی مطابقت دارد(۳۲، ۲۱ ،۱۷). هم‌چنین در تضاد با این نتایج Gholipourkhani و همکاران(۲۰۱۷) با مطالعه تاثیر عصاره گیاه به لیمو در جیره غذایی ماهی کپور معمولی و Fallahpour و همکاران(۲۰۱۴) با تحقیق روی عصاره گیاه *Althaea officinalis* در جیره غذایی کپور معمولی گزارش شده است(۱۳، ۹). احتمالاً این اختلاف‌ها در نتایج ناشی از فاکتورهای محیطی مانند دما (۲۸،۷)، pH و شوری که ترکیب چربی در ماهی را تحت تاثیر قرار می‌دهد می‌باشد(۶). هم‌چنین اقلیم‌های هوایی مختلف، سن و وزن نمونه‌ها، ترکیب گیاهی و طول دوره آزمایش نیز بر ترکیبات لاشه تاثیر می‌گذارد(۶). با توجه به نتایج این تحقیق میزان فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد که نشان می‌دهد عصاره گیاه به لیمو در جیره غذایی ماهی قزل‌الای رنگین کمان تاثیر سویی بر عملکرد کبد نداشته است. این نتایج با مطالعات Zeppenfeld و همکاران(۲۰۱۷) و Gholipourkhani و همکاران(۲۰۱۷) مطابقت دارد(۳۱، ۱۳). در اثر آسیب به غشای سلولی ممکن است آنزیم های آلانین آمینو ترانسفراز (AST) و آسپارتات آمینوترانسفراز (ALT) که در داخل میتوکندری سلول‌ها در بافت‌های مختلفی نظیر کبد، قلب، ماهیچه‌های اسکلتی، کلیه، پانکراس، طحال، گلبول های قرمز و آبشش ماهی‌ها یافت می‌شود به داخل خون آزاد شوند و سطح فعالیت آن‌ها در خون افزایش یابد(۴) . تغذیه ماهی تیلاپیا با مخلوطی از ترکیبات گیاهی سبب افزایش ALT و AST در خون گردید که این امر به اختلال در

Archive of SID

www.SID.ir

عملکرد کبد ناشی از وجود مواد ضد تغذیه‌ای در ترکیبات گیاهی داده شده است(۲۶). آلکالین فسفاتاز آنزیمی است که در اپی‌تلیوم مجاری صفراوی، سلول-های کبدی و نیز در مخاط روده و کلیه ها یافت می‌شود .در کبد این آنزیم در سلول‌های کوپفر موجود است. این سلول‌ها سیستم جمع‌آوری صفراوی را می‌پوشانند. لذا سطح این آنزیم در انسداد مجاری صفراوی داخل و خارج کبدی، سیروزی و اختلالات کبدی به شدت افزایش می‌یابد(۴).

با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که عصاره گیاه به‌لیمو به میزان ۷ گرم در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان می‌تواند رشد این ماهی را افزایش دهد بدون این‌که اثر سویی در عملکرد کبد ماهی‌قزل-آلای رنگین کمان بگذارد. البته بایستی مطالعات بیشتر در این زمینه صورت بگیرد تا بتوان با در نظر گرفتن همه جوانب استفاده از عصاره گیاه به‌لیمو از آن در آبزی پروری استفاده نمود.

منابع

۱–بدری، م. ۱۳۹۴. بررسی اثر تنش شوری بر عملکرد فیتوشیمیایی و رشدی گیاه دارویی به لیمو در شرایط هیدروپونیک. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه پیام نور استان البرز. ۷۸ صفحه.

2.Akrami, R., Gharaei, A., Razeghi Mansour, M., Galeshi, A. (2015). Effects of dietary onion(*Allium cepa*) powder on growth, innate immune response and hemato- biochemical parameters of beluga(*Huso huso* Linnaeus, 1754) juvenile. Fish and Shellfish Immunology, 45; 828- 834.

3.AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (2000). Official methods of analysis, 16th edition. aoac, Arlington, Virginia.

4.Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R., Rafei. G.R. (2011). Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiology and Biochemistry, 37; 887-896.

5.Burr, G., Gatlin, D.M. Ricke, S. (2005). Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and potential application of prebiotics and probiotics in finfish culture. Journal of the world aquaculture society, 36; 425-436.

6.Citarasu, T. (2010). Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. Aquaculture International, 18; 403–414.

7.Cordier, M., Brichon, G., Weber, J.M., Zwingelstein, G. (2002). Changes in the fatty acid composition of phospholipids in tissues of farmed sea bass(*Dicentrarchus labrax*) during an annual cycle, Roles of environmental temperature and salinity. Comparative Biochemistry and Physiology, 133; 281–288.

8.Da Silva, B.C., Vieira, F.D. N., Mourino, J.L.P., Ferreira, G.S. Seiffert, W.Q. (2013). Salts of organic acids selection by multiple characteristics for marine shrimp nutrition. Aquaculture, 384; 104–110.

9.Fallahpour, F., Banaee, M ., Javadzade N. (2015). The effects of hydro-alcohol extract of follower of marshmallow(*Althaea officinalis* L.) on some biochemical and hematological parameters in common carp(*Cyprinus carpio* L.). Journal of herbal drug, 2(6); 73-83.

10.FAO. (2010). The state of world fisheries and aquaculture food and agriculture organization of the united Nations Rome.

11. Gatlin, D. M., Li, P., Wang, X., Burr, G.S., Castille, F. Lawrnce, A.L. (2006). Potentiol application of prebiotics in aquaculture. 8th International symposium on aquaculture nutrition.

12. Gause, B.R. (2013). Sparing fish oil with beef tallow in feeds for rainbow trout: effects of inclusion rates and finishing on production performance and tissue fatty acid composition North American Journal of Aquaculture, 75; 495-511.

16. Gholipour Khani, H., Jamali, F., Jafaryan, H., Gholamalipor Alamdari, E. (2017). Dietary effect of *Lippia citrodora* essential oil on some hematological, biochemical, growth performance and body composition of *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758. Iranian Journal of Aquatic Animal Health, 3; 1-15.

17. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.S. (2011). Influence of diet enriched with green tea on innate humoral and cellular immune response of kelp grouper(*Epinephelus*

Archive of SID

www.SID.ir

bruneus) to Vibrio carchariae infection. Fish & Shellfish Immunology, 30; 972-979.

18. Isogai, E., Isogai, H., Hirose, K., Hayashi, S. & Oguma, K. (2001). In vivo synergy between green tea extract and levofloxacin against enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 infection. Current Microbiology, 42; 248–251.

19. Javed, M., Durrani, F. R., Hafeez, A., Ullah Khan, R., Ahmad, I. (2009). Effect of aqueous extract of plant mixture on carcass quality of broiler chicks. Journal of Agricultural and Biological Science, 4; 37-40.

20. Ji, S.C., Jronh, G.S., Gwang-Soon, I.M., Lee, S.W., Yoo, J.H., Takii, K. (2007). Dietary medicinal herbs improve growth performance, fatty acid utilization, and stress recovery of Japanese flounder. Fisheries Science, 73(1); 70-76.

21. Maheshappa, K. (1993). Effect of different doses of livol on growth and body composition of rohu, *Labeoro hita* (Ham.) M.F.Sc Thesis, University of Agricultural Science, Bangalore, p 59.

22. Mojab, F., Javidnia, K., Zarghi, A., Yamohamadi, M. (2003). Study of chemical constituent oil of Lippiacitriodora. Medicinal Plants, 4; 41-47.

23. Molan, A. L., Meagher, L. P., Spencer, P. A., Sivakumaran, S. (2003). Effect of flavan-3-ols on in vitro egg hatching, larval development and viability of infective larvae of *Trichostrongylus colubriformis*. International Journal for Parasitology, 33; 1691–1698.

24. Pakravan, S., Hajimoradloo, A., Ghorbani, R.(2011). Effect of dietary willow herb, *Epilobium hirsutum* extract on growth performance, body composition, haematological parameters and *Aeromonas hydrophila* challenge on common carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture Research, 195; 1-9.

25. Parodi, T.V., Cunha, M.A., Becker, A.G., Zeppenfeld, C.C., Martins, D.I., Koakoski, G. (2014). Anesthetic activity of the essential oil of *Aloysia triphylla* and effectiveness in reducing stress during transport of albino and gray strains of silver catfish, *Rhamdia quelen*. Fish Physiology and Biochemistry, 40(2); 323-34.

26. Rezaie, M.B., Jaymand, K. (2002). Study of chemical constituent oil of *Lippia citriodora*. Pajouhesh va Sazandegi, 53; 13-15.

27. Romano, N., Koh, C. B., Ng, W. K. (2015). Dietary microencapsulated organic acids blend enhances growth, phosphorus utilization, immune response, hepatopancreatic integrity and resistance against *Vibrio harveyi* in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, 435; 228-236.

28. Sahu, S., Das, B.K., Pradhan, J., Mohapatra, B.C., Mishra, B.K., Sarangi, N. (2007). Effect of *Magnifera indica* kernel as a feed additive on immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita* fingerlings. Fish and Shellfish Immunology, 23; 109-118.

29. Soltan, M.A., Hanafy M.A., Wafa, M.I.A. (2008). An evaluation of fermented silage made form fish by products as a feed ingredient for African catfish(*Clarius gariepinus*). Global Veterinaria, 2; 80-86.

30. Talpur, A. D, Ikhwanuddin, M, Ambok Bolong, A.(2013). Nutritional effects of ginger(*Zingiber officinale*) on immune response of Asian sea bass (*lates calcarifer*) and disease resistance against *Vibrio harveyi*. Aquaculture, 401; 46-5.

31. Tocher, D. R., Fonseca-Madriga, J., Dick, J.R., Ng, W.K., Bell, J.G., Campbell, P.J. (2004). Effects of water temperature and diets containing palm oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes of rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*). Comparative Biochemistry Physiology, 137(1); 49–63.

32. Vazirzadeh, A., Dehghan, F., Kazemeini, R. (2017). Changes in growth, blood immune parameters and expression of immune related genes in rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*) in response to diet supplemented with *Ducrosia anethifolia* essential oil. Fish & Shellfish Immunology, 69; 164-172.

33. Zeppenfeld, C.C., Toni, C., Becker, A.G. (2014). Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla*(L'Herit) Britton. Aquaculture, 418;101 – 107.

34. Zeppenfeld, C.C., Saccol, E.M. H., Pês, T.S., Salbego, J., Koakoski, G., Santos, A.C. (2017). *Aloysia triphylla* essential oil as food additive for *Rhamdia quelen* - stress and antioxidant parameters. Aquaculture Nutrtion, 376; 1–6.

35. Zhang, Y., Zhou, Y., Sang, B., Zhang, J. L., Welker, T., Liu, K. (2016). Effect of dietary chinese tea on growth performance, disease resistance and muscle fatty acid profile of channel catfish(*Ictalurus punctatus*). Aquaculture International, 23; 683-698.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of Lemon Verbena,*Aloysia triphylla*, Extractin Dietary on Growth Performance, Proximate Composition and some Liver Enzymes of Rainbow trout Juveniles, *Oncorhynchus mykiss*.

A. Adeli[1], **M. Shamloofar**[1], R. Akrami[1]

1. Department of fishery, Islamic Azad University of Azadshahr, Azadshar, Golestan province, Iran **shamloofar@gmail.com**

Received:2019.25.4 **Accepted: 2019.31.5**

Abstract

Inroduction & Objective: The use of natural-origin growth stimulants due to the lack of destructive environmental impacts has been considered in the past years. Hence this study was conducted to evaluate the effect of lemon verbena, *Aloysia triphylla*, extract on growth performance, proximate body compositions and some liver enzymes of rainbow trout juveniles, *Oncorhynchus mykiss*.

Material and Methods: Rainbow trout (average weight 25.52 ± 1.31 g) were allocated into 4 groups and were fed by different levels of plant extract (0, 2.5, 5 and 7 g per kg of diet) spread on commercial diet for 8 weeks. After cultivation, fish was weighted and proximate compositions include moisture, protein, lipid and ash were analyzed. Also in order to measure liver enzyme like Aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and alkaline phosphatase blood was taken.

Results: After feeding trial the data obtained was analyzed. Results showed that fish fed experimental diets had significant deference ($P<0.05$) in weight gain, specific growth rates, feed efficiency and feed conversion ratios compared to control. There was no significant difference among treatments in survival ($P>0.05$). There were no significant difference ($P>0.05$) in moisture, crude protein, crude lipid and ash content of rainbow trouts fed with diets containing various levels of plant extract. AST, ALT and alkaline phosphatase did not have significant difference between treatments ($P>0.05$).

Conclusion: Results clearly indicate that the addition of *Aloysia triphylla* extract up to 7 g per kg of diet is advisable for rainbow trout because it improved the growth performance and did not have harmful effect on liver enzymes.

Keywords: Lemon Verbena Extract, Rainbow trout, Growth, Body Composition, Liver Enzymes.

Archive

www.SID.ir