Archive of SID

مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

اثر سطوح مختلف عصاره نعناع فلفلی (*Mentha piperita*)بر شاخص‌های رشد، ترکیبات لاشه، باکتری‌های روده و بازماندگی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مواجهه با باکتری *Yersinia ruckeri*

میلاد عادل [۱]، رضا پورغلام [۱*]، سید جلیل ذریه زهرا[۲]، رضا صفری[۱]، مریم قیاسی[۱]

[۱] گروه بهداشت و بیماری آبزیان، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر ساری

[۲] گروه بهداشت و بیماری آبزیان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور تهران

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۳/۱۰/۰۷
اصلاح: ۹۳/۱۰/۲۸
پذیرش: ۹۳/۱۲/۱۲

کلمات کلیدی:
شاخص‌های رشد
قزل‌آلای رنگین‌کمان
نعناع فلفلی

چکیده

این مطالعه به منظور ارزیابی تاثیر سطوح مختلف عصاره نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) جیره بر شاخص‌های رشد، ترکیبات لاشه، باکتری‌های روده‌ای و میزان بازماندگی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مواجهه با باکتری *Yersinia ruckeri* صورت گرفت. ۴ گروه از ماهیان با میانگین وزنی ۰/۱۲±۳۲/۲ گرم در حوضچه‌های فایبرگلاس با تراکم ۸۰ عدد ماهی توزیع و طی مدت ۸ هفته با سطوح مختلف عصاره نعناع فلفلی (۰، ۱، ۲ و ۳ درصد غذا، هر تیمار با ۳ تکرار) غذادهی شدند. در انتهای دوره شاخص‌های رشد و ترکیبات لاشه تعیین و تعداد باکتری‌های روده‌ای و میزان مقاومت تیمارهای مختلف در مواجهه با باکتری محاسبه شد. نتایج نشان داد، که ماهیان تغذیه شده با سطح ۳ درصد عصاره نعناع فلفلی، از شاخص‌های رشد بهتر، تعداد باکتری‌های لاکتیک بالاتر و درصد بازماندگی بیشتری در مواجهه با باکتری یرسینیا روکری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بودند ($P<0/05$). این در حالی است که در ترکیب تقریبی لاشه بین تیمارهای مختلف اختلاف معناداری مشاهده نشد ($P>0/05$). بر اساس نتایج حاصله، استفاده از عصاره نعناع فلفلی به ویژه در سطح ۳ درصد در جیره ماهی قزل آلای رنگین کمان، به منظور بهبود شاخص‌های رشد و افزایش مقاومت ماهیان در برابر باکتری یرسینیا روکری توصیه می‌شود.

مقدمــه

ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از خانواده آزاد ماهیان، مهمترین گونه پرورشی کشور محسوب می‌شود که میزان تولید این ماهی در سال ۱۳۹۲، ۱۱۲۳۹۶ تن در کشور بوده است (Iranian Fisheries Organization, 2014). بیماری دهان قرمز باکتریایی (Entric red mouth) یا یرسینیوزیس (Yersiniosis) یکی از بیماری‌های باکتریایی مهم در صنعت پرورش ماهیان سردابی می باشد، که در چند سال اخیر باعث بروز تلفات در مزارع سردابی کشور شده است (Akhlaghi and Sharif Yazdi, 2008). عامل بیماری، باکتری *Yersinia ruckeri* می باشد که دارای ۶ سروتیپ است، سروتیپ ۱ و ۲ آن قدرت بیماریزایی بیشتری دارند. این باکتری جزو خانواده انتروباکتریاسه بوده که به شکل کوکوباسیل های گرم منفی، میله ای، فاقد اسپور، اکسیداز منفی، کاتالاز مثبت می‌باشد و به عنوان یک عامل بیماریزا برای بسیاری از گونه های مختلف ماهیان از جمله

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: r_pourgholam@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

خانواده آزادماهیان است. حساسترین گونه به این بیماری قزل آلای رنگین کمان به ویژه در اندازه انگشت قد می‌باشد (Akhlaghi and Sharif Yazdi, 2008). مهمترین علایم بالینی مشاهده شده در این بیماری شامل: خونریزی در داخل دهان، فکین، قاعده باله‌ها و اندام‌های داخلی، بیرون زدگی چشم‌ها همراه با لکه های خونی در آن و نکروز در اندام های خونساز می‌باشد (Akhlaghi and Sharif Yazdi, 2008).

در آبزی پروری پایدار دستیابی به الگوها و عوامل آنابولیکی که بتواند افزایش راندمان رشد را به همراه داشته باشد، از اهداف مهم مدیریت پرورشی محسوب می‌شود. در سال‌های اخیر استفاده از محرک‌های ایمنی با منشأ گیاهی به دلیل در دسترس‌تر بودن، خطرات کمتر برای محیط زیست و آبزی و قیمت پایین‌تر روندی رو به رشد در صنعت آبزی پروری داشته است (Dugenci *et al*., 2003). این مکمل‌ها علاوه بر بهبود شاخص‌های رشد، منجر به افزایش مقاومت ماهی نسبت به استرس‌های محیطی، بیماری‌های عفونی مختلف و تحریک سیستم ایمنی غیر اختصاصی آبزیان می‌گردند که همه این عوامل در نهایت منجر به اقتصادی تر شدن این صنعت می‌گردد (Rao *et al*., 2006). مطالعات متعددی پیرامون استفاده از محرک‌های گیاهی در ماهی قزل آلای رنگین کمان صورت گرفته است که از جمله می‌توان به گیاه گزنه، داروash، آلوئه ورا، گون، سرخار گل، پونه کوهی، چای سبز، زنجبیل و مرزه کوهی اشاره داشت (Pourgholam *et al*., 2013; Haghighi and Sharif Rohani, 2013;Sheikhzadeh *et al*., 2011).

گیاه نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* گیاهی علفی، پایا و چند ساله از تیره نعناعیان می‌باشد. این گیاه بومی مناطق مدیترانه بوده ولی به صورت تجاری در مناطق متعددی از جهان و در اکثر نقاط ایران کشت داده می‌شود (Hadian *et al*., 2008). از جمله خواص این گیاه می‌توان به اثرات ضد اسپاسم و ضد التهابی، ضد سرطان، اشتها آوری، خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی آن اشاره داشت (Iscan *et al*., 2002). اثرات تحریک کنندگی رشد و سیستم ایمنی گیاه نعناع فلفلی در جانوران خون گرم و انسان به اثبات رسیده است (Talpur, 2014). از مهمترین ترکیبات تشکیل دهنده این گیاه می‌توان به منتول (Menthol)، منتون (Mentone) و متیل استات (Methyl acetate) اشاره داشت (Mahboubi and Haghi, 2008). مطالعات صورت گرفته نشان دهنده اثرات مثبت گیاه نعناع فلفلی به عنوان محرک رشد و ایمنی در طیور و گونه‌های آبزی از قبیل ماهی کپور معمولی (Hajibeglou and Sudagar, 2010) و ماهی باس دریایی (*Lates calcarifer*) بوده است (Talpur, 2014) ولی با این وجود مطالعه‌ای در خصوص تأثیر استفاده از این گیاه در جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان صورت نگرفته است. لذا این مطالعه با هدف ارزیابی تأثیر سطوح مختلف عصاره نعناع فلفلی جیره بر شاخص‌های رشد، ترکیبات لاشه، باکتری‌های روده‌ای و میزان بازماندگی ماهی قزل آلای رنگین کمان در مواجهه با باکتری *یرسینیا روکری* صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در یک دوره ۸ هفته ای در پاییز سال ۱۳۹۳ در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، انجام پذیرفت. در ابتدای آزمایش و به منظور سازگاری ماهیان با شرایط جدید پرورشی، تعداد ۹۶۰ قطعه ماهی قزل آلای رنگین کمان با میانگین وزنی ۰/۱۲±۳۲/۲ گرم در ۱۲ حوضچه فایبر گلاس (هر حوضچه ۸۰ عدد ماهی) با شرایط یکسان از نظر حجم آب و فاکتورهای کمی و کیفی مشابه توزیع شدند. میانگین پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب در طی دوره پرورش شامل: اکسیژن محلول (۷/۸±/۶ میلی گرم در لیتر)، دما (۱۴/۲±۱/۲ درجه سانتیگراد)، pH (۷/۲±/۴ میلی گرم در لیتر) و هدایت الکتریکی (۱۲۷/۲±۵۷۳۶/۴ میلی موس در سانتیمتر) بود.

تهیه و آماده سازی عصاره نعناع فلفلی

در این مطالعه ۲ کیلوگرم از گیاه نعناع فلفلی پس از جمع آوری از رویشگاه‌های طبیعی استان مازندران و تأیید توسط بخش گیاه شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه ساری، در محیط خشک و تاریک، به دور از نور خورشید و در جریان هوا خشک شد و سپس آسیاب و به صورت پودر در آمد. پودر در بالن یک لیتری و با نسبت ۱ به ۵ با الکل اتیلیک ۸۰٪ مخلوط شد و به مدت ۴۸ ساعت بر روی دستگاه شیکر به آرامی انکوبه گردید. سپس مخلوط به دست آمده توسط صافی و قیف بوخنر صاف شد.

www.SID.ir

Archive of SID

عصاره اولیه به دست آمده وارد دستگاه روتاری گردید و در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد و به مدت ۴ ساعت الکل پرانی صورت گرفت. عصاره تغلیظ شده به دست آمده تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد (Sivam, 2001).

آماده سازی جیره

پس از سازگاری ماهیان با شرایط جدید پرورشی، ماهیان به مدت ۸ هفته با غذای تجاری (کارخانه خوراک آبزیان مازندران) تغذیه شدند. آنالیز جیره پایه مورد استفاده در این مطالعه به صورت خلاصه در جدول ۱ آمده است. به منظور تهیه جیره‌های آزمایشی، سطوح ۰ (شاهد)، ۱، ۲ و ۳ درصد از عصاره نعناع فلفلی به جیره پایه فرموله شده اضافه و به صورت یکنواخت و همگن با جیره پایه مخلوط گردید. میزان غذای روزانه بچه ماهیان بر حسب درصد وزن بدن، دمای آب و براساس جدول غذادهی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تعیین شد و ماهیان به مدت ۸ هفته و ۳ بار در روز با جیره‌های منتخب، تغذیه شدند. این بررسی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در طی دوره، روزانه مدفوع و سایر مواد باقی مانده از کف حوضچه‌ها سیفون و حدود یک سوم آب هر حوضچه تعویض شد.

جدول ۱. تجزیه تقریبی جیره پایه مورد استفاده در این مطالعه

ترکیب بیوشیمیایی جیره پایه	میزان (٪)
پروتئین خام	۴۶/۲
چربی خام	۱۲/۹
خاکستر	۹/۸
رطوبت	۴/۷۶
عصاره عاری از ازت	۱۵/۲۶

ارزیابی فاکتورهای رشد

به منظور ارزیابی تأثیر سطوح مختلف عصاره نعناع فلفلی بر شاخص‌های رشد بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان و مقایسه بین تیمارهای مختلف، به فاصله زمانی ۱۵ روز یکبار وزن ماهیان هر تیمار با ترازوی دیجیتال با دقت ۰۱/ گرم و طول کل با خط کش با دقت ۱ میلی متر اندازه‌گیری شد (به این منظور ۲۴ ساعت قبل از زیست سنجی، تغذیه ماهیان قطع شده و قبل از زیست سنجی ماهیان با پودر گل میخک به میزان ۵ گرم در ۱۰ لیتر آب، بیهوش شدند). در این مطالعه، شاخص‌های رشد ماهیان شامل: میانگین افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و درصد بازماندگی (SR%) طبق روابط زیر محاسبه گردید (Tacon, 1990).

- افزایش وزن بدن:

رابطه (۱): وزن ابتدایی بر حسب گرم - وزن نهایی بر حسب گرم = افزایش وزن بدن (برحسب گرم)

- ضریب رشد ویژه (Specific Growth Rate)

رابطه (۲): ۱۰۰ ×{(تعداد روزهای پرورش)/(میانگین وزن اولیه - میانگین وزن ثانویه)}

- ضریب تبدیل غذایی (Food Conversion Ratio):

رابطه (۳): افزایش وزن بدن بر حسب گرم/ مقدار غذای خورده شده بر حسب گرم

- درصد بازماندگی (Survival Rate%):

رابطه (۴): ۱۰۰× (تعداد اولیه ماهیان / تعداد ماهیان باقیمانده)

www.SID.ir

Archive of SID

آنالیز شیمیایی تقریبی جیره پایه و ترکیبات بدن

در ابتدا و انتهای آزمایش تعداد ۶۰ قطعه ماهی (تعداد ۵ ماهی از هر تکرار) به صورت تصادفی انتخاب و جهت تعیین تقریبی ترکیبات بدن در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد منجمد شد. تعیین ترکیب شیمیایی جیره پایه و ترکیب بدن در آزمایشگاه با استفاده از روش استاندارد AOAC (۱۹۹۵) انجام شد. اندازه گیری پروتئین خام با استفاده از دستگاه کجدال، چربی خام به روش سوکسله، رطوبت با استفاده از آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت و مقدار خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴ ساعت صورت گرفت (AOAC, 1995).

جداسازی باکتری‌های روده

به منظور بررسی تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک (Lactic acid bacteria) و همچنین تعداد کل باکتری‌های زیست پذیر (Total viable counts) موجود در میکروبیوتای روده ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف نعناع فلفلی، در ابتدای دوره تعداد ۱۲ عدد ماهی و در انتهای دوره تعداد ۴ ماهی از هر تکرار به صورت تصادفی انتخاب شد (تغذیه ماهیان ۲۴ ساعت قبل از نمونه گیری از روده متوقف شد). پس از انتقال ماهیان به آزمایشگاه در شرایط استریل کالبدگشایی صورت گرفته و نمونه‌های روده پس از تخلیه کامل محتویات، توزین و به منظور هموژن نمودن به هاون های چینی استریل منتقل گردید (Olsen *et al*., 2001). پس از هموژن کردن نمونه‌های روده با استفاده از ۰/۸۷ Nacl w/v درصد، رقت های 10^{-1} تا 10^{-6} تهیه گردید. در ادامه، ۰/۵ میلی لیتر از رقت‌های تهیه شده به محیط‌های کشت پلیت کانت آگار یا PCA (به منظور تعیین تعداد کل باکتری‌های موجود در میکروبیوتای روده) و به محیط کشت MRS (DeManRogosa and sharpe، جهت تعیین تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک) منتقل و به صورت سطحی در پلیت کشت داده شد (Mahious *et al*., 2006). سپس پلیت‌ها به مدت ۵ روز در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و در شرایط هوازی گرما گذاری شد. در نهایت پس از سپری شدن زمان گرما گذاری، تعداد باکتری‌ها بر حسب لگاریتم واحد کلنی (Log CFU) در گرم وزن روده شمارش شد (Bagheri *et al*., 2008).

مواجهه با باکتری *Yersinia ruckeri*

در این مطالعه از باکتری *Y. ruckeri* با شماره دستیابی KC291153 که به فرم لیوفیلیزه تهیه شده بود، استفاده شد. بدین منظور، ابتدا باکتری در محیط کشت TSB (Tryptic soy broth) کشت داده شد و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری شد و سوسپانسیون باکتری معادل استاندارد نیم مک فارلند (با غلظت تقریبی 10^{8} cells/ml) تهیه شد. در پایان دوره و پس از بیهوشی ماهیان با پودر گل میخک، تعداد ۲۰ ماهی از هر تکرار انتخاب و میزان ۰/۱ml (از رقت 10^{8} cells/ml باکتری) به روش داخل صفاقی تزریق، میزان تلفات و علایم بالینی در یک دوره ۱۴ روزه ثبت گردید و تأیید تلفات با کشت و جداسازی باکتری از بافت‌های کبد و کلیه صورت گرفت (Akhlaghi and Sharif Yazdi, 2008).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS18 و با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (One way-ANOVA) صورت گرفت و مقایسه میانگین بین تیمارهای مختلف بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncans Multiple- range test) در سطح احتمال ۵ درصد تعیین شد ($P<0/05$).

نتایــج

بررسی شاخص‌های رشد در انتهای دوره نشان داد (جدول ۲) که افزودن سطوح مختلف (۱، ۲ و ۳ درصد) عصاره نعناع فلفلی به جیره بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان به طور معنی داری سبب بهبود آنها می‌شود ($P<0/05$). بچه ماهیان تغذیه شده با ۳ درصد عصاره نعناع فلفلی بیشترین میزان افزایش وزن را نشان دادند به طوری‌که در انتهای دوره اختلاف معناداری بین افزایش

www.SID.ir

Archive of SID

وزن بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان بین تیمارهای ۲ و ۳ درصد نعناع فلفلی با تیمارهای ۱ درصد و شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۵). نتایج تحقیق حاضر کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی را در تیمار ۳ درصد و بیشترین میزان ضریب تبدیل غذایی را در تیمار شاهد نشان داد. میانگین ضریب تبدیل غذایی بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان در تیمار شاهد، ۱، ۲ و ۳ درصد عصاره نعناع فلفلی به ترتیب ۲/۱۷±۰/۲۸، ۲/۱۱±۰/۲۶، ۱/۸۱±۰/۱۹ و ۱/۷۳±۰/۱۸ به دست آمد (جدول ۲). بیشترین ضریب رشد ویژه در بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با ۳ درصد نعناع فلفلی مشاهده شد که از نظر آماری اختلاف معناداری با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵)، هر چند که بین تیمار شاهد و ۱ درصد تفاوت معناداری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). همچنین، بیشترین میزان بازماندگی در بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با ۳ درصد نعناع فلفلی مشاهده شد (۹۷/۵±۲/۲) با این وجود تفاوت معناداری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

جدول ۲. میانگین شاخص‌های رشد و بازماندگی بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان در تیمارهای مختلف نعناع فلفلی در انتهای دوره

شاخص	شاهد	نعناع فلفلی ۱٪	نعناع فلفلی ۲٪	نعناع فلفلی ۳٪
وزن اولیه (گرم)	^{a}۳۲/۴۶±۰/۱۱	^{a}۳۲/۵۲±۰/۱۴	^{a}۳۲/۴۸±۰/۱۲	^{a}۳۲/۴۶±۰/۱۳
وزن نهایی (گرم)	^{b}۸۹/۶۴±۵/۲	^{b}۹۱/۲۶±۹/۸	^{a}۹۵/۷۵±۸/۵۲	^{a}۱۰۰/۱۶±۱۰/۵
درصد افزایش وزن	^{c}۱۷۷/۷۲±۶/۱	^{c}۱۷۹/۲۸±۶/۴۳	^{b}۱۹۶/۸۷±۹/۱	^{a}۲۰۷/۸۷±۱۲/۰۸
افزایش وزن بدن (گرم)	^{b}۵۷/۷۲±۲/۱	^{b}۵۸/۰۸±۲/۴۳	^{a}۶۳/۸۷±۳/۰۸	^{a}۶۷/۲۹±۴/۱۹
ضریب تبدیل غذایی	^{a}۲/۱۷±۰/۲۸	^{a}۲/۱۱±۰/۲۶	^{b}۱/۸۱±۰/۱۹	^{c}۱/۷۳±۰/۱۸
ضریب رشد ویژه	^{c}۱/۸۲±۰/۱۵	^{c}۱/۸۶±۰/۱۶	^{b}۱/۹۳±۰/۱۸	^{a}۲/۱۴±۰/۱۴
درصد بازماندگی	^{a}۹۳/۷۵±۱/۶	^{a}۹۲/۵±۱/۲	^{a}۹۶/۲۵±۱/۱	^{a}۹۷/۵±۲/۲

اعدادی که در هر ردیف با حروف متفاوت مشخص شده اند، اختلاف معناداری دارند (P<۰/۰۵).

ترکیب شیمیایی بدن ماهیان قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره نعناع فلفلی در شروع و انتهای روز ۵۶ در جدول ۳ ارائه شده است. بررسی آماری نشان دهنده آن است که اختلاف معناداری در ترکیب تقریبی لاشه بین تیمارهای مختلف وجود ندارد (P>۰/۰۵)، هر چند که میزان پروتئین خام در تیمار سه درصد نعناع فلفلی بیشتر از سایر تیمارها بود (جدول ۳).

جدول ۳. ترکیبات بدن بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان نسبت به اثر سطوح مختلف عصاره نعناع فلفلی در پایان دوره

شاخص (٪)	شروع آزمایش	شاهد	نعناع فلفلی ۱٪	نعناع فلفلی ۲٪	نعناع فلفلی ۳٪
پروتئین خام	۱۶/۷۲±۰/۳۶	۱۷/۱۶±۰/۳۴	۱۷/۲۸±۰/۵۲	۱۷/۰۸±۰/۴۴	۱۷/۶۷±۰/۳۷
لیپید خام	۶/۳۸±۰/۱۱	۷/۰۶±۰/۱۴	۷/۴۸±۰/۱۶	۷/۷۶±۰/۱۸	۷/۶۱±۰/۱۳
خاکستر	۱/۴۲±۰/۰۴	۱/۲±۰/۰۸	۱/۲۶±۰/۱۲	۱/۱۲±۰/۰۳	۱/۰۸±۰/۱۳
رطوبت	۷۵/۵۲±۱/۹۶	۷۶/۲۸±۲/۰۲	۷۳/۱۲±۲/۸۶	۷۴/۵۹±۲/۶۸	۷۴/۹۲±۳/۱۲

عدم وجود حروف در هر ردیف نشان دهنده‌ی معنی دار نبودن اختلافات در بین تیمارها می‌باشد (P>۰/۰۵).

میانگین تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک و تعداد کل باکتری‌های زیست پذیر موجود در میکروبیوتای روده ماهیان قزل آلای رنگین کمان در شروع آزمایش و ۵۶ روز بعد از تغذیه با سطوح مختلف نعناع فلفلی در جدول ۴ آمده است. نتایج نشان داد که تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک و تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر در طی آزمایش در تمامی تیمارها افزایش یافته است و اختلاف معناداری در تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک و تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر در تیمار ۳ درصد با سایر تیمارها در پایان آزمایش مشاهده شد (P<۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴. میانگین تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک روده (LAB) و تعداد کل باکتری‌های زیست پذیر روده (TVC) در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره نعناع فلفلی در انتهای مطالعه

شاخص (LogCFU/g)	شروع آزمایش	شاهد	نعناع فلفلی ۱٪	نعناع فلفلی ۲٪	نعناع فلفلی ۳٪
TVC	۴/۲۶±۰/۳۸	^{a}۴/۶۸±۰/۵۸	^{a}۴/۷۳±۰/۴۱	^{b}۵/۰۶±۰/۵۴	^{c}۵/۴۸±۰/۶۳
LAB	۱/۶۳±۰/۱۴	^{a}۱/۷۸±۰/۱۶	^{a}۱/۸۲±۰/۱	^{b}۱/۹۱±۰/۲۲	^{c}۲/۱۵±۰/۲۸

اعدادی که در هر ردیف با حروف متفاوت مشخص شده اند، اختلاف معناداری دارند (P<۰/۰۵).

نتایج مواجه شدن ماهیان تیمارهای مختلف با باکتری یرسینیا روکری نشان دهنده آن است که از تعداد ۲۰ قطعه ماهی مورد بررسی در هر تیمار، درصد بقاء نسبی ماهیان برای تیمارهای مختلف دریافت کننده غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ درصد عصاره نعناع فلفلی به ترتیب ۸۳/۳±۶/۶، ۹۰±۳/۱ و ۹۳/۳±۲/۱ درصد و برای گروه کنترل ۷۳/۳±۶/۶ درصد بوده است. بیشترین درصد بقاء ماهیان مربوط به تیمار ۳٪ نعناع فلفلی بوده و آنالیز آماری داده‌ها نشانگر اختلاف معنادار بین تیمارهای ۲ و ۳ درصد عصاره نعناع فلفلی با تیمار شاهد و ۱ درصد بوده است (P<۰/۰۵).

بحث

بهینه سازی فاکتورهای تغذیه‌ای و میکروبی می‌تواند باعث سازگاری اکولوژیکی، رشد بهتر و کاهش تلفات سنگین در طی دوره پرورش در آبزیان گردد. از آنجایی که ماهی قزل آلای رنگین کمان به عنوان یکی از با ارزش‌ترین ماهیان اقتصادی و تنها گونه سردابی در صنعت آبزی پروری کشور می‌باشد، تلاش در جهت بهبود شاخص‌های رشد و افزایش قدرت ایمنی این ماهی در برابر بیماری‌های متعدد باکتریایی از جمله یرسینیوزیس افزایش فزاینده‌ای داشته است. اخیراً گرایش بیشتری به استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به عنوان عوامل کنترل کننده زیستی در آبزیان شده است و به دلایل مختلف، به ویژه معایب بهداشتی، زیست محیطی و اقتصادی آنتی بیوتیک‌ها، عدم کارایی مناسب واکسن‌ها در آبزیان و برتری کارآیی سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهی نسبت به ایمنی اختصاصی، پرورش دهندگان ماهی به استفاده از محرک‌های گیاهی مختلف گرایش پیدا کرده‌اند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن سطوح مختلف عصاره نعناع فلفلی به جیره، اثرات معنی داری بر شاخص‌های رشد ماهی قزل آلای رنگین کمان داشته است. در انتهای دوره، ماهیان تغذیه شده با سطح سه درصد عصاره نعناع فلفلی بیشترین وزن را داشتند که اختلاف وزن آنها با تیمارهای دیگر معنی دار بود (P<۰/۰۵). نتایج مشابهی در رابطه با افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه به دست آمد، هر چند که این اختلاف بین تیمار شاهد و ۱ درصد معنادار نبوده است (P>۰/۰۵). وزن کسب شده در تیمار ۳ ٪ در بیشترین میزان و در تیمار شاهد در کمترین میزان مشاهده شد. این نتایج بیانگر آن است که سطوح مختلف عصاره نعناع فلفلی مورد استفاده در این تیمارها روی وزن کسب شده تأثیر گذار بوده است. به عبارت دیگر واکنش متقابلی بین سطوح بالای جیره و سطوح پایین آن بر روی وزن کسب شده در بچه ماهیان مشاهده شده است. بهبود شاخص‌های رشد مشاهده شده، به طور مستقیم می‌تواند ناشی از بهبود وضعیت فیزیولوژیک ماهی و به طور غیر مستقیم، به دلیل بهبود وضعیت ایمنی باشد که زمینه ساز کاهش آلودگی‌ها، عفونت‌ها و هدایت انرژی به سمت تولید پروتئین بیشتر بوده است. نتایج مشابه تحریک کنندگی رشد به هنگام استفاده از گیاه آلوئه ورا (Heidarieh *et al*., 2012a) و ارگوسان (Heidarieh *et al*., 2012b) در قزل آلای رنگین کمان گزارش شده است. در مطالعه Talpur (۲۰۱۴) افزودن سطوح مختلف پودر گیاه نعناع فلفلی (به ویژه در سطوح ۳ تا ۵ درصد) به جیره غذایی باس دریایی، به طور معنی داری باعث افزایش وزن و ضریب رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل غذایی ماهیان شده بود که با نتایج مطالعه حاضر همسو می‌باشد. بهبود شاخص‌های رشد ناشی از مصرف این عصاره گیاهی می‌تواند ناشی از بهبود هضم مواد مغذی جیره یا به علت افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی و در نهایت بهبود سطح ایمنی غیر اختصاصی ماهیان باشد. اثرات گیاه نعناع فلفلی بیشتر به حضور ترکیبات منتول، منتون و متیل استات نسبت داده شده است (Mahboubi and Haghi, 2008).

www.SID.ir

Archive of SID

یکی از عوامل اقتصادی بودن پرورش آبزیان ضریب تبدیل غذا است، چرا که موجب کاهش هزینه‌های غذا و مقدار غـذا دهـی و به تبع آن موجب کاهش آلودگی آب محیط پرورشی و کاهش عفونت‌های ثانویه خواهد شد. نتایج تحقیق حاضر نشـان داد کـه تجویز خوراکی نعناع فلفلی با غلظت ۳ درصد موجب کاهش معنادار میزان ضریب تبدیل غذا نسبت به تیمار شـاهد مـی‌گـردد. نتایج این تحقیق نشان داد که حتی سطوح پایین عصاره نعناع فلفلی جیره نیز می توانـد روی میـزان ضـریب تبـدیل غـذایی و کاهش مقدار آن در مقایسه با تیمار شاهد تأثیر گذار باشد، هر چند که این تفاوت معنادار نبود (P>۰/۰۵).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره نعناع فلفلی بازماندگی بچه ماهیان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به طوری‌که بازماندگی بچه ماهیان در تیمار سه درصد بیشتر از سایر تیمارها بود. نتایج مشابهی در هنگام به کارگیری عصاره نعناع فلفلی در جیره غذایی باس دریایی (Talpur, 2014) و ماهی کپور معمولی (Hajibeglou and Sudagar, 2010) گزارش شد. نتایج آزمایشات مواجهه ماهیان با باکتری *Y. ruckeri* نشان داد که میزان بقاء نسبی ماهیان در تیمارهای مختلف دریافت کننده عصاره نعناع فلفلی به مراتب بیشتر از تیمار شاهد بوده و غلظت‌های بالاتر این عصاره (۲ و ۳٪) نتایج بهتری به همراه داشته است. نتایج مشابهی نیز توسط محققین دیگر گزارش شده است. در مطالعه KucukgulGulec و همکاران (۲۰۱۳) متعاقب مصرف عصاره‌های گیاهی رازیانه و آویشن و در مطالعه Sheikhzadeh و همکاران (۲۰۱۱) به دنبال مصرف عصاره چای سبز افزایش مقاومت ماهی قزل الای رنگین کمان در برابر باکتری *Y. ruckeri* گزارش شده است. مطالعه Talpur (۲۰۱۴) نشان داد که استفاده از سطوح مختلف پودر نعناع فلفلی موجب افزایش مقاومت ماهی باس دریایی در برابر باکتری *Vibrio harveyi* می‌گردد. علاوه بر آن، بررسی Hajibeglou و Sudagar (۲۰۱۰)، نشان داد که استفاده از این عصاره در جیره کپور معمولی موجب افزایش فعالیت لیزوزوم، افزایش میزان آلبومین، گلوبولین، پروتئین تام سرم، مقادیر گلبول‌های قرمز و سفید، هموگلوبین، هماتوکریت و افزایش مقاومت ماهی در برابر باکتری آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*) شده است، که تأیید کننده اثرات تحریک کنندگی ایمنی این گیاه می‌باشد.

ترکیبات مختلف غذایی اثرات متفاوتی بر ترکیب شیمیایی بدن دارند، به طوری که ترکیب شیمیایی بدن ماهیان مرتبط با گونه ماهی، نوع غذا، مقدار غذا و درصد غذادهی، فرمولاسیون غذا و دمای آب قرار می‌گیرد (Hung *et al*., 1987). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از سطوح مختلف عصاره نعناع فلفلی تأثیر معناداری بر ترکیبات بدن ماهی نداشته است. در نقطه مقابل، در مطالعه Nanekarani و همکاران (۲۰۱۲)، افزودن سطح ۰/۳٪ نعناع فلفلی به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی، اثر معنی‌داری بر ترکیب لاشه آنها داشته است. در مطالعه حاضر میزان پروتئین لاشه در ماهیان تغذیه شده با ۳ درصد نعناع فلفلی بیشتر از سایر تیمارها بود که احتمالاً به دلیل افزایش کارایی هضم و ابقای پروتئین در این تیمار بوده است.

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان دهنده افزایش معنادار تعداد لاکتوباسیلوس‌ها در میکروبیوتای روده و نیز تعداد کل باکتری‌های زیست پذیر به موازات افزایش سطح به کارگیری عصاره نعناع فلفلی در روده بود. افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها متعاقب به کارگیری نعناع فلفلی احتمالاً در نتیجه تأمین مواد غذایی مورد نیاز این باکتری‌های مفید روده‌ای می‌باشد. این باکتری‌ها به واسطه تولید باکتریوسین‌ها مانع از رشد باکتری‌های بیماریزا شده که متعاقب آن اثرات مثبتی را بر میکروفلورهای روده گذاشته و بهبود پارامترهای رشد و ایمنی میزبان و افزایش میزان بازماندگی ماهی را به دنبال خواهد داشت. نتایج مطالعه حاضر نیز مؤید این مطلب می‌باشد به طوری‌که با افزایش میزان این عصاره از ۱ به ۳ درصد، بهبود شاخص‌های رشد و افزایش تعداد لاکتوباسیل‌های روده را به دنبال داشته و میزان بازماندگی ماهیان افزایش یافته است. در مطالعه Giannenas و همکاران (۲۰۱۲) نیز به دنبال افزایش سطوح آویشن در جیره ماهی قزل آلای رنگین کمان، افزایش معناداری در تعداد باکتری‌های هوازی و باکتری‌های لاکتیک روده مشاهده شد. همچنین، Heidarieh و همکاران (a ۲۰۱۲) مشاهده کردند که سطوح ۰/۱٪ و ۱٪ آلوئه ورا به طور معناداری موجب بهبود عملکرد میکروبیوتای روده ای ماهی قزل آلای رنگین کمان شده است.

در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه بیانگر آن است که استفاده از عصاره نعناع فلفلی به ویژه در سطح ۳ درصد در جیره ماهیان قزل آلای رنگین کمان با اثرگذاری بر سطوح لاکتوباسیل روده منجر به بهبود عملکرد رشد، کارایی جیره مصرفی و افزایش مقاومت ماهی قزل آلای رنگین کمان در برابر باکتری بیماریزای *Y. ruckeri* شده است. بنابراین این گیاه می‌تواند به

www.SID.ir

Archive of SID

عنوان مکمل خوراکی مناسبی در جیره غذایی قزل آلای رنگین کمان به کار گرفته شود. هر چند که، تعیین سطح بهینه گیاه مذکور در جیره غذایی، اثرگذاری آن بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی و کبدی، اثرات ایمنی زایی، سمیت و تعیین مواد مؤثره این گیاه نیاز به انجام مطالعات جامع‌تر و دقیق تری دارد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله بدین وسیله از کارکنان بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان، پژوهشکده اکولوژی خزر، که در مراحل مختلف این پژوهش همکاری نموده اند سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

Akhlaghi, M., Sharif Yazdi, H. 2008. Detection and identification of virulent *Yersinia ruckeri* the causative agent of enteric red mouth disease in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in Fars province, Iran. Iranian Journal of Veterinary Research Shiraz University. 9(4): 347-352.

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists International. 4nd edition. Arlington, VA, USA. 634 p.

Bagheri, T., Hedayati, S.A., Yavari, V., Alizade, M., Farzanfar, A. 2008. Growth, survival and gut microbial load of Rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) fry given diet supplemented with probiotic during the two months of first feeding. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 8: 43-48.

Dugenci, S.K., Arda, N., Candan, A. 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. Ethnopharmacology. 88: 99-106.

Giannenas, I., Triantafillou, E., Stavrakakis, S., Margaroni, M. Mavridis, S. Steiner., Karagouni, E. 2012. Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 350-353: 26-32.

Hadian, J., Ghasemnezhad, M., Ranjbar, H. 2008. Antifungal potency of some essential oils in control of postharvest decay of strawberry caused by *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger*. Journal of Essential Oil Research.11: 553-562.

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.1:8-12.

Hajibeglou, A., Sudagar, M. 2010. Immune response of common carp (*Cyprinus caprio*) Fed with herbal immunostimulants diets. Agricultural Journal. 5(3): 163-172.

Heidarieh, M., Mirvaghefi, A.R., Sepahi, A., Sheikhzadeh, N., Shahbazfar, A.A., Akbari, M. 2012a. Effects of Dietary Aloe Vera on Growth Performance, Skin and Gastrointestine Morphology in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 13: 367-373.

Heidarieh, M., Mirvaghefi, A.R., Akbari, M., Farahmand, H., Sheikhzadeh, N., Shahbazfar.,Behgar, M. 2012b. Effect of dietary Ergosan on growth performance, digestive enzymes, intestinal histology, hematological parameters and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiology and Biochemistry. 38: 1169-1174.

Hung, S.S.O., Lutes, P.B., Conte F.S. 1987. Carcass proximate composition of juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontannus*). Comparative Biochemistry and Physiology Part A. 1: 269-272.

Iranian Fisheries Organization. 2014. Fisheries statistic yearbook, Planning and development office. Fisheries Public Relation Department. 3(1): 59-61.

Iscan, G., Demirci, F., Kirimer, N., Kurkcuoglu, M., Baser, K.H.C. 2002. Antimicrobial screening: *Mentha piperita* essential oil. Journal of Agricalture Food Chemistry. 50: 3943-3946.

KucukgulGulec, A., Danabas, D., Ural, M., Seker, E., Arslan, A., Serdar, O. 2013. Effect of mixed use of thyme and fennel oils on biochemical properties and electrolytes in rainbow trout as a response to *Yersinia rucker i*infection. Acta Veterinaria Brunensis. 82: 297-302.

www.SID.ir

Archive of SID

Mahious, A.S., Gatesoupe, F.J., Hervi, M., Metailler, R., Ollevier, F. 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima*. Aquacalture International.14: 219-229.

Mahboubi, M., Haghi, G. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. Ethnopharmacology.19: 325-327.

Nanekarani, Sh., Goodarzi, M., Heidari, M., Landy, N. 2012. Efficiency of ethanolic extract of peppermint (*Mentha piperita*) as an antibiotic growth promoter substitution on performance, and carcass characteristics in broiler chickens. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 1: 611-614.

Olsen, R.E., Myklebust, R., Kryvi, H., Mayhew, T.M., Ringø, E. 2001. Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpines* L.). Aquaculture Research. 32: 931-934.

Pourgholam, R., Sharif Rohani, M., Safari, R., Saeeidi, A.A., Binaeei, M., Najafeyan, R., Bankehsaz, Z., Taghavi, M.J., Sepahdari, A. 2013. Effect of *Echinacea purpurea* extract on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and its resistance to Streptococcusis. Iranian Scientific Fisheries Journal. 22(3): 1-12.

Rao, Y.Y., Das, B.K., Iyotymayee, P., Chakrabarti, R. 2006. Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeorohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. Fish and Shellfish Immunology. 20: 265-273.

Sheikhzadeh, N., Nofouzi, K., Delazar, A., KhaniOushani, A. 2011. Immunomodulatory effects of decaffeinated green tea (*Camellia sinensis*) on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and Shellfish Immunology. 31: 1268-1269.

Sivam, G.P. 2001. Recent advances on the nutritional effects associated with the use of garlic as supplement. American Society of Nutrition Sciences. 131: 1106-1108.

Tacon, A.G. 1990. Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. 11th edition. Feeding Methods. Agent Laboratories Press, Redmond, Taoka. 138 p.

Talpur, A.D. 2014. *Mentha piperita* (Peppermint) as feed additive enhanced growth performance, survival, immune response and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) against *Vibrio harveyi* infection. Aquaculture. (420-421): 71-78.

www.SID.ir