

تاثیر پودر گلبرگ زعفران بر عملکرد رشد، تغذیه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی لارو ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*)

احسان احمدی فر^{۱*}، حسین آدینه^۲، رها فدایی راینی^۳، سمیرا مقدم فر^۴

*Ehsan.Ahmadifar@uoz.ac.ir

- ۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل
- ۲- گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس
- ۳- گروه شیلات، دانشکده شیلات و منابع طبیعی، دانشگاه جیرفت
- ۴- گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۷

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۷

چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی تاثیر پودر گلبرگ زعفران بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در لارو ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) انجام شد. لارو ماهیان با میانگین وزن و طول 0.75 ± 0.03 گرم و 4.39 ± 0.09 سانتی‌متر (متر) بصورت مجزا با چهار سطح پودر گلبرگ زعفران در رژیم غذایی به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند که شامل P0 (شاهد)، P1 (۲ درصد)، P2 (۴ درصد) و P3 (۶ درصد) بود. ۱۲۰۰ قطعه ماهی در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۱۲ مخزن تقسیم شدند (۴ تیمار آزمایشی و هر یک با ۳ تکرار). پایان آزمایش، پارامترهای رشد (وزن و طول نهایی، نرخ رشد روزانه، وزن بدست آمده، نرخ رشد ویژه و فاکتور وضعیت)، تغذیه (ضریب تبدیل غذایی و کارایی تبدیل غذا) و آنتی‌اکسیدان (گلوتاتیون پراکسیداز، سوپرکسید دیسموتاز، مالون‌دی‌آلدهید و کاتالاز) مورد بررسی قرار گرفتند. پارامترهای رشد پس از تغذیه با پودر گلبرگ زعفران در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. وزن نهایی و نرخ رشد ویژه در تیمار P2 در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌داری داشت درحالی‌که ضریب تبدیل غذایی در این تیمار کاهش معنی‌داری داشت. علاوه بر این، مقدار مالون‌دی‌آلدهید و کاتالاز در لاروهای ماهی تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت. افزایش قابل توجهی در پارامترهای گلوتاتیون و سوپرکسید دیسموتاز پراکسیداز در تیمار P3 نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. این تحقیق نشان داد که مقدار بکارگیری ۶ درصد پودر گلبرگ زعفران می‌تواند به‌عنوان یک افزودنی خوراکی در آبزی پروری مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: ماهی کپور علفخوار، پودر گلبرگ زعفران، پارامترهای رشد، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

*نویسنده مسئول

مقدمه

در پرورش آبزیان مرحله لاروی ماهیان از بحرانی‌ترین و حساس‌ترین مراحل در چرخه تولید بسیاری از گونه‌های ماهیان است (Jakab Sándor *et al.*, 2018). آنها در این مرحله از زندگی نیاز به غذا حاوی ریزمغذی‌های معدنی و ویتامینه و همچنین اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشند. استفاده از مکمل‌های غذایی از جمله راه‌هایی است که علاوه بر تأمین مواد مغذی جهت رشد و تکامل لاروها، میتواند افزایش سلامت و مقاومت نسبت به استرس و عوامل بیماری‌زا را به همراه داشته باشند (Vulevic *et al.*, 2004). ترکیبات اکسیژنی واکنش‌گر (ROS)¹ می‌توانند به مولکول‌های زیستی ماهیان صدمه بزنند و در نهایت سبب اختلال در رشد و ایمنی گردد. اعتقاد بر این است که بیشترین اثرات مضر بالقوه اکسیژن در ارتباط با این گونه‌های واکنش‌گر است که به عنوان اکسیدان عمل می‌کنند. عامل اکسید کننده (اکسیدان) ماده‌ای است که می‌تواند سایر مواد را اکسید کند و زمانی الکترون‌ها را جذب می‌کند که عامل کاهش‌دهنده آنها را رها کند که در این راستا اکسیژن یکی از اصلی‌ترین حامل‌های اکسند شناخته شده است (Langseth *et al.*, 1995). تعادل بین سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن و رادیکال‌های آزاد جهت حفظ عملکرد فیزیولوژیک نرمال بدن ضروریست در غیر این صورت با بروز استرس اکسیداتیو، مولکول‌های زیستی در معرض آسیب قرار می‌گیرند. هنگامی که لارو ماهیان برای مدت طولانی در معرض استرس اکسیداتیو قرار گیرند، بیماری‌های مزمن بروز می‌کنند (Farombi *et al.*, 2007). به منظور جلوگیری از این عوارض در ماهیان استفاده از مکمل‌های گیاهی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بسیار موثر می‌باشد. در ارتباط با تحقیقات انجام شده برای ماهی‌های آمور می‌توان به تأثیر پلی‌ساکارید انجیر بر پاسخ ایمنی و بیان ژن‌های IL-1 β ، TNF- α و HSP70 بر ماهی کپور علفخوار (*C. idella*) (Yang *et al.*, 2015)، بکارگیری سنگینورین استخراجی از قارچ خوراکی (*Macleaya cordata*) بر علیه انگل شایع (*multifiliis*) (Yao *et al.*, 2010)، پتانسیل

استفاده از قارچ گانودرما (*Ganoderma lucidum*) به عنوان مکمل غذایی در جیره ماهی کپور علفخوار (Chithra *et al.*, 2016) اشاره کرد. طی سال‌های اخیر توجه به یافتن ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی که توانایی جایگزینی با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در جیره غذایی را داشته باشند، معطوف شده است (Nacz *et al.*, 2003). استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به دلیل سمیت و خطراتی که ممکن است برای سلامتی بوجود آورند نیز محدود شده است (احمدیان کوچکسرای و همکاران، ۱۳۹۵). از اینرو، تلاش جهت یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بویژه با منشأ گیاهی افزایش یافته است. ترکیبات فنولی موجود در برخی گیاهان دارای ویژگی‌های فیزیولوژیک از جمله ضد التهاب، ضد آلرژی، ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (Rahaiee *et al.*, 2015). بنظر می‌رسد گیاهانی که میزان ترکیبات فنولی به خصوص فلاونوئید و فلاونول بالاتری دارند، قدرت آنتی‌اکسیدانی بالایی نیز دارند. در واقع، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی که انتشار وسیعی در گیاهان دارند، از جمله آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند. زعفران (*Crocus sativus L.*) متعلق به خانواده زنبقی‌ها (Iridaceae)، گیاهی علفی و چند ساله است که در برخی مناطق جهان بویژه ایران کشت می‌شود. ایران بزرگترین تولیدکننده زعفران است و بالغ بر ۹۰ درصد زعفران دنیا را تولید می‌کند (احمدیان کوچکسرای و همکاران، ۱۳۹۵). در فرآیند تولید زعفران از قسمت کلاله و پرچم به عنوان زعفران تجارتي استفاده می‌شود و سایر قسمت‌های گل از جمله گلبرگ‌ها به عنوان ضایعات دور ریخته می‌شود که از حجم بسیار زیادی برخوردار است (افرازه و همکاران، ۱۳۹۳). کلاله‌های خشک بدست آمده از گل‌های این گیاه به عنوان گرانبهاترین ادویه جهان شناخته شده است (Moshiri *et al.*, 2015) و از گلبرگ زعفران نیز به دلیل دارا بودن ترکیبات فلاونوئید می‌توان به عنوان آنتی‌اکسیدانی قوی (Catoni *et al.*, 2008) با خاصیت ضد التهابی، مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد استفاده نمود (Hosseinzadeh and Younesi, 2002; Termentzi and Kokkalou, 2008). فعالیت

¹ Reactive oxygen species

رشد، تغذیه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی لارو ماهی کپور علفخوار بود.

مواد و روش‌ها

تهیه جیره آزمایشی حاوی سطوح مختلف پودر گلبرگ زعفران

جهت ساخت جیره‌های غذایی نیز، ابتدا مواد اولیه مورد نیاز (جدول ۱) تهیه و سپس پودر هر یک از مواد تشکیل‌دهنده به صورت جدا از الک عبور داده و وزن‌گیری با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم انجام تا با یکدیگر در میکسر مخلوط شوند. اجزای تشکیل‌دهنده غذا با ترکیبات ویتامینه، مواد معدنی و دیگر افزودنی‌ها مخلوط و برای تهیه خمیر به آن آب اضافه شد. خمیر بدست آمده به مدت ۱۵ دقیقه توسط مخلوط‌کن میکس تا سطح آن یکنواخت و همگن شود. گلبرگ زعفران از شهرستان بیرجند تهیه و در دمای ۲۷ درجه به آزمایشگاه انتقال داده شد. گلبرگ‌ها در سایه خشک و با آسیاب مکانیکی به قطر ۰/۵ میلی‌متر آسیاب گردید. جهت حفظ ترکیبات موثر تا زمان استفاده در ظرف تیره دربدار در دمای ۴- درجه‌سانتی‌گراد یخچال نگهداری شد. سطوح استفاده از پودر گلبرگ زعفران در جیره اولیه به طور مجزا اضافه شد که شامل تیمار P0 (شاهد بدون پودر گلبرگ زعفران)، تیمار P1 (۲ درصد پودر گلبرگ زعفران)، تیمار P2 (۴ درصد پودر گلبرگ زعفران) و تیمار P3 (۶ درصد پودر گلبرگ زعفران) بود (رنجبر و خدادادی، ۱۳۹۵). غذا با قطر ۱ میلی‌متر هر ۲۰ روز یکبار ساخته و در طول دوره آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد یخچال نگهداری شد. تغذیه لارو ماهی کپور علفخوار بر حسب دمای آب به میزان ۱۰ درصد وزن بدن در سه نوبت (ساعت ۷ صبح، ۱۳ ظهر، ۱۹ شب) انجام شد.

پرورش ماهی کپور علفخوار در شرایط آزمایشگاهی

در این آزمایش تعداد ۱۵۰۰ قطعه ماهی کپور علفخوار از کارگاه شهید چمران شهرستان گنبد کاووس تهیه و به بخش آبی‌پروری فنی و حرفه‌ای شهرستان گرگان انتقال یافت. ماهیان پس از ۱۴ روز آداپتاسیون با شرایط

آنتی‌اکسیدانی و تعیین محتوای فنولی اندام‌های زعفران (*Crocus sativus L*) مورد ارزیابی قرار گرفت که مقایسه ترکیبات فنولیک بین اندام‌های مختلف گیاه زعفران نشان داد که محتوای این ترکیبات و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی با توجه به اندام می‌تواند متفاوت باشد. همچنین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر کلاله و گلبرگ نسبت به اندام‌های برگ و کورم می‌تواند به دلیل محتوای بالای ترکیبات فنولیک در این اندام‌ها باشد (زرین کمر و همکاران، ۱۳۹۶). گلبرگ زعفران حاوی آنتی‌اکسیدان قوی فلاونوئیدها می‌باشد که متصل به آلبومین، در سرم خون حمل می‌گردد و با این پروتئین اثرات متقابل دارد. بنابراین، گلبرگ زعفران می‌تواند به عنوان یکی از منابع با ارزش برای تولید مکمل غذایی طبیعی (ترکیبات آنتی‌اکسیدانی) مطرح باشد.

ماهی کپور علفخوار^۱ (*Ctenopharyngodon idella*) به عنوان یکی از گونه‌های مهم پرورشی در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری تقریباً در همه جای جهان پرورش داده می‌شود (Tokur et al., 2006) و در کشور ایران در جهت تامین پروتئین سفید از بازارپسندی بالایی برخوردار است و سالانه مقادیر زیادی از این گونه در استخرهای پرورشی و همچنین در آبندها و آبگیرهای طبیعی تولید می‌گردد. بر اساس آمار ارائه شده سالنامه آماری سازمان شیلات ایران (۱۳۹۶) بیشترین میزان تولید ماهیان گرمابی در استان‌های شمالی بترتیب مربوط به استان مازندران، گیلان و گلستان با تولید ۵۹۶۴۵، ۴۳۶۴۵ و ۱۷۶۴۲ تن و استان خوزستان با تولید ۶۳۲۸۰ تن می‌باشد (سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۳۹۶).

ماهی کپور علفخوار یکی از گونه‌های اقتصادی پرورشی در ایران می‌باشد و معرفی مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی جدید مانند گلبرگ زعفران برای بهبود شرایط فیزیولوژیک رشد و وضعیت آنتی‌اکسیدانی لارو ماهی‌ها در راستای استفاده بهینه از ضایعات و محصول جانبی کشاورزی در جیره غذایی نیز حائز اهمیت است. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی سطوح مختلف پودر گلبرگ زعفران بر عملکرد

¹ Grass carp

آزمایشگاهی با میانگین وزنی 0.75 ± 0.03 گرم و میانگین طولی 4.39 ± 0.09 سانتی‌متر به مدت ۶۰ روز پرورش داده شدند.

جدول ۱: اجزای تشکیل‌دهنده و آنالیز تقریبی جیره آزمایشی
Table 1: Composition and proximate analyses of the experimental diets

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

^۱ مکمل ویتامینه شرکت لابراتورهای سیانس، هر ۱۰۰۰ گرم مکمل ویتامینه حاوی: ۱۶۰۰۰۰ IU (D₃)، ۴۰۰۰۰۰ IU (E)، ۴۰۰۰۰ mg (K₃)، ۲۰۰۰ mg (B₁)، ۶۰۰۰ mg (B₂)، ۸۰۰۰ mg (B₃)، ۱۲۰۰۰ mg (B₅)، ۴۰۰۰۰ mg (B₆)، ۴۰۰۰ mg (B₉)، ۲۰۰۰ mg (B₁₂)، ۸ mg (H₂)، ۲۴۰ mg (C)، ۶۰۰۰۰ mg (Inositol)، ۲۰۰۰۰ mg (BHT) است.

^۲ مکمل معدنی شرکت لابراتورهای سیانس، هر ۱۰۰۰ گرم مکمل ویتامینه حاوی: ۶۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۲۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۶۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۵۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۶۰۰ میلی‌گرم ید و ۶۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید.

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب محیط پرورش همچون درجه حرارت آب، pH، سختی کل و اکسیژن محلول اندازه‌گیری بترتیب مقادیر $28 \pm 1/18$ درجه سانتی‌گراد،

$4/5 \pm 0/22$ میلی‌گرم در لیتر و $20.5 \pm 7/30$ ، $7/4 \pm 0/13$ میلی‌گرم در لیتر به ثبت رسید. ۱۲۰۰ قطعه ماهی در قالب طرح کاملاً تصادفی بین ۴ تیمار آزمایشی و هر یک با ۳ تکرار جایابی شدند. برای هر تکرار یک آکواریوم ۴۰ لیتری با حجم آبگیری ۲۵ لیتر آماده که در هر یک ۱۰۰ قطعه لارو ماهی ذخیره‌سازی شد. روزانه ۱۰ درصد حجم کل آب آکواریوم با آب شهری کلرزدايي شده تعویض گردید.

زیست‌سنجی برای بررسی عملکرد رشد و تغذیه

زیست‌سنجی لارو ماهیان ابتدا و انتهای دوره آزمایش برای زیست‌سنجی وزن با ترازوی دیجیتالی دقت ۰/۰۰۱ گرم و طول با خط‌کش مدرج زبانه‌دار (کولیس) انجام شد. پایان ۶۰ روز دوره آزمایش اطلاعات بدست آمده از وزن و طول لاروها در هر آکواریوم و همچنین مقدار غذای مصرفی هر تکرار در محیط اکسل وارد و سپس معیارهای رشد، تغذیه و درصد بقاء از طریق فرمول‌های ذیل محاسبه گردید (Handeland et al., 2003):

میانگین رشد روزانه (ADG, %) = [(وزن نهایی - وزن اولیه) / مدت زمان پرورش] × ۱۰۰

افزایش وزن (WG, g) = میانگین وزن نهایی (گرم) - میانگین وزن اولیه (گرم)

نرخ رشد ویژه (SGR, %day⁻¹) = [(ln وزن نهایی (گرم) - ln وزن اولیه (گرم)) / مدت زمان پرورش (روز)] × ۱۰۰

فاکتور وضعیت (CF) = [وزن نهایی (گرم) / توان سوم طول کل ماهی (سانتی‌متر)] × ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی (FCR) = [مقدار غذای مصرف‌شده (گرم) / (وزن نهایی (گرم) - وزن اولیه (گرم))]

کارایی تبدیل غذا (FCE, %) = [وزن بدست آمده / مقدار غذای مصرف شده (گرم)] × ۱۰۰

سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

پایان دوره آزمایش، قبل از نمونه‌برداری لاروها بمدت ۲۴ ساعت گرسنه نگه داشته شد تا دستگاه گوارشی خالی باشد. از هر تکرار تعداد ۲۰ قطعه ماهی به صورت کاملاً

تصادفی صید گردید. به دلیل کوچک بودن لارو ماهیان از روش همگن کردن بدن استفاده گردید، بدین طریق که کل بدن لارو از هر تکرار وزن گیری سپس با محلول نمکی فسفات با خاصیت بافری PBS^1 (۱۰۰ میلی مول با $\text{pH}=7.4$) هموژن و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. سپس به نسبت حدود ۱۰۰ میلی گرم از بافت با ۱ میلی لیتر از بافر PBS هموژن و سپس توسط دستگاه Z32 HK ساخت کشور آلمان با دور ۶۰۰۰ به مدت حدود ۲۰ دقیقه سانتیوژن شد. در پایان محلول رویی به عنوان عصاره بدن لارو ماهی توسط سرنگ از دیگر بخش جداسازی شد (Cai et al., 2016).

فعالیت آنزیم گلوکاتانیون پراکسیداز با روش Paglia و Valentine (۱۹۶۷) مورد سنجش قرار گرفت که در آن با اضافه شدن ۱۰۰ میکرولیتر از پراکسید هیدروژن شروع شد. تبدیل NADPH به حالت NADP^+ در طول موج ۳۴۰ نانومتر به مدت سه دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد. آنزیم بر اساس نانومولاز NADPH اکسید شده در یک دقیقه به ازای هر میلی گرم پروتئین بیان شد. برای سنجش میزان مالون دی آلدهید به طور خلاصه، ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره بافتی تهیه شده را با ۲۰ درصد تری کلرواستیک اسید (TCA^2) و ۰/۶۷ درصد تیوباربیتوریک (TBA) و اسید هیدروکلریک با بوجود آوردن محیط اسیدی مخلوط شدند. سپس با آب مقطر رقیق شدند. سپس نمونه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد بن ماری به مدت ۸۰ دقیقه نگهداری شد و جهت سرد شدن در دمای آزمایشگاه قرار گرفتند. نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و سپس محلول رویی صورتی رنگ به آرامی جدا و در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. در نهایت میزان غلظت MDA بر حسب نانومول در میلی گرم پروتئین بیان گردید (Cai et al., 2016). این واکنش بر اساس نسیان مهار تیوباربیتوریک اسید توسط MDA انجام می شود بطوریکه هر چه سطح این آنزیم افزایش یابد، میزان مهار تیوباربیتوریک اسید

بیشتر شده و در نتیجه رنگ کمتری در محلول تولید می شود و جذب نوری را کاهش می یابد. برای سنجش فعالیت کاتالاز، بافر فسفات با سرم مخلوط و به مدت یک دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. از محلول آمونیوم مولیبدات $(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24}$) جهت توقف فرایند اکسیداسیون جهت تعیین میزان فعالیت کاتالاز استفاده شد. سپس فعالیت آنزیم با کاهش جذب نوری محلول در طول موج ۴۰۵ نانومتر مشخص شد (Özmen et al., 2002). سنجش فعالیت آنزیم سوپرکسید دیسموتاز بر اساس روش ارائه شده مک کورد و فریدوویچ (۱۹۶۹) انجام شد. در این روش از واکنش مخلوط ۵۰ میلی مول بافر فسفات پتاسیم ($\text{pH}=7.8$)، ۰/۱ میلی مول EDTA ، ۰/۱ میلی مول گزانتین، ۰/۱۳ میلی مول سیتوکروم C و اکسیداز گزانتین (۰/۲۴ واحد در میلی لیتر) استفاده شد که پس از ۴۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (McCord and Fridovich, 1969). برای سنجش آنزیم های آنتی اکسیدانی مذکور از دستگاه میکروپلیت ریدر مدل Elx800 ساخت شرکت Biotek استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده ها

نتایج بدست آمده از این تحقیق با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون مقایسه میانگین تیمارها بوسیله آزمون توکی (Tukey) صورت گرفت. کلیه آنالیزهای آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. کلیه آنالیزها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و رسم نمودارها در نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۰ انجام شد.

نتایج

نتایج بدست آمده از شاخص های رشد و تغذیه لارو ماهی کپور علفخوار تغذیه شده با سطوح مختلف پودر گلبرگ زعفران در جدول ۲ ارائه شده است. وزن نهایی، طول نهایی و درصد رشد روزانه بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد اختلاف آماری معنی داری داشت ($P<0.05$).

¹- Phosphate buffered saline

²- Trichloroacetic Acid Solution

جدول ۲: عملکرد رشد و تغذیه لارو ماهی آمور تغذیه شده با سطوح مختلف پودر گلبرگ زعفران

Table 2: Feed and growth Performance of Grass carp larvae fed with different levels of saffron petals

تیمارها	P0	P1	P2	P3
معیارها	(شاهد بدون مکمل)	(% پودر گلبرگ)	(% پودر گلبرگ)	(% پودر گلبرگ)
وزن نهایی (گرم)	۱/۵۷ ± ۰/۲۳ ^c	۲/۱۰ ± ۰/۲۳ ^b	۲/۴۹ ± ۰/۳۹ ^a	۲/۲۶ ± ۰/۲۹ ^{ab}
طول نهایی (سانتی‌متر)	۵/۵۱ ± ۰/۱۶ ^b	۵/۸۲ ± ۰/۲۳ ^a	۶/۰۵ ± ۰/۴۸ ^a	۵/۹۹ ± ۰/۲۳ ^a
درصد رشد روزانه	۱/۶۵ ± ۰/۴۶ ^b	۳/۲۶ ± ۰/۵۵ ^a	۳/۷۹ ± ۰/۸۷ ^a	۳/۳۶ ± ۰/۶۶ ^a
افزایش وزن (گرم)	۰/۷۸ ± ۰/۱۱ ^c	۱/۳۹ ± ۰/۷۰ ^b	۱/۷۳ ± ۰/۲۹ ^a	۱/۵۱ ± ۰/۴۵ ^{ab}
نرخ رشد ویژه (درصد/روز)	۱/۱۳ ± ۰/۲۳ ^b	۱/۷۹ ± ۰/۱۸ ^a	۱/۹۵ ± ۰/۲۷ ^a	۱/۸۳ ± ۰/۲۱ ^a
فاکتور وضعیت	۰/۹۴ ± ۰/۱۶ ^b	۱/۰۵ ± ۰/۰۴ ^{ab}	۱/۱۳ ± ۰/۱۷ ^a	۱/۰۵ ± ۰/۰۹ ^{ab}
ضریب تبدیل غذایی	۳/۱۱ ± ۰/۷۹ ^a	۲/۲۳ ± ۰/۳۵ ^b	۱/۸۵ ± ۰/۴۸ ^b	۲/۰۶ ± ۰/۴۰ ^b
کارایی تبدیل غذا	۳۴/۲۰ ± ۹/۶۳ ^c	۴۵/۸۷ ± ۷/۷۹ ^b	۵۷/۱۴ ± ۱۳/۱۴ ^a	۵۰/۰۳ ± ۹/۸۹ ^{ab}
درصد بقا	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

ردیف‌هایی که دارای حروف غیرمشابه دارند نشان از تفاوت آماری معنی‌دار است ($P < ۰/۰۵$).

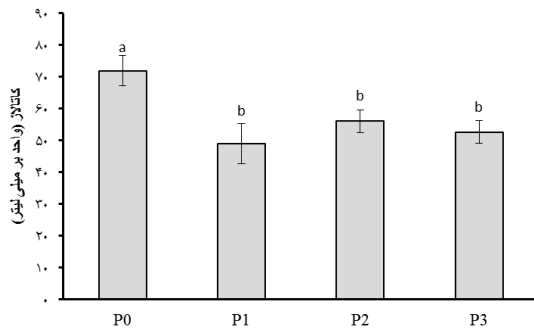
شکل ۲ نیز نشان دهنده فعالیت مالون‌دی‌آلدهید (MDA) در تیمارهای مختلف آزمایش است. میزان غلظت مالون‌دی‌آلدهید در لاروهای ماهی کپور علفخوار تغذیه شده با ۶ درصد مکمل پودر گلبرگ زعفران در تیمار P3 ($۳۸/۷۳ \pm ۴/۴۶$ میکرومول بر لیتر) نسبت به تیمار شاهد بدون استفاده از این مکمل در تیمار P0 ($۱۲/۵۸ \pm ۱۷۶/۰۰$ میکرومول بر لیتر) به طور معنی‌دار از مقادیر کمتری برخوردار بودند ($P < ۰/۰۵$).

نتایج بدست آمده از مقادیر مختلف فعالیت کاتالاز (Catalase) در تیمارهای مختلف آزمایشی در شکل ۳ نشان داده شده است. فعالیت کاتالاز در تیمار P0 در مقایسه با تیمارهای مصرف کننده سطوح مختلف پودر گلبرگ زعفران افزایش معنی‌دار آماری داشت ($P < ۰/۰۵$). بیشترین و کمترین مقدار کاتالاز بترتیب برابر با $۴۷/۷۳ \pm ۴۸/۹۳$ و $۷۱/۹۱$ واحد بر میلی‌لیتر در تیمار P0 و $۶/۲۸ \pm ۴۸/۹۳$ واحد بر میلی‌لیتر در تیمار P1 بود.

میزان فعالیت سوپرکسید دیسموتاز (SOD) در لارو ماهی کپور علفخوار تحت رژیم غذایی پودر گلبرگ زعفران در شکل ۴ آورده شده است. در تیمار P3 با ۶ درصد پودر گلبرگ زعفران و تیمار P2 با ۴ درصد پودر گلبرگ زعفران بیشترین میزان فعالیت سوپرکسید دیسموتاز مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$). همچنین کمترین میزان فعالیت سوپرکسید دیسموتاز در گروه شاهد که فاقد مکمل پودر

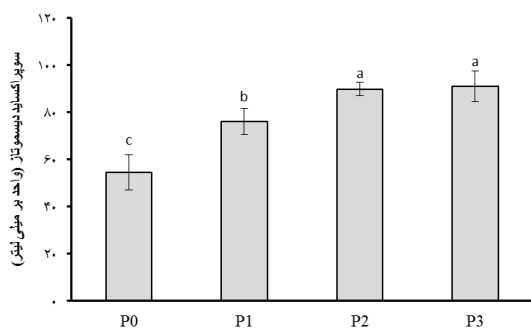
پودر گلبرگ زعفران در جیره غذایی بطور معنی‌داری باعث افزایش وزن بدست آمده در تیمار P2 شد، بطوریکه بیشترین مقدار آن در تیمار P2 ($۱/۷۳ \pm ۰/۲۹$ گرم) و کمترین مقدار آن در تیمار P0 ($۰/۷۸ \pm ۰/۱۱$ گرم) ثبت شد. نرخ رشد ویژه بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد تفاوت آماری معنی‌داری داشت ($P < ۰/۰۵$). فاکتور وضعیت یا ضریب چاقی بین تیمار P0 و تیمار P2 از نظر آماری اختلاف داشت ($P < ۰/۰۵$). استفاده از پودر گلبرگ زعفران در جیره غذایی ماهی سبب کاهش ضریب تبدیل غذایی شد، بطوریکه کمترین آن در تیمار P2 ($۱/۸۵ \pm ۰/۴۸$) و بیشترین مقدار آن در تیمار P0 ($۳/۱۱ \pm ۰/۷۹$) بدست آمد. با کاهش ضریب تبدیل غذایی روند کارایی تبدیل غذا نیز افزایش می‌یابد. در تحقیق حاضر بهترین کارایی تبدیل غذا در تیمار P2 مصرف پودر گلبرگ زعفران برابر $۵۷/۱۴ \pm ۱۳/۱۴$ بدست آمد.

فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) لارو ماهی کپور علفخوار تغذیه شده با سطوح مختلف پودر گلبرگ زعفران در شکل ۱ نشان داده شده است. غلظت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری داشت ($P < ۰/۰۵$). با افزایش مقدار مصرف پودر گلبرگ زعفران در جیره غذایی فعالیت این آنزیم افزایش یافت، بطوریکه بیشترین مقدار آن در تیمار P3 ($۱۰۰/۲۶ \pm ۸/۹۴$ واحد بر میلی‌لیتر) و کمترین آن در تیمار P0 ($۵۸/۳۹ \pm ۳/۹۳$ واحد بر میلی‌لیتر) بدست آمد.



شکل ۳: مقدار فعالیت کاتالاز در لارو ماهی کپور علفخوار تغذیه شده با سطوح مختلف پودر گلبرگ زعفران. حروف مختلف در ستون‌ها اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های آزمایشی نشان می‌دهد ($P < 0.05$).

Figure 3: catalase activity in Grass carp larvae fed with different levels of saffron petals. Different letters on bars show significant differences among trial groups ($P < 0.05$).



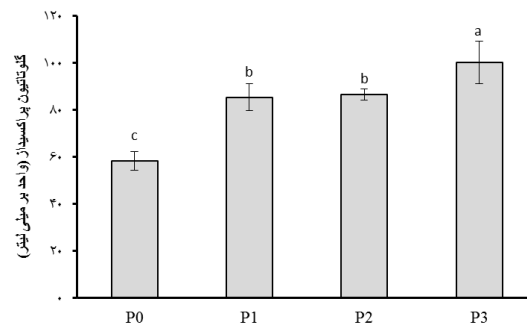
شکل ۴: غلظت آن‌تی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز در لارو ماهی کپور علفخوار تغذیه شده با سطوح مختلف پودر گلبرگ زعفران. حروف مختلف در ستون‌ها اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های آزمایشی نشان می‌دهد ($P < 0.05$).

Figure 4: Concentration of antioxidant superoxide dismutase (SOD) in Grass carp larvae fed with different levels of saffron petals. Different letters on bars show significant differences among trial groups ($P < 0.05$).

بحث

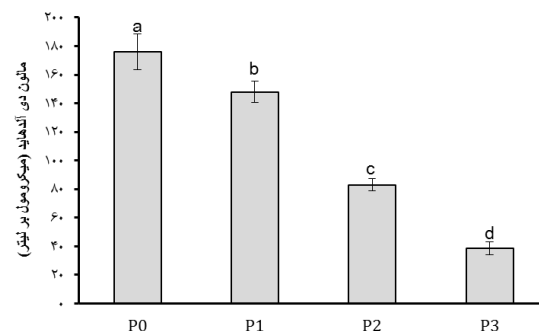
با توجه به اینکه رژیم غذایی برای تحریک رشد و تغذیه مرحله لاروی آبزیان بسیار حائز اهمیت بود. بنابراین، در این تحقیق از سطوح مختلف پودر گلبرگ زعفران با خاصیت افزایش قابلیت هضم غذا و ارتقاء عملکرد دستگاه

گلبرگ زعفران بود مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری نیز با سایر تیمارهای آزمایشی داشت ($P < 0.05$).



شکل ۱: مقایسه فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز لارو ماهی کپور علفخوار تغذیه شده با سطوح مختلف پودر گلبرگ زعفران. حروف مختلف در ستون‌ها اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های آزمایشی نشان می‌دهد ($P < 0.05$).

Figure 1: Comparison of glutathione peroxidase concentration (GPX) of Grass carp larvae fed with different levels of saffron petals. Different letters on bars show significant differences among trial groups ($P < 0.05$).



شکل ۲: فعالیت الون دی آلدی‌هید لارو ماهی کپور علفخوار تغذیه شده با سطوح مختلف پودر گلبرگ زعفران. حروف مختلف در ستون‌ها اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های آزمایشی نشان می‌دهد ($P < 0.05$).

Figure 2: Malondialdehyde activity (MDA) in Grass carp larvae fed with different doses of saffron petals. Different letters on bars show significant differences among trial groups ($P < 0.05$).

شد. جایگزینی محرک‌های گیاهی به‌جای شیمیایی در جیره آبزیان یکی از راهکارهای تحریک رشد و بهبود تغذیه می‌باشد که در سال‌های اخیر توسعه یافته است. بکارگیری مقادیر مختلف ۰، ۰/۲۵، ۰/۵۰، ۱ و ۲ گرم پودر زنجبیل در ۱۰۰ گرم غذایی ماهی کپور معمولی به مدت ۸ هفته تأثیر مثبت معنی‌داری بر شاخص‌های رشد و تغذیه داشت بطوریکه با افزایش مقدار مصرف مکمل وزن بدست آمده از $7/8 \pm 2/2$ گرم به $16/65 \pm 5/3$ گرم افزایش یافت (Abbasi Ghadikolaei et al., 2017). عصاره جین‌سینگ (*Panax notoginseng*) به مقدار ۰/۵ تا ۱۰ گرم در کیلوگرم در جیره غذایی ماهی هامور (*Epinephelus lanceolatus* × *Epinephelus fuscoguttatus*) توانست باعث بهبود رشد، بهره‌وری تغذیه، پارامترهای ایمنی خون و همچنین وضعیت آنتی‌اکسیدانی کبد ماهی شد (Sun et al., 2018).

همه موجودات زنده دارای سیستم‌های محافظت کننده در مقابل واکنش‌های رادیکال‌های آزاد هستند که از آن جمله می‌توان به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و استرس اکسیداتیوی اشاره نمود. در واقع این سیستم‌های محافظت کننده قادرند در شرایط طبیعی بین تولید و حذف گونه‌های فعال اکسیژنی تعادل ایجاد نمایند. اختلال در این فرآیند منجر به برهم خوردن سیستم هموستاز بدن و ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول‌های مختلف موجودات زنده می‌شود. برای تقویت آبزیان در برابر استرس‌های اکسیداتیو و جلوگیری از اکسید شدن ترکیبات همچون نظیر لپید، پروتئین و اسیدهای نوکلئیک می‌توان از آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی استفاده نمود. گلبرگ زعفران از محصولات جانبی به‌دست آمده در فرآیند تولید زعفران می‌باشد که حاوی سطوح بالایی از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی که دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (زرین کمر و همکاران، ۱۳۹۶). آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز از مهمترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هستند که در بافت کبد بیشترین میزان فعالیت را دارند و بنظر می‌رسد دلیل اهمیت این آنزیم‌ها، به دلیل جایگاه ویژه واکنش‌های اکسیدانی چندگانه و حداکثر تولید رادیکال‌های آزاد در این بافت باشد (Farombi et al., 2007). آنزیم‌های آنتی

گوارش و همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی در جیره ماهی کپور علفخوار استفاده شد. در سال‌های اخیر استفاده از محرک‌های گیاهی در راستای تحریک رشد و بهبود وضعیت ایمنی آبزیان به جای مکمل‌های شیمیایی روند افزایشی قابل توجهی داشته است که نشان‌دهنده پتانسیل بالای آنها به منظور تقویت رژیم غذایی می‌باشد (Van Hai, 2015). در این تحقیق، بکارگیری ۴ درصد پودر گلبرگ زعفران در جیره غذایی (P2) باعث افزایش معنی‌دار پارامترهای رشد مانند وزن‌نهایی، افزایش وزن بدست آمده و فاکتور وضعیت در مقایسه با تیمار شاهد بدون استفاده از مکمل (P0) شد ($P < 0/05$). بررسی اثر مکمل گیاهی سنگروویت به‌میزان ۰، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۱۵ درصد بر رشد، پارامترهای بیوشیمیایی خون بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با میانگین وزن $2/62 \pm 0/117$ گرم به مدت ۴۵ روز نشان داد که افزودن گیاه سنگروویت به جیره ماهی می‌تواند عملکرد رشد و پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی را بهبود بخشد (ایمانپور و همکاران، ۱۳۹۴). همچنین مطالعه اثر زیره سیاه (*Carum carvi*) در سه سطح ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد بر برخی شاخص‌های رشد و ترکیبات لاشه بدن بچه فیل ماهی (*Huso huso*) نشان از استفاده ۱۵ درصد از زیرسیاه موجب افزایش وزن نهایی در انتهای دوره پرورش شد (یاسمی و همکاران، ۱۳۹۶). در بسیاری از گیاهان ترکیباتی چون آلکانوئیدها، فلاونوئیدها، رنگدانه‌ها، تریپنوئیدها، استروئیدها وجود دارند که به دلیل خاصیت ضدعفونی‌کننده، تقویت رشد و ایمنی، افزایش هضم و جذب غذا و غیره مورد توجه محققین قرار گرفته است (Awad and Awaad, 2017). نتایج حاصل از این آزمایش، نشان داد که سطوح مختلف (۲، ۴ و ۶ درصد) پودر گلبرگ زعفران در جیره غذایی ماهی کپور معمولی منجر به کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل و افزایش کارایی تبدیل غذا نسبت به گروه شاهد گردید. در همین راستا، کریمی پاشاکی و همکاران (۱۳۹۷) گزارش دادند که غلظت‌های ۱ و ۵ گرم عصاره آبی-الکلی برگ زیتون در رژیم غذایی منجر به کاهش ضریب تبدیل غذایی و بهبود برخی از شاخص‌های خونی و ایمنی در بچه ماهیان کپور پرورشی

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از حمایت مالی دانشگاه زابل با گرنت شماره (UOZ-GR-9618-104) تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

احمدیان کوچکسرای، ز.، نیازمند، ر. و نجف نجفی، م.، ۱۳۹۵. بهینه‌سازی شرایط استخراج ترکیبات زیست فعال از گلبرگ زعفران به روش سطح پاسخ. پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، ۵ (۱): ۳۹-۵۴. 10.22101/jrifst.2016.06.01.514

DOI

افرازه، ز.، بلندی، م.، خورشیدی، م. و محمدی نافچی، ع.، ۱۳۹۳. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های آبی و الکلی (متانول، اتانول) گلبرگ زعفران. علمی پژوهشی زراعت و فناوری زعفران، ۲ (۳): ۲۳۱-۲۳۶. DOI: 10.22048/jsat.2014.7867

ایمان‌پور، م.ر.، سلاقی، ز.، روحی، ز.، بیک‌زاده، آ. و داودی‌پور، ع.ر.، ۱۳۹۴. اثر مکمل گیاهی سنگروویت بر رشد، پارامترهای بیوشیمیایی خون، بازماندگی و مقاومت در برابر تنش شوری بچه‌ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۴ (۳): ۱۳-۲۲. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110190

رنجبر، ش. و خدادادی، م.، ۱۳۹۵. تأثیر پودر چای سبز (*Camellia sinensis*) بر برخی شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). اکوبیولوژی تالاب، ۸ (۱): ۳۹-۵۰.

زرین کمر، ف.، تاجیک، س. و نیکنام، و.، ۱۳۹۶. ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و تعیین محتوای فنولی اندامهای زعفران. مجله زیست‌فناوری مدرس، ۸ (۲): ۱۶۰-۱۷۰.

سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۶. معاونت برنامه‌ریزی و توسعه مدیریت، دفتر برنامه و بودجه، ۶۴ صفحه.

کریمی پاشاکی، ع.، قاسمی، م.، ذریه زهرا، ج.، شریف روحانی، م. و حسینی، س.م.، ۱۳۹۷. تأثیر

اکسیدانی اولین خط دفاعی موجودات از جمله آبزیان در شرایط استرس بوده و ارزیابی آنها می‌تواند در بررسی وضعیت سیستم ایمنی بکار رود (Sun et al., 2013). در تحقیق حاضر، با افزایش بکارگیری پودر گلبرگ زعفران از ۰ به ۶ درصد در جیره غذایی لارو ماهی آمور مقادیر آنزیم‌های گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$). علت این افزایش معنی‌دار در آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را می‌تواند به دلیل وجود ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در گلبرگ‌های زعفران دانست

در تحقیق حاضر، تفاوت معنی‌دار آماری بین تیمار شاهد با تیمارهای آزمایشی در مقدار کاتالاز وجود داشت ($P < 0.05$) در حالیکه بین سطوح مختلف آزمایشی تفاوت مشاهده نشد. کاتالاز به عنوان تجزیه‌کننده پراکسید هیدروژن به آب و مولکول اکسیژن نقش مهمی در سیستم آنتی‌اکسیدانی دارد. کاهش سطح کاتالاز در تیمارهای مصرف‌کننده گلبرگ زعفران (۲، ۴ و ۶ درصد) می‌تواند گویای اثربخش بودن این محرک از طریق خنثی نمودن هیدروکسی رادیکال‌های آزاد منجر به کاهش سطح تولید پراکسید هیدروژن شوند. یکی از شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی که به عنوان شاخص آسیب اکسیداتیو بکار می‌رود و به صورت غیر مستقیم میزان آسیب به سلول را مشخص می‌کند، آنزیم مالون دی‌آلدهید است (مهرپاک و همکاران، ۱۳۹۴). در این آزمایش، میزان مالون دی‌آلدهید در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۶ درصد پودر گلبرگ زعفران، کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد که نشان از اثرات مثبت گلبرگ زعفران در ارتقاء وضعیت آنتی‌اکسیدانی لارو ماهی کپور علفخوار در شرایط پرورش بود.

به طور کلی، نتایج بدست آمده از شاخص‌های رشد و تغذیه و بررسی وضعیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان داد که استفاده از گلبرگ زعفران می‌تواند باعث افزایش وزن و کاهش ضریب تبدیل غذایی و همچنین تقویت وضعیت آنتی‌اکسیدانی لارو ماهی کپور علفخوار شود که در این بین تیمار P3 با ۶ درصد بکارگیری گلبرگ زعفران در جیره پایه بهترین تیمارها بود.

- Molecular Biology*, 201: 46-52. DOI: 10.1016/j.cbpb.2016.06.007.
- Catoni, C., Schaefer, H.M. and Peters, A., 2008.** Fruit for health: the effect of flavonoids on humoral immune response and food selection in a frugivorous bird. *Functional Ecology*, 22(4): 649-654. DOI: 10.1111/j.1365-2435.2008.01400.x.
- Chithra, E., Padmanaban, A. M. and Mohan, K., 2016.** Potential use of *Ganoderma lucidum* polysaccharides as a feed supplement in diets on survival and growth performance of the grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 4: 328-333.
- Farombi, E. O. O. A., Adelowo, O. and Ajimoko, Y., 2007.** Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in African cat fish (*Clarias gariepinus*) from Nigeria Ogun River. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 4(2): 158-165. DOI:10.3390/ijerph 2007040011.
- Handeland, S.O., Porter, M., Björnsson, B.T. and Stefansson, S.O., 2003.** Osmoregulation and growth in a wild and a selected strain of Atlantic salmon smolts on two photoperiod regimes. *Aquaculture*, 222(1-4): 29-43. DOI:10.1016/S0044-8486(03)00100-5.
- Hosseinzadeh, H. and Younesi, H.M. 2002.** Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacology*
- مصرف خوراکی عصاره آبی- الکلی برگ زیتون در عملکرد رشد و برخی از فراسنجه‌های خونی و ایمنی در بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). *مجله علمی شیلات ایران*, ۲۷ (۲): ۷۱-۸۰. DOI: 10.220092/ISFJ.2018.116698
- مهرپاک، م.، بنایی، م.، نعمت‌دوست حقی، ب. و نوری، ا.، ۱۳۹۴.** تأثیر حفاظتی ویتامین C و کیتوزان بر شاخص‌های زیستی استرس اکسیداتیو در آبشش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در معرض کلراید کادمیوم. *مجله علمی شیلات ایران*، ۲۴ (۴): ۴۴-۳۱. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110206
- یاسمی، م.، سرپناه، ع.، محمودی خوش دره‌گی، م. و پارسا، م.، ۱۳۹۶.** مطالعه اثر زیره سیاه (*Carum carvi*) بر برخی شاخص‌های رشد و ترکیبات لاشه بدن بچه فیل ماهی (*Huso huso*). *مجله علمی شیلات ایران*، ۲۶ (۲): ۱۶۹-۱۷۲. DOI:10.22092/ISFJ.2017.113495
- Abbasi Ghadikolaei, H., Kamali, A., Soltani, M. and Sharifian, M., 2017.** Effects of *Zingiber officinale* powder on growth parameters, survival rate and biochemical composition of body in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 16(1): 67-85.
- Awad, E. and Awaad, A., 2017.** Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. *Fish and shellfish immunology*, 67: 40-54. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.05.034.
- Cai, Z., Feng, S., Xiang, X., Mai, K. and Ai, Q., 2016.** Effects of dietary phospholipid on lipase activity, antioxidant capacity and lipid metabolism-related gene expression in large yellow croaker larvae (*Larimichthys crocea*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and*

- and *Toxicology*, 2(1):1-8. DOI: 10.1186/1471-2210-2-7.
- Jakab Sándor, Z., Bor Papp, Z., Ardó, L., Nagy Biro, J. and Jeney, G., 2018.** Effectiveness of dietary vitamin supplementation to the performance of common carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae in intensive rearing condition. *Aquaculture Research*, 49(2): 738-747. DOI:10.1111/are.13504.
- Langseth, L. 1995.** Oxidants, antioxidants and disease prevention. International Life Sciences Institute, Brussels, Belgium, pp 360.
- McCord, J.M. and Fridovich, I., 1969.** Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry*, 244 (22): 6049–6055.
- Moshiri, M., Vahabzadeh, M. and Hosseinzadeh, H., 2015.** Clinical applications of saffron (*Crocus sativus*) and its constituents: a review. *Drug Research*, 65(6): 287-95. DOI: 10.1055/s-0034-1375681.
- Nacz, M., Amarowicz, R., Zadernowski, R., Pegg, R.B. and Shahidi, F., 2003.** Antioxidant activity of crude phenolic extracts from wild blueberry leaves. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 12(13):166-9.
- Özmen, B., Özmen, D., Erkin, E., Güner, İ., Habif, S. and Bayındır, O., 2002.** Lens superoxide dismutase and catalase activities in diabetic cataract. *Clinical Biochemistry*, 35: 69–72. DOI: 10.1016/S0009-9120(01)00284-3.
- Paglia, D. E. and Valentine, W.N., 1967.** Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of laboratory and clinical medicine*, 70(1): 158-169.
- Rahaiee, S., Moini, S., Hashemi, M. and Shojaosadati, S.A., 2015.** Evaluation of antioxidant activities of bioactive compounds and various extracts obtained from saffron (*Crocus sativus* L.): a review. *Journal of food science and technology*, 52(4):1881-1888. DOI: 10.1007/s13197-013-1238-x.
- Sun, S., Chen, L., Ge, X., Qin, J., Jiang, Z. and Li, E., 2013.** Effect of copper-enriched *Artemia* on growth, body composition, antioxidant enzyme activities, and osmotic stress tolerance of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* larvae. *Journal of Shellfish Research*, 32(3):759-766. DOI:10.2983/035.032.0319.
- Sun, Z., Tan, X., Ye, H., Zou, C., Ye, C. and Wang, A. 2018.** Effects of dietary *Panax notoginseng* extract on growth performance, fish composition, immune responses, intestinal histology and immune related genes expression of hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀) fed high lipid diets. *Fish and shellfish immunology*, 73, 234-244. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.11.007.
- Termentzi, A. and Kokkalou, E., 2008.** LC-DAD-MS (ESI+) analysis and antioxidant capacity of *Crocus sativus* petal extracts.

- Journal of Medicinal Plant and Natural Product Research*, 74(05): 573-581. DOI: 10.1055/s-2008-1074498.
- Tokur, B., Ozkutuk, S., Atici, E., Ozyurt, G. and Ozyurt, C.E., 2006.** Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio* L., 1758), during frozen storage (-18°C). *Food Chemistry*, 99: 335-341. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.07.044.
- Van Hai, N., 2015.** The use of medicinal plants as immune stimulants in aquaculture: a review. *Aquaculture*, 446: 88-96. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.03.014.
- Vulevic, J., Rastall, R.A. and Gibson, G.R., 2004.** Developing a quantitative approach for determining the in vitro prebiotic potential of dietary oligosaccharides. *FEMS microbiology letters*, 236(1):153-159. DOI:10.1111/j.1574-6968.2004.tb09641.x.
- Yang, X., Guo, J. L., Ye, J. Y., Zhang, Y. X. and Wang, W., 2015.** The effects of Ficus carica polysaccharide on immune response and expression of some immune-related genes in grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Fish and shellfish immunology*, 42(1): 132-137. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.10.037.
- Yao, J. Y., Shen, J. Y., Li, X. L., Xu, Y., Hao, G. J., Pan, X. Y. and Yin, W. L., 2010.** Effect of sanguinarine from the leaves of *Macleaya cordata* against *Ichthyophthirius multifiliis* in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Parasitology research*, 107(5): 1035-1042. DOI: 10.1007/s00436-010-1966-z.

Effect of saffron petal powder on feed, growth performance and antioxidant enzymes activity of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)

Ahmadifar E.^{1*}; Adineh H.²; Fadai Rayeni R.³; Moghadam far S.⁴

*Ehsan.Ahmadifar@uoz.ac.ir

1-Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Iran

2-Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Iran

3-Fisheries Science, Faculty of Fisheries and Natural Resources, University of Jiroft, Iran

4-Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gorgan University and Agriculture Science, Iran

Abstract

The present study was conducted to determine the effect of saffron petal powder on the growth and activity of antioxidant enzymes in the grass carp larva (*Ctenopharyngodon idella*). Fish larva (0.75 ± 0.03 g and 4.39 ± 0.09 cm) were fed separately with four levels of saffron petal powder diets which were included; P0 (0%), P1 (2%), P2 (4%) and P3 (6%) for 60 days. One thousand two hundred fish were divided randomly into 12 tanks (4 experimental treatments and each with 3 replications). End of the experiment, growth (final weight, final length, daily growth rate, weight gain, specific growth rate and condition factor), feed (food conversion ratio and food conversion efficiency) and Antioxidant (glutathione peroxidase, superoxide dismutase, malonyldialdehyde and catalase) parameters were evaluated. Growth parameters were enhanced following feeding with saffron petal powder compared with the control group. The final weight and specific growth rate in P2 treatment increased significantly compared to control, while there was a significant reduction in food conversion ratio (FCR) in this treatment. In addition, the activities of MDA and Catalase were significantly decreased in the fish larvae fed with different levels of supplement compared to those of the control group. A significant enhancement in the SOD and GPX parameters of P3 compared to control. This research demonstrated that the saffron petal powder of 6% could be used as a promising feed additive in aquaculture.

Keywords: *Ctenopharyngodon idella*, Saffron petal powder, Growth parameters and antioxidant enzymes

*Corresponding author